

**Simulationsgestützte, systematische Entwicklung
biotechnologischer Prozesse mit begleitender Evaluierung**

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

von
Muhammad Abdul Kholiq
(MSc. in *Process Engineering*, TUHH)

Saarbrücken

2007

Tag des Kolloquiums: 14. März 2007
Dekan: Prof. Dr. Kaspar Hegetschweiler
Berichterstatter: Prof. Dipl. Ing. Dr. techn. Elmar Heinzle
Prof. Dr.-Ing. Valko Mavrov

DANKSAGUNG

Bei Herrn Prof. Dipl. Ing. Dr. techn. Elmar Heinzle möchte ich mich sehr herzlich für die interessante Themenstellung mit ihren facettenreichen Aspekten, für seine Diskussionsbereitschaft und für seine unermüdliche Unterstützung bedanken. Er hat uns mit seiner väterlichen Art und Weise die Möglichkeit und den Freiraum gegeben, Kinderbetreuung und wissenschaftliche Arbeit unter einen Hut erfolgreich zu bringen.

Bei Herrn Prof. Dr.-Ing. Valko Mavrov bedanke ich mich sehr herzlich für sein Interesse ans Thema und die freundliche Übernahme des Zweitgutachtens.

Ich bedanke mich bei allen Mitarbeitern am Institut für Technische Biochemie für das gute Arbeitsklima, das vor allem von den institutsinternen Seminaren in Lac Noir in den Vogesen und den Ausflügen, sowie den gemeinsamen Frühstücken profitierte. Mein Dank gilt insbesondere Dr. Arno Biwer für das *Knowhow*-Transfer, Diskussionen und Ratschläge zu Beginn und während des Projektlaufs, Dr. Marco Eissen für die Zusammenarbeit bezüglich der ökologischen Bewertungsmethode, P.D. Dr. Christoph Wittmann und Dr. Andreas Tholey für Hinweise und motivierende Worte, Dr. Jens Krömer und Oliver Frick für Hilfestellungen bei allgemeinen mikrobiologischen Themen, Svenja Weiss und Dr. Ditte Bungert für Diskussionen, sowie Masoud und Rahul für Diskussionen und für die vielen gemeinsamen Fahrten im „Nachtbus“. Den beiden Hiwis Sabrina Heisel und Andrej Skunca danke ich für die Hilfe bei der Recherche und Eingabe von Stoffdaten, und Andrej Skunca für seinen Beitrag zur ökologischen Bewertung einiger ionischen Flüssigkeiten.

Dem Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) und der Deutschen Bundesstiftung Umwelt (DBU) danke ich für die finanzielle Unterstützung.

Bei den Partnern aus dem BMBF-Projekt „Simulationsgestützte Bewertung der Nachhaltigkeit biotechnologischer Produktion“ (Dechema, Univ. Mainz, Ifu GmbH Hamburg und Wuppertal Institut) bedanke ich mich für die Zusammenarbeit mit vielen spannenden und lehrreichen Erfahrungen. Mein herzlicher Dank gilt insbesondere Alexander Danek (Univ. Mainz) und Dr. Volker Wohlgenuth (Ifu GmbH).

Bei den Projektpartner aus dem BMBF-Rahmenprogramm „Nachhaltige BioProduktion“, Frau Dr. Renate Lührs und Herrn Dr. Matthias Berkemeyer (Maltagen Forschung GmbH, Andernach), bedanke ich mich für die Zusammenarbeit und das gegenseitige Vertrauen bei der Bearbeitung des Fallbeispiels Produktion von Proteinen (HSA) in Gerste.

Gleiches gilt für die Projektpartner aus dem vom BMBF geförderten Projekt „Biokatalyse in ionischen Flüssigkeiten“ insbesondere Herren Prof. Dr. Udo Kragl (Univ. Rostock) und Prof. Dr.-Ing. Dirk Weuster-Botz (TU München), Frau Dr. Marrit Eckstein (Univ. Rostock) und Herrn Stefan Bräutigam (TU München) für die freundliche Übergabe von Prozessdaten und die Zusammenarbeit.

Ich bedanke mich bei den Projektpartnern aus dem DBU-Projekt „Biokatalytischer Emulsionsprozess zur enantiospezifischen Epoxidierung von Styrol“, insbesondere Herren Prof. Dr. Andreas Schmid, Dr. Bruno Bühler und Daniel Kuhn (Univ. Dortmund), Prof. Dr.-Ing. Horst Chmiel und Markus Mohrdieck (UPT GmbH, Saarbrücken), Dr. Rudolf Krumbholz und Dr. Peter Lembke (Firma Kd-Pharma, Bexbach) für die Zusammenarbeit und den Austausch.

Ich danke meinen Freunden Agustino Zulys (Doktorand am Institut für Chemie und Biochemie an der FU Berlin) für fachliche Diskussionen über organokatalytische Reaktionen, Suhendra (Doktorand am Lehrstuhl Anlagen und Sicherheitstechnik an der TU Cottbus) und Fata Yunus (TotalFina, Paris) für fachliche Diskussionen über Prozessentwicklung und verfahrenstechnische Apparaten.

Allen meinen Lehrern in allen Bildungsstufen möchte ich mich für die Erziehung und den Wissenstransfer bedanken. Meiner Frau, Anis, und den Kindern, Ismail und Rahmah, danke ich für ihre Liebe, Motivation, Unterstützung, Rückhalt und Geduld, einfach für alles! Meiner Mutter und meinem während der Projektlaufzeit verstorbenen Vater, sowie allen Geschwistern danke ich für die Liebe und moralische Unterstützung.

Alles Lob und alle Dankbarkeit gebühren dem Herrn der Welten.

INHALTSVERZEICHNIS

DANKSAGUNG	I
INHALTSVERZEICHNIS	III
TABELLENVERZEICHNIS	VII
ABBILDUNGSVERZEICHNIS	IX
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	XIII
ZUSAMMENFASSUNG.....	XVII
SUMMARY.....	XX
1. EINLEITUNG	1
1.1. Hintergrund und Motivation.....	1
1.1.1. Nachhaltigkeit und biotechnologische Prozesse	1
1.1.2. Bedeutung integrierter Bioprozessentwicklung in frühen Phasen	1
1.2. Bestandsaufnahme.....	2
1.2.1. Systematische Bioprozessentwicklung	2
1.2.2. Modellierungs- und Bewertungssoftware	3
1.2.3. Methoden und Kriterien der Nachhaltigkeitsbewertung	3
1.3. Zielsetzung und Aufgabenstellung.....	5
2. BIOPROZESSENTWICKLUNG	6
2.1. Einleitung	6
2.2. Entwicklung chemischer Prozesse	6
2.2.1. Allgemeinen	6
2.2.2. Entwicklungsphasen.....	7
2.2.3. Bedeutung früher Entwicklungsphasen.....	9
2.2.4. Systematische Prozessentwicklung.....	10
2.3. Bioprozessentwicklung	12
2.3.1. Stand der methodischen Entwicklung.....	12
2.3.2. Systematische Bioprozessentwicklung	14
3. BIOPROZESSMODELLIERUNG	20
3.1. Einführung.....	20
3.2. Software für Bioprozessmodellierung.....	20
3.2.1. Anforderungen an Software	20
3.2.2. Vorhandene Softwares	21
3.3. Modulbasierte Prozessmodellierung	23
3.3.1. Konzeption	23

3.3.2.	Modularten und Anforderungen.....	24
3.3.3.	Erstellung von Modulen	25
3.3.4.	Modulbasierte Modellierung in Umberto.....	26
4.	METHODEN UND KRITERIEN DER PROZESSBEWERTUNG	29
4.1.	Einführung.....	29
4.2.	Ökonomische Dimension	30
4.2.1.	Einführung.....	30
4.2.2.	Investition, Betriebskosten und Wirtschaftlichkeit	30
4.2.3.	Kriterien für Screeningzwecke.....	34
4.3.	Ökologische Dimension	36
4.3.1.	Einführung.....	36
4.3.2.	Methode von Heinzle und Biwer vom Jahr 2003.....	37
4.3.3.	Aktuelle Version der Bewertungsmethode	38
4.4.	Soziale Dimension.....	49
4.4.1.	Hintergrund	49
4.4.2.	Auswahl sozialer Kategorien bzw. Indikatoren	50
4.4.3.	Fazit und Ausblick	51
5.	BEITRÄGE ZU EINER SIMULATIONSGESTÜTZTEN, SYSTEMATISCHEN BIOPROZESSENTWICKLUNG	52
5.1.	Einführung.....	52
5.2.	Erstellung von Modulen	52
5.2.1.	Modulerstellung in Umberto	52
5.2.2.	Modulbeispiele	55
5.3.	Assistentenkonzept zur Synthese von Aufarbeitungsprozessen.....	61
5.3.1.	Beschreibung des Assistentenkonzeptes	61
5.3.2.	Visualisierung des Assistentenkonzeptes.....	63
5.3.3.	Formulierung und Implementierung in Sabento	66
5.4.	Anlegen der ökologischen Bewertungsmethode in Umberto.....	66
5.4.1.	Implementierung	66
5.4.2.	Anwendungsbeispiele.....	68
5.4.3.	Einzellstoffbetrachtung	70
5.4.4.	Ökologische Bewertung mit Umberto/Sabento.....	72
6.	FALLBEISPIEL PRODUKTIONSSYSTEME VON HUMANEM SERUMALBUMIN (HSA).....	73
6.1.	Einführung.....	73

6.2.	Herstellung von rHSA mit Hefe.....	74
6.2.1.	Bioreaktion.....	74
6.2.2.	Prozessmodellierung.....	77
6.3.	Aufarbeitung von rHSA aus Gerste.....	79
6.3.1.	Prozessentwurf.....	79
6.3.2.	Prozessmodellierung.....	82
6.4.	Ergebnisse und Diskussion.....	83
6.4.1.	Einführung.....	83
6.4.2.	Stoffbilanzen.....	84
6.4.3.	Ökonomische Evaluierung.....	84
6.4.4.	Ökologische Evaluierung.....	88
6.5.	Zusammenfassung und Ausblick.....	93
7.	FALLBEISPIEL BIODERIVATISIERUNG IM ZWEIFASIGEN SYSTEM WASSER/IONISCHE FLÜSSIGKEIT.....	95
7.1.	Einleitung.....	95
7.2.	Prozessmodellierung.....	96
7.2.1.	Basismodell.....	96
7.2.2.	Alternativmodell.....	98
7.2.3.	Scale-up.....	99
7.3.	Ergebnisse und Diskussion.....	99
7.3.1.	Stoffbilanz.....	99
7.3.2.	Ökonomische Bewertung.....	100
7.3.3.	Ökologische Bewertung.....	105
7.4.	Zusammenfassung.....	109
8.	FALLBEISPIEL BIODERIVATISIERUNG IM ZWEIFASIGEN SYSTEM WASSER/IONISCHE FLÜSSIGKEIT.....	110
8.1.	Einleitung.....	110
8.2.	Prozessmodellierung.....	110
8.2.1.	Chemischer Prozess mit Jacobsen-Katalysator.....	110
8.2.2.	Biokatalytischer Standardprozess mit Destillation.....	111
8.2.3.	Biokatalytischer Prozess mit Pertraktion.....	114
8.2.4.	Biokatalytischer Prozess mit überkritischen CO ₂ -Trennverfahren.....	115
8.3.	Ergebnisse.....	117
8.3.1.	Stoffbilanz und ökologische Bewertung.....	117

8.3.2. Ökonomische Evaluierung	122
8.4. Diskussion	125
8.4.1. Zeiteinsparung durch repetitive fed-batch Kultivierung	125
8.4.2. Zweiphasen-System und das Lösungsmittel	126
8.4.3. Auffangbehälter beim Prozess mit Pertraktion	126
8.4.4. Prozessvarianten mit superkritischen Fluiden	127
8.4.5. Anlagenauslegung und Investitionen	128
8.4.6. Abschätzung der Personalkosten.....	131
8.4.7. Maßstabvergrößerung bzw. Anlagenauslegung	132
8.5. Fazit und Ausblick	132
9. ABSCHLUSSDISKUSSION	134
LITERATURVERZEICHNIS	139
ANHANG	149
Anhang A: Blockmodul Aufreinigung von Proteinen.....	149
Anhang B: Unitmodul Filtration	160
Anhang C: Formulierung des Prozessassistenten.....	164
Anhang C 1: Skizze wichtigster Assistentenseiten	164
Anhang C 2: Auszüge der Formulierung des Assistenten.....	166
Anhang D: Demobericht zur ökologischen Bewertung	172
PUBLIKATIONSLISTE.....	185

TABELLENVERZEICHNIS

Tab. 4.1. Abschätzungsarten von Investitionskosten und deren Präzision während einer Prozessentwicklung	31
Tab. 4.2. Kriterien und Klassengrenzen der Wirkungskategorien. I = Inputskategorie, O = Outputskategorie (modifiziert nach Biwer, 2003; Biwer und Heinzle, 2004). 42	42
Tab. 4.3. Beispiele von Flächenverbrauch für die Produktion ausgewählter nachwachsender Rohstoffe (Ernten im Jahr 2004).....	43
Tab. 4.4. Beurteilung der Bedeutung verschiedener Belastungskategorien nach UBA (1999) und eigener Einstufung.....	46
Tab. 4.5. Beurteilung der Bedeutung verschiedener Belastungskategorien nach UBA und daraus abgeleitete Wichtungsfaktoren	46
Tab. 4.6. Wichtungskoeffizienten (WK_{Input} und WK_{Output}) der Wirkungskategorien.....	48
Tab. 5.1. Vergleich der nach der ermittelten Näherungsgleichung berechneten Werte mit den aus der Simulation mit SuperPro-Designer (SProD) erhaltenen Daten	58
Tab. 6.1. Zufütterungsplan der mehrstufigen Fermentation von <i>Pichia pastoris</i> zur Produktion von rHSA (Wallmann, 2003; Cino, 1999). Die Zufütterungsraten sind spezifisch im Verhältnis zum Reaktionsvolumen.	76
Tab. 6.2. Abschätzung des Reaktions- und Bioreaktorvolumen	76
Tab. 6.3. Stoffbilanz (in kg/kg Produkt) der Pichia- und Gerste-Prozessmodelle.	84
Tab. 6.4. Vergleich der ökonomischen Größen der Prozesse mit Hefe und Gerste. Zwei Aufarbeitungsstrategien werden für die Hefe-Prozesse modelliert, nämlich mit <i>expanded bed adsorption</i> (EBA) und <i>packed bed adsorption</i> (PBA).....	85
Tab. 6.5. Jahresbetriebskosten der Gerste-Prozesse und deren Verteilung.....	86
Tab. 6.6. Materialkosten der Gerste-Prozesse und deren Verteilung.	87
Tab. 6.7. ABC-Klassifizierung der Input- und Output-Stoffe.....	88
Tab. 7.1. Stoffbilanz von Basis-, Recycling-, und Alternativmodell in kg/kg Produkt.	99
Tab. 7.2. Spezifische Materialkosten und deren Verteilung. Alternative A: 200 L, Alternative B: 2000 L.....	102
Tab. 7.3. Spezifische Betriebskosten und deren Verteilung. PA-Kosten: personalabhängige Kosten, AA-Kosten: anlagenabhängige Kosten, A: 200 L, B: 2000 L.	102
Tab. 7.4. ABC-Klassifizierung der Input- und Output-Stoffe.....	106
Tab. 8.1. Zu evaluierende Prozessmodelle zur Produktion von (S)-Styroloxid.....	110
Tab. 8.2. ABC-Klassifizierung der Stoffe.....	118

Tab. 8.3. Gesamtvergleich der Prozessmodelle.....	122
Tab. 8.4. Spezifische Betriebskosten und deren Verteilung.....	123
Tab. 8.5. Spezifische Materialkosten und deren Verteilung im chemischen Prozessmodell.	124
Tab. 8.6. Gegenüberstellung von Preisen für Apparaten in Mathys et al. (1999) und Defaultwerten in SuperPro-Designer für das Jahr 2006.....	128
Tab. 8.7. Faktoren zur Ermittlung der Investition.....	129
Tab. 8.8. Ermittlung und Vergleich der Gesamtfaktoren.....	129
Tab. 8.9. Vergleich der Investitionen für die gleiche Jahresproduktion (10 kilo jato) mit den bisherigen Faktoren und Szenarien mit gleichen Gesamtfaktoren.....	130

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abb. 1.1. Entwicklungsfreiheit, Prozesswissen, Kosten und Umweltauswirkungen als Funktion von Entwicklungsphasen (Heinzle und Hungerbühler, 1997).....	2
Abb. 2.1. Allgemeiner Ablauf der Entwicklung chemischer Prozesse in Anlehnung an Blass (1997) und Heinzle und Hungerbühler (1997).....	7
Abb. 2.2. Problemlösungszyklus; modifiziert und vereinfacht nach Marquardt (2005).....	11
Abb. 2.3. Der Ansatz <i>Front-End-Engineering</i> von Linde-KCAs (Dresden, Deutschland) (Reifferscheid und Bronnenmeier, 2004).....	13
Abb. 2.4. allgemeiner Ablauf der Entwicklung biotechnologischer Prozesse.....	14
Abb. 2.5. Typische Frühstufen einer Bioprozessentwicklung. Abkürzungen: Prot. = Protein; DB = Datenbank; MFA = metabolische Flussanalyse.	15
Abb. 2.6. Allgemeine Struktur von Bioprozessen unterschiedlicher Expressionssysteme (enzymatische Biotransformation, Zellkultur/Fermentation, transgene und herkömmliche Pflanzen und Tiere) (Petrides, 2003; Heinzle et al., 2007).	16
Abb. 2.7. Allgemeine Grundfunktionen von Bioprozessen	17
Abb. 2.8. Beispiel einer strukturbasierten Prozesssynthese für die Aufarbeitung von intrazellulärem Plasmid-DNA aus Zellkultivierung mit <i>E. coli</i> ; erstellt und modifiziert aus Prazeres und Ferreira (2003). Abkürzungen: MF = Mikrofiltration, UF = Ultrafiltration, HIC = <i>hydrophobic interaction chromatography</i> , Chrom. = Chromatographie, AnEX = Anionenaustauscher, PBA = <i>Packed Bed Adsorption</i> , EBA = <i>Expanded Bed Adsorption</i>	18
Abb. 2.9. Erstellung von Blockmodule zur Vereinfachung der Synthese bzw. Modellierung von Bioprozessen.	19
Abb. 3.1. Schematische Darstellung einer modulbasierten Prozessmodellierung mit Unit- und Blockmodulen.	23
Abb. 3.2. Schematische Darstellung eines Moduls.....	24
Abb. 3.3. modulbasierte Prozessmodellierung in Umberto	27
Abb. 3.4. Beispiel eines fertigen Prozessmodells in Umberto mit der erhaltenen Stoff- und Energiebilanz und den Ergebnissen der ökologischen Bewertung.	28
Abb. 4.1. Schematische Darstellung der Vorgänge der ökologischen Bewertung	39
Abb. 4.2. Übersicht über Wichtung, Kombination mit den Stoffbilanzen und Aggregation..	40
Abb. 5.1. Vorgehensweise bei der Erstellung von Unit- und Blockmodulen in Umberto mit Hilfe der Skript-Sprache Python.	55

Abb. 5.2. Grundoperationen des Teilprozesses „Vorbehandlung zur Gewinnung intrazellulärer Produkte“ (Modellierung mit SuperPro-Designer).....	56
Abb. 5.3. Schematische Darstellung des Teilprozesses „Vorbehandlung zur Gewinnung intrazellulärer Produkte“	56
Abb. 5.4. Blockmodul „Vorbehandlung zur Gewinnung intrazellulärer Produkte“	56
Abb. 5.5. Sensitivitätsanalyse zur Ermittlung wichtigster Parameter für das Blockmodul „Vorbehandlung zur Gewinnung intrazellulärer Produkte“ (weitere Beschreibung steht im Text).	57
Abb. 5.6. Blockmodul Vorbehandlung zur Gewinnung intrazellulärer Produkte. Zu sehen sind das Modulsymbol mit seinen Verbindungen (links oben), einige der Parameter (links unten), die Python-Programmierung (in der Mitte im Hintergrund) und die resultierende Materialbilanz (rechts).....	59
Abb. 5.7. Grundoperationen des Blockmoduls „Aufreinigung von Proteinen“ (Modellierung mit SuperPro-Designer).....	59
Abb. 5.8. Blockmodul Aufreinigung von Proteinen. Zu sehen sind hier das Modulsymbol mit seinen Verbindungen (links oben), die Input- und Outputzuweisungen (links unten), die Python-Programmierung (in der Mitte) und die Materialbilanz (rechts).	60
Abb. 5.9. Unitmodul Filtration in Umberto. Dargestellt sind das Modulsymbol mit seinen Verbindungen (In der Mitte unten), die Parameterseite (in der Mitte oben), die Materialverwaltung (links oben), die Stoff- und Energiebilanz (links unten), und die Python-Programmierung (rechts).	61
Abb. 5.10. Allgemeine Einteilung von Aufarbeitungsprozessen nach Funktion.....	62
Abb. 5.11. Auswahlmöglichkeiten an vorgefertigten Beispielen	64
Abb. 5.12. Angabe der Anzahl der Aufarbeitungsstufen	64
Abb. 5.13. Modulauswahl für die Stufe Recovery für extrazelluläre Produkte.....	65
Abb. 5.14. Modulauswahl für die Stufe Aufreinigung.....	66
Abb. 5.15. Strukturverwaltung und Kennzahldefinition des ökologischen Bewertungssystems.	67
Abb. 5.16. Beispiel der Zugriffsdefinition auf Stoffbilanz und einige Gleichungen zur Ermittlung der Umweltkennzahlen (weitere Erläuterungen stehen im Text).	67
Abb. 5.17. Anwendungsbeispiel des ökologischen Bewertungssystems in Umberto. Zu sehen sind hier das Prozessmodell (oben links), die Stoff- und Energiebilanz,	

Bewertungsergebnisse (in der Mitte), und graphische Darstellungen der Ergebnisse.	69
Abb. 5.18. Modulbasierte Modellierung und Bewertung des Aufarbeitungsprozesses von HSA aus Gerste mit Umberto. Zu sehen sind hier das Prozess-Netzwerk (links), die Input- und Outputbilanz (in der Mitte), die Bewertungsergebnisse (rechts), und die graphische Darstellung von Umweltkennzahlen (rechts unten).....	70
Abb. 5.19. Vorgehensweise zur Ermittlung der kritischen Stoffe aus der Stoffbilanz und der Materialdatenbank.	71
Abb. 5.20. Vorgehensweise zur Ermittlung des Wirkungspotentials einzelner Input- und Outputstoffe aus der Stoffbilanz und der Materialdatenbank.	71
Abb. 6.1. Prozessmodellierung der rHSA-Produktion mit <i>Pichia pastoris</i> mit SuperPro- Designer (Abdul Kholiq und Heinzle, 2007).	77
Abb. 6.2. Vergleich zwischen der EBA- und der PBA-Methode	79
Abb. 6.3. Prozessschema des Aufarbeitungsprozesses von rGUS aus Maiskörnern; vereinfachte Darstellung aus Kusnadi et al. (1998) und Evangelista et al. (1998).	80
Abb. 6.4. Erstes Aufarbeitungsschema von rHSA aus Gerste (Berkemeyer, 2004).	81
Abb. 6.5. Prozessmodellierung der Aufarbeitung von rHSA aus Gerste (ohne Recycling). ..	82
Abb. 6.6. Prozessmodellierung mit Recycling des Extraktionswassers.....	83
Abb. 6.7. Auswirkung des HSA-Gehalts auf die Bruttomarge und die spezifischen Betriebskosten (Gerste-Prozess ohne Recycling).	87
Abb. 6.8. Auswirkung der erreichten Produktkonzentration auf die Bruttomarge und die spezifischen Betriebskosten des EBA-Prozesses (mit einem Bioreaktor).	88
Abb. 6.9. Vergleich der Massenindices [kg/kg P] der Inputseite mit (MI,In_mW) und ohne Wasser (MI,In_oW) der Pichia-Prozesse (Pichia,EBA bzw. Pichia,PBA) und den Gerste-Prozessen, jeweils ohne (Gerste,oR) und mit Wasserrecycling bei Recyclinggraden von 70 und 90 % (Gerste,R70 bzw. Gerste,R90).....	89
Abb. 6.10. Vergleich der Umweltbewertungskennzahlen mit (UKZ, mW) und ohne Wasser (UKZ, mW) der Pichia- und Gerste-Prozesse (Beschreibung der Abkürzungen zu den Prozessen siehe Abb. 6.9).....	90
Abb. 6.11. Einzellstoffbetrachtung der Pichia- und Gerste-Prozesse (ohne Wasser).	91
Abb. 6.12. Darstellung der Input-Wirkungskategorien der Pichia- und Gerste-Prozesse	92
Abb. 6.13. Darstellung der Output-Wirkungskategorien der Pichia- und Gerste-Prozesse.....	93
Abb. 7.1. Biosynthese von (R1)-4-Cl-Phenyl-ethanol im zweiphasigen System ionische Flüssigkeit/Phosphatpuffer.....	95

Abb. 7.2. Basismodell mit Recycling des Ganzzellbiokatalysators, der ionischen Flüssigkeit und des Extraktionsmittels (Hexan).	97
Abb. 7.3. Alternativprozess mit Zentrifuge (anstelle von Mikrofiltration und einfachem Dekanter) und mit direkter Destillation (ohne Extraktion).	98
Abb. 7.4. Spezifische Material- und Betriebskosten (A: 200 L; B: 2000 L)	101
Abb. 7.5. Spezifischen Betriebskosten in Abhängigkeit vom Reaktionsvolumen.....	103
Abb. 7.6. Spezifische Betriebskosten in Abhängigkeit vom Preis für die ionische Flüssigkeit und vom Reaktionsvolumen.....	104
Abb. 7.7. Massenindices der Inputseite und Umweltkennzahlen der Input- und Outputseite jeweils mit und ohne Wasser für alle Prozessmodelle. BSS: Basismodell, REC: Recyclingmodell, ALT: Alternativmodell	107
Abb. 7.8. Umweltkennzahl der Input- und Outputstoffe für das Recycling- und Alternativmodell jeweils mit und ohne Wasser. REC: Recyclingmodell, ALT: Alternativmodell, mW: mit Wasser, oW: ohne Wasser	108
Abb. 8.1. Darstellung des chemischen Prozessmodells mit Jacobsen-Katalysator.....	111
Abb. 8.2. Biokatalytische Epoxidierung mit dem rekombinanten Ganzzellbiokatalysator (Bühler, 2006; Otto et al., 2004).	112
Abb. 8.3. Standardprozessmodell mit dem Fed-Batch-Verfahren, Zentrifugation und Destillationskolonnen.....	114
Abb. 8.4. Prozessmodell mit dem repetitiven Fed-Batch-Verfahren und dem Einsatz von Pertraktion und Destillationskolonne.	115
Abb. 8.5. Gesamtmassenindex der vier Prozessmodelle mit und ohne Wasser.....	120
Abb. 8.6. Gesamtmassenindex und Massenindices der 4 Hauptstoffe.	120
Abb. 8.7. Umweltkennzahl der Prozessmodelle jeweils mit und ohne Wasser.	121
Abb. 8.8. Gesamtumweltkennzahl der biokatalytischen Prozessmodelle und Beiträge von vier Stoffen.	121

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

[BMIM][BF ₄]	1-n-Butyl-3-methylimidazolium-tetrafluorborat
[BMIM][PF ₆]	1-n-Butyl-3-methylimidazolium-hexafluorphosphat
[BMIM][Tf ₂ N]	1-n-Butyl-3-methylimidazolium-bis(trifluoromethansulfon)imid
4-Cl-AP	4-Cl-Acetophenon
AA-Kosten	anlagenabhängige Kosten
AK	Kosten für die Arbeitskräfte
ALT	Alternativmodell
AnEX	Anionenaustauscher.
AP	Acidification Potential / Versauerungspotential
ATox	akute Toxizität
BEHP	Bis(2-ethylhexyl)phthalat
BioStoffV	Biostoffverordnung
BMBF	Bundesministerium für Bildung und Forschung
BR	biologisches Risiko
CAS-Nr.	Chemical Abstracts Service Number, identisch mit der CARN – Chemical Abstracts Registry Number
CH-Giftkl.	Schweizer Giftklassen
CI	Kosten- bzw. ökonomische Indices
CML	Centrum voor Milieukunde Leiden
Co	Cobalt
CTox	chronische Toxizität
DB	Datenbank
DBU	Deutsche Bundesstiftung Umwelt
DEAE	Diethylaminoethyl (Anionenaustauscher)
DNA	Desoxyribonukleinsäuren
EBA	Expanded Bed Adsorption
EF _i	Umweltfaktor eines Stoffes
EK	Energiekosten
EP _i	Ökonomische Potentiale in jeder Entwicklungsstufe
ETox	Ecotoxicity / Ökotoxizität

Eutr	Eutrophierung
F&E	Forschung und Entwicklung
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
Fe	Eisen
F _i	Fraktion
GenTG	Gentechnik-Gesetz
GF	Gesamtfaktor
GWP	Global Warming Potential / globale Erwärmungspotential
GWP	Potential für globale Erwärmung
HIC	hydrophobic interaction chromatography
HKR	hydrolytische kinetische Resolution
HSA	Humanes Serumalbumin
IL	Ionic Liquid / ionische Flüssigkeit
ILO	International Labor Organization
IRR	Internal Rate of Return
jato	Tonnen pro Jahr (auch t/a)
Kennz.	Kennzeichnung durch Gefahrensymbole
KF	Konzentrierungsfaktor
KMU	Klein- und mittelständische Unternehmen
KSy	Komplexität der Synthese
LCA	Life Cycle Analysis
LM	Lösungsmittel
LVb	Landverbrauch
M	Molmasse
m	Masse eines Stoffes der Stoffbilanz
MAK	Maximale Arbeitsplatzkonzentration
MF	Mikrofiltration
MFA	metabolische Flussanalyse
MI	Massenindices
Mio	Millionen
MK	Materialkosten
mM	Millimolar
mS	Milli-Siemens

NAD(P)	Nicotinamid-adenin-dinucleotid bzw. Nicotinamid-adenin-dinucleotidphosphat
NPV	Net Present Value bzw. Kapitalwert.
ODP	Ozone Depletion Potential / Ozonabbaupotential
OECD	Organization for Economic Cooperation and Development
P	Produkt
PA-Kosten	personalabhängige Kosten
PBA	Packed Bed Adsorption
POCP	Photochemical Ozone Creation Potential / Ozonbildungspotential
$P_{P,\min}$	fiktiver Mindestproduktpreis
QC	Qualitätskontrolle
R&I-Fließbild	Rohrleitungs- und Instrumenten-Fließbild
RFB	repeated Fed-Batch
rGUS	rekombinante β -Glucuronidase
rHSA	rekombinantes Humanes Serumalbumin
RK_i	Rückhalteoeffizienten
RL	release, die aufgeschlossene Biomasse durch Homogenisator
RNA	Ribonukleinsäuren
RoI	Return on Investment
SFC	Chromatographie mit überkritischen Flüssigkeiten.
SFE	Extraktion mit überkritischen Flüssigkeiten
t/a	Tonne pro Jahr (auch jato)
ThR	thermische Risiken
TRGS	Technische Regeln für Gefahrstoffe
UBA	Umweltbundesamt
UF	Ultrafiltration
UWB	Ursache-Wirkung Beziehung
v/v	Volumen per Volumen
VBA	Visual Basic Application
Vfg	Verfügbarkeit
VSE	Valuation System Editor
WCED	World Commission on Environment and Development
WF	Wichtungsfaktoren

WGK	Wassergefährdungsklasse	
WK	Wichtungskoeffizienten der Wirkungskategorien	
XML	Exstensible Markup Language	
Y	Yield,	Ausbeute

ZUSAMMENFASSUNG

Biotechnologische Produktionsprozesse versprechen Verbesserungen hinsichtlich der Nachhaltigkeit. Man kann aber nicht a priori davon ausgehen, dass ein Bioprozess immer nachhaltiger als ein chemischer Alternativprozess ist. Es bleibt in jedem Einzelfall zu prüfen, welcher von mehreren Prozessvarianten nachhaltiger ist. Eine Evaluierung von Prozessen hinsichtlich der Nachhaltigkeitsaspekte muss bereits in frühen Entwicklungsphasen durchgeführt werden.

Bei einer Prozessentwicklung ist eine systematische Vorgehensweise, d.h. das Vorgehen vom Ganzen zum Detail, erforderlich. Ein weiteres Designprinzip ist die zyklische Vorgehensweise bestehend aus Prozesssynthese und -analyse. Durch die beiden Vorgehensweisen besteht die Möglichkeit, Lösungsvarianten systematisch zu erzeugen, durch Analyse frühzeitig zu beurteilen und gegebenenfalls über Abbruch oder Fortsetzung der Entwicklung zu entscheiden.

Prozesssynthese ist der konzeptionelle Entwurf möglicher Prozessalternativen. Durch die so genannte strukturbasierte Synthese werden Prozessalternativen anhand einer allgemeinen Struktur von Bioprocessen generiert. In dieser Arbeit wird gezeigt, wie über die so genannte modulbasierte Prozessmodellierung Modelle von Prozessvarianten einfach erstellt werden können. Dabei besteht ein Prozessmodell aus miteinander verknüpften Modulen. Ein Modul kann eine Grundoperation (Unitmodul) oder eine typische Gruppe von Bioprozessschritten (Blockmodul) repräsentieren.

Basierend auf Simulationsergebnissen werden die Prozessalternativen nach Nachhaltigkeitskriterien evaluiert. Ausgehend von bestehenden Evaluierungsmethoden wurde eine modifizierte Methode entwickelt, die sich sowohl für Screeningzwecke aussichtsreicher Prozessalternativen als auch für Optimierungszwecke zur Ermittlung von Optimierungspotentialen in frühen Entwicklungsphasen eignet. In dieser Arbeit werden einfach die prozentuellen Anteile von Kostenkomponenten zur Ermittlung von Optimierungspotentialen angewendet, während in Literatur die so genannten Ökonomischen Potentialen (EP_i) als Screeningkriterien in jeder Entwicklungsstufe und die so genannten Kosten- bzw. Ökonomischen Indices (CI) für die Evaluierung in frühen Entwicklungsphasen vorgeschlagen wurden. Die Abschätzung der Betriebs- und Investitionskosten in einem frühen Planungsstadium ist sehr wichtig.

Die erarbeitete ökologische Bewertungsmethode basiert auf der Stoffstrombilanz des Prozesses und Stoffeigenschaften. Über eine ABC-Klassifizierung in allen Wirkungskategorien wird der Umweltfaktor einzelner Stoffe (EF_i) ermittelt, der ein Maß für die vom

Stoff ausgehende Umweltbelastung darstellt. Mit dem Faktor werden die aus der Stoffstrombilanz abgeleiteten Massenindices (kg/kg Produkt) gewichtet und eine Reihe von Umweltkennzahlen berechnet. Diese Umweltkennzahlen geben das Umweltgefährdungspotential eines Stoffes bzw. des gesamten (Bio-)Prozesses an.

Die begleitende Evaluierung soll zu einer Prozessverbesserung führen. Dies soll auch für die sozialen Aspekte der Nachhaltigkeit gelten. Die formulierten Kriterien und Indikatoren haben jedoch oft keinen direkten Zusammenhang mit Prozessdaten. In dieser Arbeit wurden soziale Kriterien bzw. Indikatoren aus bestehenden sozialen Bewertungsmethoden identifiziert, die einen direkten Bezug zu Prozess- und Stoffdaten haben.

Die beschriebenen Methoden werden auf drei Fallbeispiele angewendet. Beim ersten Fallbeispiel handelt es sich um zwei Produktionssysteme von Humanem Serumalbumin (HSA) in Gerste und in *Pichia pastoris*. Zwei Varianten der *Pichia*-Prozesse mit *Packed Bed Adsorption* und *Expanded Bed Adsorption* werden modelliert und bewertet. Die größten Optimierungspotentiale der Gerste-Prozessmodelle liegen bei einer Reduzierung des Wasserverbrauchs. Lösungsstrategien, z.B. durch Anreicherung über Trockenfraktionierungen oder Erhöhung des HSA-Gehalts mittels gentechnischer Methoden, werden deshalb empfohlen.

Beim zweiten Fallbeispiel geht es um ein Verfahren zur Biosynthese von chiralen Alkoholen über die asymmetrische Reduktion von prochiralen Ketonen mit *Lactobacillus kefir* als Ganzzellbiokatalysator in einem zweiphasigen System (ionische Flüssigkeit/Phosphatpuffer). Die verwendete ionische Flüssigkeit ist [BMIM][Tf2N]. Im jetzigen Kenntnisstand lassen sich nur teure Produkte (teurer als 200 \$/kg) gewinnbringend produzieren. Aus Kostengründen soll der Verbrauch an [BMIM][Tf2N] minimiert werden. Ökologisch gesehen ist ein Verzicht auf ökonomisch wenig bedeutsames Hexan z.B. durch direkte Destillation wünschenswert.

Das dritte Fallbeispiel betrachtet den Biokatalytischen Emulsionsprozess zur enantio-spezifischen Epoxidierung von Styrol zu (S)-Styroloxid mittels *E. coli* als Ganzzellbiokatalysator. Als organische Phase wird Bis(2-ethylhexyl)phthalat (BEHP) eingesetzt. Dabei werden drei Prozessvariante der biokatalytischen Epoxidierung und ein chemischer Produktionsprozess modelliert, bewertet und miteinander verglichen. Das chemische Prozessmodell zeichnet sich durch eine niedrige Investition aus. Bei den Bioprozessmodellen verursacht BEHP das größte Gefährdungspotential. Grundsätzlich sollte nach Alternative zu BEHP gesucht werden. Aufgrund der bisher erreichten Extraktionsleistung ist noch keine integrierte Produktisolierung mittels Pertraktion möglich. Bei der Anwendung der

Technologie mit Einsatz von superkritischem CO₂ ist das zusätzliche Umweltbelastungspotential durch den Verlust an CO₂ nicht signifikant.

In Rahmen dieser Arbeit wurde außerdem folgende Beiträge zur Entwicklung einer Software für Bioprozessentwicklung (Sabento) geleistet: Modulerstellung für die Aufarbeitungsprozesse, Formulierung eines Assistentenkonzepts zur Synthese von Aufarbeitungsprozessen und Anpassung sowie Implementierung der ökologischen Bewertungsmethode. Die Modulerstellung erfolgte mit Hilfe der Skriptsprache Python.

SUMMARY

Biotechnological production processes promise improvements concerning sustainability. It is too simplistic to see biotechnological processes as inherently clean or sustainable. It has to be proved, which process alternative is more sustainable. A process evaluation concerning the sustainability aspects has to be carried out at the early phases of a process development.

At least two basic procedures are used in a process development, namely the systematic top-down starting with the whole process and moving to more details and the cyclic procedure of process design, which consists of process synthesis and assessment. Using both principles, process alternatives are generated systematically and then assessed at the right time. If necessary, a decision about stop or continuation of the process development has to be made.

Process synthesis is the conceptual generation of possible process alternatives. In this work the so called structure-based synthesis is proposed, in which process alternatives are generated by mean of a common structure of bioprocesses. Potential process alternatives are then transformed into process models using the so called module-based process modeling. Here, a process model consists of a series of modules connected with each other. A module can represent a single unit operation (unit module) as well as a group of typical bioprocess steps (block module).

Based on simulation results the process alternatives are then evaluated. Starting from existing evaluation methods a new method with screening as well as optimization characteristics was developed. In this work the percentages of cost components are used to determine the optimization potentials, whereas the so called economic potentials (EP_i) as screening criteria at each development level and the so called cost or economic indices (CI) for the process evaluation in early development phases are proposed in literature. The prediction of the operation costs and investment is very important in early development stages.

For the evaluation of bioprocesses in very early development phases an ecological assessment method was developed. The assessment method bases on the material balance of the process and compound properties. Based on the compound properties the so called Environmental Factor of each compound (EF_i) is derived using an ABC-classification in all impact categories for the input and output sides. The EF_i is a measure of the environmental relevance of the compound. From the material balance the so called Mass Indices (kg/kg product) are determined and weighed with the corresponding EF_i and a set of indices are calculated. These indices show the potential environmental burdens of each component as well as of the whole process.

The evaluation should improve the process performance. This should be relevant for the evaluation of the social aspects of the sustainability. Some evaluation methods use criteria or indicators, which do not have a direct relationship with process data. Therefore, in this work some social criteria or indicators are identified, which have a direct relationship with process and material data.

The described methods are used in three case studies. In the first case study two production systems of Human Serum Albumin (HSA) in barley and in *Pichia pastoris* are modeled and assessed. Two variants of the *Pichia* processes using *Packed Bed Adsorption* and *Expanded Bed Adsorption* are compared with each other. The main optimization potential in the barley process is related to the high water consumption. Solution strategies have to be developed, e.g. enrichment of the HSA content by dry fractionation or by genetic engineering.

The second case study describes a process for biosynthesis of chiral alcohols from the corresponding prochiral ketone via asymmetric reduction using *Lactobacillus kefir* as whole cell biocatalyst in a two-phase system (ionic liquid /phosphate buffer). The used ionic liquid is [BMIM][Tf₂N]. Due to its high cost the loss of the ionic liquid has to be minimized. From ecological point of view, the use of hexane has to be avoided, e.g. by changing the strategy in the down stream processing without previous extraction.

The third case study deals with the biocatalysis emulsion process for the production of (S)-styrene oxide from styrene using *E. coli* as whole cell biocatalyst. Bis(2-ethylhexyl)phthalate (BEHP) is used as organic phase. Three process variants of the biocatalytic epoxidation and a chemical process were modeled, evaluated and compared with each other. The chemical process model shows the advantage in lower investment costs. In the bioprocess models BEHP causes the largest potential environmental burden. In principle, an alternative of BEHP should be searched. An integrated product recovery using pertraction is not possible yet, due to the low extraction rate. In the case of separation with supercritical CO₂, there is no significant loss of CO₂ and therefore no significant addition of the potential environmental burdens due to CO₂.

In this work, following contributions to the development of a commercial software tool for bioprocess development (Sabento) were accomplished: Generation of modules for the downstream processing, formulation of an assistant concept for the synthesis of downstream processing, and modification as well as implementation of the ecological evaluation method. The generation of modules was carried out using the script programming language Python.

1. EINLEITUNG

1.1. Hintergrund und Motivation

1.1.1. Nachhaltigkeit und biotechnologische Prozesse

Nachhaltige Entwicklung bezeichnet eine Entwicklung, welche den Bedürfnissen der heutigen Generation entspricht, ohne die Möglichkeiten künftiger Generationen zu gefährden, ihre eigenen Bedürfnisse zu befriedigen (WCED, 1997), wobei Nachhaltigkeit oft als Ziel nachhaltiger Entwicklung betrachtet wird. Die Nachhaltigkeit umfasst ökonomische, ökologische und soziale Aspekte. Für die Charakterisierung der Nachhaltigkeit von Produkten und Prozessen wurden verschiedene Kriterien und Methoden erarbeitet.

Biotechnologische Produktionsprozesse versprechen aufgrund ihrer Charakteristika, wie des Einsatzes von nachwachsenden Rohstoffen, der milden Reaktionsbedingungen, etc., Verbesserungen hinsichtlich der Nachhaltigkeit. Über Beiträge der Biotechnologie für die nachhaltige Entwicklung wurde verschiedentlich berichtet, z.B. in den OECD-Studien über die Rolle und Beiträge von Biotechnologie zur industriellen Nachhaltigkeit (OECD, 1998; 2001). Es bleibt jedoch in jedem Einzelfall zu prüfen, ob ein biotechnologischer Prozess zur Verbesserung der Nachhaltigkeit beiträgt bzw. welche Prozessvariante nachhaltiger ist.

1.1.2. Bedeutung integrierter Bioprozessentwicklung in frühen Phasen

Frühe Entwicklungsphasen spielen in jeder Prozessentwicklung eine wichtige Rolle, da der Großteil der im späteren Produktionsprozess anfallenden Kosten und der resultierenden Umweltwirkungen bereits in diesen Phasen festgelegt wird. Die Kosten zur Beseitigung von Fehlentwicklungen nehmen mit zunehmendem Entwicklungsstand zu. Die Handlungsfreiheit ist am Anfang sehr groß und nimmt im Verlauf einer Prozessentwicklung stark ab. Eine integrierte Prozessentwicklung mit Berücksichtigung aller Aspekte der Nachhaltigkeit muss daher bereits zu Beginn der Prozessentwicklung durchgeführt werden, obwohl der Wissenstand am Anfang sehr gering ist (Heinzle und Hungerbühler, 1997; vgl. Abb. 1.1).

Das Ziel einer integrierten Prozessentwicklung ist die Erarbeitung effizienter Prozesse mit ursächlicher Reduktion unerwünschter Auswirkungen von (bio-)chemischen Prozessen auf die Umwelt und Menschen. Für ein Produkt definierter Qualität und Menge soll dies zu einem Prozess führen, der sich sowohl durch ein hohes Maß an ökonomischer und ökologischer Effizienz als auch an inhärenter Sicherheit und gesellschaftlicher Akzeptanz auszeichnet (Heinzle und Hungerbühler, 1997; Blass, 1997).

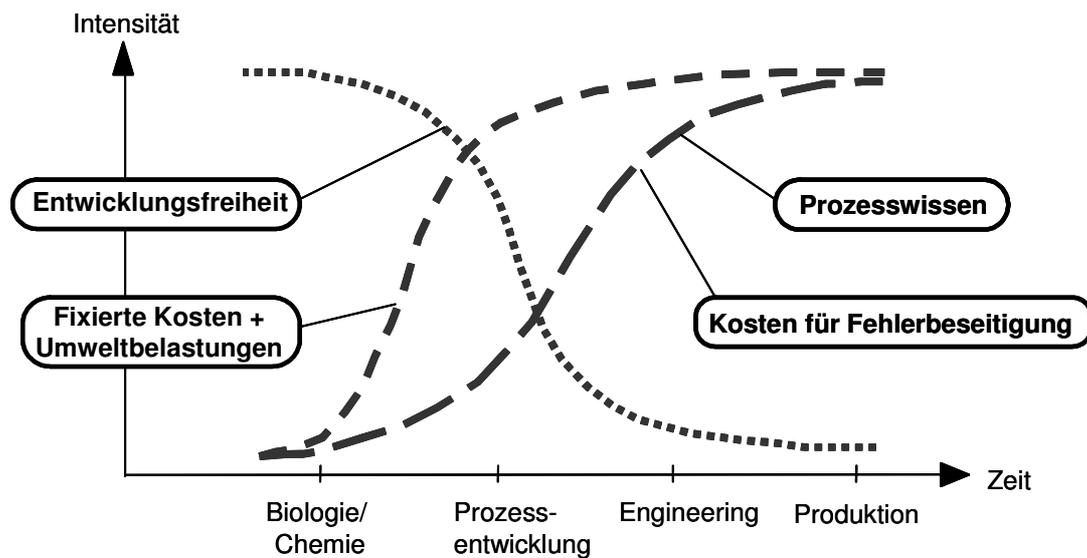


Abb. 1.1. Entwicklungsfreiheit, Prozesswissen, Kosten und Umweltauswirkungen als Funktion von Entwicklungsphasen (Heinzle und Hungerbühler, 1997).

1.2. Bestandsaufnahme

1.2.1. Systematische Bioprozessentwicklung

Die Methodologie zur Entwicklung chemischer Prozesse ist wissenschaftlich und in der Praxis bis zu einem gewissen Grad bereits etabliert, es sind aber weitere Forschungsarbeiten in diesem Gebiet erforderlich. Insbesondere besteht ein Bedarf an einer systematischen Vorgehensweise bei der Bioprozessentwicklung. Hier kann man einiges aus der etablierten Methodologie zur Entwicklung chemischer Prozesse ableiten, was aber nicht einfach eins-zu-eins übernommen werden kann, da Bioprozesse sich von chemischen Prozessen in einigen Aspekten stark unterscheiden.

Die (Bio-)Prozessentwicklung hat einen stark interdisziplinären Charakter. Die beteiligten Hauptdisziplinen sind Chemie, (Mikro-)Biologie, Biotechnologie und Chemieingenieurwesen bzw. Verfahrenstechnik. In der Praxis wird eine Prozessentwicklung von einem interdisziplinären Team mit Akteuren bzw. Experten aus unterschiedlichen Fachgebieten durchgeführt. Dabei wird oft die Mitwirkung von Beratungsfirmen einbezogen. Solche Konstellation ist in klein- und mittelständischen Unternehmen in der Biotechnologiebranche (Biotech-KMUs) oft nicht vorhanden. Hier kann eine vereinfachte, systematische und durch Computersimulation unterstützte Vorgehensweise zur Bioprozessentwicklung in frühen Entwicklungsphasen für Biotech-KMUs bzw. Forschungsinstitutionen sehr hilfreich sein.

1.2.2. Modellierungs- und Bewertungssoftware

Auf dem Markt sind bereits einige Software-Pakete etabliert, die speziell zur Modellierung biotechnologischer Prozesse entwickelt wurden oder ausgehend von der langen Tradition der Modellierung und Simulation chemischer Prozesse entstanden. Erfolgreiche Beispiele solcher Software-Pakete sind SuperPro-Designer (Intelligen, Inc., Scotch Plains, USA) und Batch Plus (Aspen Technology Inc., Cambridge, USA). Mit solcher Software kann man biotechnologische Prozesse sehr gut modellieren. Allerdings stehen Funktionalitäten zur ökologischen Prozessbewertung nur sehr eingeschränkt zur Verfügung.

Die Stoffstrommanagement-Software Umberto (Ifu GmbH, Hamburg) bietet dem Anwender die Möglichkeit eigene Bewertungssysteme anzulegen. Mit Umberto ist eine Bioprozessmodellierung im Prinzip möglich. So wurde Umberto als Plattform für ein zu entwickelndes Instrument zur Bioprozessentwicklung mit begleitender Evaluierung ausgewählt. Die im Rahmen des BMBF-Projekt „Simulationsgestützte Bewertung der Nachhaltigkeit biotechnologischer Produktion“ durchgeführte Arbeit beschäftigt sich unter anderem mit der Erarbeitung von Prozessmodulen bzw. -bausteinen für die Bioprozessmodellierung.

1.2.3. Methoden und Kriterien der Nachhaltigkeitsbewertung

1.2.3.1 Ökologische Aspekte der Nachhaltigkeit

Viele Methoden zur Ökobilanzierung wurden bereits entwickelt. Dazu gehören z.B. die CML-Methode, Eco-Indicator 95, Eco-Indicator 99, die UBA-Methode, die BUWAL-Methode, etc. (s. z.B. Renner und Klöpffer, 2003). Diese Methoden wurden primär zur Bewertung bestehender Prozesse bzw. Produkte konzipiert und benötigen meist umfangreiches Datenmaterial, was in Frühphasen einer Prozessentwicklung in der Regel kaum vorhanden ist. Deshalb sind die genannten Methoden zur Prozessevaluierung in frühen Entwicklungsphasen praktisch wenig geeignet. Außerdem ist die Anwendung solcher Methoden oft mit einem sehr großen Aufwand verbunden und deshalb insbesondere für KMUs völlig ungeeignet.

Die Mehrzahl der Bewertungsmethoden ist außerdem stark wirkungsorientiert und somit nur bedingt für eine frühe Analyse geeignet. Um Vorschläge für die Prozessoptimierung zu erhalten, werden Bewertungsmethoden benötigt, die in der Lage sind, die Verursacher größter ökologischer Auswirkungspotentiale ausfindig zu machen.

Die Methoden zur Ökobilanzierung wurden vorwiegend für klassische Produkte und Prozesse entwickelt und eignen sich daher nur bedingt für biotechnologische Prozesse (Renner und Klöpffer, 2003). Einige spezifische biotechnologischen Charakteristika wurden oft nicht

berücksichtigt. Dazu gehören der Einsatz von erneuerbaren Stoffen als Rohmaterial, Eigenschaften von Biomaterialien (biologische Risiken) und der große Wasserverbrauch während des Produktionsprozesses. Im Grunde gibt es noch keine speziell für Bioprozesse entwickelte Bewertungsmethoden.

1.2.3.2 Ökonomische Aspekte der Nachhaltigkeit

Ökonomische Überlegungen stehen neben technischen Kriterien bei der Entwicklung von (bio-)chemischen Prozessen immer an zentraler Stelle. Die ökonomische Bewertung ist praktisch immer ein fester Bestandteil einer Software zur Bioprozessmodellierung, z.B. SuperPro-Designer. In SuperPro-Designer lassen sich verschiedene ökonomische Größen ermitteln, z.B. Material- und Betriebskosten, Umsatz, Bruttomarge, Investition, *Return on Investment* (RoI), *Internal Rate of Return* (IRR), *Net Present Value* (NPV) bzw. Kapitalwert. Für eine umfassende Evaluierung aller ökonomischen Aspekte müssen aber Prozessdaten zur Verfügung stehen, die in frühen Phasen einer Prozessentwicklung in der Regel nicht vorhanden sind. Deshalb wurden Methoden entwickelt, die mit einer geringeren Datenmenge auskommen. So schlug Douglas (1988) die Anwendung von ökonomischen Potentialen (EP_i) für Screeningzwecke von Prozessalternativen in verschiedenen Hierarchiestufen einer Prozessentwicklung vor. Es wird angenommen, dass eine solche Vorgehensweise mit EP_i auch für die systematische Bioprozessentwicklung gut geeignet ist. Für gleiche Zwecke schlugen Heinzle et al. (1998) die so genannten Kosten- bzw. ökonomischen Indices (CI) vor.

1.2.3.3 Soziale Aspekte der Nachhaltigkeit

Die sozialen Aspekte der Nachhaltigkeit wurden bei einer Prozessentwicklung bisher meist nicht berücksichtigt oder nur qualitativ betrachtet. Sie haben oft keinen direkten Zusammenhang mit den Prozess- bzw. Stoffdaten. Da die begleitende Evaluierung auch zu einer Prozessverbesserung führen sollte, sollten diejenigen sozialen Kriterien einbezogen werden, die einen direkten Bezug zu Prozess- bzw. Stoffeigenschaften haben.

Es sollte möglich sein, dass einige der sozialen Kriterien mit den Prozess- und Stoffdaten in Verbindung gebracht werden. Dabei geht es nicht darum, eine neue Evaluierungsmethode der sozialen Aspekte zu entwickeln, sondern einige soziale Kriterien aus bestehenden sozialen Bewertungsmethoden zu identifizieren, die einen direkten Bezug zu Prozess- und Stoffdaten haben. Beispiele sind die soziale Bewertungsmethode der Software zur Bioprozessentwicklung *Sabento* (Geibler et al., 2005a; 2005b) und die Bewertungsmethode, die Teil der Nachhaltigkeitsbewertungsmethode SEEbalance® von BASF ist (Schmidt, 2003; Schmidt et al., 2004).

1.3. Zielsetzung und Aufgabenstellung

Die Ziele dieser Arbeit waren, systematische Vorgehensweisen zur Entwicklung biotechnologischer Prozesse mit begleitender Evaluierung hinsichtlich der Nachhaltigkeitskriterien zu entwickeln, Beiträge zur Entwicklung einer Software für Bioprozessentwicklung zu leisten, sowie diese Methoden an Hand zu erarbeitender Fallbeispiele zu validieren. Bei diesen handelt es sich um Forschungsprojekte zur Entwicklung von Bioprocessen.

Diese Ziele lassen sich in folgende Aufgaben unterteilen:

1. Konzeption der simulationsgestützten, systematischen Bioprozessentwicklung
 - Analyse der Methodologie zur systematischen Entwicklung chemischer Prozesse
 - Charakterisierung der Entwicklung biotechnologischer Prozesse
 - Formulierung von Ansätzen zur systematischen Bioprozessentwicklung
2. Formulierung strukturbasierter Synthese von Bioprocessen
 - Identifizierung allgemeiner Strukturen von Bioprocessen
 - Formulierung eines strukturbasierten Designs von Bioprocessen
 - Implementierung der strukturbasierten Synthese von Bioprocessen
3. Konzeption der Bioprozessmodellierung und Erstellung von Prozessbausteinen
 - Konzeption des methodischen Vorgehens
 - Software-Charakterisierung und Formulierung von Verbesserungsansätzen
 - Erstellung von Prozessbausteinen bzw. Modulen
4. Anpassung und softwaretechnische Implementierung der Evaluierungsmethoden
 - Anpassung der ökonomischen Evaluierungsmethode und Kriterien
 - Anpassung der ökologischen Evaluierungsmethode und Kriterien
 - Verknüpfung ausgewählter sozialen Kriterien mit Prozess- und Stoffdaten
 - Softwaretechnische Implementierung
5. Praktische Beiträge zu simulationsgestützter, systematischer Bioprozessentwicklung
 - Erstellung vorgefertigter Prozessmodelle und Prozessbausteine bzw. Module
 - Implementierung der strukturbasierten Synthese von Bioprocessen
 - Softwaretechnische Implementierung der Evaluierungsmethode
6. Bearbeitung von Fallbeispielen
 - Produktionssysteme von Human Serum Albumin (HSA) (BMBF-Projekt)
 - Biokatalyse im zweiphasigen System Wasser/ionische Flüssigkeit (BMBF-Projekt)
 - Biokatalytischer Emulsionsprozess zur enantiospezifischen Epoxidierung von Styrol (DBU-Projekt)

2. BIOPROZESSENTWICKLUNG

2.1. Einleitung

Die Methodologie der Entwicklung chemischer Prozesse wurde seit den 60-igen Jahren intensiv entwickelt und kann als weitgehend etabliert betrachtet werden. Nach wie vor gibt es jedoch viele offene Fragen und deshalb sind Forschungsarbeiten in diesem Gebiet weiter im Gange (vgl. Korevaar, 2004; Cziner et al., 2005).

Im Vergleich dazu besteht ein enormer Nachholbedarf im Bereich Biotechnologie. Da Bioprozesse von der Struktur her ähnlich sind, kann man einiges aus der chemischen Prozessentwicklung für die Bioprozessentwicklung übertragen. Dabei kann man aber nicht einfach alles eins-zu-eins übernehmen, da Bioprozesse einige Unterschiede aufweisen. Biotechnologische Prozesse sind normalerweise durch wenige Synthesestufen aber mit komplexen Materialien und Produkten und deshalb komplexer Aufarbeitung charakterisiert.

Beispiele von Bioprodukten sind Antibiotika, therapeutische Proteine, Vitamine, Enzyme, Polysaccharide, Amino- und organische Säuren, Alkohole, (Zell-)Biomasse, etc. Die meistens Bioprodukte sind oft komplexe Materialien, die sich hinsichtlich ihrer physikalischen Eigenschaften schlecht charakterisieren lassen. Diese Eigenschaften sind außerdem thermodynamisch schwer vorzuberechnen. Bioprodukte liegen normalerweise in einer niedrigen Konzentration in Medien mit komplexer Zusammensetzung vor. Deshalb ist die Aufarbeitung von Bioprodukten in der Regel schwierig, auch weil je nach Anwendungen ein bestimmter Qualitäts- bzw. Reinheitsgrad erreicht werden muss.

Aus dem Hintergrund wird in diesem Kapitel erstmal die Entwicklung chemischer Prozesse dargestellt. Hier werden der allgemeine Ablauf einer Prozessentwicklung, die Bedeutung frühen Entwicklungsstadien und das Konzept der integrierten Prozessentwicklung erläutert. Danach wird das Konzept der systematischen Bioprozessentwicklung behandelt.

2.2. Entwicklung chemischer Prozesse

2.2.1. Allgemeinen

Insbesondere komplexe Stoffe benötigen eine Reihe von Synthesestufen. Ein chemischer Produktionsprozess besteht im Allgemeinen aus einer Vorbehandlungsstufe, einer Hauptumwandlungsstufe sowie einer Auftrennungs- und Reinigungsstufe. Ein Prozess zur Stoffumwandlung ist stets aus einer Reihe von Grundoperationen zusammengesetzt. Im Verlauf einer Prozessentwicklung werden die Möglichkeiten untersucht, eine gewünschte

Stoffänderung auf einem neuen, technisch machbaren, ökologisch vertretbaren, wirtschaftlich und industriell auswertbaren Weg zu erreichen (Blass, 1997).

In der so genannten integrierten Prozessentwicklung werden effiziente Prozesse mit ursächlicher Reduktion unerwünschter Wechselwirkungen zwischen einem (bio-)chemischen Prozess und der Umwelt erarbeitet. Für ein Produkt definierter Qualität und Menge soll dies zu einem Prozess führen, der sich sowohl durch ein hohes Maß an ökonomischer und ökologischer Effizienz als auch an inhärenter Sicherheit und gesellschaftlicher Akzeptanz auszeichnet (Heinzle et al., 1997)

2.2.2. Entwicklungsphasen

Die Prozessentwicklung wird nach Blass (1997) in drei Konkretisierungsphasen aufgeteilt: Vorstudie, Hauptstudie und Detailstudien. Ähnliche Aufteilungen der Verfahrensentwicklung sind z.B. Vorstudie, Basic Engineering und Detail Engineering (Marquardt, 2005) oder Vorstudie (inkl. Entwicklung von Reaktions- und Prozessschema), Basic Design und Detail Design (Peters und Timmerhaus, 1991; 2003) oder Chemische Synthese, Verfahrensentwicklung, Anlageprojektierung und Technische Realisierung (Heinzle und Hungerbühler, 1997) oder Prozesssynthese, Ausarbeitungsphase und Auslegungsphase (Buschulte und Heimann, 1995).

Abb. 2.1 gibt eine allgemeine Einteilung der Entwicklungsphasen in Anlehnung an Blass (1997) und Heinzle und Hungerbühler (1997) wieder. Als frühe Entwicklungsphasen werden chemische Synthese und Vorstudie bezeichnet. Während der Phase chemische Synthese werden die chemischen Reaktionen untersucht und es erfolgt die chemische Optimierung. Normalerweise werden hier die ersten Versuche zur Produktabtrennung im analytischen Maßstab durchgeführt.

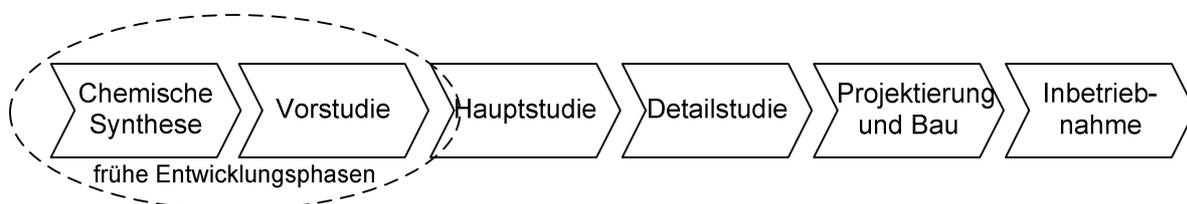


Abb. 2.1. Allgemeiner Ablauf der Entwicklung chemischer Prozesse in Anlehnung an Blass (1997) und Heinzle und Hungerbühler (1997).

Die Vorstudie beinhaltet die Überprüfung der Lösungsprinzipien und ihrer Machbarkeit in technischer, wirtschaftlicher, ökologischer und sozialer Hinsicht. Dabei werden die einsetzbaren Rohstoffe, die möglichen Reaktionswege und die anfallenden Neben- bzw.

Abfallprodukte, sowie daraus folgenden ökonomischen und ökologischen Konsequenzen analysiert. Die erfolgsversprechendsten Lösungsvarianten werden dabei herausgearbeitet. Wenig aussichtsreiche Lösungsvarianten sollen bereits verworfen werden (Blass, 1997).

In der Hauptstudie soll schließlich das Gesamtkonzept für Investitionsentscheidungen erarbeitet werden. Sie soll außerdem notwendige Detailstudien definieren und Prioritäten für ihre Durchführung festlegen, da nicht alle Details gleichzeitig und auf breiter Front vorangetrieben werden können. Außerdem kann das frühzeitige Festlegen wichtiger Systemteile die Komplexität des Entwicklungsprozesses verringern (Blass, 1997). In den Detailstudien wird alles so weit konkretisiert, dass die Entscheidungsgrundlagen für das Management geschaffen werden. Am Ende der Detailstudien werden die Unterlagen für die mögliche, anschließende Projektierung bereits gestellt (Blass, 1997).

Im Allgemeinen gibt es keine einheitliche Definition der Entwicklungsphasen chemischer Prozesse. Aufgrund verschiedener Industriekulturen (z.B. in Deutschland und in den USA) gibt es unterschiedliche Betrachtungsweisen von Prozessentwicklung. Selbst innerhalb einer Industriekultur gibt es solche Unterschiede. Als Beispiel ist hier die Betrachtungsweise unterschiedlicher Prozess- bzw. Fließdiagramme.

Peters und Timmerhaus (2003) verwendet folgende Diagramme bzw. Fließbilder: Input/Output-Diagramm, Funktionsdiagramm, Operationsdiagramm und *final flowsheet* oder (Verfahrens-)Fließbild. In Deutschland werden neben dem Input/Output-Diagramm normalerweise drei Fließbilder genannt: Grundfließbild, Verfahrensflißbild und Rohrleitungs- und Instrumenten-Fließbild (R&I-Fließbild). Es gibt jedoch keine übereinstimmenden Vorstellungen, wann und wie diese eingesetzt werden. In welchem Kontext die drei Fließbildbezeichnungen verwendet werden, sind sich die Experten auch nicht einig.

Blass (1997) verwendet die drei Fließbilder in Bezug auf die Abstraktionsebenen (Funktions-, Physik- und Bauartebene). Die Funktionsebene mit dem Ziel der Festlegung der Funktionsstruktur wird durch ein Grundfließbild dargestellt. In der Physikebene zur Festlegung der Prozessstruktur wird ein Verfahrensflißbild erstellt. Ein R&I-Fließbild wird auf der Bauartebene erstellt. Nach Blass (1997) werden die drei Abstraktionsebenen prinzipiell bei jeder Entwicklung in der Vor- und Hauptstudie durchlaufen. Er schränkt aber ein, dass die Ebenen in der Praxis nie scharf voneinander getrennt werden.

Nach Marquardt (2005) werden die drei Fließbilder mit den Entwicklungs- bzw. mit den Konkretisierungsphasen verknüpft, wobei ein Fließbild quasi als Resultat einer Entwicklungsphase gilt. Das Resultat einer Vorstudie ist ein Grundfließbild. Nach der Phase Basic- bzw. Hauptstudie erhält man ein Verfahrensflißbild und nach der Phase Detailstudie

ein R&I-Fließbild. Anstelle von Basicstudie und Detailstudie verwendet Marquardt (2005) die Bezeichnung Basic Engineering und Detail Engineering.

Trotz der unterschiedlichen Definitionen der Entwicklung chemischer Prozesse in den verschiedenen Industriekulturen und von Experten innerhalb einer Industriekultur ist klar, dass das Prinzip einer stufenweisen Entwicklung vom Abstrakten zum Konkreten hin ein wesentlicher Bestandteil jeder methodisch orientierten Entwicklungstätigkeit ist.

2.2.3. Bedeutung früher Entwicklungsphasen

In Kap. 1.1.2 wurden bereits die Charakteristika einer Prozessentwicklung und die Bedeutung der frühen Entwicklungsphasen erläutert. Die Handlungsfreiheit ist am Anfang sehr groß und nimmt im Verlauf einer Prozessentwicklung stark ab. Der Wissenstand nimmt normalerweise langsam mit dem zeitlichen Entwicklungsverlauf zu. Der Großteil der im späteren Produktionsprozess anfallenden Kosten und der resultierenden Umweltwirkungen wird bereits in frühen Phasen der Prozessentwicklung festgelegt. Die Kosten zur Beseitigung von Fehlentwicklungen nehmen mit zunehmendem Entwicklungsstand zu (s. Abb. 1.1).

Daher muss eine integrierte Prozessentwicklung mit Berücksichtigung aller Aspekte der Nachhaltigkeit bereits zu Beginn der Prozessentwicklung durchgeführt werden. Langfristig gesehen sind vorteilhafte und richtungweisende Entscheidungen zu treffen. Zu Beginn der Prozessentwicklung ist das vorhandene Prozesswissen jedoch gering. Die anfänglich noch schwache Datenbasis muss beispielsweise durch Prozessmodellierung und –simulation kompensiert werden (Heinzle und Hungerbühler, 1997; Hungerbühler et al. 1998).

Ein anderer Aspekt ist der Entwicklungsprozess selbst, der immer mit Entscheidungen verbunden ist. Jeder Entscheidungsprozess während einer Prozessentwicklung erfordert aber seinen Aufwand und verursacht Kosten, wobei die Erfolgsraten oft gering sind. Bei neuen Prozessen sind die Erfolgsraten im Stadium der chemischen Synthese (bzw. Forschung) ca. 1-3 %, im Stadium der konzeptionellen Prozessentwicklung 10-25 % und im Stadium der Versuche in Pilotanlagen 40-60 % (Douglas, 1988).

Andererseits ist die Variantenvielfalt, die zur Lösung des Problems führen kann, sehr groß. Douglas (1988) gibt 10^4 bis 10^9 Alternativen an. Deshalb ist eine effiziente Screeningmethode sehr wichtig. Douglas (1988) schlug die Anwendung von ökonomischen Potentialen (EP_i) als Screeningkriterien für jede Entwicklungsstufe vor (s. Kap. 4.2).

Die Detaillierung während der Prozessentwicklung muss von einer Verbesserung in den Wirtschaftlichkeitsüberlegungen bei vertretbarem Aufwand begleitet werden. Für die

ökonomischen Aspekte ist eine Abschätzung der Betriebs- und Investitionskosten in einem frühen Planungsstadium daher zwingend erforderlich (Marquardt, 2005).

2.2.4. Systematische Prozessentwicklung

2.2.4.1 Systemkonzept und hierarchische Ordnung

Eine systematische Vorgehensweise bei der Prozessentwicklung ist erforderlich, weil die Komplexität der Aufgabenstellung hoch ist, gekennzeichnet durch viele Einflussgröße, viele Alternativen und ein komplexes Ergebnis (Marquardt, 2005). Eine solche systematische Vorgehensweise wird aus dem Systemkonzept abgeleitet. Ein System ist ein durch eine (ideelle oder reale) Systemgrenze begrenzter Teil der Wirklichkeit, der in einer bestimmten Umgebung ein charakteristisches Verhalten zeigt. Die Struktur des Systems ist bedingt durch die Menge seiner Elemente und durch die Menge der Kopplungen, welche die Elemente aufgrund ihrer Eigenschaften verknüpfen. Die Umgebung liefert die Eingangsgrößen für das System und nimmt seine Ausgangsgrößen auf (Blass, 1997).

Das Systemkonzept hat eine hierarchische Eigenschaft und birgt die Möglichkeit, komplexe Systeme in eine überschaubare Zahl von Untersystemen und Subsystemen zu zerlegen. Dadurch kann die Komplexität verringert und Übersicht unter Verzicht auf vorerst untergeordnete Aspekte gewonnen werden. Hierbei kann die Black-Box-Darstellung wirkungsvolle Hilfe leisten. Für den Bearbeiter ist es eine Frage der Zweckmäßigkeit und der Überschaubarkeit, wie weit ein System in Bestandteile zerlegt, wie viele Elemente zu Teilsystemen zusammengefügt werden (Blass, 1997).

Aggregation und Dekomposition sind zwei Sichtweisen zur Strukturierung eines komplexen Systems in der so genannten hierarchischen Ordnung (Marquardt, 2005). Bei der Aggregation oder Abstraktion werden feingranulare Teilsysteme zu grobgranularen Systemen zusammengefasst, während bei der Dekomposition oder Detailierung grobgranulare Systeme feiner aufgelöst und in feingranulare Teilsysteme aufgespalten werden. Dekomposition legt Details offen, Aggregation verbirgt sie. Die Auswahl eines Auflösungs-niveaus erlaubt eine an einen Arbeitskontext anpassbare Komplexität.

Ein Produktionsprozess ist im Sinne des Systemkonzeptes auch ein komplexes System, das aus verschiedenen, miteinander verknüpften Teilprozessen besteht. Die Elemente der verfahrenstechnischen Systeme sind in erster Linie die Prozessschritte zur Wandlung, zur Trennung, zum Transport und zur Speicherung von Stoffen und Energien. Die Elemente werden durch die Stoff- und Energieströme miteinander und mit der Umgebung verknüpft (Blass, 1997).

2.2.4.2 Systematische Vorgehensweise

Das Grundprinzip der systematischen Vorgehensweise ist das Vorgehen vom Abstrakten zum Konkreten. Das Prinzip der stufenweisen Entwicklung vom Abstrakten zum Konkreten oder vom Groben zum Detail bietet die Möglichkeit, das Problem schrittweise zu strukturieren, Lösungsvarianten systematisch zu erzeugen, frühzeitig zu beurteilen und gegebenenfalls ungeeignete auszuschneiden, bevor etwa die im Zuge der Konkretisierung gewaltig anwachsende Planungsarbeit mit dem verbundenen Arbeits- und Zeitaufwand zu leisten ist (Blass, 1997).

Ein weiteres Prinzip ist die zyklische Vorgehensweise beim Prozessdesign. Ein Designvorgang besteht prinzipiell aus Prozesssynthese und -analyse. Prozesssynthese ist der konzeptionelle Entwurf des gesuchten Prozesses auf der Basis der Zieldefinitionen. Hier gilt an erster Stelle die Ausbreitung der Vielfalt möglicher Lösungsvarianten. Bei der systematischen Analyse geht es um Prüfen der synthetisierten Lösungsvarianten auf die gewünschte Funktion, auf das Einhalten von Zielen, auf Vollständigkeit, etc. Mit der Analyse sind schließlich die Voraussetzungen für die Bewertung konkurrierender Lösungsvarianten und für die Entscheidung über Abbruch oder Fortsetzung der Entwicklung geschaffen (Blass, 1997). Dabei werden die Varianten aufgrund festzulegender Kriterien bewertet und nur jene wird auf der nächsten Ebene weiterverfolgt, die die besten Erfolgschancen verspricht. Abb. 2.2 deutet ein Problemlösungszyklus während eines Prozessdesigns an (Marquardt, 2005). Die Vorgehensschritte sind hier nicht in linearer Folge aneinanderreicht.

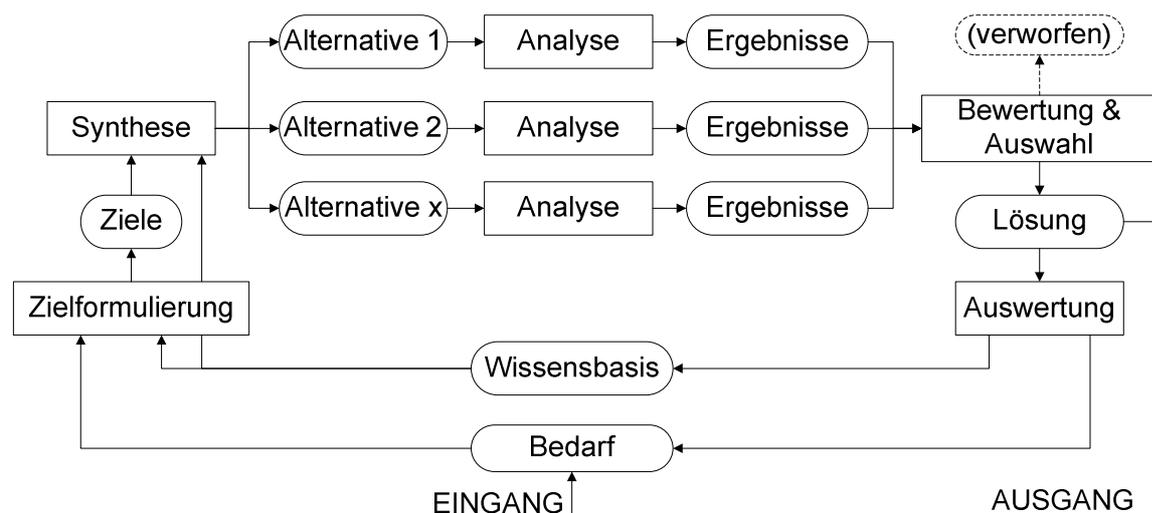


Abb. 2.2. Problemlösungszyklus; modifiziert und vereinfacht nach Marquardt (2005).

2.3. Bioprozessentwicklung

2.3.1. Stand der methodischen Entwicklung

2.3.1.1 Methodische Entwicklung in universitären Forschungsinstitutionen

Mit dem Thema Computer-basiertes Design von Bioprocessen beschäftigte sich Petrides Ende der 80-igen Jahre in der Arbeitsgruppe von Prof. Cooney (Chemical and Biochemical Engineering, MIT, Boston). Bei der Arbeit ging es um die Entwicklung von BioDesigner (Petrides, 1990) als Vorgänger des jetzigen SuperPro-Designer. Das Bioprocessdesign mit BioDesigner verfolgte die gleiche Design-Philosophie wie diejenige von Douglas (1988) und besteht deshalb aus Prozesssynthese und Prozessanalyse. Für die Prozesssynthese wurde eine heuristische, auf Expertenwissen basierte Methode entwickelt. Für die Prozessanalyse wurden Stoff- und Energiebilanzen und eine ökonomische Evaluierung verwendet.

Die Forschungsgruppe um Prof. Titchener-Hooker (Department of Biochemical Engineering, University College London (<http://www.ucl.ac.uk/biochemeng/>)) beschäftigt sich mit den Themen Design und Evaluierung von biopharmazeutischen Projekten, sowie Entwicklung mathematischer Modellierung von Grundoperationen (Farid et al., 2005; 2000; Willoughby et al., 2004; Zhou and Titchener-Hooker, 2003; Ciccolini et al., 2002; Zhou et al., 1999). Mit ähnlichen Themen beschäftigt sich die Arbeitsgruppe von Prof. Asenjo (*Centre for Biochemical Engineering and Biotechnology*, Universität von Chile), die sich mehr auf Prozesssynthese und Optimierung von Aufarbeitungsprozessen von Proteinen mit Hilfe von Experten-Systemen und mathematischer Modellierung konzentriert (Asenjo et al., 2000; Lienqueo et al., 1999). In den beiden Arbeitsgruppen werden jedoch nur technische und ökonomische, aber keine ökologische Aspekte in der Prozessentwicklung berücksichtigt.

Biwer und Heinzle arbeiteten am Institut für Technische Biochemie der Universität des Saarlandes an Methoden zur Evaluierung biotechnologischer Prozesse in frühen Entwicklungsphase nach ökologischen Aspekten (Biwer, 2003; Biwer und Heinzle, 2004; Heinzle et al., 2006; Heinzle et al., 2007). Bei der Methodenentwicklung konnte auf Arbeiten aus der Arbeitsgruppe für Umwelt- und Sicherheitstechnologie der ETH Zürich zurückgegriffen werden (Heinzle und Hungerbühler, 1997; Heinzle et al., 1998).

2.3.1.2 Praxisbeispiele in Beratungs- bzw. Anlagenbauunternehmen

Der Ansatz *Front-End-Engineering* von Linde-KCAs wurde entwickelt, um eine gesicherte Bewertung von biotechnologischen Entwicklungsprojekten im Hinblick auf Risiken, Kosten und Zeit bereits in frühen Entwicklungsphasen zu ermöglichen. Ziel dabei ist, Risiken zu

minimieren und der Zeitablauf für Planung und Bau der Anlagen zu optimieren (Reifferscheid und Bronnenmeier, 2004).

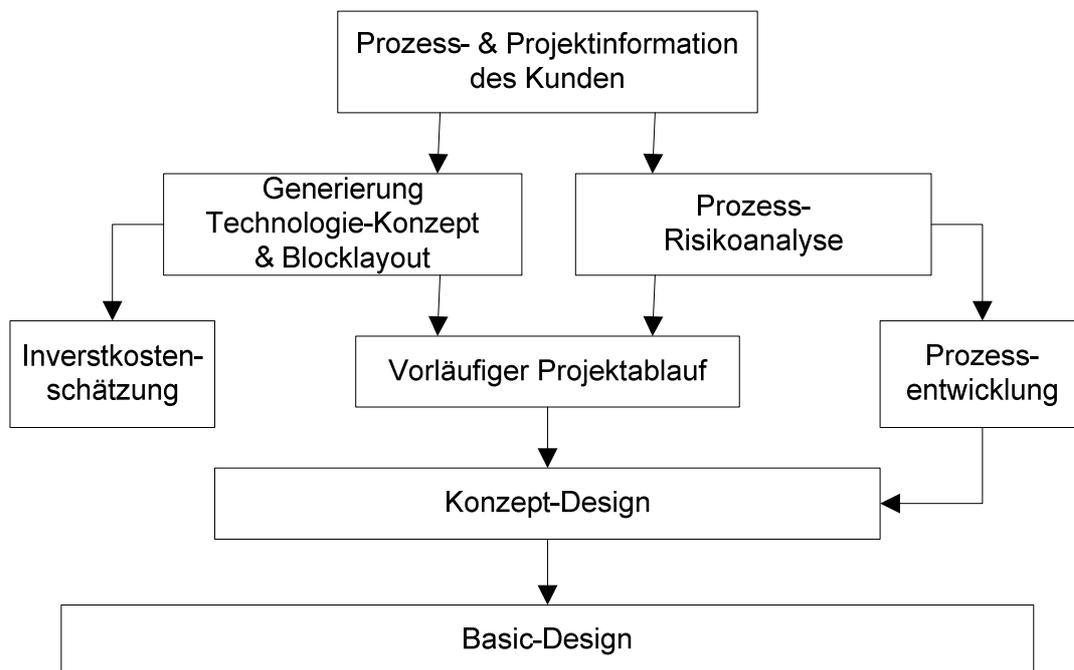


Abb. 2.3. Der Ansatz *Front-End-Engineering* von Linde-KCAs (Dresden, Deutschland) (Reifferscheid und Bronnenmeier, 2004)

Basierend auf Prozess- und Projektinformationen von Kunden werden ein Technologiekonzept und ein Blocklayout entwickelt. Auf Basis des Technologiekonzepts und des Blocklayouts und über Benchmarkingfaktoren wird eine frühe Investitionskostenschätzung durchgeführt, deren Genauigkeit etwa bei $\pm 30\%$ liegt. Parallel dazu wird eine Prozessrisikoanalyse durchgeführt. Dabei werden kritische Prozessschritte für die Anlageplanung frühzeitig identifiziert. Die Ausarbeitung eines vorläufigen Projektablaufplans vervollständigt die Dokumentation der Front-End-Studie. Die Informationen aus der Studie werden als Basis für die folgenden Projektphasen, nämlich Konzeptdesign und Basic-Design, verwendet. Das iterativ erarbeitete Konzeptdesign beinhaltet einen mehr detaillierten Projektablaufplan und eine Kostenschätzung. Diese Kostenschätzung soll als Basis für die Investitionsentscheidung des Managements dienen.

Für die frühen Entwicklungsphasen wurden verschiedene Tools entwickelt. Zu den Tools gehören eine Modell-Teilanlagen-Bibliothek, eine Layout-Bibliothek für Teilanlagen und ein Layout-Planungshandbuch. Die Modell-Teilanlagen-Bibliothek wird zusammen mit dem Know-How des Anlagenplaners zur Generierung des Technologiekonzepts verwendet.

Einige Unternehmen, z.B. Pharmaplan GmbH (Oberursel, Deutschland), Pharmadule (Nacka, Schweden), NNE (ehem. Novo Nordisk Engineering; Soeborg, Dänemark) und Triplan AG

(Bad Soden, Deutschland), verfolgen das so genannte modulare System, das im Bereich Anlagenplanung und -Bau pharmazeutischer bzw. biotechnologischer Produktionsprozesse eingesetzt wird. Das wichtigste Element dieses Konzeptes ist ein baukastenähnlicher, modularer Aufbau der gesamten Produktionsanlage. Hier werden Funktionalitäten ausgewählt und entsprechende Anlagenteile definiert, geplant und vorgefertigt. Dadurch lassen sich Einsparungen bezüglich Kosten und Zeit erzielen. Beispiele, die auf Basis des modularen Systems entwickelt wurden, sind die Anlage zur Impfstoffproduktion durch Pharmaplan im Auftrag von Green Cross Vaccine Corp. (Berna Biotech Group) (Meyer, 2003) und die Produktionsanlage von FVIIa, einem Hämophilie-Arzneimittel (NovoSeven®) durch NNE im Auftrag von Novo Nordisk (<http://www.nne.biz/>).

2.3.2. Systematische Bioprozessentwicklung

2.3.2.1 Ablauf einer Bioprozessentwicklung

Der allgemeine Ablauf der Entwicklung biotechnologischer Prozess wird in Abb. 2.4 in Anlehnung am allgemeinen Ablauf der Entwicklung chemischer Prozesse (Abb. 2.1) dargestellt. Unter „Biologie“ werden hier die Entwicklungsstufen Biokatalysator- bzw. Stammentwicklung, Medienoptimierung und Reaktionsoptimierung verstanden.

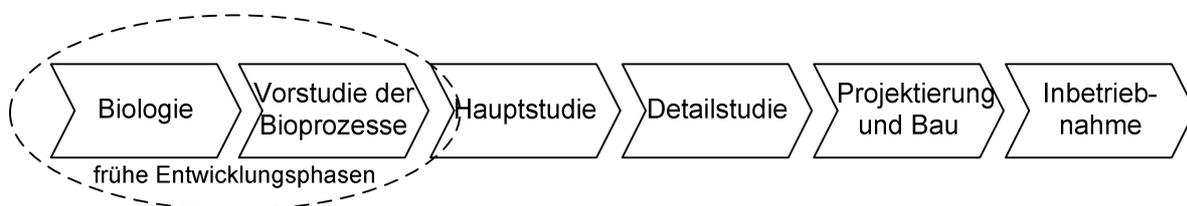


Abb. 2.4. allgemeiner Ablauf der Entwicklung biotechnologischer Prozesse.

Der Lebenszyklus eines Bioprozesses besteht somit insgesamt aus Biokatalysatorentwicklung, Medienoptimierung, Reaktionsoptimierung, Vor-, Haupt- und Detailstudien, Projektierung, Realisierung (Bau und Montage) und Inbetriebnahme, sowie evtl. Stilllegung und Abbau der Anlage. Die frühen Phasen einer Bioprozessentwicklung bestehen typischerweise aus Biokatalysatorentwicklung, Medien- und Reaktionsoptimierung, sowie die Vorstudie des Bioprozesses inkl. Aufarbeitung.

Abb. 2.5 stellt die vier typischen Frühstufen einer Bioprozessentwicklung dar. Die Prozessentwicklung läuft nicht linear ab. Die vier Stufen sind eng miteinander insbesondere mit den benachbarten Stufen integriert. Die Ergebnisse einer Stufe werden als Grundlage für die Bearbeitung der folgenden Stufe verwendet. Die Ergebnisse folgender Stufen geben

andererseits Hinweise auf mögliche Verbesserungsmaßnahmen, die in vorherigen Stufen ausgeführt werden müssen. Jede Stufe wird normalerweise sowohl durch experimentelle Versuche als auch durch computerbasierte Datenbanken und Modellierungen unterstützt.

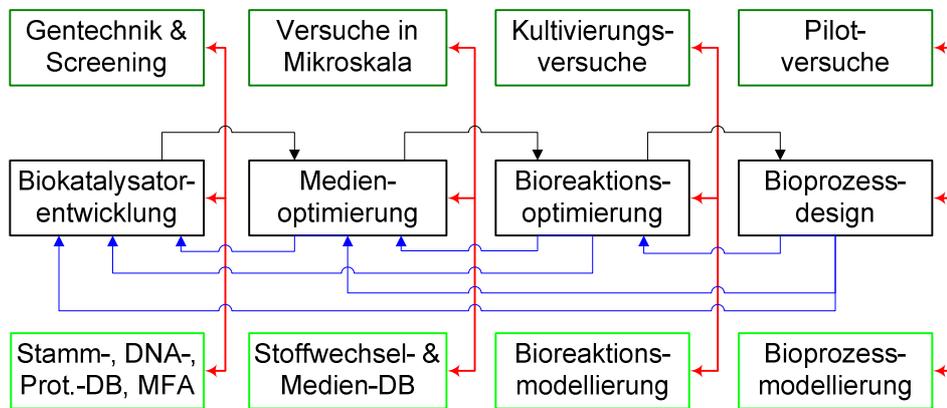


Abb. 2.5. Typische Frühstufen einer Bioprozessentwicklung. Abkürzungen: Prot. = Protein; DB = Datenbank; MFA = metabolische Flussanalyse.

Während der Stammentwicklung werden gentechnische Versuche mit Hilfe von molekular- bzw. mikrobiologischen Methoden und Screening-Versuche durchgeführt. Diese Versuche werden u.a. durch Stamm-, Gen-, und Proteindatenbank, sowie mathematische Modellierung z.B. für metabolische Flussanalyse (MFA) unterstützt.

Vor oder zusammen mit der Bioreaktionsoptimierung wird normalerweise die Medienoptimierung durchgeführt. Dabei geht es um die Suche nach optimaler Medienzusammensetzung durch experimentelle Versuche in einem sehr kleinen Maßstab (Mikroskala). Die Medienoptimierung wird u.a. durch Stoffwechsel- und Mediendatenbank unterstützt. Danach oder parallel dazu erfolgt die Bioreaktionsoptimierung durch Kultivierungsversuche im Zusammenspiel mit Bioreaktionsmodellierung. Dabei geht es um die Optimierung von Reaktionsbedingungen und um die Suche nach optimaler Reaktionsführung.

Das Bioprozessdesign wird normalerweise nach der Bioreaktionsoptimierung durchgeführt. Hier geht es um den gesamten Prozess inkl. des Aufarbeitungsprozesses, der aus Produktgewinnung und -aufreinigung besteht. Neben Pilotversuchen sind Bioprozessmodellierung und -simulation hier oft unverzichtbar.

2.3.2.2 Strukturbasierte Synthese von Bioprozessen

Ein Prozessdesign besteht grundsätzlich aus zwei Hauptaktivitäten, Prozesssynthese und Prozessanalyse. Unter Prozesssynthese versteht man die Auswahl und Gestaltung einer Reihe von Grundoperationen bzw. Prozessschritten zur Produktion eines bestimmten Produkts. Bei der Prozessanalyse geht es um die Evaluierung und den Vergleich der Varianten als Ergebnis

aus der Prozessanalyse. In dieser Arbeit wird das Konzept einer strukturbasierten Synthese von Bioprozessen erarbeitet. Nach diesem Konzept dient die Struktur von Bioprozessen als Anhaltspunkt bei der Erstellung der gesuchten Bioprozesse bzw. bei der Auswahl von Grundoperationen bzw. Prozessschritten. Abb. 2.6 stellt die allgemeine Struktur von Bioprozessen unterschiedlicher Expressionssysteme dar.

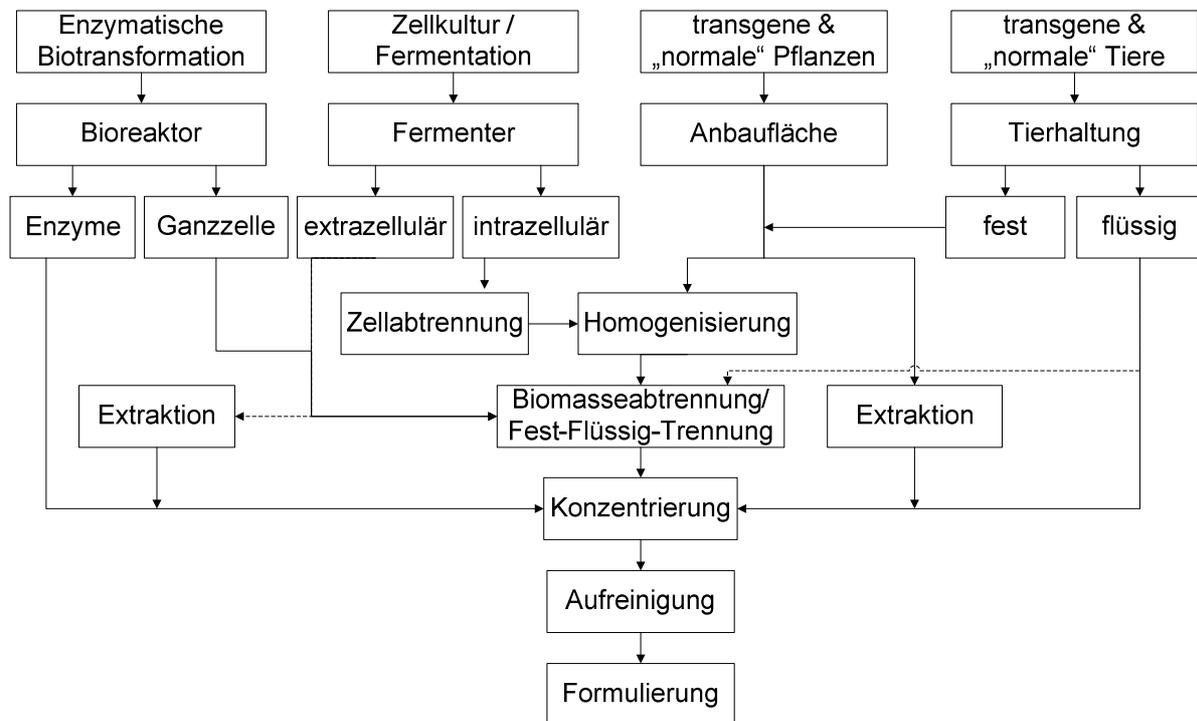


Abb. 2.6. Allgemeine Struktur von Bioprozessen unterschiedlicher Expressionssysteme (enzymatische Biotransformation, Zellkultur/Fermentation, transgene und herkömmliche Pflanzen und Tiere) (Petrides, 2003; Heinzle et al., 2007).

Die Expressionssysteme werden in enzymatische Biotransformation, Zellkultur bzw. Fermentation, Pflanzen und Tiere gruppiert. Für die enzymatische Biotransformation werden normalerweise Enzyme oder Ganzzellbiokatalysatoren eingesetzt. In der Zellkultivierung bzw. Fermentation können Bakterien, Hefen, Pilze, Tier- und Pflanzellen als Expressionssystem fungieren. Die daraus erwünschten Produkte werden vereinfacht in extra- und intrazelluläre Produkte gruppiert. Die Gruppierung ist für die ersten Aufarbeitungsschritte entscheidend. Für intrazelluläre Produkte sind zwei Aufarbeitungsschritte zur Produktfreisetzung, nämlich Zellabtrennung und Homogenisierung, erforderlich. Im Fall von extrazellulären Produkten wird die Zellbiomasse, normalerweise ein Abfallstoff, abgetrennt. Alternativ dazu können Extraktionsmethoden verwendet werden, die oft für die in-situ-Produktgewinnung eingesetzt werden. Ähnliches gilt für die Ganzzellbiotransformation.

Anders als in Heinzle et al. (2007) wird hier auf die Gruppe „extraktive Technologien“ aus Naturmaterialien wie z.B. Blutplasma und Pflanzen verzichtet. Diese Gruppe wird in die Gruppen Pflanzen oder Tieren integriert. Die Produktgewinnung von Pflanzen und Tieren sind im Prinzip unabhängig davon, ob die Pflanzen bzw. die Tiere genetisch verändert oder unverändert sind. Bioprodukte aus pflanzlichen Materialien werden entweder über Homogenisierung oder Extraktion gewonnen. Für Produkte aus Tieren wird erstmal unterschieden, ob das Ausgangsmaterial fest oder flüssig ist.

Aus der allgemeinen Struktur von Bioprozessen (Abb. 2.6) werden die allgemeinen Grundfunktionen von Bioprozessen definiert. Sie bestehen grundsätzlich aus Expression bzw. Bioreaktion, Produktgewinnung, Konzentrierung, Aufreinigung und Formulierung (Abb. 2.7). Die Auswahl der Grundoperationen für den ersten Aufarbeitungsschritt (Produktgewinnung) wird nach Abb. 2.6 hauptsächlich von den jeweiligen Expressionssystemen und den Produktgegebenheiten (z.B. ob das Produkt intra- oder extrazellulär ist) beeinflusst. Die Auswahl der Grundoperationen für die Schritte Aufreinigung und Formulierung hängt dagegen von physik-chemischen Produkteigenschaften und von der späteren Produkthanwendung, d.h. der erforderlichen Produktreinheit ab.



Abb. 2.7. Allgemeine Grundfunktionen von Bioprozessen

Die strukturbasierte Prozesssynthese lässt sich prinzipiell mit den heuristischen Regeln sehr gut kombinieren. Einige wichtige heuristische Regeln sind (Petrides, 2003):

- zunächst die massenhaften Verunreinigungen entfernen
- zunächst die am leichtesten zu entfernenden Verunreinigungen entfernen
- die teuersten und schwierigsten Grundoperationen ans Ende stellen
- die größten Unterschiede in den Eigenschaften von Produkt und Verunreinigungen ausnutzen
- Grundoperationen mit unterschiedlichen Trennprinzipien auswählen

2.3.2.3 Beispiel einer strukturbasierten Bioprozesssynthese

Abb. 2.8 stellt ein Beispiel für das Konzept der strukturbasierten Bioprozesssynthese dar. Bei diesem Beispiel geht es um die Gewinnung und Aufreinigung von Plasmiden als intrazellulärem Produkt aus *E. coli*. Das Produkt soll für Gentherapie und DNA-Vakzinierung verwendet werden. Ein hoher Reinheitsgrad muss bei der Aufreinigung erreicht werden. Dafür müssen Verunreinigungen wie z.B. DNA, RNA, Proteinen und Endotoxine entfernt

werden. Der Produktgehalt in *E. coli*-Zellen liegt unter 1 % (w/w) (Prazeres und Ferreira, 2003; Freitas et al., 2006).

Die Bioprozessstruktur besteht aus folgenden Grundfunktionen: Zellernte, Homogenisierung, Abtrennung von Zelltrümmern, erste Aufreinigung und End-Aufreinigung (s. Abb. 2.8 links). Für jede Grundfunktion wird eine Vorauswahl relevanter Grundoperationen getroffen. Basiert auf der Struktur lassen sich Lösungsalternativen evtl. mit Unterstützung durch heuristische Prinzipien und durch Prozessdaten bzw. Erfahrungen aus realen (ähnlichen) Prozessen oder Pilot-Versuchen ableiten. In diesem Beispiel werden drei Lösungsalternativen dargestellt.

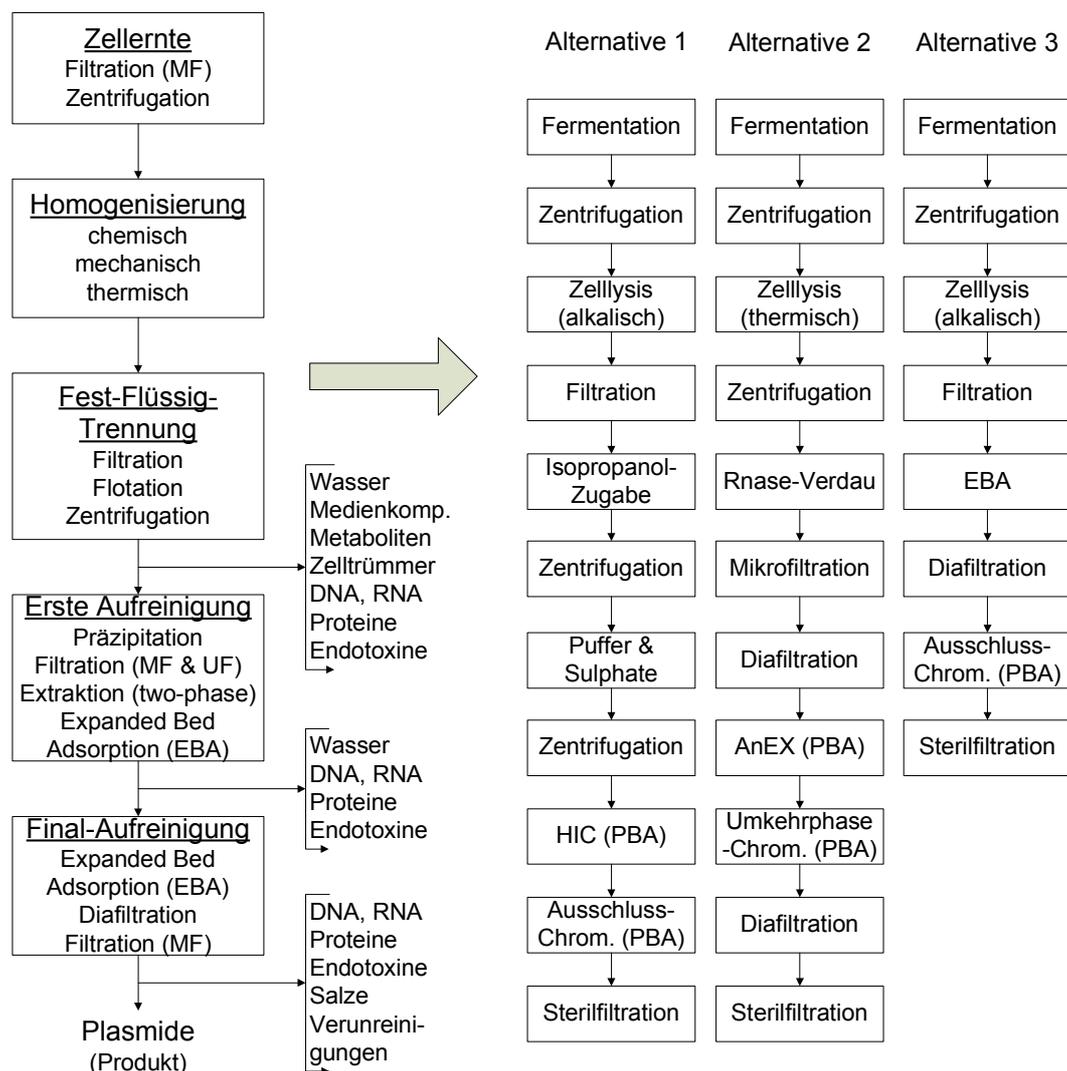


Abb. 2.8. Beispiel einer strukturbasierten Prozesssynthese für die Aufarbeitung von intrazellulärem Plasmid-DNA aus Zellkultivierung mit *E. coli*; erstellt und modifiziert aus Prazeres und Ferreira (2003). Abkürzungen: MF = Mikrofiltration, UF = Ultrafiltration, HIC = *hydrophobic interaction chromatography*, Chrom. = Chromatographie, AnEX = Anionenaustauscher, PBA = *Packed Bed Adsorption*, EBA = *Expanded Bed Adsorption*.

2.3.2.4 Vereinfachung der Synthese durch Aggregation

Durch Aggregation werden einzelne Grundoperationen zu einem Blockmodul zusammengefasst. Ziel dieser Aggregation ist es, der Aufwand bei der Bioprozesssynthese zu reduzieren. Dabei wird die Komplexität von Bioprozessen verringert und gleichzeitig mehr Übersicht unter Verzicht auf vorerst untergeordnete Aspekte gewonnen.

Zunächst wird die allgemeine Struktur von Bioprozessen (Abb. 2.6) analysiert und dabei werden typische Grundfunktionen (bzw. Prozessschritte) identifiziert und das entsprechende Blockmodul definiert. Diese typischen Prozessschritte werden z.B. mit Hilfe von SuperPro-Designer auf der Grundoperationsebene modelliert. Aus dem Prozessmodell werden die Prozessdaten generiert. Mittels einer Sensitivitätsanalyse werden die wichtigen Parameter identifiziert und die entsprechenden Gleichungen ermittelt. Der letzte Schritt ist die Umsetzung der ermittelten Gleichungen in einem Blockmodul (s. Kap. 3.2.2.3 und Kap. 5.2.2).

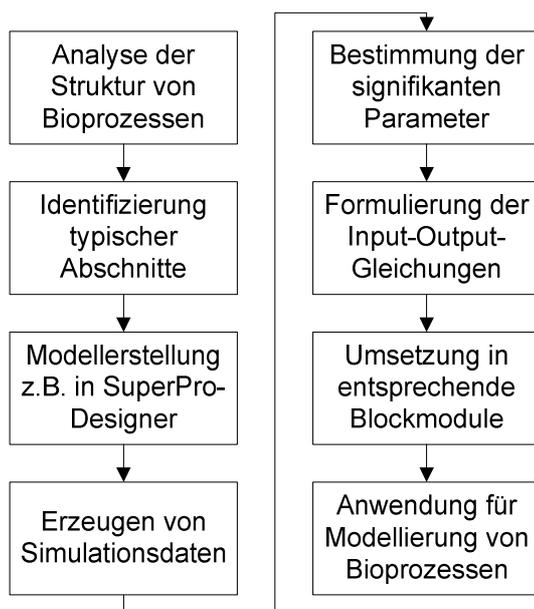


Abb. 2.9. Erstellung von Blockmodule zur Vereinfachung der Synthese bzw. Modellierung von Bioprozessen.

Zu den typischen Grundfunktionen biotechnologischer Prozesse gehören z.B. Produktgewinnung intrazellulären Produkte, Produktgewinnung von Bioprodukten aus Getreide, Proteingewinnung aus Blutplasma, Proteingewinnung aus Milch, Aufreinigung von Plasmid-DNA Type A, Aufreinigung von Plasmid-DNA Type B, Aufreinigung von Proteinen Type A, Aufreinigung von Proteinen Type B, etc.

3. BIOPROZESSMODELLIERUNG

3.1. Einführung

Biotechnologische Prozesse, die aus Upstream-Prozessen und Bioreaktion, sowie Downstream-Prozessen bestehen, sind meist komplex und umfangreich. Ein Prozessmodell ist eine Vereinfachung des realen, komplexen Prozesses. Mit einem Prozessmodell kann man die Struktur und das Verhalten eines Prozesses analysieren bzw. besser verstehen. Ein Prozessmodell ist ein unverzichtbarer Bestandteil einer Prozessentwicklung.

Zweck der Arbeit war ja nicht nur die Anwendung von bestehender Modellierungssoftware, sondern auch die Entwicklung von Modulen bzw. Bausteinen von Prozessmodellen. Ein wichtiger Aspekt ist dabei, die Komplexität bzw. den Schwierigkeitsgrad bei der Erstellung von Prozessmodellen zu verringern. Für die Anwender soll die Prozessmodellierung mit der zu erstellenden Software möglichst einfach bzw. anwenderfreundlich und zeiteffizient gestaltet werden. Es ist deshalb wichtig zu wissen, was man unter Anwenderfreundlichkeit versteht und unter welchen Kriterien solche Anwenderfreundlichkeit gekennzeichnet wird.

3.2. Software für Bioprozessmodellierung

3.2.1. Anforderungen an Software

Besonders vorteilhaft für die Arbeit in der Verfahrensentwicklung sind solche Software-Pakete, mit denen man mit kleinem Aufwand zunächst einfache Massenbilanzierungen und orientierende Auslegungsberechnungen durchführen kann, um später entsprechend dem Fortschritt der Verfahrensentwicklung einzelne Grundoperationen mit mehr detaillierten Modellen zu rechnen. Außerdem ist es für den Verfahreningenieur sehr hilfreich, wenn die Simulationsoberfläche so gestaltet ist, dass der Einstieg in die Simulationsarbeit ohne längere Einarbeitungsphase in die Software möglich ist (Buschulte und Heimann, 1995).

Daun et al. (1999) von der Firma BASF (Ludwigshafen) stellten ihre industrielle Erfahrung mit den Simulationswerkzeugen dar. Wesentlich für die Arbeit mit einem Simulationswerkzeug ist die Schnittstelle, über die Prozessinformation eingegeben wird. Zur Beschreibung von Gesamtprozessen werden Ingenieure zunächst die Eingabe über ein Fließbild bevorzugen. Bei Batch-Prozessen, anders als bei kontinuierlichen Prozessen, können mehrere Verfahrensschritte in einem Apparat stattfinden, so dass das Fließbild allein zu wenig Information liefert. Außerdem ist die Eingabe einer Rezeptur wesentlich näher an der Betrachtungsweise der Chemiker mit ihren Herstellvorschriften (Daun et al., 1999)

Außerdem wurden Ergebnisse einer Befragung bei einer größeren Gruppe von BASF-Entwicklungsingenieuren nach ihren Erwartungen an Simulationswerkzeugen dargestellt. Dabei wurden folgende Punkte erfasst: Bedienbarkeit, Verfahrenstechnik, Betriebslogistik, Algorithmen, Datenausgabe, und Betreuung. Zu der Bedienbarkeit gehören: geringer Einarbeitungsaufwand, graphische und intuitive Bedienoberfläche, gestaffelte Detailtiefe, automatische Plausibilitätsprüfung, und Windows-Tauglichkeit. Zu der Verfahrenstechnik sind u.a. Stoffdatenbankschnittstellen, Umrechnen von Einheiten, integrierte Short-Cut-Simulation, Erstellen und Skalieren der Rezeptur, Erstellen der Stoffbilanz mit Einzellstoffverfolgung, Erstellen der Energiebilanz, Apparatebibliothek, Skalieren von Apparaten, Erstellen von Fließbildern, Abbilden sowohl von Batch- als auch von kontinuierlichen Prozessen (Daun et al., 1999).

3.2.2. Vorhandene Softwares

3.2.2.1 Allgemeinen

Viele Softwares zur Modellierung und Simulation biotechnologischer Prozesse werden in Batch-Modus konzipiert, da die meistens Bioprozesse auch in Batch-Verfahren durchgeführt werden. In SuperPro-Designer kann man Bioprozesse in Batch-, Fed-Batch- und kontinuierlichem Modus modellieren. Im Vergleich zu SuperPro-Designer bietet Aspen Technology ein umfangreicheres bzw. teureres Paket, was aber mehr für chemische Prozesse entwickelt wurde. Für biotechnologische Prozesse wurde Batch Plus aus Basis von Aspen entwickelt, eine rezepturbasierte Modellierung für Batch-Prozesse (Gosling, 2005).

Shanklin et al. (2001) stellten als Ergebnis ihrer Vergleichstudie fest, dass Batch Plus und SuperPro-Designer zur Erstellung von Stoff- und Energiebilanz, zur Durchführung von *Scheduling* (Optimierung des zeitlichen Ablaufs eines Prozesses), zur Untersuchung über die benötigten Anlagen und zur Durchführung einer ökonomischen Analyse gut geeignet sind.

3.2.2.2 Modellierung von Bioprozessen mit SuperPro-Designer

SuperPro-Designer ist als Werkzeug bei der Entwicklung biotechnologischer Prozesse sehr gut geeignet (Shanklin et al., 2001). Diese Software ist geeignet für die Erstellung von Stoff- und Energiebilanzen, für das *Scheduling* des Prozesses, für die Untersuchungen über Anlagen bzw. Apparaten, für die Erstellung und Durchführung ökonomischer Analyse, etc.

Um Unklarheiten durch unterschiedliche Definitionen der verwendeten Begriffe zu vermeiden, werden die Begriffe von SuperPro-Designer in dieser Beschreibung verwendet. Ein wichtiger Bestandteil von SuperPro-Designer ist die *Unit Procedures*-Bibliothek mit einem Großteil der

in biotechnischen und chemischen Verfahren vorkommenden Grundoperationen. Aus der *Unit Procedure*-Bibliothek wählt man eine *Unit Procedure* nach der anderen aus und verbindet sie mit Stoffströmen (inkl. aller Input- und Outputströmen). Hier erhält man das erste Verfahrensschema mit allen *Unit Procedures* und Stoffströmen. Für jede *Unit Procedure* (z.B. Fermentation, Ultrafiltration, etc.) sind die benötigten Operationen (z.B. Zugabe von Medium / *Transfer in*, Reaktion, Abkühlen und *Transfer out* für *Unit Procedure* Fermentation) per Mausclick zu definieren bzw. auszuwählen. In den Operationen sind einfache Modelle mit Standardwerten (bzw. Defaultwerten) für die einzugebenden Schlüsselparameter hinterlegt. Diese Defaultwerte entsprechen Erfahrungswerten aus der Literatur. Biwer (2003) verglich einige dieser Werte mit Standardwerken (z.B. Pery et al., 1997; McCabe et al., 2001) und fand heraus, dass alle diese Angaben in der Regel übereinstimmten. Diese Defaultwerte lassen sich durch eigene spezifischen Daten ersetzen. Im Programm können weitere *Unit Procedures* definiert werden und dann die jeweiligen Operationen für jede *Unit Procedure*.

In SuperPro-Designer erfolgt jede *Unit Procedure* in dem entsprechenden Apparat (oder *Equipment*). Ein Apparat kann im Batch-Verfahren von einer, zwei oder mehr *Unit Procedures* verwendet werden, was in der Praxis auch möglich ist. Das ist eine Frage des *Scheduling*, dass der entsprechende Apparat nicht gleichzeitig von zwei oder mehr *Unit Procedures* besetzt ist. Die im Prozessmodell beteiligten Stoffe mit ihren Eigenschaften müssen entweder in der Stoffdatenbank von SuperPro-Designer oder in einer eigenen Datenbank (bzw. *User*-Datenbank) definiert werden. Neben dem Verfahrensfliessbild erhält man als Ergebnis die Stoffbilanz mit aller Input- und Outputströmen, eine Abschätzung des Energiebedarfes, Informationen über Anlagengrößen, das Ergebnis der ökonomischen Evaluierung mit allen ökonomischen Größen, etc.

3.2.2.3 Modellierung von (Bio-)Prozessen mit Umberto

Umberto ist ein Softwaretool zur Modellierung, Berechnung und Visualisierung von Stoff- und Energieflüssen, sowie zur Durchführung einer Ökobilanzierung, sowie zur Analyse und Optimierung von Prozesssystemen. Bei den Prozesssystemen kann es sich um eine einzelne Produktionslinie, ein Werk oder ein Unternehmen handeln. Eine Prozessmodellierung biotechnologischer Prozesse mit Umberto ist im Prinzip möglich. In Umberto stehen allerdings noch keine Prozessbausteine bzw. Module für die Prozessmodellierung biotechnologischer Verfahren zur Verfügung. Außerdem bietet Umberto dem Anwender die Möglichkeit über den Bewertungssystemeditor (*Valuation System Editor*, VSE) eigene Bewertungssysteme anzulegen.

3.3. Modulbasierte Prozessmodellierung

3.3.1. Konzeption

Zur Vereinfachung und zwecks zeiteffizienterer Durchführung einer Prozessmodellierung wurde die so genannte modulbasierte Prozessmodellierung entwickelt. Ein modulbasiertes Prozessmodell besteht aus aneinander verknüpften Modulen, wobei der Produktstrom (Output) eines Moduls der Inputstrom des nächsten Moduls ist. Abb. 3.1 stellt eine modulbasierten Prozessmodellierung exemplarisch dar. Ein Modul beschreibt dabei einen oder mehrere Verfahrensschritte.

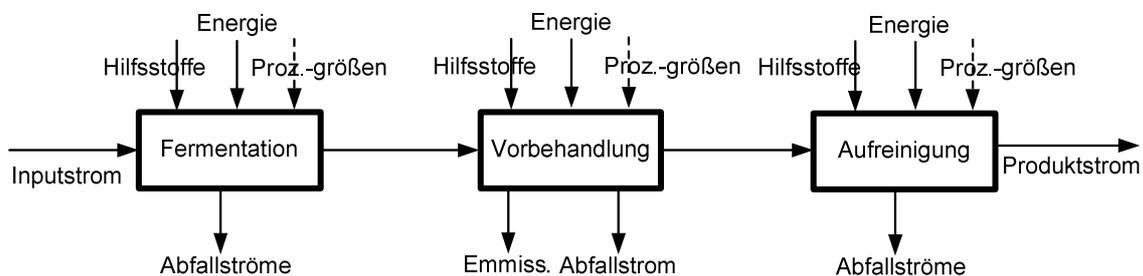


Abb. 3.1. Schematische Darstellung einer modulbasierten Prozessmodellierung mit Unit- und Blockmodulen.

Das Konzept eines modularen Systems wird in der Praxis im Bereich Anlageplanung und -bau pharmazeutischer bzw. biotechnologischer Produktion angewandt (vgl. Kap. 2.3.1.1). Das wichtigste Element dieses Konzeptes ist ein baukastenähnlicher, modularer Aufbau der gesamten Produktionsanlage. Hier werden Funktionalitäten ausgewählt und entsprechende Anlagenteile definiert, geplant und vorgefertigt. Die Hauptvorteile dieser Bauweise sind Einsparungen bezüglich Kosten und Zeit.

In Abb. 3.2 wird das Grundkonzept eines Moduls schematisch dargestellt. Aus dem Inputstrom und den Prozessgrößen werden die Menge und die Zusammensetzung des Produkt- und des Abfallstromes berechnet. Die Rechenrichtung erfolgt dabei von vorne nach hinten (Eingang nach Ausgang). Zu den Prozessgrößen gehören neben den prozessspezifischen Parametern auch die stoffspezifischen Parameter. Zu letzteren gehören beispielsweise der Rückhaltekoefizient der einzelnen Stoffe im Filtrationsmodul und der Verteilungskoeffizient der einzelnen Stoffe im Extraktionsmodul.

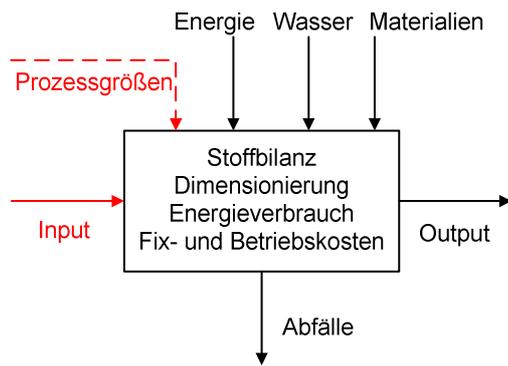


Abb. 3.2. Schematische Darstellung eines Moduls

Neben den Stoffströmen werden der Energieverbrauch, die Kapazität, und die Kosten berechnet. Die Dimensionierung bzw. Auslegung einer Anlage lässt sich aus der Prozessdauer und der Stoffstrommenge berechnen. Hier kann man die maximale Kapazität bzw. die maximale Größe der Apparate bzw. Grundoperationen angeben. Falls der berechnete Durchsatz die maximale Kapazität überschreiten sollte, erhöht man die erforderliche Anzahl der jeweiligen Aufarbeitungseinheit. Aus der Kapazität werden die Fixkosten ermittelt.

3.3.2. Modularten und Anforderungen

3.3.2.1 Modularten

Bei den Modulen handelt es sich hauptsächlich um drei Prozessvorgänge, nämlich Stoffspeichern, Stoffsumwandlung bzw. Reaktion und Stofftrennung, sowie deren Kombinationen. Ein Behälter gehört zum Beispiel zu den Speichern. Eine Stoffumwandlung geschieht zum Beispiel in Form einer Fermentation oder einer biokatalytischen Reaktion. Zur Stofftrennung gehören beispielsweise Filtration, Zentrifugation, Destillation, Adsorption, etc. Bei den genannten Modulbeispielen geht es um Module der Grundoperationen, die weiter als Unitmodule genannt werden.

Zur Vereinfachung der Prozessmodellierung wird eine Aggregation durchgeführt. Ein Modul repräsentiert hier einen typischen Bioprozessschritt, der aus zwei oder mehr Grundoperationen besteht. Als Beispiele typischer Bioprozessschritte sind Vorbehandlung zur Gewinnung intrazellulärer Produkte, Aufreinigung von Proteinen, etc. Solche Module, die typische Prozessschritte repräsentieren, werden weiter als Blockmodule bezeichnet. Mit solchen Blockmodulen lässt sich ein Prozessmodell leichter erstellen. Die dritte Art von Modulen sind generische Module, die bestimmte Prozessfunktion wie Stoffumwandlung, Stofftrennung und Stoffspeichern, aber keine spezifische Grundoperation, repräsentieren. Diese Module kann man quasi als Black-Box-Module bezeichnen.

3.3.2.2 Anforderungen an Module und deren Lösungsansätze

Die Prozessmodelle sollen möglichst realitätsnahe sein, wobei nur wichtigste Parameter mit großen Auswirkungen berücksichtigt und unwichtige weggelassen werden. Eine flexible Verknüpfung zwischen den Modulen muss gewährleistet werden, damit Prozessmodellierung schnell erfolgen kann. Diese Aspekte müssen bereits bei der Modulerstellung berücksichtigt werden (vgl. Kap. 5.2).

Die Module müssen nicht so umfassend wie z.B. die Module von SuperPro-Designer mit jeweils unzähligen Parametern sein. Das Ziel ist dabei unwichtigere Parameter in der Standarddefinition bereits festzulegen und nur signifikante Parameter dem Modellierer zur Definition freizugeben. Außerdem sind Module mit komplizierten Gleichungen für die erklärten Zwecke, nämlich zur Prozessmodellierung und -bewertung in frühen Entwicklungsphasen, weitgehend nicht notwendig. Einfache Gleichungen, die natürlich entsprechend relevante Zusammenhänge beschreiben, reichen für die Module meist aus.

Die Anforderung an einer einfachen Verknüpfung zwischen den Modulen soll durch eine einheitliche Form von Modulen erfüllt werden (s. Abb. 3.2). Zu einem Modul gehören ein Eingangsstrom, ein Produktstrom und ein Abfallstrom, sowie Wasser-, Hilfsmaterialien- und Energiestrom. Bekannt sind die Menge und Zusammensetzung des Eingangsstroms und die Prozessgrößen, die evtl. durch den Anwender eingegeben werden müssen. Aus den bekannten Größen werden die Menge und Zusammensetzung anderer Ströme, nämlich des Produkt- und Abfallstroms, sowie Energieverbrauch, Auslegung und Kosten berechnet.

Im Prinzip muss jedes Modul mit allen anderen Modulen kombinierbar sein. Während der Modulerstellung weiß man deshalb noch nicht, welche Stoffe im Eingangstrom ins Modul rein fließen. Diese Anforderung kann in Umberto mit Hilfe einer Skriptsprache wie Python programmiertechnisch umgesetzt werden (vgl. Kap. 5.2).

3.3.3. Erstellung von Modulen

Ein Stoffstromnetz in Umberto wird durch drei Komponenten beschrieben: Stelle, Transition und Verbindung. Allgemein charakterisiert eine Stelle einen Zustand. Eine stoffliche Transformation findet in einer Transition statt. Die Pfade der Stoff- und Energieströme werden durch Verbindungen zwischen Stellen und Transitionen dargestellt. Unter Modulerstellung in Umberto wird die Spezifikation einer Transition verstanden, die dann in einer Modulbibliothek abgelegt wird. Die Module können wiederum durch Laden aus der Modulbibliothek zur Spezifikation einer leeren Transition eingesetzt werden (mehr dazu s. Kap. 5.2 Erstellung von Modulen).

Die Spezifikation einer Transition bedeutet die Festlegung der Abhängigkeit der Input- und Outputströme voneinander. In Umberto kann die Spezifikation einer Transition auf drei verschiedene Arten erfolgen: Spezifikation durch Angabe der Mengenverhältnisse der Input- und Outputströme, durch Laden eines vordefinierten Transitionsmoduls und durch Eingabe von benutzerdefinierten mathematischen Funktionen, entweder mit Umberto-eigenen Funktionen oder mit Zuhilfenahme von Skriptsprachen (z.B. Python, PerlScript, VBScript und JavaScript).

Die Anwendung einer der Skriptsprachen wie z.B. Python ist die mächtigste Art der Transitionsspezifikation in Umberto (Wohlgemuth und Page, 2002). Die Transitionsspezifikation mit Hilfe der Skriptsprache Python wurde deshalb zur Modulerstellung ausgewählt. Python ist eine universelle, objektorientierte Open-Source-Programmiersprache, die sowohl für eigenständige Programme als auch für Skripte in verschiedensten Anwendungsbereichen eingesetzt wird. Umberto bietet einen Assistenten zur Unterstützung der Funktionsdefinition in der Transitionsspezifikation.

Die Programmierung mit Python war technisch und konzeptionell notwendig. Dadurch können beispielsweise die eingehenden Stoffe, die zur Zeit der Modulerstellung noch gar nicht bekannt sind, generisch in einer Schleife erfasst und berechnet werden, was mit den anderen Methoden nicht möglich ist. Außerdem kann eine einfache Verknüpfung der erstellten Module, die ja als Voraussetzung einer modulbasierten Prozessmodellierung möglich sein muss, gewährleistet werden.

3.3.4. Modulbasierte Modellierung in Umberto

Unter der modulbasierten Prozessmodellierung wird die Erstellung eines Prozessmodells durch Aneinanderreihen von Modulen verstanden. Anhand eines Beispiels wird hier das Konzept modulbasierter Prozessmodellierung in Umberto erläutert. Die Einfachheit der modulbasierten Prozessmodellierung in Umberto und die Vorteile der Anwendung von Blockmodulen werden gezeigt.

Als Prozessbeispiel dient hier eine typische Aufarbeitung von intrazellulären Proteinen, die aus Vorbehandlung intrazellulärer Produkte, Konzentrierung, Aufreinigung von Proteinen und Formulierung besteht. Der Aufarbeitungsschritt Vorbehandlung zur Gewinnung intrazellulärer Produkte wird durch ein einziges Blockmodul vertreten, was normalerweise aus Zellabtrennung, Zellaufschluss und Zelltrümmerabtrennung besteht.

Zunächst werden leere Transitionen und die notwendigen Stellen geladen. Durch Verbindungen erhält man dann ein Stoffstromnetz. Durch Importieren der jeweiligen Module

aus der Modulbibliothek werden die Transitionen spezifiziert. Der Inputstrom (aus Stelle P1) wird manuell eingegeben, was dem Inhalt des Outputstroms des Fermenters entspricht. Abb. 3.3 stellt exemplarisch eine durch Laden aus der Modulbibliothek spezifizizierte und drei noch leere Transitionen dar.

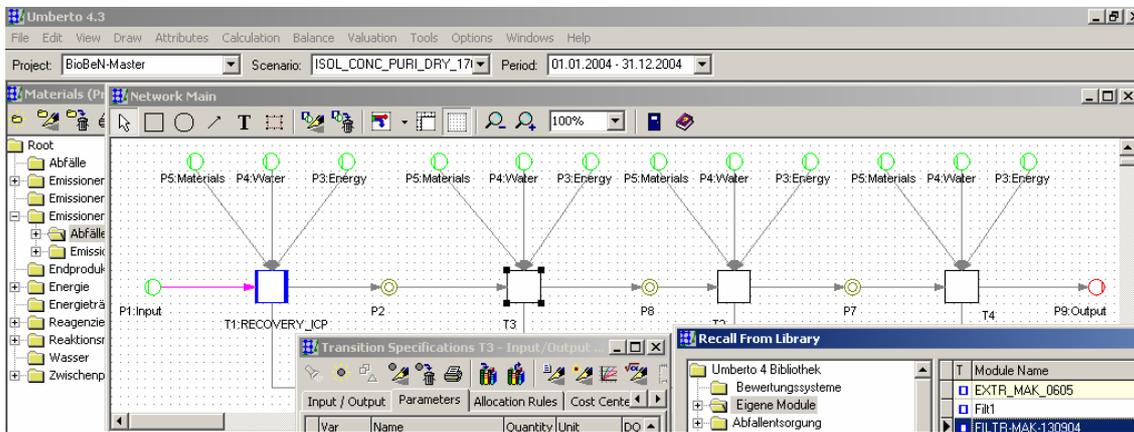


Abb. 3.3. modulbasierte Prozessmodellierung in Umberto

Zu sehen sind in Abb. 3.3 der manuell eingegebene Inputstrom (der rote Pfeil, ganz links), eine bereits durch Laden des Blockmoduls „Gewinnung intrazellulärer Produkte“ spezifizizierte Transition und drei noch leere Transitionen. Die leere Transition T3 wird durch Laden des Moduls Filtration aus der Modulbibliothek (*Recall from Library*) spezifiziert (s. Abb. 3.3, unten rechts). So erfolgt die Spezifikation der nächsten Transitionen. Ein Prozessmodell ist fertig, wenn alle Transitionen spezifiziert sind.

Die Stoff- und Energiebilanz lassen sich dann ermitteln, sowie die ökologische Bewertung. Abb. 3.4 stellt das fertige Prozessmodell in Umberto mit der erhaltenen Stoff- und Energiebilanz und den Ergebnissen der ökologischen Bewertung dar.

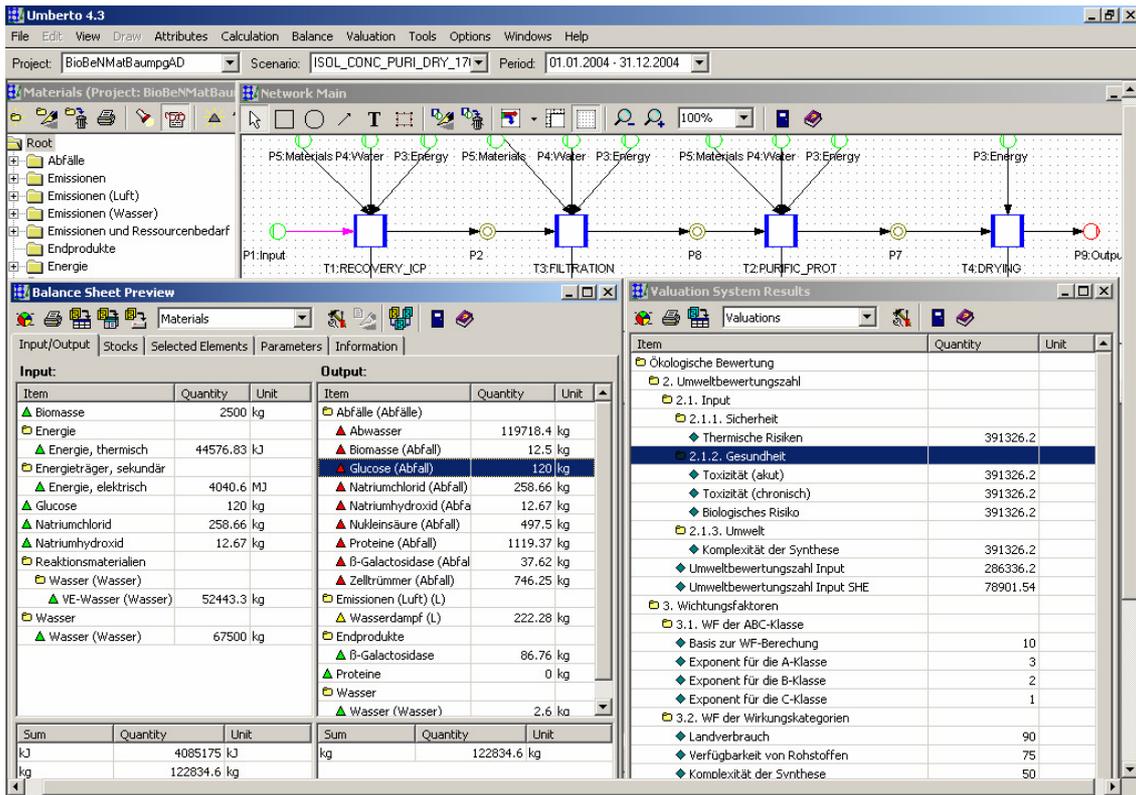


Abb. 3.4. Beispiel eines fertigen Prozessmodells in Umberto mit der erhaltenen Stoff- und Energiebilanz und den Ergebnissen der ökologischen Bewertung.

4. METHODEN UND KRITERIEN DER PROZESSBEWERTUNG

4.1. Einführung

Die Prozessalternativen aus der Prozesssynthese werden bei der Prozessanalyse nach ökonomischen, ökologischen und sozialen Nachhaltigkeitsaspekten basierend auf einer Prozessmodellierung evaluiert und miteinander verglichen. Dabei geht es um die Frage, welche Prozessvariante nachhaltiger ist. Das Ergebnis der Prozessevaluierung soll außerdem zur Verbesserung der Prozesse dienen. Deshalb sind bei der Evaluierung die Verursacher größter Kostenfaktoren, sowie ökologischer und sozialer Auswirkungspotentiale zu ermitteln. Die ökonomische Bewertung ist praktisch immer ein fester Bestandteil von Softwares zur Prozessmodellierung. Mit Hilfe von solchen Softwares wie z.B. SuperPro-Designer lassen sich verschiedene ökonomische Größen, wie z.B. Material- und Betriebskosten, Umsatz, Bruttomarge, Investition, *Return on Investment* (RoI), *Internal Rate of Return* (IRR), *Net Present Value* (NPV) ermitteln. Eine umfassende Evaluierung aller ökonomischen Größen ist für Screeningzwecke und zur Schwachstellenerkennung in frühen Entwicklungsphasen in vielen Fällen noch nicht erforderlich. So schlug Douglas (1988) die Anwendung von ökonomischen Potentialen (E_{Pi}) in verschiedenen Hierarchiestufen (i) vor. Für gleiche Zwecke schlugen Heinzle et al. (1998) die so genannten Kosten- bzw. ökonomischen Indices (CI) von verschiedenen Kostenkomponenten für verschiedene Bilanzgrenzen vor.

Bei der ökologischen Bewertungsmethode geht es um die an der Universität des Saarlandes entwickelte Methode (Biber und Heinzle, 2004; Heinzle et al., 2006). Die Bewertung basiert auf die Stoffstrombilanz und die Stoffeigenschaften. Aus der Stoffstrombilanz erhält man die so genannten Massenindices (MI) für Input- und Outputstoffe. Aus den Stoffeigenschaften wird der Umweltfaktor (EF) einzelner Stoffe über eine ABC-Klassifizierung aller Wirkungskategorien ermittelt.

Die sozialen Aspekte der Nachhaltigkeit wurden bei einer Prozessentwicklung bisher meist nicht berücksichtigt oder nur qualitativ betrachtet. Sie haben oft keinen direkten Zusammenhang mit den Prozess- bzw. Stoffdaten. Da die begleitende Evaluierung auch zu einer Prozessverbesserung führen sollte, sollten diejenigen sozialen Kriterien einbezogen werden, die einen direkten Bezug zu Prozess- bzw. Stoffeigenschaften haben. Bei dieser Arbeit geht es nicht darum, eine neue Evaluierungsmethode der sozialen Aspekte zu entwickeln, sondern einige soziale Kriterien aus bestehenden sozialen Bewertungsmethoden zu identifizieren, die einen direkten Bezug zu Prozess- und Stoffdaten haben.

4.2. Ökonomische Dimension

4.2.1. Einführung

Die Evaluierung ökonomischer Aspekte steht neben technischen Überlegungen bei jeder Prozessentwicklung immer an zentraler Stelle. Es gibt bereits Bücher besonders aus dem Bereich Chemieingenieurwesen, die sich mit der methodischen Vorgehensweise zur Kosten- und Wirtschaftlichkeitsbetrachtung bei einer Prozessentwicklung befassen. Hervorzuheben ist hier das Buch von Peters und Timmerhaus (1991; 2003).

Die ökonomische Bewertung ist praktisch immer ein fester Bestandteil von Softwares zur Prozessmodellierung. Mit Hilfe von Softwares wie z.B. SuperPro-Designer lassen sich verschiedene ökonomische Größen, wie z.B. Material- und Betriebskosten, Umsatz, Bruttomarge, Investition, *Return on Investment* (RoI), *Internal Rate of Return* (IRR), *Net Present Value* (NPV), ermitteln. Hier werden die methodische Vorgehensweise zur ökonomischen Evaluierung kurz beschrieben und einige Kriterien für Screeningzwecke von (Bio-)Prozessen dargestellt.

4.2.2. Investition, Betriebskosten und Wirtschaftlichkeit¹

Die methodische Vorgehensweise zur Kosten- und Wirtschaftlichkeitsbetrachtung wird in vielen Büchern beschrieben (z.B. Peters und Timmerhaus, 1991; 2003) und ist normalerweise ein fester Bestandteil von Softwares zur Prozessmodellierung wie SuperPro-Designer. Die ökonomische Evaluierung beinhaltet die Abschätzung von Investition und Betriebskosten sowie Wirtschaftlichkeitsanalyse. Die Abschätzung von Investition basiert normalerweise auf den Apparaten bzw. Teilanlagen. Die Betriebskosten eines Prozesses werden aus verschiedenen Kostenkomponenten wie Material-, Personal-, anlagenabhängige, Verbrauchsmaterial-, Labor und Qualitätskontrolle, Versorgungs- (Energie, Heiz- und Kühlmittel), Entsorgungs-, Transport-, Werbungskosten und Patentgebühr ermittelt.

Aus der Investition und den Betriebskosten werden die anderen ökonomischen Größen wie Bruttomarge, Investition, *Return on Investment* (RoI), *Internal Rate of Return* (IRR), *Net Present Value* (NPV), etc. ermittelt, wobei der Erlös aus den Angaben über Produktionsrate und Produktverkaufspreis ermittelt wird.

¹ Die in diesem Subkapitel beschriebene Methode entspricht weitgehend der ökonomischen Bewertungsmethode von SuperPro-Designer, die zur Erarbeitung der Fallbeispiele (Kap. 6-8) verwendet wurde, nicht der ökonomischen Bewertungsmethode von Sabento.

4.2.2.1 Investitionskosten

Die Abschätzung der Investitionskosten wird mit fortschreitender Prozessentwicklung immer präziser. Tab. 4.1 stellt die Abschätzungsarten von Investitionskosten und deren Präzision während einer Prozessentwicklung nach verschiedenen Autoren dar (Douglas, 1988; Peters und Timmerhaus, 2003; Marquardt, 2005; Petrides, 2003; Kristiansen, 2001). Mit der Abschätzungsbasis Daten der Hauptapparate ist beispielsweise eine Präzision von ca. 30 % zu erwarten.

Tab. 4.1. Abschätzungsarten von Investitionskosten und deren Präzision während einer Prozessentwicklung

	Art	Abschätzungsbasis	Präz. ¹	Präz. ²	Präz. ³	Präz. ⁴
1	Größenordnung	Erfahrungen mit ähnlichen Prozessen	> 40 %	> 30 %	≤ 50 %	25 – 50 %
2	Projektplan	Daten von Hauptapparaten	≤ 25 %	≤ 30 %	≤ 30 %	20 – 40 %
3	Vorstudie	Genügend Prozessdaten	≤ 12 %	≤ 20 %	≤ 25 %	15 – 20 %
4	Detailstudie	nahezu komplette Prozessdaten	≤ 6 %	≤ 10 %	≤ 15 %	10 – 15 %
5	Beschaffung & Konstruktion	Anlageplanung inkl. Standortaufnahme	≤ 3 %	≤ 5 %	≤ 10 %	5 – 10 %

Präz. = Präzision. Präz.¹ nach Douglas (1988); Präz.² nach Peters und Timmerhaus (2003) auch von Marquardt (2005) verwendet; Präz.³ nach Petrides (2003); Präz.⁴ nach Kristiansen (2001).

Aus Tab. 4.1 erkennt man, dass die Ungenauigkeiten bei biotechnologischen Prozessen (Petrides, 2003; Kristiansen, 2001) etwas größer geschätzt wurden als bei chemischen (Douglas, 1988; Peters und Timmerhaus, 2003). Die Gründe lassen sich wie folgt vermuten: im Bereich chemische Industrie gibt es bereits etablierte Prozesse mit längerer Tradition. Außerdem ist die Anwendung von physikalischen Daten, wie z.B. thermodynamischen Daten, im Allgemeinen mehr geeignet für chemische Prozesse mit definierter Reaktionszusammensetzung als für biotechnologische Prozesse mit komplexen Medien.

Die frühen Entwicklungsphasen entsprechen etwa den Ebenen 1 und 2, sowie teilweise 3. Die Abschätzungsart auf der 1. Stufe (Größenordnung) erfolgt normalerweise durch einen erfahrenen Ingenieur, der mit ähnlichen Projekten bzw. Prozessen gearbeitet hat (Petrides, 2003), und denkbar durch Vergleich mit einem (existierten) Referenzprozess. Die Präzision liegt aber nur bei ca. 50 %.

Die Abschätzungsart auf der 2. Stufe (Projektplan) basiert auf den Anschaffungskosten von Hauptapparaten bzw. Teilanlagen. Diese Abschätzung hat eine Präzision von etwa ± 30 %. Die Vorgehensweise zur Abschätzung von Investition auf Basis von Hauptapparaten bzw.

Teilanlagen wird in vielen Büchern (z.B. Peters und Timmerhaus, 1991; 2003; Petrides, 2003; Heinzle et al., 2007) beschrieben und in SuperPro-Designer implementiert.

Da die Anschaffungskosten von Hauptapparaten als Basis für die Ermittlung der Investition verwendet werden, ist die Ermittlung von realistischen Anschaffungskosten sehr entscheidend für die ökonomische Evaluierung (Heinzle et al., 2007). Zur Ermittlung von Anschaffungskosten bestehen einige Möglichkeiten mit unterschiedlichen Genauigkeiten, wie z.B. durch Preisangabe von Verkäufer bzw. Lieferanten, Preisinformationen für gleiche bzw. ähnliche Apparate aus vorherigen bzw. anderen Projekten, Extrapolation ausgehend von gleichen Apparaten unterschiedlicher Größe, Durchschnittswerte aus der Literatur (z.B. Peters und Timmerhaus, 2003) bzw. Defaultwerte in Softwares zur Prozessmodellierung (z.B. in SuperPro-Designer). Preisangaben von Verkäufer entsprechen zwar den realistischen Kosten, ihre Ermittlung ist aber sehr zeitintensiv, und deshalb für die frühen Entwicklungsphasen nicht geeignet.

Die anderen Kostenkomponenten der Investition (u.a. Installation, Rohrleitungen, Instrumentierung, Isolierung, Elektroinstallation, Gebäude, etc.) werden durch bestimmte Faktoren aus den Anschaffungskosten ermittelt. Diese Faktoren werden normalerweise aus empirischen Daten ermittelt und sind deshalb prozessart-spezifisch. Beispiele von solchen Faktoren findet man in Literatur (z.B. Peters und Timmerhaus, 1991; 2003; Petrides, 2003; Heinzle et al., 2007) oder in Softwares zur Prozessmodellierung (z.B. SuperPro-Designer) als Defaultwerte. Insgesamt beträgt die Investition ca. das 5-8 fache der Gesamtanschaffungskosten (Petrides, 2003) und kann auch höher sein (Heinzle et al., 2007).

4.2.2.2 Betriebskosten

Zu Betriebskosten gehören Material-, Personal-, Verbrauchsmaterial-, Laboratorium bzw. Qualitätskontrolle, Entsorgungs-, Versorgungs- bzw. Energie-, anlagenabhängige Kosten, etc. Darunter sind Material-, Personal-, Energie- und anlagenabhängige Kosten, sowie evtl. Entsorgung oft sehr bedeutend. Betriebskosten werden oft in Fixkosten und variable Kosten unterschieden. Fixkosten sind Kosten, die nicht abhängig von Produktionsrate sind. Das deutlichste Beispiel von Fixkosten ist die Abschreibung, die ein Teil der anlagenabhängigen Kosten darstellt. Das deutlichste Beispiel von variablen Kosten sind die Materialkosten. Die meisten anderen Kosten beinhalten sowohl Fix- als auch variable Kosten (Petrides, 2003).

Zu Materialien gehören u.a. Substrate bzw. Medien, Katalysator, Lösungsmittel, Zusatzstoffe (z.B. zur pH-Regelung), etc. Die Materialkosten werden durch Multiplikation der Verbrauchsmenge mit dem jeweiligen Preis berechnet. Preisinformationen von Lieferanten

sind in der Regel am genauesten. Ersatzweise kann man publizierte Preise, Preisinformationen aus Websites und Katalogen. Die letzte Quelle (Katalog) ist meist für viel kleinere Menge (z.B. für Labor bzw. Forschung) als industrielle Verbrauchsmengen. Eine ganz grobe Abschätzung erhält man durch Dividieren durch 10. Die daraus erhaltene Preisinformation ist aber sehr ungenau.

Personalkosten lassen sich sowohl durch Ermittlung der benötigten Mann-Stunden auf der Operationsebene (z.B. Medienzufuhr, Fermentation, etc.) als auch durch Ermittlung der benötigten Arbeitskräfte pro Schicht bezüglich des Gesamtprozesses abschätzen.

Bei der Abschätzung von Personalkosten auf der Mann-Stunden-Basis wird für jede Operation die Anzahl der Arbeitskräfte festgelegt. Für Fermentation wird beispielsweise ein Operator benötigt. Außerdem ist für jede Operationen die jeweilige Dauer bekannt bzw. eingegeben worden. Daraus werden die benötigten Mann-Stunden pro Batch ermittelt. Zusammen mit Faktoren, z.B. für Aufsichtpersonal, etc. und mit der Angabe über den Stundenlohn (z.B. 30 Euro pro Stunde) werden die Personalkosten ermittelt.

Die Abschätzung von Personalkosten bezüglich des Gesamtprozesses wird wie folgt durchgeführt. Zunächst werden der Personalbedarf pro Schicht und dann der jährliche Gesamtpersonalbedarf ermittelt. Für Fermentation werden beispielsweise 8 Personen pro Schicht benötigt, für Verpackung 1 Person, etc. Pro Schicht werden insgesamt z.B. 11 Personen eingesetzt. Man arbeitet in drei Schichten. Deshalb beträgt der Personalbedarf 33 Personen. Pro Jahr kostet ein Arbeiter beispielsweise 40 000 \$. Und zusätzlich mit Faktoren z.B. für Aufsichtpersonal werden die Personalkosten ermittelt.

Die Abschätzung von Personalkosten auf der Ebene Operationen setzt eine Auflistung bzw. Benennung wichtigster Operationen und der jeweiligen Dauer voraus. Ein Vorteil dabei ist, dass man evtl. die Engpässe durch die benötigten Arbeitskräfte erkennen und eine entsprechende Prozessoptimierung durchführen kann. Die Abschätzung bezüglich des Gesamtprozesses ist schneller und einfacher, setzt aber eine gewisse Erfahrung voraus. Die eine Methode kann zur Plausibilitätsüberprüfung der Ergebnisse aus der anderen Methode verwendet werden.

Energiekosten entstehen in biotechnologischen Prozessen insbesondere aus folgenden Operationen: Heizen, Kühlen, Destillation bzw. Evaporation, Luft- bzw. Sauerstoffszufuhr und Rühren bzw. Mischen. Der Energiebedarf wird im Prozessmodell in Form von Strom, Wasserdampf und Kühlmittel für einzelne Grundoperationen ermittelt. Entsorgungskosten sind die Kosten für die Abfall-, Abwasser-, und Abgasbehandlung. Die anlagenabhängigen Kosten bestehen aus Abschreibungen, Reparatur- bzw. Wartungskosten und Versicherung.

4.2.3. Kriterien für Screeningzwecke

4.2.3.1 Ökonomische Potentiale nach Douglas (1988)

Eine Wirtschaftlichkeitsbetrachtung muss in allen Phasen der Prozessentwicklung erfolgen. Auf jeder Stufe der Douglas-Hierarchie können mit der bis dahin bereits vorliegenden Information Kosten geschätzt werden. Douglas (1988) schlug die Anwendung des so genannte ökonomische Potential (EP) vor. Es gilt allgemein:

$$EP_i = \text{Erlös}_i - \text{Produktionskosten}_i \quad (4.1)$$

Der Index i deutet hin, dass es sich dabei um die Schätzwerte in einer Entwicklungsphase auf der Basis der vorliegenden Information handelt, die weiter verfeinert werden müssen. Falls EP_i negativ wird, ist die Alternative zu verwerfen, falls der Erlös einigermaßen genau bekannt ist und die Produktionskosten bereits nach unten abgeschätzt worden sind. Die Maßnahme ist sehr effizient durch rechtzeitiges Beenden mit einem noch minimalen Entwicklungsaufwand. Die anderen Möglichkeiten sind die Suche nach besseren Prozessalternativen oder durch Erhöhung des Produktpreises, so dass das ökonomische Potential nicht negativ ist, und die Prozessentwicklung kann weitergehen. Der Produktpreis lässt sich aber nicht beliebig erhöhen und ist vom aktuellen Marktpreis abhängig.

Die erste Abschätzung des ökonomischen Potentials basiert auf dem aktuellen Produktpreis und den Materialkosten (MK). Es gilt, vereinfacht und etwas geändert aus Douglas (1988):

$$EP_1 = \text{Erlös} - \text{MK} \quad (4.2)$$

Nachdem die Material- und Energiebilanz ermittelt worden sind, werden die Energiekosten (EK) mit betrachtet.

$$EP_2 = \text{Erlös} - \text{MK} - \text{EK} \quad (4.3)$$

Evtl. können hier die Kosten für die Arbeitskräfte (AK) berücksichtigt werden.

$$EP_3 = \text{Erlös} - \text{MK} - \text{EK} - \text{AK} \quad (4.4)$$

Danach sind die Kosten für einzelne Apparate bzw. Teilanlage (App).

$$EP_n = \text{Erlös} - \text{MK} - \text{EK} - \text{AK} - \sum(\text{App})_n \quad (4.5)$$

In vielen Fällen ist es einfacher zu beurteilen, wenn Erlös in Produktpreis bzw. Betriebskosten in spezifische Betriebskosten dargestellt werden. Bei einem Produktionsprozess mit nur einem Produkt dividiert man durch Produktionsrate (PR). Daraus erhält man den Produktpreis (PPr) (Douglas, 1988).

$$PPr = \text{MK}/PR + \text{EK}/PR + \text{AK}/PR + \text{App}/PR \quad (4.6)$$

Die Ausdrücke auf der rechten Seite sind die Beiträge von verschiedenen Komponenten zum Produktpreis. Wenn die Summe der Beiträge sehr groß im Vergleich zum aktuellen

Produktpreis ist, soll man andere Prozessalternative suchen bzw. in Betracht ziehen. In Analog dazu kann man aus der Darstellung von spezifischen Betriebskosten den minimalen Produktpreis abschätzen (vgl. Kap. 7.3.2).

4.2.3.2 Kosten- bzw. Ökonomische Indices nach Heinzle et al. (1998)

Heinzle et al. (1998) schlugen die Anwendung von Kosten- bzw. ökonomischen Indices (CI) vor. Als Referenz wird der so genannte fiktive Mindestproduktpreis verwendet, der aus Rohmaterialpreisen ermittelt wird. Die Berechnung von Kosten- bzw. ökonomischen Indices basiert auf der Stoffstrombilanz, zunächst nur von der Inputseite (Substrate und Zusatzstoffe) und später auch von der Outputseite inkl. Abfallbehandlungskosten und anlagenabhängiger Kosten (Heinzle et al., 1998).

Der Gesamtkostenindex aus der Inputseite ist die Summe der Kostenindices für die Substrate, Nebenprodukte, Restsubstrate, Verunreinigungen im Substrate, Katalysator, Lösungsmittel und Zusatzstoffe. Es gilt für die Bilanzregion Reaktion ohne Recycling, vereinfacht aus Heinzle et al. (1998):

$$CI_{in} = I + CI_{NP} + CI_{RS} + CI_{VR} + CI_{Kat} + CI_{LM} + CI_{ZS} \quad (4.7)$$

Der Kostenindex für das Lösungsmittel (CI_{LM}) lässt sich beispielsweise wie folgt berechnen:

$$CI_{LM} = \frac{\sum_i^{n_{LM}} m_{LM,i} \cdot P_{LM,i}}{m_P \cdot P_{P,\min}} \quad (4.8)$$

wobei m Stoffstrom, LM Lösungsmittel, P Produkt, $P_{P,\min}$ der fiktive Mindestproduktpreis sind. Ähnliches gilt für die Kostenindices für andere Stoffe.

4.2.3.3 Prozentuale Anteile der Kostenkomponenten

Aus der Verteilung (in %) der Kostenkostenkomponenten lassen sich die größten Verursacher der Material- und Betriebs- sowie Anschaffungskosten leicht ermitteln, vorausgesetzt, dass man die jeweiligen Kostenkomponenten ermitteln bzw. abschätzen kann. Mit Hilfe von Softwares zur Prozessmodellierung wie SuperPro-Designer lassen sich diese Kostenkomponenten sowohl der Material- als auch der Betriebskosten leicht ermitteln.

Die Materialkosten sind die Kosten zur Bereitstellung der benötigten Stoffe. Die Kostenkomponenten sind hier die benötigten Stoffe multipliziert mit dem jeweiligen Preis. Die benötigten Stoffe sind zum Beispiel die Substrate, der Katalysator, die Lösungsmittel, und andere Zusatzstoffe. Und die Kostenkomponenten der Betriebskosten sind u.a. die Material-, Personal-, anlagenabhängige, Verbrauchsmaterial-, Labor und Qualitätskontrolle, Energie-, Entsorgungs-, Transport-, Werbungskosten und Patentgebühr.

Bei der Evaluierung der prozentuellen Verteilung der Kostenkomponenten von Material- und Betriebskosten hat man zwei Möglichkeiten. Bei der ersten Möglichkeit fängt man in Anlehnung am Hierarchie-Prinzip von Douglas (1988) mit der Evaluierung der Materialkosten an, deren Kostenkomponenten leichter zu ermitteln sind. Hier kann man schon Hinweise darauf bekommen, welche Stoffe die größten Kostenanteile haben und evtl. was man zur Reduzierung der Materialkosten machen kann. Danach geht man in die nächste Stufe, nämlich zur Betrachtung der gesamten Betriebskosten. Entsprechend kann man hier die größten Kostenverursacher bei den Betriebskosten ermitteln.

Der oben beschriebene Weg hat aber den Nachteil, da man die Bedeutung der Materialkosten zu den gesamten Betriebskosten erst später weiß. Beispielsweise haben die Materialkosten nur einen kleinen Anteil (z.B. 5 %) an den gesamten Betriebskosten. Vor der Betrachtung der Betriebskosten hat man beispielsweise bereits Überlegungen zur Reduzierung der Materialkosten gemacht, z.B. durch Reduzierung des Substratverbrauchs, weil das Substrat beispielsweise einen Anteil von 90 % an den gesamten Materialkosten hat. Die Überlegungen haben aber in der Tat wenig Bedeutung.

Deshalb ist es durchaus sinnvoller, in umgekehrte Richtung zu arbeiten. Man betrachtet erstmal die Betriebskosten und ihre Verteilung, bevor man die Verteilung der Materialkosten genauer unter der Lupe nimmt. Das setzt aber voraus, dass die Betriebs- und Materialkosten sich beispielsweise mit Hilfe einer Software zur Prozessmodellierung parallel ermitteln lassen.

4.3. Ökologische Dimension

„I am particularly interested in simplifying the LCA process so that it takes weeks instead of years to complete. At the same time the method has to be defensible, so database values without reference can not be used.“

(Raymond Smith - EPA, 2006)

4.3.1. Einführung

Die bisher entwickelten Methoden zur Ökobilanzierung wurden primär zur Bewertung von bestehenden Prozessen bzw. Produkten konzipiert, und sind deshalb zur Evaluierung von Prozessen in frühen Entwicklungsphasen wenig geeignet. Außerdem ist die Anwendung solcher Methoden oft nur mit einem großen Aufwand verbunden und deshalb für KMUs wenig geeignet. Die entwickelten Methoden zur Ökobilanzierung wurden vorwiegend für klassische Prozesse und Produkte entwickelt und eignen sich daher nur bedingt für biotechnologische Prozesse (Renner und Klöpffer, 2003). Einige spezifische

biotechnologische Charakteristika wurden oft nicht berücksichtigt. Dazu gehören der Einsatz von erneuerbaren Stoffen als Rohmaterial, Eigenschaften von Biomaterialien (biologische Risiken) und der große Wasserverbrauch während des Produktionsprozesses. Außerdem ist die Anwendung solcher Methoden oft nur mit einem großen Aufwand verbunden und deshalb in frühen Entwicklungsphasen und für KMUs ungeeignet.

Die in dieser Arbeit eingesetzte Methode zur ökologischen Bewertung biotechnologischer Prozesse während ihrer Entwicklung (Heinzle et al., 2006) basiert auf der an der ETH Zürich entwickelte Methode von Heinzle et al. (1998) und deren Weiterentwicklung an der Universität des Saarlandes für die Bewertung biotechnologischer Prozesse (Biber, 2003; Biber und Heinzle, 2004; Heinzle et al., 2006).

4.3.2. Methode von Heinzle und Biber vom Jahr 2003

4.3.2.1 Kurzbeschreibung

Als „Vorstufe“ der aktuellen Version (s. Kap. 4.3.3) wird die Methode von Heinzle und Biber hier noch mal kurz erläutert. Die ausführliche Beschreibung lässt sich z.B. aus Biber (2003) und Biber und Heinzle (2004) entnehmen.

In der Methode von Biber und Heinzle werden die Stoffe basierend auf ihren Eigenschaften in jeder der insgesamt 14 Wirkungskategorien nach der so genannten ABC-Klassifizierung (hohes - mittleres - geringes Wirkungspotential) bewertet. In einem ersten Bewertungsschritt werden alle Stoffe mit Klasse A-Einstufungen näher betrachtet und überprüft, inwieweit ihre negativen Eigenschaften im betrachteten Prozess relevant werden können.

Für eine weitergehende Bewertung werden die Mengenteile der Stoffe in der Sachbilanz bzw. die Massenindices miteinbezogen. Die Bedeutung eines Stoffes unter Sicherheits-, Gesundheits-, und Umweltaspekten wird dabei durch einen Gewichtungsfaktor, den so genannten *Environmental Factor* (EF) ausgedrückt. Mit diesen Faktoren werden die in der Sachbilanz ermittelten Mengen der einzelnen Stoffe bzw. die Massenindices gewichtet.

Die ABC-Klassifizierung in den Wirkungskategorien bildet die Grundlage für die Bestimmung der einzelnen *Environmental Factors*. Jede Wirkungskategorie ist einer Wirkungsklasse zugeordnet. Die Wirkungsklassen werden ebenfalls der Klasse A, B, oder C zugeteilt. Dabei bestimmt die höchste Klasseneinteilung der zugeordneten Wirkungskategorien die Klassifizierung der Wirkungsklasse.

Den nächsten Aggregationsschritt stellt die Ableitung der *Environmental Factors* aus den Wirkungsklassen dar. Der EF für Inputstoffe wird aus den Wirkungsklassen „Ressources“,

„Grey Input“, „Organisms“ und „Component Risk“ ermittelt, und der EF für Outputstoffe aus den Wirkungsklassen „Air“, „Water/Soil“, „Organisms“ und „Component Risk“.

Um das Zusammenführen der vier relevanten Wirkungsklassen zu einem EF zu ermöglichen, müssen den drei Klassen A, B und C Zahlenwerte zugeordnet werden. Dabei werden zwei Zahlenkombinationen mit den entsprechenden Aggregationsmethoden vorgenommen. Für die Aggregation über Multifikation werden die Zahlenwerte $A = 4$, $B = 1,3$ und $C = 1$, wie schon von Heinzle et al. (1998) vorgeschlagen wurden, verwendet. Mit den Zahlenwerten $A = 1$, $B = 0,3$ und $C = 0$ erfolgt die Aggregation über Mittelwertbildung.

Die Umweltkennzahl (genannt als *Environmental Index*) eines Stoffes (jeweils für Input und Output) wird aus Massenindex des Stoffes multipliziert mit dem jeweiligen EF ermittelt. Die Gesamtumweltkennzahl ist die Summe der Umweltkennzahlen von allen Stoffen.

4.3.2.2 Kritische Bemerkungen

Die Zusammenführung von einer oder mehreren Wirkungskategorien in eine Wirkungsklasse widerspricht der Relevanz bzw. dem Gefährdungspotential eines Stoffes auf die Umwelt. Qualitativ gesehen hat ein Stoff mit vier Klasse A-Einteilungen ein größeres Gefährdungspotential als ein Stoff mit nur einer Klasse A-Einteilung.

Die Wirkungskategorien haben unterschiedliche Bedeutung hinsichtlich der Relevanz ihrer Wirkungen auf die Umwelt. Die Wirkungskategorie Geruch hat beispielsweise eher reversible Auswirkung auf lokale Fläche im Vergleich zu der Wirkungskategorie Potential für globale Erwärmung, was eine globale Auswirkung hat und weniger reversibel ist. Die Klasse A in der Wirkungskategorien GMP und Geruch hat jeweils ein anderes Gefährdungspotential und soll deshalb unterschiedliche Gewichtung haben.

Die oben beschriebene Vorgehensweise zur Zuteilung der Wirkungsklassen zur Klasse A, B, oder C aus der Klasseneinteilung der entsprechenden Wirkungskategorien ist deshalb unzureichend. Ein Lösungsansatz ist durch Wichtung der Wirkungskategorien untereinander (s. Kap. 4.3.3.4).

4.3.3. Aktuelle Version der Bewertungsmethode

4.3.3.1 Methodisches Vorgehen

Die Bewertungsmethode soll folgende Charakteristika haben: Transparenz, hohe Aussagekraft bei geringstem Aufwand, umfassende Beurteilung, Eignung als Steuerungsinstrument während der Prozessentwicklung und weitest gehende Automatisierung.

Durch eine klare Strukturierung und basierend auf allgemein akzeptierten Bewertungsstrukturen und –daten sollen die hohen Anforderungen erreicht werden.

Abb. 4.1 stellt die Hauptvorgänge der ökologischen Bewertung dar. Als Basis der ökologischen Bewertung dient die Sachbilanz mit Input- und Outputstoffen aus der Prozessmodellierung und –simulation, z.B. in SuperPro-Designer. Der nächste Schritt ist die Beschaffung der relevanten Daten für die Stoffe, die zur Ermittlung des Gefährdungspotentials einzelner Stoffe benötigt werden.

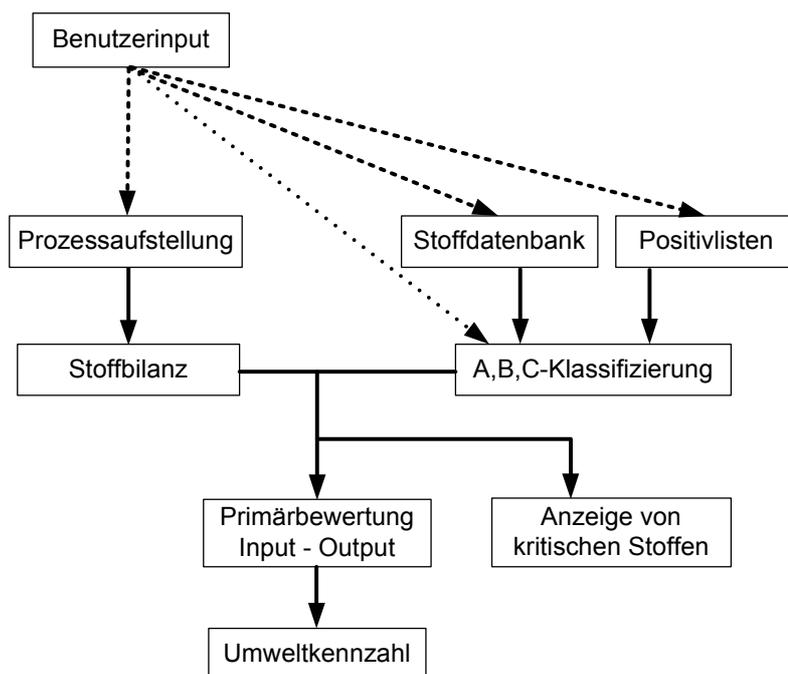


Abb. 4.1. Schematische Darstellung der Vorgänge der ökologischen Bewertung

Für jede von insgesamt 14 Wirkungskategorien werden die Stoffe je nach ihren Eigenschaften nach dem ABC-Prinzip (hohes, mittleres, geringes Gefährdungspotential) klassifiziert. Klasse A bedeutet immer, dass mit größeren Problemen zu rechnen ist.

In einem nächsten Schritt werden die Kategorien für den Zulaufstrom (Roh- und Hilfsstoffe) und für die Ablaufströme (Emissionen und Nebenprodukte) mit entsprechenden Wichtungsfaktoren versehen und mit den Massenströmen multipliziert (Primärbewertung). Man erhält so ein erstes Bild über das jeweilige Potential an zu erwartenden Belastungen und Risiken. Diese Abschätzung ist also nicht eine Berechnung der tatsächlich später entstehenden Belastung von Umwelt und Gesundheit. Dies ist ohne detaillierte technische Spezifikationen, die in dieser Entwicklungsphase kaum vorliegen können, nur sehr begrenzt möglich.

Schließlich werden alle Bewertungen zu einem einzigen Wert aggregiert, der dann in einer Gesamtportfoliodarstellung verwendet werden kann und die Umweltrelevanz des Prozesses

repräsentiert. Abb. 4.2 stellt die Übersicht über die Kategorien, Wichtigkeit, Kombination mit den Stoffbilanzen und Aggregation dar.

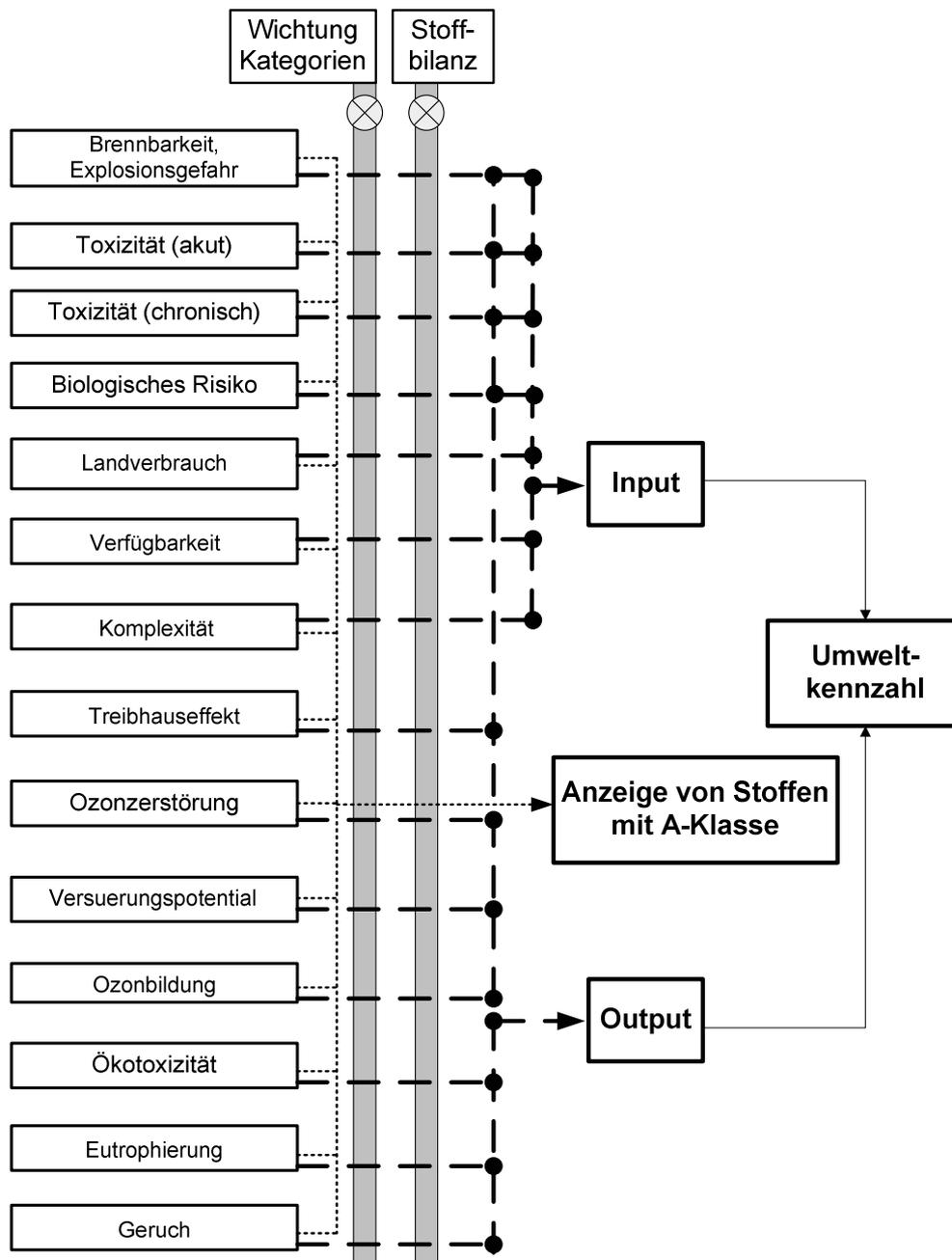


Abb. 4.2. Übersicht über Wichtigkeit, Kombination mit den Stoffbilanzen und Aggregation.

4.3.3.2 Bewertungskategorien und A,B,C-Klassifizierung

Basierend auf früheren Arbeiten werden Bewertungskriterien für Stoffe definiert, die ihr Potential zur Gefährdung von Gesundheit, Umwelt und Sicherheit charakterisieren. Ein Teil dieser Kriterien bezieht sich vornehmlich auf die Vorgeschichte der Einsatzstoffe, andere auf Sicherheit und Gesundheitsschutz und andere insbesondere auf potentielle Emissionen. In dieser Bewertungsmethode sind sowohl Techniken aus der klassischen Ökobilanzierung als

auch aus der Risikoanalyse berücksichtigt (Heinzle et al., 1998; Biwer, 2003; Biwer und Heinzle, 2004; Koller et al., 2000; Smola, 2001).

Die Klassifizierung in den Wirkungskategorien bildet die Grundlage für die Ermittlung des Gefährdungspotentials einzelner Stoffe. Jeder Stoff wird dort nach seiner Relevanz für die Wirkungskategorie in die Klasse A, B oder C eingeteilt. Es werden bewusst nur drei Stufen verwendet, weil die eingegebenen Daten, die nur grob die Umweltcharakteristiken beschreiben können, keine allzu große Genauigkeit der Bewertung erlauben.

In vielen Systemen werden auch feinere Einstufungen durchgeführt, z.B. die Einstufung der Gesundheitsgefahren nach TRGS 440 (Smola, 2001). Entsprechend werden dann die dort verwendeten Einstufungen „sehr hoch“ und „hoch“ der Klasse A, diejenigen der Stufen „mittel“ und „gering“ der Klasse B und die der Stufe vernachlässigbar der Klasse C zugeordnet. Grundsätzlich genügt eine Eigenschaft einer höheren Risikostufe für die Einordnung in diese Gruppe. Tab. 4.2 stellt die Kriterien und Klassengrenzen der Wirkungskategorien dar.

Tab. 4.2. Kriterien und Klassengrenzen der Wirkungskategorien. I = Inputskategorie, O = Outputskategorie (modifiziert nach Biwer, 2003; Biwer und Heinzele, 2004).

Wirkungskategorie	I/O	Klasse A	Klasse B	Klasse C
Landverbrauch (Land Use)	I	$\geq 100 \text{ m}^2 \text{ kg}^{-1}$	$\geq 10 \text{ m}^2 \text{ kg}^{-1}$ und $< 100 \text{ m}^2 \text{ kg}^{-1}$	$< 10 \text{ m}^2 \text{ kg}^{-1}$
Verfügbarkeit von Rohstoffen (Raw Material Availability)	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.
Komplexität der Synthese (Complexity of the Synthesis)	I	> 10 Synthesestufen	3-10 Synthesestufen	< 3 Synthesestufen
Brand- und Explosionsgefahren (Thermal Risk)	I/O	R 1- 9, 11, 12, 14-19, 30, 44; Kennz.: F ⁺ , E;	R 10; Kennz.: F, O, R10;	Keine oder vernachlässigbare Brand- und Explosionsgefahr
Akute Toxizität (Acute Toxicity)	I/O	Kennz. T+, T; R 23-29, 31, 32, 35, 39, 42, 43, 50; CH-Giftkl.: 1, 2;	Kennz. Xn, Xi, C; R 20-22, 34-38, 41, 63, 65-67; CH-Giftkl.: 3, 4;	CH-Giftkl.: 5 o. frei;
Chronische Toxizität (Chronic Toxicity)	I/O	MAK: $< 1 \text{ mg/m}^3$; R 33, 40, 45-49, 60, 61, 64; Kennz. T, T+;	MAK: 1-10 mg/m^3 ; R 53, 58, 62, 63; Kennz. Xn, Xi	MAK: $> 10 \text{ mg/m}^3$
Biologisches Risiko (Biological Risk)	I/O	BioStoffV: RG 3 oder RG 4 GenTG: S3 oder S4	BioStoffV: RG 2; GenTG: S2	BioStoffV: RG 1; GenTG: S1;
Ökotoxizität (Ecotoxicity)	O	R 50 WGK 3	R 51, 52, 54-57; WGK 2	WGK 1 oder nicht Wasser gefährdend
Potential für globale Erwärmung (Global Warming Potential (GWP))	O	GWP > 20	GWP < 20	keine klimarelevante Wirkung bekannt
Ozon-Abbaupotential (Ozone Depletion Potential (ODP))	O	ODP $> 0,5$	ODP $< 0,5$	keine ozonabbauende Wirkung bekannt
Versauerungspotential (Acidification Potential (AP))	O	AP $> 0,5$	AP $< 0,5$	kein Versauerungspotential bekannt
Ozonbildungspotential (Photochemical Ozone Creation Potential (POCP))	O	POCP > 30 oder NO_x	$30 > \text{POCP} > 2$	POCP < 2 o. keine Wirkung bekannt
Geruch (Odour)	O	Geruchsschwellenwert $< 10 \text{ mg/m}^3$	Geruchsschwellenwert $< 500 \text{ mg/m}^3$	Geruchsschwellenwert $> 500 \text{ mg/m}^3$ o. kein Geruchsbildner
Überdüngungspotential (Eutrophication Potential)	O	N-Gehalt $> 0,2$ oder P-Gehalt $> 0,05$	N-Gehalt $< 0,2$ oder P-Gehalt $< 0,05$ oder	N- und P-freie Verbindungen

Kennz. – Kennzeichnung durch Gefahrensymbole; R = R-Sätze; CH-Giftkl. = Schweizer Giftklassen; MAK = Maximale; WGK = Wassergefährdungsklasse

4.3.3.3 Datenbeschaffung

Der erste Teil der Bewertungskriterien beschäftigt sich mit der Vorgeschichte der eingesetzten Rohstoffe. Idealerweise sollten hier vollständige Ökobilanzen oder Resultate ähnlicher Analysen eingesetzt werden. Hier werden ersatzweise leichter ermittelbare Größen eingesetzt. Diese sind (i) der Landverbrauch (*Land Use*) bei erneuerbaren Rohstoffen, was aus der land- und forstwirtschaftlichen Statistiken bekannt ist, (ii) die allgemeine Rohstoffverfügbarkeit insbesondere für mineralische und fossile Rohstoffe (*Availability*) und (iii) die Komplexität (*Complexity of Synthesis*) der Vorlaufketten bis zur Bereitstellung des eingesetzten Ausgangsstoffes (s. Tab. 4.2).

Die im Prozess eingesetzten Stoffe werden durch eine Zeigerstruktur über die Syntheseschritte bis zu den Primärrohstoffen verfolgt, wodurch für alle Stoffe ein Synthesebaum entsteht. Die letztlich eingesetzten Primärrohstoffe sind: (i) erneuerbare Rohstoffe wie Stärke, Zucker, Zellulose und Öle, (ii) fossile wie Mineralöl, Gas und Kohle und (iii) mineralische Rohstoffe.

Für den Flächenbedarf erneuerbarer Rohstoffe werden durchschnittliche Hektarerträge eingesetzt. Dieser Indikator spiegelt gewissermaßen die Konkurrenz zu Landverbrauch für die landwirtschaftliche Produktion von Lebensmitteln wider. Er beschreibt also nicht die Versiegelung von Land durch die verschiedenen vorgelagerten Schritte. Die notwendigen Daten werden aus statistischen Datenbanken bezogen (z.B. FAO, 2004; Statistisches Bundesamt, 2004). Die Klassengrenzen für die ABC-Klassifizierung wurden nach dem Studium aktuellen Flächenverbrauchs (Tab. 4.3) festgelegt.

Tab. 4.3. Beispiele von Flächenverbrauch für die Produktion ausgewählter nachwachsender Rohstoffe (Ernten im Jahr 2004).

Substanz	Flächenverbrauch [m ² kg ⁻¹]	Gehalt in Rohstoff [%]	Ertrag Rohstoff (kg/m ²)	Quelle
Sojaöl	17	20	0,29	USA
Rapsöl	13	42	0,18	BRD
Sonnenblumenöl	11	50	0,18	USA
Erdnussöl	6,5	45	0,34	USA
Zucker	0,95	17	6,2	BRD
Stärke (Mais)	1,57	70	0,91	BRD
Stärke (Kartoffel)	1,13	20	4,4	BRD

Quelle: USA (FAO, 2004) bzw. BRD (Statistisches Bundesamt, 2004).

Über den Synthesebaum sind letztlich die Anteile an erneuerbaren, fossilen und mineralischen Rohstoffe verfügbar. Dabei werden ausschließlich in stöchiometrischen Mengen eingesetzte Stoffe berücksichtigt. Bei den mineralischen Rohstoffen werden auf Grund der Summenformeln die benötigten Elemente ermittelt und primär deren heute bekannte Reichweite zu weiteren Klassifizierung eingesetzt (US Geological Survey, 2005).

Die Analyse der Komplexität der Synthese (*Complexity of the Synthesis*) beruht ebenfalls auf dem Synthesebaum, wobei nur die Anzahl der Vorlaufstufen berücksichtigt wird. Bei dieser Analyse wird davon ausgegangen, dass jede Synthesestufe eine zusätzliche Umweltbelastung darstellt, was für eine erste Abschätzung ausreicht (Heinzle et al., 1998; Biwer, 2003; Biwer und Heinzle, 2004). In einem zweiten Teil werden Eigenschaften der eingesetzten Stoffe bezüglich Sicherheit und Toxizität beschrieben. Dies umfasst die Felder: (i) thermisches Risiko, (ii) akute und (iii) chronische Toxizität, (iv) biologische Risiken und (v) Ökotoxizität. Hierbei wird stark auf das so genannte Spaltenmodell Bezug genommen (Smola, 2001). Diese Eigenschaften werden aus Datenbanken bezogen (Roth, 1990; HVBG, 2005; Dechema, 2005; Wiley-Interscience, 2005; Merck, 2006).

Die hier vorgenommene Analyse von Brand- und Explosionsgefahren (*Thermal Risk*) stellt eine erste Abschätzung dar und kann auf keinen Fall eine Risikoanalyse ersetzen, obwohl auf vielfach abgesichertes Datenmaterial zurückgegriffen wird. Ausgehend von der CAS-Nummer wird beispielsweise bei Roth (1990), GESTIS (HVBG, 2005) oder bei CHEMSAFE (Dechema, 2005) abgefragt. Können dort keine Daten eruiert werden, dann kann man bei etablierten Chemikalienfirmen wie Merck recherchieren (Merck, 2006). Sind keine Daten verfügbar, so können zusätzliche Kriterien verwendet werden (Biwer und Heinzle, 2004). Ähnlich wie beim thermischen Risiko sind für die akute Toxizität (*Acute Toxicity*), die chronischen Toxizität (*Chronic Toxicity*) und die Ökotoxizität (*Ecotoxicity*) viele Daten verfügbar, auf die ausgehend von der CAS-Nummer zurückgegriffen werden kann (Roth, 1990; HVBG, 2005; Dechema, 2005; Wiley-Interscience, 2005; Merck, 2006).

Beim biologischen Risiko (*Biological Risk*) werden zwei wesentliche Arten möglicher Gefährdungen berücksichtigt, die auch jeweils Gegenstand entsprechender Gesetze und Verordnungen sind. Die Biostoffverordnung beschreibt, wie mit biologischen Arbeitsstoffen umgegangen werden muss, wenn damit Risiken für die Gesundheit verbunden sind (BioStoffV 1999). Es werden 4 Risikogruppen (RG 1 bis RG 4) definiert, wobei von Arbeitsstoffen der RG 1 kein erkennbares Risiko ausgeht, von Stoffen der RG 2 können Krankheiten ausgehen, die aber kontrollierbar sind. Stoffe dieser beiden Gruppen werden entsprechend in Klasse C bzw. B eingestuft. Stoffe der RG 3 und RG 4 werden in Klasse A

eingestuft (Tab. 4.2). Der zweite Typus von Risiken geht von gentechnisch veränderten Organismen aus (GenTG 1993/2002 und GenTSV 1995). Hier werden 4 Sicherheitsstufen für gentechnisches Arbeiten definiert, S1- kein Risiko für Mensch und Umwelt erkennbar (Klasse C); S2 geringes Risiko (Klasse B); S3 – mäßiges Risiko (Klasse A); S4 – hohes Risiko (Klasse A). Die Einstufung der biologischen Arbeiten muss auf jeden Fall vom Benutzer biotechnologischer Prozesse durchgeführt werden, sodass diese Daten vorliegen müssen.

Im dritten Teil werden die mehr global wirkenden gasförmigen Stoffe erfasst, die bei der betrachteten Produktion entstehen können. Die allgemein anerkannten Kriterien sind das globale Erwärmungspotential (*Global Warming Potential (GWP)*), das Ozonabbaupotential (*Ozone Depletion Potential (ODP)*), das Versauerungspotential (*Acidification Potential (AP)*) und das Ozonbildungspotential (*Photochemical Ozone Creation Potential (POCP)*). Diese können unter Verwendung der CAS Nummer abgefragt werden (van Oers et al., 2002).

Im vierten Teil werden mehr lokale Auswirkungen auf Wasser und Luft berücksichtigt. Die Geruchsbelästigung ist bei vielen biotechnologischen und chemischen Prozessen ein relevantes Problem. Für bekannte Stoffe gibt es Listen (Roth, 1990; HVBG, 2005). In Laborexperimenten werden spezifische biologische Probleme spätestens virulent und müssen dann entsprechend berücksichtigt werden. Der letzte Indikator beschreibt schließlich das Überdüngungspotential (*Eutrophication Potential*), was durch den Stickstoff-, Phosphor- und Kohlenstoffgehalt der Stoffe charakterisiert wird.

4.3.3.4 Wichtung

Zur Zusammenführung aller Werte müssen die Klassen mit Zahlenwerten belegt werden (Heinzle et al., 1998). In jedem Fall soll eine A-Klassierung alle B-Klassierungen dominieren und entsprechend eine B-Klassierung alle C-Klassierungen. Eine mögliche Zahlenwerte sind 100 für Klasse A, 10 für Klasse B und 1 für Klasse C.

Die Wirkungskategorien haben unterschiedliche Bedeutung hinsichtlich der Relevanz ihrer Wirkungen auf die Umwelt. Das Umweltbundesamt misst ihnen daher eine unterschiedliche Bedeutung bei, weil sie sich unterscheiden hinsichtlich (UBA, 1999): Auswirkung auf Struktur und Funktion des Ökosystems, betroffenes Hierarchielevel des Ökosystems, **Reversibilität, betroffene Fläche, Unsicherheit in Ursache-Wirkungs-Beziehung**, Grad der Zielerreichung, **Trend des negativen Effekts in der Zukunft**, Internationale Vereinbarungen, Möglichkeit der technologischen Beherrschbarkeit. Die hervorgehobenen Aspekte werden für die hier durchgeführten Analysen als maßgeblich betrachtet und daher hier berücksichtigt (Tab. 4.4).

Tab. 4.4. Beurteilung der Bedeutung verschiedener Belastungskategorien nach UBA (1999) und eigener Einstufung.

Belastungsart	Betroffene Fläche	Reversibilität der Beeinträchtigung	Trend	Unsicherheit bei UWB
GWP	Global	Nein	Wachsend	Groß
ODP	Global	Teilweise	Abnehmend	Mittel
POCP	Regional	Ziemlich	Abnehmend	Klein
AP	Global	Wenig	Abnehmend	Klein
NP	Überregional	Wenig	Abnehmend	Groß
Ökotoxizität ^{*)}	Überregional	Teilweise wenig	Neutral	Groß
Landverbrauch	Global	Nein	Neutral	Groß
Verfügbarkeit	Global	Nein	Unterschiedlich	Klein
Geruch	Lokal	Reversibel	Neutral	Klein

UWB: Ursache-Wirkung Beziehung

Tab. 4.5 stellt die abgeleiteten Wichtungsfaktoren aus der Beurteilung der Bedeutung verschiedener Belastungskategorien nach UBA dar.

Tab. 4.5. Beurteilung der Bedeutung verschiedener Belastungskategorien nach UBA und daraus abgeleitete Wichtungsfaktoren

Belastungsart	Betroffene Fläche (1 regional; 2 überregional; 3 global)	Reversibilität der Beeinträchtigung (1 reversibel; 2 teilweise; 3 irreversibel)	Trend (1 fallend; 2 gleich bleibend; 3 steigend)	Unsicherheit bei UWB (1 klein; 2 mittel; 3 groß)	Gesamtgewichtung
GWP	3	3	3	3	100
ODP	3	2	1	2	66
POCP	1	1	1	1	33
AP	3	3	1	1	66
NP	2	3	1	3	75
Ökotoxizität ^{*)}	2	3	2	3	80
Landverbrauch	3	3	2	3	90
Verfügbarkeit	3	3	2	1	75
Geruch ^{*)}	1	1	1	1	33

^{*)} eigene Einstufung.

Basierend auf eigenen Abschätzungen gehen die Kategorien Komplexität der Synthese und Kritische Materialien mit Durchschnittswerten, d.h. einem Faktor von 50 in die Bewertung ein. Brennbarkeit und Explosionsgefahr, akute und chronische Toxizität und biologisches Risiko gehen jeweils mit dem Faktor 100 in die gewichtete Bewertung ein.

4.3.3.5 Überprüfung Stoffdaten und kritischer Einzelstoffe (mit Klasse A)

Wird eine Bewertung durchgeführt, so wird zuerst geprüft, ob alle aufgeführten Stoffe vollständig charakterisiert sind. Ist dies nicht der Fall, so muss eine solche Charakterisierung erst durchgeführt werden. Wenn dies auf Grund der zur Verfügung stehenden Informationen nicht möglich ist, dann wird eine Zugehörigkeit zur jeweiligen Klasse A (höchste Gefährdung) angenommen, es sei denn es wird explizit ein davon abweichender Wert spezifiziert, was entsprechend protokolliert werden muss.

In einem nächsten Auswerteschritt wird die Existenz von in die Klasse A eingestuften Stoffen angezeigt. Die entsprechenden Charakteristika müssen als erstes einzeln durchgearbeitet werden, z.B. durch Eingabe möglicher Maßnahmen zur Risikominderung oder Stoffstromreduktion.

4.3.3.6 Massenindices und Umweltkennzahlen

Die so genannte Massenindices (MI_i) sagen aus, wie viel einer Komponente der Massenbilanz pro Einheit Produkt verbraucht wird bzw. anfällt. Die Massenindices werden aus der Input- und Outputbilanz abgeleitet.

$$MI_i = M_i/M_p \quad (4.1)$$

m = Masse einer Komponente der Stoffbilanz

p = Produkt

i = Komponente der Massenbilanz

Die Summe aller MIs ergibt den Massenindex (MI):

$$MI = \sum MI_i \quad \text{für Inputstoffe} \quad (4.2)$$

$$MI = 1 + \sum MI_i \quad \text{für Outputstoffe} \quad (4.3)$$

Zur Ermittlung der Umweltindices werden die entsprechenden Wichtungsfaktoren für alle Wirkungskategorien nach folgender Gleichung ermittelt:

$$WF = B^\alpha \quad (4.4)$$

Dabei ist B die verwendete Basis (Default-Wert = 10) und α ist der durch die Klassenzuordnung bestimmte Exponent (Werte: Klasse A, $\alpha=2$; Klasse B, $\alpha=1$; Klasse C, $\alpha=0$). Die Werte der einzelnen Wirkungskategorien werden noch untereinander gewichtet (Tab. 4.6).

Tab. 4.6. Wichtungskoeffizienten (WK_{Input} und WK_{Output}) der Wirkungskategorien.

Inputseite	WK_{Input}	Outputseite	WK_{Output}
Brand- und Explosionsgefahren	100	Brand- und Explosionsgefahren	100
Akute Toxizität	100	Akute Toxizität	100
Chronische Toxizität	100	Chronische Toxizität	100
Biologisches Risiko	100	Biologisches Risiko	100
Landverbrauch	90	Ökotoxizität	80
Rohstoffverfügbarkeit	75	Potential für globale Erwärmung	100
Komplexität der Synthese	50	Ozon-Abbaupotential	66
		Versauerungspotential	66
		Ozonbildungspotential	33
		Geruch	33
		Überdüngungspotential	75
Summe	615	Summe	853

Ein Umweltfaktor EF eines Stoffes wird über den arithmetischen Mittelwert aller Wichtungsfaktoren WF , zusätzlich gewichtet mit den in Tab. 4.6 angegebenen Wichtungskoeffizienten und bezogen auf die Summe der Wichtungskoeffizienten WK berechnet. Für den Input ergibt dies

$$EF_{Input} = \frac{\sum_{i=1}^7 (WF_{Input,i} * WK_{Input,i})}{\sum_{i=1}^7 WK_{Input,i}} \quad (4.5)$$

und für den Output

$$EF_{Output} = \frac{\sum_{i=1}^{11} (WF_{Output,i} * WK_{Output,i})}{\sum_{i=1}^{11} WK_{Output,i}} \quad (4.6)$$

Die Input-Kennzahl ergibt sich dann aus der Verknüpfung mit den Massenindices:

$$KZ_{Input} = \sum_{i=1}^{n_{stoff}} MI_i \cdot EF_{Input,i} \quad (4.7)$$

Dabei ist n_{stoff} die Anzahl der zu berücksichtigenden Input-Stoffe. Analog dazu wird die Output-Kennzahl mit den Output-Stoffen berechnet. Mit einem Wichtungsverhältnis von Input zu Output von 40:60 werden die beiden Werte in einer Umweltkennzahl aggregiert, die die Gesamtbelastungen bzw. Risikopotentiale zusammenfasst.

4.4. Soziale Dimension

4.4.1. Hintergrund

Die dritte Säule des Nachhaltigkeitskonzepts ist die soziale Dimension. Die sozialen Aspekte der Nachhaltigkeit werden bisher bei einer Prozessentwicklung nicht berücksichtigt oder nur qualitativ betrachtet. Da die begleitende Evaluierung während einer Prozessentwicklung zu einer Prozessverbesserung durch Schwachstellenerkennung bzw. durch die Wahl besserer Prozessalternative führen soll, sollen diejenigen sozialen Kriterien einbezogen werden, die einen direkten Bezug zu Prozess- bzw. Stoffeigenschaften haben.

Dabei geht es nicht darum, eine neue Evaluierungsmethode der sozialen Aspekte zu entwickeln, sondern einige soziale Kriterien bzw. Indikatoren aus bestehenden sozialen Bewertungsmethoden zu identifizieren, die einen direkten Bezug zu Prozess- und Stoffdaten haben. Als Grundlagen für diese Identifizierung dienen die soziale Bewertungsmethode der Software zur Bioprozessentwicklung *Sabento* (Geibler et al., 2005) und die soziale Bewertungsmethode, die Teil der Nachhaltigkeitsbewertungsmethode SEEbalance® von BASF ist (Schmidt, 2003; Schmidt et al., 2004).

Die Bewertungsmethode der sozialen Nachhaltigkeit in *Sabento* wurde vom Wuppertal-Institut entwickelt. Dabei werden die Indikatoren in 8 sozialen Aspekten gruppiert, nämlich Arbeits- und Gesundheitsschutz, Qualität der Arbeitsbedingungen, Beschäftigungseffekt, Aus- und Weiterbildung, Wissensmanagement, Innovationspotenzial, Kundenakzeptanz und gesellschaftlicher Produktnutzen und gesellschaftlicher Dialog (Geibler et al., 2005).

Diese sozialen Aspekte werden auf zwei Evaluierungsebenen unterteilt, nämlich Prozessentwicklung und Prozessanwendung. Zur Bewertung werden für jeden der acht Aspekte und für jede Evaluierungsebene vier Detailfragen gestellt. Für jede Detailfrage werden jeweils maximal drei Punkte (null Punkte: schlecht, drei Punkte: sehr gut) vergeben. Maximal sind je 96 Punkte für die Prozessentwicklung und Prozessanwendung.

Die formulierten Indikatoren der sozialen Bewertung in *Sabento* haben jedoch mit den Prozess- und Stoffeigenschaften keinen (direkten) Zusammenhang. Die *Sabento*-Nutzer müssen diese Indikatoren einzeln abarbeiten. Andererseits hat *Sabento* bereits eine Stoffdatenbank mit vielen Stoffeigenschaften. Hier geht man davon aus, dass einige Indikatoren direkte Zusammenhänge mit Prozess- bzw. Stoffdaten haben.

Eine Bemerkung ist zu den zwei Evaluierungsebenen noch hinzuzufügen. Bei der sozialen Bewertungsmethode vom Wuppertal-Institut wird die Prozessentwicklung genauso wie die Prozessanwendung bewertet, z.B. wie viele Arbeitsplätze durch die Prozessentwicklung

gesichert und geschaffen werden können. Es ist aber nicht das Ziel dieser Arbeit, die Prozessentwicklung als solche zu bewerten, sondern Produktionsprozesse während der Entwicklung begleitend zu evaluieren bzw. Optimierungspotentiale zu identifizieren.

Bei der von BASF und Partnern entwickelten Bewertungsmethode der Nachhaltigkeit (SEEbalance) werden soziale Bewertungskriterien nach folgenden Stakeholdern gruppiert: Mitarbeiter, Partner, Endkunden & Verbraucher, Gesellschaft, zukünftige Generation, und internationale Gemeinschaft. Bei der Bewertung wird der gesamte Produktlebensweg berücksichtigt, der Vorketten/Einkauf, Produktion, Transport/Logistik, Ge- oder Verbrauch, und Verwertung/Beseitigung umfasst (Schmidt, 2003). Somit ist die Produktion nur ein Teil des gesamten Produktlebenswegs.

Zwei wesentliche Aspekte sind die Produkteigenschaften und die an der Herstellung und Entsorgung der Produkte beteiligten Akteure wie Mitarbeiter, Geschäftskunden und darüber hinausgehende Gesellschaftsbereiche. Ein großes Problem bei der Anwendung dieser Methode ist offenbar die Datenverfügbarkeit. Deshalb ist es notwendig, Kriterien bzw. Indikatoren so zu formulieren, dass die dafür notwendigen Daten leicht verfügbar sind. Die Kriterien bzw. Indikatoren sollen mit den Prozess- und Stoffdaten direkt zusammenhängen.

4.4.2. Auswahl sozialer Kategorien bzw. Indikatoren

Die Prozessbewertung während einer Prozessentwicklung soll zu Prozessverbesserungen durch Screening von Prozessalternativen bzw. durch Ermittlung von Optimierungspotentialen führen. Die bei der Evaluierung verwendeten Kriterien bzw. Indikatoren sollen deshalb einen Bezug zu bzw. einen Zusammenhang mit Prozess- und Stoffeigenschaften haben.

Kriterien bzw. Indikatoren ohne direkten Bezug zu Prozess- und Stoffdaten werden hier nicht berücksichtigt, da sie keine Hinweise auf Prozessverbesserung liefern können. In der sozialen Bewertungsmethode in Sabento (Geibler et al., 2005) gibt es beispielsweise Kriterien bzw. Indikatoren zu den Aspekten Aus- und Weiterbildung, Wissensmanagement und Gesellschaftlicher Dialog. Dabei geht es eher um Firmenpolitik, obwohl sie für eine umfassende Nachhaltigkeitsbewertung möglicherweise nicht unwichtig sind.

Ein wichtiger Aspekt bei der Auswahl von Kriterien bzw. Indikatoren zur Prozessevaluierung in sehr frühen Entwicklungsphasen ist die Datenverfügbarkeit. Die Kriterien bzw. Indikatoren sollen mit den Prozess- und Stoffdaten direkt zusammenhängen und die dafür notwendigen Daten sollen leicht verfügbar sein.

In der ökonomischen und ökologischen Bewertungsmethode (vgl. Kap. 4.2 und 4.3) stehen einige Größen bzw. einige Prozess- und Stoffdaten, die für die soziale Bewertungsmethode

verwendet werden können. Die aus der ökonomischen Evaluierung ermittelte Größe Anzahl der Arbeitskräfte kann zur Ermittlung der Kategorien Sicherung und Schaffung von Arbeitsplätzen verwendet werden. Die Indikatoren Produktnutzen und -akzeptanz sind sowohl aus sozialer als auch aus ökonomischer Sicht gleichermaßen von Interesse.

Alle Gesundheitskategorien aus der ökologischen Evaluierung (vgl. Tab. 4.2), nämlich Akute Toxizität, Chronische Toxizität, Biologisches Risiko und die dazu benötigten Daten können zur Ermittlung der Kategorie Gesundheits-/Unfallrisiken am Arbeitsplatz bei Mitarbeitern verwendet werden. Das gleiche gilt für die Kategorie Brand- und Explosionsgefahren bzw. Thermal Risk. Daraus können Gesundheits-/Unfallrisiken für Mitarbeiter und auch für die direkte Nachbarschaft bestehen.

Die Umweltkategorien der Inputseite (vgl. Tab. 4.2) wie Landverbrauch, Verfügbarkeit von Rohstoffen, Komplexität der Synthese sind eng mit der Bedarfssicherung für zukünftige Generationen verknüpft, welche in SEEBalance als einer der Stakeholder betrachtet werden. Das Gleiche gilt für einige der Umweltkategorien der Outputseite (vgl. Tab. 4.2) wie Ökotoxizität, Potential für globale Erwärmung (GWP), Ozon Abbaupotential (ODP), Versauerungspotential (AP) und Überdüngungspotential. Zusätzlich besteht an den Kategorien GWP und ODP die Interesse von Seiten der internationalen Gemeinschaft, welche auch als Stakeholder in SEEBalance definiert ist. Die beiden Kategorien Ozonbildungspotential (POCP) und Geruch können als Belästigung für die direkte Nachbarschaft gesehen werden.

4.4.3. Fazit und Ausblick

Es wurde gezeigt, dass einige sozialen Kategorien bzw. Indikatoren einen direkten Bezug zu bzw. einen Zusammenhang mit Prozess- und Stoffdaten haben. Somit könnten Hinweise für die Prozessverbesserung aus der sozialen Bewertung gewonnen werden. Notwendig wäre aber noch die Klärung der Frage, wie die Prozess- und Stoffdaten mit den sozialen Kategorien bzw. Indikatoren verknüpft werden sollen.

5. BEITRÄGE ZU EINER SIMULATIONSGESTÜTZTEN, SYSTEMATISCHEN BIOPROZESSENTWICKLUNG

5.1. Einführung

Im Rahmen des vom BMBF geförderten Projekts "Simulationsgestützte Bewertung der Nachhaltigkeit biotechnologischer Produktion“ wurden Beiträge zur Entwicklung eines Instruments zur simulationsgestützten Bioprozessentwicklung und –bewertung hinsichtlich der Nachhaltigkeitsaspekte (Sabento) geleistet. Die Stoffstrommanagement-Software Umberto wurde als Plattform für das zu entwickelnde Instrument ausgewählt

Drei Hauptbeiträge aus dieser Arbeit werden in diesem Kapitel dargestellt, nämlich die Erstellung von Modulen der Aufarbeitungsprozesse in Umberto, die Entwicklung eines Assistentenkonzepts zur Synthese von Aufarbeitungsprozessen und die Implementierung der ökologischen Bewertungsmethode in Umberto bzw. Sabento.

5.2. Erstellung von Modulen

5.2.1. Modulerstellung in Umberto

Die Stoffstrommanagement-Software Umberto (Ifu GmbH, Hamburg) wurde als Plattform für das zu entwickelnde Instrument zur Bioprozessentwicklung mit begleitender Evaluierung (Sabento) ausgewählt. Ein wichtiger Teil der Entwicklung von Sabento ist die Erstellung von Prozessbausteinen bzw. Modulen für die Bioprozessmodellierung. Die Module wurden in Umberto erstellt und in Sabento verwendet. Die Darstellung der Methodik der Modulerstellung beginnt mit zwei kurzen Einführungen in die Transitionsspezifikation in Umberto und in die Modulerstellung mit Hilfe von Python in Umberto. Danach wird die Vorgehensweise bei der Modulerstellung sowohl für Unitmodule als auch für Blockmodule beschrieben.

5.2.1.1 Spezifikation von Transitionen in Umberto²

Ein Stoffstromnetz in Umberto wird durch drei Komponenten beschrieben: Stelle, Transition, und Verbindung. Allgemein charakterisiert eine Stelle einen Zustand. Eine stoffliche Transformation findet in einer Transition statt: Stoffe gehen in diese Transition ein und

² mehr dazu siehe Umberto-Benutzerhandbuch

werden darin in andere Stoffe umgewandelt oder einfach weitergeleitet. Die Pfade der Stoff- und Energieströme werden durch Verbindungen zwischen Stellen und Transitionen dargestellt. Die Spezifikation einer Transition bedeutet die Festlegung der Abhängigkeit der Output- und Input-Ströme voneinander. Dadurch lassen sich unbekannte Materialströme an dieser Transition auf der Basis von bekannten (d.h. vom Benutzer eingegeben oder bereits berechneten) Materialströmen errechnen.

In Umberto kann die Spezifikation auf drei verschiedene Arten erfolgen: Spezifikation durch Angabe der Mengenverhältnisse der Input- und Outputströme, durch Laden eines vordefinierten Transitionsmoduls, oder durch Eingabe von benutzerdefinierten mathematischen Funktionen. Für die dritte Art der Transitionsspezifikation bestehen folgende Möglichkeiten: Verwendung von Umberto eigenen Funktionen für einfache funktionelle Prozesse und die Zuhilfenahme von Skriptsprachen (z.B. Python, PerlScript, VBScript, and JavaScript) für komplexere Prozesse und für den Zugriff auf externe Anwendungen und Datenquellen. Die Anwendung einer der Skriptsprachen, wie z.B. Python, ist die mächtigste Art der Transitionsspezifikation in Umberto (Wohlgemuth und Page 2002), erfordert aber einen größeren Aufwand beim Einstieg.

Die Mächtigkeit der Transitionsspezifikation mit Hilfe der Skriptsprache Python wurde von Wohlgemuth und Page (2002) bei der Modellierung von Tourenplanen in Umberto gezeigt. Die verwendeten Algorithmen werden dabei innerhalb einer Transition in Form eines Skriptes in der Programmiersprache Python abgelegt. Ein kompletter Tourenplan wird von nur einer einzigen Transition repräsentiert, während beim traditionellen Ansatz für jede Tour die entsprechende Route in Form von Stellen/Transition/Stellen-Ketten modelliert werden müsste (Wohlgemuth und Page, 2002).

5.2.1.2 Modulerstellung mit Hilfe der Skriptsprache Python³

Unter Modulerstellung in Umberto wird die Spezifikation einer Transition verstanden, die dann in einer Modulbibliothek abgelegt und durch Laden aus der Modulbibliothek zur konkreten Spezifikation einer entsprechenden Transitionen eingesetzt wird.

Die Transitionsspezifikation mit Hilfe der Skriptsprache Python wurde zur Modulerstellung des Downstream-Bereichs ausgewählt. Python ist eine universelle, objektorientierte Open-Source-Programmiersprache, die sowohl für eigenständige Programme als auch für Skripte in verschiedensten Anwendungsbereichen eingesetzt wird. Umberto bietet einen Assistenten zur Unterstützung der Funktionsdefinition in der Transitionsspezifikation.

³ <http://www.python.org>

Die Programmierung mit Python war technisch und konzeptionell notwendig. Dadurch können beispielsweise die eingehenden Stoffe, die noch gar nicht bekannt sind, generisch in einer Schleife erfasst und berechnet werden, was mit den anderen Methoden nicht möglich ist. Außerdem kann eine einfache Verknüpfung der erstellten Module, die als Voraussetzung einer modulbasierten Prozessmodellierung möglich sein muss, gewährleistet werden. Der Einsatz von Python bietet außerdem mehr Möglichkeiten im Vergleich zu den anderen Spezifikationsarten. Im Lauf des Projekts wurde festgestellt, dass einige Kostenfunktionen sogar nur mit Hilfe von Skriptsprachen (z.B. Python) eingesetzt werden können.

Allerdings erfordert der Einsatz von Python eine relativ aufwändige Einarbeitung. Neben den Funktionen der Skriptsprache Python muss man mit den Umberto-Kommunikations-Funktionen (COM-Funktionen), die als Interface bzw. Schnittstelle dienen, eingehend kennen lernen. Der Umberto COM-Browser dokumentiert unzählige COM-Funktionen, die man zur Modulerstellung einsetzen kann, wobei nur ein eher kleiner Teil davon letztlich tatsächlich gebraucht wurde. Im Laufe der Projektarbeiten mussten andererseits einige neue COM-Funktionen vom Partner Ifu Hamburg erstellt werden.

5.2.1.3 Methodisches Vorgehen

Abb. 5.1 stellt die Vorgehensweise bei der Modulerstellung dar. Im Fall von Unitmodulen werden aus der Literatur bekannte Gleichungen zur Beschreibung der Module verwendet (z.B. Perry et al., 1997; Peters and Timmerhaus, 2003; etc.). Mit Hilfe der Skriptsprache Python werden dann die Module in Umberto erstellt und in einer Modulbibliothek abgelegt.

Zur Ermittlung der Gleichungen von Blockmodulen, d.h. die Zusammenfassung mehrerer Prozessschritte in ein einziges Modul, sind hingegen einige Arbeitsschritte vorher durchzuführen. Zunächst werden typische Aufarbeitungsprozesse aus der allgemeinen Struktur der Aufarbeitungsschritte identifiziert und die entsprechenden Module definiert. Diese typischen Prozessschritte wurden mit Hilfe von SuperPro-Designer modelliert. Daraus wurden die Prozessdaten generiert. Aus den Daten wurden die wichtigen Parameter mittels einer Sensitivitätsanalyse identifiziert und die entsprechenden (Input-Output-)Gleichungen ermittelt. Dadurch reduziert sich das komplexe Modell auf wenige einfache empirische Gleichungen. Diese typischen Verfahrensschritte werden dann in Form von Modulen in Umberto mit Hilfe der Skriptsprache Python erstellt und in einer Modulbibliothek abgelegt.

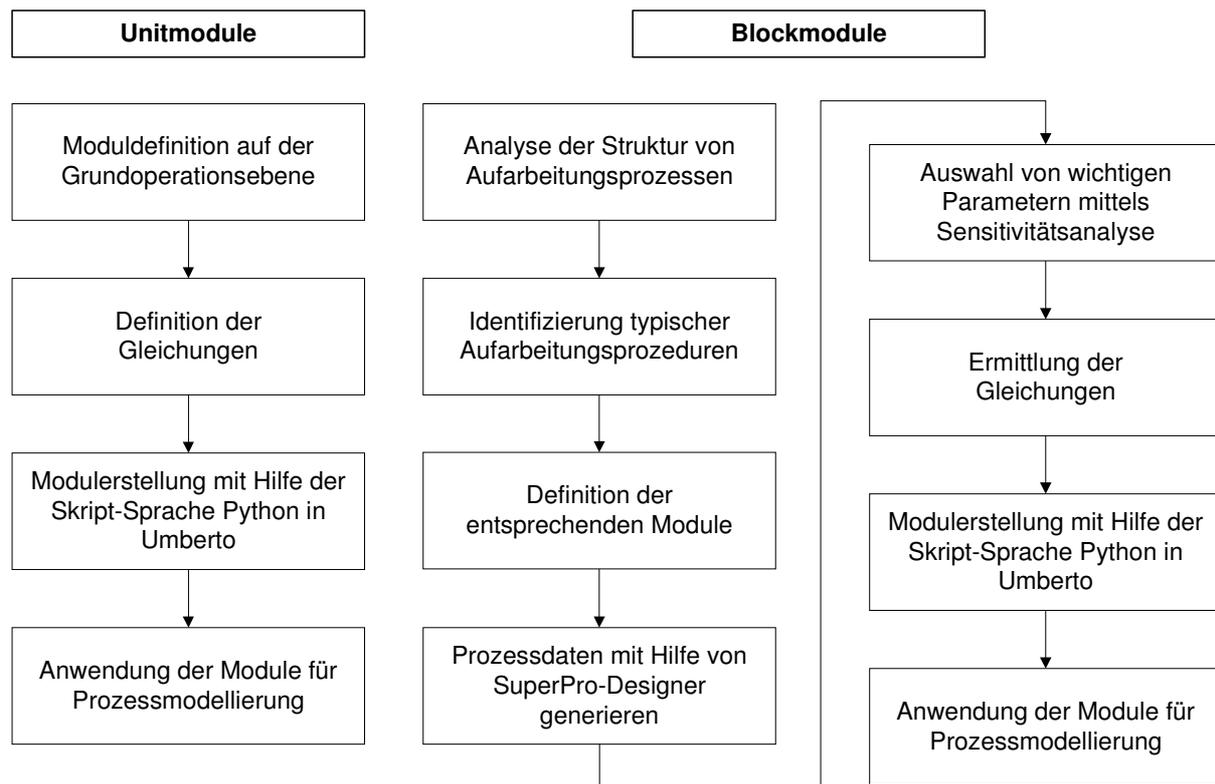


Abb. 5.1. Vorgehensweise bei der Erstellung von Unit- und Blockmodulen in Umberto mit Hilfe der Skript-Sprache Python.

5.2.2. Modulbeispiele

Hier werden exemplarisch zwei Blockmodule typischer Teilprozesse der Aufarbeitung und ein Unitmodul (Filtration) dargestellt. Die zwei Blockmodule sind die Vorbehandlung zur Gewinnung intrazellulärer Produkte und eine Art Aufreinigung von Proteinen.

5.2.2.1 Vorbehandlung zur Gewinnung intrazellulärer Produkte

Der Blockmodul „Vorbehandlung zur Gewinnung intrazellulärer Produkte“ besteht aus drei Prozessschritten: Zellabtrennung, Zellaufschluss und Zelltrümmerentfernung (Abb. 5.2 und 5.3). Die Zellabtrennung erfolgt durch eine Mikrofiltration. Die abgetrennte Biomasse wird dann mittels Hochdruck-Homogenisator aufgeschlossen und in Zelltrümmer, Nukleinsäuren, Produkt und anderen Proteine umgewandelt. Nach dem Zellaufschluss werden die Zelltrümmer zum größten Teil durch Zentrifugation abgetrennt. Der Rest wird durch eine *Dead-End-Filtration* entfernt.

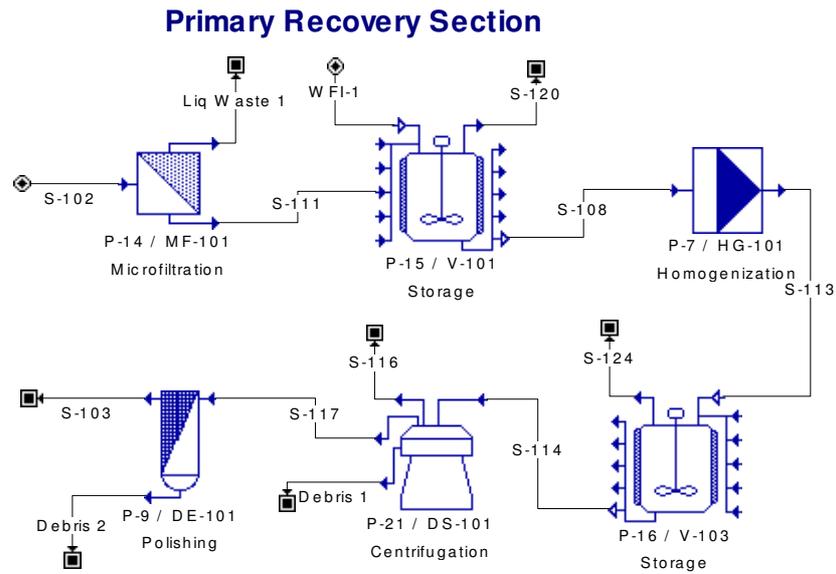


Abb. 5.2. Grundoperationen des Teilprozesses „Vorbehandlung zur Gewinnung intrazellulärer Produkte“ (Modellierung mit SuperPro-Designer)

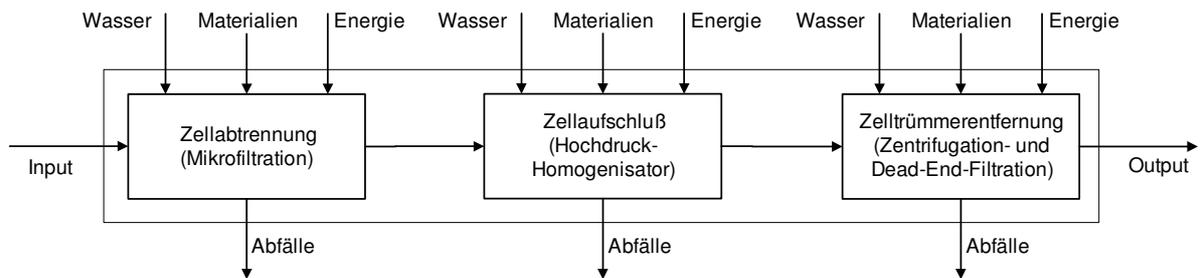


Abb. 5.3. Schematische Darstellung des Teilprozesses „Vorbehandlung zur Gewinnung intrazellulärer Produkte“

Im Blockmodul „Vorbehandlung zur Gewinnung intrazellulärer Produkte“ werden alle diese Grundoperationen zusammengefasst (Abb. 5.4).

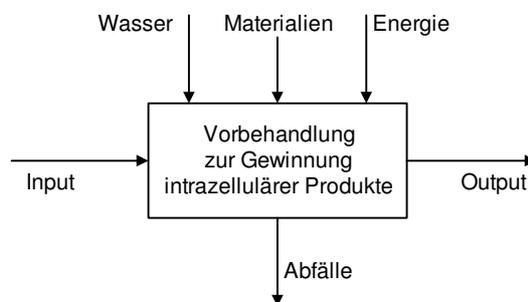


Abb. 5.4. Blockmodul „Vorbehandlung zur Gewinnung intrazellulärer Produkte“

Mit Hilfe von SuperPro-Designer wurden Prozessdaten generiert. Daraus wurden die wichtigsten Parameter mittels einer Sensitivitätsanalyse ermittelt. Abb. 5.5 stellt beispielhaft die Sensitivitätsanalyse zur Ermittlung der wichtigsten Parameter dar.

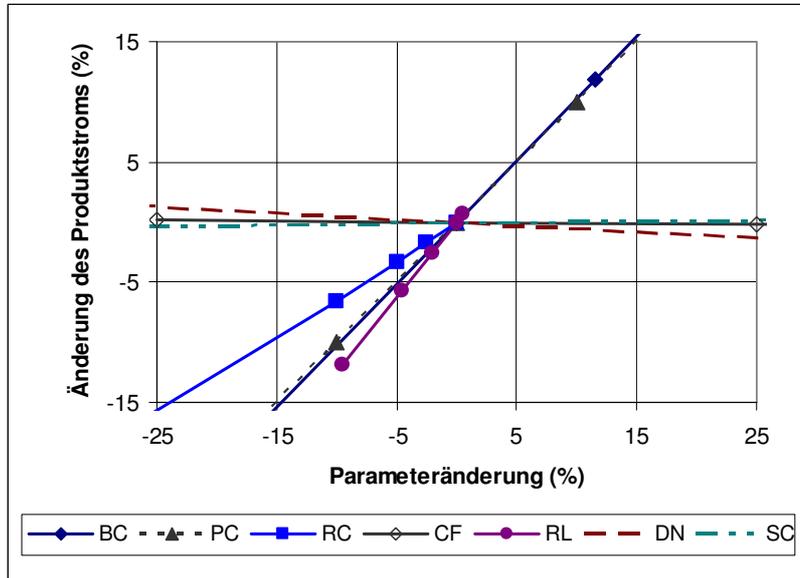


Abb. 5.5. Sensitivitätsanalyse zur Ermittlung wichtigster Parameter für das Blockmodul „Vorbehandlung zur Gewinnung intrazellulärer Produkte“ (weitere Beschreibung steht im Text).

Die mittels Sensitivitätsanalyse ermittelten bestimmenden Parameter sind die Zulaufmenge der Biomasse im Inputstrom (BC , kg/batch), der Produktanteil in der Biomasse (PC , %), der Rückhaltekoeffizient der Biomasse in der Mikrofiltration (RC , %) und der Anteil der aufgeschlossenen Biomasse (*release*, RL , %).

Für das Produkt im Produktstrom als Zielgröße gilt dann insgesamt:

$$y = 2,16 \times 10^{-6} \cdot BC^{0,9935} \cdot RC^{0,5728} \cdot RL^{1,2554} \cdot PC^{1,0008} \quad (5.1)$$

Diese Funktion gilt nicht nur für das Produkt, sondern auch für andere Stoffe, die aus dem Aufschluss der Biomasse entstanden sind, wie z.B. Zelltrümmer, Nukleinsäuren, und anderen Proteine, allerdings mit anderen Koeffizientenwerten. Die erhaltene Gleichung wurde durch den Vergleich zwischen den mit der Gleichung berechneten Daten und den mit SuperPro-Designer ermittelten Simulationsdaten überprüft (Tab. 5.1).

Tab. 5.1. Vergleich der nach der ermittelten Näherungsgleichung berechneten Werte mit den aus der Simulation mit SuperPro-Designer erhaltenen Daten

Parameterwerte				Produktstrom		Abweichung	
BC	RC	RL	PC	berechnet	SProD		
(kg/batch)	(%)	(%)	(%)	(kg/batch)	(kg/batch)	(kg/batch)	(%)
2500	100	99,5	5	115,85	116,02	-0,18	-0,15
1400	100	99,5	5	65,12	65,21	-0,09	-0,13
3850	100	99,5	5	177,90	177,90	0,01	0,00
2500	70	99,5	5	94,44	94,39	0,05	0,06
2500	100	90	5	102,13	102,29	-0,16	-0,16
2500	100	99,5	10	231,82	232,32	-0,49	-0,21
3850	70	99,5	5	145,03	144,85	0,18	0,13
1400	100	95	5	61,44	61,84	-0,40	-0,64
3850	100	90	5	156,85	154,64	2,20	1,43
3850	100	99,5	10	356,00	356,43	-0,43	-0,12
3850	70	90	10	255,87	254,16	1,70	0,67

Aus Tab. 5.1 ist deutlich zu erkennen, dass die berechneten und die mit SProD-simulierten Daten übereinstimmen. Die Abweichungen sind minimal, wobei die (hier ermittelte) maximale Abweichung nur 1,43 % beträgt. Man stellt fest, dass die Gleichung gut anwendbar ist und dass die Methode mit empirischen Gleichungen zur Erstellung von Blockmodulen geeignet ist.

Für Glukose, NaCl, und andere wasserlösliche Stoffe wurde mit einer ähnlichen Vorgehensweise folgende Formel ermittelt:

$$y = 0.332 \cdot In \cdot CF^{-1.1276} \cdot RL^{0.2458} \quad (5.2)$$

wobei In die Zulaufmenge (in kg/batch) ist, CF der Konzentrierungsfaktor der Mikrofiltration (-), und RL der Anteil der aufgeschlossenen Biomasse (in %).

Diese Gleichungen wurden bei der Modulerstellung in Umberto mit Hilfe der Skript-Sprache Python implementiert. Das Blockmodul ist in Abb. 5.6 dargestellt. Der Inputstrom dieses Moduls ist in einem Produktionsprozess der Outputstrom eines Moduls „Bioreaktion“. Nach Angabe der Prozessparameter werden der Produkt- und Abfallstrom sowie die benötigten Mengen an Energie und Hilfsstoffen automatisch berechnet. Die erhaltene Stoffstrombilanz ist hier beispielhaft mit abgebildet.

Mit der in Kapitel 5.2.2.1 beschriebenen Vorgehensweise wurde das Blockmodul Aufreinigung von Proteinen in Umberto erfolgreich erstellt (Abb. 5.8). Die weitere Beschreibung und die Python-Programmierung des Moduls befinden sich in Anhang A.

The screenshot displays the Umberto 4.3 software interface. On the left, a process flow diagram shows a central unit 'T1: PURI_PROT_1' with inputs 'P1: Input', 'P3: Energie', 'P4: Wasser', and 'P5: Materialien', and outputs 'P2: Output' and 'P6: Kläranlage'. The center pane shows Python code for 'Transition Specification Functions T1 - Python', including variables for material flows and energy, and loops for adding generic flows. The right pane shows a 'Balance Sheet Preview' table with columns for 'Item', 'Quantity', and 'Unit'.

Input:		Output:	
Item	Quantity	Item	Quantity
P1 Input		P2 Output	
Endprodukte		Endprodukte	
β-Galactosidase	116 kg	β-Galactosidase	87.35 kg
Glucose	30 kg	Proteine	0 kg
Natriumchlorid	45 kg	Wasser	
Nukleinsäure	240 kg	Brauch-/Trinkwa	
Proteine	950 kg	Wasser (Wass)	259.22 kg
Wasser		P6 Kläranlage	
Brauch-/Trinkwas		Abfälle	
Wasser (Wass)	8425 kg	Abwasser	27410.18 kg
P3 Energie		Natriumhydroxid	16.59 kg
Energieträger, seku		Nukleinsäure (Ab	240 kg
Energie, elektrisc	109.49 MJ	Proteine (Abfall)	950 kg
P4 Wasser		β-Galactosidase	28.65 kg
Reaktionsmaterialie		Emissionen	
Wasser (Wasser)		Reagenzien (Bac	
VE-Wasser (W. 9244.4	kg	Kohlenhydrate	
P5 Materialien		Glucose (Ab	30 kg
Natriumchlorid	96.22 kg	Salze (Bad)	
Natriumhydroxid	16.59 kg	Natriumchlc	141.22 kg
Sum	Quantity	Sum	Quantity
		kJ	109487.2 kJ
		kg	29163.21 kg

Abb. 5.8. Blockmodul Aufreinigung von Proteinen. Zu sehen sind hier das Modulsymbol mit seinen Verbindungen (links oben), die Input- und Outputzuweisungen (links unten), die Python-Programmierung (in der Mitte) und die Materialbilanz (rechts).

5.2.2.3 Filtration

Die Inputstoffe werden hier in drei Hauptgruppen untergeteilt: Die erste Gruppe besteht aus Wasser aller Art. Diese Gruppe ist für die Dimensionierung der Filtermembran notwendig. Die zweite Gruppe enthält Materialien, die zu einem gewissen Grad zurückgehalten werden und einen Rückhaltekoeffizienten (RK_i) $> 0\%$ haben. Die dritte Gruppe, die Materialien ohne RK_i -Werte, werden wie Wasser mit einem RK_i -Wert von 0 berechnet. Die zurückgehaltene Fraktion (F_i) der Inputstoffe wird aus den RK_i -Werten und dem prozessspezifischen Parameter, Konzentrierungsfaktor (KF), bestimmt.

$$F_i = KF^{(RK_i - 1)} \quad (5.3)$$

Das Filtrationsmodul wurde in Umberto mit Hilfe der Skriptsprache Python erstellt und erfolgreich erprobt. Abb. 5.9 stellt das Modul Filtration in Umberto dar. Die weitere Beschreibung und die Python-Programmierung des Moduls befinden sich in Anhang B.

The screenshot displays the Umberto 4.3 software interface for a filtration unit. The main window is titled 'Umberto 4.3' and shows a project named 'BioBeN-Master' with a scenario of 'FILTRATION' and a period from '01.01.2004' to '31.12.2004'. The interface is divided into several panes:

- Materials (Project: BioBeN-Master, Language: Deutsch):** Shows a tree view of materials including 'Biomasse', 'Extraktionsmittel', and 'Glucose'.
- Balance Sheet Preview:** Displays input and output tables for various materials and energy. The input table lists items like 'Biomasse' (100 kg), 'β-Galactosidase' (1000 kg), 'Energie' (20.05 kJ), 'Energie, thermisc' (3.41 MJ), 'Glucose' (1000 kg), 'Reagenzien', 'Natriumchlorid' (2 kg), 'VE-Wasser (W)' (40000 kg), 'Reaktionsmaterialie' (100000 kg), and 'Wasser Deioni' (100000 kg). The output table lists items like 'Abfälle (Abfälle)', 'Biomasse (Abfall)', 'Glucose (Abfall)', 'β-Galactosidase', 'Biomasse', 'Emissionen und Abf', 'Salze (Abfälle)', 'Natriumchlo', 'Abwasser (', 'Endprodukte', 'β-Galactosidase', 'Glucose', 'Reagenzien', 'Salze', 'Natriumchlorid', 'Reaktionsmaterialie', 'Wasser (Wasser)', and 'Wasser Deioni'.
- Transition Specifications T1 - User Defini...:** Shows a table of parameters for the filtration unit, including 'Konzentrationsfakt', 'Durchflussrate durch', 'Anzahl der Filtrations', 'Anzahl der Parameter', 'RK von Biomasse', 'RK von Glucose', 'RK von β-Galactosida', 'RK von Platzhalter M', 'RK von Platzhalter M', 'Prozessdauer', 'Filtrationstyp (1: Retel)', 'maximale Membranflä', and 'VE-Wasser'.
- Transition Specification Functions T1 - Python:** Shows Python code for calculating membrane area and water flow. The code includes variables like 'MembFl', 'MembFlMax', 'TrAnzh', 'TrAnzhN', 'ReagVer', 'WasserVer', and 'WasserTot'.
- Network Main:** Shows a process flow diagram with nodes for 'P1:Input', 'P2:Materialien', 'P3:Output', 'P4:Kläranlage', 'P5:Energie', and 'P8:Wasser', connected to a central 'T1: FILTRATION' unit.

Abb. 5.9. Unitmodul Filtration in Umberto. Dargestellt sind das Modulsymbol mit seinen Verbindungen (In der Mitte unten), die Parameterseite (in der Mitte oben), die Materialverwaltung (links oben), die Stoff- und Energiebilanz (links unten), und die Python-Programmierung (rechts).

5.3. Assistentenkonzept zur Synthese von Aufarbeitungsprozessen

Für die Anwender von Sabento soll die Prozessmodellierung, insbesondere für den Bereich Aufarbeitungsprozesse, möglichst einfach und anwenderfreundlich gestaltet werden. Zur Erhöhung der Anwenderfreundlichkeit werden in Sabento einerseits Module in der Datenbank der Sabento und andererseits ein Prozessassistent bereitgestellt.

5.3.1. Beschreibung des Assistentenkonzeptes

Aufarbeitungsprozesse sind in Sabento grundsätzlich ein lineares Aneinanderreihen von Modulen. Kombinationen von Grundoperationen und Blockmodulen sind möglich. Ein Prozessassistent leitet den Anwender bei der Auswahl von Modulen an. Nach der Anleitung werden einzelne Prozessmodule aus Bibliotheken geladen, und es werden die erforderlichen Parameter der einzelnen Module durch Default- bzw. neue Werte spezifiziert. Im Assistenten wird für jeden Schritt eine Hilfe vorbereitet, die Hinweise für den jeweiligen Schritt gibt.

Der Assistent wurde so konzipiert, dass verschiedene Detaillierungsgrade bei der Erstellung der Prozessmodellierung unterstützt werden. Dabei werden vier Möglichkeiten angeboten, die der Assistent dem Anwender ganz am Anfang anbietet. Die vier Möglichkeiten sind die Verwendung vorgefertigter Prozessbeispiele, die grobe Modellierung basierend auf der Stufenanzahl, die angeleitete Erstellung des Prozessmodells, und die freie Erstellung des Prozessmodells. In der vorliegenden Arbeit wurden nur die Aufarbeitungsschritte bearbeitet.

5.3.1.1 Verwendung vorgefertigter Prozessbeispiele

Hier handelt es sich um typische Aufarbeitungsprozesse in der Bioproduktion. Der Anwender kann eines der fertigen Beispiele nehmen. Dies ist besonders vorteilhaft, falls das Produkt und der Produktionsprozess dem Beispiel sehr ähnlich sind. Der Nutzer muss dann nur Parameterwerte der einzelnen Module anpassen. Die Verwendung vorgefertigter Prozessbeispiele ist der einfachste Weg bei der Prozessmodellierung.

5.3.1.2 Modellierung basierend auf der Anzahl der Stufe

Diese Methode basiert auf der Anzahl der Aufarbeitungsstufen bzw. -Einheiten mit sehr begrenzter Anzahl von Parametern. Diese Methode ist für eine erste Abschätzung gedacht. Die Zielgruppe dieser Methode sind Anwender mit nur wenigen Vorkenntnissen über Aufarbeitungsprozesse oder solche, die für eine mehr detaillierte Modellerstellung nicht ausreichend Zeit aufbringen können.

5.3.1.3 Angeleitete Modellierung

Die angeleitete Erstellung eines Aufarbeitungsprozesses basiert auf der allgemeinen Einteilung von Aufarbeitungsprozessen. Hier wird eine Gruppierung der vorhandenen Module vorgenommen (Abb. 5.10). Jede Gruppe beinhaltet nur Module, die für die Funktion der jeweiligen Gruppe in Frage kommen können. Der Anwender bekommt jeweils nur ein für diese Stufe typisches Angebot an Modulen präsentiert.

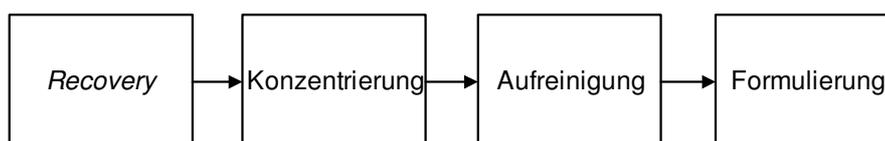


Abb. 5.10. Allgemeine Einteilung von Aufarbeitungsprozessen nach Funktion

Gemäß der zu definierenden Ausgangslage werden sinnvolle Optionen angeboten. Der Anwender soll zunächst definieren, ob sein Produkt extra- oder intrazellulär vorliegt und aus

biokatalytischer Produktion oder aus pflanzlichen Systemen stammt (vgl. Abb. 2.6 Struktur von Bioprozessen).

Der Anwender kann die eine oder andere Gruppe bzw. Aufarbeitungsstufe überspringen und gelangt dann direkt zur nächsten Stufe. Andererseits kann der Anwender mehrere Module für eine Gruppe, z.B. zwei Chromatographien und eine Diafiltration für die Gruppe Aufreinigung auswählen. So kann eine gewisse Flexibilität gewährleistet werden.

5.3.1.4 Freie Modellierung

Der Anwender kann hier seine Aufarbeitungsprozesse frei aus den vorhandenen Unit- und Blockmodulen zusammenstellen. Der Assistent fragt den Anwender, welches Modul er als erstes nimmt. Es folgt dann die Auswahl des nächsten Moduls. Jedes mal muss der Anwender entscheiden, ob er ein weiteres Modul einsetzen will, oder ob er die Erstellung des Prozessmodells beenden will.

5.3.2. Visualisierung des Assistentenkonzeptes

Folgend wird exemplarisch die Visualisierung im Assistenten dargestellt. Vier Auswahlmöglichkeiten werden dem Anwender zu Beginn angeboten, nämlich (i) vorgefertigte Prozessmodelle, (ii) Modellierung basierend auf der Stufenanzahl, (iii) angeleitete Prozessmodellierung und (iv) freie Prozessmodellierung,.

5.3.2.1 Verwendung vorgefertigter Prozessbeispiele

Hier werden vorhandene Beispiele von typischen Aufarbeitungsprozessen aufgelistet. Die Verwendung vorgefertigter Prozessbeispiele ist der einfachste Weg bei der Prozessmodellierung. Per Mausklick erstellt man sozusagen sein Aufarbeitungsprozessmodell. Dieses Prozessmodell besteht aus mehreren Modulen (Abb. 5.11).

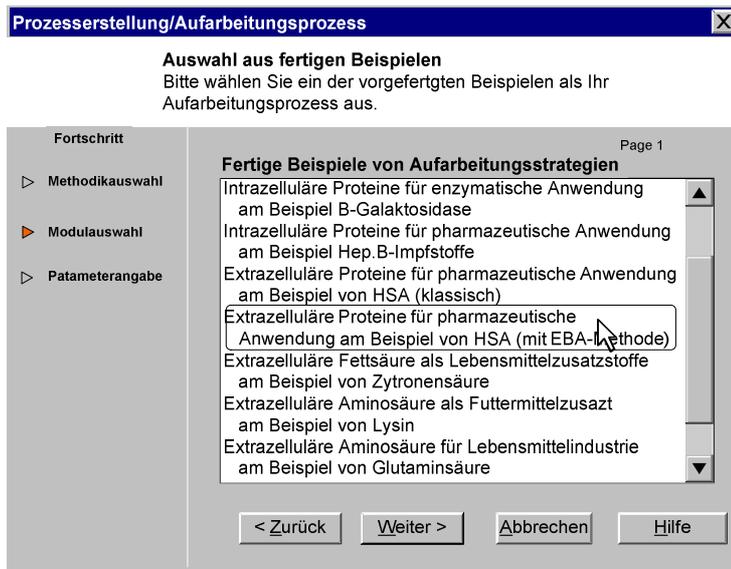


Abb. 5.11. Auswahlmöglichkeiten an vorgefertigten Beispielen

5.3.2.2 Modellierung basierend auf der Anzahl der Stufe

Diese Methode basiert auf der Anzahl der Aufarbeitungsstufen mit sehr begrenzter Anzahl von Parametern. Der Anwender soll zuerst seine Produktklasse und das Anwendungsgebiet (pharmazeutisch, Lebensmittel, Futtermittel oder industrielle Anwendung) sowie den "Entstehungsort" (intrazelluläre oder extrazelluläre, aus biokatalytischer Produktion oder aus pflanzlichen Systemen) definieren. Der Anwender bekommt dann einen Vorschlag, wie sein Aufarbeitungsprozess aussehen kann. Er kann die Anzahl der jeweiligen Aufarbeitungsstufen noch ändern bzw. anpassen (Abb. 5.12). Über das Feld <sonstige> kann man nicht vorsepezifizierte Aufarbeitungsstufen einsetzen.

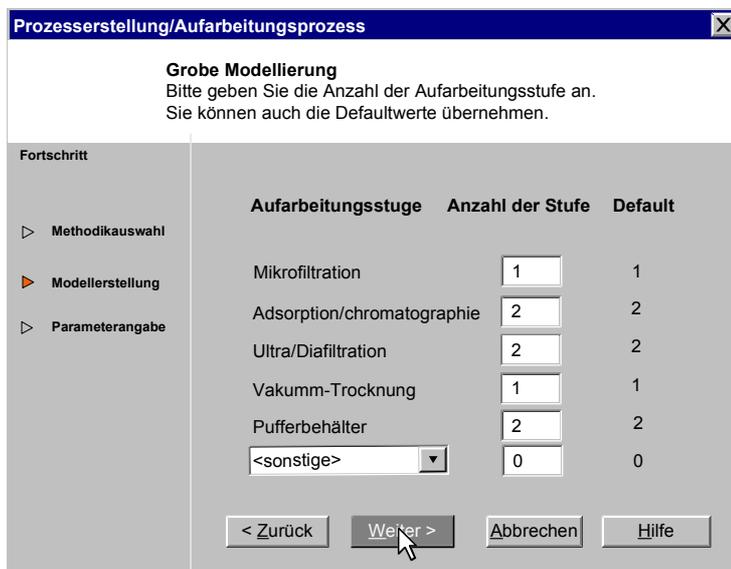


Abb. 5.12. Angabe der Anzahl der Aufarbeitungsstufen

5.3.2.3 Angeleitete Modellierung

Im Hintergrund werden die Module in die Gruppen *Recovery*, Konzentrierung, Aufreinigung, und Formulierung eingegliedert. In der Stufe *Recovery* gibt es eine weitere Untergliederung hinsichtlich der Produktentstehung: extrazellulär, intrazellulär, aus biokatalytischer Produktion oder aus pflanzlichen Systemen ist.

Abb. 5.13 stellt die Auswahl eines Moduls für die Stufe *Recovery*. Wenn der Anwender die Stufe überspringen will, wählt er einfach das Modul „<keins>“ aus. Nach Auswahl eines Moduls soll der Anwender entscheiden, ob er ein weiteres Modul für die gleiche Stufe einsetzen will. „Nein“ bedeutet, dass der Anwender auf die nächste Stufe übergehen will.

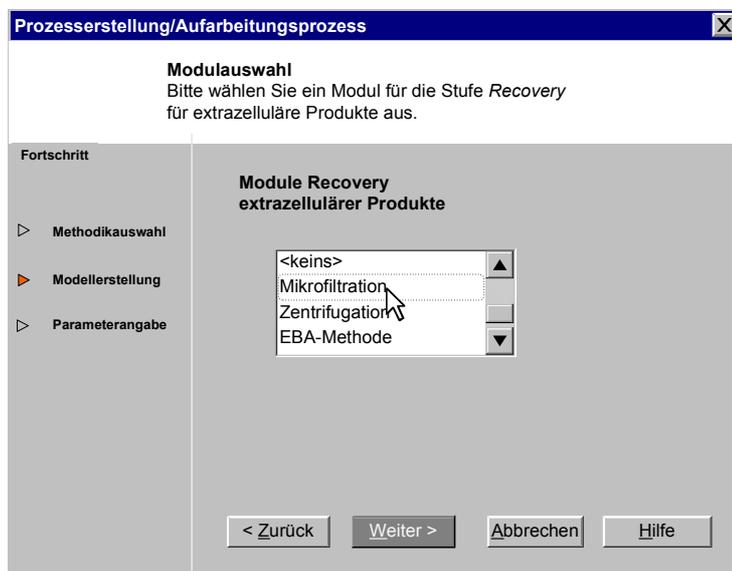


Abb. 5.13. Modulauswahl für die Stufe *Recovery* für extrazelluläre Produkte

Mit der gleichen Prozedur wählt der Anwender ein oder mehr Module (oder auch kein) für die Schritte Konzentrierung, Aufreinigung und Formulierung. Abb. 5.14 stellt beispielsweise die Wahl eines Moduls für die Stufe Aufreinigung dar. Hier wird das Modul Adsorption/Chromatographie gewählt.

Nachdem der Anwender das Modul Adsorption/Chromatographie ausgewählt hat, fragt ihn der Assistent ab, ob er ein weiteres Modul für die Stufe Aufreinigung einsetzen will. Der Anwender wählt dann z.B. das zweite Modul für die Aufarbeitungsstufe Aufreinigung. Er kann auch durch Eingabe von „Nein“ zur nächsten Stufe weitergehen.

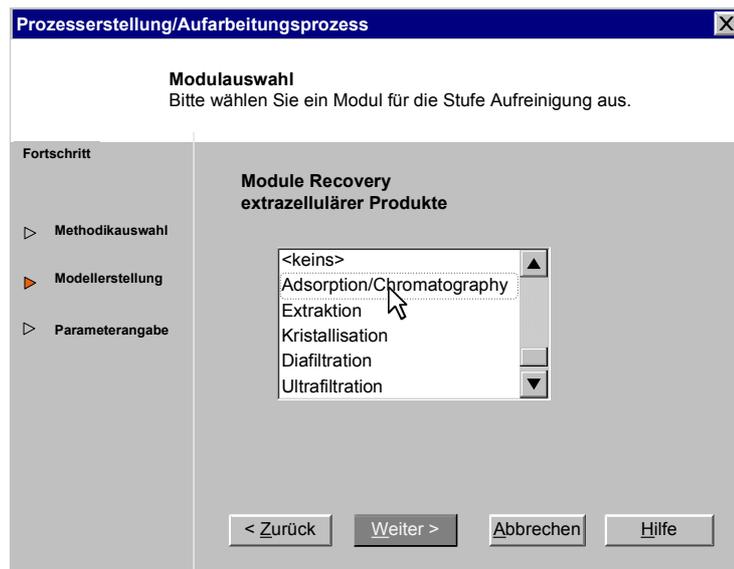


Abb. 5.14. Modulauswahl für die Stufe Aufreinigung

5.3.2.4 Freie Modellierung

Der Anwender kann hier seine Aufarbeitungsprozesse frei aus den vorhandenen Modulen zusammenstellen. Er wählt ein Modul nach dem anderen aus.

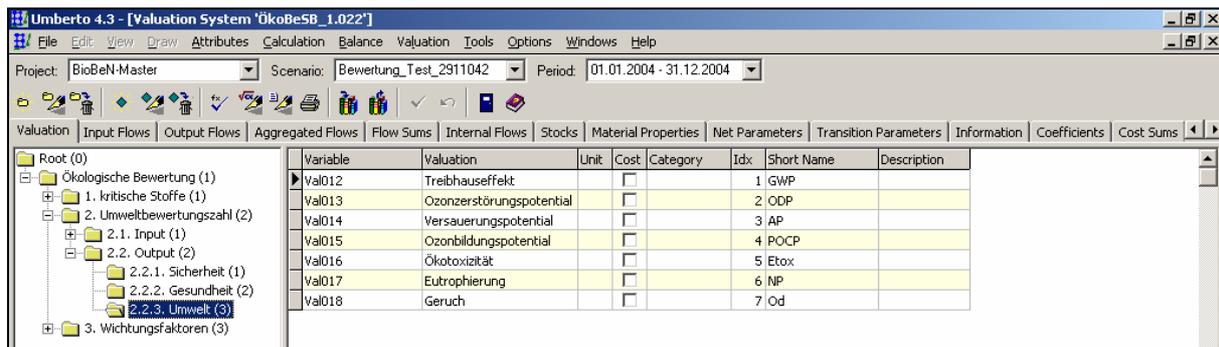
5.3.3. Formulierung und Implementierung in Sabento

Eine gekürzte Beschreibung der Formulierung der einzelnen Schritte des Prozessassistenten in einer XML-ähnlichen Sprache befindet sich in Anhang C. Das Assistentenkonzept wurde vom Partner Ifu Hamburg in Sabento implementiert, wo zumindest für die erste Version nur die „freie Modellierung“ angeboten wird. Welche Module und in welcher Reihenfolge gewählt werden, wird dem Anwender überlassen.

5.4. Anlegen der ökologischen Bewertungsmethode in Umberto

5.4.1. Implementierung

Das oben beschriebene ökologische Bewertungssystem wurde in Umberto implementiert. In Umberto steht dafür der *Valuation System Editor* (VSE) zur Verfügung. Die Implementierung begann mit der Strukturverwaltung und der Kennzahldefinition auf der Seite „Valuation“ des VSEs (Abb. 5.15).

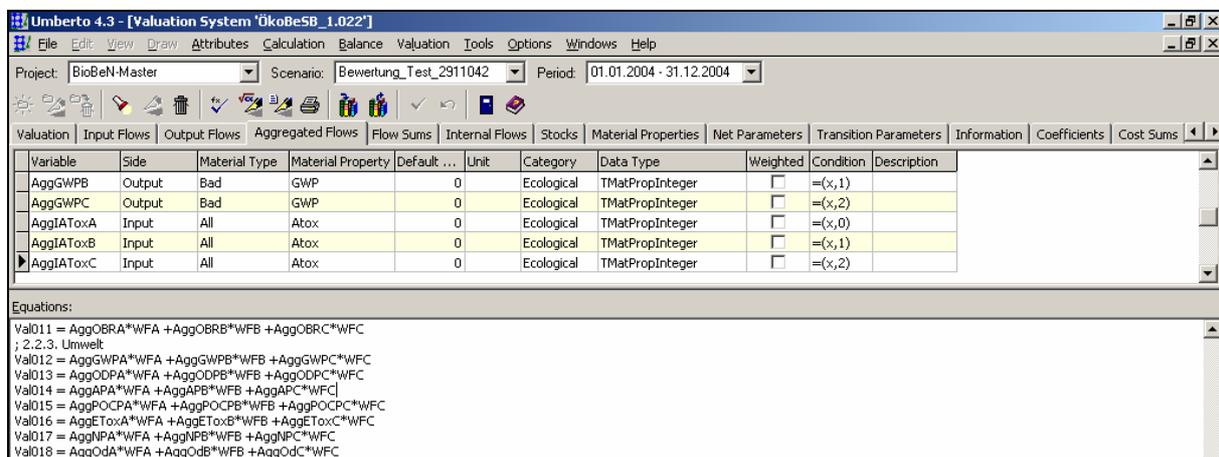


Variable	Valuation	Unit	Cost	Category	Idx	Short Name	Description
Val012	Treibhauseffekt		<input type="checkbox"/>		1	GWP	
Val013	Ozonerstörungspotential		<input type="checkbox"/>		2	ODP	
Val014	Versauerungspotential		<input type="checkbox"/>		3	AP	
Val015	Ozonbildungspotential		<input type="checkbox"/>		4	POCP	
Val016	Ökotoxizität		<input type="checkbox"/>		5	Etox	
Val017	Eutrophierung		<input type="checkbox"/>		6	NP	
Val018	Geruch		<input type="checkbox"/>		7	Od	

Abb. 5.15. Strukturverwaltung und Kennzahldefinition des ökologischen Bewertungssystems.

Danach wird der Zugriff auf die Stoffbilanz definiert. Abb. 5.16 stellt die Definition des Zugriffs auf die Stoffbilanzdaten (oben) und einige der Gleichungen zur Ermittlung der Umweltkennzahlen (unten) dar. Da ein generischer Zugriff auf die Input- und Outputströme einzelner Stoffe in Umberto 4.0 nicht möglich ist (s. Kap. 5.4.3), erfolgt die Ermittlung der Umweltkennzahl eines Prozesses nicht über die Umweltkennzahl einzelner Stoffe nach Gleichung 4.5, 4.6 und 4.7 (s. Kap. 4.3.3.6).

In Umberto 4.0 steht die Möglichkeit des Zugriffs auf die Summe aller Stoffströme gleicher Eigenschaften (*Aggregated Flows*). Der Produktstrom werden auf der Seite *Flow Sums* und die Wichtungsfaktoren auf der Seite *Coefficients* definiert. Diese Daten werden zur Ermittlung der Umweltkennzahlen eines Prozesses verwendet.



Variable	Side	Material Type	Material Property	Default ...	Unit	Category	Data Type	Weighted	Condition	Description
AggGWPB	Output	Bad	GWP		0	Ecological	TMatPropInteger	<input type="checkbox"/>	=(x,1)	
AggGWPC	Output	Bad	GWP		0	Ecological	TMatPropInteger	<input type="checkbox"/>	=(x,2)	
AggIAToxA	Input	All	Atox		0	Ecological	TMatPropInteger	<input type="checkbox"/>	=(x,0)	
AggIAToxB	Input	All	Atox		0	Ecological	TMatPropInteger	<input type="checkbox"/>	=(x,1)	
AggIAToxC	Input	All	Atox		0	Ecological	TMatPropInteger	<input type="checkbox"/>	=(x,2)	

Equations:

```

Val011 = AggOBRA*WFA + AggOBRB*WFB + AggOBRB*WFC
; 2.2.3. Umwelt
Val012 = AggGWPA*WFA + AggGWPB*WFB + AggGWPC*WFC
Val013 = AggODPA*WFA + AggODPB*WFB + AggODPC*WFC
Val014 = AggAPA*WFA + AggAPB*WFB + AggAPC*WFC
Val015 = AggPOCPA*WFA + AggPOCPB*WFB + AggPOCPC*WFC
Val016 = AggEToxA*WFA + AggEToxB*WFB + AggEToxC*WFC
Val017 = AggNPA*WFA + AggNPB*WFB + AggNPC*WFC
Val018 = AggODA*WFA + AggODB*WFB + AggODC*WFC

```

Abb. 5.16. Beispiel der Zugriffdefinition auf Stoffbilanz und einige Gleichungen zur Ermittlung der Umweltkennzahlen (weitere Erläuterungen stehen im Text).

In Abb. 5.16 werden beispielhaft die Umweltkennzahl der Wirkungskategorie GWP ermittelt. Die Wichtungsfaktoren für Klasse A, B und C (WF_A , WF_B und WF_C) werden nach Gleichung 4.4 ermittelt. Zuerst werden die Summe aller Stoffströme der Outputseite mit Klasse A, Klasse B und Klasse C in der Kategorie GWP ($Agg_{GWP,A}$ – nicht in Abbildung, $Agg_{GWP,B}$ bzw.

$Agg_{GWP,C}$) definiert. Danach werden diese Summen mit dem jeweiligen Wichtungsfaktoren WF_A , WF_B und WF_C gewichtet. In Anlehnung an der Darstellung in Abb. 5.16 erhält man dann Val012. In Bezug auf den Produktstrom (P) erhält man die Umweltkennzahl der Wirkungskategorie GWP ($KZ_{Output,GWP}$).

$$KZ_{Output,GWP} = \frac{Val012}{P} = \frac{Agg_{GWP,A} * WF_A + Agg_{GWP,B} * WF_B + Agg_{GWP,C} * WF_C}{P} \quad (5.3)$$

Mit der gleichen Vorgehensweise werden die Umweltkennzahlen der anderen Outputkategorien ermittelt. Die ermittelten Umweltkennzahlen werden dann untereinander (mit $WK_{Output,j}$) gewichtet. Daraus erhält man die Umweltkennzahl der Outputseite.

$$KZ_{Output} = \frac{\sum_j^{11} KZ_{Output,j} \cdot WK_{Output,j}}{\sum_j^{11} WK_{Output,j}} \quad (5.4)$$

Der Index j steht für Wirkungskategorie. Analog wird die Umweltkennzahl der Inputseite ermittelt. Schließlich wird die (Gesamt-)Umweltkennzahl berechnet.

5.4.2. Anwendungsbeispiele

5.4.2.1 Test-Prozess

Nach der Erstellung wurde die Bewertungsmethode zur Bewertung eines einfachen Prozesses erprobt. Abb. 5.17 stellt die Ergebnisse der durchgeführten Bewertung dar.

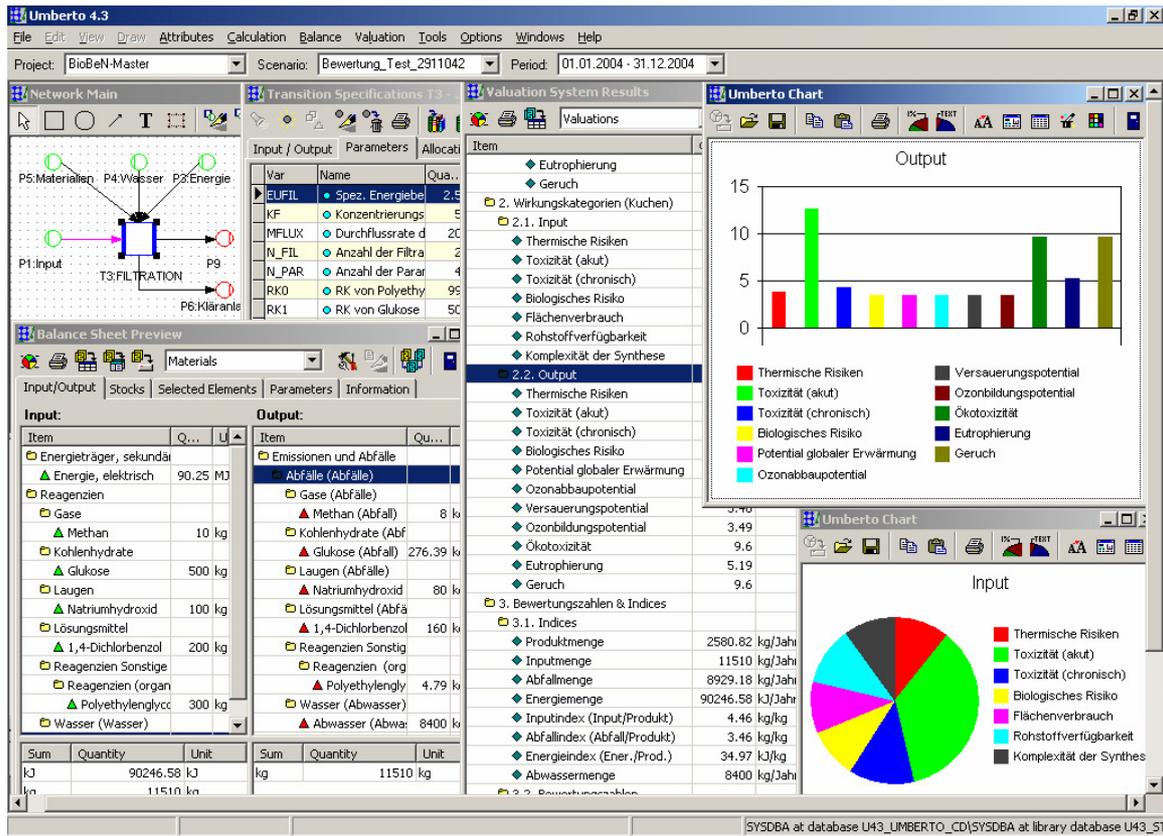


Abb. 5.17. Anwendungsbeispiel des ökologischen Bewertungssystems in Umberto. Zu sehen sind hier das Prozessmodell (oben links), die Stoff- und Energiebilanz, Bewertungsergebnisse (in der Mitte), und graphische Darstellungen der Ergebnisse.

5.4.2.2 Gerste-Prozess

Zum Testen der Funktionalität der erstellten Module wurden die Aufarbeitung von rHSA aus Gerste in Umberto modelliert, die Stoffbilanz erstellt, und die ökologische Bewertung durchgeführt (Abb. 5.18). Aus der Prozessmodellierung lässt sich die Stoff- und Energiebilanz ermitteln. Aus der eingesetzten Gerste (52 t) erhielt man in diesem Modell etwa 93 kg Produkt. Basierend auf der Stoffbilanz wurde eine ökologische Bewertung durchgeführt. Graphische Darstellungen von Bewertungsergebnissen sind in Umberto auch möglich, wobei in Abb. 5.18 aufgrund der Übersichtlichkeit exemplarisch nur einige Umweltkennzahlen dargestellt wurden. Die Abbildung zeigt außerdem, dass die modulbasierte Prozessmodellierung in Umberto erfolgreich eingesetzt wurde.

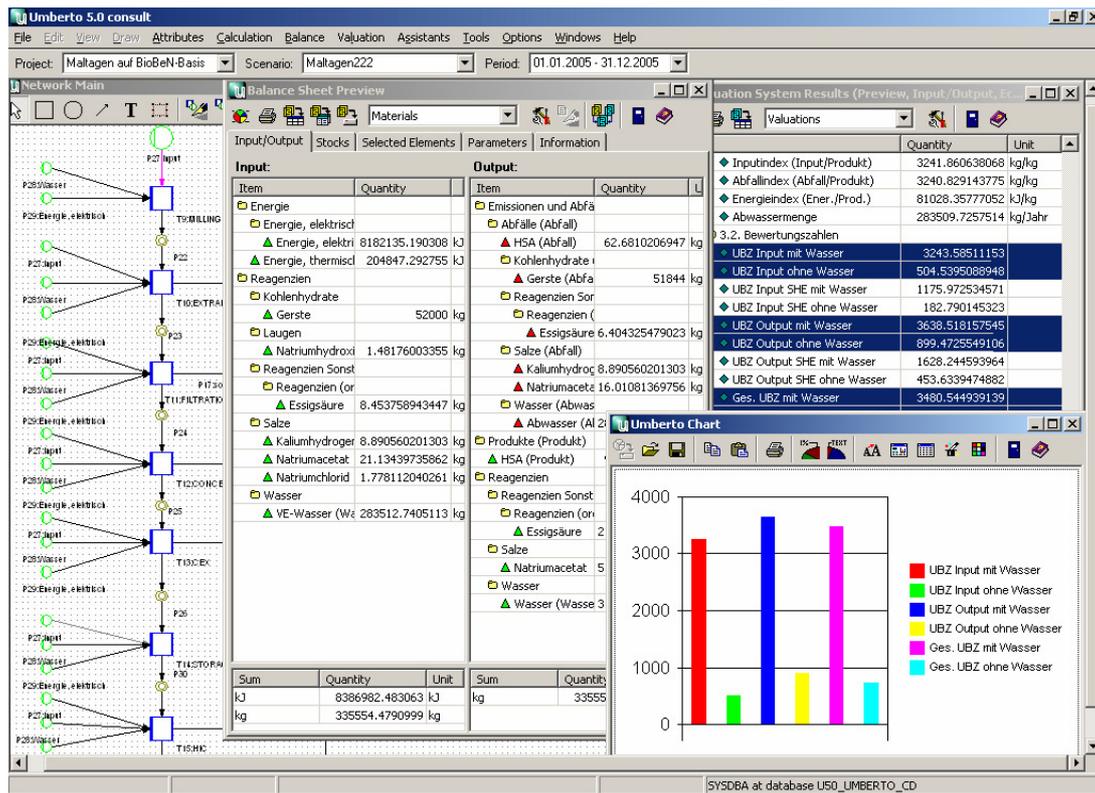


Abb. 5.18. Modulbasierte Modellierung und Bewertung des Aufarbeitungsprozesses von HSA aus Gerste mit Umberto. Zu sehen sind hier das Prozess-Netzwerk (links), die Input- und Outputbilanz (in der Mitte), die Bewertungsergebnisse (rechts), und die graphische Darstellung von Umweltkennzahlen (rechts unten).

5.4.3. Einzellstoffbetrachtung

Die Einzellstoffbetrachtung ist ein wichtiger Bestandteil des ökologischen Bewertungssystems, um beispielsweise das Auswirkungspotential der einzelnen Stoffe zu erkennen, die Stoffe mit größten Gefährdungspotentialen zu bestimmen und die entsprechenden Maßnahmen zur Prozessoptimierung bzw. -verbesserung richtig festzulegen.

Abb. 5.19 stellt die Vorgehensweise zur Ermittlung kritischer Stoffe dar. Abb. 5.20 stellt die Vorgehensweise zur Bestimmung des Wirkungspotentials einzelner Input- und Outputstoffe aus der Stoffbilanz und der Materialdatenbank dar. Die Stoffbilanz liefert die Liste der Stoffe sowie die Daten über die Stoffströme. Aus den Stoffströmen werden die Massenindices ermittelt. Die Wirkungspotentiale einzelner Stoffe sind die Massenindices multipliziert mit dem jeweiligen Wichtungsfaktor (vgl. Kap. 4.3.3.6). Die Einzellstoffbetrachtung konnte allerdings im derzeit verfügbaren *Valuation System Editor* (VSE) noch nicht implementiert werden. Ein generischer Zugriff auf die Input- und Outputströme der einzelnen Materialien ist mit Umberto 4.0 nicht möglich.

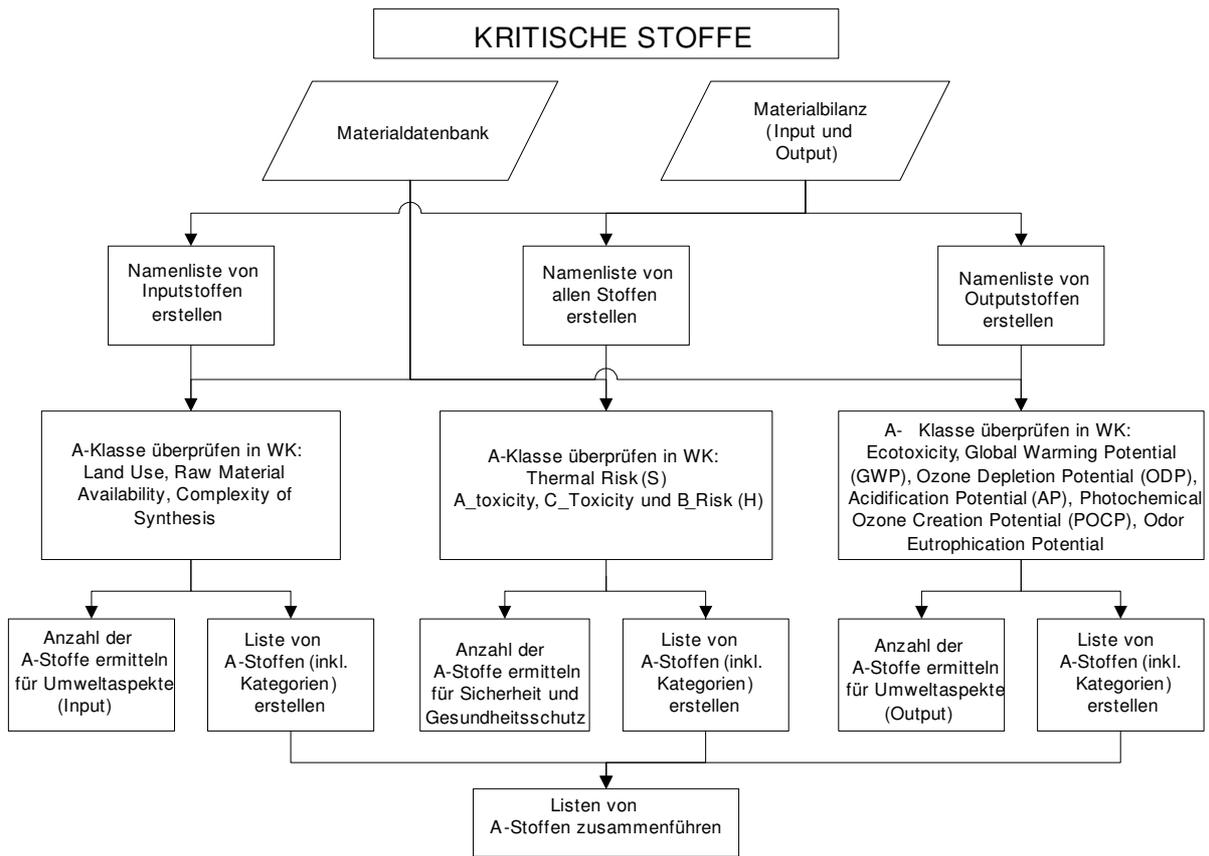


Abb. 5.19. Vorgehensweise zur Ermittlung der kritischen Stoffe aus der Stoffbilanz und der Materialdatenbank.

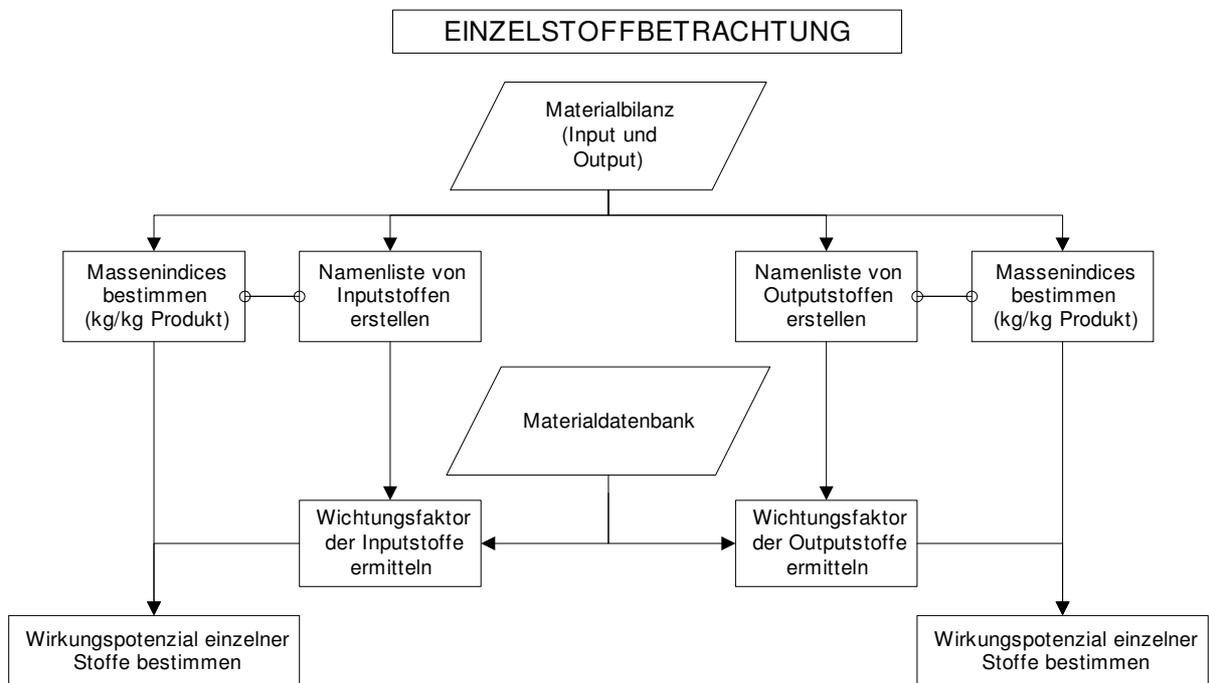


Abb. 5.20. Vorgehensweise zur Ermittlung des Wirkungspotenzials einzelner Input- und Outputstoffe aus der Stoffbilanz und der Materialdatenbank.

5.4.4. Ökologische Bewertung mit Umberto/Sabento

Zur Ausführung der ökologischen Bewertung ist ein Assistentenkonzept entwickelt worden. Das Assistent wurde wie folgt konzipiert: es beginnt mit einer kurzen Einführung in die Methodik der ökologischen Bewertung. Falls der Nutzer mehr über die Methodik erfahren will, ist eine detaillierte Methodikbeschreibung per Mausklick abrufbar.

Nach der Einführung folgen dann weitere Schritte: Identifizierung der kritischen Stoffe, Möglichkeit zur Eingabe eigener Wichtungsfaktoren, Einzelstoffbetrachtung, Darstellung der Wirkungskategorien, Darstellung der Umweltbewertungszahl, und Berichtserstellung. Für jede Seite wurden Hilfetexte bereitgestellt, die per Mausklick bei Bedarf abrufbar sind.

Die Einzelstoffbetrachtung dient zur weiteren Abschätzung des Wirkungspotentials einzelner Stoffe. Hier werden Stoffe mit höchsten Umweltkennzahlen, d.h. mit größten Optimierungspotenzialen, dargestellt. Stoffe mit A-Klasse können unter Umständen auch nur einen kleinen Teilbeitrag zum gesamten Wirkungspotential leisten, z.B. weil sie nur in sehr geringer Menge eingesetzt bzw. emittiert werden. Umgekehrt kann ein Stoff, der keiner A-Klasse in einer der Wirkungskategorien zugeordnet ist, ein großes Wirkungspotential haben, z.B. wenn er in großer Menge verbraucht oder emittiert wird.

Die Wirkungspotentiale der einzelnen Kategorien werden sowohl qualitativ als auch quantitativ dargestellt. Die qualitative Darstellung erfolgt in Form eine Ampel-Darstellung, die dem ABC-Prinzip, modifiziert für die Wirkungskategorieebene, entspricht. Die Ampel rot bedeutet, dass das Wirkungs- bzw. Belastungspotential relativ hoch ist. Die Ampel gelb deutet hin, dass das Wirkungs- bzw. Belastungspotential mäßig ist, und grün bedeutet, dass das Wirkungs- bzw. Belastungspotential niedrig bzw. vernachlässigbar ist. Bei der quantitativen Darstellung wird ein Balkendiagramm mit den Umweltkennzahlen der einzelnen Kategorien gezeigt. Die prozentuelle Verteilung wird in Form eines Kuchendiagramms dargestellt.

Nachdem der Nutzer alle Schritte abgearbeitet hat und somit alle Zwischenergebnisse angesehen hatte, kann ein Bericht auf Wunsch erstellt werden (Anhang D).

6. FALLBEISPIEL PRODUKTIONSSYSTEME VON HUMANEM SERUMALBUMIN (HSA)

6.1. Einführung

Humanes Serumalbumin (HSA) wird meist zum Ausgleich von Blutverlusten verwendet. HSA wird außerdem bei der Formulierung von Medikamenten und Impfstoffen, zur Beschichtung von medizinischen Geräten, etc. eingesetzt. Der Weltmarkt von HSA aus Blutfraktionierung beträgt ca. 400-500 t/a (GTC Biotherapeutics, 2002; Sumi et al., 1999). Der Marktpreis für HSA aus Blutfraktionierung liegt bei 2-3,5 \$/g (Kostandini, 2004; Flesland, et al., 2003).

HSA wird hauptsächlich durch Fraktionierung des humanen Blutplasmas basierend auf Cohn's Methode aus dem Jahr 1946 gewonnen, die oft in Kombination mit chromatographischen und anderen Aufreinigungsmethoden durchgeführt wird (Burnouf, 1995; Tanaka, et al., 1998; Adcock et al., 1998). Gesammeltes Blut kann jedoch unerwünschte Substanzen, wie z.B. Hepatitis-Viren, enthalten. Außerdem ist mit Schwankungen bei der Blutversorgung zu rechnen. Deshalb werden Produktionsprozesse von rekombinantem HSA (rHSA) entwickelt.

Potentielle Expressionssysteme zur Produktion von rHSA sind zum Beispiel Hefe (*Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces sp.*, *Pichia pastoris*) und Bakterien (*Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*), sowie genetisch veränderte Pflanzen und Tiere (Ballance, 2001). Sijmons et al. (1990) berichteten über die Herstellungsmöglichkeit von rHSA in genetisch veränderten Tabakpflanzen und Kartoffel. GTC Biotherapeutics (2002) entwickelte ein Produktionsverfahren von rHSA aus Milch von genetisch veränderten Kühen. Sumi et al. (1999) erreichten in *P. pastoris* einen Expressionsgrad von HSA von über 10 g/L. Die bisherigen Expressionsgrade von heterologen Proteinen in *P. pastoris* liegt im Bereich einigen µg bis zum 22 g/L (Cereghino und Cregg 2000; Cregg, 2005).

Zwei industrielle Produktionsanlagen werden aktuell jeweils mit einer Kapazität von 12,5 t/a von Mitsubishi Pharmaceuticals (Osaka, Japan) und von Kaketsuken (Kumamoto, Japan) mit *P. pastoris* bzw. *S. cerevisiae* gebaut. Mitsubishi Pharmaceuticals erwartet die baldige Zulassung der Produktionsanlage (Ilgen et al., 2005). Die kommerzielle Produktion mit *S. cerevisiae* mit der Lizenz von Delta Technology (Nottingham, U.K.) wird im Jahr 2008 erwartet (Kaketsuken, 2000; Delta Technology, 2003).

Die Firma Maltagen GmbH (Andernach, Deutschland) entwickelt eine neue Herstellungsmethode von rekombinanten Proteinen in Gerste als Expressionssystem. Die Produktion von rHSA in Gerste befindet sich während der Durchführung dieser Arbeit noch in einer sehr frühen Entwicklungsphase, in der die ersten Feldanbauversuche mit der rekombinanten Gerste durchgeführt werden. Der Aufreinigungsprozess von rHSA aus Gerste soll modelliert und hinsichtlich der ökologischen und ökonomischen Aspekte der Nachhaltigkeit bewertet werden. Als Vergleichsverfahren wird der Herstellungsprozess mit *Pichia pastoris* modelliert und bewertet.

6.2. Herstellung von rHSA mit Hefe

6.2.1. Bioreaktion

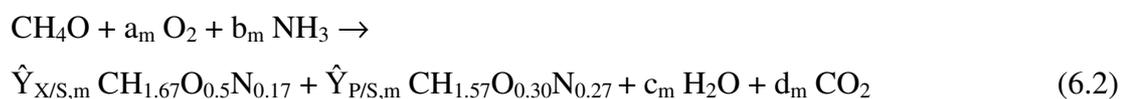
6.2.1.1 Stöchiometrie

Die Reaktionsgleichung der Biomasse- und Produktbildung wird aus der elementaren Biomassen- bzw. Produktzusammensetzung ($C_pH_qO_rN_s$) und den Ausbeuten ermittelt. Die C-Quellen sind Glycerin ($C_3H_8O_3$) und Methanol (CH_4O), wobei Ammoniak als die einzige N-Quelle angenommen wird. Die elementare Zusammensetzung der Zell-Biomasse wird als $CH_{1.67}O_{0.50}N_{0.17}$ angenommen, ähnlich wie die elementare Zusammensetzung von *S. cerevisiae* nach Nielsen et al. (2003). Die Zell-Biomasse hat eine Molmasse von 24 g/C-mol. Die elementare Zusammensetzung von HSA wird mit Hilfe des ProtParam-Tools vom Swiss Institute of Bioinformatics in Basel (<http://au.expasy.org/tools/protparam.html>) als $CH_{1.57}O_{0.30}N_{0.27}$ mit einer Molmasse von 22,2 g/C-mol ermittelt.

Die allgemeine Reaktionsgleichung von Glycerin zur Zell-Biomasse ist wie folgt:



Methanol reagiert zur Zell-Biomasse und rHSA nach



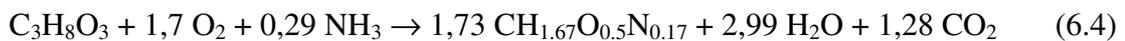
$\hat{Y}_{X/S}$ (mol/mol) ist die molare Biomasse-Ausbeute, die sich aus der Ausbeute $Y_{X/S}$ (g/g) und der Molmasse der Substrate (M_S) und der Zell-Biomasse (M_C) ermitteln lässt.

$$\hat{Y}_{X/S} = Y_{X/S} \cdot M_S / M_C \quad (6.3)$$

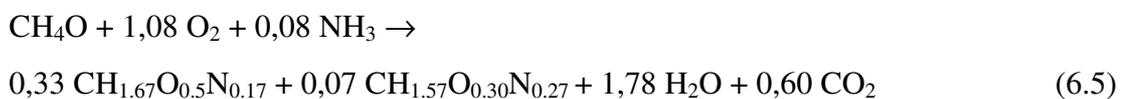
Die molare Produktausbeute $\hat{Y}_{P/S}$ (mol/mol) wird analog ermittelt. Wenn $Y_{X/S,g}$, $Y_{X/S,m}$ und $Y_{P/S,m}$ bekannt sind, lassen sich die Stöchiometriekoeffizienten a_g , b_g , c_g , d_g , a_m , b_m , c_m und d_m über die Elementarbilanzen für C, H, O und N bestimmen.

Die Literaturangaben über die Biomasseausbeute erstrecken sich zwischen 0,40-0,45 g/g Glycerin (d'Anjou und Daugulis, 2000; Ren et al., 2003), während die Biomasseausbeute im Fall von Methanol als C-Quelle recht unterschiedlich sind, nämlich von 0,15 (Ren et al., 2003), 0,4 (Siegel und Brierley, 1989) bis zu 0,61 und 1,73 g/g (d'Anjou und Daugulis, 2000). In diesem Reaktionsmodell werden die Biomasseausbeute von Glycerin als 0,45 g/g und die von Methanol als 0,25 g/g gesetzt, die den molaren Ausbeuten von 1,73 bzw. 0,33 mol/mol entsprechen. Die Produktausbeute wird als 0,05 g/g Methanol angenommen.

Mit den geschätzten Werten und über die Elementbilanzen erhält man folgende Reaktionsgleichung (in Mol):

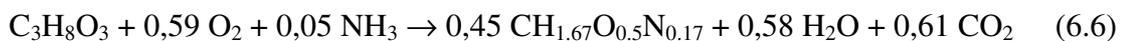


für Glycerin, und

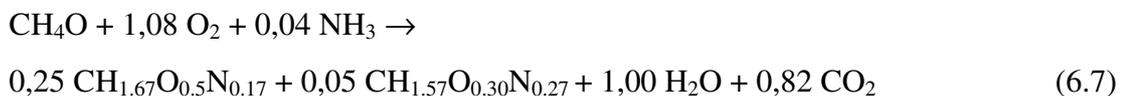


für Methanol.

Im Prozessmodell werden die Reaktionsgleichungen im Massenverhältnis verwendet. Dabei gelten folgende Reaktionsgleichungen (in Gram)



für Glycerin, und



für Methanol.

6.2.1.2 Fed-Batch-Fermentation und Zufütterungsplan

Die Fermentation wird normalerweise im Fed-Batch-Modus durchgeführt. Zunächst wächst die Kultur in einem Medium mit Glycerin als C-Quelle. Nachdem Glycerin verbraucht ist, wird ein Medium mit Methanol als C-Quelle zugegeben. Die Zufütterung wird so geregelt, dass eine Anreicherung von Methanol im Medium vermieden wird, da hohe Konzentrationen von Methanol toxisch für die Mikroorganismen sind (Sreekrishna et al., 1998; Ohmura et al., 1999).

Um eine möglichst hohe Zelldichte und Produktkonzentration zu erreichen, wurde eine mehrstufige Fermentation vorgeschlagen (Tab. 6.1; Wallmann, 2003; Cino, 1999). Nach der Batch-Stufe mit Glycerin wird weiteres Medium mit Glycerin in Fed-Batch-Verfahren zugegeben. Dadurch soll eine maximale Zelldichte erreicht werden. Die Zugabe von

Methanol wird erst dann durchgeführt, wenn Glycerin verbraucht ist, und so geregelt, dass keine Anreicherung von Methanol im Medium stattfindet.

Tab. 6.1. Zufütterungsplan der mehrstufigen Fermentation von *Pichia pastoris* zur Produktion von rHSA (Wallmann, 2003; Cino, 1999). Die Zufütterungsraten sind spezifisch im Verhältnis zum Reaktionsvolumen.

Stufe	Modus	Zweck	C-Quelle	Konzentration	Zufütterungsrate mL/(L h)	Dauer (h)
1	Batch	Wachstum	Glycerin	50 g/L	-	23
2	Fed-batch	Wachstum	Glycerin	50%	24	24
3	Batch	Glyc-Verbrauch	-	-	-	1
4	Fed-batch	Induction	Methanol	50%	7.5	12
5	Fed-batch	Produktion	Methanol	50%	15	84

6.2.1.3 Reaktorauslegung und Medienverbrauch

Für eine Jahresproduktion von 12,5 t und bei einer Gesamtausbeute der Aufarbeitung von 60 % beträgt das Produkt im Fermentationsmedium ca. 21 t pro Jahr. Für die aus der Batch-Dauer ermittelte Batch-Anzahl von 52 und bei einer Produktkonzentration von 10 g/L wird ein Reaktionsvolumen von 40 m³ benötigt (Tab. 6.2). Der ermittelte Wert stimmt mit der Literaturangabe überein (Sumi et al., 1999). Bei bekannter Mediumszusammensetzung und Durchführung der Fermentation lässt sich der Verbrauch an Rohmaterialien pro Ansatz (Batch) abschätzen: 4,2 t Glycerin (in 13 m³ Wasser) und 7,4 t Methanol (in 9,4 m³ Wasser) als Kohlenstoffquellen, sowie 0,5 t Ammoniak.

Tab. 6.2. Abschätzung des Reaktions- und Bioreaktorvolumen

Beschreibung	Wert	Quelle
Jahresproduktion	12,5 t/a	(Amersham Pharmacia, 1998; Pharm.-Techn., 2001)
Gesamtausbeute der Aufarbeitung	60%	(Sumi et al., 1999)
Produktmenge im Medium	21 t/a	Berechnet
Anzahl der Arbeitstage	338 Tage/a	Abgeschätzt
Batchdauer	6,5 Tage	(Sumi et al., 1999)
Anzahl der Batches	52	Berechnet
Produktmenge im Medium	0,40 t/Batch	Berechnet
Produktkonzentration	10 g/L	(Kobayashi, 2000)
Reaktionsvolumen	40 m ³	Berechnet
Bioreaktorvolumen	50 m ³	(Sumi et al., 1999)

6.2.2. Prozessmodellierung

6.2.2.1 Bioreaktion

Abb. 6.1 stellt das Prozessfließdiagramm der Herstellung von rHSA mit *Pichia pastoris* dar. In den ersten Mediumsbehälter (P-1) werden 4,27 t Glycerin und 13 m³ Wasser vorgelegt, und in den zweiten Behälter (P-2) 7,4 t Methanol und 9,4 m³ Wasser. Andere Mediumsinhaltstoffe wie Salze, Vitamine und Spurenelemente werden auch in diesen Behälter gegeben. Eine 20%ige (v/v) Ammoniaklösung mit insgesamt ca. 500 kg Ammoniak wird während der Fermentation in den Bioreaktor (P-3) zugegeben. Die Produktkonzentration liegt am Ende bei 10 g/L. Die Gesamtmenge an Zellbiomasse beträgt 3,8 t (S-007). Dies entspricht einer Zelldichte von ca. 100 g/L. Literaturangaben über die Zelldichte von *P. pastoris* liegen im Bereich von 100 - 160 g/L (Ren et al., 2003; Schilling et al., 2001; Jahic et al., 2002; Cornelissen et al., 2003; Trinh et al., 2003).

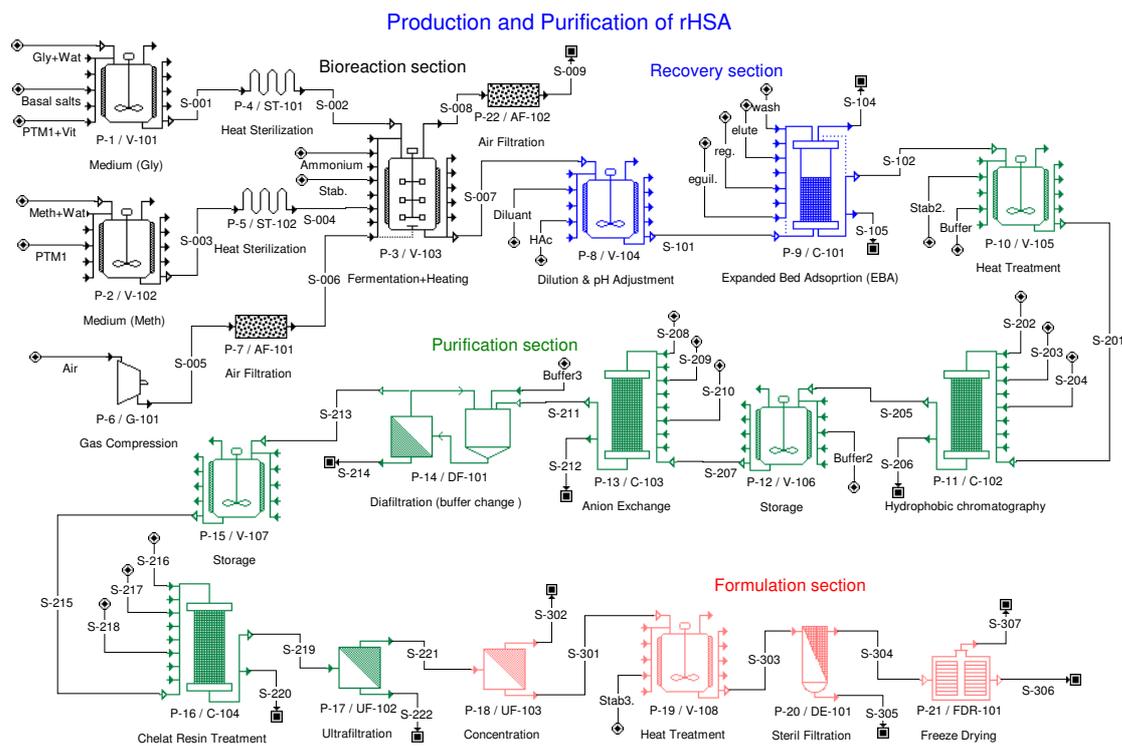


Abb. 6.1. Prozessmodellierung der rHSA-Produktion mit *Pichia pastoris* mit SuperPro-Designer (Abdul Kholiq und Heinzle, 2007).

6.2.2.2 Aufarbeitung

Im Vergleich zur klassischen Methode mit *Packed Bed Adsorption* (PBA) (Ohmura et al., 1999) verspricht der Einsatz der *Expanded Bed Adsorption* (EBA) eine Verbesserung in der Aufarbeitung, da das Produkt direkt aus der Fermentationsbrühe adsorbiert wird (Noda et al.,

1999; Sumi et al., 1999). So entfällt die Fest-Flüssig-Trennung durch Zentrifugation bzw. Filtration. Die Anzahl der Aufarbeitungsschritte wird dadurch um drei Schritte reduziert und die Aufarbeitungszeit sinkt von 6 Tagen auf 4-5 Tage (Noda et al., 1999; Sumi et al., 1999). Einige Vergleichsstudien hinsichtlich der Kosten wurden publiziert, z.B. von Curbelo et al. (2003) für Schwein-Serumalbumin aus der Fermentationsbrühe mit *P. pastoris* and von Amersham Biosciences (2002) für monoklonalen Antikörpern.

Der modellierte Aufbereitungsverlauf besteht aus Hitzebehandlung, Verdünnung & pH-Justierung, EBA, Hitzebehandlung, hydrophobe Wechselwirkungschromatographie (*hydrophobic interaction chromatography*, HIC), Pufferlösungszugabe zur Reduzierung des Salzgehalts, Anionenaustauscher, Diafiltration zum Pufferaustausch, Chelat-Harz-Behandlung, Ultrafiltration, und pharmazeutische Aufbereitung (Abb. 6.1).

Bei sauren Bedingungen ist HSA durch die vorhandenen Proteasen leicht abbaubar. Zur Deaktivierung der Proteasen wird eine Hitzebehandlung bei 68°C im Fermentor (P-3) für 30 Minuten vorgeschaltet. Als Stabilisator wird 10 mM Natriumcaprylat-Lösung verwendet. Um die Farbbildung zu unterdrücken, wird 10 mM Cystein zugegeben. Der pH-Wert liegt bei ca. 6, was ungefähr dem pH-Wert der Fermentationsbrühe entspricht. Danach wird das Medium auf 25°C abgekühlt.

Vor der Beladung der EBA Säule wird das Medium verdünnt und mit Essigsäure auf pH 4,5 eingestellt, wo die Bindungskapazität des Adsorbenten ein Maximum erreicht. Nach der Hitzebehandlung beträgt die elektrische Leitfähigkeit ca. 20 mS (bei 25°C). Die Bindungskapazität des Adsorbenten erreicht ein Maximum bei einer elektrischen Leitfähigkeit von ca. 8 - 12 mS. Das Kulturmedium wird deshalb 2-fach mit destilliertem Wasser (1:1) verdünnt.

Die verdünnte Fermentationsbrühe wird dann aufwärts durch die EBA-Säule geführt. Die Säule wird mit einer 50 mM Acetatpufferlösung (pH 4,5, 50 mM NaCl) gewaschen. Das Produkt wird mit einer Phosphat-Puffer-Lösung (100 mM, pH 9, 300 mM NaCl) eluiert.

Die Eluatlösung wird bei 60°C für eine Stunde in Anwesenheit von 10 mM Cystein, 5mM Natriumcaprylat und 100 mM Aminoguanidinhydrochlorid bei pH 7,5 zur Reduzierung des Farbgrades behandelt (P-10; Abb. 6.1). Um den Salzgehalt auf 200 mM zu senken und den pH-Wert auf ca. 6,8 zu stellen, wird die Lösung während des Abkühlvorgangs mit frischer Pufferlösung (ohne zusätzliches Salz) 1:1 verdünnt.

Die Produktlösung wird dann in die HIC-Säule (P-11) geladen. Bei der Beladung werden Verunreinigungen zurückgehalten. Für die Reinigung wird eine NaOH-Lösung (1 M) verwendet. In der nächsten Stufe (P-12) wird die Salzkonzentration der Produktlösung auf ca.

100 mM reduziert und in den Anionenaustauscher (P-13) geführt. Das Produkt wird in der nicht-adsorbierten Fraktion wieder gewonnen. Ein Pufferaustausch wird mittels Diafiltration (P-14) durchgeführt, bevor die Lösung in die Chelat-Harz-Säule (P-16) zur Entfernung von Farbstoffen geführt wird. Die Ultrafiltration (P-17) dient zur Entfernung von Pyrogenen. Vor der Gefriertrocknung (P-21) wird die Lösung mittels Ultrafiltration (P-18) aufkonzentriert.

6.2.2.3 Prozessvergleich PBA vs. EBA

Das in Abb. 6.1 dargestellte Prozessmodell mit der EBA-Methode wird mit der klassischen Aufarbeitungsstrategie mit der PBA-Methode verglichen. Die klassische Aufarbeitungsstrategie sieht wie folgt aus: nach der Zelltrennung mit Filtration folgen weitere Aufarbeitungsschritte wie z.B. Hitzebehandlung, Ultrafiltration, verschiedene Chromatographien, Aussalzen, etc. (Ohmura et al., 1999). Abb. 6.2 stellt den Vergleich zwischen der EBA- und der PBA-Methode dar.

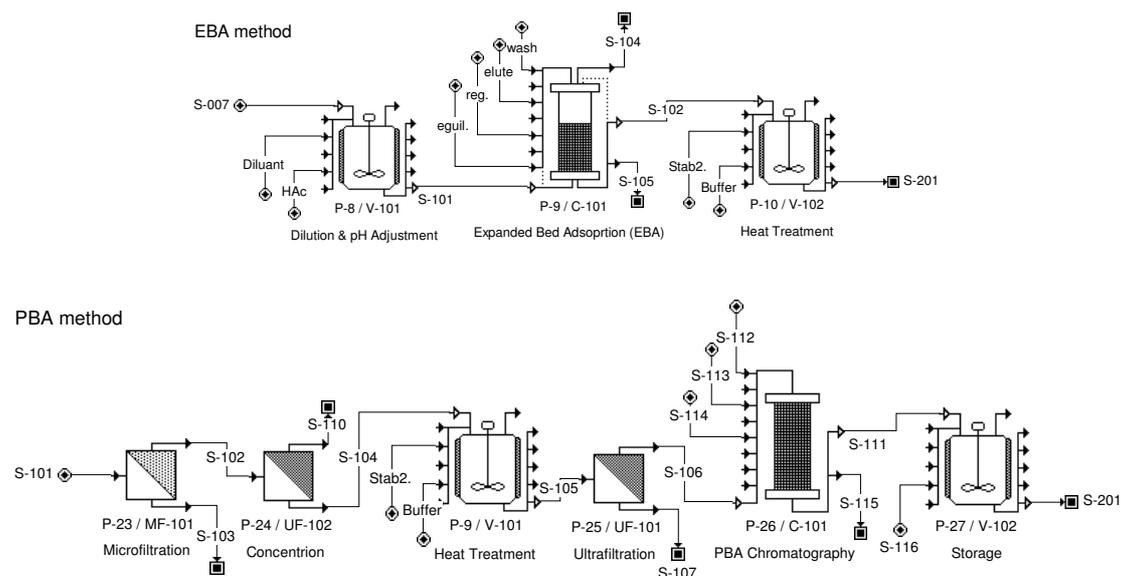


Abb. 6.2. Vergleich zwischen der EBA- und der PBA-Methode

6.3. Aufarbeitung von rHSA aus Gerste

6.3.1. Prozessentwurf

Die Produktion von rHSA in Gerste befindet sich während der Durchführung dieser Arbeit noch in der Entwicklungsphase, wo die ersten Feldanbauversuche mit der rekombinanten Gerste durchgeführt werden. Für den Prozessentwurf und die -modellierung der Aufarbeitung von rHSA aus Gerste wurden die Informationen und Prozessdaten aus den Versuchen im

Labormaßstab von der Firma Maltagen GmbH und aus einer Studie zur Prozessentwicklung der Produktion und Aufarbeitung von rekombinanten Proteinen aus Mais (Hood et al., 1997; Kusnadi et al., 1997; Kusnadi et al., 1998; Evangelista et al., 1998) verwendet.

6.3.1.1 Literaturstudie zur Aufarbeitung von Proteinen aus Mais

Ein ähnlicher Prozess aus Sicht des Ausgangsmaterials wäre die Aufarbeitung von rekombinanter β -Glucuronidase (rGUS) aus Mais (Hood et al., 1997; Kusnadi et al., 1997; Kusnadi et al., 1998; Evangelista et al., 1998). Der Aufarbeitungsprozess von rGUS aus Maiskörnern besteht aus Mahlen, Extraktion, Filtration, Ultrafiltration, DEAE-Säule, Pufferzugabe, HIC-Säule, Diafiltration, DEAE-Säule, Diafiltration, und Gefriertrocknung (Kusnadi et al., 1998; Evangelista et al., 1998). Abb. 6.3 stellt das Prozessschema des Aufarbeitungsprozesses von rGUS aus Maiskörnern dar.

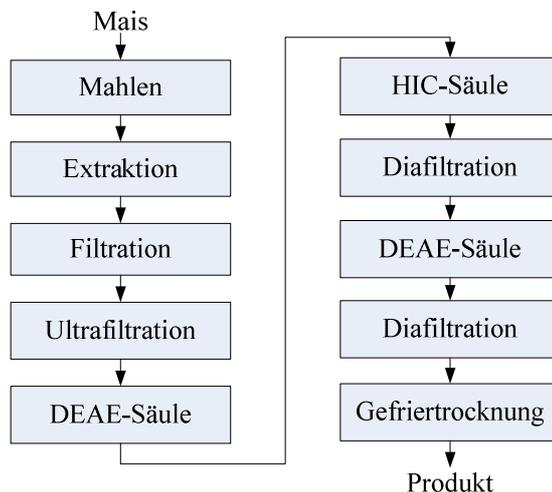


Abb. 6.3. Prozessschema des Aufarbeitungsprozesses von rGUS aus Maiskörnern; vereinfachte Darstellung aus Kusnadi et al. (1998) und Evangelista et al. (1998).

Die Extraktion erfolgt bei einem fest-flüssig Verhältnis von 1:4 mit einer Natriumphosphat-Pufferlösung (15 min). Die Festphase wird mittels Drehvakuumfilter abgetrennt. Der Filterkuchen wird mit Wasser (Feststoff zu Wasser 1:6) gewaschen um mehr rGUS zu extrahieren. Der Extrakt mit einem Proteingehalt von ca. 1 g/L Protein wird dann mittels Ultrafiltration (auf 5 g/L) aufkonzentriert.

Das Konzentrat wird auf DEAE-Sepharose-Säule gegeben. Dabei wird das Protein rGUS adsorbiert. Die Säule wird mit der Natriumphosphat-Pufferlösung gewaschen und mit einer Salzkonzentration von 0.3 M NaCl in gleicher Pufferlösung eluiert. Der Eluatlösung wird langsam eine Ammoniumsulfatlösung (bis 1 M) zugegeben. Die Lösung wird dann über eine HI-Chromatographiesäule geschickt. Danach wird die Säule gewaschen und eluiert.

Mit einer Diafiltration wird NaCl aus der Produktlösung weitgehend entfernt. Die Retentatlösung wird dann auf eine DEAE-Säule geladen. Nach dem Waschen wird das Protein rGUS eluiert. Vor der Gefriertrocknung wird die Lösung mittels Diafiltration entsalzt. Es ist kritisch zu fragen, ob sich der Einsatz der gleichen Chromatographiemethode in ersten und dritten Stufe der Chromatographiereihe lohnt. Besser wäre hier wahrscheinlich der Einsatz einer Kationenaustauscher-Chromatographie als erste Stufe, danach die hydrophobe Wechselwirkungs- oder Anionenaustauscher-Chromatographie.

6.3.1.2 Aufarbeitung von rHSA aus Gerste

Zukünftig soll eine preiswerte Produktion des Ausgangsmaterials in großen Mengen erreicht werden. Die Prioritäten sind dabei die Effizienz und die Übertragbarkeit auf den Großmaßstab und die Reinheit des Produkts. Die Gesamtausbeute der Aufarbeitung ist möglicherweise nur nachrangig, da die Produktion von Gerste wesentlich geringere Kosten verursacht als die Aufarbeitung von rHSA aus Gerste (Berkemeyer, 2004).

Ein Entwurf zum Aufarbeitungsverlauf ist wie folgt (Berkemeyer, 2004): Entfernen der Spelzen, Mahlen, Extraktion, Filtration über Filterpresse, Konzentrierung mittels Ultrafiltration, Kationenaustauscher-Chromatographie, hydrophobe Wechselwirkungs-Chromatographie, Anionenaustauscher-Chromatographie, Diafiltration, und Gefriertrocknung (Abb. 6.4). Als Alternative bietet sich die EBA-Methode wie beim *Pichia*-Prozess an.

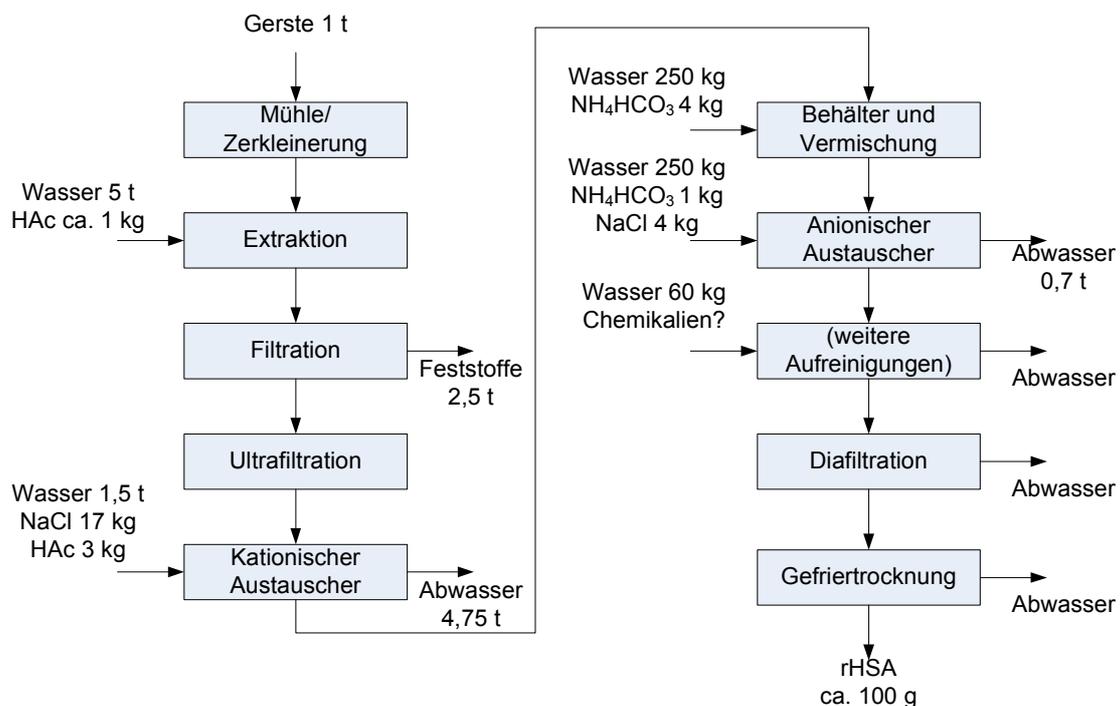


Abb. 6.4. Erstes Aufarbeitungsschema von rHSA aus Gerste (Berkemeyer, 2004).

Nach dem Entfernen der Spelzen und Mahlen wird das Protein mit Wasser extrahiert. Das fest-flüssig Verhältnis beträgt dabei 1:5 (kg/kg). Der Extrakt hat einen pH-Wert von ca. 5.9 und wird mit Essigsäure auf pH 5.0 gestellt. Durch die Filterpresse und die Ultrafiltration wird der unlösliche Festanteil abgetrennt. Das Filtrat wird dann in die Kationenaustauschersäule geladen. Die geladene Matrix wird mit 20 mM Acetatpuffer mit einem Kochsalzgehalt von 150 mM bei pH-Wert von 5,2 eluiert. Die Ausbeute sollte bei ca. 85 % liegen.

Die Eluatlösung wird der Anionenaustauscher-Chromatographie zugeführt. Das Produkt wird dabei adsorbiert. Nach der Beladung wird die Matrix mit 10mM Ammoniumcarbonatpufferlösung mit einem Kochsalzgehalt von 250 mM eluiert. Die Ausbeute wird auf 80 % geschätzt. Zum Pufferaustausch wird Diafiltration eingesetzt. Am Ende wird die Lösung mit einer Membranfiltration und einer Gefriertrocknung aufkonzentriert.

Nach dem ersten Prozessentwurf (Abb. 6.4) wird 100 g HSA aus 1 t Gerste gewonnen. Dieser Entwurf beruht auf den sehr pessimistischen Annahmen einer Expression von 0,3 g/kg und Aufarbeitungsverlusten von insgesamt ca. 67 %. Mit dem aktuellen Expressionsgrad von 3 g/kg Gerste (Maltagen, 2005) und einer verbesserten Ausbeute könnte aus 1 t Gerste theoretisch viel mehr Produkt gewonnen werden.

6.3.2. Prozessmodellierung

Als Rohmaterial wird Gerste verwendet. Abb. 6.5 stellt die Aufarbeitung von rHSA aus Gerste dar. Die Aufarbeitung besteht hauptsächlich aus zwei Teilen: Gewinnung und Aufreinigung. Der Teil Gewinnung besteht aus Zerkleinerung bzw. Mahlen der Gerste, Produktextraktion mit Wasser und Abtrennung des Gersterestes. Die Aufreinigung besteht aus einer Chromatographiereihe mit einer Vorkonzentrierung mittels Membranfiltration.

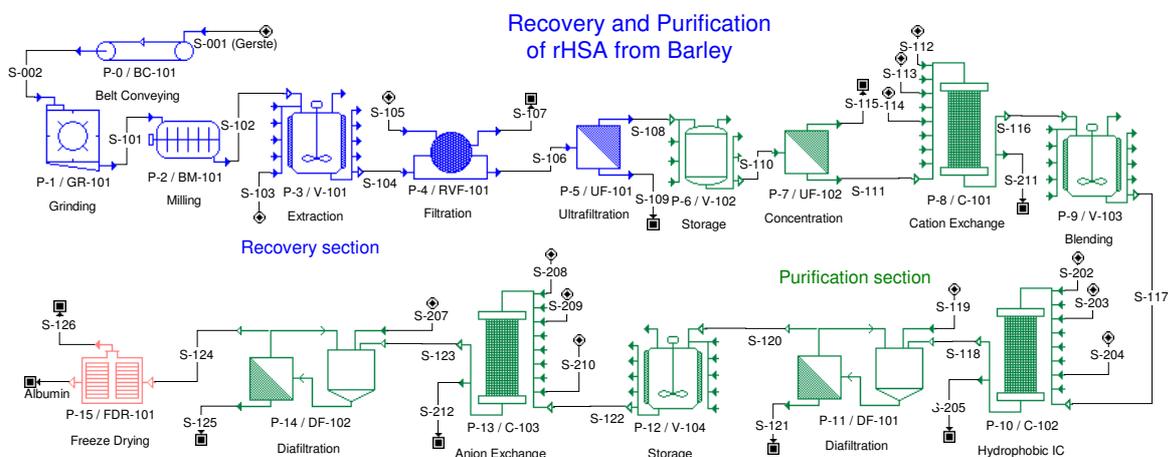


Abb. 6.5. Prozessmodellierung der Aufarbeitung von rHSA aus Gerste (ohne Recycling).

Mit einem Massenindex von ca. 4300 kg/kg Produkt ist der Wasserverbrauch sehr hoch. Deshalb wurde zusätzlich ein Prozessmodell mit Wasserrecycling aus der Extraktion erstellt (Abb. 6.6).

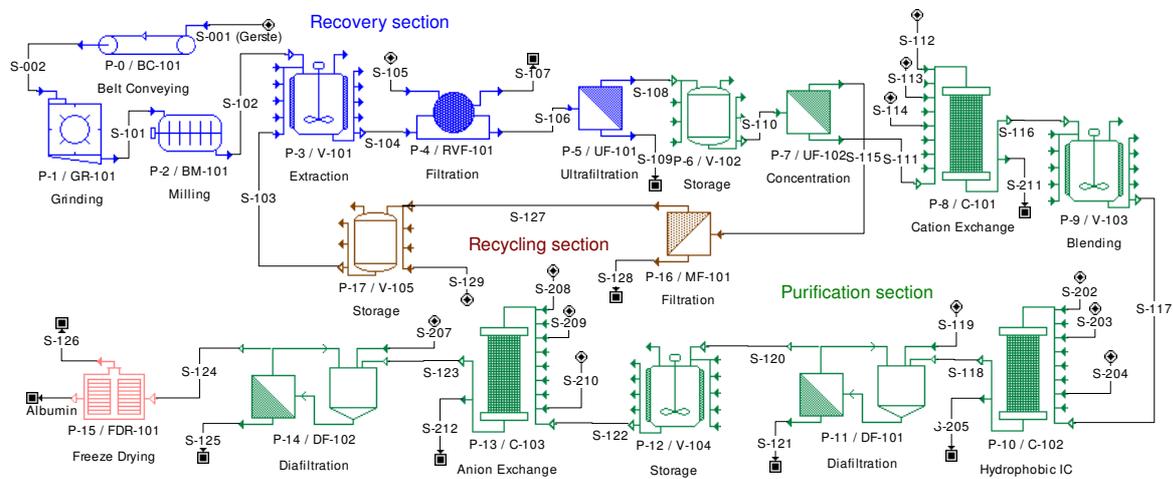


Abb. 6.6. Prozessmodellierung mit Recycling des Extraktionswassers.

6.4. Ergebnisse und Diskussion

6.4.1. Einführung

Die Herstellung von rHSA mit Gerste wurde mit der Produktion von rHSA in *Pichia pastoris* verglichen. Zwei Prozessvarianten der Produktion mit *P. pastoris* (mit EBA und PBA) wurden in SuperPro-Designer modelliert. Die Prozessmodellierung der rHSA-Produktion von rHSA in *P. pastoris* ging von einer rHSA-Konzentration von 10 g/L aus. Die Aufarbeitung von rHSA aus Gerste wurde sowohl ohne als auch mit Recycling des Extraktionswassers (70 und 90 % Recyclinggrad) modelliert, wobei der rHSA-Gehalt bei 3 g/kg Gerste liegen soll.

Aus den Prozessmodellen wurden die Stoffbilanzen und die ökonomischen Größen ermittelt. Basierend auf diesen Bilanzen wurde die ökologische Bewertung durchgeführt. Wichtige Ergebnisse der Prozessmodellierung und -bewertung werden hier dargestellt und miteinander verglichen. Neben dem Prozessvergleich „Gerste vs. *P. pastoris*“ werden in diesem Kapitel auch Optimierungspotentiale beim Herstellungsprozess mit Gerste diskutiert.

6.4.2. Stoffbilanzen

Die Stoffbilanzen der Prozessmodelle werden in Tab. 6.3 dargestellt.

Tab. 6.3. Stoffbilanz (in kg/kg Produkt) der Pichia- und Gerste-Prozessmodelle.

Bezeichnung	Pichia_EBA		Pichia_PBA		Gerste_oR		Gerste_R90%	
	In	Out	In	Out	In	Out	In	Out
Produkt	0,00	1,00	0,00	1,00	0,00	1,00	0,0	1,0
Essigsäure	10,86	10,86	3,33	3,33	0,88	0,88	0,9	0,9
Gerste	0,00	0,00	0,00	0,00	448,91	447,91	440,6	439,6
Glycerin	17,43	0,00	20,23	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Methanol	30,17	0,00	35,03	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Ammoniak	2,30	0,31	2,36	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00
Sauerstoff	43,01	0,27	49,94	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Kohlendioxid	0,00	35,52	0,00	41,24	0,00	0,00	0,00	0,00
Isopropanol	8,22	8,22	2,18	2,18	0,00	0,00	0,00	0,00
Natriumacetat	1,60	1,60	0,89	0,89	0,06	0,06	0,1	0,1
Natriumhydroxid	4,60	4,60	1,75	1,74	3,12	3,12	3,1	3,1
Natriumchlorid	9,63	8,03	4,32	4,34	5,26	5,26	5,3	5,3
Kaliumphosphat	3,10	3,10	2,53	2,53	3,75	3,75	3,7	3,7
Hefe	0,00	15,89	0,00	18,62	0,00	0,00	0,00	0,00
Wasser	1796,94	1837,14	1128,00	1174,67	3376,46	3376,46	1860,8	1860,8
Gesamt	1927,88	1926,54	1250,56	1250,54	3838,43	3838,43	2314,46	2314,46

Außer Gerste sind alle Stoffe aus Tab. 6.3 in den Pichia-Prozessen beteiligt. Beteiligt in den Gerste-Prozessen sind Gerste, Wasser, Essigsäure, Natriumacetat, Natriumhydroxid, Kochsalz und Kaliumphosphat. In allen Prozessvarianten wird eine große Menge an Wasser eingesetzt, was typisch für biotechnologische Prozesse ist. Der große Wasserverbrauch wird im Fall Pichia-Prozessen durch Kultivierung und Aufarbeitung verursacht. Beim Gersteprozess ist der große Wasserverbrauch insbesondere für die Produktextraktion und auch für die Aufreinigung erforderlich.

6.4.3. Ökonomische Evaluierung

Tab. 6.4 stellt den Vergleich der ökonomischen Größen der Prozesse mit Hefe und Gerste dar. Für die Hefe-Prozesse werden sowohl für den EBA- als auch für den PBA-Prozess jeweils zwei Ausführungen mit einem Reaktor und mit zwei zeitversetzten Reaktoren untersucht. Für den Gerste-Prozess werden zwei Ausführungen ohne und mit 90 % Recycling des

Extraktionswassers verglichen. Der Verkaufspreis für das Produkt (rHSA) wird als 3 000 \$/kg gesetzt.

In den Basismodellen des EBA- und des PBA-Prozesses jeweils mit einem Reaktor ist die Fermentation der Flaschenhals. Die Fermentationsdauer ist etwa dreimal größer als die Aufarbeitungsdauer. Die beiden Prozesse lassen sich deshalb durch weitere Reaktoren in einer zeitversetzten Ausführung optimieren (Tab. 6.4).

Tab. 6.4. Vergleich der ökonomischen Größen der Prozesse mit Hefe und Gerste. Zwei Aufarbeitungsstrategien werden für die Hefe-Prozesse modelliert, nämlich mit *expanded bed adsorption* (EBA) und *packed bed adsorption* (PBA).

Parameter	Einheit	EBA-Prozess		PBA-Prozess		Gerste-Prozess	
		1 R	2 R	1 R	2 R	ORec	Rec90
Ausführung ^{*)}							
Investition	Mio. \$	92	125	91	125	72	83
Umsatz	Mio. \$/a	37	73	31	60	37.5	37.5
Betriebskosten	Mio. \$/a	23	36	20	30	29	32
Jahresproduktion	t/a	12	24	10	20	12.5	12.5
Spez. Betriebskosten	\$/g	1,9	1,5	1,95	1,5	2,3	2,5
Bruttomarge	%	37	50	35	49	23	15
RoI	%	18	27	16	24	16	13
Amortisationszeit	Jahre	5,6	3,8	6,1	4,3	6,2	7,6

^{*)} Für die Hefe Prozesse (bzw. den EBA- und den PBA-Prozess) werden jeweils zwei Ausführungen mit einem Reaktor (1 R) und mit zwei zeitversetzten Reaktoren (2 R) untersucht. Für den Gerste-Prozess werden zwei Ausführungen ohne (ORec) und mit 90% Wasserrecycling (Rec90) verglichen.

Mit zwei zeitversetzt arbeitenden Reaktoren nehmen die Investition im EBA-Prozess von 92 auf 125 Mio. \$ und die Betriebskosten von 23 auf 36 Mio. \$/a zu. Die Produktionsrate verdoppelt sich aber. Deshalb nehmen die spezifischen Produktionskosten von 2000 auf 1500 \$/kg rHSA ab. Entsprechend verbessern sich die Bruttomarge, die Kapitalrendite und die Amortisationszeit deutlich. Die gleiche Prozessverbesserung wird im PBA-Prozess erzielt.

Bei der gleichen Reaktorgröße gibt es keinen signifikanten Unterschied in der Investition. Im PBA-Prozess benötigt die Verdünnung (1:1) des Reaktionsmediums eine größere Anlage (P 8) und diese verursacht wiederum höhere Investitionen. Andererseits verursacht die EBA-Säule im Vergleich zur PBA-Säule auch höhere Investitionen.

Durch bessere Aufarbeitungsausbeute erzielt der EBA-Prozess eine höhere Jahresproduktion von 12,2 Tonnen rHSA, ca. 1,7 Tonnen mehr im Vergleich zum PBA-Prozess. Dies entspricht einen zusätzlichen Umsatz von ca. 5 Mio. \$/a. Die Betriebskosten vom EBA-Prozess sind jedoch ca. 3 Mio. \$ höher, was hauptsächlich auf der Verdünnung am Anfang des

Aufarbeitungsprozesses zurückzuführen ist. Die Bruttomarge des EBA-Prozesses (37 %) unterscheidet sich nicht deutlich von der Bruttomarge des PBA-Prozesses (35 %).

Die Investition der Gerste-Prozesse (72 bzw. 83 Mio. \$) liegt deutlich niedriger im Vergleich zu denen der Hefe-Prozesse (ca. 92 Mio. \$). Die Gerste-Prozessmodelle beinhalten aber nur Aufarbeitungsanlagen und benötigen keine Bioreaktoren. Die spezifischen Betriebskosten der Gerste-Prozesse (2300 bzw. 2500 \$/kg) liegen dagegen deutlich höher im Vergleich zu den Hefe-Prozessen (ca. 2000 \$/kg).

Im Prozess ohne Wasserrecycling betragen die Investitionen etwa 11 Mio. \$ weniger als im Prozess mit Wasserrecycling, da dafür eine im Modell aus Filtration und Tankbehälter bestehende Recyclinganlage benötigt wird. Die spezifischen Betriebskosten des Gerste-Prozesses ohne Wasserrecycling ist auch niedriger (2300 \$/kg) als im Prozess mit Wasserrecycling (2500 \$/kg). Durch das Recycling entstehen mehr Kosten als Einsparungen. Das ist darauf zurückzuführen, dass die Materialkosten ca. 10 % der gesamten Betriebskosten (Tab. 6.5) betragen und Wasser nur einen Anteil von 2 % der Materialkosten hat (Tab. 6.6).

Tab. 6.5. Jahresbetriebskosten der Gerste-Prozesse und deren Verteilung

	ohne Recycling		mit Recycling (90%)	
	\$	%	\$	%
Materialkosten	2 925 000	9.92	2 893 000	9.11
PA-Kosten	866 000	2.94	866 000	2.73
AA-Kosten	12 832 000	43.51	14 843 000	46.72
Verbrauchsmaterial	12 663 000	42.93	12 842 000	40.42
Sonstige	208 000	0.71	325 000	1.02
Summe	29 494 000	100	31 718 000	100

PA-Kosten = personalabhängige Kosten, AA-Kosten = anlagenabhängige Kosten

Aus Tab. 6.5 lässt sich außerdem erkennen, dass die Optimierungspotentiale mehr in den anlagenabhängigen Kosten und in den Verbrauchsmaterialien liegen, die jeweils einen Anteil von mehr als 40 % haben. Alternativen für Chromatographien und Membranfiltrationen soll man überprüfen, z.B. durch Extraktion.

Wichtig sind auch die Materialien mit einem Anteil von ca. 10 %. Tab. 6.6 stellt die Materialkosten der Gerste-Prozesse und deren Verteilung dar. Mit ca. 95 % der gesamten Materialkosten hat Gerste das größte Optimierungspotential. Eine Möglichkeit wäre durch Erhöhung des HSA-Gehalts in der Gerste mit Hilfe von gentechnischen Methoden. Dies würde auch alle anderen Kosten reduzieren helfen.

Tab. 6.6. Materialkosten der Gerste-Prozesse und deren Verteilung.

	Preis (\$/kg)	ohne Recycling			mit Recycling (90%)		
		Verbrauch (kg)	Kosten (\$)	%	Verbrauch (kg)	Kosten (\$)	%
Wasser	0,00	33415698	57 000	1,95	14469553	25 000	0,86
Gerste	0,50	5611341	2 806 000	95,93	5611341	2 806 000	96,99
Phosphatpuffer	0,01	8302377	31 000	1,06	8302374	31 000	1,07
Acetatpuffer	0,01	542616	3 000	0,10	542616	3 000	0,10
Essigsäure	0,73	10017	7 000	0,24	10017	7 000	0,24
NaCl	0,25	65708	16 000	0,55	65708	16 000	0,55
NaOH	0,16	32597	5 000	0,17	32597	5 000	0,17
Summe		47980354	2 925 000	100	29034206	2 893 000	100

Abb. 6.7 stellt die Auswirkung des HSA-Gehalts auf die Bruttomarge und die spezifischen Betriebskosten (beim Gerste-Prozess ohne Recycling) dar. Mit zunehmendem HSA-Gehalt wird der Kosteneffekt deutlich geringer. Insgesamt scheint es jedoch schwierig zu sein mit der rekombinanten Produktion in Gerste zu einem kostengünstigen Prozess zu gelangen.

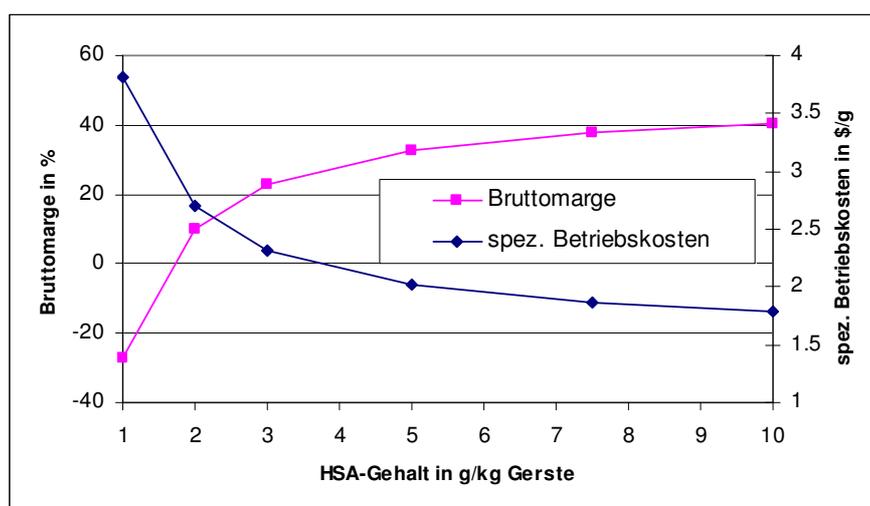


Abb. 6.7. Auswirkung des HSA-Gehalts auf die Bruttomarge und die spezifischen Betriebskosten (Gerste-Prozess ohne Recycling).

Der HSA-Gehalt in den Gerste-Prozessen entspricht der HSA-Konzentration in der Fermentationsbrühe für die Hefe-Prozesse. Abb. 6.8 stellt die Auswirkung der HSA-Konzentration auf die spezifischen Betriebskosten und die Bruttomarge des EBA-Prozesses mit einem Bioreaktor dar. Die Mindestkonzentration beträgt ca. 6 g/L, um spezifische Betriebskosten unter dem Produktverkaufspreis (3 \$/g) zu erreichen. Bei einer Produktkonzentration von 10 g/L (Basismodell) betragen die spezifischen Betriebskosten ca. 2 \$/g. Bei einer Produktkonzentration von 15 g/L sinken die spezifischen Betriebskosten auf 1,5 \$/g und die Bruttomarge nimmt auf 50 % zu.

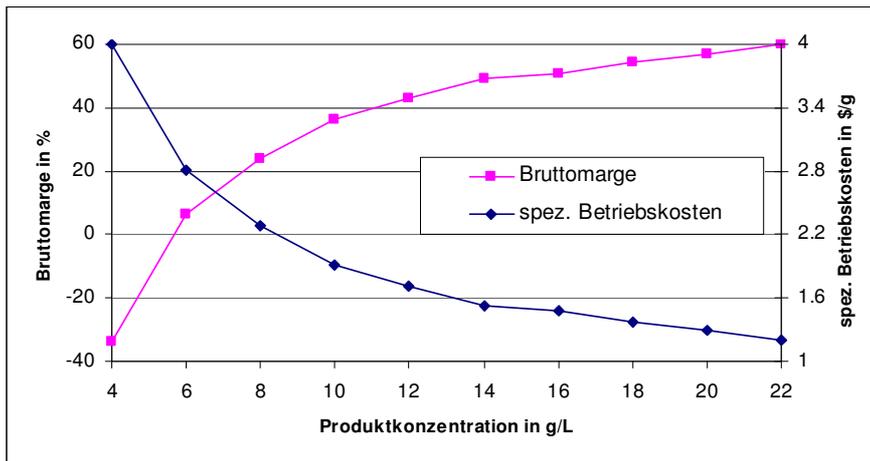


Abb. 6.8. Auswirkung der erreichten Produktkonzentration auf die Bruttomarge und die spezifischen Betriebskosten des EBA-Prozesses (mit einem Bioreaktor).

6.4.4. Ökologische Evaluierung

6.4.4.1 ABC-Klassifizierung

Tab. 6.7 stellt die ABC-Klassifizierung der in den Gerste- und Pichia-Prozessen beteiligten Stoffe dar. Spurenelemente werden in den Pichia-Prozessmodellen nicht berücksichtigt.

Tab. 6.7. ABC-Klassifizierung der Input- und Output-Stoffe.

Stoff		LVb	Vfg	KSy	ThR	ATox	CTox	BR	ETox	GWP	ODP	AP	POCP	Odr	Eutr
		I	I	I	I/O	I/O	I/O	I/O	O	O	O	O	O	O	O
HAc	PG	C	C	B	B	A	C	C	C	C	C	C	C	A	B
Gerste	G	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	B
Glycerin	P	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	B
Methanol	P	C	C	C	A	B	B	C	C	C	C	C	C	C	B
Ammoniak	P	C	C	B	A	A	B	C	A	C	C	A	C	C	A
Sauerstoff	P	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
CO ₂	P	C	C	C	C	C	C	C	C	B	C	C	C	C	B
Isopropanol	P	C	C	B	A	C	C	C	C	C	C	C	C	A	B
NaAc	G	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	B
NaOH	PG	C	C	C	C	A	B	C	C	C	C	C	C	C	C
NaCl	PG	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
KH ₂ PO ₄	PG	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	A
Biomasse	P	B	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	A
Wasser	PG	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C

I = Input, O = Output, P = Pichia-Prozesse, G = Gerste-Prozesse, PG = Pichia- und Gerste-Prozesse, LVb = Landverbrauch, Vfg = Verfügbarkeit, KSy = Komplexität der Synthese, ThR = thermische Risiken, ATox = akute Toxizität, CTox = chronische Toxizität, und BR = biologisches Risiko, ETox = Ökotoxizität, GWP = Potential für globale Erwärmung, ODP = Ozonabbaupotential, AP = Versauerungspotential, POCP = Ozonbildungspotential, Odr = Geruch, Eutr = Eutrophierung

Als erste qualitative Evaluierung dient die Auflistung der Stoffe mit A-Klasse, d.h. mit größten Wirkungspotentialen. Ammoniak hat in 5 Wirkungskategorien die Einstufung A-Klasse. Ammoniak gilt aber bei der Kultivierung als unverzichtbar. Wichtig ist aber, dass möglichst kein Ammoniak-Rest in der Fermentationsbrühe noch vorhanden ist. Isopropanol und Essigsäure haben jeweils in zwei Wirkungskategorien die Einstufung A-Klasse.

Die meist betroffenen Wirkungskategorien sind thermische Risiken und akute Toxizität. In der Kategorie thermische Risiken haben drei Stoffe (Methanol, Ammoniak und Isopropanol), die nur in den Pichia-Prozessen beteiligt sind, die Einstufung A-Klasse. In der Kategorie akute Toxizität haben drei Stoffe (Essigsäure, Ammoniak und Natronlauge) die Zuordnung A-Klasse.

6.4.4.2 Massenindices und Umweltkennzahlen

Abb. 6.9 stellt den Vergleich der Massenindices der Inputstoffe [kg/kg HSA] dar. Wasser hat bei allen Prozessen den größten Anteil. Aufgrund der Verdünnung (1:1) zur Reduzierung der Salzkonzentration hat der EBA-Prozess einen höheren Massenindex im Vergleich zum PBA-Prozess.

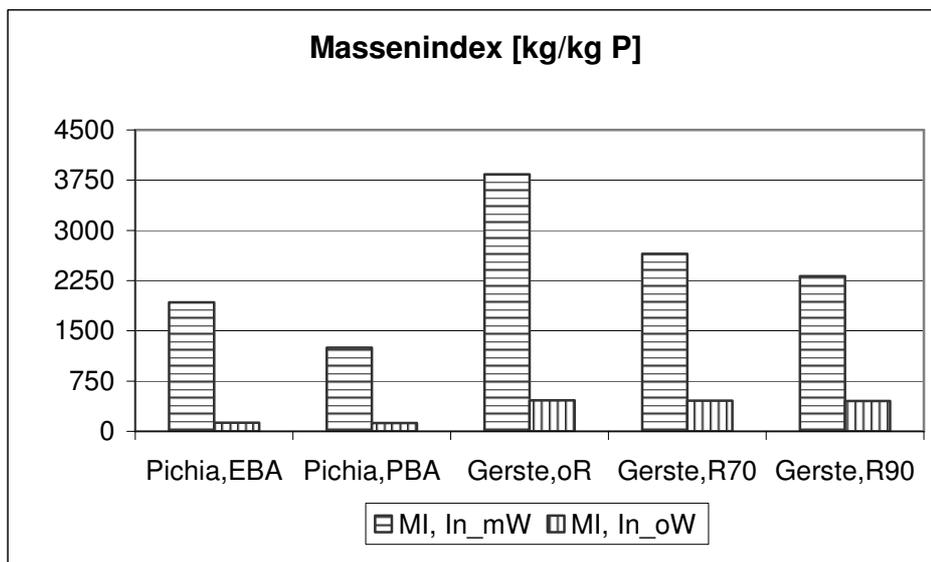


Abb. 6.9. Vergleich der Massenindices [kg/kg P] der Inputseite mit (MI,In_mW) und ohne Wasser (MI,In_oW) der Pichia-Prozesse (Pichia,EBA bzw. Pichia,PBA) und den Gerste-Prozessen, jeweils ohne (Gerste,oR) und mit Wasserrecycling bei Recyclinggraden von 70 und 90 % (Gerste,R70 bzw. Gerste,R90).

Ohne Recycling beträgt der Wasserverbrauch des Gerste-Prozesses etwa 3400 kg/kg HSA. Die Recyclinggrade (70 und 90 %) beziehen sich nur auf das Extraktionswasser

(vgl. Abb. 6.6), da die anderen Prozesswässer aufgrund der unterschiedlichen Inhalte in den Prozessmodellen nicht rezykliert werden.

Während die Massenindices der Gerste-Prozesse ohne Wasser (ca. 455 kg/kg HSA) deutlich höher als die der Pichia-Prozesse (ca. 125 kg/kg HSA) sind (Abb. 6.9), hat der Pichia-Prozess mit der EBA-Methode eine etwas größere Umweltkennzahl (ca. 910) als die der Gerste-Prozesse (ca. 750) (Abb. 6.10). Dies ist auf die unterschiedlichen Werte der Umweltfaktoren bzw. den Gefährdungspotentialen der beteiligten Stoffe der Pichia- bzw. Gerste-Prozesse zurückzuführen. Drei Stoffe (Methanol, Ammoniak und Isopropanol), die nur in den Pichia-Prozessmodellen beteiligt sind, haben mindestens einmal die Einstufung A-Klasse (vgl. Kap. 6.4.4.1).

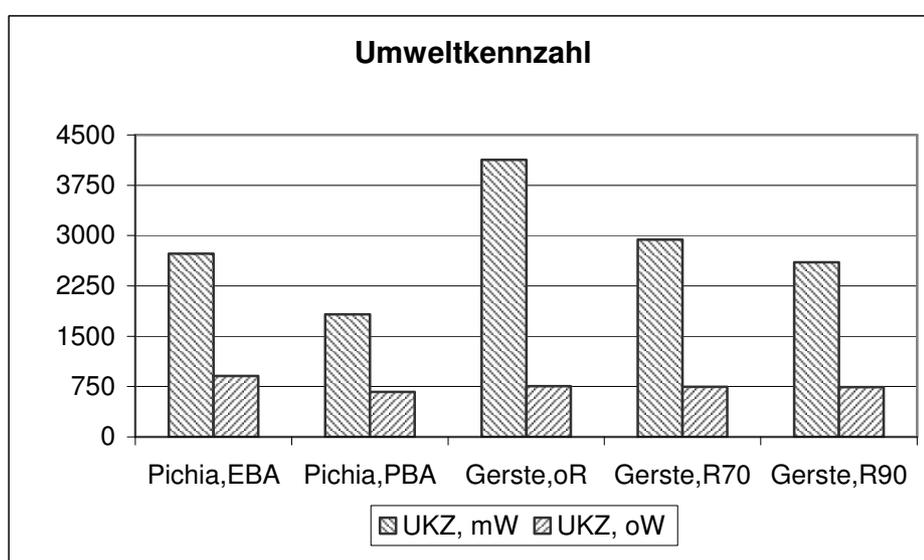


Abb. 6.10. Vergleich der Umweltbewertungskennzahlen mit (UKZ, mW) und ohne Wasser (UKZ, oW) der Pichia- und Gerste-Prozesse (Beschreibung der Abkürzungen zu den Prozessen siehe Abb. 6.9).

Ohne Berücksichtigung von Wasser stehen die Gerste-Prozesse im Vergleich zu den Pichia-Prozessen mit der EBA-Methode hinsichtlich der ökologischen Aspekte etwas besser da. Ein anderer Vorteil des Gerste-Prozesses, der hier nicht betrachtet wurde, könnte die CO₂-Reduzierung durch den Gerste-Anbau sein. Im Fall des Pichia-Prozesses wurde dagegen die CO₂-Emission bei der Ermittlung der Umweltkennzahl der Outputstoffe schon berücksichtigt. Insbesondere bei den Gerste-Prozessen besteht allerdings ein Optimierungsbedarf wegen des hohen Wasserverbrauchs. Ökonomisch gesehen ist ein Wasserrecycling bei den Gerste-Prozessen jedoch ungünstig (vgl. Kap. 6.4.3). Lösungsalternativen könnten beispielsweise eine rHSA-Anreicherung über Trockenfraktionierungen (Maltagen, 2005) oder eine Erhöhung des rHSA-Gehalts in Gerste mit Hilfe von gentechnischen Methoden sein.

6.4.4.3 Einzellstoffbetrachtung

Aus der Gesamtbetrachtung der Massenindices und Umweltkennzahlen erhält man die Hinweise, welche Prozesse bzw. welche Prozessalternative im Allgemeinen besser oder schlechter sind. Die Ursachen der Umweltauswirkungen sind in den beteiligten Stoffen zu finden. Abb. 6.11 stellt die Einzellstoffbetrachtung (ohne Wasser) der Pichia- und Gerste-Prozesse dar. Zwecks der besseren Übersicht werden einige Stoffe zusammengefasst.

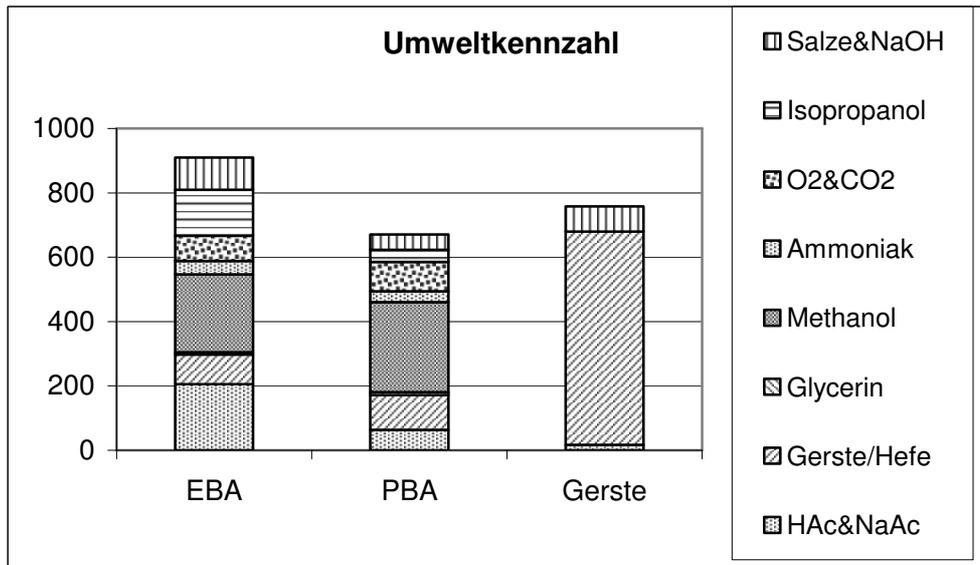


Abb. 6.11. Einzellstoffbetrachtung der Pichia- und Gerste-Prozesse (ohne Wasser).

Bei den Pichia-Prozessen hat Methanol den größten Anteil am Wirkungspotential. Bei den Gerste-Prozessen liegt der Anteil von Gerste bei ca. 87 % des Gesamtwirkungspotentials (ohne Wasser). Dies weist darauf hin, dass man sich über Entsorgung bzw. Verwendung der Gerste-Reste Gedanken machen sollte. Eine Alternative, wenn es gesetzlich erlaubt wäre, wäre die Verwendung der Gerste-Reste als Tierfutter. Kompostierung und Energieerzeugung z.B. durch Verbrennung sind mögliche Alternativen.

6.4.4.4 Betrachtung der Wirkungskategorien

Bei der Darstellung der einzelnen Wirkungskategorien in Form von Kuchendiagramm (Abb. 6.12 und Abb. 6.13) wird Wasser ausgenommen. Zur Ermittlung der Optimierungspotentiale von Prozessen ist die Betrachtung der einzelnen Wirkungskategorien wie in Abb. 6.12 und Abb. 6.13 nicht notwendig. Solche Darstellung kann aber zusätzliche Information über die möglicherweise am stärksten betroffenen Wirkungskategorien, z.B. ob das zu erwartende Gefährdungspotential mehr in Sicherheits-, Gesundheits-, oder Umweltaspekten liegt.

Der Pichia-Prozess mit der EBA-Methode und der Gerste-Prozess mit einem Recyclinggrad von 70 % wurden für die Darstellung ausgewählt. Auffällig in Abb. 6.12 ist der große Anteil des Gefährdungspotential in der Input-Kategorie thermische Risiken beim Pichia-Prozess (58 %), gefolgt von der Kategorie akute Toxizität mit 29 %. Hingegen hat der Gerste-Prozess eine etwa gleichmäßige Verteilung. Lediglich die Kategorie akute Toxizität hat einen Anteil von 26 %. Das hohe Gefährdungspotential in der Input-Kategorie thermische Risiken beim Pichia-Prozess ist auf drei Stoffen (Methanol, Ammoniak und Isopropanol) zurückzuführen (vgl. Kap. 6.4.4.1).

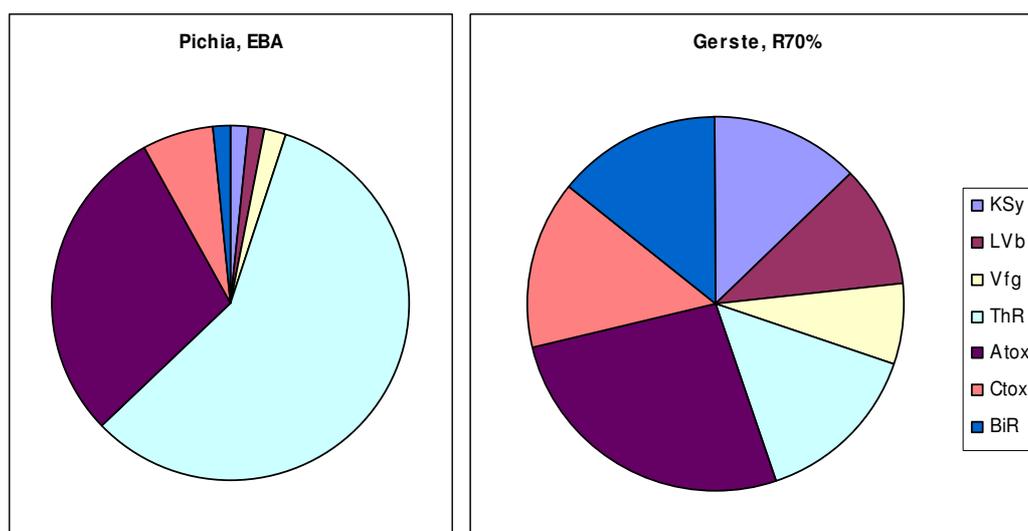


Abb. 6.12. Darstellung der Input-Wirkungskategorien der Pichia- und Gerste-Prozesse

In der Output-Seite des Gerste-Prozesses (Abb. 6.13) ist die Wirkungskategorie Eutrophierung fast für die Hälfte des Gefährdungspotentials (48 %) verantwortlich. Davon hat die Rest-Gerste einen Beitrag von etwa 67 % (vgl. Kap. 6.4.4.2). Beim Pichia-Prozess mit EBA haben drei Wirkungskategorien (thermische Risiken, akute Toxizität, und Eutrophierung) jeweils einen Anteil von über 17 %.

6.4.4.5 Relevanz von Gerste in der Kategorie Eutrophierung

In der Praxis gelangt Gerste weitgehend aber nicht ins Abwasser, sondern als organischer Abfall. Das bedeutet, dass Gerste in diesem Fall keine Relevanz zu der Kategorie Eutrophierung hat. Man kann über die ABC-Klassifizierung eine Korrektur durchführen. Aufgrund des C-Gehalts wird Gerste der Klasse B in der Kategorie Eutrophierung zugeordnet. Aus dem genannten Grund wird Gerste der Klasse C zugeordnet. Dadurch beträgt die Umweltkennzahl in der Eutrophierung nur 14 % der Umweltkennzahl der Outputseite, was vorher 48 % beträgt (Abb. 6.13). Insgesamt nimmt die Umweltkennzahl von 2575 auf 2363 bzw. um 8,3 % und ohne Wasser von 758 auf 545 bzw. sogar um 28 % ab.

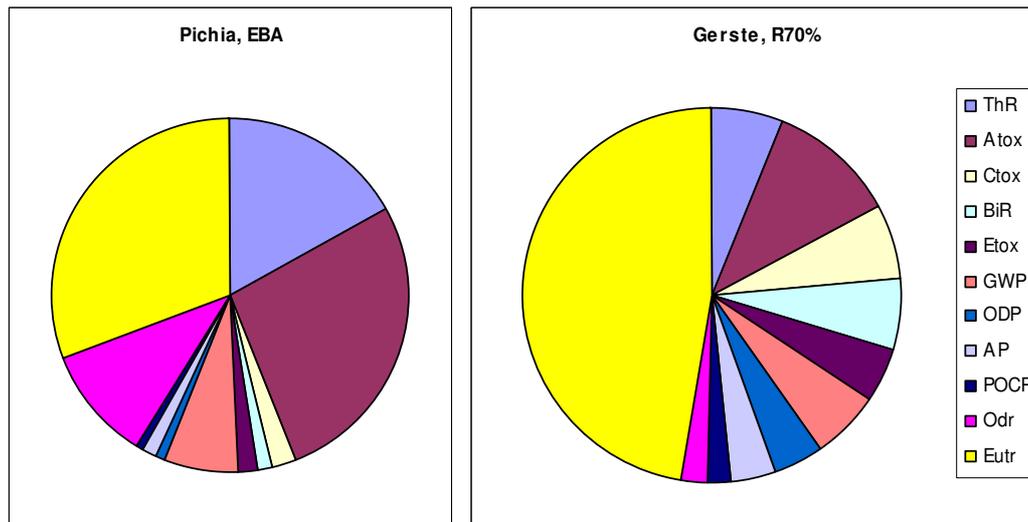


Abb. 6.13. Darstellung der Output-Wirkungskategorien der Pichia- und Gerste-Prozesse

6.5. Zusammenfassung und Ausblick

Prozessmodelle zur Produktion von rHSA mit zwei Expressionssystemen (*Pichia pastoris* und Gerste) wurden in SuperPro-Designer erstellt und sowohl ökonomisch als auch ökologisch evaluiert. Zwei Varianten der Pichia-Prozesse mit EBA- und PBA-Methode wurden auf Basis von Literatur- und anderen öffentlich zugänglichen Daten insbesondere über den sich in der Realisierungsphase befindenden Produktionsprozess von Mitsubishi Pharmaceuticals (Osaka, Japan) modelliert und evaluiert.

Der Produktionsprozess mit Gerste wurde während der Entwicklung modelliert und begleitend evaluiert. Das Produktionssystem von rHSA mit Gerste befand sich zu Beginn dieser Arbeit noch in sehr frühen Entwicklungsphasen mit den ersten Anbau- und Aufarbeitungsversuchen in sehr kleinem Labormaßstab. Darauf aufbauend und in Anlehnung an einen ähnlichen Prozess zur Produktion von Proteinen aus Maiskörnern wurde der Prozessentwurf der Produktion von rHSA aus Gerste entworfen und modelliert. Aus den Ergebnissen der Prozessmodellierung und –simulation wurden die Prozessmodelle evaluiert. Daraus erhielt man Hinweise über mögliche Maßnahmen zur Prozessverbesserung bzw. Anregungen auf der Suche nach besseren Prozessvarianten.

Die Prozessmodelle wurden hinsichtlich der ökonomischen und ökologischen Aspekte gegenübergestellt. Bei den Pichia-Prozessen liegen Vorteile der EBA-Methode in einer Verkürzung der Aufarbeitungszeit und der Verbesserung der Gesamtausbeute der Aufarbeitung. In der Investition liegen die beiden Prozessvarianten (EBA- und PBA-Methoden) ungefähr gleich. Durch EBA erspart man sich zwar einige Prozessschritte wie z.B. die Zellabtrennung und Vorkonzentrierung, jedoch ist die EBA-Anlage im Vergleich zur

PBA-Anlage technisch aufwendiger und deshalb auch kostenintensiver. Durch die notwendige Verdünnung benötigt der Prozess entsprechend mehr Wasser und Lösungsinhaltstoffe und verursacht somit ein höheres Wirkungspotential, sowie ein größeres Volumen eines Zwischenbehälters.

Durch ein einfaches *Scheduling* erfolgt eine Optimierung der Prozessmodelle, in diesem Fall durch ein oder zwei zusätzlichen Reaktoren in einem zeitversetzten bzw. *staggered* Modus.

Eine interessante Möglichkeit zur Erhöhung der Produktivität ist der Einsatz des repeated Fed-Batch-Verfahrens (Ohya et al., 2005; Bushell et al., 2003). Durch das Verfahren erreichten Ohya et al. (2005) eine Erhöhung der Jahresproduktion von rHSA um 47 %.

Ohne Berücksichtigung des Anbauvorgangs inkl. der Anbaufläche benötigen die Gerste-Prozesse weniger Investition als die Pichia-Prozesse. Mit spezifischen Betriebskosten von über 2 \$(/g HSA) liegen die Gerste-Prozesse noch im Nachteil im Vergleich zu den Pichia-Prozess mit ca. 2 bzw. 1,5 \$(/g HSA). Mit einem geschätzten Preis für Gerste von 0,5 \$/kg hat Gerste als Rohmaterial ein Anteil von knapp 10 % der Betriebskosten. Mit jeweils über 40 % haben die anlagenabhängigen Kosten (Abschreibung, Instandhaltung, etc.) und das Verbrauchsmaterial den größten Beitrag an den Betriebskosten. Ein Wasserrecycling verursacht in diesem Fall mehr Kosten als Einsparungen.

Die entwickelte ökologische Bewertungsmethode hat die Erkennung der Optimierungspotentiale von Prozessmodellen über die erste qualitative Evaluierung aus Basis der ABC-Klassifizierung, den Gesamtvergleich von Massenindices und Umweltkennzahlen, Einzellstoffbetrachtung und Betrachtung der einzelnen Wirkungskategorien ermöglicht.

Die größten Optimierungspotentiale der Gerste-Prozessmodelle liegen bei einer Reduzierung des Wasserverbrauchs und bei den Produktionskosten für Gerste bzw. ihrem Gehalt an rHSA selbst. Da ein Wasserrecycling offensichtlich mehr Kosten verursachte, sollen andere Lösungsstrategien entwickelt werden, z.B. rHSA-Anreicherung über Trockenfraktionierungen (Maltagen, 2005) oder Erhöhung des HSA-Gehalts in Gerste mit Hilfe von gentechnischen Methoden. Die Erhöhung des HSA-Gehalts mit Hilfe von gentechnischen Methoden könnte zur Lösung des relativ hohen Wirkungspotentials von Gerste beitragen. Alternativen zur endgültigen Lösung des Problems mit der Rest-Gerste sollten überprüft werden. Eine günstige Alternative wäre die Verwendung der Gerste-Reste als Tierfutter, wofür aber gesetzliche Hindernisse sowie Akzeptanzprobleme bestehen können. Kompostierung und Anwendung zur Energieerzeugung (z.B. durch Verbrennung) sind mögliche Alternativen.

7. FALLBEISPIEL BIOKATALYSE IM ZWEIPHASIGEN SYSTEM WASSER/IONISCHE FLÜSSIGKEIT

7.1. Einleitung

Ionische Flüssigkeiten sind bei niedrigen Temperaturen (<100°C) schmelzende Salze, die auf Grund ihrer Eigenschaften flüchtige organische Lösungsmittel ersetzen können. Sie besitzen im Gegensatz zu herkömmlichen organischen Lösungsmitteln praktisch keinen Dampfdruck und somit entsprechende Vorteile hinsichtlich ökologischer und sicherheitstechnischer Aspekte.

Bei diesem Prozessmodell geht es um ein in sehr früher Entwicklungsphase sich befindendes Verfahren zur Biosynthese von chiralen Alkoholen über die asymmetrische Reduktion von prochiralen Ketonen mit Hilfe von *Lactobacillus kefir* als Ganzzellbiokatalysator im zweiphasigen System (ionische Flüssigkeit/Phosphatpuffer). Als konkretes Beispiel wird hier die Herstellung von 1-(R)-(4-Cl-Phenyl)-ethanol aus 4-Cl-Acetophenon (4-Cl-AP) untersucht. Die verwendete ionische Flüssigkeit ist 1-n-Butyl-3-methylimidazolium-bis(trifluoromethansulfon)imid ([BMIM][Tf2N]) (s. Abb. 7.1).

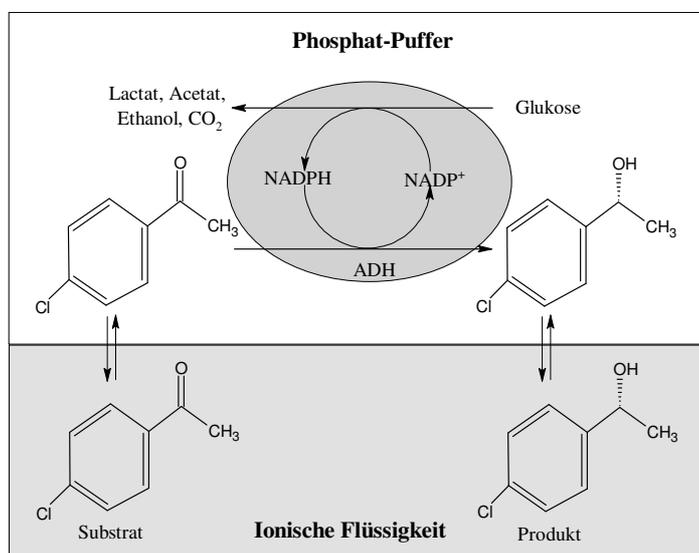


Abb. 7.1. Biosynthese von (R)-4-Cl-Phenyl-ethanol im zweiphasigen System ionische Flüssigkeit/Phosphatpuffer

Die ionische Flüssigkeit dient aufgrund der guten Löslichkeit von Substrat und Produkt als Substratreservoir und in situ-Extraktionsmittel für das Produkt. Dadurch können die Probleme wegen der geringen Löslichkeit der prochiralen Ketone in Wasser und der Edukt- oder Produkt-Inhibierung der Biokatalysatoren umgangen werden. Die eingesetzte ionische

Flüssigkeit darf dabei keine negativen Auswirkungen auf den Biokatalysator, wie Deaktivierung, Zerstörung der Zellmembran, etc., haben. Durch den Einsatz des Ganzzellbiokatalysators soll außerdem die Regenerierung des sehr teuren Cofaktors sichergestellt werden.

Das Prozessmodell wird mit Hilfe von SuperPro-Designer (Fa. Intelligent, USA) erstellt. Basis dieser Prozessmodellierung sind insbesondere die Arbeiten von Pfründer (2005), sowie Amidjojo (2004), Eckstein (2004), Haberland (2003), und Villela-Filho (2003). Aus dem Prozessmodell werden ökonomische Kenngrößen generiert, sowie Input und Outputbilanzen, die als Basis für die ökologische Bewertung verwendet werden. Die ökologische und ökonomische Bewertung kann zur Erkennung von Schwachstellen, zur Optimierung des Prozessmodells oder zum Prozessvergleich verwendet werden.

7.2. Prozessmodellierung

Aufgrund der vorhandenen Daten und publizierten Informationen wurden mehrere Prozessvarianten modelliert, wovon zwei hier genauer dargestellt werden. Der Teilprozess Biotransformation für die beiden Prozessvarianten basiert hauptsächlich auf den Arbeiten von Pfründer (Pfründer, 2005; Pfründer et al., 2004), der sich dabei auf die Bioreaktion konzentrierte. Ausgehend von einem Basismodell wird ein Alternativmodell erstellt, das sich in der Strategie der Produktaufarbeitung unterscheidet.

7.2.1. Basismodell

Der Basismodell sieht im Einzelnen wie folgt aus: Der fermentativ hergestellte Ganzzellbiokatalysator wird bei einer Temperatur von -20 °C in einem Kühlbehälter vorrätig gelagert (Haberland, 2003; Amidjojo 2004; Pfründer, 2005; Pfründer et al., 2005), wobei die Fermentation zur Herstellung des Biokatalysators hier im Prozessmodell nicht mit abgebildet wird. Die biokatalytische Reaktion mit dem Ganzzellbiokatalysator *Lactobacillus kefir* erfolgt im zweiphasigen System. Die ionische Flüssigkeit fungiert als Substratreservoir und gleichzeitig als In-Situ-Extraktionsmittel für das gebildete Produkt. Die Konzentration des eingesetzten Biokatalysators im Bioreaktor beträgt nach Angabe von Pfründer et al. (2004) etwa 50 g/L bzw. 25 g/L für eine Reaktionsdauer von 3 h bzw. 6 h. Die zweite Variante (25 g/L; 6 h) wird hier als Basis verwendet.

Die Substratkonzentration beträgt 600 mM 4-Cl-AP in der verwendeten ionischen Flüssigkeit ([BMIM][Tf₂N]). Bei der Biotransformation wird eine Ausbeute von 88,3 % erreicht. In

diesem Modell wird ein Reaktionsvolumen von 200 L angenommen, wobei der Phasenanteil der ionischen Flüssigkeit im zweiphasigen System 20 % beträgt (Pfründer, 2005).

Zur Regeneration des Cofaktors (NADPH) wird Glukose als Cosubstrat verwendet. Die Glukosekonzentration beträgt 200 mM bezogen auf die wässrige Phase (Pfründer, 2005). Daraus entstehen Lactat, Acetat, Ethanol und Kohlendioxid. Die in diesem Modell verwendeten Bildungsraten betragen 0.38, 0.26, 0.04, bzw. 0.32 g/(g Glukose) für Lactat, Acetat, Ethanol bzw. Kohlendioxid (Haberland, 2003).

In Anlehnung an das industrielle BAZIL-Verfahren von BASF (Maase, 2004) und die Arbeit von Haberland (2003) wird eine Strategie zur Produktgewinnung und -Aufreinigung erstellt, die aus Mikrofiltration, Dekanter, Extraktionskolonne, und Destillationskolonne besteht. Durch die Mikrofiltration wird der Biokatalysator aus dem zweiphasigen Reaktionssystem abgetrennt und dann evtl. wieder in den Reaktor zurückgeführt. Das Permeat besteht aus der wässrigen Pufferlösung und der ionischen Flüssigkeit inkl. Produkt. Diese werden dann durch Dekantieren getrennt. Die schwere Phase, d.h. die ionische Flüssigkeit inkl. Produkt, wird dann über einen Pufferbehälter in die Extraktionskolonne geleitet.

Im Gegenstrom wird das Produkt mit Hexan (angenommen 1:1) extrahiert. Hexan wurde zwecks Analytik zum Extrahieren bereits verwendet (Pfründer, 2005). Schließlich wird das Produkt aus der Extraktlösung mittels Destillation gewonnen. Problematisch erscheint hier die Produktgewinnung im Sumpf der Destillationskolonne.

Das Basismodell wird in zwei Ausführungen dargestellt, nämlich mit Recycling und ohne Recycling. Beim Recyclingmodell werden die Zellen, die ionische Flüssigkeit, und das Extraktionsmittel Hexan wieder zurückgeführt (s. Abb. 7.2).

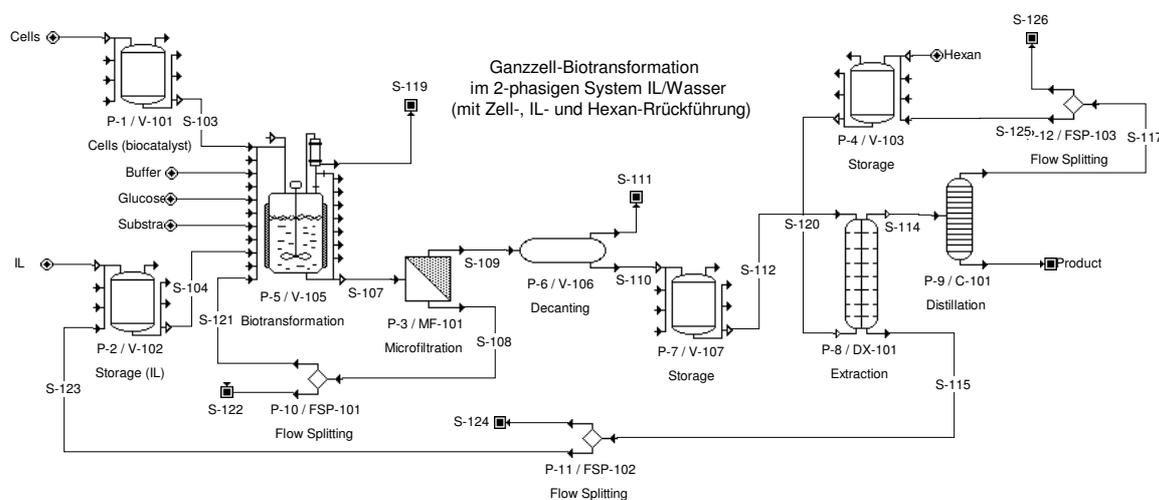


Abb. 7.2. Basismodell mit Recycling des Ganzzellbiokatalysators, der ionischen Flüssigkeit und des Extraktionsmittels (Hexan).

Pfründer (2005) stellte fest, dass sich der Ganzzellbiokatalysator insgesamt dreimal wieder verwenden lässt. Hier wird deshalb eine Rückführung des Zellbiokatalysators von 66.67 % angenommen. Um die Aktivitätsabnahme durch die Wiederverwendung von „alten“ Zellen auszugleichen wird eine Zellkonzentration von 30 g/L anstelle von 25 g/L verwendet.

Aufgrund des sehr hohen Preises müsste der Recyclinggrad der verwendeten ionischen Flüssigkeit sehr hoch angestrebt werden. Bei diesem Recyclingmodell wird ein Verlust von 2 % angenommen (P-11), wobei ein zusätzlicher Verlust der ionischen Flüssigkeit von 2 % in der wässrigen Lösung im Dekanter (P-6) schon getrennt berücksichtigt worden ist. Der Verlust an der verwendeten ionischen Flüssigkeit ist an die spezifische Löslichkeit in der wässrigen Phase gekoppelt, die bis zu 3 % w/w betragen kann (Anthony et al., 2001; Bräutigam, 2005).

Beim Recycling des Lösungsmittels Hexan wird ein Verlust von 2 % angenommen. Die entsprechende Menge wird frisch zugeführt. Die Anwendung von Hexan bedeutet, dass man es mit einem brennbaren Extraktionsmittel zu tun hat.

7.2.2. Alternativmodell

Als Alternative kann eine Zentrifuge die Funktionen von Mikrofiltration und Dekanter gleichzeitig ersetzen. Ein weiterer Verbesserungsansatz ist eine direkte Destillation (ohne Extraktion) der ionischen Flüssigkeits-Phase zur Rückgewinnung des Produkts (Abb. 7.3).

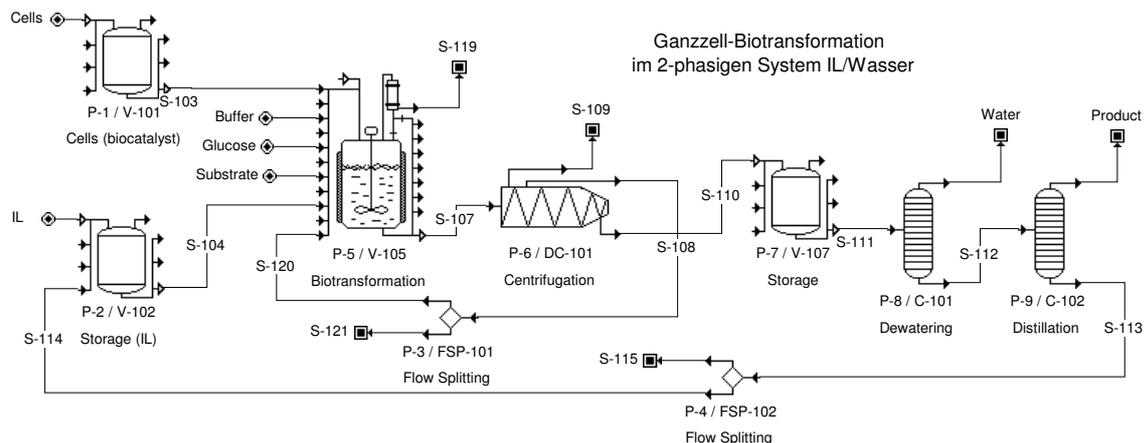


Abb. 7.3. Alternativprozess mit Zentrifuge (anstelle von Mikrofiltration und einfachem Dekanter) und mit direkter Destillation (ohne Extraktion).

Bei der Verwendung einer Zentrifuge wird der Outputstrom aus dem Bioreaktor (S-107) in drei Ströme getrennt: wässrige Lösung (S-109), Zellen (S-108) und ionische Flüssigkeit mit dem Produkt (S-110). Die Zellen können dann in den Reaktor zurückgeführt werden, soweit sie noch genügend enzymatische Aktivität besitzen.

Durch direkte Destillation ohne vorherige Extraktion erspart man sich den Einsatz eines organischen Lösungsmittels als Extraktionsmittel, z.B. Hexan, welches ökologisch und aus Sicherheitsgründen wegen der Brennbarkeit nicht erwünscht ist.

Da die mit Produkt beladene ionische Flüssigkeit noch Wasser enthält (etwa 1.4 % w/w), wird eine Vorkolonnen (P-8) zur Entwässerung benötigt. Das Produkt wird schließlich in der leichtflüchtigen Phase der Destillationskolonne (P-9) erhalten, und die schwere Phase, die ionische Flüssigkeit, lässt sich wieder zurückführen. Hier hat das Alternativmodell den Vorteil, dass das Produkt im Kopf und nicht im Sumpf der Destillationskolonne erhalten wird. Eine weitere Alternative zur Rückgewinnung des Produkts aus der ionischen Flüssigkeit ohne Einsatz eines organischen Lösungsmittels bietet die Extraktion mit superkritischen Fluiden (z.B. scCO_2), was hier aber nicht weiter diskutiert wird.

7.2.3. Scale-up

Zunächst ging man immer von einem Reaktionsvolumen von 200 L aus. Um die Auswirkung der Reaktorauslegung auf die ökonomischen Größen zu analysieren, wurden Simulationen mit höheren Reaktionsvolumina (bis 2000 L) durchgeführt.

7.3. Ergebnisse und Diskussion

7.3.1. Stoffbilanz

Die Stoffbilanz (Tab. 7.1) bezieht sich auf die oben beschriebenen Prozessmodelle mit einem Reaktionsvolumen von ca. 200 L. Zwecks einer besseren Darstellung werden Glukose und alle Verbindungen aus dem Glukoseabbau als organische Verbindungen zusammengefasst.

Tab. 7.1. Stoffbilanz von Basis-, Recycling-, und Alternativmodell in kg/kg Produkt.

Bezeichnung	Basismodell		Recyclingmodell		Alternativmodell	
	Input	Output	Input	Output	Input	Output
	[kg/kg P]	[kg/kg P]	[kg/kg P]	[kg/kg P]	[kg/kg P]	[kg/kg P]
Produkt	0.00	1.00	0.00	1.00	0.00	1.00
4-Cl-AP	1.27	0.27	1.12	0.12	1.09	0.09
Biokatalysator	1.71	1.63	0.50	0.43	0.48	0.42
Org. Verbindungen	1.97	2.06	1.74	1.81	1.69	1.75
[BMIM][Tf2N]	19.73	19.73	0.78	0.78	0.76	0.76
Hexan	17.97	17.97	0.32	0.32	0.00	0.00
Kaliumphosphate	1.69	1.69	1.49	1.49	1.45	1.45
Wasser	63.67	63.67	53.72	53.72	52.15	52.15
Summe	108.02	108.02	59.67	59.67	57.62	57.62
Ohne Wasser	44.35	44.35	5.94	5.94	5.46	5.46

In allen Prozessvarianten wird eine große Menge an Wasser eingesetzt, eine typische Situation für biokatalytische Reaktionen. Ohne Recycling hat das Basismodell einen sehr großen Verbrauch an [BMIM][Tf₂N] und Hexan sowie Biokatalysator. Während das Recyclingmodell einen Hexanverbrauch von 0.32 kg/kg P hat, benötigt das Alternativmodell kein Hexan für die Aufarbeitung. Durch das Recycling sinkt der Verbrauch an Biokatalysator von ca. 1.7 kg/kg P auf 0.5 kg/kg P.

Aufgrund des hohen Verbrauchs an [BMIM][Tf₂N] und Hexan sowie Biokatalysator müssen diese Stoffe rezykliert werden. Da der Verlust an ionischer Flüssigkeit aufgrund ihrer Löslichkeit in Wasser vom Wasserverbrauch abhängig ist, soll auch der Wasserverbrauch möglichst reduziert werden. Hier erkennt man bereits die wichtige Rolle der Auswahl der Aufarbeitungsstrategie und Recycling von einigen Stoffen.

7.3.2. Ökonomische Bewertung

In dieser Arbeit standen die ökonomischen Größen Materialkosten und Jahresbetriebskosten im Fokus. Daraus kann man schon die wichtigsten Hinweise für die Verbesserung des sich in einer sehr frühen Entwicklungsphase befindenden Prozesses gewinnen. Deshalb wurde zunächst auf andere ökonomische Größen, wie z.B. die Bruttomarge, die Kapitalrendite (Engl.: *Return on Investment*), die Amortisationszeit, etc. verzichtet, die für eine umfassendere ökonomische Bewertung berücksichtigt werden sollten.

7.3.2.1 Abschätzung der Materialpreise

Der erste Schritt ist die Ermittlung bzw. die Abschätzung der (Roh-)Materialpreise. Der Preis für ionische Flüssigkeiten liegt zur Zeit bei etwa 1 500 - 2 000 Euro/kg. Man hofft, dass in Zukunft bei einer Massenproduktion ein Preis von 50 Euro/kg erreicht werden kann (Pfründer, 2005). Für die Modellierung wird hier ein Schätzpreis von 100 \$/kg verwendet. Der Preis für den Biokatalysator wird bei 30 \$/kg auf Basis der Materialkosten der Fermentation zur Herstellung des Biokatalysators abgeschätzt. Die Prozessdaten für die Modellierung der Fermentation wurden aus (Pfründer, 2005; Amidjojo et al., 2004; Pfründer et al., 2005) entnommen. Mit der Faustregel „ein Zehntel des Laborpreises“ soll der Preis von 4-Chloracetophenon im großen Maßstab bei etwa 10 \$/kg liegen, wobei 500 mL 4-Chloracetophenon als Laborchemikalie 50,8 Euro kostet (<http://www.sigmaaldrich.com>). Der Preis für das Lösungsmittel Hexan wird auf 0,8 \$/kg geschätzt. Nach Angabe im Internetforum für die chemische Industrie ChemSpy (<http://www.chemspy.com>) liegt der Preis für n-Heptan bei

855 Euro/t. Der Preis für die Pufferlösung wird aus den Preisen für die Kaliumsalze (ca. 2 %) und Wasser ermittelt. Der Wasserpreis liegt bei etwa 0,003 Euro/L und der geschätzte Preis für die Kaliumsalze beträgt 4 Euro/kg. Daraus ergibt sich ein Preis für die Pufferlösung von ca. 0,1 Euro/kg. Für Glukose wird ein üblicher Marktpreis von 0,3 €/kg verwendet.

7.3.2.2 Darstellung der Ergebnisse

Modellvergleich

Hinsichtlich der Material- und Betriebskosten werden das Basis-, Recycling-, und Alternativmodell miteinander verglichen. Das Reaktionsvolumen der drei Modelle liegt bei 200 L. Für das Alternativmodell wird zusätzlich noch ein Reaktionsvolumen von 2000 L betrachtet (Alternative B). In Abb. 7.4 werden die spezifischen Materialkosten und die spezifischen Jahresbetriebskosten der Prozessmodelle dargestellt.

Die spezifischen Material- bzw. Betriebskosten des Basismodells liegen bei etwa 2100 bzw. 2900 €/kg Produkt. Durch das Recycling von Stoffen lassen sich die spezifischen Materialkosten sowohl für das Recyclingmodell als auch für die beiden Alternativmodelle sehr stark auf etwa 100 €/kg Produkt reduzieren.

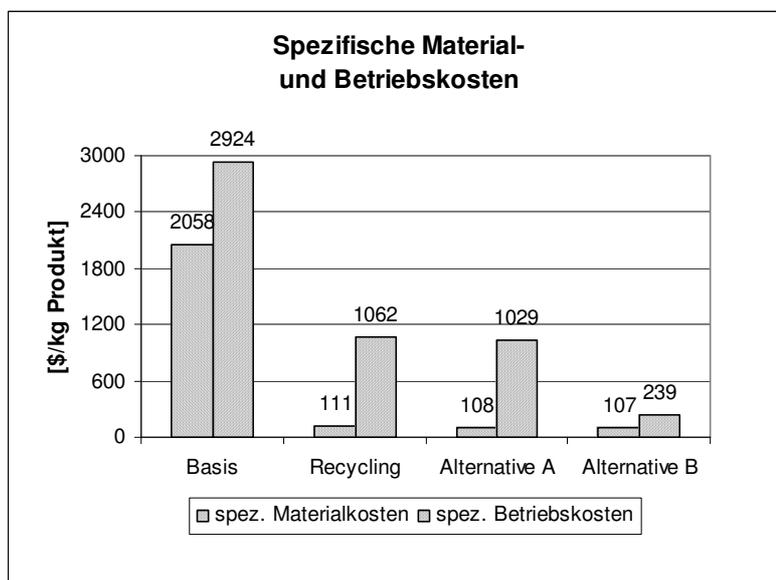


Abb. 7.4. Spezifische Material- und Betriebskosten (A: 200 L; B: 2000 L)

Durch die Maßstabvergrößerung des Reaktionsvolumens von 200 L auf 2000 L nehmen die spezifischen Betriebskosten des Alternativmodells von 1030 auf 240 €/kg ab, wobei unter Annahme gleicher Ausbeute die spezifischen Materialkosten etwa konstant bleiben.

In Tab. 7.2 wird die Verteilung der Materialkosten dargestellt. Der Anteil der ionischen Flüssigkeit (Schätzpreis 100 €/kg) an den Gesamtkosten liegt beim Basismodell (ohne Recycling) bei ca. 96 %. Die anderen Materialien spielen hinsichtlich der Gesamt-

materialkosten eine sehr untergeordnete Rolle. Lediglich der Biokatalysator hat einen Anteil von etwa 2,5 %. Bei dem Recycling- und Alternativmodell liegt der Kostenanteil des Biokatalysators bzw. des Substrats bei etwa 13,5 % bzw. 10 %. Dabei hat die ionische Flüssigkeit einen Kostenanteil von etwa 70 %, wobei der Massenanteil nur etwa 1,3 % beträgt. Die prozentuellen Anteile sind im Alternativmodell A (200 L) und B (2000 L) etwa gleich.

Tab. 7.2. Spezifische Materialkosten und deren Verteilung. Alternative A: 200 L, Alternative B: 2000 L

Materialien	Basis		Recycling		Alternative A		Alternative B	
	[\$/kg P]	[%]	[\$/kg P]	[%]	[\$/kg P]	[%]	[\$/kg P]	[%]
4-Cl-AP	12,75	0,62	11,33	10,19	10,95	10,19	10,88	10,17
Biomasse	51,39	2,50	15,10	13,58	14,61	13,58	14,50	13,56
[BMIM][Tf2N]	1972,62	95,85	78,25	70,37	76,02	70,68	75,88	70,92
Pufferlösung	6,19	0,30	5,49	4,94	5,31	4,94	5,25	4,91
Glucose	0,75	0,04	0,69	0,62	0,66	0,62	0,49	0,46
Hexan	14,25	0,69	0,34	0,31	0,00	0,00	0,00	0,00
Summe	2058	100	111	100	107	100	107	100

In Tab. 7.3 wird die Verteilung der spezifischen Betriebskosten dargestellt. Die drei Hauptkomponenten der spezifischen Betriebskosten sind hier Materialkosten, Personalkosten und anlagenabhängige Kosten.

Tab. 7.3. Spezifische Betriebskosten und deren Verteilung. PA-Kosten: personalabhängige Kosten, AA-Kosten: anlagenabhängige Kosten, A: 200 L, B: 2000 L.

	Basis		Recycling		Alternative A		Alternative B	
	[\$/kg P]	[%]	[\$/kg P]	[%]	[\$/kg P]	[%]	[\$/kg P]	[%]
Materialkosten	2057,76	70,37	110,52	10,41	106,89	10,39	107,00	44,77
PA-Kosten	506,38	17,32	499,72	47,06	584,92	56,86	69,71	29,17
AA-Kosten	281,32	9,62	374,45	35,26	247,31	24,04	50,93	21,31
Sonstige	78,77	2,69	77,22	7,27	89,63	8,71	11,37	4,76
Summe	2924	100	1062	100	1029	100	239	100

Die Materialkosten des Basismodells machen etwa 70 % der Jahresbetriebskosten aus. Dagegen haben die Materialkosten sowohl beim Recycling- als auch beim Alternativmodell A nur einen Anteil von etwa 10 % (Tab. 7.3). Aufgrund der kleineren Anzahl der Grundoperationen ist der Anteil der anlagenabhängigen Kosten an den gesamten Betriebskosten beim Alternativmodell kleiner (24 %) im Vergleich zum Recyclingmodell (35 %).

Bei kleinen Reaktionsvolumina ist die Kostenoptimierung hinsichtlich der ionischen Flüssigkeit wenig vorrangig, weil die Materialkosten nicht den Hauptanteil der Betriebskosten ausmachen (Tab. 7.3 Alternative A). Bei einem Reaktionsvolumen von 2000 L (Alternative B) nimmt der Anteil der Materialkosten an den Betriebskosten von etwa 10 % auf 44 % zu, wobei die spezifischen Materialkosten (\$/kg Produkt) gleich bleiben (Annahme: gleiche Ausbeute).

Scale-up und Produktverkaufspreis

Mit der Zunahme des Reaktionsvolumens nehmen die spezifischen Betriebskosten stetig ab. Die Verdopplung des Reaktionsvolumens von 200 auf 400 L führt zu einer Abnahme der spezifischen Betriebskosten um 42 % von ca. 1030 auf 600 \$/kg Produkt. Bei einem Reaktionsvolumen von 2000 L betragen die spezifischen Betriebskosten 240 \$/kg Produkt.

In Abb. 7.5 werden die spezifischen Betriebskosten zusammen mit möglichen Produktverkaufspreisen dargestellt, wobei die spezifischen Betriebskosten vom Reaktionsvolumen abhängig sind. Dargestellt werden die spezifischen Betriebskosten sowohl des Alternativ- als auch des Recyclingmodells. Die spezifischen Betriebskosten des Recyclingmodells liegen etwas höher als die des Alternativmodells. Die beiden Kurven verlaufen aber sehr ähnlich.

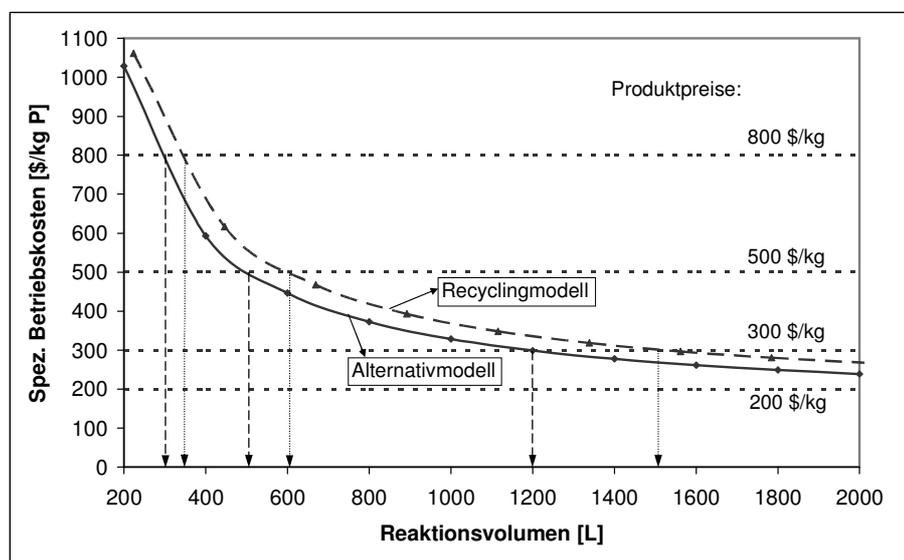


Abb. 7.5. Spezifischen Betriebskosten in Abhängigkeit vom Reaktionsvolumen

Der Produktverkaufspreis ist nicht bekannt. Deshalb werden 4 Preise im Bereich von 200 - 800 \$/kg angenommen. Aus den Schnittpunkten der Kurven der spezifischen Betriebskosten mit den Preislinien lassen sich die Mindestreaktionsvolumina ermitteln, bei denen der Bruttogewinn jeweils einen Wert von 0 hat.

Bei einem Produktverkaufspreis von 800, 500, bzw. 300 \$/kg wird ein Mindestreaktionsvolumen von ca. 300, 500, bzw. 1200 L ermittelt. Mit einem Produktpreis von 200 \$/kg muss man selbst bei einem Reaktionsvolumen von 2000 L mit Verlusten rechnen (Abb. 7.5).

Preise für die ionische Flüssigkeit

In Abb. 7.6 werden die spezifischen Betriebskosten in Abhängigkeit vom Preis der ionischen Flüssigkeit und vom Reaktionsvolumen dargestellt. Für diese Betrachtung wird ein Preisbereich von 10 - 1000 \$/kg verwendet. Etwa 1500 - 2000 \$/kg ist im Moment der realistische Preisbereich, wobei für die Zukunft ein Preis von 50 \$/kg als erreichbar angesehen wird (Pfründer, 2005).

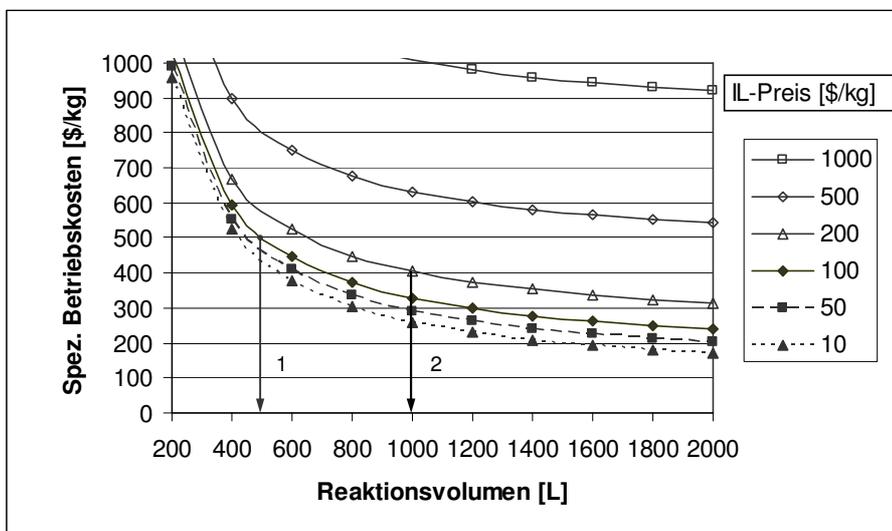


Abb. 7.6. Spezifische Betriebskosten in Abhängigkeit vom Preis für die ionische Flüssigkeit und vom Reaktionsvolumen.

Wenn der Preis für die verwendete ionische Flüssigkeit höher als 1000 \$/kg liegt, kann der Alternativprozess (mit einem Verlust an der verwendeten ionischen Flüssigkeit von etwa 3.5 %) nur für ein sehr teures Produkt, z.B. bei einem Verkaufspreis von höher als 1000 \$/kg, gewinnbringend verwendet werden. Bei einem Preis für die ionische Flüssigkeit höher als 500 \$/kg muss der Produktverkaufspreis höher als 500 \$/kg sein.

Bei einem Preis für die ionische Flüssigkeit von 100 \$/kg und einem Produktverkaufspreis von 500 \$/kg beträgt das Mindestreaktionsvolumen 500 L (Abb. 7.6, Pfeil 1). Pfeil 2 zeigt ein Mindestreaktionsvolumen von 1000 L, das z.B. für einen Preis für die ionische Flüssigkeit von 200 \$/kg und einen Produktverkaufspreis von 400 \$/kg oder für einen Preis für die ionische Flüssigkeit von 50 \$/kg und einen Produktverkaufspreis von 300 \$/kg ermittelt wurde.

7.3.2.3 Diskussion

Die Gesamtmaterialekosten und somit die Jahresbetriebskosten lassen sich durch Reduzierung des Materialverlustes an ionischer Flüssigkeit, z.B. durch Recycling, am besten reduzieren. Das Recycling der verwendeten ionischen Flüssigkeit allein macht den Prozess jedoch noch nicht optimal. Wesentlich ist außerdem die Minimierung des Wassereinsatzes. Dies vermindert automatisch die Verluste an ionischer Flüssigkeit, weil eine gewisse Löslichkeit der verwendeten ionischen Flüssigkeit in Wasser besteht. Die Kostenreduzierung durch Minimierung des Verlustes der ionischen Flüssigkeit ist sicher und ökologisch sinnvoll. Der Preis der ionischen Flüssigkeit ist von der Marktsituation abhängig.

Mit einem Wasseranteil des Zweiphasensystems von 80 % v/v und einer Löslichkeit der ionischen Flüssigkeit in Wasser von bis zum 3 % w/w (Anthony et al., 2001; Bräutigam, 2005) ergibt sich ein theoretischer Verlust von ca. 8,3 % (in den Recycling- und Alternativ-Modellen beträgt der Verlust etwa 3,5 %!). Mit einem Wasseranteil von 50 % v/v und einer Löslichkeit der ionischen Flüssigkeit in Wasser von 3 % beträgt der theoretische Verlust ca. 2,1 % w/w. Ob ein Wasseranteil von 50% v/v in der Praxis umsetzbar ist, muss man noch überprüfen, z.B. hinsichtlich der möglichen Stofftransportlimitierung und der Reaktion.

Eine Kostenoptimierung durch Mengenreduzierung der Phosphatpufferlösung und des Extraktionsmittels Hexan scheint aus der ökonomischen Sicht nicht erforderlich zu sein. Eine Reduzierung des Substratsverbrauchs ist nur durch Erhöhung der Ausbeute möglich.

Im Vergleich zu den anderen Modellen verfolgt das Alternativmodell eine andere Produktgewinnungsstrategie. Statt einer Mikrofiltration und eines Dekanters wird eine Zentrifuge eingesetzt. Dabei entfallen die Extraktionskolonne und das Extraktionsmittel Hexan. Aufgrund der geringeren Anzahl der Grundoperationen sind die anlagenabhängigen Kosten des Alternativmodells entsprechend geringer als die des Recyclingmodells. Außerdem wird hier das Produkt vorteilhafterweise am Kopf der Destillationskolonne gewonnen (s. Abb. 7.3). Durch *Up-scaling* lassen sich die spezifischen Betriebskosten senken.

7.3.3. Ökologische Bewertung

Die ökologische Bewertung hat den Zweck, Gefährdungspotentiale mit Hilfe von Umweltkennzahlen abzuschätzen, die sich durch Wichtung der Materialindices der Input- und Outputstoffe ermitteln lassen. Zur ersten qualitativen Bewertung dient die Auflistung der Stoffe mit A-Klasse.

7.3.3.1 ABC-Klassifizierung

[BMIM][Tf2N] hat in der Kategorie chronische Toxizität aufgrund der unsicheren Datenlage und der Vergleichbarkeit der LC₅₀-Werte (aus vorläufigen Untersuchungen mit *D. magna*) mit organischen Lösungsmitteln die Einstufung A-Klasse. In Anbetracht der unsicheren Datenlage und aufgrund der in den Sicherheitsblättern vorgenommene Einstufung von [BMIM][BF₄] und [BMIM][PF₆] in die Wassergefährdungsklasse 3 wird [BMIM][Tf2N] in der Kategorie Öko-Toxizität in die Klasse A eingestuft.

Die ionischen Flüssigkeiten haben als niedrigschmelzende Salze keinen messbaren Dampfdruck, treten also praktisch nicht in die Gasphase über. Daher werden sie für folgende Kategorien in die Klasse C eingestuft: Potential für globale Erwärmung, Ozonabbaupotential, Ozonbildungspotential, Versauerungspotential, und Geruch. In Tab. 7.4 wird die ABC-Klassifizierung der verwendeten ionischen Flüssigkeit und anderer Stoffe dargestellt.

Tab. 7.4. ABC-Klassifizierung der Input- und Output-Stoffe.

Stoff	LVb	Vfg	KSy	ThR	ATox	CTox	BR	ETox	GWP	ODP	AP	POCP	Odr	Eutr
	I	I	I	IO	IO	IO	IO	O	O	O	O	O	O	O
4-Cl-AP	C	B	C	C	B	B	C	C	C	C	C	C	C	B
Essigsäure	<i>n.r.</i>	<i>n.r.</i>	<i>n.r.</i>	B	A	C	C	C	C	C	C	C	A	B
Biomasse	B	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	A
IL	C	B	B	C	C	A	C	A	C	C	C	C	C	B
CO ₂	<i>n.r.</i>	<i>n.r.</i>	<i>n.r.</i>	C	C	C	C	C	B	C	C	C	C	B
Ethanol	<i>n.r.</i>	<i>n.r.</i>	<i>n.r.</i>	A	C	C	C	C	C	C	C	B	B	B
Glukose	B	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	B
Hexan	C	B	C	A	B	A	C	C	C	C	C	C	C	B
Milchsäure	<i>n.r.</i>	<i>n.r.</i>	<i>n.r.</i>	C	B	C	C	C	C	C	C	C	C	B
KH ₂ PO ₄	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	A
K ₂ HPO ₄	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	A
Wasser	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C

I = Input, O = Output, *n.r.* = nicht relevant (Outputstoffe), LVb = Landverbrauch, Vfg = Verfügbarkeit, KSy = Komplexität der Synthese, ThR = thermische Risiken, ATox = akute Toxizität, CTox = chronische Toxizität, und BR = biologisches Risiko, ETox = ökologische Toxizität, GWP = Potential für globale Erwärmung, ODP = Ozonabbaupotential, AP = Versauerungspotential, POCP = Ozonbildungspotential, Odr = Geruch, Eutr = Eutrophierung, IL = [BMIM][Tf2N]

7.3.3.2 Stoffe mit A-Klasse

Zur ersten qualitativen Bewertung dient die Auflistung der Stoffe mit A-Klasse. Aus den Input- und Outputstoffen sind insgesamt 7 Stoffe mindestens einmal als A-Klasse eingestuft. Die verwendete ionische Flüssigkeit hat in den zwei Kategorien chronische und Öko-Toxizität die Einstufung A-Klasse. Das Extraktionsmittel Hexan hat in den zwei Kategorien

thermische Risiken und chronische Toxizität die Einstufung A-Klasse. Wegen des N- bzw. P-Gehalts haben drei Stoffe (Biomasse und die beiden Phosphatsalze) in der Kategorie Eutrophierung die Einstufung A-Klasse.

Essigsäure wird in den zwei Kategorien akute Toxizität (R-35 - verursacht schwere Verätzungen) und Geruchsstoffe in A-Klasse eingestuft. Ethanol hat in der Kategorie thermische Risiken die Einstufung A-Klasse. Es ist zu beachten, dass die ABC-Klassifizierung auf einer Betrachtung der Stoffe in ihrer reinen Form beruht. Da Essigsäure und Ethanol als Nebenprodukte in sehr niedriger Konzentration auftreten, hat die jeweilige A-Klasse hier praktisch keine Bedeutung.

7.3.3.3 Massenindices und Umweltkennzahlen

Abb. 7.7 stellt den Vergleich zwischen den drei Modellen hinsichtlich der Massenindices und der Umweltkennzahlen dar. Der Massenindex des Basismodells (etwa 110 kg/kg P) liegt im Vergleich zu den anderen Modellen (etwa 60 kg/kg P) höher. Deutlich höher sind die Unterschiede der Umweltkennzahlen des Basismodells bei etwa 1100 bzw. 1000 von den Umweltkennzahlen der anderen Prozessmodelle, die jeweils bei etwa 80 - 100 liegen.

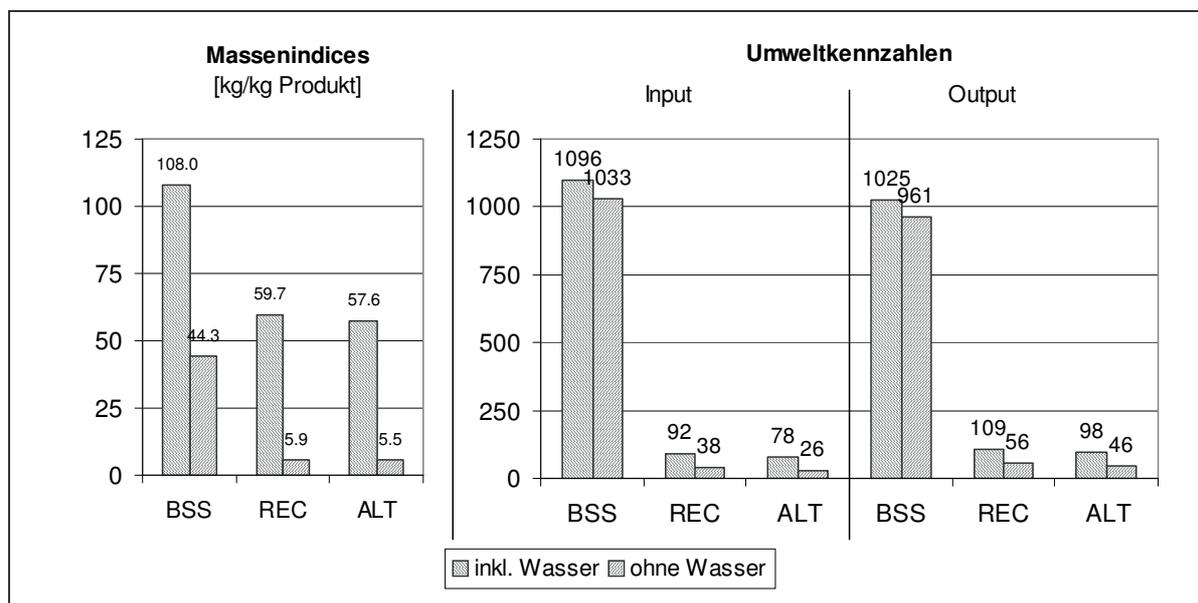


Abb. 7.7. Massenindices der Inputseite und Umweltkennzahlen der Input- und Outputseite jeweils mit und ohne Wasser für alle Prozessmodelle. BSS: Basismodell, REC: Recyclingmodell, ALT: Alternativmodell

Abb. 7.8 stellt die Beiträge der einzelnen Stoffe (ohne Wasser) an den Umweltkennzahlen der Inputstoffe bzw. der Outputseite des Recycling- und Alternativmodells dar. Zwecks einer besseren Darstellung werden Glukose (Cosubstrat) und alle Verbindungen aus dem Glukoseabbau als organische Verbindungen zusammengefasst.

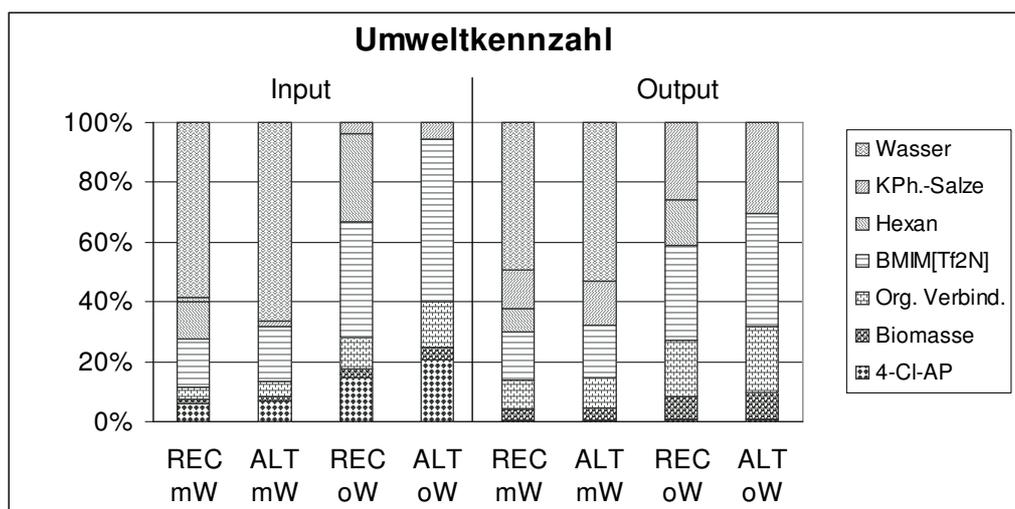


Abb. 7.8. Umweltkennzahl der Input- und Outputstoffe für das Recycling- und Alternativmodell jeweils mit und ohne Wasser. REC: Recyclingmodell, ALT: Alternativmodell, mW: mit Wasser, oW: ohne Wasser

Die verwendete ionische Flüssigkeit und das Extraktionsmittel Hexan (nur beim Recyclingmodell, wo Hexan eingesetzt wird) haben jeweils einen deutlichen Anteil an der jeweiligen Umweltkennzahl. Die Kaliumphosphatsalze haben in der Outputseite einen beträchtlichen Anteil an der Umweltkennzahl. Hier sollte man eine Rückführung der Phosphatpufferlösung bzw. eine Verminderung der Pufferkonzentration erwägen.

7.3.3.4 Diskussion

Die erste qualitative Bewertung durch die Auflistung von A-Stoffen zeigt, dass die verwendete ionische Flüssigkeit und das Extraktionsmittel Hexan jeweils in zwei Kategorien die A-Einstufung haben. Die Anwendung der ionischen Flüssigkeit und von Hexan sollte möglichst minimiert werden. Es sollte sogar auf den Einsatz von Hexan verzichtet werden. Das Alternativmodell ist in dieser Hinsicht von Vorteil.

Vom Massenindex her gesehen bringt das Recycling eine Verbesserung von etwa 40 % (Abb. 7.7). Die Umweltkennzahlen zeigen aber, dass das Recycling eine deutliche Prozessverbesserung durch die starke Reduzierung des Gefährdungspotentials von etwa 1100 auf etwa 100 mit sich bringt (Abb. 7.7). Aus ökologischer Sicht verbessert sich der Prozess durch Verzicht auf das ökonomisch wenig bedeutende Lösungsmittel Hexan beim Alternativmodell. Man soll sich über eine Optimierung des Verbrauchs an Phosphatpuffer sowohl aus ökologischer Sicht (wegen Eutrophierung) als auch aus ökonomischer Sicht Gedanken machen, da der Verlust an der verwendeten ionischen Flüssigkeit mit dem Phosphatpufferverbrauch zunimmt.

7.4. Zusammenfassung

Beim jetzigen Kenntnisstand lassen sich nur teure Produkte gewinnbringend produzieren. Produkte mit einem Verkaufspreis von weniger als 200 \$/kg kommen nicht in Frage. Allein aus Kostengründen soll insbesondere der Verbrauch an der ionischen Flüssigkeit z.B. durch Recycling möglichst minimiert werden. Der Verlust von [BMIM][Tf₂N] kann theoretisch durch Prozessoptimierung hinsichtlich der wässrigen Phase niedrig gehalten werden.

Es wurde gezeigt, dass die Dimensionierung der Anlage hinsichtlich der Betriebskosten eine sehr wichtige Rolle spielt. Das Mindestreaktionsvolumen lässt sich einfach aus den Kurven der spezifischen Betriebskosten als Funktion des Reaktionsvolumens ermitteln.

Ökologisch gesehen ist ein Verzicht auf ökonomisch wenig bedeutsames Hexan wünschenswert. Dabei spielt die Auswahl der Produktgewinnungsstrategie eine wichtige Rolle. Der Verlust an der ionischen Flüssigkeit sollte möglichst gering gehalten werden.

Es wurde gezeigt, dass man mit Hilfe der einfachen ökonomischen und ökologischen Evaluierungsmethode basierend auf Prozessmodellierung schon in früher Entwicklungsphase wertvolle Hilfestellungen für richtungsweisende Entscheidungen leisten kann.

8. FALLBEISPIEL BOKATALYTISCHER EMULSIONSPROZESS ZUR ENANTIOSPEZIFISCHEN EPOXIDIERUNG VON STYROL ZU (S)-STYROLOXID

8.1. Einleitung

In diesem Kapitel wird die Prozessmodellierung und -evaluierung einer biokatalytischen, enantiospezifischen Epoxidierung von Styrol zur Produktion von (S)-Styroloxid mittels rekombinanten *E. coli* als Ganzzellbiokatalysator beschrieben.

Dabei werden drei Prozessvarianten der biokatalytischen Epoxidierung und ein chemischer Produktionsprozess mit Hilfe des Jacobsen-Katalysators miteinander verglichen (Tab. 8.1). Die Prozesse werden für eine Produktionsrate von 100 Tonnen pro Jahr (jato) ausgelegt.

Tab. 8.1. Zu evaluierende Prozessmodelle zur Produktion von (S)-Styroloxid.

Nr.	Bezeichnung	Bioreaktionen	Aufarbeitung
1	chemisch	mittels Jacobsen-Katalysator	Dünnschichtverdampfer
2	Standard	Fed-Batch Kultivation und Batch-Biotransformation	Zentrifugation und Vakuumdestillation
3	Prozess A	Repetitive Fed-Batch Kultivation und Repetitive Batch-Biotransformation	Pertraktion oder Pervaporation und Vakuumdestillation.
4	Prozess B	Repetitive Fed-Batch Kultivation und Repetitive Batch-Biotransformation	Mikrofiltration, überkritische Extraktion und Chromatographie

8.2. Prozessmodellierung

8.2.1. Chemischer Prozess mit Jacobsen-Katalysator

Die chemische Produktion von (S)-Styroloxid kann z.B. mittels Jacobsen-Katalysatoren durchgeführt werden. Dabei gibt es mindestens zwei Reaktionswege, nämlich die direkte Epoxidierung aus Styrol und die hydrolytische kinetische Resolution aus racemischem Styroloxid. Aufgrund der mit der Biokatalyse vergleichbaren Reaktionsart sollte man theoretisch die direkte Epoxidierung als Vergleichsprozess nehmen.

In der Praxis, z.B. bei der Fa. Rhodia, wird jedoch die hydrolytische kinetische Resolution (HKR) zur Produktion von (R)- bzw. (S)-Styroloxid eingesetzt (Keith et al., 2001). Deshalb wird der Produktionsweg über HKR als Vergleichsprozess modelliert. Um die chemischen

und biokatalytischen Prozesse vergleichbar zu machen, wird der gleiche Ausgangsstoff (Styrol) genommen. Die Epoxidierung von Styrol zu (razemischem) Styroloxid wird in der Modellbildung des chemischen Produktionsprozesses mit abgebildet (Abb. 8.1).

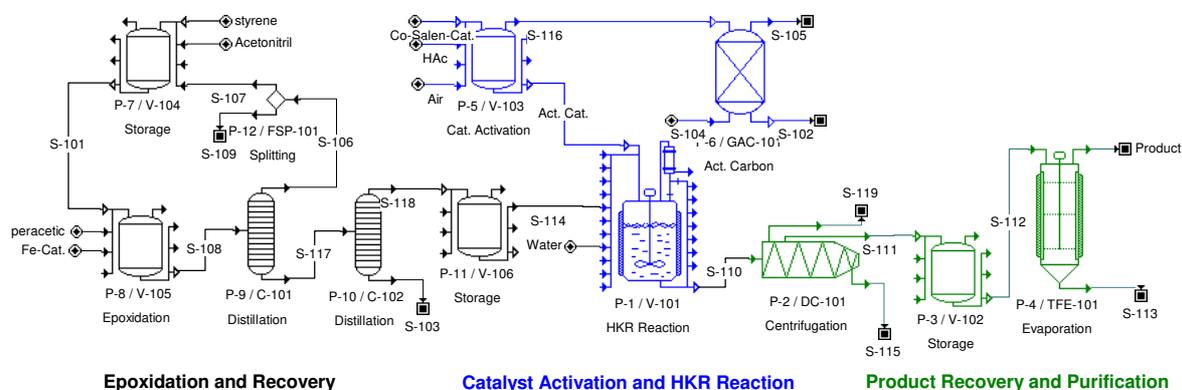


Abb. 8.1. Darstellung des chemischen Prozessmodells mit Jacobsen-Katalysator.

Die kommerzielle Produktion von Styroloxid erfolgt über den Chlorhydrin-Weg oder über Styrol-Epoxidierung mit Peroxyessigsäure. Gemäß der Arbeit von Dubois et al. (2003) wird der Prozessabschnitt Epoxidierung von Styrol in Acetonitril mit einem Eisen-Katalysator (0,25 mol-%) in Anwesenheit von Peroxyessigsäure (2 mol-equivalent) abgebildet. Die Ausbeute beträgt dabei ca. 65 %. Die Aufreinigung des razemischen Styroloxids erfolgt über Destillationskolonnen. Das Lösungsmittel Acetonitril wird mit einem geschätzten Rückführungsgrad von 98 % rezykliert.

Nach Archibald (2002) besteht der HKR-Reaktionsprozess für Epichlorohydrin aus einer Aktivierung des Katalysators, die HKR-Reaktion und die Produktabtrennung mittels Destillationskolonnen. Nach Hou (2001) erfolgte die Produktabtrennung mittels eines horizontalen Dünnschichtverdampfers. Das hier erstellte Prozessmodell besteht aus einer Katalysator-Aktivierung, der HKR-Reaktion und der Produktabtrennung mittels eines Dünnschichtverdampfers. Zusätzlich wird nach dem Reaktor eine Zentrifuge zur Abtrennung des Katalysators eingesetzt. An dieser Stelle könnte der Katalysator wieder gewonnen und in den Reaktor zurückgeführt werden (Abb. 8.1).

8.2.2. Biokatalytischer Standardprozess mit Destillation

Der Standardprozess besteht hauptsächlich aus Vorkultur, Fed-Batch-Kultivierung und Biotransformation, sowie Produktaufarbeitung via Zentrifugation und Vakuumdestillation. Als organische Phase wird Bis(2-ethylhexyl)phthalat (BEHP) eingesetzt, dessen größten Teil nach dem Aufarbeitungsabschnitt in den Bioreaktor zurückgeführt wird (Abb. 8.3).

8.2.2.1 Bioreaktionen

Bei den Bioreaktionen handelt es sich um das Zellwachstum und die biokatalytische Epoxidierung von Styrol zu (S)-Styroxid. Abb. 8.2 stellt die biokatalytische Epoxidierung mit Hilfe von rekombinanten *E. coli* als Ganzzellbiokatalysator dar.

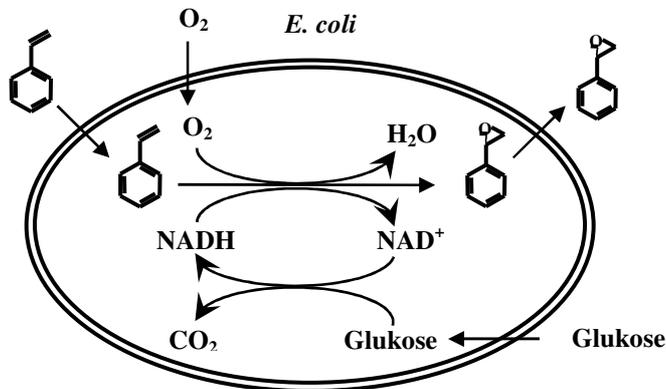


Abb. 8.2. Biokatalytische Epoxidierung mit dem rekombinanten Ganzzellbiokatalysator (Bühler, 2006; Otto et al., 2004).

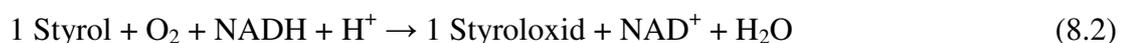
Für die Prozessmodellierung wird zunächst die Stöchiometrie der Bioreaktionen ermittelt. Vereinfacht werden die Bioreaktionen durch zwei Reaktionsgleichungen dargestellt, jeweils für die Zell- und Acetatbildung und für die Biotransformation inklusive der NADH-Regenerierung, für die Glukose benötigt wird.

Die Ermittlung der Stöchiometrie für das Zellwachstum und die Acetatbildung basiert auf den entsprechenden Ausbeuten und den elementaren C,H,O,N-Bilanzen. Die Zusammensetzung der Biomasse wird als $\text{CH}_{1,8}\text{O}_{0,5}\text{N}_{0,2}$ näherungsweise angenommen (Nielsen et al., 2003). Verschiedene Phosphate und anorganische Salze werden in diesen Bilanzen nicht berücksichtigt. Die allgemeine Reaktionsgleichung des Zellwachstums und der Acetatbildung ist wie folgt:



Alle Angaben über die experimentell ermittelten Ausbeuten sind aber auf die Gesamtglukose bezogen. Aus Ausbeuteangaben für die Zellbiomasse und Acetat ($Y_{X/S}$ bzw. $Y_{Ac/S}$) lassen sich die Koeffizienten d und g in Gleichung (8.1) direkt nicht ermitteln. Die Gesamtglukose muss erstmal als Funktion vom Koeffizienten a ermittelt werden (s. unten).

Bei der Biotransformation wird NADH benötigt und im Ganzzellbiokatalysator regeneriert. Die vereinfachte Reaktionsgleichung der Epoxidierung wird wie folgt formuliert:



Mit 1 mol Glukose werden im Idealfall 12 mol NADH regeneriert:



Aus (8.2) und (8.3) gilt dann insgesamt:



oder im Masseneinheiten:



Die Reaktionsausmaß beträgt dabei 87 % bezogen auf Styrol. Ein Teil des Substrates (ca. 8,5 %) reagiert zu 2-Phenylethanol als Nebenprodukt.

Aus der Reaktionsgleichung der biokatalytischen Epoxidierung und der Angabe über die Produktausbeute wird der Anteil der zur NADH-Regenerierung verbrauchten Glukose ermittelt. Die Produktausbeute beträgt 0,63 g Styroloxid / g Gesamtglukose bzw. ca. 0,94 mol mol⁻¹, d.h. pro mol Gesamtglukose erhält man 0,94 mol Styroloxid. Nach Gleichung (8.4) wird für die NADH-Regenerierung 0,08 mol Glukose benötigt (d.h. 8 %). Ein Glukoseüberschuss von 5 % bedeutet, dass 87 % der Glukose für die Zell- und Acetatbildung verbraucht wird. Ausgehend von Gleichung (8.1) mit dem stöchiometrischen Koeffizienten a für Glukose beträgt die Gesamtmenge an Glukose somit 1,15 a (bzw. 100/87 a).

Mit den Ausbeutekoeffizienten $Y_{X/S}$ und $Y_{HAc/S}$ (0,44 g/g Glukose bzw. 0,06 g/g Glukose) lassen sich nun die Koeffizienten d und g in Gleichung (8.1) nach folgenden Formeln ermitteln:

$$d = Y_{X/S}^* \cdot 1,15a = Y_{X/S} \cdot \frac{M_{Gl}}{M_X} \cdot 1,15a \quad (8.6)$$

$$g = Y_{HAc/S}^* \cdot 1,15a = Y_{HAc/S} \cdot \frac{M_{Gl}}{M_{HAc}} \cdot 1,15a \quad (8.7)$$

Dabei sind $Y_{X/S}^*$ und $Y_{HAc/S}^*$ die molaren Ausbeuten, wobei $M_{Gl} = 180 \text{ g mol}^{-1}$, $M_X = 24,6 \text{ g mol}^{-1}$ und $M_{HAc} = 60 \text{ g mol}^{-1}$ sind. Daraus erhält man $d = 3,7 \text{ a}$ und $g = 0,2 \text{ a}$.

Die anderen Koeffizienten lassen sich aus folgenden Elementbilanzen ermitteln:

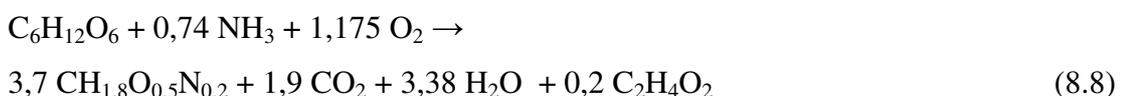
$$\text{N: } b = 0.2d \quad \Rightarrow b = 0,74 \text{ a}$$

$$\text{C: } 6a = d + e + 2g \quad \Rightarrow e = (6 - 3,7 - 2 \cdot 0,2) \text{ a} = 1,9 \text{ a}$$

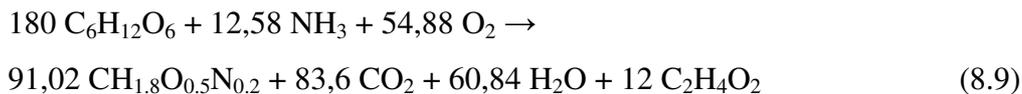
$$\text{H: } 12a + 3b = 1,8d + 2f + 4g \quad \Rightarrow f = ((12 + 3 \cdot 0,74) - (1,8 \cdot 3,7 + 4 \cdot 0,2)) / 2 \text{ a} = 3,38 \text{ a}$$

$$\text{O: } 6a + 2c = 0.5d + 2e + f + 2g \quad \Rightarrow c = (0,5 \cdot 3,7 + 2 \cdot 1,9 + 3,38 + 2 \cdot 0,2 - 6) / 2 \text{ a} = 1,175 \text{ a}$$

Somit erhält man für die Zellbiomasse- und Acetatbildung folgende molare Reaktionsgleichung:



oder in Masseneinheiten:



8.2.2.2 Aufarbeitung

Die Aufarbeitung des Standardprozesses erfolgt mittels Zentrifugation und Destillationen. Durch die Zentrifuge wird die Reaktionsbrühe aus dem Bioreaktor (V101) in drei Stoffströme getrennt: Zellpaste, wässrige Phase, und organische Phase. Das Produkt wird dann aus der organischen Phase mittels Destillation gereinigt (Abb. 8.3). Die organische Phase (BEHP) wird aus der Destillationskolonne mit einem geschätzten Rückführungsgrad von 95 % wieder in den Reaktor zurückgeführt. Hier werden zwei Destillationskolonnen benötigt.

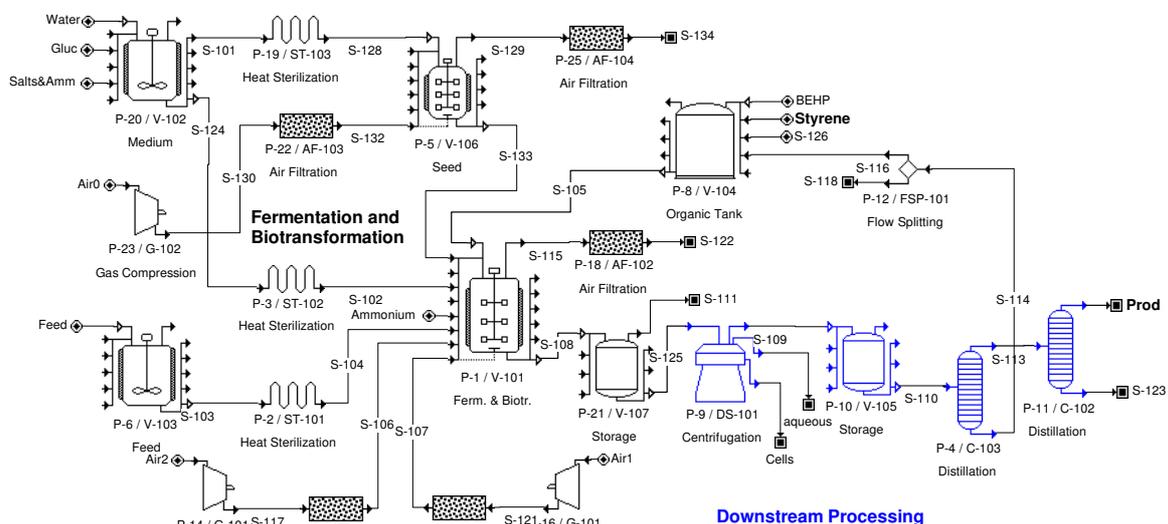


Abb. 8.3. Standardprozessmodell mit dem Fed-Batch-Verfahren, Zentrifugation und Destillationskolonnen.

8.2.3. Biokatalytischer Prozess mit Pertraktion

Ein möglicher Ansatz zur Verbesserung der Fermentation im Standardprozess ist eine repetitive Betriebsweise (Repeated Fed-Batch, RFB), wobei ca. 1 % des Fermentationsinhalts als Inokulum für den nächsten Reaktionszyklus wieder verwendet wird. Dadurch kann eine Prozessverbesserung durch kürzere Prozessdauer erreicht werden, da zwischen den Zyklen keine Reinigung und Sterilisation des Fermenters erforderlich sind. Die Aufarbeitung besteht aus Pertraktion mittels keramischer Hohlfasermembran und Destillation.

Durch Pertraktion soll eine integrierte Produktabtrennung erfolgen, wobei eine Pervaporation auch in Frage kommen kann. Im Vergleich zur Pervaporation hat die Pertraktion den Vorteil,

dass kein Phasenwechsel der permeierenden Komponenten in die Gasphase stattfindet. Die Pervaporation hat im Vergleich zur Pertraktion deutlich höhere Triebkräfte, die über den Permeatdruck geregelt werden können.

Abb. 8.4 stellt das Prozessmodell mit dem repetitiven Fed-Batch-Verfahren und dem Einsatz von Pertraktion und Destillationskolonne dar. Für die Pertraktion wird das Modul (Differential-)Extraktion in Kombination mit dem Modul Filtration zur Berechnung der benötigten Membranfläche verwendet. Die Extraktionsleistung wird dabei ca. 5mal höher als die bisher erreichte ($0,5 \text{ g} / \text{m}^2 \text{ h}$) festgelegt. Die Einsatzdauer der Pertraktionsanlage wird in zwei Varianten bei 7 h (Dauer der Biotransformation) und für 24 h (Batchdauer) festgelegt.

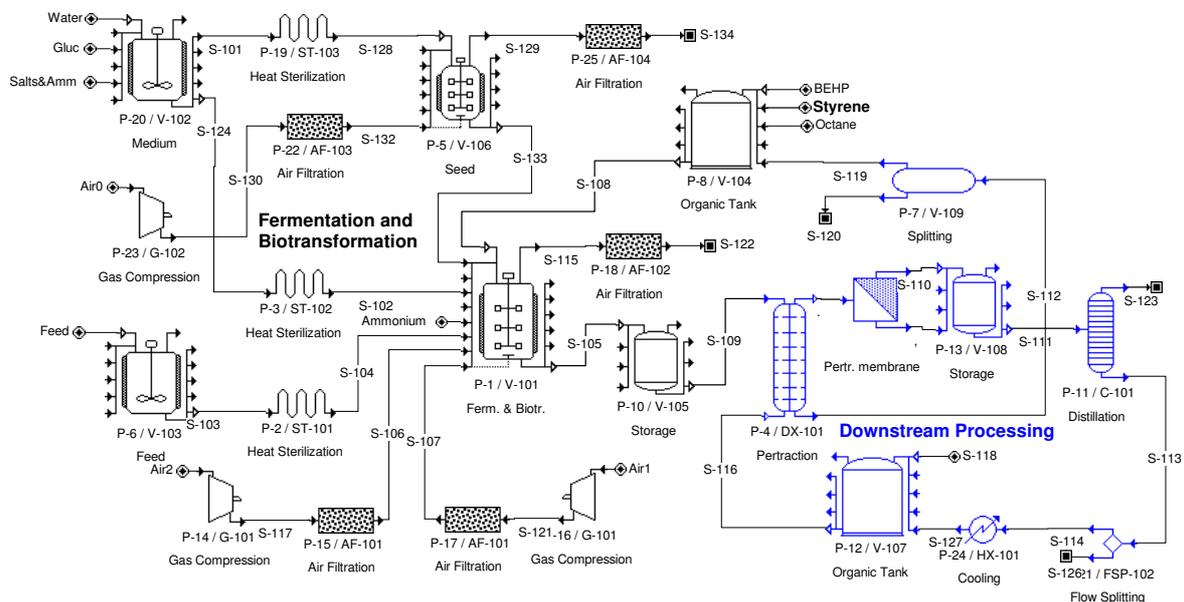


Abb. 8.4. Prozessmodell mit dem repetitiven Fed-Batch-Verfahren und dem Einsatz von Pertraktion und Destillationskolonne.

Bei diesem Prozessmodell gibt es zwei Rückführungen. Die erste Rückführung ist für BEHP aus dem Fermenter nach dem Verlassen der Pertraktionsanlage (P-4/DX-101) über Dekanter (P-7/V-109) zur Abtrennung der wässrigen Phase. Die zweite Rückführung ist für BEHP als Extraktionsmittel, nachdem das Produkt mittels Destillation gewonnen wurde. Der Rückführungsgrad von BEHP wird in beiden Fällen auf 95 % geschätzt.

8.2.4. Biokatalytischer Prozess mit überkritischen CO_2 -Trennverfahren

Die Kombination von Biotransformation, Membrantechnologie und Trennverfahren mit überkritischem CO_2 (scCO_2) soll die Produktion von chiralen Epoxiden in einem integrierten

Prozess erlauben. Zu den Trennprozessen mit scCO_2 gehören die Extraktion (SFE) und die Chromatographie (SFC) jeweils mit überkritischen Flüssigkeiten.

Die SFE besteht aus zwei Teilschritten, einer Trennstufe und einer Regenerationsstufe. In der Trennstufe erfolgt ein intensiver Stoffaustausch und in der Regenerationsstufe wird die überkritische Flüssigkeit entspannt, wobei die gelösten Fraktionen dann flüssig ausfallen. Die Betriebsweise dieses Trennverfahrens ist meist kontinuierlich.

Die SFC nutzt überkritische Flüssigkeit als mobile Phase. Der Betrieb erfolgt abschnittsweise. Apparate technisch kann der Kreislauf des CO_2 auch geschlossen werden, wodurch lediglich Verluste des CO_2 ergänzt werden müssen.

8.2.4.1 Entwicklungsstand⁴

Zur Verifizierung der Löslichkeit von Stoffen in scCO_2 wurden Untersuchungen mit einer semipräparativen SFC-Apparatur durchgeführt, die weitestgehend einer HPLC-Apparatur entspricht. Im Gegensatz zu Styrol und Styroloxid war BEHP unter den gewählten Bedingungen nicht in überkritischem CO_2 löslich. Trennversuche mit einem modifizierten SFE-Verfahren zeigten, dass Styrol und Styroloxid problemlos aus BEHP sowie der Emulsion extrahiert werden können.

Mit Hilfe der SFE ist eine Trennung von Styrol und Styroloxid von einander jedoch nicht möglich. Untersuchungen im analytischen Maßstab haben gezeigt, dass Styrol und Styroloxid mittels Chromatographie mit scCO_2 (SFC) und kieselgelbasierter Festphase voneinander getrennt werden können.

Demnach ist zur Abtrennung von Styroloxid aus dem Reaktionsgemisch eine Kombination beider Trennverfahren sinnvoll. In der SFE Trennstufe werden die nicht-polaren Substanzen (Styrol und Styroloxid) aus der BEHP / Wasser Emulsion isoliert und anschließend in der SFC Trennstufe weiter aufgereinigt.

Zu Stoffmengen, Massen- und Energiebilanzen können aus den Versuchen im analytischen Maßstab noch keine Aussagen getroffen werden. Für weitere Versuchszwecke ist es sinnvoll, eine kleinere präparative Anlage zu bauen. Mit dieser Scale-up Anlage können dann präzise Daten zu Stoffmengen, Massen- und Energiebilanzen eruiert werden.

⁴ Die Beschreibung des Entwicklungsstandes basiert auf dem Abschlussbericht des von der Deutschen Bundesstiftung Umwelt (DBU) geförderten Forschungsvorhaben AZ 13095, koordiniert von Prof. Schmid von der Universität Dortmund (Schmid et al., 2005). Ein Nachfolgeprojekt ist geplant.

8.2.4.2 Prozesssynthese und erstes Prozessmodell

Nach dem ersten Ansatz besteht der zukünftige Prozess mit der scCO_2 -Technologie aus Biotransformation, selektiver Mikrofiltration (sMF), SFE und SFC. Durch die selektive Mikrofiltration soll das Produkt selektiv von der BEHP/Wasser-Emulsion abgetrennt werden. Allerdings ist eine selektive Mikrofiltration im Vergleich zur konventionellen Mikrofiltration möglicherweise technisch aufwendiger.

Die Mikrofiltration muss nicht unbedingt selektiv sein, da Styrol und Styroloxid problemlos aus BEHP sowie der Emulsion mit Hilfe der SFE extrahiert und mit SFC voneinander getrennt werden können. Lediglich eine konventionelle Mikrofiltration oder eine Zentrifugation zur Zellabtrennung reicht hier möglicherweise aus.

Weil überhaupt noch keine Daten über die selektive Mikrofiltration vorhanden sind, wird für das erste Prozessmodell eine konventionelle Mikrofiltration zur Zellabtrennung ausgewählt. Das mögliche Prozessmodell kann somit wie folgt aussehen: Biotransformation, Mikrofiltration oder Zentrifugation, SFE und SFC.

Basierend auf den Ergebnissen des Standardprozessmodells und mit Abschätzungen wird eine erste Stoffbilanz erstellt, die als Grundlage für die ökologische Evaluierung verwendet wird. Die ökonomische Evaluierung lässt sich jedoch im jetzigen Entwicklungsstand nur schwer durchführen und wurde vom Prozessentwickler sogar nicht gewünscht, da die Datenlage noch sehr dünn ist (Lembke, 2006).

Ein kleiner Unterschied in den Betriebsbedingungen wie Temperatur und Druck hat sehr großen Einfluss auf Löslichkeit (Laitinen, 2000), die in dieser Trenntechnologie entscheidend ist. Der Energieverbrauch hängt entsprechend stark von Betriebsbedingungen ab. Der größte Teil des Energieverbrauchs wird für die prozessbedingte Heizung und Kühlung benötigt (Lembke, 2006). Vor dem Pumpen wird CO_2 zwecks Verflüssigung zur Vermeidung der Pumpen-Kavitation auf ca. $15\text{ }^\circ\text{C}$ abgekühlt. Bei der Entspannung kühlt es sich theoretisch stark ab. Deshalb ist eine Heizung hier erforderlich.

8.3. Ergebnisse

8.3.1. Stoffbilanz und ökologische Bewertung

8.3.1.1 ABC-Klassifizierung und qualitative Analyse

Qualitativ kann man Stoffe mit größten Gefährdungspotentialen aus der ABC-Klassifizierung durch Auflistung der Stoffe mit A-Klasse erkennen (Tab. 8.2).

Tab. 8.2. ABC-Klassifizierung der Stoffe.

Stoff	KSy	LVb	Vfg	ThR	ATox	CTox	BR	ETox	GWP	ODP	AP	POCP	Odr	Eut
	I	I	I	IO	IO	IO	IO	O	O	O	O	O	O	O
Essigsäure	B	C	C	B	A	C	C	C	C	C	C	C	A	B
Acetonitril	C	C	B	B	B	C	C	B	C	C	C	C	B	A
Co-Salen-Kat	B	C	B	C	A	A	C	A	C	C	C	C	C	B
Fe-Kat.	B	C	B	C	A	B	C	A	C	C	C	C	C	B
Peroxyessigs.	B	C	C	A	A	C	C	C	C	C	C	C	A	B
Ph.ethan-diol	n.r.	n.r.	n.r.	C	B	B	C	C	C	C	C	C	B	B
2-Ph.ethanol	n.r.	n.r.	n.r.	C	B	B	C	C	C	C	C	C	B	B
Amm.sulfat	B	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	A
Ammoniak	B	C	C	A	A	B	C	A	C	C	A	C	C	A
Biomasse	n.r.	n.r.	n.r.	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	A
Karbondioxid	n.r.	n.r.	n.r.	C	C	C	C	C	B	C	C	C	C	B
Zitronensäure	C	C	C	C	B	C	C	C	C	C	C	C	C	B
BEHP	B	C	C	B	A	A	C	C	C	C	C	C	C	B
Glukose	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	B
KH ₂ PO ₄	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	A
MgSO ₄	B	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
Oktan	C	C	B	A	A	B	C	A	C	C	C	B	C	B
Sauerstoff	C	C	C	C	C	B	C	C	C	C	C	C	C	C
Styrol	B	C	B	A	B	B	C	B	C	C	C	C	A	B
Styroloxid	n.r.	n.r.	n.r.	A	A	A	C	A	C	C	C	C	B	B
Ethanol	B	C	C	A	C	C	C	C	C	C	C	B	B	B
Spurenel.*	C	B	C	B	A	B	C	A	C	C	C	C	C	C
Wasser	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C

* nach Hauptbestandteilen ermittelt; I = Input , O = Output, *n.r.* = nicht relevant, KSy = Komplexität der Synthese, LVb = Landverbrauch, Vfg = Verfügbarkeit, ThR = thermische Risiken, ATox = akute Toxizität, CTox = chronische Toxizität, und BR = biologisches Risiko, ETox = ökologische Toxizität, GWP = Potential für globale Erwärmung, ODP = Ozonabbaupotential, AP = Versauerungspotential, POCP = Ozonbildungspotential, Odr = Geruch, Eut = Eutrophierung.

Ammoniak wird in 5 Wirkungskategorien in die A-Klasse eingestuft. Andere Stoffe mit A-Klasse sind Ethanol, Oktan, BEHP, Styrol und Styroloxid (Rest), sowie Ammoniumsulfat, Kaliumdihydrogenphosphat und Biomasse. Die letzten drei genannten Stoffe werden in der Kategorie Eutrophierung in die A-Klasse eingestuft.

Besonders zu beachten ist hier die Anwendung von BEHP als organische Phase bzw. Extraktionsmittel, da die eingesetzte Menge deutlich größer ist als z.B. die von Oktan als

Induktor. BEHP wird außerdem in zwei Kategorien akuter und chronischer Toxizität in die A-Klasse (R 60-61: fortpflanzungsgefährdend, Gefahrenzeichen T; Merck, 2006) eingestuft.

Für den chemischen Produktionsweg sind zusätzlich noch Essigsäure, Acetonitril, Salen-Katalysator, Fe-Katalysator, und Peroxyessigsäure zu beachten. Die genannten Stoffe werden mindestens in einer Wirkungskategorie der A-Klasse eingestuft. Peroxyessigsäure und Co-Salen-Katalysator werden sogar jeweils in drei Kategorien in A-Klasse eingestuft. Fe-Katalysator und Essigsäure sind in zwei Kategorien in A-Klasse klassifiziert.

8.3.1.2 Stoffbilanz und Massenindices

Die Stoffbilanz dient als Grundlage der ökologischen Bewertung. Aus der Prozessmodellierung mit SuperPro-Designer erhält man die Stoffbilanz und daraus die Massenindices. Im Fall des Prozessmodells mit der scCO₂-Technologie (SFE und SFC) werden die Massenindices basierend auf den Ergebnissen des Standardprozessmodells und zusätzlich aus dem abgeschätzten Verbrauch an CO₂ und Ethanol ermittelt.

Beim System SFE und SFC ist ein Rückführungsgrad des scCO₂ von 99 % realisierbar (Lembke, 2006). Bei einer Produktkonzentration von 75 g/L (in der organischen Phase) und einem geschätzten Lösungsmittelverhältnis (scCO₂:BEHP) von 3 wird für 75 g Styroloxid 3 L scCO₂ benötigt. Mit einer Dichte des scCO₂ von 500g/L (Annahme) entspricht dieses 1500 g CO₂. Mit einem geschätzten scCO₂-Verlust von 1 % beträgt der CO₂-Verlust 15 g. Der Massenindex von CO₂ beträgt somit 0,20 g/g Produkt. Außerdem wird evtl. nur eine kleine Menge von ca. 2 % beispielsweise an Ethanol als *Modifier* zur Erhöhung der Löslichkeit benötigt. Der Verlust liegt schätzungsweise bei 10 % (Lembke, 2006). Somit beträgt der Massenindex von Ethanol 0,04 g/g Produkt.

Abb. 8.5. stellt den Gesamtmassenindex der vier Prozessmodelle mit und ohne Wasser dar. In Abb. 8.5 stellt man fest, dass der Wasserverbrauch bei den biokatalytischen Methoden sehr hoch ist (ca. 13 kg/kg Produkt), und der Gesamtmassenindex ohne Wasser bei ca. 3 kg/kg P liegt. Hingegen ist der Massenindex für Wasser beim chemischen Prozessmodell nur sehr gering (ca. 0,2 kg/kg Produkt). Der Gesamtmassenindex ohne Wasser beträgt aber 9 kg/kg Produkt.

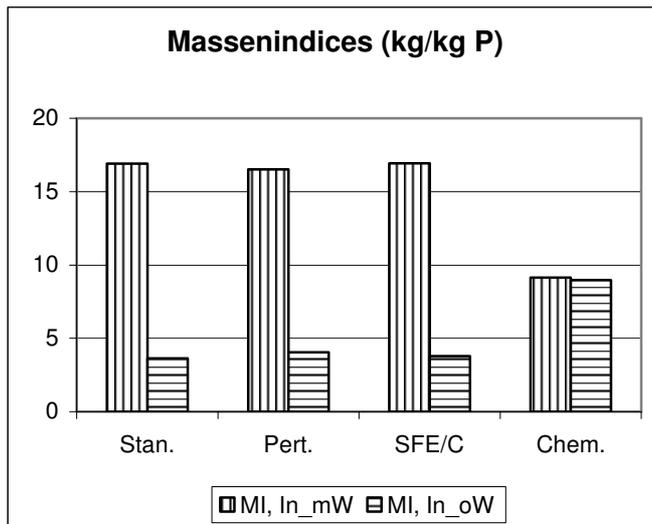


Abb. 8.5. Gesamtmassenindex der vier Prozessmodelle mit und ohne Wasser.

Abb. 8.6 stellt die Massenindices der Hauptstoffe und der Gesamtmassenindex für die Inputseite der biokatalytischen Prozessmodelle dar. Drei weitere Hauptstoffe sind Styrol als Ausgangsstoff der biokatalytischen Transformation, BEHP als organische Phase und Glukose als C-Quelle im Medium.

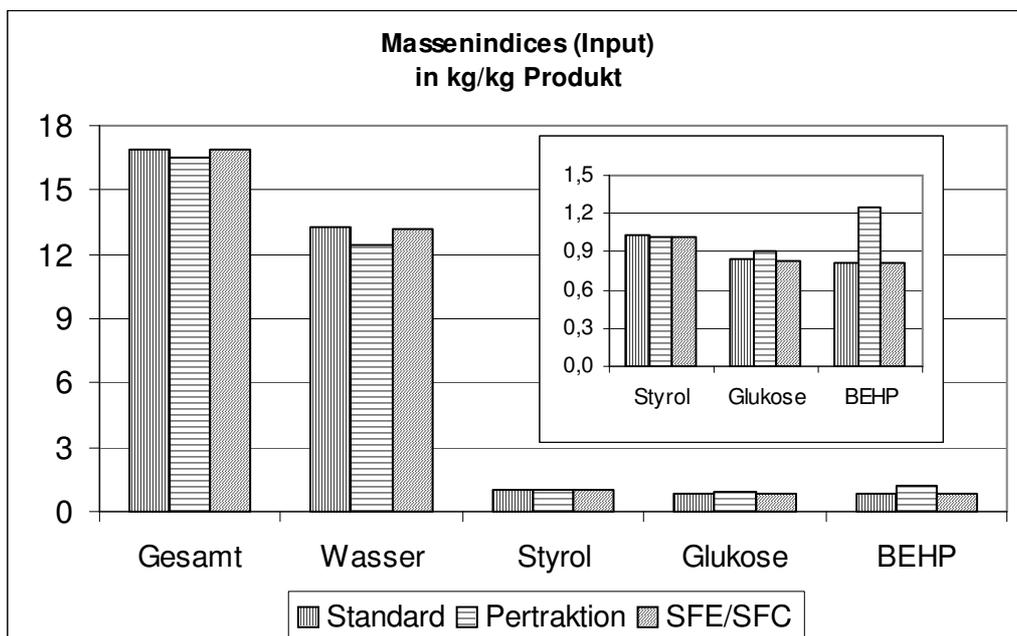


Abb. 8.6. Gesamtmassenindex und Massenindices der 4 Hauptstoffe.

Aufgrund der Prozessführung sind beim Prozessmodell mit Pertraktion zwei Recyclingwege für BEHP erforderlich, nämlich als organische Phase im Bioreaktor und als Extraktionsmittel für die Pertraktion. Bei jeweils einem Rückführungsgrad von ca. 95 % liegt der Verlust (und somit der Verbrauch) an BEHP beim Prozess mit Pertraktion entsprechend höher (ca. 1,3 kg/kg Produkt) als bei den anderen Bioprozessen (ca. 0,8 kg/kg Produkt).

8.3.1.3 Umweltkennzahlen

Die Umweltkennzahl stellt das Gefährdungspotential eines Prozessmodells hinsichtlich der Sicherheits-, Gesundheits- und Umweltaspekte dar. In Abb. 8.7 werden die Umweltkennzahlen der vier Prozessmodelle jeweils mit und ohne Wasser dargestellt. Das chemische Prozessmodell zeigt mit einer Umweltkennzahl von 186 ein höheres Gefährdungspotential im Vergleich zu den biokatalytischen Prozessen.

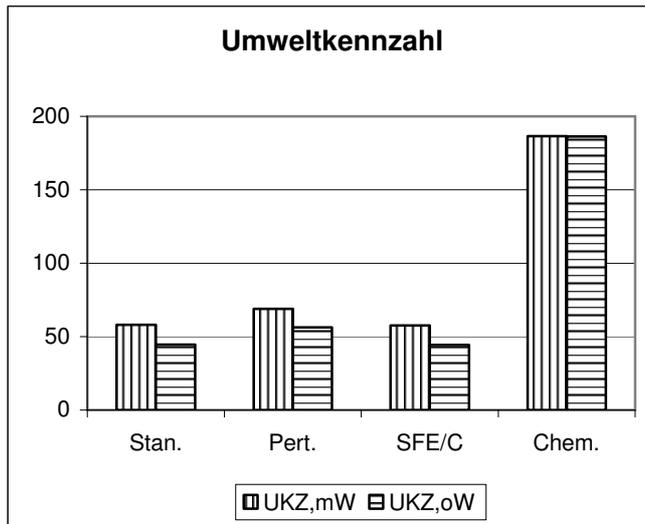


Abb. 8.7. Umweltkennzahl der Prozessmodelle jeweils mit und ohne Wasser.

Abb. 8.8 stellt die Gesamtumweltkennzahl und die Beiträge der vier Hauptstoffe der biokatalytischen Prozessmodelle dar.

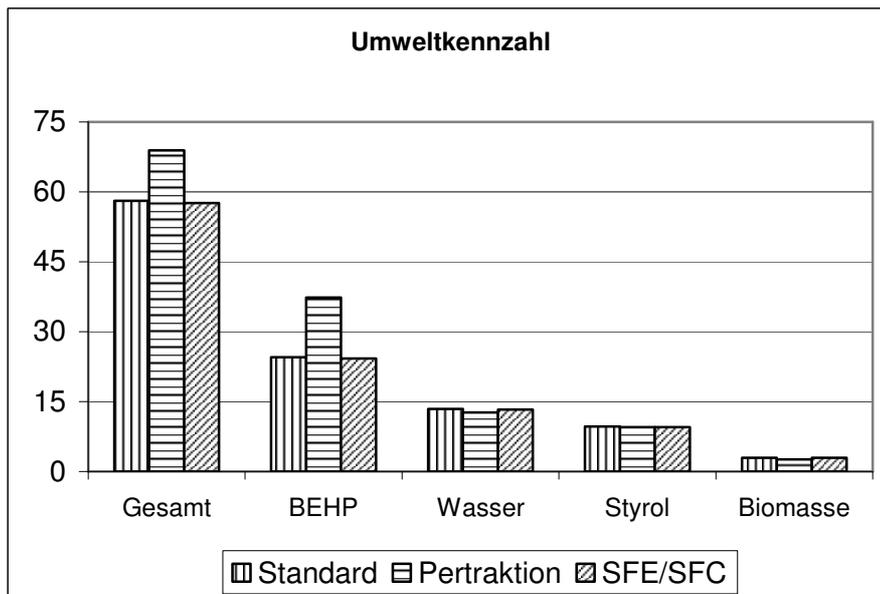


Abb. 8.8. Gesamtumweltkennzahl der biokatalytischen Prozessmodelle und Beiträge von vier Stoffen.

BEHP verursacht offensichtlich das größte Gefährdungspotential. Außerdem haben Wasser und Styrol einen deutlichen Anteil an der Gesamtumweltkennzahl. Wasser hat hier aufgrund der großen verbrauchten Menge einen deutlichen Anteil an der Gesamtumweltkennzahl. Aufgrund der Stoffeigenschaften hat Styrol ein Gefährdungspotential von ca. 9,5. Diese Umweltbewertungszahl resultiert hauptsächlich aus der Inputseite mit 23, während die Umweltbewertungszahl von Styrol in der Outputseite aufgrund des kleinen Massenindex nur ca. 1 beträgt. Styrol hat zwar eine relativ hohe Umweltkennzahl, eine weitere Prozessverbesserung beispielsweise durch Optimierung der Biotransformation ist aber vermutlich schwierig, da der Umsatz schon ziemlich hoch ist (ca. 87 %) und da der Massenindex von Styrol in der Outputseite (ca. 0,04) schon relativ niedrig ist.

8.3.2. Ökonomische Evaluierung

Hier werden die ökonomischen Größen der Prozessmodelle dargestellt (Tab. 8.3). Dazu gehören u.a. die Investition, die Betriebskosten, der Umsatz, die Bruttomarge, die Kapitalrendite etc. Der Gesamtvergleich wird bei einem geschätzten Produktverkaufspreis von 300 \$/kg und bei einer Produktion von 100 jato durchgeführt.

Tab. 8.3. Gesamtvergleich der Prozessmodelle.

	Einheit	Chemisch	Biotechnologisch		
			Standard	Pertr. 7 h*	Pertr. 24 h*
Investition	\$	9 853 000	30 259 000	79 615 000	42 458 000
Betriebskosten	\$/Jahr	20 589 000	10 696 000	23 902 000	20 751 000
Produktionsrate	Kg P/Jahr	100 000	100 000	100 000	100 000
Spez. Betriebskosten	\$/kg P	205,89	106,96	239,02	207,51
Umsatz	\$/Jahr	30 000 000	30 000 000	30 000 000	30 000 000
Bruttomarge	%	31,37	64,35	20,33	30,83
RoI	%	64,79	47,21	13,56	21,90
Payback time	Jahre	1,54	2,12	7,38	4,57
IRR	%	53,20	39,30	7,42	16,02
NPV (7% Zinsatz)	\$	37 990 000	76 415 000	1 568 000	25 404 000

* Die Pertraktionsmodelle werden mit 5mal höherer Extraktionsleistung als bisher experimentell berechnet.

Der biokatalytische Standardprozess weist mit ca. 10,7 Mio. US\$ die deutlich günstigsten Betriebskosten auf, während die Betriebskosten der chemischen Prozessvarianten mit 20,6 Mio. US\$ fast doppelt so hoch wie beim Standardprozess sind. Das chemische Prozessmodell hat aber mit Abstand die niedrigsten Investitionen. Während die Investition beim chemischen Prozessmodell ca. 10 Mio. US\$ beträgt, liegt sie bei dem biokatalytischen Standardprozess

bei ca. 30 Mio. US\$. Die wichtigsten Faktoren sind dabei das niedrigere Reaktionsvolumen des chemischen Prozesses aufgrund seiner kürzeren *Batch-Cycle-Time* und der einfachen einphasigen Reaktionsführung, wohingegen die biokatalytische Reaktion in einem zweiphasigen Wasser-BEHP-System abläuft.

Die Anlagenkosten des Prozessmodells mit Pertraktion (beim Einsatz von 7 h pro Batch und mit ca. 5mal höherer Extraktionsleistung wie bisher erreichte) sind aufgrund der Membran-Module fast dreimal so hoch wie beim Standardprozess. Die Membran-Module für die Pertraktion machen etwa 66,3 % der Anschaffungskosten der Hauptanlagen aus (Daten nicht gezeigt). Es besteht hier das größte ökonomische Optimierungspotential entweder durch höhere Extraktionsleistung oder durch Ausnutzung der Pertraktionsanlage während der gesamten Batch-Dauer, damit die dafür erforderliche Membranfläche abnimmt. Während die Investitionen des Pertraktionsmodells beim 7-stündigen Einsatz ca. 80 Mio. US\$ betragen, liegen sie beim Dauereinsatz bei ca. 42,5 Mio. US\$.

Mit einer 15mal höheren Extraktionsleistung beträgt die Investition für das Prozessmodell mit Pertraktion (beim Dauereinsatz) ca. 33 Mio. US\$. Diese Investition ist in der gleichen Größenordnung wie beim biokatalytischen Standardprozessmodell. Die spezifischen Betriebskosten liegen bei ca. 188 \$/kg Produkt und somit bereits unter den spezifischen Betriebskosten des chemisches Prozessmodells.

Tab. 8.4 stellt die spezifischen Betriebskosten und die Verteilung der drei Prozessmodelle dar. Beim chemischen Prozess haben die Materialkosten einen Anteil von ca. 77 %. Im Gegensatz dazu beträgt dieser Anteil beim biokatalytischen Standardprozess nur 2,6 %.

Tab. 8.4. Spezifische Betriebskosten und deren Verteilung.

Kostenart	Chemisch		Standard		Pertraktion 7 h		Pertraktion 24 h	
	\$/kg P	%	\$/kg P	%	\$/kg P	%	\$/kg P	%
Materialkosten	158,35	76,91	2,78	2,60	3,34	1,40	3,34	1,61
Personalkosten	27,23	13,22	37,24	34,82	71,87	30,07	102,30	49,30
AA-Kosten	14,81	7,20	57,90	54,13	144,57	60,49	78,21	37,69
Labor/QC	4,08	1,98	5,59	5,22	10,78	4,51	15,34	7,39
Verbrauchsmat.	0,00	0,00	0,00	0,00	0,99	0,41	0,95	0,46
Abfall/Abwasser	1,26	0,61	2,99	2,80	4,65	1,94	4,65	2,24
Utilities	0,16	0,08	0,46	0,43	2,81	1,18	2,72	1,31
Summe	205,89	100	106,96	100	239,02	100	207,51	100

AA = anlagenabhängige; Lab. = Laboratorium; QC = Qualitätskontrolle

Bei dem Standardmodell und dem Pertraktionsmodell (7 h) haben die anlagenabhängigen Kosten mit 54 % bzw. 60 % einen sehr hohen Anteil an den Betriebskosten. Das ist auf die

höheren Anlagenkosten der Fermenter bei den beiden Prozessen und beim Pertraktionsprozess zusätzlich auf die Pertraktionsanlage zurückzuführen.

Durch Dauereinsatz der Pertraktionsanlage steigen jedoch die spezifischen Personalkosten von ca. 70 auf ca. 100 \$/kg Produkt. Durch Dauereinsatz kommt das Pertraktionsmodell mit spezifischen Betriebskosten von 207,5 \$/kg Produkt in den Bereich des chemischen Prozessmodells, was jedoch zweimal höher als das Standardprozessmodell ist.

Die größten Anteile an den gesamten Materialkosten haben BEHP und Styrol mit ca. 40 %. Eine Prozessoptimierung hinsichtlich des Styrol-Verbrauchs ist aber nicht einfach, da der Umsatz bereits ziemlich hoch (87 %) und der Produktverlust während der Aufreinigung mit ca. 2,5 % schon relativ niedrig sind.

Im Vergleich zum Standardprozess ist der BEHP-Verbrauch bei den Prozessmodellen mit Pertraktion als Extraktionsmittel deutlich höher, da hier ein weiterer BEHP-Zyklus erforderlich ist. Ökonomisch gesehen hat jedoch die Reduzierung des BEHP-Verbrauchs auf die gesamten Betriebskosten nur einen kleinen Einfluss. Bei den biokatalytischen Prozessmodellen haben die Materialkosten nur kleine Anteile an den Betriebskosten (ca. 2,6 % beim Standardmodell).

Beim chemischen Prozess haben die Materialkosten einen Anteil von ca. 77 % (siehe Tab. 8.4). Ca. 90 % davon sind die beiden Katalysatoren (Tab. 8.5). Die Schätzpreise für den Co-Salen-Katalysator bzw. für den Fe-Katalysator betragen dabei 800 bzw. 150 \$/kg. Der Verbrauch an den Katalysatoren lässt sich durch Wiederverwendung reduzieren, was im Prozessmodell nicht abgebildet ist. Die Betriebskosten des chemischen Prozessmodells könnten deshalb noch reduziert werden.

Tab. 8.5. Spezifische Materialkosten und deren Verteilung im chemischen Prozessmodell.

Material	Preis	Chemischer Prozess		
		Verbrauch	Spez. Mat. Kosten	
		kg/kg P	\$/kg P	%
Peroxyessigsäure	1,50	4,16	6,24	3,95
Fe-Katalysator	150	0,06	8,55	5,40
Styrol	1,00	2,91	2,91	1,84
Acetonitril	1,39	1,65	2,30	1,45
Co-Salen-Kat.	800	0,17	138,34	87,36
Essigsäure	0,73	0,02	0,01	0,01
Gesamt		9,27	158,35	100

Im jetzigen Entwicklungsstand wird die ökonomische Evaluierung des Prozessmodells mit der scCO₂-Technologie aufgrund der sehr dünnen Datenlage nicht durchgeführt. Einige Erfahrungsdaten von Seite der Prozessentwickler wurden jedoch ermittelt. Im Prinzip kann eine solche SFE und SFC-Anlage rund um die Uhr und 365 Tage pro Jahr in Betrieb genommen werden. Ein Mitarbeiter reicht für eine Anlage aus. Am Wochenende arbeitet die Anlage automatisch. Die Lebensdauer einer solchen Anlage kann 15 Jahre oder mehr sein, wobei die Abschreibung der Anlage für 10 Jahre festgelegt werden kann (Lembke, 2006). Investitionskosten für kommerzielle Apparate liegen in der Größenordnung zwischen 150.000-300.000,- € (Schmid et al., 2005). Im Vergleich zum Prozessmodell mit der Pertraktion kann die scCO₂-Technologie eine interessante Alternative sein.

8.4. Diskussion

8.4.1. Zeiteinsparung durch repetitive fed-batch Kultivierung

Der größte Vorteil der repetitiven fed-batch (RFB) Kultivierung ist die im Schnitt kürzere Batch-Dauer, da weniger Zeit für die Reaktorvorbereitung (Reinigung und Sterilisation) aufgewendet wird. Die erste Abschätzung der Batch-Dauer basierend auf Prozessdaten sieht beim Fed-Batch wie folgt aus: Batch- und Fed-Batch-Wachstum 11,5 Stunden, Biotransformation 7 Stunden, und Ernte und Start-up 10 Stunden. Insgesamt beträgt die Batch-Dauer des Fed-Batch-Verfahrens 28,5 Stunden (Bühler, 2006).

In repetitiven Bioreaktionen fällt der dritte Schritt weg. 18,5 Stunden einzusetzen wäre aber auch nicht richtig, da dieser Schritt nach einigen Repetitionen wieder durchgeführt werden muss. Hier wird angenommen, dass der Schritt jedes 5. Mal durchgeführt wird. Daher fallen anteilmäßig pro Batch 2 Stunden dafür an. Die Ernte wird jedes Mal durchgeführt (1 h). Außerdem weist das Batch-Wachstum nach der Biotransformation eine ausgeprägte Lag-Phase auf, was den 1. Schritt um ca. 3 Stunden verlängert: $11,5 + 7 + 2 + 1 + 3 = 24,5$ h (Bühler, 2006).

Durch die Einsparungen sollte der RFB-Modus eigentlich die Prozessführung der Wahl sein. Bei der RFB Kultivierung wird außerdem weniger Animpfkulturen gebraucht. Die RFB Kultivierung wird folgendermaßen durchgeführt: Batch - Fed-Batch - Batch - Fed-Batch - Batch - Fed-Batch usw., wobei etwa 1 % des Fed-Batch als Inokulum für den nächsten Batch dienen. Wenn das Inokulum für den Batch aus einer Animpfkultur kommt, braucht man ein grösseres Inokulum, um auf dieselbe Anfangszell-dichte zu kommen (Bühler, 2006).

Wenn man die Zwischen-Reinigung und Sterilisation analog dem RFB Verfahren beim Fed-Batch-Verfahren 4-5 mal weglässt, dann hat man im Prinzip die gleiche Zeiteinsparung wie beim RFB Verfahren. Es fällt dann die längere Lag-Phase von ca. 3 Stunden weg. Außerdem hat man immer ein frisches Inoculum, wobei allerdings mehr Animpfkultur benötigt wird. Die Einsparung von ca. 3 Stunden ist wahrscheinlich wertvoller als die Einsparung an Animpfkultur. Somit scheint eine solche Variante sehr interessant. Es bleibt experimentell zu überprüfen, ob die Abschätzung bestätigt werden kann.

8.4.2. Zweiphasen-System und das Lösungsmittel

Die Hauptziele des zweiphasigen Systems mit einem organischen Lösungsmittel sind, die Substratverfügbarkeit zu erhöhen und den toxischen Effekt des Substrats bzw. des Produkts zu minimieren. Die oben beschriebenen Vorteile des 2-Phasensystems werden im vorliegenden Fall sehr gut genutzt, vor allem die Reduzierung der Produkttoxizität. Gegenüber dem wässrigen Einphasensystem hat man eine 100-fache Steigerung bei der Produktkonzentration von nur 3-4 mM auf 600 mM in der organischen Phase erreicht (Bühler, 2006). Die Toxizität ist zwar immer noch ein limitierender Faktor, das Konzentrationslimit wurde jedoch stark erhöht. Die Reduktion der Produkttoxizität ist somit der Hauptgrund für den Einsatz des 2-Phasensystems. Ein weiterer Vorteil des Zweiphasensystems ist die Produktstabilisierung. In Wasser wird S-Styroloxid zu Phenylethan-1,2-diol hydrolysiert.

BEHP eignet sich sehr gut als Lösungsmittel. Bei der Planung der Anlage muss man allerdings auf die Beständigkeit sämtlicher Anlagenkomponenten gegenüber dem werkstoffschädigenden BEHP (bekannt als Weichmacher) achten. Als Dichtungsmaterialien können ausschließlich Werkstoffe aus Viton oder Kalrez zum Einsatz kommen (Schmid et al., 2005). Ein besseres, alternatives Lösungsmittel konnte bis jetzt aber noch nicht gefunden werden. Ethyloleat scheint etwas schlechter zu sein, hat aber wahrscheinlich andere Vorteile, z.B. in Hinblick auf Sicherheits-, Gesundheit-, und Umweltaspekte (Bühler, 2006).

8.4.3. Auffangbehälter beim Prozess mit Pertraktion

Im Idealfall laufen die Pertraktion und damit die integrierte Produktisolierung, d.h. ohne Zwischenbehälter, effizient ab. Dadurch wird die Produkttoxizität unterbunden und es erhöht sich die Stabilität des Biokatalysators entsprechend.

Eine genaue Prozessführung kann wegen der fehlenden Daten nur schwer festgelegt werden. Der Auffangbehälter zwischen dem Fermenter und der Extraktionsanlage wurde deshalb nicht

vorgesehen, wird aber aufgrund der bisher erreichten Extraktionsleistung in den Prozessmodellen mit Pertraktion eingesetzt (vgl. Abb. 8.4).

Das Styrol müsste zugefüttert werden. Und das extrahierte Styrol müsste recycelt werden. Für BEHP wären im Idealfall die Styroloxidkonzentrationen im Extraktionsmittel gleich hoch wie im Reaktor. Deshalb müsste man die Brühe wohl auch aufarbeiten und das BEHP müsste recycelt werden.

Eine Kompromisslösung könnte eine Kombination einer integrierten Produktisolierung mit Pertraktion und einer konventionellen Aufarbeitung sein, wo die Brühe am Ende der Biotransformation zuerst gerntet und dann weiter aufgearbeitet wird.

8.4.4. Prozessvarianten mit superkritischen Fluiden

Bei einem Prozess mit der Extraktion und Chromatographie mit überkritischen CO₂ stellt sich die Frage, ob eine selektive Mikrofiltration notwendig ist. Die Frage ist aufgrund der Ergebnisse der qualitativen Vorversuche mit SFE und SFC berechtigt, wonach Styrol und Styroloxid durch SFE problemlos aus BEHP sowie aus der Emulsion gewonnen werden können (Schmid et al., 2005). Basierend auf dem gewonnenen Erkenntnis könnte die Prozessstrategie so aussehen: Biotransformation, Zentrifugation und/oder Mikrofiltration zur Zellrückhaltung, SFE zur Produktgewinnung aus der organischen Phase und SFC zur Produktaufreinigung.

Eine selektive Mikrofiltration wäre vermutlich die bessere Alternative. Es ist aber nicht einfach, eine leistungsfähige und selektive Mikrofiltration zu entwickeln. Eine solche selektive Mikrofiltration ist komplizierter bzw. technisch aufwendiger als eine konventionelle Mikrofiltration zur Zellabtrennung.

Deshalb könnte diese Überlegung interessant sein: Falls die selektive Filtration (noch) nicht funktioniert, geht es wahrscheinlich mit der konventionellen Mikrofiltration zur Zellabtrennung, wobei die BEHP/Wasser-Emulsion als Filtrat inkl. des Produkts durch die Membran fließt. Das Produkt wird dann mittels SFE aus dem Filtrat gewonnen und mittels SFC aufgereinigt.

Eine andere Prozessstrategie könnte wie folgt aussehen: durch Mikrofiltration wird die Zellbiomasse abgetrennt. Hier fließt die Emulsion als Filtrat durch die Membran durch. Anschließend wird eine Zentrifuge zur Emulsionstrennung eingesetzt. Der Ansatz basiert auch auf konventionellen Methoden wie Mikrofiltration und Zentrifugation. Ein anderer Vorteil ergibt sich dadurch, dass SFE nur die organische Phase aufarbeitet, nicht die gesamte Emulsion mit Wasser.

8.4.5. Anlagenauslegung und Investitionen

Auf der Basis einer früheren Publikation (Mathys et al., 1999; beruht auf 10 000 jato) wurden die Kosten eines 1000 jato-Prozesses abgeschätzt. Daraus wurde festgestellt, dass die Investitionen bedeutend niedriger sind und der unterschiedliche Maßstab nicht mehr als eine ganze Größenordnung ausmachen sollte (Bühler, 2006). Für die aktuelle Studie werden die Prozessmodelle auf eine Produktionsrate von 100 jato ausgelegt.

Es stellt sich nun die Frage, warum die Investitionen von Mathys et al. (1999) bedeutend niedriger sind. Zur Beantwortung dieser Frage wurde eine Ursachenforschung durchgeführt. Die Unterschiede in den Investitionen könnten auf drei Hauptursachen zurückzuführen sein:

1. Unterschiedliche Preise für die einzelnen Apparate
2. Unterschiedliche Faktoren zur Ermittlung der Investition
3. Unterschiedliche Anlagenauslegungen

8.4.5.1 Preise für die einzelnen Equipments

Tab. 8.6 stellt exemplarisch die Unterschiede zwischen Preisangaben für Apparate von Mathys et al. (1999) und den entsprechenden Defaultwerten in SuperPro-Designer für das Jahr 2006, die in dieser Arbeit verwendet werden, dar.

Tab. 8.6. Gegenüberstellung von Preisen für Apparate in Mathys et al. (1999) und Defaultwerten in SuperPro-Designer für das Jahr 2006.

Mathys et al. (1999)			SuperPro-Designer (2006)			
	Bezeichnung	Größe	Preis (\$)	Bezeichnung	Größe	Preis (\$)
1	<i>Medium Mix Tank</i>	10 m ³	25 000	<i>Blending Tank</i>	5,5 m ³	188 000
				<i>Receiver Tank</i>	11 m ³	68 000
2	<i>Compressor</i>		22 000	<i>Compressor</i>		56 000
	<i>Compressor</i>		16 000			
3	<i>Seed Tank</i>	1,3 m ³	260 000	<i>Seed Tank</i>	0,62 m ³	465 000
4	<i>Fermentor</i>	13 m ³	600 000	<i>Fermentor</i>	4,8 m ³	620 000

Aus Tab. 8.6 lassen sich folgende Erkenntnisse gewinnen: Der Behälter *Blending Tank*, was gleich oder vergleichbar mit *Mix Tank* ist, mit der Größe von 5,5 m³ kostet in SuperPro-Designer etwa 7,5 mal mehr als der *Medium Mix Tank* mit der Größe von 10 m³. Die etwas billigere Variante (*Receiver Tank*, 11 m³) kostet nach dem Defaultwert von SuperPro-Designer immerhin ca. 2-3 mal mehr. Aus dem Preisvergleich für Kompressoren, was leider ohne Angabe über die Größe bzw. die Kapazität ist, lässt sich feststellen, dass Kompressoren

bei Mathys et al. (1999) immer billiger sind. Mit dem halben Preis erhielten Mathys et al. (1999) einen 2 mal größeren Animpfreaktor und für den gleichen Preis erhielten sie einen 2-3 mal größeren Fermenter.

8.4.5.2 Faktoren zur Ermittlung der Investition

Zur Ermittlung der Investition auf Basis der Anschaffungskosten von Hauptapparaten wird die gleiche Methode mit Faktoren verwendet. Tab. 8.7 stellt die verwendeten Faktoren von Mathys et al. (1999) und in dieser Studie dar. Zum Vergleich werden auch die vorgeschlagenen Faktoren von Heinzle et al. (2007) und Peter und Timmerhaus (2003), sowie die Defaultwerte von SuperPro-Designer dargestellt.

Tab. 8.7. Faktoren zur Ermittlung der Investition

	Mathys et al. (1999)	aktuelle Studie	Heinzle et al. (2007)		SuperPro-Designer	P&T (2003)
			min.	max.		
Installation	0,12	0,47*	0,25*	0,55*	0,47*	0,36
Rohrleitungen	0,07	0,68	0,3	0,8	0,35	0,32
Instrumentierung	0,08	0,26	0,08	0,5	0,4	0,40
Isolierung	-	0,08	0,08	0,09	0,03	-
Elektrisches System	0,10	0,11	0,1	0,4	0,1	0,20
Gebäude	0,25	0,45	0,1	0,7	0,45	0,20
Hof/Gelände	0,18	0,15	0,1	0,2	0,15	0,08
Zusatzseinrichtungen	0,20	0,55	0,4	1	0,4	0,60
Gesamtfaktor	1,00	2,75	1,41	4,24	2,35	2,16

* die Faktoren für Installation sind apparate-spezifisch; P&T steht für Peter und Timmerhaus (2003)

Zu den Faktoren kommen noch Faktoren für *Engineering*, *Construction*, *Contractor's Fee*, und *Contingency*, sowie *Working Capital*, *Start Up* und *Validation*. Für die genannten Faktoren wird auf einen tabellarischen Vergleich, wie in Tab. 8.7, aufgrund der unterschiedlichen Ausführungen verzichtet. Die Gesamtfaktoren kann man aber empirisch aus Anschaffungskosten und Gesamtinvestition ermitteln (Tab. 8.8).

Tab. 8.8. Ermittlung und Vergleich der Gesamtfaktoren

	Mathys et al. (1999) für 10 kilo jato	Standardprozess für 100 jato
Anschaffungskosten	55 688 000	4 623 000
Investition	155 600 000	35 098 000
Gesamtfaktor	2,79	7,59

Tab. 8.7 zeigt deutlich, dass Mathys et al. (1999) wesentlich kleiner Multiplikatorenwerte für ihre Studie verwendet hatten, die insgesamt (1) sogar noch kleiner als der Minimumwert von Heinzle et al. (2007) (1,41) sind. Für die aktuelle Studie werden Faktoren verwendet, die etwa gleich mit den Defaultwerten von SuperPro-Designer und mit den vorgeschlagenen Werten von Peters und Timmerhaus (2003) sind. Mit Berücksichtigung von anderen Kosten wie *Engineering*, *Construction*, *Contractor's Fee*, und *Contingency*, sowie *Working Capital*, *Start Up* und *Validation* ist der Unterschied noch deutlicher (2,79 gegenüber 7,59, Tab. 8.8).

8.4.5.3 Unterschiedliche Anlagenauslegungen

Der erste Schritt der Untersuchung der Auswirkung der unterschiedlichen Auslegungen ist eine einfache Maßstabvergrößerung des Standardprozessmodells der Styrol-Epoxidierung von 100 jato auf 10 kilo jato. Tab. 8.9 stellt Vergleich der Investitionen für die gleiche Jahresproduktion (10 kilo jato) mit den verwendeten Faktoren und mit gleichen Gesamtfaktoren dar.

Tab. 8.9. Vergleich der Investitionen für die gleiche Jahresproduktion (10 kilo jato) mit den bisherigen Faktoren und Szenarien mit gleichen Gesamtfaktoren

	Mathys et al. (1999)	Standardprozess
Anschaffungskosten	55 688 000	61 425 000
Investition	155 600 000	464 538 000
Gesamtfaktor (GF)	2,79	7,56
mit GF von 2,79	155 600 000	171 629 974
mit GF von 7,56	421 150 869	464 538 000

Bei der gleichen Auslegung bzw. Jahresproduktion liegen die Anschaffungskosten bzw. *Purchase Costs* (Summe der Kaufpreise für Anlagenteilen) nicht weit voneinander. Dabei beträgt der Unterschied nur ca. 10 %. Die Gesamtinvestitionen der beiden Prozessmodelle sind aber durch die verwendeten Faktoren extrem unterschiedlich. Die Gesamtinvestition des Standardprozessmodell (ca. 465 Mio. \$) ist ca. 3 mal höher als die von Mathys et al (1999) (ca. 156 Mio. \$). Der große Unterschied ist deutlich auf die verwendeten Faktoren zurückzuführen. Mit gleichen Faktoren würden die Investitionen der beiden Prozessmodelle gleicher Jahresproduktion (für 10 kilo jato) in gleicher Größenordnung liegen. Offensichtlich hängt die Investition stark von der Auslegung ab.

Zur Ergänzung wurde die Auswirkung der Auslegung bzw. der Produktionsmenge auf die spezifischen Betriebskosten und andere ökonomische Größen analysiert. Durch die

Maßstabvergrößerung von 100 jato auf 10 kilo jato ändern sich die spezifischen Betriebskosten von ca. 110 \$/kg Produkt auf ca. 14 \$/kg. Die Wahl der Prozessvariante hat hier eine deutliche Auswirkung sowohl auf die Investition als auch auf die spezifischen Betriebskosten.

8.4.6. Abschätzung der Personalkosten

Es wurde auch eine kleine Vergleichstudie bezüglich der Personalkosten durchgeführt. Dabei wurden zwei unterschiedliche Ermittlungsmethoden verwendet, nämlich über die benötigten Mann-Stunden auf der Operationsebene (in SuperPro-Designer für die aktuelle Arbeit) und über die benötigten Arbeitskräfte pro Schicht bezüglich des Gesamtprozesses wie in der Arbeit von Mathys et al. (1999) (vgl. Kap. 4.2.2.2).

Wegen der unterschiedlichen Faktoren (bei der Arbeit von Mathys et al. (1999) wurde nur ein einziger Supervisionsfaktor von 0,15 verwendet) und aufgrund der unterschiedlichen Auslegungen (100 mal größer) ist ein Vergleich der ermittelten Personalkosten schwierig.

In SuperPro-Designer wird insgesamt ein Faktor von 2,3 verwendet. Der Gesamtgfaktor kommt aus *Benefits Factor* von 0,4, *Operating Supplies Factor* von 0,1, *Supervision Factor* von 0,6 und *Administration Factor* von 0,2 zusammen. Aus dem Basisstundenlohn von 30 \$/h und mit dem Faktor erhält man in SuperPro-Designer 6.0 Personalkosten von 69 \$/h.

Der Basislohn von 30 /h entspricht folgender Angabe für das Jahr 2004: „In der Chemiebranche schlug eine Mannstunde in den USA mit 24 Euro zu Buche, ein japanischer Unternehmer zahlte im Heimatland 28,45 Euro, in England waren es 33 Euro und im Nachbarland Frankreich 35,61 Euro. Am Standort Deutschland dagegen waren 41,57 Euro nötig, um einen Mitarbeiter der Chemiebranche eine Stunde lang zu bezahlen.“ (Editorial von Chemie Ingenieur Technik 8/2006).

Es ist offensichtlich, dass der hohe Unterschied in den spezifischen Personalkosten der beiden Prozessmodelle (von Mathys et al. (1999) und Styroloxidprozessmodell) eher auf diese Faktoren als auf die ermittelten Stunden zurückzuführen ist. Pro Stunde werden beim Standardprozessmodell durchschnittlich knapp 6 Personen benötigt. Beim Prozessmodell von Mathys et al. (1999) wurden 11 Personen pro Schicht eingesetzt.

Der Unterschied in den spezifischen Personalkosten ist möglicherweise auch auf die Auslegungsunterschiede zurückzuführen. Man muss hier aber überprüfen, ob das Ergebnis plausibel ist. Es ist gut möglich, dass die ermittelten Personalkosten zu statisch gegenüber einer Anlagenauslegung sind.

Die beiden Methoden zur Abschätzung von Personalkosten haben jeweils Vor- und Nachteile. Man kann die Personalkosten einfacher über die benötigten Arbeitskräfte pro Schicht abschätzen. Die eine kann zur Validierung der anderen Methode verwendet werden. Welches Ergebnis am Ende rauskommt, hängt eher von den Basiswerten und den Faktoren ab, die von Modellentwicklern eingegeben werden.

8.4.7. Maßstabvergrößerung bzw. Anlagenauslegung

Die Maßstabvergrößerung von Prozessvarianten ist im Modell leicht durchzuführen. In der Realität ist diese jedoch oft nicht einfach, da sie von vielen Faktoren abhängig bzw. limitiert ist. Ein Beispiel dafür ist die Limitierung durch Sauerstoffeintrag. Einerseits bedeutet das, dass man bei der Maßstabvergrößerung mit Prozessmodellen auch technische Dinge beachten sollte, andererseits kann man durch Prozessmodellierung mögliche Auswirkungen von vermuteten technischen Problemen durch die Modellierung und Simulation verschiedener Szenarien vorhersagen und damit leichter analysieren. Es ist bekannt, dass ein Prozess normalerweise nur ab einer bestimmten Produktionskapazität wirtschaftlich sein kann. Um diese Mindestproduktionskapazität zu ermitteln, hilft normalerweise ein Prozessmodell. Hier wird deutlich, dass Prozessmodellierung und experimentelle Versuche sich gut ergänzen. Die eine Seite profitiert von der anderen.

8.5. Fazit und Ausblick

Drei Prozessvarianten der biokatalytischen Epoxidierung von Styrol zu (S)-Styrol und ein chemischer Produktionsprozess mit Hilfe des Jacobsen-Katalysators wurden modelliert und nach ökologischen und ökonomischen Aspekten evaluiert.

Das chemische Prozessmodell zeichnet sich aufgrund der kurzen Batch-Dauer und des kleinen Reaktionsvolumens durch eine niedrige Investition aus, hat aber deutlich höhere spezifische Betriebskosten gegenüber dem biokatalytischen Standardprozessmodell. Im Vergleich zu den biokatalytischen Prozessmodellen hat das chemische Prozessmodell ein deutlich größeres Gefährdungspotential hinsichtlich der Sicherheits-, Gesundheits-, und Umweltaspekte.

Die biokatalytischen Prozessmodelle sind im Allgemeinen ökologisch interessant und haben zusätzlich großes ökonomisches Potential. Weitere Optimierungsarbeiten sind aber notwendig, um die Prozesse insbesondere durch Biokatalysator- und Prozess-Engineering ökonomisch und ökologisch noch attraktiver zu machen.

Bei den biokatalytischen Prozessmodellen verursacht BEHP das größte Gefährdungspotential hinsichtlich der Sicherheits-, Gesundheits- und Umweltaspekte. BEHP soll deshalb möglichst komplett zurückgeführt werden. Wegen werkstoffschädigender Eigenschaften von BEHP ist bei der Anlagenplanung insbesondere auf die Beständigkeit sämtlicher Anlagenkomponenten zu achten. BEHP stellt sich somit als eine Herausforderung bei der Entwicklung der Aufarbeitungsprozesse heraus. Grundsätzlich sollte nach Alternative zu BEHP gesucht werden. Solche Erkenntnisse sollen in möglichst frühen Entwicklungsphasen erkannt werden. Dieses Beispiel zeigt die Wichtigkeit einer integrierten Prozessentwicklung, in der man Aspekte des Gesamtprozesses inklusive der möglichen Aufarbeitung bereits bei der Optimierung der Bioreaktionen mit einbezieht.

Im jetzigen Entwicklungsstand ist aufgrund der niedrigen Extraktionsleistung noch keine integrierte Produktisolierung möglich. Die erwarteten positiven Effekte einer integrierten Produktisolierung lassen sich deshalb weder experimentell noch durch Modellierung bestätigen. Bei den Prozessmodellen mit Pertraktion wurde aus modellierungstechnischen Gründen eine 5mal höhere Extraktionsleistung festgelegt. Mit der Extraktionsleistung und mit einem Dauereinsatz der Pertraktionsanlage während der gesamten Batch-Dauer zeigt sich das ökonomische Potential dieses Verfahrens. Mindestens ca. 10-15mal höhere Extraktionsleistung als die bisher erreichte ($0,5 \text{ g/m}^2 \text{ h}$) ist schätzungsweise notwendig, damit man daraus eine gute Prozessalternative erhalten kann.

Basierend auf den Ergebnissen des Standardprozessmodells und mit Abschätzungen durch Experten wurde die erste Stoffbilanz für das Prozessmodell mit der SFE und SFC erstellt und daraus das Umweltbelastungspotential ermittelt. Das zusätzliche Umweltbelastungspotential durch den Verlust an CO_2 als Extraktionsmittel bzw. mobile Phase ist nicht signifikant, da der Verlust ziemlich gering ist (Massenindex = $0,2 \text{ kg/kg P}$). Andererseits ist durch die scCO_2 -Technologie ein niedrigerer Produktverlust bei der Aufarbeitung zu erwarten. Die bisherigen Versuche sind qualitativ und im analytischen Maßstab. Dies lässt noch keine vernünftige ökonomische Evaluierung zu. Quantitative Versuche im Pilotmaßstab sind für die weitere Prozessentwicklung notwendig.

9. ABSCHLUSSDISKUSSION

In der vorgelegten Arbeit wurde eine systematische Vorgehensweise zur Entwicklung von Bioprozessen erarbeitet. Zwei etablierte Grundprinzipien aus der Entwicklung chemischer Prozesse werden dabei verwendet, nämlich das Vorgehen vom Ganzen zum Detail und die zyklische Vorgehensweise bestehend aus Prozesssynthese und -analyse. Durch Prozesssynthese werden Prozessalternativen generiert, die dann in Form von Prozessmodellen umgesetzt werden. Basierend auf den Prozessmodellen bzw. den erhaltenen Simulationsergebnissen werden die Prozessalternativen nach Nachhaltigkeitsaspekten evaluiert. Die Evaluierung dient sowohl dem Screening aussichtsreicher Prozessalternativen als auch der Ermittlung von Optimierungspotentialen.

Die systematische und durch Computersimulation unterstützte Vorgehensweise soll für Biotech-KMUs bzw. Forschungsinstitutionen bei der Bioprozessentwicklung in frühen Entwicklungsphasen hilfreich sein. Der mit der Prozessentwicklung verbundene Aufwand muss deshalb für Biotech-KMUs bzw. Forschungsinstitutionen mit ihren begrenzten Ressourcen noch vertretbar sein. Die frühen Phasen einer Prozessentwicklung sind durch eine schwache Datenbasis gekennzeichnet. Es wird hier angestrebt durch Prozessmodellierung und -bewertung ausreichend Informationen über zukünftige Prozessalternativen zu gewinnen, um ausreichend sichere, richtungsweisende Entscheidungen treffen zu können.

Die bisher entwickelten Methoden zu Ökobilanzierung erfüllen die oben genannten Charakteristika (möglichst wenig Aufwand und limitierte Datenbasis) nicht. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde deshalb an der Universität des Saarlandes eine ökologische Bewertungsmethode entwickelt, die die oben genannten Anforderungen und Charakteristika erfüllt. Die aktuelle Bewertungsmethode beinhaltet Verbesserungen im Vergleich zu der vorherigen (Biwer, 2003; Biwer und Heinzle 2004). Die Anzahl der für die ABC-Klassifizierung notwendigen Stoffdaten wird reduziert und auf leicht und allgemein zugängliche beschränkt. Andere Verbesserungen liegen in der Ermittlung der Umweltfaktoren einzelner Stoffe aus den vorliegenden Stoffdaten und in der Ermittlung der Umweltkennzahl. In der aktuellen Methode wird auf Gruppierung von Wirkungskategorien in entsprechende Wirkungsklassen verzichtet. Stattdessen wird die relative Bedeutung bzw. Umweltrelevanz der einzelnen Wirkungskategorien berücksichtigt.

Diese Verbesserung ermöglicht auch die Implementierung der ökologischen Bewertungsmethode in Umberto (als Basis für das entwickelte Tool Sabento), obwohl eine Einzellstoffbetrachtung im *Valuation System Editor* von Umberto 4.0 wegen

Softwarebeschränkungen nicht durchführbar ist. Der Zugriff auf die Summe aller Stoffströme gleicher Eigenschaften ist dagegen möglich. Die Umweltkennzahl der aktuellen Methode wird deshalb in Umberto über die Umweltkennzahlen einzelner Wirkungskategorien ermittelt. Dadurch verliert man jedoch die sehr wichtige Information darüber, welche Stoffe die größten Gefährdungspotentiale haben. Viel wichtiger als Informationen über Gefährdungspotentiale in einzelnen Wirkungskategorien sind Informationen über Gefährdungspotentiale einzelner Stoffe, die zur Erkennung von „Problemstoffen“ benötigt werden. In Zukunft soll dieses Problem durch den Partner Ifu GmbH, Hamburg, gelöst werden.

Die beschriebene ökologische Bewertungsmethode basiert auf Stoffbilanzen und -eigenschaften. Eine wichtige Grundlage dieser Bewertungsmethode ist eine „saubere“ Stoffbilanz, d.h. alle Stoffströme müssen definiert sein. Für Stoffgemische nicht oder nur unvollständig definierter Zusammensetzung wie z.B. Fermentationsbrühe ist die Methode der ABC-Klassifizierung nicht in exakt derselben Art und Weise einsetzbar. Durch Abschätzung der Zusammensetzung kann jedoch eine erste Einstufung durchaus erfolgen.

Bei der Erarbeitung der Fallbeispiele konnten Hinweise bzw. Anregungen zur Verbesserung der Methode gewonnen werden. Im Fall des Gewinnungsprozess von HSA aus Gerste verursacht die anfallende Rest-Gerste ein sehr hohes Gefährdungspotential im Vergleich zu den anderen Stoffen, verursacht durch die Kategorie Eutrophierung. Aufgrund des C-Gehalts wird die Rest-Gerste der Klasse B der Kategorie Eutrophierung zugeordnet. In der Praxis gelangt die Rest-Gerste aber weitgehend nicht ins Abwasser. Sie wird als organischer Abfall abgetrennt. Das bedeutet, dass sie eigentlich keine Relevanz für die Kategorie Eutrophierung hat. Man kann sie daher aus dem genannten Grund der Klasse C zuordnen.

Gegenüber der Anlagenauslegung bzw. Maßstabvergrößerung sind die Umweltkennzahlen im Vergleich zu den ökonomischen Größen sehr statisch. Jede Maßstabvergrößerung ist in Investitions- und in Betriebskosten sofort bemerkbar, jedoch nicht in der Umweltkennzahl, wenn die Massenindices bei der Maßstabvergrößerung gleich bleiben, was der Normalfall ist. Für eine detaillierte Evaluierung in weiteren Prozessentwicklungsphasen könnten Prozessdaten über Hauptapparate bzw. Teilanlagen einbezogen werden, da Gefährdungspotentiale mit Stoffen und Anlagen, aber auch mit der Anlagengröße zusammenhängen. Dabei muss man darauf achten, dass der mit einer solchen Evaluierung verbundene Aufwand in einem vertretbaren Rahmen bleibt.

In der ökonomischen Bewertung werden Betriebs- und Investitionskosten sowie einige Wirtschaftlichkeitsgrößen ermittelt. Zur Erkennung von Optimierungspotentialen werden in dieser Arbeit die prozentuellen Anteile von Kostenkomponenten angewendet, während in der

Literatur die Anwendung der so genannten Ökonomischen Potentiale und Ökonomischen Indices vorgeschlagen wurde (Douglas, 1988; Heinzle et al., 1998). Anders als beim Hierarchie-Prinzip von Douglas (1988) betrachtet man hier zuerst die Betriebskosten und ihre Verteilung, bevor man die Verteilung der Materialkosten genauer unter der Lupe nimmt.

Es ist oft schwierig, ohne Referenz eine erste Abschätzung der benötigten Investitionen für die zu entwickelnden (Bio)-Prozesse zu machen. Es fehlen oft Anhaltspunkte für solche Abschätzungen. Eine „Benchmarking-Studie“ über Investitionen in Abhängigkeit von Produktarten und Produktionskapazitäten könnte diese Lücke wahrscheinlich schließen. Eine solche Studie ist aber nicht einfach, da Investitionssummen von vielen Faktoren abhängig sind, z.B. ob es dabei um neue Anlagen oder um die Erweiterung bzw. Umstellung bestehender Anlagen geht.

Die Ergebnisse der ökonomischen Evaluierung sind von den eingegebenen Daten, den verwendeten (Multiplikations-)Faktoren und der Vollständigkeit der Prozessmodelle abhängig, auf denen die ökonomische Evaluierung basiert. Bei einem Vergleich von Ergebnissen zweier unabhängig voneinander durchgeführten Evaluierungen muss man nicht nur die Ergebnisse, sondern auch die verwendeten Basisdaten und Faktoren beachten.

Soziale Aspekte der Nachhaltigkeit werden bei der Prozessentwicklung wenig berücksichtigt. In der letzten Zeit wurden einige soziale Bewertungsmethoden, wie z.B. die sozialen Bewertungen in SEEbalance® von BASF (Schmidt, 2003; Schmidt et al., 2004) und in Sabento, (Geibler et al., 2005; 2007) entwickelt. Im Kontext einer Prozessevaluierung in frühen Entwicklungsphasen muss man aber darauf achten, dass die Evaluierungsergebnisse für Screening- und Optimierungszwecke verwendbar sind. Deshalb müssen die Kriterien bzw. Indikatoren einen direkten Bezug zu Prozess- und Stoffdaten haben. In dieser Arbeit wurden einige Kriterien bzw. Indikatoren der sozialen Aspekte ausgewählt, die direkten Bezug zu den Prozess- und Stoffdaten haben. Notwendig wäre aber noch die Klärung der Frage, wie die Prozess- und Stoffdaten mit den sozialen Kategorien bzw. Indikatoren konkret verknüpft werden sollen. Eine weitere Herausforderung bei der Methodenentwicklung ist eine Integrierung der ökonomischen, ökologischen und sozialen Aspekte.

Für die Modellierung von Bioprozessen ist SuperPro-Designer zwar sehr gut geeignet, man braucht dafür aber eine gewisse Einarbeitungszeit. In Rahmen dieser Arbeit wurden Teile einer Software zur Bioprozessentwicklung (Sabento) insbesondere für Biotech-KMUs und Forschungsinstitutionen entwickelt. Die Prozessmodellierung in Sabento soll im Vergleich zu der in SuperPro-Designer einfacher sein. Dafür wurde die so genannten modulbasierte Modellierung entwickelt, wobei ein Modul sowohl eine Grundoperation (Unitmodul) als auch

eine typische Gruppe von Bioprozessschritten (Blockmodul) repräsentieren kann. Dadurch lässt sich ein Prozessmodell leicht erstellen.

Das Konzept mit Blockmodulen ist sehr sinnvoll und kann theoretisch auch in SuperPro-Designer eingesetzt werden. In der Praxis ist dies aber nicht ohne weiteres machbar. Das Kopieren-und-Einfügen von Teilabschnitten eines Prozessmodells von einem Arbeitsblatt auf ein anderes ist in SuperPro-Designer zwar möglich, verliert man aber das bereits erstellte *Scheduling*. In SuperPro-Designer besteht außerdem keine Möglichkeit einen Teilabschnitt eines Prozessmodells als Modul zu speichern wie in Umberto. Die Entwickler von SuperPro-Designer haben auch auf Grund unserer Anregungen die Vorteile des Konzepts mit Blockmodulen erkannt. Eine Implementierung eines solchen Konzepts ist aktuell im Gange (Koulouris, 2006)

In Rahmen dieser Arbeit wurden drei Fallbeispiele erarbeitet. Bei diesen handelt es sich um Forschungsprojekte zur Entwicklung von Bioprozessen. In vielen Fällen entwickelt man eine Technologie-Plattform zur Produktion von bestimmten Produktarten, nicht ein Produktionsprozess für ein bestimmtes Produkt. Das gilt auch bei den drei Fallbeispielen und insbesondere beim Gerste-Prozess. Mit dem Gerste-Prozess entwickelt man eine Technologie-Plattform zur Produktion von pharmazeutischen Proteinen. Ökonomisch gesehen eignet sich der Gerste-Prozess nur zur Produktion von teureren Proteinen als HSA. Aus der ökonomischen Bewertung der Biotransformation in einem zweiphasigen System (ionische Flüssigkeit/Wasser) wurde festgestellt, dass man nur Produkte mit dem Verkaufspreis höher als 200 \$/kg gewinnbringend produzieren kann. Dabei spielt der Preis für die ionische Flüssigkeit eine zentrale Rolle.

Mittels der ökologischen Bewertung wurden die Stoffe mit den größten Optimierungspotentialen identifiziert. Daraus wurden Lösungsalternativen entwickelt. Beim Prozess mit der ionischen Flüssigkeit ist Hexan einer der Problemstoffe. Durch direkte Destillation ohne vorherige Extraktion könnte man dieses Problem durch Elimination von Hexan in idealer Weise lösen. Ökonomisch gesehen hat Hexan nur eine sehr geringe Bedeutung. Im Gerste-Prozess liegt das größte Optimierungspotential bei einer Reduzierung des Wasserverbrauchs. Ausgehend von der großen Menge anfallender Gerste-Reste werden Lösungsstrategien mit Anreicherung über Trockenfraktionierungen oder Erhöhung des HSA-Gehalts mittels gentechnischer Methoden empfohlen.

Im Fallbeispiel (S)-Styroloxid stellt sich BEHP wegen werkstoffschädigender Eigenschaften als eine Herausforderung bei der Entwicklung der Aufarbeitungsprozesse heraus. Außerdem hat BEHP ein großes Gefährdungspotential. Deshalb sollte nach Ersatz von BEHP gesucht

werden. Die Erkenntnis verdeutlicht die Bedeutung einer integrierten Prozessentwicklung, in der man beispielsweise auf mögliche Probleme bei der Aufarbeitung bereits bei der Optimierung der Bioreaktionen und sogar bei der Biokatalysatorentwicklung achtet.

Aus der Erarbeitung der Fallbeispiele lässt sich feststellen, dass die erarbeitete Vorgehensweise für Biotech-KMUs und Forschungsinstitutionen bei der Prozessentwicklung sehr hilfreich sein kann. Die entwickelte Bewertungsmethode ist angepasst für den Einsatz in frühen Entwicklungsphasen und geeignet für die angepeilten Anwendergruppen (KMUs und Forschungsinstitution). Über Prozessevaluierung hinsichtlich der ökonomischen und ökologischen Aspekte lassen sich Optimierungspotentiale mit einem vertretbaren Aufwand erkennen. Die Methode lässt sich auch als Entscheidungshilfe über Abbruch oder Fortsetzung der Entwicklung von Prozessalternativen gut anwenden.

LITERATURVERZEICHNIS

- Abdul Kholiq, M. und Heinzle, E. (2006) Prozessmodellierung und Nachhaltigkeitsbewertung einer Ganzzellbiotransformation im zweiphasigen System ionische Flüssigkeit/Wasser. *Chem. Ing. Tech.*, **78**, 307-316.
- Abdul Kholiq, M. und Heinzle, E. (2007) Production of recombinant human serum albumin. In: Heinzle, E., Biber, A. und Cooney, C. (eds.) *Development of Sustainable Bioprocesses – Modeling and Assessment*. John Wiley & Sons, Chichester, im Druck.
- Adcock, W., MacGregor, A., Davies, J., Hattarki, M., Anderson, D. und Goss, N. (1998) Chromatographic removal and heat inactivation of hepatitis A virus during manufacture of human albumin. *Biotechnol. Appl. Biochem.*, **28**, 85–94.
- Amersham Biosciences (2002) Cost analysis study favours Streamline for capture. *Downstream*, **34**, 16-18.
- Amersham Pharmacia (1998) Amersham Pharmacia Biotech chosen to supply equipment for recombinant human serum albumin production. *Downstream*, **27**, 23.
- Amidjojo, M. (2004) Reaktionstechnische Untersuchungen zur asymmetrischen Synthese von chiralen Alkoholen mit *Lactobacillus kefir*. *Dissertation*, TU München.
- Anthony, J.L., Maginn, E.J. und Brennecke, J.F. (2001) Solution thermodynamics of imidazolium-based ionic liquids and water. *J. Phys. Chem.*, **105**, 10942-10949.
- Archibald, T. (2002) Recent advances in the commercialization of Eric Jacobsen's hydrolytic kinetic resolution. <http://www.thomasarchibald.com>.
- Asenjo, J.A., Montagna, J.M., Vecchiotti, A.R., Iribarren, O.A. und Pinto, J.M. (2000) Strategies for the simultaneous optimization of the structure and the process variables of a protein production plant. *Comput. Chem. Eng.*, **24**, 2277-2290.
- Ballance, J. (2001) Characterization of yeast-derived recombinant human albumin. IBC Well Characterized Biologicals Conference. Seattle. <http://www.transgenics.com/>
- Berkemeyer, M. (2004) (persönliche Kommunikation)
- BioStoffV (1999) Verordnung zur Umsetzung von EG-Richtlinien über den Schutz der Beschäftigten gegen Gefährdung durch biologische Arbeitsstoffe bei der Arbeit, 27. Januar 1999 (<http://www.bmwi.de/Navigation/Service/Gesetze/rechtsgrundlagen-arbeitsschutz,did=24164.html>)

- Biwer, A. (2003) Modellbildung, Simulation und ökologische Bewertung in der Entwicklung biotechnologischer Prozess. *Dissertation*, Universität des Saarlandes, Saarbrücken.
- Biwer, A. und Heinzle, E. (2004) Environmental assessment in early process development. *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, **79**, 597–609.
- Blass, E (1997) *Entwicklung verfahrenstechnischer Prozesse: Methoden, Zielsuche, Lösungssuche, Lösungswahl*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg.
- Bräutigam, S. (2005) (persönliche Kommunikation)
- Bühler, B. (2006) (persönliche Kommunikation)
- Burnouf, T. (1995) Chromatography in plasma fractionation: Benefits and future trends. *J. Chromatogr. Biomed. Appl.*, **664**, 3-15.
- Buschulte, T. K. und Heimann, F. (1995) Verfahrensentwicklung durch Kombination von Prozeßsimulation und Miniplant-Technik. *Chem. Ing. Tech.*, **67**, 718 – 723.
- Bushell, M., Rowe, M., Avignone-Rossa, C. und Wardell, J. (2003) Cyclic fed-batch culture for production of human serum albumin in *Pichia pastoris*. *Biotechnol. Bioeng.*, **82**, 679-683.
- Cereghino, J. und Cregg J. (2000) Heterologous protein expression in the methylotrophic yeast *Pichia pastoris*. *FEMS Microbiol. Rev.*, **24**, 45-66.
- Ciccolini, L.A.S., Ayazi Shamlou, P., Dunnill, P. und Titchener-Hooker, N.J. (2002) A mass balance study of the effects of the primary recovery of plasmid DNA from *Escherichia coli*. *Biotech. Bioeng.* **77**, 796-805.
- Cino, J. (1999) High yield protein production from *Pichia pastoris* yeast - A protocol for benchtop fermentation. Am. Biotechnol. Lab. May edition.
http://www.nbsc.com/files/papers/ABL_Pichia.pdf
- Cornelissen, G., Bertelsen, H., Hahn, B., Schultz, M., Scheffler, U., Werner, E., Leptien, H., Krüß, S., Jansen, A., Gliem, T., Hielscher, M., Wilhelm, B., Sowa, E., Radeke, H. und Luttmann, R. (2003) Herstellung rekombinanter Proteine mit *Pichia pastoris* in Integrierter Prozessführung. *Chem. Ing. Tech.*, **75**, 281-290.
- Cregg, J. (2005) Heterologous proteins expressed in *Pichia pastoris*.
<http://faculty.kgi.edu/cregg/Pichia2004.htm>
- Curbelo, D., Gahrke, G., Anspach, F., Deckwer, W. (2003) Cost comparison of protein capture from cultivation broths by expanded and packed bed adsorption. *Eng. Life Sci.*, **3**, 406-415.

- Cziner, K., Virkki-Hatakka, T., Hurme, M. und Turunen, I. (2005) Evaluate approach for process development. *Chem. Eng. Technol.*, **28**, 1490-1499.
- d'Anjou, M. und Daugulis, A. (2000) Mixed-feed exponential feeding for fed-batch culture of recombinant methylotrophic yeast. *Biotechnol. Lett.*, **22**, 341–346.
- Daun, G., Bartenbach, B. und Battrum, M. (1999) Praxisrelevante Simulationswerkzeuge für mehrstufige Batch-Prozesse. *Chem. Ing. Tech.*, **71**, 1253 – 1261.
- Dechema (2005) *CHEMSAFE*. <http://www.dechema.de/Chemsafe.html>.
- Delta Technology (2003) Delta technology goes into another large scale manufacturing facility. <http://www.deltabiotechnology.com/>
- Douglas, J.M. (1988) *Conceptual Design of Chemical Processes*. McGraw-Hill, Inc. New York.
- Dubois, G., Murphy, A. und Stack, T.D.P. (2003) Simple iron catalyst for terminal alkene epoxidation. *Org. Lett.*, **5**, 2469-2472.
- Eckstein, M. (2004) Alcohol dehydrogenase catalysed reductions in non-conventional media. *Dissertation*, Universität Rostock.
- Eckstein, M., Villela Filho, M., Liese, A. und Kragl, U. (2004) Use of an ionic liquid in a two-phase system to improve an alcohol dehydrogenase catalysed reduction. *Chem. Comm.*, 1084-1085.
- Evangelista, R., Kusnadi, A., Howard, J. und Nikolov, Z. (1998) Process and economic evaluation of the extraction and purification of recombinant b-Glucuronidase from transgenic corn. *Biotechnol. Prog.*, **14**, 607-614.
- FAO Statistics (2004) http://www.fao.org/waicent/portal/statistics_en.asp.
- Farid, S., Novais, J.L., Karri, S., Washbrook, J. und Titchener-Hooker, N.J. (2000) A tool for modelling strategic decisions in cell culture manufacturing. *Biotechnol. Prog.*, **16**, 829-836.
- Farid, S.S., Washbrook, J. und Titchener-Hooker, N.J. (2005) Decision-support tool for assessing bio-manufacturing strategies under uncertainty: Stainless steel versus disposable equipment for clinical trial material preparation. *Biotechnol. Prog.*, **21**, 486-497.
- Flesland, O., Seghatchian, J. und Solheim, B. (2003) The Norwegian plasma fractionation project - a 12 year clinical and economic success story. *Transf. Apher. Sci.*, **28**, 93-100.

- Freitas, S.S., Santos, J.A.L. und Prazeres, D.M.F. (2007) Plasmid DNA. In: Heinzle, E., Biber, A. und Cooney, C. (eds.) *Development of Sustainable Bioprocesses – Modeling and Assessment*. John Wiley & Sons, Chichester, im Druck.
- Geibler, J.v., Liedtke, C., Eckermann, A. et al. (2005) Soziale Bewertung der Nachhaltigkeit von biotechnologisch hergestellten Produkten. Wuppertal Institut GmbH, Wuppertal.
- Geibler, J.v., Wallbaum, H. und Liedtke, C. (2007) Assessing social aspects. In: Heinzle, E., Biber, A. und Cooney, C. (eds.) *Development of Sustainable Bioprocesses – Modeling and Assessment*. John Wiley & Sons, Chichester, im Druck.
- GenTG (1993) Gesetz zur Regelung der Gentechnik (Gentechnikgesetz – GenTG) 16. Dezember 1993. Zweites Gesetz zur Änderung des Gentechnikgesetzes (2. GenTG-Ändg). 16. August, 2002.
- GenTSV (1995) Verordnung über die Sicherheitsstufen und Sicherheitsmaßnahmen bei gentechnischen Arbeiten in gentechnischen Anlagen (Gentechnik-Sicherheitsverordnung – GenTSV), 14. März 1995
- Gosling, I. (2005) Process simulation and modeling for industrial bioprocessing: Tools and techniques. *Ind. Biotechnol.*, **1**, 106-109.
- GTC Biotherapeutics (2002) Annual Report 2002. Framingham, MA.
<http://www.transgenics.com/>
- Haberland, J. (2003) Verfahrensentwicklung zur Darstellung von (2R,5R)-Hexandiol mit *Lactobacillus kefir* DSM20587. *Dissertation*, Universität Bonn.
- Heinzle, E. und Hungerbühler, K. (1997) Integrated process development: The key to future production of chemicals. *Chimia*, **5**, 176-183.
- Heinzle, E., Biber, A. und Cooney, C. (eds.) (2007) *Development of Sustainable Bioprocesses – Modeling and Assessment*. John Wiley & Sons, Chichester, im Druck.
- Heinzle, E., Biber, A., Eissen, M. und Abdul Kholiq, M. (2006) Bewertung biotechnologischer Prozesse in frühen Phasen der Entwicklung hinsichtlich Risiken bezüglich Ökologie, Sicherheit und Gesundheit. *Chem. Ing. Tech.*, **78**, 301-305.
- Heinzle, E., Weirich, D., Brogli, F., Hoffmann, V., Koller, G., Verduyn, M.A. und Hungerbühler, K. (1998) 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.*, **37**, 3395-3407.

- Hood, E., Kusnadi, A., Nikolov, Z. und Howard, J. (1999) Molecular farming of industrial proteins from transgenic maize. *J. Chemicals via Higher Plant Bioengineering*, 127-147.
- Horvath, H., Huang, J., Wong, O.T., Kohl, E., Okita, T., Kannangara, C.G. und von Wettstein, D. (2000) The production of recombinant proteins in transgenic barley grains. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **97**, 1914-1919
- Hou, D. (2001) Jacobsen hydrolytic kinetic resolution - from development to scale-up - the styrene oxide story. Präsentationsmaterial Gordon Research Conference. 23. Juli 2001.
- Hungerbühler, K., Ranke, J. und Mettier, T. (1998) *Chemische Produkte und Prozesse – Grundkonzept zum umweltorientierten Design*. Springer-Verlag. Berlin.
- HVBG (2005) *GESTIS*. Hauptverband der gewerblichen Berufsgenossenschaft (HVBG) <http://www.hvbg.de/bia/stoffdatenbank>.
- Ilgen, C., Cereghino, J. und Cregg J. (2005) *Pichia pastoris*. In: Gellissen, G.: *Production of recombinant proteins*. Wiley-VCH: Weinheim, 143-162.
- Jahic, M., Rotticci-Mulder, J., Martinelle, M., Hult, K. und Enfors, S. (2002) Modeling of growth and energy metabolism of *Pichia pastoris* producing a fusion protein. *Bioproc. Biosyst. Eng.*, **24**, 385-393.
- Kaketsuken (2000) Human blood serum albumen. Press release translation from Nikkei Sangyo Shinbun. 15 December 2000. <http://www.deltabiotechnology.com/>
- Keith, M.J., Larrow, J.F. und Jacobsen, E.N. (2001) Practical considerations in kinetic resolution reactions. *Adv. Synth. Catal.*, **343**, 5-26.
- Kobayashi, K. (2000) Production of recombinant human serum albumin from the methylotrophic yeast *Pichia pastoris*. *Downstream*, **31**, 5.
- Koller, G., Fischer, U. und Hungerbühler, K. (2000) Assessing safety, health, and environmental impact during early process development. *Ind. Eng. Chem. Res.*, **39**, 960-972.
- Korevaar, G. (2004) Sustainable chemical processes and products - new design methodology and design tools. *Dissertation*, Technische Universität Delft.
- Kostandini, G. (2004) Potential impacts of pharmaceutical uses of transgenic tobacco - the case of human serum albumin and Gaucher's Disease treatment. *Masterthesis*, Virginia Polytechnic Institute and State University: Blacksburg.

- Koulouris, A. (2006) (persönliche Kommunikation)
- Kristiansen, B. (2001) Process economic. In: Ratledge, C. und Kristiansen, B. *Basic Biotechnology*. Cambridge University Press. Cambridge, UK.
- Kusnadi, A., Evangelista, R., Hood, E., Howard, J. und Nikolov, Z. (1998) Processing of transgenic corn and its effect on the recovery of b-Glucuronidase. *Biotechnol. Bioeng.*, **60**, 44-52.
- Kusnadi, A., Hood, E., Witcher, D., Howard, J. und Nikolov, Z. (1998) Production and purification of two recombinant proteins from transgenic corn. *Biotechnol. Prog.*, **14**, 149-155.
- Kusnadi, A., Nikolov, Z. L. und Howard, J. (1997) Production of recombinant proteins in transgenic plants - practical considerations. *Biotechnol. Bioeng.*, **56**, 473-484.
- Laitinen, A. (2000) Supercritical fluid extraction of organic compounds from solids and aqueous solutions. *Dissertation*, Helsinki University of Technology, Finland.
- Lembke, P. (2006) (persönliche Kommunikation).
- Lienqueo, M.E., Salgado, J.C. und Asenjo, J.A. (1999) An expert system for selection of protein purification processes: experimental validation. *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, **74**, 293-299.
- Lührs, R. (2003) Produktion therapeutischer Proteine in Bioreaktoren. Workshop Nachhaltigkeit biotechnologischer Produktion. Frankfurt, 3. - 4.11.2003.
- Maase, M. (2004) Erstes technisches Verfahren mit ionischen Flüssigkeiten. *Chemie in unserer Zeit*, **38**, 434 - 436.
- Maltagen (2005) Molecular farming: production of high-value proteins in barley. (www.maltagen.de)
- Marquardt, W. (2005) Prozessentwicklung in der Verfahrenstechnik. Vorlesungsskript, RWTH-Aachen.
- Mathys, R.G., Schmid, A. und Witholt, B. (1999) Integrated two-liquid phase bioconversion and product-recovery processes for the oxidation of alkanes - process design and economic evaluation. *Biotechnol. Bioeng.*, **64**, 459-477.
- McCabe, W., Smith, J. und Harriot, P. (2001) *Unit operations of chemical engineering*. McGraw-Hill, Inc. New York.
- Merck (2006) ChemDAT – die Merck Chemie Datenbank. Darmstadt.

- Meyer, T. (2003) Pharmaplan case study – Green Cross Vaccine Corp. *CHEManager*, **15**, 11-14.
- Nielsen, J., Villadsen, J. und Lidén, G. (2003) *Bioreaction Engineering Principles*. 2nd Edition. Kluwer Academic. New York.
- Noda, M., Sumi, A., Ohmura, T. und Yokoyama, K. (1999) Process for purifying recombinant human serum albumin. *US Patent*, **5,962,649**.
- OECD (1998) *Biotechnology for clean industrial products and processes - towards industrial sustainability*. Organization for Economic Cooperation and Development (OECD), Paris.
- OECD (2001) *The application of biotechnology to industrial sustainability*. Organization for Economic Cooperation and Development (OECD), Paris.
- Ohmura, T., Sumi, A., Ohtani, W., Furuhashi, N., Takeshima, K., Kamide, K., Noda, M., Kondo, M., Ishikawa, S., Oohara, K., Yokoyama, K. und Fujiwara, N. (1999) Recombinant human serum albumin, process for producing the same and pharmaceutical preparation containing the same. *US Patent*, **5,986,062**.
- Ohya, T., Ohyama, M. und Kobayashi, K. (2005) Optimization of human serum albumin production in methylotrophic yeast *Pichia pastoris* by repeated fed-batch fermentation. *Biotechnol. Bioeng.*, **90**, 876-887.
- Otto, K., Hofstetter, K., Röthlisberger, M., Witholt, B. und Schmid, A. (2004) Biochemical characterization of StyAB from *Pseudomonas sp.* Strain VLB120 as a two-component flavin-diffusile monooxygenase. *J. Bacteriol.*, **186**, 5292-5302.
- Perry, R., Green, D. und Maloney, J (1997) *Perry's chemical engineers' handbook*. McGraw-Hill, New York.
- Peters, M.S. und Timmerhaus, K.D. (1991) *Plant Design and Economics for Chemical Engineers*. McGraw-Hill, New York.
- Peters, M.S., Timmerhaus, K.D., West, R.E. (2003) *Plant Design and Economics for Chemical Engineers*. McGraw-Hill, New York.
- Petrides, D.P. (1991) Computer-aided design of integrated biochemical processes - development of BioDesigner. *Dissertation*, Massachusetts Institute of Technology (MIT), Boston.
- Petrides, D.P. (2003) Bioprocess Design. In: Harrison, R.G., Todd, P., Rudge, S.R. und Petrides, D.P. *Bioseparations Science and Engineering*. Oxford University Press, Oxford.

- Pfründer, H. (2005) Ganzzell-Biokatalyse in Gegenwart ionischer Flüssigkeiten. *Dissertation*, TU München.
- Pfründer, H., Amidjojo, M., Hang, F. und Weuster-Botz, D. (2005) Production of *Lactobacillus kefir* cells for asymmetric synthesis of a 3,5-dihydroxycarboxylate. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **67**, 619-622
- Pfründer, H., Amidjojo, M., Kragl, U. und Weuster-Botz, D. (2004) Effiziente Ganzzell-Biotransformation im zweiphasigen System ionische Flüssigkeit/Wasser. *Angew. Chem.*, **116**, 4629-4631.
- Pharmaceutical-Technology.com (2001) Bipla human serum albumin plant.
<http://www.pharmaceutical-technology.com/projects/chitose/>
- Prazeres, D.M.F. und Ferreira, G.N.M (2003) Design of flowsheets for the recovery and purification of plasmids for gene therapy and DNA vaccination. *Chem. Eng. Proc.*, **43**, 615-630.
- Reifferscheid, M. und Bronnenmeier, K. (2004) Front-End-Engineering für Pharmazieanlagen. Neuer Designansatz für biotechnologische Projekte. *Linde Technology*, **1**, 4-8
- Ren H., Yuan J. und Bellgardt K. (2003) Macrokinetic model for methylotrophic *Pichia pastoris* based on stoichiometric balance. *J. Biotechnol.*, **106**, 53-68.
- Renner, I. und Klöpffer, W. (2003) Untersuchung der Anpassung von Ökobilanzen an spezifische Erfordernisse biotechnischer Prozesse und Produkte. Abschlussbericht zum UFOPLAN-Vorhaben 201 66 306 im Auftrag des Umweltbundesamtes.
- Roth, L. (1990ff) *Sicherheitsdaten MAK-Werte* (mit Ergänzungslieferungen). Ecomed, Landsberg.
- Schilling, B., Goodrick, J. und Wan, N. (2001) Scale-up of a high cell density continuous culture with *Pichia pastoris* X-33 for the constitutive expression of rh-Chitinase. *Biotechnol. Prog.*, **17**, 629-633.
- Schmid, A., Chmiel, H., Bühler, B., et al. (2005) Entwicklung eines nachhaltigen Verfahrens zur prozessintegrierten rekombinanten Biokatalyse für hochselektive Epoxidierungen. Abschlussbericht des von der DBU geförderten Forschungsvorhabens AZ 13095.
- Schmidt, I. (2003) Die soziale Nachhaltigkeitsdimension von Produkten und Verfahren – Konzeptionelle Überlegungen zur Entwicklung einer Bewertungsmethodik auf Grundlage der BASF-Ökoeffizienz-Analyse. *Studien zur Geographie und Geoökologie*, **18**, 145-159

- Schmidt, I., Saling, P., Reuter, W., Meurer, M., Kicherer, A. und Gensch, C.O. (2004) SEEBalance®: managing sustainability of products and processes with the socio-economic efficiency analysis by BASF. *Greener Management International (GMI)*, **45**, 79-94.
- Shanklin, T., Roper, K., Yegneswaran, P. K. und Marten, M.R. (2001) Selection of bioprocess simulation software for industrial applications. *Biotechnol. Bioeng.*, **72**, 483-489.
- Siegel, R. und Brierley, R. (1989) Methylotrophic yeast *Pichia pastoris* produced in high-cell-density fermentations with high cell yields as vehicle for recombinant protein production. *Biotechnol. Bioeng.*, **34**, 403-404.
- Sijmons, P., Dekker, B., Schrammeijer, B., Verwoerd, T., van den Elzen, P. und Hoekema, A. (1990) Production of correctly processed human serum albumin in transgenic plants. *Biotechnol.*, **8**, 217-221.
- Smola, T (2001) Das Spaltenmodell. Berufsgenossenschaftliches Institut für Arbeitssicherheit, St. Augustin (<http://www.hvbg.de/d/bia/pr/spalte/spaltmod.pdf>)
- Sreekrishna, K., Tschopp, J., Thill, G., Brierley, R. und Barr, K. (1998) Expression of human serum albumin in *Pichia pastoris*. *US Patent*, **5,707,828**.
- Statistisches Bundesamt (2004) <http://www.destatis.de/basis/d/forst/forsttab7.php>.
- Sumi, A., Okuyama, K., Kobayashi, K., Ohtani, W., Ohmura, T. und Yokoyama, K. (1999) Purification of recombinant human serum albumin – efficient purification using STREAMLINE. *Bioseparation*, **8**, 195-200.
- Tanaka, K., Shigueoka, E., Sawatani, E., Dias, G., Arashiro, F., Campos, T. und Nakao, H. (1998) Purification of human albumin by the combination of the method of Cohn with liquid chromatography. *Br. J. Med. Biol. Res.*, **31**, 1383-1388.
- Trinh, L., Phue, J. und Shiloach, J. (2003) Effect of methanol feeding strategies on production and yield of recombinant mouse endostatin from *Pichia pastoris*. *Biotechnol. Bioeng.*, **82**, 438-44.
- Umweltbundesamt (1999) Bewertung in Ökobilanzen - Methode des Umweltbundesamtes zur Normierung von Wirkungsindikatoren, Ordnung (Rangbildung) von Wirkungskategorien und zur Auswertung nach ISO 14042 und 14043. Texte 92/99
- US Geological Survey (2005) <http://minerals.usgs.gov/minerals/>
- van Oers, L., de Koning, A., Guinée, J.B. und Huppes, G. (2002) *Abiotic resource depletion; improving characterisation factors for abiotic resource depletion in LCA*. Road and

- Hydraulic Engineering Institute, Leiden.
<http://www.leidenuniv.nl/cml/ssp/projects/abioticdepl.html>.
- Villela-Filho, M. (2003) Enantioselective reduction of hydrophobic keto compounds in multiphase bioreactor. *Dissertation*, Universität Bonn.
- Wallman, S. (2003) Process controlled fed-batch fermentation on recombinant HSA secreting *Pichia pastoris* - A standard operating procedure.
<http://biotech.nhctc.edu/BT220/SOP/SOP3Obj.html>
- WCED – World Commission on Environment and Development (1997) *Our common future*. Oxford Univ. Press, Oxford.
- Wiley-Interscience (2005) *The MAK collection for occupation health and safety*.
<http://www.mrw.interscience.wiley.com/makbat/>
- Willoughby, N.A., Martin, P.L. und Titchener-Hooker, N.J. (2004) Extreme scale-down of expanded bed adsorption: Purification of an antibody fragment directly from recombinant *E. coli* culture. *Biotech. Bioeng.*, **87**, 641-647.
- Wohlgemuth, V. und Page, B. (2002) Einbettung von Transportmodellen und diskreten Simulationsmodellen in Stoffstromnetze.
enviroinfo.isep.at/UI%20200/wohlgemuth27071400.ath.pdf
- Zhou, Y. und Titchener-Hooker, N.J. (1999) Visualizing integrated bioprocess designs through Windows of Operation. *Biotech. Bioeng.*, **65**, 550-557.
- Zhou, Y. und Titchener-Hooker, N.J. (2003) The application of a Pareto optimization method in the design of an integrated bioprocesses. *Bioproc. Biosys. Eng.*, **25**, 349-355.

ANHANG

Anhang A: Blockmodul Aufreinigung von Proteinen

Beschreibung

Blockmodul "Aufreinigung von Proteinen "

Es handelt sich hier um das Blockmodul Aufreinigung von Proteinen. Das Blockmodul besteht aus Ionenaustauscher-Chromatographie (IEX-Chr.), Ultrafiltration, Gelfiltrations-Chromatographie (Gel.-Filt.-Chr.), und Diafiltration.

Parametererklärung

[ST_N] Anzahl der Stoffe mit stoffspezifischen Parametern (Default: 3)

[ST0] [...]Name des Stoffs 0 ein.

[ST1] [...]Name des Stoffs 1 ein.

[ST2] [...]Name des Stoffs 2 ein.

[BIX0] Bindungskoeffizient in der IEX-Chr. für den Stoff 0

[BIX1] Bindungskoeffizient in der IEX-Chr. für den Stoff 1

[BIX2] Bindungskoeffizient in der IEX-Chr. für den Stoff 2

[RKUF0] Rückhalteoeffizient der Ultrafiltrationsmembran für den Stoff 0

[RKUF1] Rückhalteoeffizient der Ultrafiltrationsmembran für den Stoff 1

[RKUF2] Rückhalteoeffizient der Ultrafiltrationsmembran für den Stoff 2

[BGF0] Bindungskoeffizient in der Gel.-Filt.-Chr. für den Stoff 0

[BGF1] Bindungskoeffizient in der Gel.-Filt.-Chr. für den Stoff 1

[BGF2] Bindungskoeffizient in der Gel.-Filt.-Chr. für den Stoff 2

[RKDF0] Rückhalteoeffizient der Diafiltration für den Stoff 0

[RKDF1] Rückhalteoeffizient der Diafiltration für den Stoff 1

[RKDF2] Rückhalteoeffizient der Diafiltration für den Stoff 2

[BK_IX] Bindungskapazität des IEX-Chr.-Harzes

[NCINX] Anzahl der Zyklen der IEX-Chr. pro Batch

[ODF] Overdesign-Faktor der IEX-Chr.

[FL_UF] Filtrat-Rate (Flux) der Ultrafiltration

[KF_UF] Konzentrierungsfaktor der Ultrafiltration

[RAT] Verhältnis des Eingangs- zum Bettvolumen der Gel.-Filt.-Chr.

[NCGFC] Anzahl der Zyklen der Gel.-Filt.-Chr. pro Batch

[FL_DF] Filtrat-Rate (Flux) der Diafiltration

[KF_DF] Konzentrierungsfaktor der Diafiltration

[NVRDF] "Number of the Volume Reduction" der Diafiltration

[VPRDF] "Volumetric Permeation Ratio" der Diafiltration

[ZU_DF] [...] Name der neuen Pufferlösung für die Diafiltration

[ZU_C0] [...] Name des gelösten Stoffs der Eluatlösung der IEX-Chr.

[ZU_C1] [...] Name des gelösten Stoffs der Waschlösung 1 der IEX-Chr. (s. [ZU_C0])
 [ZU_C2] [...] Name des gelösten Stoffs der Waschlösung 2 der IEX-Chr.
 [ZU_C3] [...] Name des gelösten Stoffs der Regenerierungslösung der IEX-Chr.
 [ZU_C4] [...] Name des gelösten Stoffs der Eluatlösung der Gel.-Filt.-Chr.
 [ZU_C5] [...] Name des gelösten Stoffs der Waschlösung der Gel.-Filt.-Chr.

[ZU_C0] Konzentration der Eluatlösung der IEX-Chr.
 [ZU_C1] Konzentration der Waschlösung 1 der IEX-Chr.
 [ZU_C2] Konzentration der Waschlösung 2 der IEX-Chr.
 [ZU_C3] Konzentration der Regenerierungslösung der IEX-Chr.
 [ZU_C4] Konzentration der Eluatlösung der Gel.-Filt.-Chr.
 [ZU_C5] Konzentration der Waschlösung der Gel.-Filt.-Chr.

[ZU_V0] Volumen der Eluatlösung der IEX-Chr.
 [ZU_V1] Volumen der Waschlösung 1 der IEX-Chr.
 [ZU_V2] Volumen der Waschlösung 2 der IEX-Chr.
 [ZU_V3] Volumen der Regenerierungslösung der IEX-Chr.
 [ZU_V4] Volumen der Eluatlösung der Gel.-Filt.-Chr.
 [ZU_V5] Volumen der Waschlösung der Gel.-Filt.-Chr.

[EIXC] spezifischer Energiebedarf der IEX-Chr.
 [EUFIL] spezifischer Energiebedarf der Ultrafiltration
 [EGFC] spezifischer Energiebedarf der Gel.-Filt.-Chr.
 [EDFIL] spezifischer Energiebedarf der Diafiltration
 [EPUMP] spezifischer Energiebedarf der Pumpe

[T_IXC] Prozessdauer der IEX-Chr.
 [T_UF] Prozessdauer der Ultrafiltration
 [T_GFC] Prozessdauer der Gel.-Filt.-Chr.
 [T_DF] Prozessdauer der Diafiltration

Parameter

Anzahl der Diafiltrationen (berechnet)	Standard:	1	
Anzahl der Gel.-Filt.-Chr. (berechnet)	Standard:	2	
Anzahl der IEX-Chr. (berechnet)	Standard:	2	
Anzahl der UltraFiltration (berechnet)]	Standard:	1	
Anzahl der Zyklen der Gel.-Filt.-Chr. pro batch	Standard:	8	
Anzahl der Zyklen der IEX-Chr. pro batch	Standard:	5	
Anzahl der Stoffe mit stoff.spez. Parametern	Standard:	3	
Bindungskapazität des IEX-Chr.-Harzes	Standard:	200	g/L
Bindungskoeffizient IEX-Chr. Stoff 1	Standard:	5	%
Bindungskoeffizient IEX-Chr. Stoff 2	Standard:	1	%
Bindungskoeffizient in Gel.-Filt.-Chr. Stoff 0	Standard:	90	%
Bindungskoeffizient in Gel.-Filt.-Chr. Stoff 1	Standard:	1	%
Bindungskoeffizient in Gel.-Filt.-Chr. Stoff 2	Standard:	0	%
Bindungskoeffizient in IEX-Chr. Stoff 0	Standard:	100	%
Filtrate Flux Diafiltration	Standard:	25	L/m ² /h
Filtrate Flux Ultrafiltration	Standard:	50	L/m ² /h

Konzentrationsfaktor Diafiltration	Standard:	6	
Konzentrationsfaktor Ultrafiltration	Standard:	3	
Länge bzw. Höhe der GF-Chr.-Säule	Standard:	1	m
Länge bzw. Höhe der IEX-Chr.-Säule	Standard:	1	m
Natriumchlorid	Standard:	10	g/L
Natriumchlorid	Standard:	20	g/L
Natriumchlorid	Standard:	20	g/L
Natriumhydroxid	Standard:	10	g/L
Nukleinsäure	Standard:	0	
Anzahl der Volumen-Reduktions-Stufen (Diafilt.)	Standard:	1	
Overdesign-Faktor	Standard:	2	
Proteine	Standard:	0	
Prozessdauer Diafiltration	Standard:	10	h
Prozessdauer Gel.-Filtr.-Chr.	Standard:	10	h
Prozessdauer IEX-Chr.	Standard:	10	h
Prozessdauer Ultrafiltration	Standard:	10	h
Vol.-Ratio Eingang zum Bed der Gel.-Filt.-Chr.	Standard:	10	% Vbed
Rückhaltekoefizient in Diafiltration Stoff 0	Standard:	100	%
Rückhaltekoefizient in Diafiltration Stoff 1	Standard:	0	%
Rückhaltekoefizient in Diafiltration Stoff 2	Standard:	0	%
Rückhaltekoefizient in Ultrafiltration Stoff 0	Standard:	100	%
Rückhaltekoefizient in Ultrafiltration Stoff 1	Standard:	100	%
Rückhaltekoefizient in Ultrafiltration Stoff 2	Standard:	0	%
Spez. Energiebedarf Diafiltration	Standard:	2.5	kWh/m ³
Spez. Energiebedarf Gel.-Filtr.-Chr.	Standard:	0.3	kWh/m ³
Spez. Energie Bedarf Pumpe	Standard:	0.5	kWh/m ³
Spez. Energiebedarf IEX-Chr	Standard:	0.3	kWh/m ³
Spez. Energiebedarf Ultrafiltration	Standard:	2.5	kWh/m ³
Stufenwirkungsgrad (berechnet)	Standard:	75.30	%
VE-Wasser	Standard:	0	
Vol. Eluatlösung der Gel.-Filtr.-Chr.	Standard:	3	VbedGFC
Vol. der Eluatlösung der IEX-Chr.	Standard:	2	Vbed
Vol. der Regenerierungslösung der IEX-Chr.	Standard:	5	Vbed
Vol. der Waschlösung 1 der IEX-Chr.	Standard:	6	Vbed
Vol. der Waschlösung 2 der IEX-Chr.	Standard:	10	Vbed
Vol. der Waschlösung der Gel.-Filtr.-Chr.	Standard:	6	VbedGFC
max. Volumen der Gel.-Filtr.-Chr. -Säule	Standard:	100	L
max. Volumen der IEX-Chr.-Säule	Standard:	100	L
max. Membranfläche der Diafiltration	Standard:	20	m ²
max. Membranfläche der Ultrafiltration	Standard:	20	m ²
Permeatverhältnis	Standard:	10	

Transition Spezifikation in Python

```

# Beschreibung: Aufreinigung von Proteinen
# besteht aus Ionenaustauscher- Chromatographie, UF,
# Gel.-Filt.-Chromatographie und Diafiltration
# Autor: M. Abdul Kholiq
# Datum: 15.09.04
# Quelle:
# Externe Parameter:
# Änderungen:

import string
sInputVar = "XIN"
sE_TH = "XE_TH"
sE_EL = "XE_EL"
sWas = "XW"
sMat = "XM"
sOut = "YOUT"
sKK = "YKK" # Abfallström
ArIdE_TH = Tr.ArrowId(sE_TH)
ArIdE_EL = Tr.ArrowId(sE_EL)
ArIdWas = Tr.ArrowId(sWas)
ArIdMat = Tr.ArrowId(sMat)
ArIdOut = Tr.ArrowId(sOut)
ArIdKK = Tr.ArrowId(sKK)
sAbf = sKK
ArIdAbf = ArIdKK
sProd = sOut
ArIdProd = ArIdOut
AbWasId = Material.FindMaterial("Abwasser")
WasId = Material.FindMaterial("Wasser")
TrId = Tr.ObjId
KFUF = Tr.Value("KF_UF")
# DIM
# IEX-Chromatographie
BindIXtot = 0
if Tr.CheckAssignment(sInputVar):
    FlowCount = Tr.GenericFlowCount(sInputVar)
    for i in range(FlowCount):
        MatId = Tr.GenericFlowMatId(sInputVar, i)
        ValIn = Tr.GenericFlowValue(sInputVar,i)
        MatName = Tr.GenericFlowMatName(sInputVar,i)
        idx = string.find(MatName, "(")
        LnMN = len(MatName)
        for i in range (1,LnMN+1):
            SeqMatNm = MatName[-i]
            if SeqMatNm == "(":
                break
            idxn = LnMN - (i+1)
        MatNameN = MatName[0:idxn-1]
        AnzPar = Tr.Value ("ST_N") # Anzahl der Stoffe mit stoffspez. Parameter
        for i in range (AnzPar):
            STx = "ST"+str(i)
            BIXx = "BIX"+str(i)
            BIXi = Tr.Value(BIXx)
            MatName_Par = Tr.ParameterName(STx)
            MatId_Par = Material.FindMaterial(MatName_Par)
            AbfallId_Par =
Material.FindMaterialByNameExtension(MatName_Par, "Abfall")
            if MatId == MatId_Par:
                ValInBIX = ValIn*BIXi/100

```

```

        BindIXtot = BindIXtot + ValInBIX
    #Vbed
    Vbed=1/Tr.Value("NCINX")*BindIXtot*Tr.Value("ODF")/Tr.Value("BK_IX")*1000
    # Ultrafiltration
    EluatVal = Vbed*Tr.Value("ZU_V0")
    MembFl = (EluatVal*(1-1/(Tr.Value("KF_UF")+1e-
12)))/(Tr.Value("T_UF")*Tr.Value("FL_UF")+1e-12)
    # Gel.-Filt.-Chromatographie
    Q = Tr.Value("ZU_V0")*Vbed
    VbedGFC = 100*Q/(Tr.Value("NCGFC")*Tr.Value("RAT")) # in Liter
    # Diafiltration
    EluatVal_GFC = VbedGFC*Tr.Value("ZU_V4")
    MFl_DF = (EluatVal_GFC*(1-
1/Tr.Value("KF_DF")))/(Tr.Value("T_DF")*Tr.Value("FL_DF"))
else:
    Tr.AddTempWarning("Some Variables of {X00} unassigned.")
#Zusammenführen
ZuParN0 = Tr.ParameterName("ZU_C0") # Eluat der IeX-Chr
ZuParN1 = Tr.ParameterName("ZU_C1") # Waschlösung 1 der IeX-Chr
ZuParN2 = Tr.ParameterName("ZU_C2") # Waschlösung 2 der IeX-Chr
ZuParN3 = Tr.ParameterName("ZU_C3") # Regeneratlösung der IeX-Chr
ZuParN4 = Tr.ParameterName("ZU_C4") # Eluat der Gel.Fil.Chr
ZuParN5 = Tr.ParameterName("ZU_C5") # Waschlösung der Gel.Fil.Chr
ZuMatId0 = Material.FindMaterial(ZuParN0)
ZuMatId1 = Material.FindMaterial(ZuParN1)
ZuMatId2 = Material.FindMaterial(ZuParN2)
ZuMatId3 = Material.FindMaterial(ZuParN3)
ZuMatId4 = Material.FindMaterial(ZuParN4)
ZuMatId5 = Material.FindMaterial(ZuParN5)
ZuAbfId0 = Material.FindMaterialByNameExtension(ZuParN0,"Abfall")
ZuAbfId1 = Material.FindMaterialByNameExtension(ZuParN1,"Abfall")
ZuAbfId2 = Material.FindMaterialByNameExtension(ZuParN2,"Abfall")
ZuAbfId3 = Material.FindMaterialByNameExtension(ZuParN3,"Abfall")
ZuAbfId4 = Material.FindMaterialByNameExtension(ZuParN4,"Abfall")
ZuAbfId5 = Material.FindMaterialByNameExtension(ZuParN5,"Abfall")
ZuVal0 = Tr.Value("ZU_C0")*Tr.Value("ZU_V0")*Vbed/1000 # in kg
ZuVal1 = Tr.Value("ZU_C1")*Tr.Value("ZU_V1")*Vbed/1000
ZuVal2 = Tr.Value("ZU_C2")*Tr.Value("ZU_V2")*Vbed/1000
ZuVal3 = Tr.Value("ZU_C3")*Tr.Value("ZU_V3")*Vbed/1000
ZuVal4 = Tr.Value("ZU_C4")*Tr.Value("ZU_V4")*VbedGFC/1000
ZuVal5 = Tr.Value("ZU_C5")*Tr.Value("ZU_V5")*VbedGFC/1000
#
if ZuParN0 == ZuParN1:
    ZuVal0 = ZuVal0 + ZuVal1
    ZuMatId1 = 0.
    ZuAbfId1 = 0.
    ZuVal1 = 0.
if ZuParN1 == ZuParN2:
    ZuVal0 = ZuVal0 + ZuVal2
    ZuMatId2 = 0.
    ZuAbfId2 = 0.
    ZuVal2 = 0.
if ZuParN2 == ZuParN3:
    ZuVal0 = ZuVal0 + ZuVal3
    ZuMatId3 = 0.
    ZuAbfId3 = 0.
    ZuVal3 = 0.
if ZuParN3 == ZuParN4:
    ZuVal0 = ZuVal0 + ZuVal4
    ZuMatId4 = 0.
    ZuAbfId4 = 0.
    ZuVal4 = 0.
if ZuParN4 == ZuParN5:

```

```
ZuVal0 = ZuVal0 + ZuVal5
ZuMatId5 = 0.
ZuAbfId5 = 0.
ZuVal5 = 0.
if ZuParN0 == ZuParN2:
    ZuVal0 = ZuVal0 + ZuVal2
    ZuMatId2 = 0.
    ZuAbfId2 = 0.
    ZuVal2 = 0.
    if ZuParN2 == ZuParN3:
        ZuVal0 = ZuVal0 + ZuVal3
        ZuMatId3 = 0.
        ZuAbfId3 = 0.
        ZuVal3 = 0.
        if ZuParN3 == ZuParN4:
            ZuVal0 = ZuVal0 + ZuVal4
            ZuMatId4 = 0.
            ZuAbfId4 = 0.
            ZuVal4 = 0.
            if ZuParN4 == ZuParN5:
                ZuVal0 = ZuVal0 + ZuVal5
                ZuMatId5 = 0.
                ZuAbfId5 = 0.
                ZuVal5 = 0.
if ZuParN0 == ZuParN3:
    ZuVal0 = ZuVal0 + ZuVal3
    ZuMatId3 = 0.
    ZuAbfId3 = 0.
    ZuVal3 = 0.
    if ZuParN3 == ZuParN4:
        ZuVal0 = ZuVal0 + ZuVal4
        ZuMatId4 = 0.
        ZuAbfId4 = 0.
        ZuVal4 = 0.
        if ZuParN4 == ZuParN5:
            ZuVal0 = ZuVal0 + ZuVal5
            ZuMatId5 = 0.
            ZuAbfId5 = 0.
            ZuVal5 = 0.
if ZuParN0 == ZuParN4:
    ZuVal0 = ZuVal0 + ZuVal4
    ZuMatId4 = 0.
    ZuAbfId4 = 0.
    ZuVal4 = 0.
    if ZuParN4 == ZuParN5:
        ZuVal0 = ZuVal0 + ZuVal5
        ZuMatId5 = 0.
        ZuAbfId5 = 0.
        ZuVal5 = 0.
if ZuParN0 == ZuParN5:
    ZuVal0 = ZuVal0 + ZuVal5
    ZuMatId5 = 0.
    ZuAbfId5 = 0.
    ZuVal5 = 0.
if ZuParN0 != ZuParN1 and ZuParN1 == ZuParN2:
    ZuVal1 = ZuVal1 + ZuVal2
    ZuMatId2 = 0.
    ZuAbfId2 = 0.
    ZuVal2 = 0.
    if ZuParN2 == ZuParN3:
        ZuVal1 = ZuVal1 + ZuVal3
        ZuMatId3 = 0.
        ZuAbfId3 = 0.
```

```
ZuVal3 = 0.
if ZuParN3 == ZuParN4:
    ZuVal1 = ZuVal1 + ZuVal4
    ZuMatId4 = 0.
    ZuAbfId4 = 0.
    ZuVal4 = 0.
    if ZuParN4 == ZuParN5:
        ZuVal1 = ZuVal1 + ZuVal5
        ZuMatId5 = 0.
        ZuAbfId5 = 0.
        ZuVal5 = 0.
if ZuParN0 != ZuParN1 and ZuParN1 == ZuParN3:
    ZuVal1 = ZuVal1 + ZuVal3
    ZuMatId3 = 0.
    ZuAbfId3 = 0.
    ZuVal3 = 0.
    if ZuParN3 == ZuParN4:
        ZuVal1 = ZuVal1 + ZuVal4
        ZuMatId4 = 0.
        ZuAbfId4 = 0.
        ZuVal4 = 0.
        if ZuParN3 == ZuParN5:
            ZuVal1 = ZuVal1 + ZuVal5
            ZuMatId5 = 0.
            ZuAbfId5 = 0.
            ZuVal5 = 0.
if ZuParN0 != ZuParN1 and ZuParN1 == ZuParN4:
    ZuVal1 = ZuVal1 + ZuVal4
    ZuMatId4 = 0.
    ZuAbfId4 = 0.
    ZuVal4 = 0.
    if ZuParN4 == ZuParN5:
        ZuVal1 = ZuVal1 + ZuVal5
        ZuMatId5 = 0.
        ZuAbfId5 = 0.
        ZuVal5 = 0.
if ZuParN0 != ZuParN1 and ZuParN1 == ZuParN5:
    ZuVal1 = ZuVal1 + ZuVal5
    ZuMatId5 = 0.
    ZuAbfId5 = 0.
    ZuVal5 = 0.
if ZuParN0 != ZuParN1 and ZuParN1 != ZuParN2 and ZuParN2 == ZuParN3:
    ZuVal2 = ZuVal2 + ZuVal3
    ZuMatId3 = 0.
    ZuAbfId3 = 0.
    ZuVal3 = 0.
    if ZuParN2 == ZuParN4:
        ZuVal2 = ZuVal2 + ZuVal4
        ZuMatId4 = 0.
        ZuAbfId4 = 0.
        ZuVal4 = 0.
        if ZuParN2 == ZuParN5:
            ZuVal2 = ZuVal2 + ZuVal5
            ZuMatId5 = 0.
            ZuAbfId5 = 0.
            ZuVal5 = 0.
if ZuParN0 != ZuParN1 and ZuParN1 != ZuParN2 and ZuParN2 == ZuParN4:
    ZuVal2 = ZuVal2 + ZuVal4
    ZuMatId4 = 0.
    ZuAbfId4 = 0.
    ZuVal4 = 0.
    if ZuParN4 == ZuParN5:
        ZuVal2 = ZuVal2 + ZuVal5
```

```

    ZuMatId5 = 0.
    ZuAbfId5 = 0.
    ZuVal5 = 0.
if ZuParN0 != ZuParN1 and ZuParN1 != ZuParN2 and ZuParN2 == ZuParN5:
    ZuVal2 = ZuVal2 + ZuVal5
    ZuMatId5 = 0.
    ZuAbfId5 = 0.
    ZuVal5 = 0.
if ZuParN0 != ZuParN1 and ZuParN1 != ZuParN2 and ZuParN2 != ZuParN3 and
ZuParN3 == ZuParN4:
    ZuVal3 = ZuVal3 + ZuVal4
    ZuMatId4 = 0.
    ZuAbfId4 = 0.
    ZuVal4 = 0.
    if ZuParN4 == ZuParN5:
        ZuVal3 = ZuVal3 + ZuVal5
        ZuMatId5 = 0.
        ZuAbfId5 = 0.
        ZuVal5 = 0.
if ZuParN0 != ZuParN1 and ZuParN1 != ZuParN2 and ZuParN2 != ZuParN3 and
ZuParN3 == ZuParN5:
    ZuVal3 = ZuVal3 + ZuVal5
    ZuMatId5 = 0.
    ZuAbfId5 = 0.
    ZuVal5 = 0.
if ZuParN0 != ZuParN1 and ZuParN1 != ZuParN2 and ZuParN2 != ZuParN3 and
ZuParN3 != ZuParN4 and ZuParN4 == ZuParN5:
    ZuVal4 = ZuVal4 + ZuVal5
    ZuMatId5 = 0.
    ZuVal5 = 0.
# Zwischenspeichern
Tr.SetParameter(TrId, "ZVAL0", ZuVal0) # Val
Tr.SetParameter(TrId, "ZMID0", ZuMatId0) # MatId
Tr.SetParameter(TrId, "ZVAL1", ZuVal1)
Tr.SetParameter(TrId, "ZMID1", ZuMatId1)
Tr.SetParameter(TrId, "ZVAL2", ZuVal2)
Tr.SetParameter(TrId, "ZMID2", ZuMatId2)
Tr.SetParameter(TrId, "ZVAL3", ZuVal3)
Tr.SetParameter(TrId, "ZMID3", ZuMatId3)
Tr.SetParameter(TrId, "ZVAL4", ZuVal4)
Tr.SetParameter(TrId, "ZMID4", ZuMatId4)
Tr.SetParameter(TrId, "ZVAL5", ZuVal5)
Tr.SetParameter(TrId, "ZMID5", ZuMatId5)
Tr.SetParameter(TrId, "ZAID0", ZuAbfId0) #
Tr.SetParameter(TrId, "ZAID1", ZuAbfId1)
Tr.SetParameter(TrId, "ZAID2", ZuAbfId2)
Tr.SetParameter(TrId, "ZAID3", ZuAbfId3)
Tr.SetParameter(TrId, "ZAID4", ZuAbfId4)
Tr.SetParameter(TrId, "ZAID5", ZuAbfId5)
# MATERIALZUGABE
ZuWasVal1 = Tr.Value("ZU_V0")*Vbed + Tr.Value("ZU_V1")*Vbed +
Tr.Value("ZU_V2")*Vbed + Tr.Value("ZU_V3")*Vbed
ZuWasVal2 = Tr.Value("ZU_V4")*VbedGFC + Tr.Value("ZU_V5")*VbedGFC
ZuWasDF = Tr.Value("ZU_V4")*VbedGFC*((Tr.Value("NVRDF")-1)*(1-
1/Tr.Value("KF_DF")))+Tr.Value("VPRDF")/Tr.Value("KF_DF"))
PerZuRet = (Tr.Value("KF_DF")-1)*Tr.Value("NVRDF")+Tr.Value("VPRDF")
WasPerDF = ZuWasDF*PerZuRet/(PerZuRet+1)
WasRetDF = ZuWasDF - WasPerDF
ZuWasVal = ZuWasVal1 + ZuWasVal2
ZuWasValtot = ZuWasVal1 + ZuWasVal2 + ZuWasDF
ZuWasAbf = ZuWasVal1 + ZuWasVal2 + WasPerDF
#ZuWasId = Material.FindMaterial("VE-Wasser")
ZuWasId = Material.FindMaterialByNameExtension("VE-Wasser", "Wasser")

```

```

Tr.AddGenericFromFlow(sWas, ArIdWas, ZuWasId, ZuWasValtot)
#
for i in range (6):
    ZMIDi = "ZMID" + str(i)
    ZVALi = "ZVAL" + str(i)
    ZMIDx = Tr.Value (ZMIDi)
    ZVALx = Tr.Value (ZVALi)
    if ZMIDx >0:
        Tr.AddGenericFromFlow (sMat, ArIdMat, ZMIDx, ZVALx)
#
if Tr.CheckAssignment (sInputVar):
    FlowCount = Tr.GenericFlowCount (sInputVar)
    Abf1 = 0
    Abf2 = 0
    Abf3 = 0
    for i in range(FlowCount):
        MatId = Tr.GenericFlowMatId(sInputVar, i)
        ValIn = Tr.GenericFlowValue(sInputVar,i)
        MatName = Tr.GenericFlowMatName(sInputVar,i)
        idx = string.find(MatName, "(")
        LnMN = len(MatName)
        for i in range (1,LnMN+1):
            SeqMatNm = MatName[-i]
            if SeqMatNm == "(":
                break
            idxn = LnMN - (i+1)
        MatNameN = MatName[0:idxn-1]
        AbfallId = Material.FindMaterialByNameExtension(MatNameN,"Abfall")
        WasserId = Material.FindMaterialByNameExtension(MatNameN,"Wasser")
        AnzPar = Tr.Value ("ST_N") # Anzahl der Stoffe mit stoffspez. Parameter
        Anzahltot = 0
        for i in range (AnzPar):
            STx = "ST"+str(i)
            BIXx = "BIX"+str(i)
            RKUFx = "RKUF"+str(i)
            BGFx = "BGF"+str(i)
            RKDFx = "RKDF"+str(i)
            BIXi = Tr.Value(BIXx) # Bindungskoeffizient in IeX-Chr.
            RKUFi = Tr.Value(RKUFx) # Rückhaltkoeffizient - UF
            BGFi = Tr.Value(BGFx) # Bindungskoeffizient in GF.-Chr.
            RKDFi = Tr.Value(RKDFx) # Rückhaltkoeffizient - DF
            MatName_Par = Tr.ParameterName (STx)
            #MatId_Par = Material.FindMaterial (MatName_Par)
            MatId_Par = Material.FindMaterialByNameExtension (MatName_Par, "")
            AbfallId_Par =
Material.FindMaterialByNameExtension (MatName_Par, "Abfall")
            if WasserId >0:
                WasIn = ValIn # als Abwasser
            #elif MatId != MatId_Par:
            elif MatNameN != MatName_Par:
                Anzahltot = Anzahltot + 1
            if Anzahltot == AnzPar:
                for i in range (6):
                    ZMIDi = "ZMID" + str(i)
                    ZVALi = "ZVAL" + str(i)
                    ZAIDi = "ZAID" + str(i)
                    ZMIDx = Tr.Value (ZMIDi)
                    ZVALx = Tr.Value (ZVALi)
                    if ZMIDx == MatId:
                        ValIn = ValIn + ZVALx
                        Tr.SetParameter (TrId, ZAIDi, 0.)
                Tr.AddGenericFromFlow (sAbf, ArIdAbf, AbfallId, ValIn)
                Abf1 = Abf1 + ValIn

```

```

    #elif MatId == MatId_Par:
    elif MatNameN == MatName_Par:
        ValInBIX = ValIn*BIXi/100
        ProdVal = 9.412E-8*ValIn*BIXi*(KFUF**((RKUFI/100)-
1))*BGFI*(2.71828182845905**(0.0679*RKDFI))
        if i == 0:
            CY = ProdVal/ValIn*100.
            Tr.SetParameter(Tr.ObjId, "CY", CY)
            AbfVal = ValIn - ProdVal
            Tr.AddGenericFromFlow(sProd, ArIdProd, MatId, ProdVal)
            for i in range (6):
                ZMIDi = "ZMID" + str(i)
                ZVALi = "ZVAL" + str(i)
                ZAIDI = "ZAID" + str(i)
                ZMIDx = Tr.Value (ZMIDi)
                ZVALx = Tr.Value (ZVALi)
                if ZMIDx == MatId:
                    AbfVal = AbfVal + ZVALx
                    Tr.SetParameter(TrId, ZAIDI, 0.)
                    Tr.AddGenericFromFlow(sAbf, ArIdAbf, AbfallId, AbfVal)
            Abf2 = Abf2 + AbfVal
# andere ZU-Materialien
for i in range (6):
    ZVALi = "ZVAL" + str(i)
    ZAIDI = "ZAID" + str(i)
    ZAIDx = Tr.Value (ZAIDI)
    ZVALx = Tr.Value (ZVALi)
    Tr.AddGenericFromFlow(sAbf, ArIdAbf, ZAIDx, ZVALx)
    Abf3 = Abf3 + ZVALx
# WasserInProdStr
Tr.AddGenericFromFlow(sProd, ArIdProd, WasId, WasRetDF)
# Abwasser
AbWasVal = WasIn + ZuWasAbf
Tr.AddGenericFromFlow(sAbf, ArIdAbf, AbWasId, AbWasVal)
Abf4 = AbWasVal
# Energieströme
ElPum = WasIn*Tr.Value("EPUMP")/1000*3600
ElINXC = WasIn * Tr.Value("EIXC")/1000*3600
ElUF = WasIn*Tr.Value("EUFIL")/1000*3600
    # in kJ ; spez. Energiebedarf = ... kWh/m3 ; 1kWh = 3600 kJ
ElGFC = WasIn * Tr.Value("EGFC")/1000*3600 # in kJ
ElDF = WasIn * Tr.Value("DFIL")/1000*3600
    # in kJ ; spez. Energiebedarf = ... kWh/t
ElVal = ElPum + ElINXC + ElUF + ElGFC + ElDF
Tr.SetValue(sE_EL, ElVal)
Tr.SetValue(sE_TH,0)
#
# DIMENSIONIERUNG
#(Ionenaustaucher-)Chromatographie #Vbed
VbedB = Vbed/Tr.Value("NBAT")
Vbedmax = Tr.Value("MVBIX")
if VbedB>Vbedmax:
    NUnitC = VbedB/(Vbedmax+1e-12)
    if NUnitC == int(NUnitC):
        AnzhIXC = int(NUnitC)
    else:
        AnzhIXC = int(NUnitC)+1
else:
    AnzhIXC = 1
VbedN = VbedB/AnzhIXC # als Basis für die Fixkostenermittlung
#Tr.SetParameter(TrId, "VBEDN", VbedN)
Tr.SetParameter(TrId, "NINXC", AnzhIXC)
#Ultrafiltration #MembFl

```

```

MembFlMax = Tr.Value("MMFUF")
MembFlB = MembFl/Tr.Value("NBAT")
if MembFlB > MembFlMax:
    NUnitUF = MembFlB/(MembFlMax+1e-12)
    if NUnitUF == int(NUnitUF):
        AnzhUF = int(NUnitUF)
    else:
        AnzhUF = int(NUnitUF)+1
else:
    AnzhUF = 1
MembFlN = MembFlB/AnzhUF # als Basis für die Fixkostenermittlung
#Tr.SetParameter(TrId, "MFUFN", MembFlN)
Tr.SetParameter(TrId, "NUFIL", AnzhUF)
#Gel.-Filt.-Chromatographie #VbedGFC
VbedGFCB = VbedGFC/Tr.Value("NBAT")
VbedGFCmax = Tr.Value("MVBGF") # in L
if VbedGFCB>VbedGFCmax:
    NUnitGFC = VbedGFCB/VbedGFCmax
    if NUnitGFC == int(NUnitGFC):
        AnzhGFC = int(NUnitGFC)
    else:
        AnzhGFC = int(NUnitGFC)+1
else:
    AnzhGFC = 1
VbedGFCN = VbedGFCB/AnzhGFC # als Basis für die Fixkostenermittlung
#Tr.SetParameter(TrId, "VGFC", VbedGFCN)
Tr.SetParameter(TrId, "NGFC", AnzhGFC)
#Diafiltration #MFl_DF
MFl_DFB = MFl_DF/Tr.Value("NBAT")
MFlMax_DF = Tr.Value("MMDFD")
if MFl_DFB > MFlMax_DF:
    NUnitDF = MFl_DFB/(MFlMax_DF)
    if NUnitDF == int(NUnitDF):
        AnzhDF = int(NUnitDF)
    else:
        AnzhDF = int(NUnitDF)+1
else:
    AnzhDF = 1
MFl_DFN = MFl_DFB/AnzhDF # als Basis für die Fixkostenermittlung
#Tr.SetParameter(TrId, "MDFN", MFl_DFN)
Tr.SetParameter(TrId, "NDFIL", AnzhDF)
# Basis für die Fixkostenermittlung:
# VbedN für IC, UFMembFlN für UF, VbedGFC für DF
# GESAMTABWASSERMENGE
SumAbw = Abf1 + Abf2 + Abf3 + Abf4
else:
    Tr.AddTempWarning("Some Variables of {X00} unassigned.")

```

Anhang B: Unitmodul Filtration

Beschreibung

Modul "Filtration"

Es handelt sich um das Unitmodul Filtration.

Parametererklärung

[EUFIL]	spezifischer Energiebedarf
[KF]	Konzentrationsfaktor
[MFLUX]	Durchflussrate durch die Membran
[N_PAR]	Anzahl der Parameter Rückhaltekoeffizient
[RK0]	Rückhaltekoeffizient des Produkts mit dem Name ...
[Rückhaltekoeffizient von ...]	Materialname
[RK1]	Rückhaltekoeffizient des Stoffs mit dem Name ...
[Rückhaltekoeffizient von ...]	Materialname
[RK2]	Rückhaltekoeffizient des Stoffs mit dem Name ...
[Rückhaltekoeffizient von ...]	Materialname
[RK3]	Rückhaltekoeffizient des Stoffs mit dem Name ...
[Rückhaltekoeffizient von ...]	Materialname
[RK4]	Rückhaltekoeffizient des Stoffs mit dem Name ...
[Rückhaltekoeffizient von ...]	Materialname
[TIME]	Prozessdauer der Filtration
[TYP]	Filtrationstyp (1: Retentat = Produktstrom; 0: Permeat = Produktstrom)
[WASCH] [...]	Name der Waschlösung, z.B. VE-Wasser.

Parameter

Anzahl der Filtrationseinheiten (berechnet)	Standard:	1	Stück
Anzahl der Rückhaltekoeffizient-Parameter	Standard:	5	
Arbeitskräfte pro Schicht	Standard:	0.5	Personen
Durchflussrate durch die Membran	Standard:	20	L/(m ² *h)
Filtrationstyp	Standard:	1	-
Konzentrationsfaktor	Standard:	5	-
Multiplikator für Anschaffungskosten	Standard:	1	-
Platzhalter Reinigungsmittel	Standard:	0	-
Prozessdauer	Standard:	10	h
Rückhaltekoeffizient von ...	Standard:	0	%
Rückhaltekoeffizient von ...	Standard:	0	%
Rückhaltekoeffizient von ...	Standard:	0	%
Rückhaltekoeffizient von ...	Standard:	0	%
Rückhaltekoeffizient von ...	Standard:	0	%
Stufenwirkungsgrad (durch Modul berechnet)	Standard:	98.40	%

Zuschlagssatz für Wartungskoten	Standard:	10	%
maximale Membranfläche pro Einheit	Standard:	200	m ²
spezifischer Energiebedarf dieser Filtration	Standard:	2.5	kWh/m ³

Transition Spezifikation in Python

```

import string
#
# Variablenbezeichner
sInputVar = "XIN"
sE_TH = "XE_TH"
sE_EL = "XE_EL"
sMaterialien = "XM"
sWasser = "XW"
sProdukt = "YOUT"
sAbfall = "YKK"
#
Time = Tr.Value("TIME")
TrId = Tr.ObjId
FiltTyp = Tr.Value("TYP")
KF = Tr.Value("KF")
RKProd=Tr.Value("RK0")
FrProd = KF**((RKProd/100)-1)
YRet=FrProd*100
if FiltTyp == 1:
    YFil = YRet
else:
    YFil = 100 - YRet
Tr.SetParameter(TrId, "CY",YFil)
#
if Tr.CheckAssignment(sInputVar):
    #IDs der Arrows holen
    ArIdEnergieTH = Tr.ArrowId(sE_TH)
    ArIdEnergieEL = Tr.ArrowId(sE_EL)
    ArIdMaterialien = Tr.ArrowId(sMaterialien)
    ArIdWasser = Tr.ArrowId(sWasser)
    ArIdProdukt = Tr.ArrowId(sProdukt)
    ArIdAbfall = Tr.ArrowId(sAbfall)
    #Parameter einlesen
    MFLUX = Tr.Value("MFLUX")
    #ValIn = 0
    WasValIntot = 0
    PermValueWtot = 0
    RetValueWtot = 0
    AbWasId = Material.FindMaterial("Abwasser")
    FlowCount = Tr.GenericFlowCount(sInputVar)
    for i in range(FlowCount):
        #MaterialId und Flusswert lesen
        MatId = Tr.GenericFlowMatId(sInputVar, i)
        ValIn = Tr.GenericFlowValue(sInputVar,i)
        MatName = Tr.GenericFlowMatName(sInputVar,i)
        idx = string.find(MatName, "(")
        LnMN = len(MatName)
        for i in range (1,LnMN+1):
            SeqMatNm = MatName[-i]
            if SeqMatNm == "(":
                break
            idxn = LnMN - (i+1)
            MatNameWasser = MatName[0:6]
            MatNameN = MatName[0:idxn-1]
    #Outputmaterial (Abfall)

```

```

AbfallId = Material.FindMaterialByNameExtension(MatNameN, "Abfall")
#Wasser aller Art
WasserId = Material.FindMaterialByNameExtension(MatNameN, "Wasser")
if WasserId > 0:
    WasValIn = ValIn
    WasValIntot = WasValIntot + WasValIn
    #RK von Wasser = 0
    RK = 0.0
    Fr = KF**((RK/100.)-1)
    RetValueW = Fr*WasValIn
    RetValueWtot = RetValueWtot + RetValueW
    PermValueW = WasValIn - RetValueW
    PermValueWtot = PermValueW + PermValueWtot
    #Wasser in Retentat
    if FiltTyp == 1:
        Tr.AddGenericFromFlow(sProdukt, ArIdProdukt, MatId, RetValueW)
    else:
        Tr.AddGenericFromFlow(sAbfall, ArIdProdukt, MatId, PermValueW)
else:
    AnzPar = Tr.Value("N_PAR") #Anzahl des Parameters RC
    Anzahltot = 0
    for i in range (AnzPar):
        iStr = str(i)
        RKx = "RK"+iStr
        ParName = Tr.ParameterName(RKx)
        Ln = len(ParName)
        ParNameN = ParName[25:Ln]
        MatIdausParName = Material.FindMaterial(ParNameN)
        # Für Stoffe ohne RC-Wert
        if ParNameN != MatNameN:
            Anzahltot = Anzahltot + 1
            if Anzahltot == AnzPar:
                RK = 0.0
                Fr = KF**((RK/100.)-1)
                RetValue = Fr*ValIn
                PermValue = ValIn - RetValue
                if FiltTyp == 1:
                    Tr.AddGenericFromFlow(sProdukt, ArIdProdukt, MatId, RetValue)
                    Tr.AddGenericFromFlow(sAbfall, ArIdAbfall, AbfallId, PermValue)
                else:
                    Tr.AddGenericFromFlow(sProdukt, ArIdProdukt, MatId, PermValue)
                    Tr.AddGenericFromFlow(sAbfall, ArIdAbfall, AbfallId, RetValue)
            #für Stoffe mit dem jew. RC-Wert
        else:
            RK = Tr.Value(RKx)
            Fr = KF**((RK/100.)-1)
            RetValue = Fr*ValIn
            PermValue = ValIn - RetValue
            if FiltTyp == 1:
                Tr.AddGenericFromFlow(sProdukt, ArIdProdukt, MatId, RetValue)
                Tr.AddGenericFromFlow(sAbfall, ArIdAbfall, AbfallId, PermValue)
            else:
                Tr.AddGenericFromFlow(sProdukt, ArIdProdukt, MatId, PermValue)
                Tr.AddGenericFromFlow(sAbfall, ArIdAbfall, AbfallId, RetValue)
#Membranflächenberechnung
MembFlTot = (WasValIntot*(1-1/(KF+1e-12)))/(Time*MFLUX+1e-12)
MembFl = MembFlTot/Tr.Value("NBAT")
MembFlMax = Tr.Value("VMAX")
if MembFl > MembFlMax:
    TrAnzh = MembFl/(MembFlMax+1e-12)
    if TrAnzh == int(TrAnzh) and TrAnzh !=0.:
        TrAnzhN = int(TrAnzh)
    else:

```

```

    TrAnzhN = int(TrAnzh)+1
else:
    TrAnzhN = 1
    MF=MembFl/TrAnzhN
    Tr.SetParameter(TrId, "N_FIL", TrAnzhN)
# KOSTEN
# Anschaffungskosten der Filteranlage (LAK) in Abhängigkeit
# von der Membranfläche (MF) und der Anzahl der Filteranlage (TrAnzhN):
LAK= (-14.349*MF*MF + 10098*MF + 720061)*TrAnzhN
# Der Informationsgröße IINV wird die Höhe der Investitionen zugewiesen:
IINV=LAK
# Berechnung der jährlichen Fixkosten der Filteranlage
# mittels Kostentreiber BANN:
CMUL=Tr.Value("CMUL")
OEZIN = Tr.Value("OEZIN")
BANN =LAK*CMUL*OEZIN/100/(1-EXP(-10*LN(1+OEZIN/100)))
# Kostentreiber BANN steht für eine Annuität
# CMUL= Multiplikator; OEZIN= Kalkulationszinsfuß; Nutzungsdauer=10 Jahre
Tr.SetFixCostForCostType(210,BANN)
IFIXK=BANN # Der Informationsgröße IFIXK wird die Höhe der
# jährlichen Fixkosten zugewiesen:

#Waschlösung
WaschName = Tr.ParameterName("WASCH")
#WaschId = Material.FindMaterial(WaschName)
WaschId = Material.FindMaterialByNameExtension(WaschName,"Wasser")
ReagVer = 100*MembFl
Tr.AddGenericFromFlow(sWasser, ArIdWasser, WaschId, ReagVer)
#Waschlösung == Wasser??
ReagWasserId = Material.FindMaterialByNameExtension(WaschName,"Wasser")
ReagAbfallId = Material.FindMaterialByNameExtension(WaschName,"Abfall")
WasserVer = 0
if ReagWasserId > 0:
    WasserVer = ReagVer
else: # sollte eigentlich aus Wasser und Inhaltstoffen bestehen
    Tr.AddGenericFromFlow(sAbfall, ArIdAbfall, ReagAbfallId, ReagVer)
#Abwasser aus Feed (Permeatanteil) plus aus "Reagenzien"
if FiltTyp == 1:
    WasserTot=WasserVer+PermValueWtot
else:
    WasserTot=WasserVer+RetValueWtot
Tr.AddGenericFromFlow(sAbfall, ArIdAbfall, AbWasId, WasserTot)
# Energien
ElUF = WasIn*Tr.Value("EUFIL")/1000*3600
# in kJ ; spez. Energiebedarf = ... kWh/m3 ; 1kWh = 3600 kJ
Tr.SetValue(sE_EL, ElUF)
Tr.SetValue(sE_TH,0)
else:
    Tr.AddTempWarning("Some Variables of {X00} unassigned.")

```

Anhang C: Formulierung des Prozessassistenten

In Rahmen dieser Arbeit wurden die einzelnen Seiten des Assistenten für die Aufarbeitungsprozesse in einer XML-ähnlichen Sprache formuliert. Zunächst werden hier die wichtigsten Assistentenseiten skizziert (Anhang C1) und dann Auszüge der Formulierung exemplarisch dargestellt (Anhang C2).

Anhang C 1: Skizze wichtigster Assistentenseiten

1. Willkommen-Seite

Kurze Beschreibung, was der Assistent macht. Eine kurz gefasste Einführung wird in dieser Willkommen-Seite ergänzt.

2. Methodik-Auswahl-Seite

Hier wählt der Nutzer eine der 5 Methoden zur Erstellung von Prozessmodellen aus.

2.1. Beispiel-Auswahl-Seite

Hier wird der Nutzer ein Prozessbeispiel aus. Bei der Auswahl wird ein Prozessmodell (als Modul) aus der Gruppe „Fertige Prozessmodelle (FPM)“ (siehe Struktur der Sabento-Bibliothek) geladen. Man erhält praktisch ein Prozessmodell und kommt dann auf „Parameter-Haupt-Seite“.

2.2. GrobModell-Seite

Es ist noch nicht ganz klar, wie diese Möglichkeiten in Umberto bzw. Sabento implementiert werden soll. Deshalb ist diese Seite noch nicht aktiviert.

2.3. Angeleitete-Erstellung-Seite

Hilfe für den Anwender ist eine Gruppierung von Modulen nach den Aufarbeitungsstufe: Vorbehandlung, Konzentrierung, Aufreinigung, und Formulierung.

Es gibt (im Hintergrund) 5 Untergruppen für die Stufe Vorbehandlung. Welche Gruppe dem Nutzer angeboten wird, wird aufgrund der vorher bereits abgefragten Information oder durch erstellten Abfragen entschieden.

2.3.1. Vorbehandlung-Intra-Seite

Hier werden Module der Gruppe „Fermentation, intrazellulär“ zur Auswahl angeboten. Man kann eine oder einige Module (nacheinander) auswählen. Man kann auch diese Gruppe überspringen, d.h. das Modul „keins“ wurde gewählt. Man geht dann auf die Konzentrierung-Seite.

2.3.2. Vorbehandlung-Extra-Seite

Wie Intra-Seite, nur aus der Gruppe „Fermentation, Extrazellulär“

2.3.3. Vorbehandlung-Enzym-Seite

Wie Intra-Seite, nur aus der Gruppe „enzymatische Produktion“

2.3.4. Vorbehandlung-Ganzzell-Seite

Wie Intra-Seite, nur aus der Gruppe „Ganzzellbiotransformation“

2.3.5. Vorbehandlung-Pflanzen-Seite

Wie Intra-Seite, nur aus der Gruppe „pflanzliche Systeme“

2.3.6. Konzentrierung-Seite

Hier werden Module der Gruppe „Konzentrierung“ zur Auswahl angeboten.

Man kann eine oder einige Module (nacheinander) auswählen. Man kann auch diese Gruppe überspringen, d.h. das Modul „keins“ wurde gewählt.

Man geht dann auf die Aufreinigung-Seite.

2.3.7. Aufreinigung-Seite

Hier werden Module der Gruppe „Aufreinigung“ zur Auswahl angeboten.

Man kann eine oder einige Module (nacheinander) auswählen. Man kann auch diese Gruppe überspringen, d.h. das Modul „keins“ wurde gewählt.

Man geht dann auf die Formulierung-Seite.

2.3.8. Formulierung-Seite

Hier werden Module der Gruppe „Formulierung“ zur Auswahl angeboten.

Man kann eine oder einige Module (nacheinander) auswählen. Man kann auch diese Gruppe überspringen, d.h. das Modul „keins“ wurde gewählt.

2.4. Frei-Erstellung-Seite

Hier werden alle Module der Gesamtgruppe „Modulsammlung“ zur Auswahl angeboten. Man kann eine oder einige Module nacheinander auswählen.

3. Parameter-Haupt-Seite

Am Ende wird ein Prozessmodell erstellt, das aus mehreren Modulen mit bekannter Reihenfolge besteht. Auf der Parameter-Haupt-Seite und den folgenden Parameter-Windows von Modulen werden die Parameter der ausgewählten Module durch den Nutzer angegeben bzw. geändert. Nachdem alle Parameter-Windows von Modulen fertig bearbeitet werden, kommt man auf die Abschluss-Seite.

4. Abschluss-Seite

Diese Seite ist nicht anders als Information, dass der Prozessassistenten der Aufarbeitung fertig (erfolgreich) erstellt wurde. Diese Seite übergibt das Kommando dem nächsten Assistenten. Der Nutzer entscheidet, ob er den Aufarbeitungsassistenten verlassen will.

Anhang C 2: Auszüge der Formulierung des Assistenten

Hier werden nur stark gekürzte Auszüge der Assistentenformulierung insbesondere über die Methodik „Angeleitete Erstellung“ dargestellt, die dem Prinzip strukturbasierte Prozesssynthese entspricht. Aus Platzgründen wird auf eine Gesamtdarstellung verzichtet. Die drei Punkte „. . .“ symbolisieren, dass Zeile bzw. Texte an der Stelle gelöscht wurden.

```
<umbertoAssistant name="Assistent der Aufarbeitungsprozesse">
  <productInfo> . . . </productInfo>
  <shortDescription>Assistent der Aufarbeitungsprozesse</shortDescription>
  <description>Der Assistent leitet den Anwender bei der Erstellung der
  Aufarbeitungsprozessmodelle an</description>
  <order path="Prozessmodellierung\Aufarbeitung" index="1"/>
  

  <firstPage name="WillkommenSeite"/>
  <lastPage name="AbschlussSeite"/>

  <code> . . . </code>
  <eventHandler>
    <event name="canExecute">
      Wenn "der Assistent für die Teilprozesse Upstream und Produktion
      noch nicht fertig erarbeitet ist", dann
        AssistantContext.Valid = False
        AssistantContext.Message = 'Bitte erarbeiten Sie erstmal den
        Assistenten für die Upstream und Produktion'
    </event>
  </eventHandler>

  <progressTree>
    <caption>Fortschritt</caption>
    Methodikauswahl [ID:1]
    Prozessmodellierung [ID:2]
    Parameterangabe [ID:3]
  </progressTree>

  <pages>
    <page name="WillkommenSeite" progressTreeNodeID="1">
      <description>Willkommen in den Assistenten der
      Aufarbeitungsprozesse.</description>
      <help> Der Assistent wird Sie bei der Erstellung Ihres
      Aufarbeitungsmodell anleiten. . . .</help>

      <content>
        <label name="WillkommenText" value="Willkommen in den Assistenten der
        Aufarbeitungsprozesse."/>

        <label name="Einführungstext" value=" Der Assistent wird Sie bei der
        Erstellung Ihres Aufarbeitungsmodell anleiten. . . ." />

        <button name="MeinButton" caption="info" text=" Unitmodule bzw.
        Blockmodule repräsentieren . . ." />
      </content>

      <eventHandler>
        <event name="onInitVars"> . . . </event>
        <event name="onValidate"> . . . </event>
        <event name="onExecute"> . . . </event>
        <event name="onSuccessor">
          NextPageName = 'MethodikauswahlSeite'
        </event>
      </eventHandler>
    </page>
```

```

<page name="MethodikauswahlSeite" progressTreeNodeID="1">
  <description>Bitte wählen Sie die Methodik zur Erstellung Ihres
  Aufarbeitungsprozessmodells aus</description>

  <help> Modelle der Aufarbeitungsprozesse sind in Sabento grundsätzlich
  ein lineares Aneinanderreihen von Modulen. . . .

  Verwendung vorgefertigter Prozessbeispiele . . .
  Grobe Modellierung basierend auf Anzahl der Stufe . . .
  Angeleitete Erstellung des Aufarbeitungsmodells . . .
  Freie Erstellung des Aufarbeitungsmodells . . .
</help>
<content>
  <group caption="Methodikauswahl">
    <checkbox name="Methodikauswahl1" caption="vorgefertigte
    Prozessmodelle" value="True"/>
    <checkbox name="Methodikauswahl2" caption="Grobe Modellierung
    basierend auf Anzahl der Stufe" value="False"/>
    <checkbox name="Methodikauswahl3" caption="Angeleitete
    Erstellung des Aufarbeitungsmodells" value="False"/>
    <checkbox name="Methodikauswahl4" caption="Freie Erstellung des
    Aufarbeitungsmodells" value="False"/>
  </group>
</content>

<eventHandler>
  <event name="onInitVars">
    SetVariable('VorgefertigteModelle', {Methodikauswahl1})
    SetVariable('GrobeModellierung', {Methodikauswahl2})
    SetVariable('AngeleiteteModellierung', {Methodikauswahl3})
    SetVariable ('FreieModellierung', {Methodikauswahl4})
  </event>

  <event name="onValidate">
    # Eine Methodik muss ausgewählt werden.
    Wenn keine True-Value dann
      PageContext.Valid = False
      PageContext.Message = 'Bitte wählen Sie eine
      Methodik aus!'
    PageContext.ControlName = 'VorgefertigteModelle,
    GrobeModellierung, AngeleiteteModellierung,
    FreieModellierung'

    # Doppelnennung ist nicht möglich.
    Wenn Anzahl der True-Value > 1, dann
      PageContext.Valid = False
      PageContext.Message = 'Sie dürfen nur eine Methodik
      auswählen'
    PageContext.ControlName = 'VorgefertigteModelle,
    GrobeModellierung, AngeleiteteModellierung,
    FreieModellierung'
  </event>

  <event name="onExecute">
    Wenn GetVariable ('VorgefertigteModelle') True ist, dann
      lade die Plattform PF_BSP
    Wenn GetVariable('AngeleiteteModellierung') True ist,dann
      lade die Plattform PF_APM
    Wenn GetVariable ('FreieModellierung') True ist, dann
      lade die Plattform PF_FPM
  </event>

  <event name="onSuccessor">
    # Entsprechend der Variablen, die Eigenschaft 'NextPageName'
    setzen
    Wenn GetVariable ('VorgefertigteModelle') True ist, dann
      NextPageName = 'BeispielAuswahlSeite'
    Wenn GetVariable ('GrobeModellierung') True ist, dann
      NextPageName = 'GrobModellSeite'
    Wenn GetVariable('AngeleiteteModellierung') True ist,dann

```

```

        NextPageName = 'AngeleiteteErstellungSeite'
        Wenn GetVariable ('FreieModellierung') True ist, dann
            NextPageName = 'FreiErstellungSeite'
    </event>
</eventHandler>
</page>

<page name="AngeleiteteErstellungSeite" progressTreeNodeID="2">
    <description>Angeleitete Erstellung des
    Aufarbeitungsmodells</description>
    <help> Diese Methode basiert auf der allgemeinen Struktur der
    Aufarbeitung in Bioproduktionen. Die Aufarbeitung werden in vier
    Stufen untergegliedert: Vorbehandlung, Konzentrierung, Aufreinigung,
    und Formulierung. Hier werden Gruppierungen der vorhandenen Module
    vorgenommen. Jede Gruppe beinhaltet nur Module, die für diese Stufe in
    Frage kommen können. . . .
    </help>

    <content>
        <label name="Gruppierungstext" value="typische Aufarbeitungsstruktur
        für">
        <list name="GruppierungsListe" items="Fermentation, Intrazellulär
        |Fermentation, Extrazellulär|enzymatische
        Produktion|Ganzzellbiotransformation|pflanzliche Systeme"
        value="0"/>
    </content>

    <eventHandler>
        <event name="onInitVars">
            SetVariable('GruppierungsListe', {Gruppierungskode})
        </event>

        <event name="onValidate">
            Wenn GetVariable('GruppierungsListe') <> Wert dann
                PageContext.Valid = False
                PageContext.Message = 'Bitte spezifizieren Sie Ihr
                Produktionsverfahren bzw. Ihr Produkt!'
                PageContext.ControlName = 'GruppierungsListe'
            </event>

        <event name="onExecute">
            Lade die Plattform für die Angeleitete Modellierung
        </event>

        <event name="onSuccessor">
            Wenn GetVariable('GruppierungsListe') = 0, dann
                NextPageName = 'VorbehandlungIntraSeite'
            Wenn GetVariable('GruppierungsListe') = 1, dann
                NextPageName = 'VorbehandlungExtraSeite'
            Wenn GetVariable('GruppierungsListe') = 2, dann
                NextPageName = 'VorbehandlungEnzymSeite'
            Wenn GetVariable('GruppierungsListe') = 3, dann
                NextPageName = 'VorbehandlungGanzzellSeite'
            Wenn GetVariable('GruppierungsListe') = 4, dann
                NextPageName = 'VorbehandlungPflanzenSeite'
        </event>
    </eventHandler>
</page>

<page name="VorbehandlungIntraSeite" progressTreeNodeID="2">
    <description>Angeleitete Modelerstellung: Vorbehandlung für
    Intrazelluläre Produkte </description>
    <help> . . . </help>

    <content>
        <label name="IntraProdVorbText" value="Wählen Sie ein (Block-)Modul
        aus der Liste für diese Stufe">

```

```

<dropdown name="VorbIntraDD" items="keins|BM VorbehandlungIntra
|Mikrofiltration|Zentrifugation|Dekanter|Fällung|Homogenisator|Dead-
End-Filtration|GM Stofftrennung|GM Stoffumwandlung|GM Behälter"
value="0"/>

<label name="ModulKeins" value="Die Auswahl des Moduls "keins"
bedeutet, dass kein (weiteres) Modul für diese Stufe ausgewählt
wird. Sie werden diese Stufe verlassen und kommen auf die nächste
Aufarbeitungsstufe.">

<button name="Abkürzung" caption="Info" text="BM ist die Abkürzung
von Blockmodul und GM ist die Abkürzung von generisches Modul."/>
</content>

<eventHandler>
  <event name="onInitVars">
    SetVariable('VorbIntraDD', {IPVorbInModulKode})
  </event>

  <event name="onValidate">
    Wenn GetVariable('VorbIntraDD') <> Wert dann
      PageContext.Valid = False
      PageContext.Message = 'Wählen Sie ein Modul aus!'
      PageContext.ControlName = 'VorbIntraDD'
    </event>

  <event name="onExecute">
    # Lade das ausgewählte Modul nach GetVariable ('VorbIntraDD')
    # Bei "keins", d.h GetVariable('VorbIntraDD') = 0,
    # wird kein Modul geladen

    Wenn GetVariable('VorbIntraDD') = 0, dann
      stelle eine Warnung "Wollen Sie kein (weiteres) Modul
      auswählen und diese Stufe verlassen?" , wenn OK ->
      "onSuccessor"
    Wenn GetVariable('VorbIntraDD') = 1, dann
      lade das Modul BM_VBIn
      merke M_n = BM_VBIn
      <!-- M_n steht für die ausgewählten Module -->
      <!-- Die Anfang-,,n" hat den Wert 1-->
    Wenn GetVariable('VorbIntraDD') = 2, dann
      lade das Modul MF
      merke M_n = MF
      . . .
    Wenn GetVariable('VorbIntraDD') = 10, dann
      lade das Modul GM_BHT
      merke M_n = GM_BHT
  </event>

  <event name="onSuccessor">
    Wenn GetVariable('VorbIntraDD') = 0, dann
      NextPageName = 'Konzentrierungsseite'
    sonst
      NextPageName = 'VorbehandlungIntraSeite'
      <!--"Schleife" / Auswahl eines weiteren Moduls-->
  </event>
</eventHandler>
</page>

<page name="Konzentrierungsseite" progressTreeNodeID="2">
  <description>Angeleitete Modelerstellung: Konzentrierung</description>
  <help>Für die Stufe Konzentrierung können Sie Module auswählen. . . .
  </help>

  <content>
    <label name="KonzText" value="Wählen Sie ein Modul bzw. ein weiteres
    aus der Liste für die Stufe Konzentrierung">

```

```

<dropdown name="KonzDD" items="
keins|Mikrofiltration|Ultrafiltration|Diafiltration|Extraktion|
Zentrifugation|GM Stofftrennung|GM Behälter" value="0"/>

<label name="ModulKeins" value="Die Auswahl des Moduls "keins"
bedeutet, dass kein (weiteres) Modul für diese Stufe ausgewählt
wird. Sie verlassen somit diese Stufe und kommen auf die nächste
Stufe (Aufreinigung).">

<button name="Abkürzung" caption="Info" text="BM ist die Abkürzung
von Blockmodul und GM die Abkürzung von generischem Modul."/>
</content>

<eventHandler>
. . .
<event name="onSuccessor">
    Wenn GetVariable('VorbPflanzenDD') = 0, dann
        NextPageName= 'AufreinigungSeite' <!--nächste -->
    sonst
        NextPageName= 'KonzentrierungSeite' <!--Schleife-->
</event>
</eventHandler>
</page>

<page name="AufreinigungSeite" progressTreeNodeID="2">
<description>Angeleitete Modelerstellung: Aufreinigung</description>
<help>Für die Stufe Aufreinigung können Sie Module der
Grundoperationen oder Blockmodule nacheinander auswählen. </help>

<content>
<label name="KonzText" value="Wählen Sie ein Modul bzw. ein weiteres
aus der Liste für die Stufe Aufreinigung">

<dropdown name="KonzDD" items="keins|BM Aufreinigung von Proteinen
Typ A|BM Aufreinigung von Proteinen Typ B |Ultrafiltration
|Diafiltration|Expanded Bad Chromatography|
Adsorption/Chromatographie|Kristallisation|Extraktion|
GM Stofftrennung|GM Stoffumwandlung|GM Behälter" value="0"/>

<label name="ModulKeins" value="Die Auswahl des Moduls "keins"
bedeutet, dass kein (weiteres) Modul für diese Stufe ausgewählt
wird. Sie verlassen somit diese Stufe und kommen auf die nächste
Stufe (Aufreinigung).">

<button name="Abkürzung" caption="Info" text="BM ist die Abkürzung
von Blockmodul und GM die Abkürzung von generischem Modul."/>
</content>

<eventHandler>
. . .
<event name="onSuccessor">
    Wenn GetVariable('VorbPflanzenDD') = 0, dann
        NextPageName = 'FormulierungSeite' <!-- nächste -->
    sonst
        NextPageName = 'AufreinigungSeite' <!--Schleife-->
</event>
</eventHandler>
</page>

<page name="FormulierungSeite" progressTreeNodeID="2">
<description>Angeleitete Modelerstellung: Formulierung</description>
<help>Für die Stufe Formulierung können Sie Module der
Grundoperationen oder Blockmodule nacheinander auswählen. </help>
. . .
<eventHandler>
. . .
<event name="onSuccessor">
    Wenn GetVariable('FormDD') = 0, dann

```

```

        NextPageName = 'ParameterHauptSeite' <!--nächste-->
    sonst
        NextPageName = 'FormulierungSeite' <!--Schleife-->
    </event>
</eventHandler>
</page>

<page name="ParameterHauptSeite" progressTreeNodeID="3">
    <description>Angabe der Modulparameter</description>
    <help>Sie können hier die Prozessparameter der Module eingeben. Sie können die
    Defaultwerte -falls vorhanden- verwenden oder mit Ihren eigenen Werten
    ersetzen. </help>

    <eventHandler>
        . . .
        <event name="onSuccessor">
            NextPageName = 'ParameterModullSeite'
        </event>
    </eventHandler>
</page>

<page name="ParameterModullSeite" progressTreeNodeID="3">
    <description>Angabe der Modulparameter</description>
    <help>Sie können hier die Prozessparameter des ersten Moduls angeben.
    Sie können die Defaultwerte verwenden oder mit Ihren eigenen Werten
    ersetzen. </help>
    . . .
    <eventHandler>
        . . .
        <event name="onSuccessor">
            Wenn fertig ist, dann
            NextPageName = 'ParameterModul2Seite'
        </event>
    </eventHandler>
</page>

. . .

<page name="AbschlussSeite" progressTreeNodeID="3">
    <description> Ende der Modellerstellung und der Parameterangabe
    </description>
    <help> Die Modellerstellung und die Parameterangabe der
    Aufarbeitungsprozesse sind beendete. ... </help>

    <content>
        <label name="AbschiedText" value="Sie haben das Prozessmodell der
        Aufarbeitung erstellt. Der Auslegungsassistent wird Ihnen weiter
        helfen."/>

        <button name="MeinButton" caption="info" text=" Der
        Auslegungsassistent ist ..."/>
    </content>

    <eventHandler>
        . . .
        <event name="onSuccessor">
            NextPageName = 'AuslegungsassistentErsteSeite'
        </event>
    </eventHandler>
</page>

</pages>
</umbertoAssistant>

```

Anhang D: Demobericht zur ökologischen Bewertung

I. Kurzbericht

kritische Stoffe (A-Stoffe)

Stoff	Wirkungskategorie(n)
Biomasse	Eutrophierung
Ethanol	Thermische Risiken
Hexan	Thermische Risiken, Chronische Toxizität
Kaliumphosphat	Eutrophierung

Stoffe mit hohen Optimierungspotenzialen

Inputseite:	Wasser, Ethanol, Hexan, Glukose, Biomasse
Outputseite:	Wasser, Kaliumphosphat, Hexan, Biomasse, Ethanol

kritischen Wirkungskategorien

Inputseite:	Thermische Risiken
Outputseite:	Thermische Risiken, Eutrophierung

Wirkungskategorien mit hohen Wirkungspotenzialen

Inputseite:	Thermische Risiken,
Outputseite:	Eutrophierung

Allgemeine Kennzahlen

Produktstrom	=	2811671	kg / Jahr
Inputstrom	=	2458755242	kg / Jahr
Abfallstrom	=	2455943570	kg / Jahr
Energiestrom	=	37441039733	kJ / Jahr
Inputindex	=	874	kg / kg
Abfallindex	=	873	kg / kg
Energieindex	=	13316	kJ / kg

Umweltkennzahlen (UKZ)

<u>Mit angepassten Wichtungsfaktoren</u>		<u>Mit originalen Wichtungsfaktoren</u>	
UKZ Input mit Wasser	=	295	UKZ Input mit Wasser = 295
UKZ Input ohne Wasser	=	195	UKZ Input ohne Wasser = 195
UKZ Output mit Wasser	=	272	UKZ Output mit Wasser = 272
UKZ Output ohne Wasser	=	172	UKZ Output ohne Wasser = 172
Gesamt-UKZ mit Wasser	=	281	Gesamt-UKZ mit Wasser = 281
Gesamt-UKZ ohne Wasser	=	181	Gesamt-UKZ ohne Wasser = 181

II. Ausführlicher Bericht

Inhalt:

1. Erläuterungen
2. Identifizierung von kritischen Stoffen
3. Quantitative Bewertung der Prozessstoffe
4. Identifizierung von kritischen Wirkungskategorien
5. Quantitative Bewertung der einzelnen Wirkungskategorien
6. Allgemeine Daten
7. Umweltbewertungszahlen
8. Dokumentation der verwendeten Wichtungsfaktoren

1. Erläuterungen

Dieser Bericht stellt die Ergebnisse der ökologischen Bewertung des Prozessmodells „Demobewertung“ mit der Software Sabento[®] dar. Die Bewertung basiert auf der *Sachbilanz* des Modells und auf den Materialeigenschaften aus der Materialdatenbank von Sabento[®]. In der Materialdatenbank werden die Stoffe in jeder Wirkungskategorie nach einer Dreierkategorisierung (ABC-Prinzip: A = hohes, B = mittleres, C = geringes Belastungs-/ Gefährdungspotenzial) klassifiziert. Mit Hilfe dieser Klassifizierung werden die Massenströme bzw. die Massenindices gewichtet.

Betrachtet werden sowohl die Wirkungspotenziale der einzelnen Materialien als auch die Wirkungspotenziale der einzelnen *Wirkungskategorien*. In der Einzelstoffbetrachtung werden zunächst die kritischen Stoffe identifiziert. Darauf hin werden ökologisch besonders zu beachtende Stoffe identifiziert, indem die so genannten *Massenindices* mit Wichtungsfaktoren multipliziert werden.

Die Wirkungspotenziale der einzelnen Wirkungskategorien werden sowohl qualitativ als auch quantitativ analysiert und bewertet. Die quantitative Bewertung ist praktisch identisch mit der Ermittlung der Wirkungspotenziale der einzelnen Stoffe. In einem ersten Schritt werden dazu die Ströme aller Stoffe mit der gleichen ABC-Klassifizierung in den jeweiligen Kategorien summiert. Diese aggregierten Stoffströme werden anschließend entsprechend gewichtet.

Um eine Gesamtbewertung zu bewerkstelligen, werden *Umweltkennzahlen* ermittelt. Diese Kennzahlen lassen sich sowohl aus der Bewertung der einzelnen Stoffe als auch aus der Bewertung der einzelnen Wirkungskategorien errechnen.

Um einen angemessenen Komplexitätsgrad zu erreichen, wird eine detaillierte Bewertung des Energieverbrauchs nicht durchgeführt. Es wird lediglich der Energieindex, d.h. der Energieverbrauch pro kg Produkt, als allgemeine Kennzahl dargestellt. Energievorketten, die eine produzierte

Energieeinheit auf die Elementarstoffströme zurückführen, stehen daher in der Sabento-Bibliothek nicht zur Verfügung.

Aus den Ergebnissen lassen sich Optimierungs- bzw. Verbesserungspotenziale eines Prozesses identifizieren. Ein Vergleich der ökologischen Bewertungsergebnisse von zwei Prozessmodellen ist – insbesondere über die Umweltbewertungszahlen – ebenfalls möglich.

Diese Bewertung ersetzt keine umfassende Sicherheits- und Gefahrenanalyse, die von Regulierungsbehörden z.B. beim Bau von neuen Anlagen verlangt wird.

Das ökologische Bewertungssystem von Sabento[®] wurde vom Lehrstuhl für technische Biochemie der Universität des Saarlands im Projekt „Bewertung der Nachhaltigkeit biotechnologischer Produktion“, koordiniert von der DECHEMA e.V., entwickelt.

2. Identifizierung von kritischen Stoffen

Die Identifizierung von kritischen Stoffen, d.h. solchen Stoffen, die in mindestens einer Kategorie in die Klasse A fallen, dient als qualitative Information und vermittelt so einen ersten Überblick über eventuelle Optimierungspotenziale.

Folgende A-Stoffe befinden sich in der Sachbilanz:

Stoff / Wirkungskategorie	Beschreibung
Ethanol	
Thermische Risiken	Hier könnte zum Beispiel stehen: "Einhalten der Sicherheitsvorschriften"
Hexan	
Thermische Risiken	-
Chronische Toxizität	-
Biomasse	
Eutrophierung	-
Kaliumphosphat	
Eutrophierung	-

3. Wirkungspotenzial der einzelnen Prozessstoffe

Das Wirkungspotenzial eines Stoffs ergibt sich durch Multiplikation eines Massenindex mit dem Wichtungsfaktor der jeweiligen Wirkungskategorie. Ein hoher Wichtungsfaktor allein kann unter Umständen unbedeutend sein, z.B. wenn der Wert des Massenindex sehr klein ist. Umgekehrt kann ein Stoff, der mengenmäßig dominiert, trotz eines kleinen Wichtungsfaktors ein hohes Optimierungspotenzial aufweisen.

Im bewerteten biotechnologischen Prozess „Demobewertung“ besitzen die folgenden Stoffe die größten Wirkungspotenziale:

Inputseite: Wasser, Ethanol, Hexan, Glukose, Biomasse

Outputseite: Wasser, Kaliumphosphat, Hexan, Biomasse, Ethanol

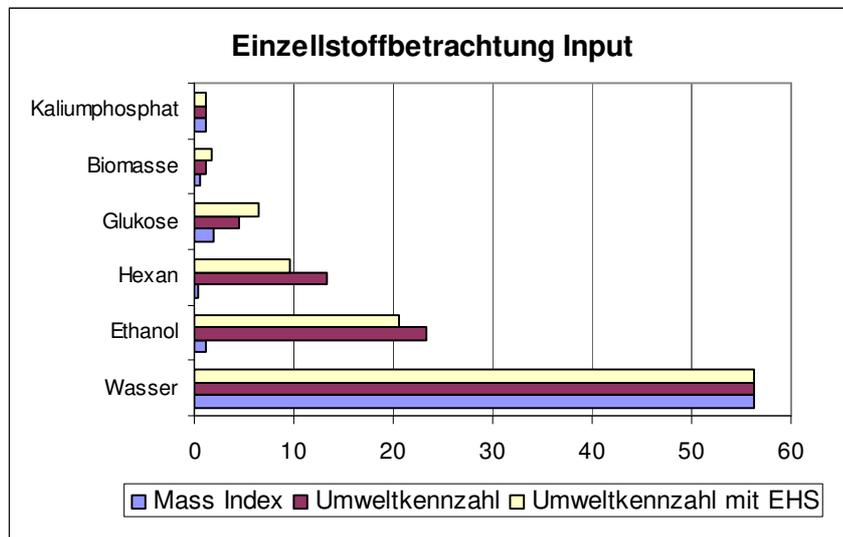


Abbildung 1: Wirkungspotenziale der Inputstoffe (mit Wasser)

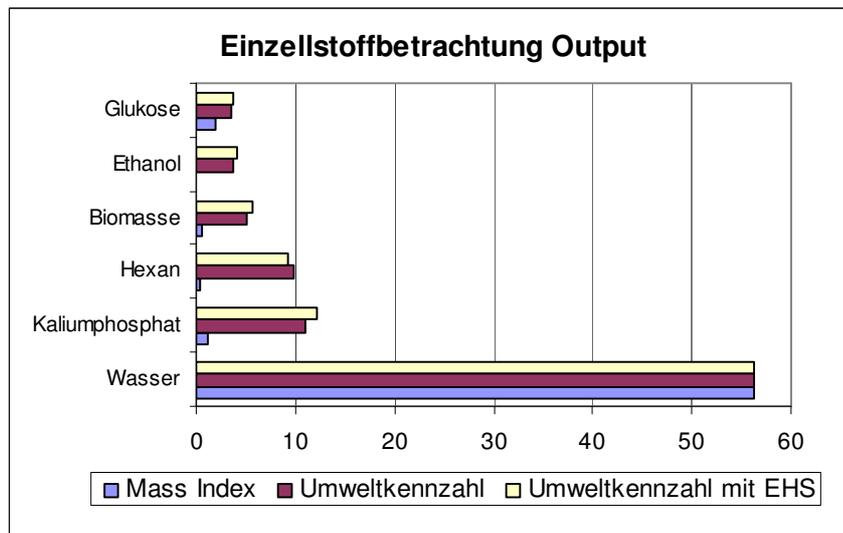


Abbildung .2: Wirkungspotenziale der Outputstoffe (mit Wasser)

4. Semi-qualitative Analyse der einzelnen Wirkungskategorien

Die Ergebnisse der semi-qualitativen Analyse werden in Form von Ampelanzeigen und Kuchendiagrammen dargestellt. Sie sollen erste Hinweise geben, welche Kategorien von den Gefährdungspotenzialen meistens betroffen sind.

Die Ampeln für die Wirkungskategorien zeigen qualitativ, wie hoch das Gefährdungspotenzial der jeweiligen Wirkungskategorie ist. Rot bedeutet, dass in dieser Wirkungskategorie das Gefährdungspotenzial hoch ist bzw. dass A-Stoffe dominieren. Dieser Wirkungskategorie sollte dann vermehrte Beachtung zukommen. Die grüne Ampel bedeutet, dass es für die jeweilige Wirkungskategorie kein allzu großes Gefährdungspotenzial gibt.

Das Kuchendiagramm stellt die Verteilung der Wirkungspotenziale der Kategorien für Input und Output dar.

Im bewerteten biotechnologischen Prozessmodell „Demobewertung“ erhalten folgende Wirkungskategorien eine rote Ampel:

Inputseite: [Thermische Risiken](#)

Outputseite: [Thermische Risiken, Eutrophierung](#)

Wirkungskategorie der Inputseite

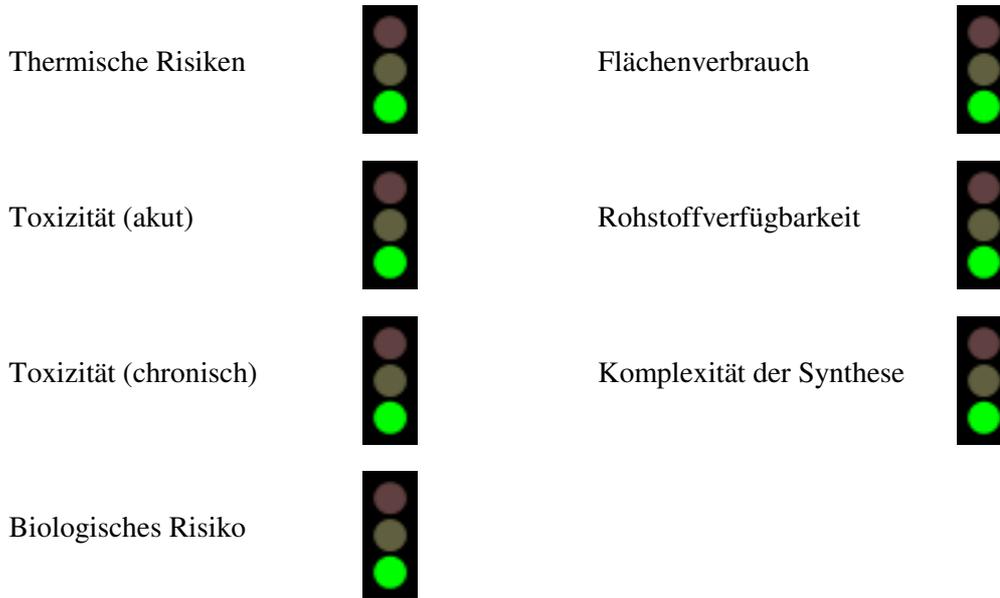


Abbildung 3: Ampelbewertung der Wirkungskategorie der Inputseite

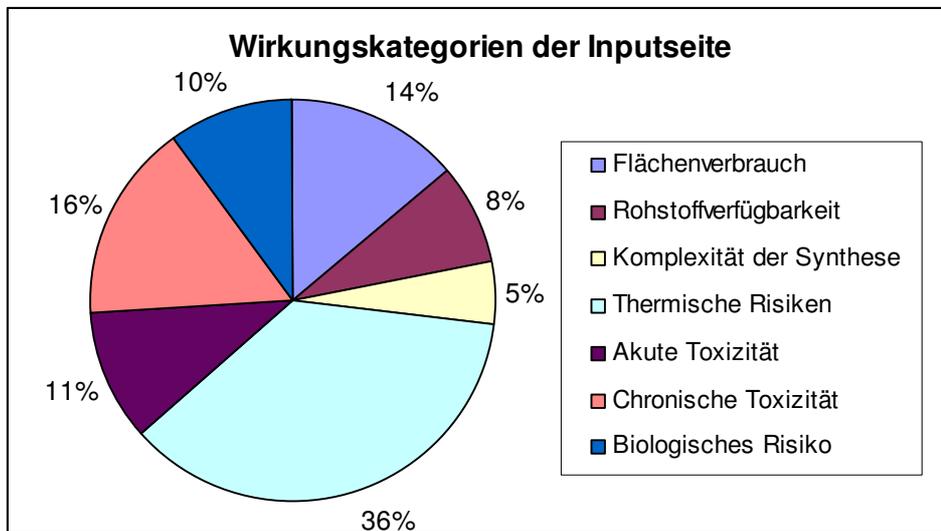


Abbildung 4: Verteilung der Wirkungspotenziale der einzelnen Kategorien (Inputseite)

Wirkungskategorie der Outputseite

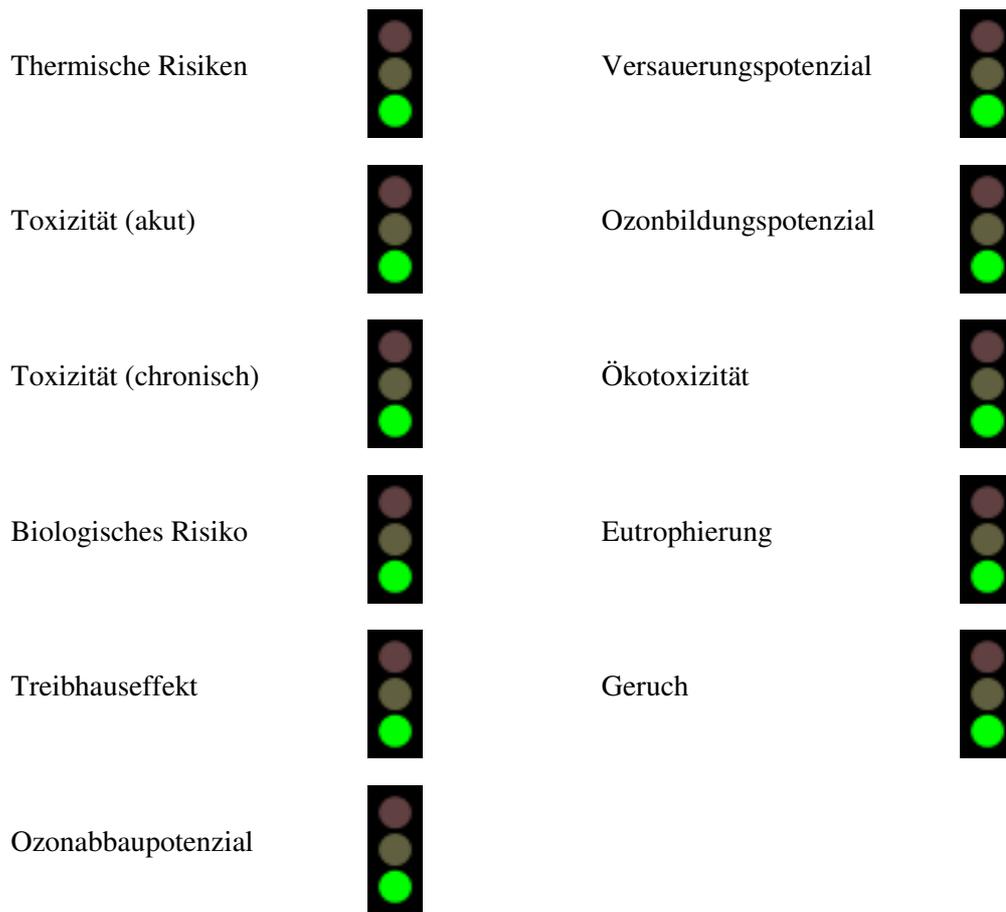


Abbildung 5: Ampelbewertung der Wirkungskategorie der Outputseite

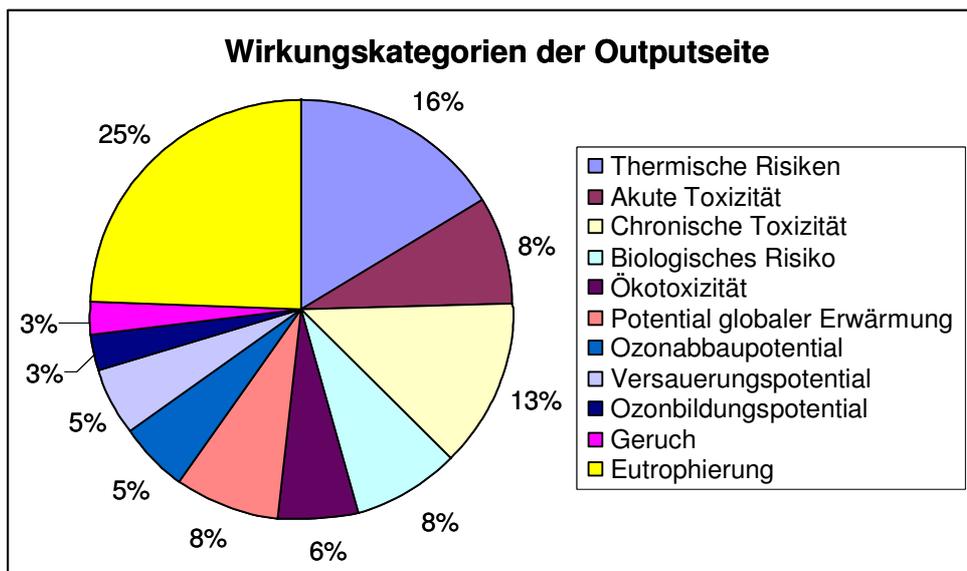


Abbildung 6: Verteilung der Wirkungspotenziale der einzelnen Kategorien (Outputseite)

5. Quantitative Bewertung der einzelnen Wirkungskategorien

Die Ermittlung der Wirkungspotenziale der einzelnen Wirkungskategorien folgt der Methode der Ermittlung der Wirkungspotenziale der einzelnen Stoffe. In diesem Falle werden jedoch die Massen aller Stoffe in einer Klasse für die jeweilige Kategorie summiert. Die Summen werden dann wieder entsprechend gewichtet. In den beiden folgenden Abbildungen sind die Wirkungspotenziale der Wirkungskategorien für die Input- und Outputseite dargestellt.

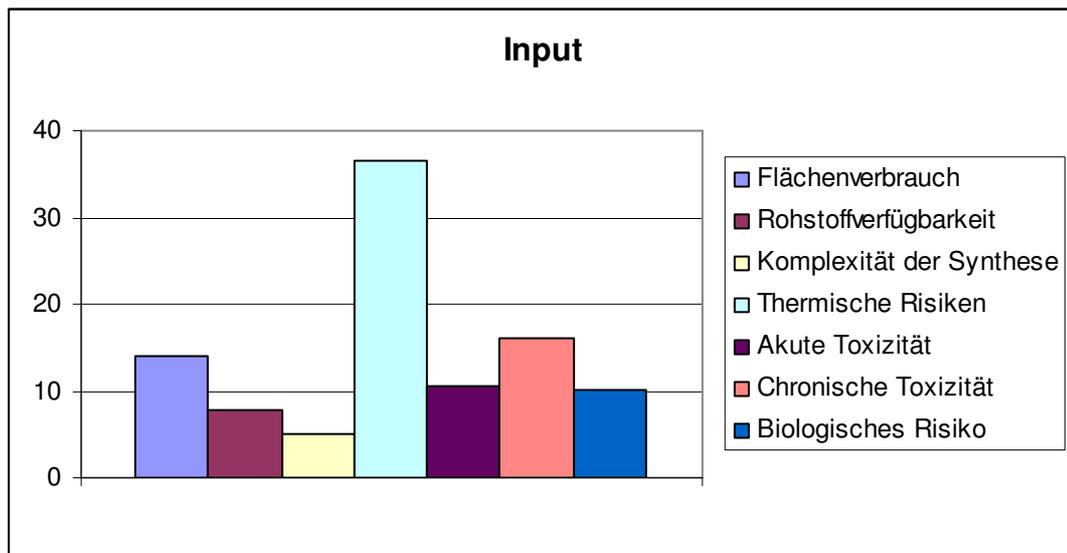


Abbildung 7: Wirkungspotenziale der Wirkungskategorien (Inputseite)

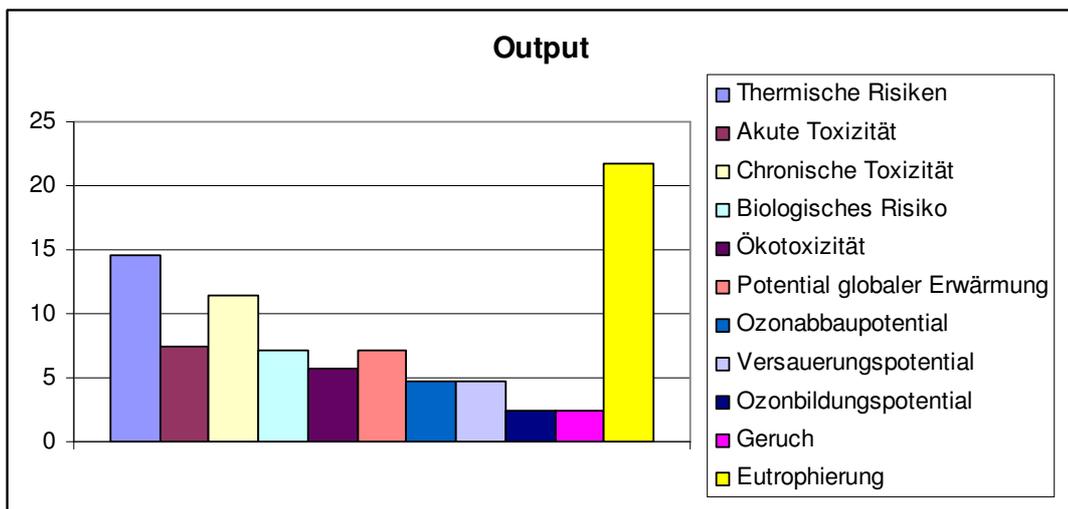


Abbildung 8: Wirkungspotenziale der Wirkungskategorien (Outputseite)

6. Allgemeine Kennzahlen

Das Prozessmodell „Demobewertung“ besitzt folgende allgemeine Kennzahlen, die die Grundlage für die Ermittlung der Umweltbewertungszahlen darstellen:

Produktstrom	=	2 666 000	kg / Jahr
Inputstrom	=	164 087 000	kg / Jahr
Abfallstrom	=	161 421 000	kg / Jahr
Energiestrom	=	2 498 658 000	kJ / Jahr
Inputindex	=	61,55	kg / kg
Abfallindex	=	60,55	kg / kg
Energieindex	=	937,23	kJ / kg

7. Umweltkennzahlen

Es gibt unterschiedliche Auffassungen dahingehend, ob und wie stark sich die Bedeutungen der einzelnen Wirkungskategorien hinsichtlich ihrer Bedeutung für die Umwelt voneinander unterscheiden. Die Standardwichtungsfaktoren von Sabento® können daher angepasst werden. Dargestellt werden die Umweltbewertungszahlen aus der Berechnung sowohl mit den nutzerspezifischen als auch mit den Standardwichtungsfaktoren von Sabento®.

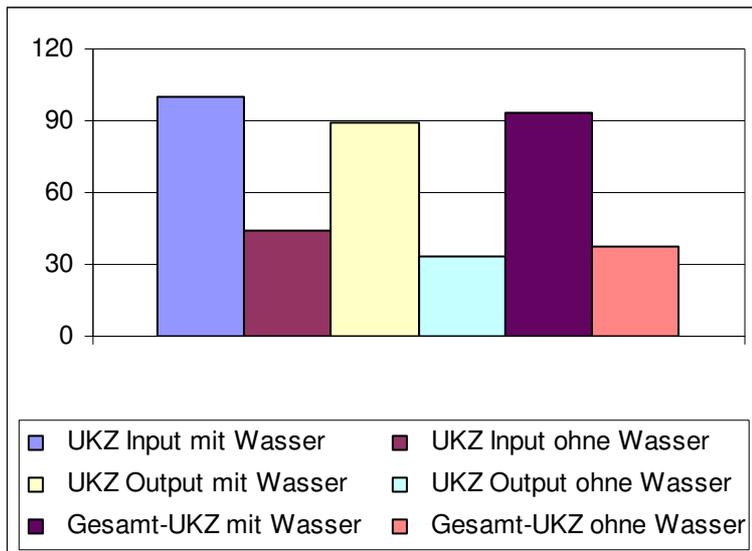


Abbildung 9: Umweltbewertungszahlen mit nutzerspezifischen Wichtungsfaktoren

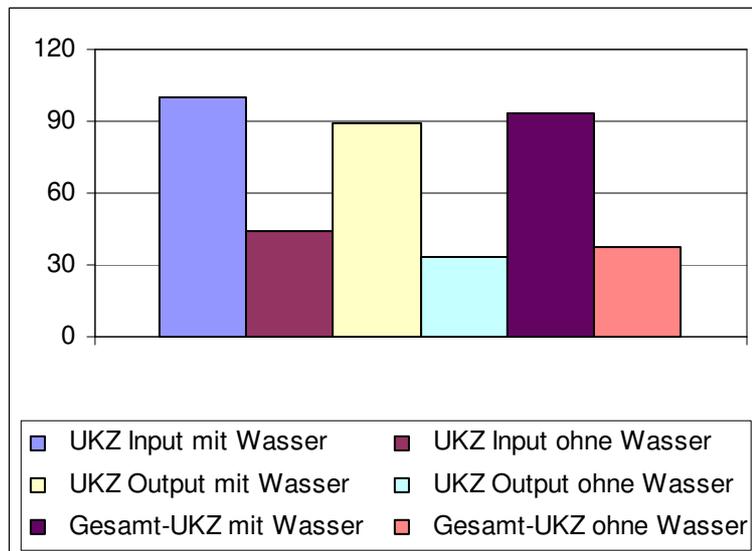


Abbildung 10: Umweltbewertungszahlen mit Standardwichtungsfaktoren von Sabento

8. Dokumentation der verwendeten Wichtungsfaktoren

Zur Ermittlung der Umweltindices werden die entsprechenden Wichtungsfaktoren für alle Wirkungskategorien nach folgender Gleichung ermittelt:

$$WF = B^{\alpha}$$

Dabei ist B die verwendete Basis (Default-Wert = 10) und α der durch die Klassenzuordnung bestimmte Exponent. Die Standardwerte sind:

$$\text{Klasse A} \rightarrow \alpha = 2; \text{ Klasse B} \rightarrow \alpha = 1; \text{ Klasse C} \rightarrow \alpha = 0$$

Für die aktuelle Bewertung werden folgende Werte verwendet:

$$\text{Basis: } B = 10$$

$$\text{Exponenten: Klasse A} \rightarrow \alpha = 2; \text{ Klasse B} \rightarrow \alpha = 1; \text{ Klasse C} \rightarrow \alpha = 0.$$

Die Wichtungsfaktoren und ihre Zugehörigkeit zur Gruppe Umwelt, Gesundheit oder Sicherheit (Environment, Health, Safety) sind in Tabellen 1 – 4 aufgelistet.

Tabelle 1: Wichtungsfaktoren der Wirkungskategorie für die Inputseite (Standardwerte)

Wirkungskategorie Input	Wichtungskoeffizient	EHS
Thermal Risk	100	S
Acute Toxicity	100	H
Chronic Toxicity	100	H
Biological Risk	100	H
Land Use	90	E
Raw Material Availability	75	E
Complexity of the Synthesis	50	E
Summe	615	

Tabelle 2: Wichtungsfaktoren der Wirkungskategorie für die Outputseite (Standardwerte)

Wirkungskategorie Output	Wichtungskoeffizient	EHS
Thermal Risk	100	S
Acute Toxicity	100	H
Chronic Toxicity	100	H
Biological Risk	100	H
Ecotoxicity	80	E
Global Warming Potential (GWP)	100	E
Ozone Depletion Potential (ODP)	66	E
Acidification Potential (AP)	66	E
Photochemical Ozone Creation Potential (POCP)	33	E
Odour	33	E
Eutrophication Potential	75	E
Summe	853	

Tabelle 3: Wichtungsfaktoren der Wirkungskategorie für die Inputseite (Anwender-Werte)

Wirkungskategorie Input	Wichtungskoeffizient	EHS
Thermal Risk	100	S
Acute Toxicity	100	H
Chronic Toxicity	100	H
Biological Risk	100	H
Land Use	90	E
Raw Material Availability	75	E
Complexity of the Synthesis	50	E
Summe	615	

Tabelle 4: Wichtungsfaktoren der Wirkungskategorie für die Outputseite (Anwender-Werte)

Wirkungskategorie Output	Wichtungskoeffizient	EHS
Thermal Risk	100	S
Acute Toxicity	100	H
Chronic Toxicity	100	H
Biological Risk	100	H
Ecotoxicity	80	E
Global Warming Potential (GWP)	100	E
Ozone Depletion Potential (ODP)	66	E
Acidification Potential (AP)	66	E
Photochemical Ozone Creation Potential (POCP)	33	E
Odour	33	E
Eutrophication Potential	75	E
Summe	853	

Die ermittelten Belastungspotenziale werden evtl. nach den EHS-Kriterien aufgeschlüsselt dargestellt.

Die Standardwerte der EHS-Wichtungsfaktoren sind:

$$E = 60\%, H = 27\%, S = 13\%$$

Für die aktuelle Bewertung werden folgende Werte verwendet:

$$E = 60\%, H = 27\%, S = 13\%$$

Mit einer Wichtung von Input- und Outputseite (Originalwerte 40:60, Anwenderwerte 40:60) werden die beiden Werte in eine Gesamtumweltbewertungskennzahl überführt.

PUBLIKATIONSLISTE

Artikel

Heinzle, E., Biber, A., Eissen, M. und Abdul Kholiq, M. (2006) Bewertung biotechnologischer Prozesse in frühen Phasen der Entwicklung hinsichtlich Risiken bezüglich Ökologie, Sicherheit und Gesundheit. *Chem. Ing. Tech.*, **78**, 301-305.

Abdul Kholiq, M. und Heinzle, E. (2006) Prozessmodellierung und Nachhaltigkeitsbewertung einer Ganzzellbiotransformation im zweiphasigen System ionische Flüssigkeit/Wasser. *Chem. Ing. Tech.*, **78**, 307-316.

Abdul Kholiq, M. und Heinzle, E. (2007) Production of recombinant human serum albumin. In: Heinzle, E., Biber, A. und Cooney, C. (eds.) *Development of Sustainable Bioprocesses – Modeling and Assessment*. John Wiley & Sons, Chichester, im Druck.

Abdul Kholiq, M., Lührs, R., und Heinzle, E. (2007) Production of recombinant human serum albumin in Transgenic Barley: Economic and ecological evaluation in early process development. (in Vorbereitung).

Abdul Kholiq, M., Bühler, B., Schmid, A., und Heinzle, E. (2007) Economic and ecological evaluation of biocatalytic emulsion process for epoxidation of styrene to (S)-styrene oxide in early development phases (in Vorbereitung).

Vorträge

Abdul Kholiq, M. (2004) Modulerstellung der Aufarbeitungsprozesse mit Hilfe der Skriptsprache Python. Umberto-Anwender-Workshop, Heidelberg, 28.-29.09.2004.

Abdul Kholiq, M. und Heinzle, E. (2004) Modeling of biotechnological processes: tools for early development phases towards sustainable bioproduction. Wissenschaftliches Treffen zum Thema „Industrial Sustainability for National Economic Recovery in Developing Countries“, Aachen, 7-9.10.2004.

Poster

Abdul Kholiq, M. und Heinzle, E. (2005) Module-based modeling for economic and ecological assessment of bioproduction processes in early phases of development. Tagung BioPerspectives 2005, Wiesbaden, 10.-12.05.2005.

