

Abschlussbericht

Zum Projekt

„Prozessentwicklung und -optimierung biotechnologischer
Verfahren mit Hilfe einer innovativen Simulationsumgebung am
Beispiel der Maßstabsvergrößerung eines industriellen
Prozesses zur biotechnologischen Herstellung von Ectoin“

Az 13175

Aus dem Förderschwerpunkt Biotechnologie der
Deutschen Bundesstiftung Umwelt

Projektbeginn: 01.10.2006

Projektende: 30.09.2008

1. Titel des Vorhabens

Prozessentwicklung und -optimierung biotechnologischer Verfahren mit Hilfe einer innovativen Simulationsumgebung am Beispiel der Maßstabsvergrößerung eines industriellen Prozesses zur biotechnologischen Herstellung von Ectoin

2. Aktenzeichen

AZ 13175

3. Kooperationspartner

3.1. Partner 1

Prof. Dr.-Ing. Gerhard Schembecker (Koordinator und Bewilligungsempfänger)

Dipl.-Ing. Torsten Hellenkamp (Projektbearbeiter)

Lehrstuhl für Anlagen- und Prozesstechnik (APT)

Fakultät Bio- und Chemieingenieurwesen

44221 Technische Universität Dortmund

Tel: 0231 / 755 – 2338

Fax: 0231 / 755 – 2341

Email: schembecker@bci.tu-dortmund.de

3.2. Partner 2

Dipl.-Ing. Peter Balling (Kooperationspartner)

Dr. Michael Günther (Projektbearbeiter)

INOSIM GmbH

Parkring 73

22949 Ammersbek

Tel: 04532 / 268 946

Fax: 04532 / 268 947

Email: peter.balling@inosim.com

3.3. Partner 3

Dr. Thomas Schwarz (Kooperationspartner)

Dipl.-Ing. Jan Bernd Krasenbrink (Projektbearbeiter)

bitop AG

Stockumer Str. 28

58453 Witten

Tel: 02302 / 914 40 – 0

4. Zusammenfassung

Zum Abschluss der Projektlaufzeit liegt ein Prototyp für ein Simulationswerkzeug auf Basis von INOSIM Batch vor, der unter Verwendung eines neu entwickelten hybriden Datenmodells und einer umfangreichen Modellbibliothek in der Lage ist biotechnologische Aufarbeitungsprozesse zu simulieren. Das hybride Datenmodell kann die speziellen Anforderungen biotechnischer Stoffsysteme adäquat abbilden und besitzt die notwendigen Schnittstellen zu den Berechnungsmodellen. Die Bibliothek der Berechnungsmodelle beinhaltet die folgenden Grundoperationen in verschiedenen Detailstufen: Split, Mix, Mikrofiltration, Ultrafiltration, Elektrodialyse, Ionenaustausch-Capture, Chromatographie, Kristallisation, Verdampfung, Trocknung, Neutralisation.

Der Einsatz des Werkzeuges für die Simulation des Beispielprozesses zur Herstellung des Cosmoceuticals Ectoin hat zur Identifikation von Verfahrensverbesserungen geführt, die mit einer erheblichen Ausbeutesteigerung verbunden sind und zu einer deutlichen Reduktion der Versorgungs- und Entsorgungsströme führen. Durch die Berücksichtigung der gegenseitigen Wechselwirkungen der Aufreinigungsschritte über die gesamte Herstellkette sowie den Wechsel von Trennverfahren zu solchen mit hohen Ausbeuten und geringem Hilfsstoffverbrauch lassen sich die folgenden Verbesserungen erzielen, vgl. Tabelle 1.

| | Potentielle Verbesserung | Umgesetzte Verbesserung |
|--------------------|--------------------------|-------------------------|
| Ausbeute | + 42 % | + 27 % |
| Organische Abfälle | - 14 % | -3 % |
| Abwasser | - 47 % | - 38 % |
| Salze | - 36 % | - 17 % |
| Energie | - 24 % | - 16 % |
| Produktionskosten | - 37 % | - 26 % |

Tabelle 1: Auswirkungen möglicher und realisierter Verfahrensverbesserungen am Herstellprozess von Ectoin (relative Veränderung gegenüber status quo)

Im Projektzeitraum sind einige der identifizierten Verbesserungen experimentell validiert und in die Produktion umgesetzt worden, wodurch sich bereits jetzt eine

erhebliche Umwelt- und Kostenentlastung ergibt. Weitere Alternativen befinden sich aktuell in der experimentellen Validierung oder werden im Jahr 2009 umgesetzt.

5. Anlass und Zielsetzung

Industrielle biotechnologische Fermentationsprozesse werden sehr häufig aus dem kleinen Labormaßstab heraus entwickelt. Dabei bezieht sich ein Großteil der Entwicklungsarbeiten auf den Bereich der Stammentwicklung und der Definition optimaler Fermentationsbedingungen. Im Bereich der Stammoptimierung (Upstream) existieren bereits systematische Methoden zur zielgerichteten Steigerung der Produktivität. Dagegen wird der Downstream-Prozess oft isoliert von der biotechnologischen Umsetzung schrittweise und rein empirisch durch experimentelle Untersuchung einer Vielzahl denkbarer Trennverfahren ermittelt. Entwicklern biotechnologischer Prozesse fehlt dadurch oft das Gefühl, wie sich Entscheidungen für oder gegen bestimmte Aufarbeitungsschritte und deren Reihenfolge auf die Gesamtbilanz des Prozesses auswirken. Gleiches gilt für die Sensitivität des Downstream-Prozesses in Bezug auf veränderte Reaktionsbedingungen (z. B. pH-Wert oder Salzkonzentration). Das Augenmerk der Prozessentwickler richtet sich sehr oft nur auf die Maximierung der Ausbeute des gerade von ihnen bearbeiteten singulären Schrittes und lässt die Integration in den Gesamtprozess unberücksichtigt. Auch nach Aufnahme der Produktion liegen oft noch keine verlässlichen Massen- und Energiebilanzen vor, wodurch mögliches Optimierungspotential ungenutzt bleiben muss.

Als eine Hauptursache für die nicht durchgeführte ganzheitliche Bioprozessentwicklung wurden auf dem von der DBU im Oktober 2005 geförderten Workshop „Gram-to-Ton Biocatalysis“ fehlende Simulations- und Modellierungsprogramme zur Förderung des Prozessverständnisses identifiziert.

Ziele des Projektes war daher die Erstellung eines ersten Prototyps einer Simulationsumgebung für das Design biotechnologischer Aufarbeitungen und die Anwendung dieses Simulators zur Entwicklung eines optimierten Verfahrens zur Herstellung von Ectoin im Tonnenmaßstab. Der Projektpartner bitop produziert Ectoin zu Projektbeginn nach dem so genannten Bakterienmelkverfahren mit einer Kapazität im unteren Jahrestonnenbereich. In diesem Verfahren führten hohe Restmedien- und Salzfrachten und die ausbleibende Wiederverwendung der Salze zu einer hohen Umweltbelastung. Es war offensichtlich, dass im Rahmen des Scale-Ups die Reststoffentsorgung neu gestaltet werden musste. Gleichzeitig wurde an einer Anpassung des Fermentationsverfahrens gearbeitet, die zu einer deutlich

erhöhten Raum-Zeit-Ausbeute an Ectoin führen sollte. Die verbesserte Ökonomie und Ökologie der biotechnischen Umsetzung kommt im oberen Jahrestonnenbereich allerdings nur dann zum Tragen, wenn ein insgesamt ökologisch und ökonomisch besseres Herstellungsverfahren inklusive der Aufarbeitung erreicht wird. Deshalb war es durch die Variation der Fermentation erforderlich, den Downstream-Prozess neu zu entwerfen.

Der entwickelte Simulator erlaubt die Erstellung von Massen- und Energiebilanzen für biotechnologische Prozesse auf Basis biologischer, chemischer und physikalischer Basisdaten. Dabei wurde nicht die Entwicklung einer weiteren Methodik zur Vorhersage z. B. der Nachhaltigkeit biotechnologischer Prozesse angestrebt. Der Fokus lag auf der Generierung der für eine ökonomische und ökologische Bewertung notwendigen Daten, sowie der Möglichkeit, Parameterstudien und Sensitivitätsrechnungen ohne aufwändige Experimente durchzuführen. Um dieses Ziel zu erreichen, wurden erstmals Technologien aus dem Bereich der Fertigungstechnik mit Modellierungsmethoden, wie sie schon sehr lange im Fokus der verfahrenstechnischen Forschung stehen, kombiniert. Die Integration vorhersagender Modelle in die industrielle Standardlösung INOSIM Batch auf Basis vom Plant Simulation liefert aussagekräftigere Eingangsdaten für Ökoeffizienzanalysen als die bisher verwendeten Bilanzierungsmethoden. Hiermit werden Biologen, Biotechnologen und Verfahrenstechniker in die Lage versetzt, Prozessvarianten zuverlässig und schnell bezüglich des Verbrauches von Einsatzmaterial und Energie sowie der Erzeugung von Abfällen zu bewerten. Dies unterstützt die Entwicklung umweltschonender biotechnologischer Verfahren nachhaltig.

Darüber hinaus wurde erwartet, dass eine deutliche Umweltentlastung durch das neue Verfahren zur Herstellung von Ectoin erreicht wird. Für den zu Projektbeginn betriebenen rein empirisch entworfenen Prozess war eine geschlossene Massen- und Energiebilanz nicht vollständig verfügbar. Zudem fielen erhebliche Mengen Abfälle an. Eine ganzheitliche Betrachtung des Herstellprozesses unter Einbeziehung aller Neben- und Abfallströme verbunden mit der Möglichkeit, Verbesserungen des Fermentationsverfahrens zu berücksichtigen, sollte zu einem Prozess führen, der im Vergleich zum damals betriebenen Referenzprozess deutlich geringere Abfallströme erzeugt sowie weniger Energie verbraucht.

Zur Bewertung der Ökoeffizienz der entwickelten neuen Verfahrensalternativen wird gemäß Bewilligungsschreiben vom 29.06.2006 die Summe aller Stoff- und

Energieströme sowie die mit der Prozessumstellung verbundenen Produktionskosten betrachtet.

6. Ergebnisse

6.1. Erstellung des Bioprozesssimulators

6.1.1. INOSIM Batch zu Projektbeginn

In der zu Projektbeginn vorliegenden Version der Software INOSIM Batch 6.14 waren bereits einige Funktionen enthalten, die für die Simulation biotechnologischer Prozesse sinnvoll sind. Die wichtigsten Komponenten der Software sind das Prozessnetzwerk und der Rezepteditor. Im Netzwerk können mittels Drag & Drop Simulationsfließbilder graphisch erstellt werden. Im Rezepteditor werden die Ablaufsteuerungen des Prozesses definiert. Mit Hilfe dieser Funktionen ist es möglich den zeitlichen Prozessablauf und die behandelten Gesamtmassenströme ereignisorientiert zu simulieren. Das Ergebnis sind Daten über die Auslastung der einzelnen Anlagen, die Produktionszeit und den Bedarf verschiedener Ressourcen als Grundlage für eine Produktionsplanung.

Mit der vorliegenden Version ist es allerdings nicht möglich eine detaillierte komponentenspezifische Massenbilanz zu erzeugen, da hierfür die notwendige Datenstruktur fehlt. Dasselbe gilt für die Berechnung einer Energiebilanz, die in der Software auch nicht vorgesehen ist. Weiterhin haben Änderungen an den Eingangsmengen oder der Eingangszusammensetzung keinen Einfluss auf die nachfolgenden Prozessschritte und den daraus resultierenden Bilanzen und Prozesszeiten, da alle Prozesse mit fest definierten Zeiten und Mengen arbeiten. Hierfür fehlen Berechnungsmodelle für die unterschiedlichen Aufreinigungsschritte, über die Abhängigkeiten zwischen den Eingangs- und Ausgangsgrößen der Prozessschritte abgebildet werden können.

Basierend auf diesen Erkenntnissen sind notwendige Erweiterungen zur Simulation biotechnologischer Aufreinigungsprozesse entwickelt und implementiert worden. Hierzu gehört das neu entwickelte hybride Datenmodell mit den notwendigen Schnittstellen zur Modellierungsumgebung. Innerhalb dieser Modellierungsumgebung ist eine adaptive Modellbibliothek mit zahlreichen Berechnungsmodellen erstellt worden. Zudem wurden Rezeptvorlagen entwickelt, um immer wiederkehrende Prozessschritte in neuen Simulationen schneller einbinden zu können. Die neu entwickelten Elemente und ihre Funktion werden im Folgenden erklärt.

6.1.2. Das hybride Datenmodell

Im Bereich der biotechnologischen Aufarbeitungsprozesse sind selten alle Bestandteile und Eigenschaften des Produktgemisches bekannt. Um die vorhandenen Daten trotzdem als Eingangsgrößen für die Simulation zu nutzen ist eine neuartige Datenstruktur entwickelt worden, in der sowohl quantitative als auch qualitative Daten erfasst werden können. Dabei dienen die quantitativen Daten als Eingangsgrößen für die Simulationsmodelle. Der Nutzen der qualitativen Daten besteht in der Verwendung für nicht quantifizierbare Eigenschaften, wie z.B. Farbe Geruch, Geschmack, da solche Eigenschaften für die Produktspezifikationen eine wichtige Bedeutung haben.

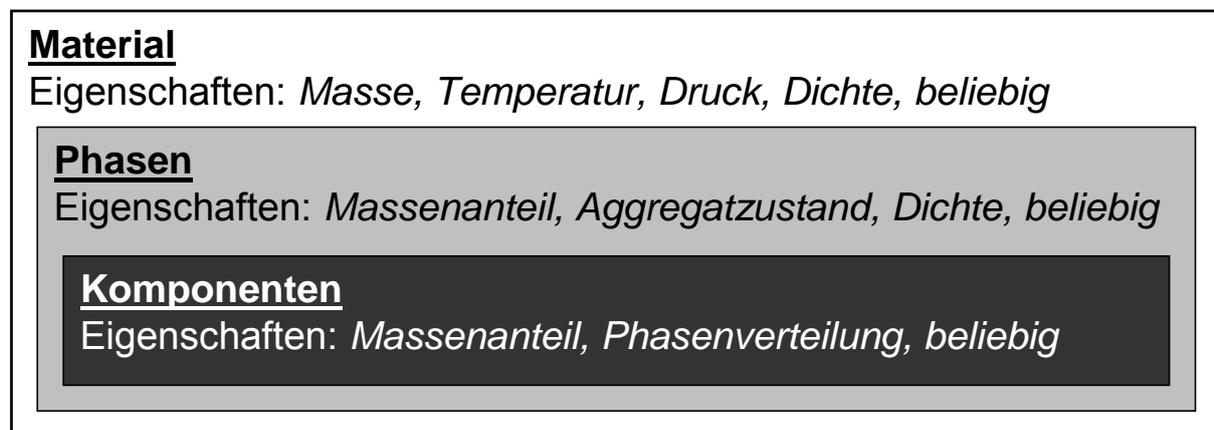


Abbildung 1: Struktur des neuen Datenmodells

Aufgebaut ist das hybride Datenmodell hierarchisch auf drei Ebenen. (Abbildung 1) Die oberste Ebene bildet der gesamte Materialstrom. Dieser beinhaltet unter anderem den Gesamtmassenstrom, Druck, Temperatur, die Massenanteile der Phasen und die Zusammensetzung des Gemisches als quantitative Eigenschaften. Zusätzlich können beliebige quantitative und qualitative Eigenschaften definiert werden, um diesem Materialstrom weitere Informationen mitzugeben. Die nächste Ebene ist die Unterteilung in Phasen. Für mehrphasige Gemische lässt sich hier die Zusammensetzung der einzelnen Phasen über die Massenanteile der einzelnen Komponenten definieren. Weitere quantitative Eigenschaften sind der Gesamtmassenstrom der Phase, ihr Aggregatzustand und ihre Dichte. Auch auf dieser Ebene ist es möglich beliebige weitere Eigenschaften zu definieren, die als Eingangsgröße für die Simulationsmodelle dienen oder für die Betrachtung qualitativer Eigenschaften genutzt werden können. Die unterste Ebene bilden die einzelnen Komponenten des Materialstroms. Für jede Komponente lässt sich der

jeweilige Massenanteil im Gemisch und in den Phasen definieren. Über die frei definierbaren Eigenschaften können alle bekannten Stoff- und Gemischeigenschaften der Komponenten definiert werden. Die Definition beliebiger quantitativer als auch qualitativer Eigenschaften ist vor allem auf dieser Ebene von Interesse, da oft die Eigenschaften einer Komponente die Materialeigenschaften wesentlich bestimmen. Die Definition der betrachteten Komponenten ist dabei allerdings nicht zwingend an die genaue Zusammensetzung des Gemisches gebunden. In vielen Fällen ist es vorteilhaft mehrere Komponenten zu so genannten Pseudokomponenten zu vereinen, wenn sich diese Komponenten durch ähnliche Eigenschaften auszeichnen und in den Berechnungsmodellen gemeinsam behandelt werden können. Wie sich der Nutzen dieser Funktionen darstellt soll in einem kurzen Beispiel erläutert werden.

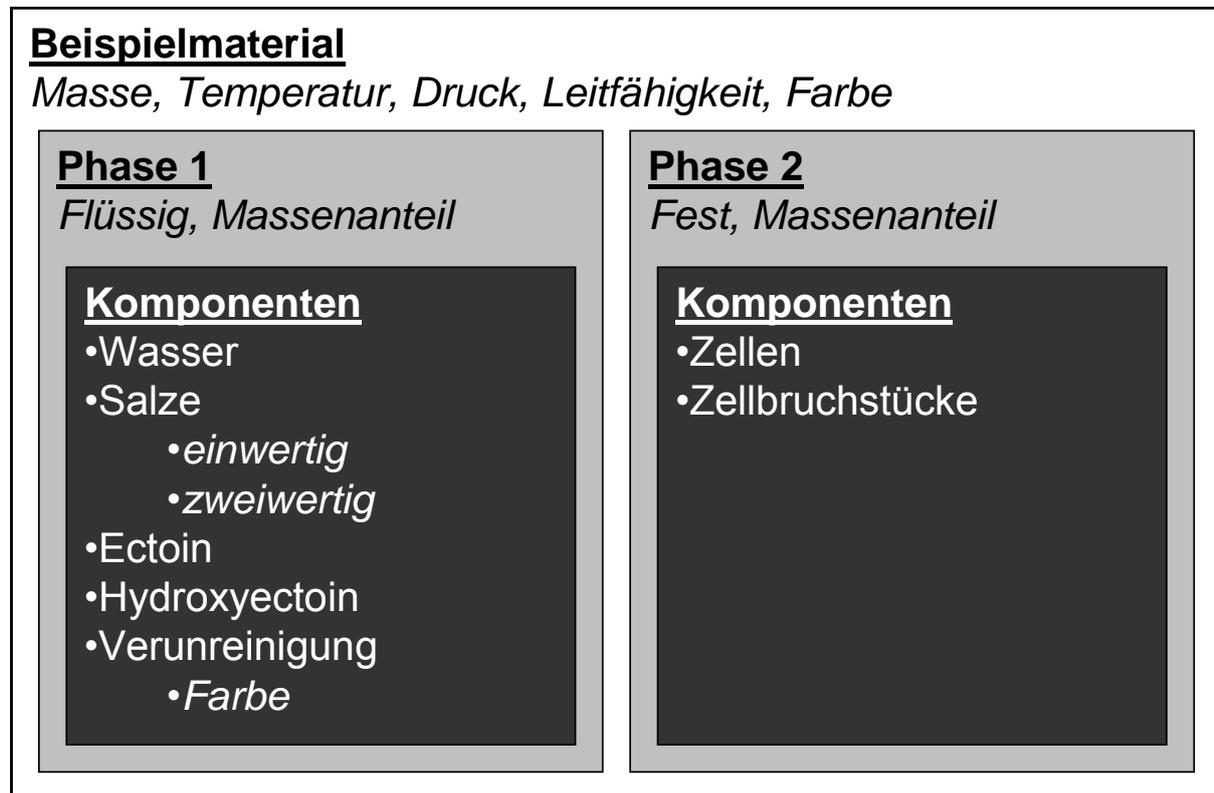


Abbildung 2: Beispiel einer Materialzusammensetzung

In Abbildung 2 ist beispielhaft die Zusammensetzung eines zweiphasigen Materials dargestellt. Das Material besitzt hier die Eigenschaften Masse, Temperatur, Druck, Leitfähigkeit und Farbe. Unter der Annahme, dass die Farbe des Materials nur durch die Verunreinigung in Phase 1 bestimmt wird, trägt das gesamte Material die Eigenschaft der Farbe solange die Verunreinigung im Material enthalten ist. Sobald

diese Komponente aus dem Material entfernt wird, verliert auch das gesamte Material die Eigenschaft der Farbe und hat auf diese Weise eine Produktspezifikation erreicht. Dabei ist es nicht zwingend notwendig zu wissen um was für eine Substanz es sich bei der Verunreinigung handelt, solange bekannt ist, welche Eigenschaften sie besitzt und wie sie aus dem Material entfernt werden kann.

Weiterhin sind in diesem Beispiel alle vorhandenen Salze als eine Pseudokomponente definiert. Eine Eigenschaft dieser Komponente ist die Unterteilung in ein- bzw. zweiwertige Salze. Die vorgenommene Vereinfachung ist in diesem Fall möglich, da für die Entfernung der Salze aus dem Material z. B. mittels Elektrodialyse nicht von Bedeutung ist, welche Salze vorhanden sind. Für die Berechnung dieses Trennschritts ist es nur notwendig zu wissen, welche Absolutladung die vorhandenen Salze besitzen.

Neben dem Datenmodell selbst sind einige Schnittstellenfunktionen entwickelt worden. Über diese ist eine Kommunikation (lesen, schreiben, kopieren, usw.) des Datenmodells mit den Berechnungsmodellen und die Ausgabe der hinterlegten Daten für den Nutzer möglich. Die Funktionen weisen dabei die gleiche hierarchische Struktur auf wie das Datenmodell selbst. Über das Material gelangt man an die Phasen und die Komponenten. Weiterhin ist für die Behandlung der Phasen eine spezielle Funktion entwickelt worden, über die sich Phasentrennungen sehr einfach handhaben lassen, indem aus einem Material mit mehreren Phasen jede Phase als eigenständiges Material extrahiert werden kann. Im obigen Beispiel könnte die Zellabtrennung über diese Funktion realisiert werden, in dem aus Phase 1 und Phase 2 jeweils ein eigenständiges Material erzeugt wird.

6.1.3. Entwicklung von Rezeptvorlagen

Rezepte dienen in INOSIM zur Steuerung des gesamten Prozessablaufes. In ihnen ist über Grundoperationen festgelegt, in welcher Reihenfolge die einzelnen Arbeitsschritte eines Trennschrittes durchlaufen werden. Weiterhin wird in den Grundoperationen der Rezepte festgelegt, welche Anlage und welche Ressourcen für den Prozessschritt benötigt werden. Auch die Steuerung der Mitarbeiterbelegung erfolgt in den Grundoperationen. Die wichtigste Funktion der Rezepte ist der Aufruf von Steuerungen, die die Berechnungsmodelle beinhalten.

Die Rezepte selber setzen sich aus einfachen Grundoperationen (z.B. Befüllen, Entleeren, Prozess, Warten, Reinigung) und den Verknüpfungen, die die Reihenfolge der Abarbeitung beschreiben, zusammen. Rezepte entsprechen dabei der

Verfahrens- oder Herstellvorschrift der realen Anlage. Biotechnologische Produktionsprozesse sind in der Regel aus wiederkehrenden Prozessschritten (z.B. Filtration, Elektrodialyse, Verdampfung) aufgebaut und verwenden deshalb auch ähnliche Verfahrensvorschriften. Aus diesem Grund sind Rezeptmodule für oft verwendete Prozessschritte entwickelt worden, um diese zukünftig als Vorlage für die Beschreibung anderer Prozesse einzusetzen. Dabei sind bereits für folgende Prozessschritte Rezeptvorlagen erstellt worden.

- Splitter
- Mixer
- Ionenaustausch
- Kristallisation
- Neutralisation
- Filtration
- Elektrodialyse
- Chromatographie
- Trocknung

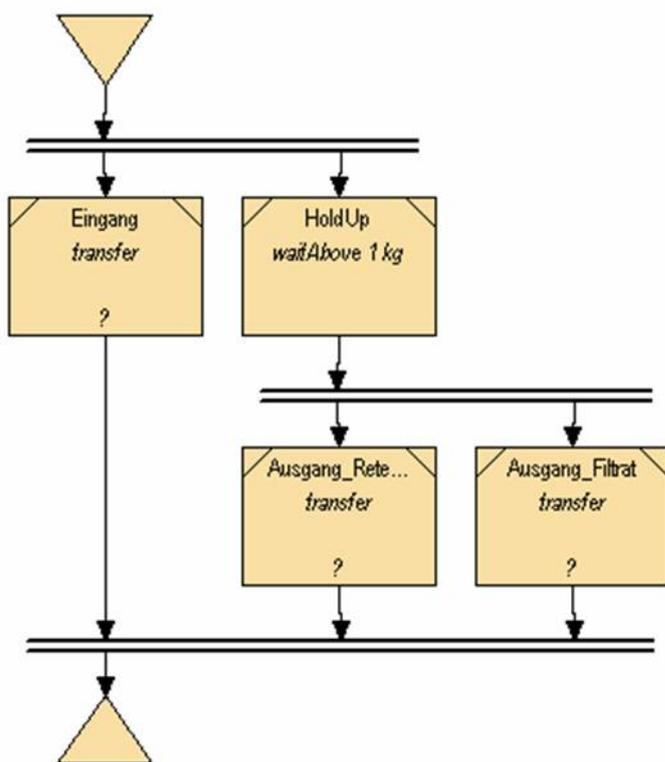


Abbildung 3: Rezeptmodul für eine Querstromfiltration in kontinuierlicher Fahrweise

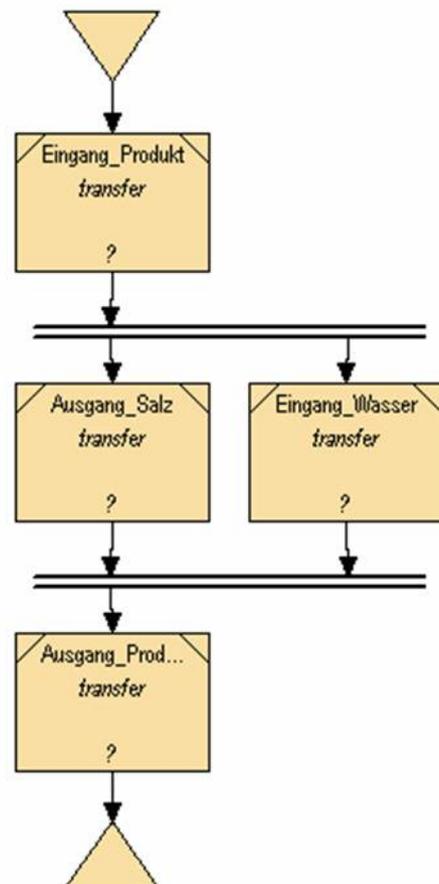


Abbildung 4: Rezeptmodul für eine Elektrodialyse in Kreislauffahrweise

Grundsatz für den Aufbau von Rezeptmodulen ist diese so einfach wie möglich zu halten, aber dabei den realen Prozessablauf bestmöglich abzubilden. In Abbildung 3 und Abbildung 4 sind beispielhaft die Rezeptmodule für eine Querstromfiltration in

kontinuierlicher und eine Elektrodialyse in Kreislauffahrweise dargestellt. Beide Rezeptmodule erlauben es, mit wenigen Grundoperationen den realen Prozessablauf abzubilden. Zudem besteht die Möglichkeit, die vorgefertigten Rezeptmodule frei zu erweitern, falls besondere Prozesseigenschaften implementiert werden sollen.

6.1.4. Modellentwicklung

Für die Erstellung einer konsistenten Massen- und Energiebilanz sind Prozessmodelle entwickelt worden, die auf Basis chemischer und physikalischer Daten das Prozessverhalten beschreiben. Ein wichtiger Punkt bei der Erstellung dieser Prozessmodelle war die Anpassung der Modellierungstiefe an die gegebene Datenbasis, da zu Beginn einer Prozessauslegung oft nur wenige Daten verfügbar sind. Aus diesem Grund wurden für die betrachteten Prozessschritte Berechnungsmodelle mit unterschiedlicher Berechnungstiefe entwickelt, die in drei Kategorien eingeordnet sind:

- Black-Box Modelle werden verwendet, wenn nur sehr wenige Informationen über den Prozessschritt verfügbar sind. Black-Box Modelle erlauben dann zumindest eine einfache Beschreibung der Übergangsfunktion zwischen Eingangs- und Ausgangsgrößen. Dabei werden z. B. einfache Proportionalitätsbeziehungen wie etwa die Berechnung des Energieverbrauches einer Stufe über den spezifischen Energieverbrauch pro kg Feed oder die Abschätzung der Prozesszeit aus der Feedmenge über eine spezifische Prozesszeit verwendet.
- Short-Cut Modelle beschreiben komplexe, oft nicht-lineare Zusammenhänge über relativ einfache Gleichungen. Auf diese Weise lassen sich Prozesswissen, vorhandene Messdaten oder andere Korrelationen in die Modellierung einbauen, um somit die Qualität der gewonnenen Informationen zu steigern.
- Detaillierte Modelle basieren auf biologischen, chemischen und physikalischen Zusammenhängen und erlauben eine sehr exakte Vorhersage des Prozessverhaltens. Allerdings machen z. B. die Nichtidealität der Gemischeigenschaften oder die Dynamik der Prozesse die Aufstellung und Berechnung komplexer Differentialgleichungssysteme erforderlich. Außerdem muss eine Vielzahl von Stoff-, Gemisch- und Prozessparametern vor der Berechnung bestimmt werden.

Für alle in diesem Projekt relevanten Prozessschritte sind Black-Box Modelle erstellt worden. Zu dem sind für fast alle Prozessschritte Short-Cut Modelle entwickelt worden, die auf Messdaten des realen Produktionsprozesses beruhen oder auf einfachen Gleichgewichtsannahmen basieren. Im Bereich der detaillierten Modelle

sind Modelle für den osmotischen Schock, die Elektrodialyse, den Ionenaustausch-Capture, sowie einen Chromatographieschritt entwickelt worden. Ein Überblick über die erstellten Berechnungsmodelle findet sich in Tabelle 2.

| Prozessschritt | Black-Box | Short-Cut | Detailliert |
|------------------------|-----------|-----------|-------------|
| Osmotischer Schock | X | X | X |
| Querstromfiltration | X | X | |
| Elektrodialyse | X | X | X |
| Ionenaustausch-Capture | X | X | X |
| Chromatographie | X | X | X |
| Neutralisation | X | X | |
| Verdampfung/Trocknung | X | | |
| Kristallisation | X | | |

Tabelle 2: Liste erstellter Modelle mit Detailstufe

Der Unterschied zwischen den verschiedenen Detailstufen der Berechnungsmodelle soll hier beispielhaft durch den Vergleich des Black-Box und des Short-Cut Modells für die Beschreibung einer Elektrodialyse und dem detaillierten Modell zur Berechnung der chromatographischen Trennung verdeutlicht werden. Weiterhin soll am Beispiel des Short-Cut Modells für den osmotischen Schock gezeigt werden, dass sich auch ungewöhnliche Prozessschritte modellieren lassen.

Black-Box Modell: Elektrodialyse

Das Black-Box Modell für die Elektrodialyse erzeugt eine Massenbilanz um den Prozessschritt. Die Berechnungsgleichungen basieren auf linearen Abhängigkeiten zwischen den Eingangswerten und Referenzwerten. Die Zusammensetzung des ausgehenden Produktstromes ergibt sich aus der Produktausbeute und dem Entsalzungsgrad.

Die Prozesszeit t wird aus der Referenzprozesszeit t_{ref} , dem zu entsalzenden Volumen V_{In} , dem Referenzvolumen $V_{In,ref}$, dem Entsalzungsgrad DoD und dem Referenzentsalzungsgrad DoD_{ref} berechnet.

$$t = t_{ref} \cdot \frac{V_{In}}{V_{In,ref}} \cdot \frac{DoD}{DoD_{ref}}$$

Analog dazu wird das benötigte Volumen für die Elektrodenspülung $V_{Wash,In}$ mit Bezug zu einem Referenzvolumen $V_{Wash,ref}$ bestimmt.

$$V_{Wash,In} = V_{Wash,ref} \cdot \frac{V_{In}}{V_{In,ref}} \cdot \frac{DoD}{DoD_{ref}}$$

Zusätzlich wird angenommen, dass die eintretenden gleich der austretenden Volumina sind. Was zu folgenden Gleichungen für den Produktvolumenstrom $V_{Produkt}$ und den zu entsorgenden Spülstrom $V_{Wash,Out}$ führt.

$$V_{Produkt} = V_{In}$$

$$V_{Wash,Out} = V_{Wash,In}$$

Die Verteilung der Komponenten erfolgt abhängig von ihrer Polarität. Unpolare Komponenten gehen anteilig zur Produktausbeute Y in den Produktstrom. Polare Komponenten werden entsprechend dem Entsalzungsgrad auf den Produkt und den Abwasserstrom verteilt. Das führt zu folgenden Gleichungen für die betrachteten Komponenten.

$$m_{i,Product} = m_{i,In} \cdot Y$$

$$m_{i,Product} = m_{i,In} \cdot (1 - DoD)$$

$$m_{i,Wash,Out} = m_{i,In} - m_{i,Product}$$

Short-Cut Modell: Elektrodialyse

Das Short-Cut Modell der Elektrodialyse erzeugt ebenso eine Massenbilanz um den Prozessschritt, allerdings werden in diesem Modell die Prozesszeit und der Entsalzungsgrad aus korrelierten Messdaten ermittelt. Darüber hinaus wird die Produktausbeute linear mit der Prozesszeit in Beziehung gesetzt. Zusätzlich konnte im betrachteten Ectoinprozess eine Volumenabnahme des Produktstroms beobachtet werden, die deshalb abhängig von der Prozesszeit bilanziert wird. Als zusätzlicher Freiheitsgrad ist in diesem Modell die Leitfähigkeit des entsalzten Produktstromes Lf_{Out} zu wählen. Aus diesem wird über eine nichtlineare Korrelation, basierend auf Messdaten der bitop AG, die Prozesszeit t ermittelt.

$$t = \frac{(-0.0099 \cdot Lf_{out}^3 + 0.8 \cdot Lf_{out}^2 - 23.6 \cdot Lf_{out} + 368.6)}{60 \text{ min/h}}$$

Wie auch im Black-Box Modell wird auch im Short-Cut Modell das Spülvolumen für die Elektroden aus der zu entsalzenden Menge und Referenzwerten bestimmt.

$$V_{Wash,In} = V_{Wash,ref} \cdot \frac{V_{In}}{V_{In,ref}} \cdot \frac{t}{t_{ref}}$$

Die Volumenänderung der Produktfraktion und die Produktausbeute berechnen sich aus Referenzwerten und der berechneten Prozesszeit.

$$\Delta V = \left(1 - \left(1 - \Delta V_{ref} \right) \cdot \frac{t}{t_{ref}} \right)$$

$$Y = Y_{ref} \cdot \frac{t}{t_{ref}}$$

Die Bestimmung des Entsalzungsgrades erfolgt aus dem Verhältnis der Salzkonzentration vor der Entsalzung c_0 und nach der Entsalzung c_{out} . Die Salzkonzentration besitzt dabei eine nichtlineare Abhängigkeit von der Leitfähigkeit.

$$DoD = \frac{c_{out}}{c_0} = \frac{0.0025 \cdot Lf_{out}^2 + 0.6363 \cdot Lf_{out}}{0.0025 \cdot Lf_0^2 + 0.6363 \cdot Lf_0}$$

Eine Volumenbilanz um die Elektrodialyse ergibt folgende Gleichungen für das Produktvolumen und das austretende Spülvolumen.

$$V_{Produkt} = V_{in} \cdot \Delta V$$

$$V_{Wash,Out} = V_{Wash,In} + V_{in} \cdot (1 - \Delta V)$$

Die Verteilung der Komponenten auf den Produkt- und den Spülstrom erfolgt wie im Black-Box Modell über für unpolare Komponenten die Produktausbeute und für polare Komponenten über den Entsalzungsgrad.

$$m_{i,Product} = m_{i,In} \cdot Y$$

$$m_{i,Product} = m_{i,In} \cdot DoD$$

$$m_{i,Wash,Out} = m_{i,In} - m_{i,Product}$$

Im Vergleich beider Modelle ist klar zu erkennen, dass das Short-Cut Modell aufgrund der auf Messdaten basierenden Korrelationen eine deutlich bessere Bilanzierung dieses Prozessschrittes erlaubt. Dies führt zu exakteren Ausgangswerten für die folgenden Prozessschritte und steigert somit die Qualität der gesamten Simulation.

Detailliertes Modell: Chromatographische Trennung

Die Modellgleichungen basieren auf dem Transport Dispersive Model und besitzen sowohl eine örtliche als auch eine zeitliche Diskretisierung. Das Modell beschreibt sowohl den Einfluss axialer Dispersion durch Rückvermischung in der Säule, als auch den Stofftransport der Substanzen in die Poren der Adsorbenspartikeln. Das zur Herleitung des Modells verwendete differentielle Volumenelement der Chromatographiesäule ist in Abbildung 5 dargestellt. Unter Verwendung der obigen Annahmen ergeben sich die Stoffbilanzen für die mobile sowie die stationäre Phase.

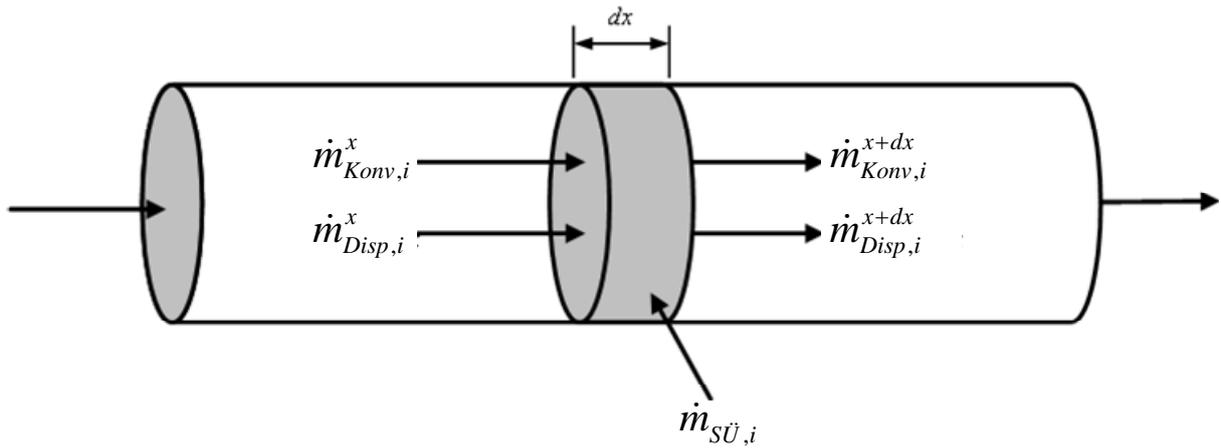


Abbildung 5: Differentielles Volumenelement zur Bilanzierung der Chromatographiesäule

Bilanzierung der mobilen Phase:

Die Betrachtung der Systemgrenzen des differentiellen Volumenelementes in Abbildung 5 liefert für die zeitliche Veränderung der im Element gespeicherten Masse einer Komponente i die folgende Gleichung.

$$\frac{\partial}{\partial t} (m_{\text{Speicher},i}) = \dot{m}_{\text{Konv},i}^x - \dot{m}_{\text{Konv},i}^{x+dx} + \dot{m}_{\text{Disp},i}^x - \dot{m}_{\text{Disp},i}^{x+dx} - \dot{m}_{\text{SÜ},i}$$

Die ein- bzw. austretenden Stoffströme beschreiben hierbei die Konvektion, Dispersion und den Stoffaustausch zwischen mobiler und stationärer Phase. Der Speicherterm und die Stoffströme stellen sich dabei wie folgt dar. Dabei beschreibt c_i die Konzentration der Komponente i in der mobilen Phase außerhalb des Feststoffs, $c_{P,i}$ die Konzentration in den Poren, q_i^* die Beladung der Partikel und q_i die Beladung der Partikeloberfläche.

$$m_{\text{Speicher},i} = \varepsilon \cdot c_i \cdot A_S \cdot dx$$

$$\dot{m}_{\text{Konv},i}^x = \varepsilon \cdot A_S \cdot u_{\text{int}} \cdot c_i \Big|_x$$

$$\dot{m}_{\text{Konv},i}^{x+dx} = \varepsilon \cdot A_S \cdot u_{\text{int}} \cdot c_i \Big|_{x+dx} = \varepsilon \cdot A_S \cdot u_{\text{int}} \cdot \left(c_i \Big|_x + \frac{\partial c_i}{\partial x} \cdot dx \right)$$

$$\dot{m}_{\text{Disp},i}^x = -D_{ax} \cdot \varepsilon \cdot A_S \cdot \frac{\partial c_i}{\partial x} \Big|_x$$

$$\dot{m}_{\text{Disp},i}^{x+dx} = -D_{ax} \cdot \varepsilon \cdot A_S \cdot \frac{\partial c_i}{\partial x} \Big|_{x+dx} = -D_{ax} \cdot \varepsilon \cdot A_S \cdot \left(\frac{\partial c_i}{\partial x} \Big|_x + \frac{\partial^2 c_i}{\partial x^2} \cdot dx \right)$$

$$\dot{m}_{\text{SÜ},i} = (1 - \varepsilon) \cdot A_S \cdot dx \cdot \frac{\partial q_i^*}{\partial t}$$

Durch Einsetzen dieser Gleichung in die Bilanz der mobilen Phase gelangt man nach Umformen zur differentiellen Bilanzgleichung für die mobile Phase.

$$\frac{\partial c_i}{\partial t} + u_{\text{int}} \cdot \frac{\partial c_i}{\partial x} + \frac{1-\varepsilon}{\varepsilon} \cdot \frac{\partial q_i^*}{\partial t} = D_{ax} \cdot \frac{\partial^2 c_i}{\partial x^2}$$

Bilanzierung der stationären Phase:

Der Stoffübergang von der fluiden Phase in die feste, stationäre Phase wird mit einem linearen Triebkraftansatz abgeschätzt. Der zusammengefasste Stoffaustauschkoeffizient $k_{\text{eff},i}$ beschreibt dabei den Transportwiderstand von Film und Porensystem. Die lineare Triebkraft ergibt sich aus der Differenz von Poren- und Bulkphasenkonzentration der Komponente i . Damit ergibt sich für den Stoffübergang von der mobilen in die stationäre Phase der folgende Ansatz.

$$\dot{m}_{SÜ,i} = (1-\varepsilon) \cdot A_S \cdot dx \cdot \frac{6}{d_p} k_{\text{eff},i} (c_i - c_{P,i})$$

Die Bilanzierung der stationären Phase ergibt unter Verwendung des Stofftransportansatzes folgende Gleichung.

$$\frac{\partial q_i^*}{\partial t} = k_{\text{eff},i} \cdot \frac{6}{d_p} \cdot (c_i - c_{P,i})$$

Dabei ist q_i^* die gesamte Partikelbeladung die sich aus der Adsorbensbeladung q und der Stoffmenge in den Poren zusammensetzt.

$$q_i^* = \varepsilon_p \cdot c_{P,i} + (1-\varepsilon_p) \cdot q_i$$

Der Zusammenhang zwischen Beladung der Adsorbenspartikeln und der Konzentration aller Komponenten wird über das Adsorptionsgleichgewicht beschrieben.

$$q_i = f(c_{P,1}, \dots, c_{P,N})$$

Anfangs- und Randbedingungen:

Die Lösung der hergeleiteten Differentialgleichungen setzt die Formulierung von Anfangs- und Randbedingungen voraus. Als Anfangsbedingung wird von einer unbeladenen Säule, die nur mit Eluent gefüllt ist, ausgegangen.

$$c_i(t=0, x) = c_{P,i}(t=0, x) = q_i(t=0, x) = 0$$

Als Randbedingung für den Säuleneingang wird der folgende Ansatz verwendet. Dabei beschreibt $c_{\text{ein},i}(t)$ den eintretenden Konzentrationsverlauf in die Säule

$$c_i(t, x=0) = c_{\text{ein},i}(t)$$

Die Vernachlässigung der Dispersion am Säuleneingang ist für konvektionsdominierte Systeme, wie die Chromatographie, vereinfachend zu verwenden. Als Randbedingung für das Säulende ($x = L_S$) wird die geschlossene Danckwerts-Randbedingung verwendet.

$$\frac{\partial c_i(t, x = L_s)}{\partial x} = 0$$

Die Lösung dieses System partieller Differentialgleichungen ist analytisch nicht möglich. Deshalb wurde in der Berechnungssoftware MATLAB® eine örtliche Diskretisierung des Systems durchgeführt, die ein System gewöhnlicher Differentialgleichungen erzeugt, dass in MATLAB® lösbar ist.

Die Verwendung fremder Software ist für die Beschreibung dieser komplexen Zusammenhänge notwendig, da die in INOSIM Batch vorhandene Berechnungs-umgebung nicht in der Lage ist, Differentialgleichungen zu lösen. Da sich mit MATLAB® lizenzfreie Programme erzeugen lassen stellt diese Notwendigkeit allerdings kein Problem für die Entwicklung des Simulationswerkzeuges dar.

Die Herleitung dieses detaillierten Modells zeigt anschaulich, mit welchem Genauigkeitsgrad eine Abbildung der ablaufenden Prozesse möglich ist. Allerdings sind solch detaillierte Modelle aufgrund der fehlenden Stoff- und Gemischdaten nur in wenigen Fällen einzusetzen.

Short-Cut Modell: Osmotischer Schock

Das Short-Cut Modell zur Beschreibung des osmotischen Schocks basiert auf Messdaten der bitop AG. Das Modell berechnet ausgehend vom Zellvolumen V_{Cells} , dem Schockvolumen V_{H_2O} und der eintretenden Salzmenge $m_{NaCl,In}$ die Ausschleusung der Ectoine aus den Zellen. Zusätzlich wird der Feststoffanteil x_S des Gesamtstroms berechnet, da dieser für die spätere Filtration benötigt wird.

Zunächst wird das ausgehende Volumen V_{Out} nach dem Schock und der sich daraus ergebende Feststoffanteil berechnet.

$$V_{Out} = V_{Cells} + V_{H_2O}$$

$$x_S = \frac{V_{Cells}}{V_{Out}}$$

Aus der eintretenden Salzmenge und den Volumina vor und nach dem Schock werden die Salzkonzentrationen vor dem Schock $c_{NaCl,In}$ und nach dem Schock $c_{NaCl,Out}$ berechnet.

$$c_{NaCl,In} = \frac{m_{NaCl,In}}{V_{Cells}}$$

$$c_{NaCl,Out} = \frac{m_{NaCl,0}}{V_{Out}}$$

Aus den Konzentrationen wird anschließend die Leitfähigkeit vor dem Schock Lf_{In} und nach dem Schock Lf_{Out} berechnet. Die Korrelation zwischen Salzkonzentration und Leitfähigkeit basiert auf Messdaten der bitop AG.

$$Lf_{In} = \begin{cases} 1,8042 \cdot c_{NaCl,In} ; c_{NaCl,In} < 10 \text{ g/l} \\ -0,0035 \cdot c_{NaCl,In}^2 + 1,442 \cdot c_{NaCl,In} ; c_{NaCl,In} \geq 10 \text{ g/l} \end{cases}$$

$$Lf_{Out} = \begin{cases} 1,8042 \cdot c_{NaCl,Out} ; c_{NaCl,Out} < 10 \text{ g/l} \\ -0,0035 \cdot c_{NaCl,Out}^2 + 1,442 \cdot c_{NaCl,Out} ; c_{NaCl,Out} \geq 10 \text{ g/l} \end{cases}$$

In Abhängigkeit von der Leitfähigkeit kann dann die intrazelluläre Ectoinkonzentration $c_{E,0}$ bzw. c_E berechnet werden. Auch diese Korrelation beruht auf Messdaten der bitop AG.

$$c_{E,0} = 1.7969E-06 \cdot Lf_{In}^4 - 3.7156E-04 \cdot Lf_{In}^3 + 2.0661E-02 \cdot Lf_{In}^2 - 4.3356E-01 \cdot Lf_{In} + 3.2106E+01$$

$$c_E = 1.7969E-06 \cdot Lf_{Out}^4 - 3.7156E-04 \cdot Lf_{Out}^3 + 2.0661E-02 \cdot Lf_{Out}^2 - 4.3356E-01 \cdot Lf_{Out} + 3.2106E+01$$

Die Menge Ectoin Δm_E , die aus den Zellen in den Überstand ausgeschleust wird, berechnet sich aus der Konzentrationsdifferenz und dem Zellvolumen.

$$\Delta m_E = V_{Cells} \cdot (c_{E,0} - c_E)$$

Durch diese empirische Beschreibung ist es somit möglich auch die Einflüsse auf einen derart unüblichen Prozessschritt zu untersuchen und ungenutztes Potential zu entdecken.

6.1.5. Gesamtstruktur INOSIM Batch

Die neu entwickelte Gesamtstruktur von INOSIM Batch in seiner aktuellsten Version 8.12 ist in Abbildung 6 dargestellt. Das zu Projektbeginn vorhandene Netzwerk und der Rezepteditor sind um die neue Datenstruktur und die Modellbibliothek inklusive der notwendigen Schnittstellen erweitert worden. Durch diese Kombination aus ereignisorientierter und dynamischer Simulation wird der Rahmen zur Modellierung und Simulation biotechnologischer Prozesse gebildet.

Mit Hilfe der vorgestellten Entwicklungen ist es nun möglich Aufreinigungsprozesse zu modellieren und zu simulieren. Durch die implementierten Erweiterungen ist die Software in der Lage eine komponentenspezifische Massenbilanz und eine Energiebilanz des gesamten Aufreinigungsprozesses zu berechnen. Dabei besteht die Möglichkeit die Modelltiefe der Berechnungsmodelle an die vorhandene Datenmenge anzupassen, um mit den aktuell vorliegenden Daten möglichst präzise Vorhersagen über den Prozess zu treffen. Weiterhin ist es mit dem neu entwickelten Datenmodell möglich auch prozessspezifische Besonderheiten quantitativ oder

qualitativ zu erfassen und für die Simulation zu nutzen. In Kombination mit den bereits vorhandenen Funktionalitäten von INOSIM ergibt sich ein leistungsfähiges Werkzeug, das den Nutzer bei der Auslegung und Optimierung biotechnologischer Prozesse unterstützen kann.

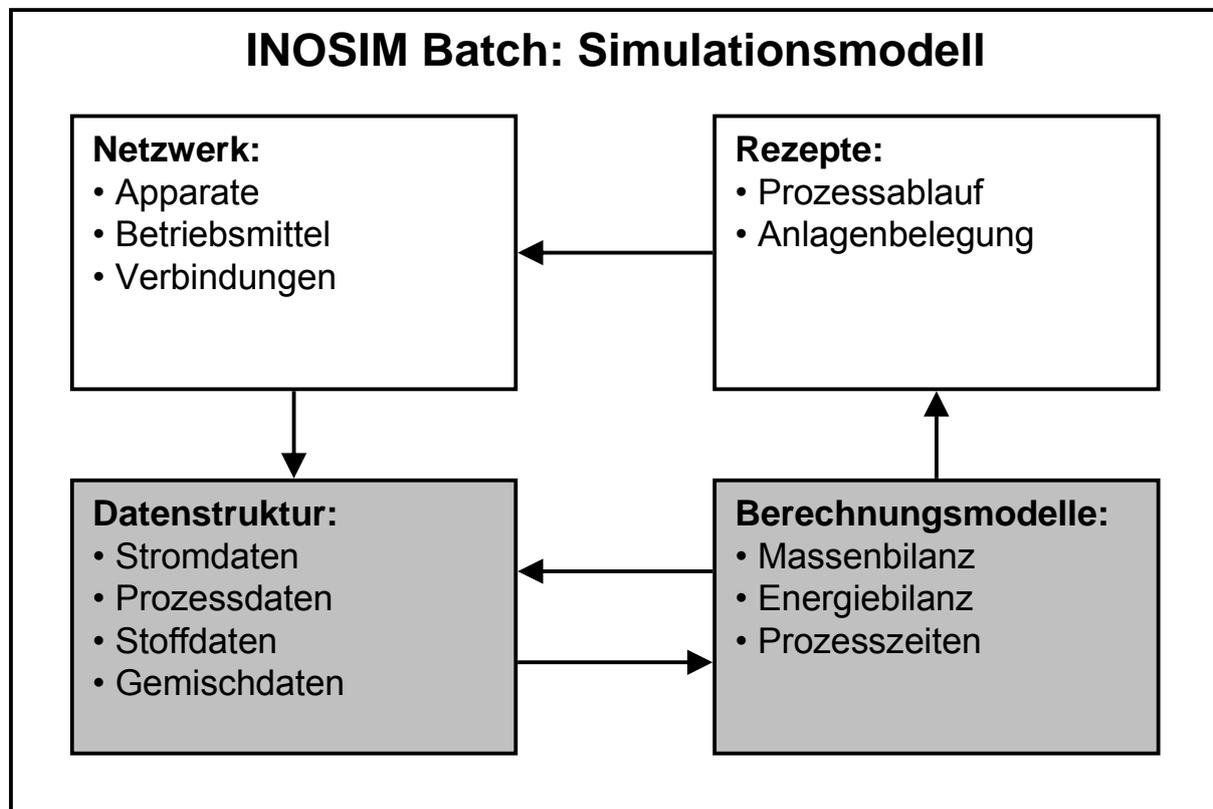


Abbildung 6: Erweiterte Struktur von INOSIM Batch
 weiß: zu Projektbeginn vorhanden, grau: neu entwickeltes Element

6.1.6. Weiterentwicklung von INOSIM Batch

Durch die Anwendung der Software und durch den Vergleich mit anderen ausgereiften Simulationsumgebungen, z.B. aus der chemischen Industrie, wird deutlich, dass noch weitere Verbesserungen notwendig sind, die aber im Rahmen dieses Projektes nicht durchgeführt werden konnten.

Um dem Nutzer eine möglichst breite Palette an vorgefertigten Modellen zu bieten muss die Modellbibliothek um weitere übliche Verfahrensschritten erweitert und die Modelltiefen der vorhandenen Verfahrensschritte ergänzt werden. Weiterhin sollte für die Modellierung eine komfortable Simulationsumgebung geschaffen werden, die auch in der Lage ist Differentialgleichungen zu lösen, da diese Bestandteil in vielen detaillierten Modellen sind. Die bisher angewandte Auslagerung in die

Berechnungsumgebung MATLAB ist zwar grundsätzlich möglich, allerdings durch den dauernden Datentransfer fehleranfällig und zeitraubend.

Weitere Verbesserungen sind im Bereich der Nutzerfreundlichkeit und einem optimierten Workflow geplant. Momentan sind für den Aufbau eines kompletten Simulationsmodells noch sehr viele, zum Teil identische Arbeitsschritte notwendig. Durch mehr Automatisierung bei der Modellerstellung soll dieser Zeitaufwand deutlich reduziert werden. Zudem soll dadurch erreicht werden, dass auch Nutzer ohne eine detaillierte Einarbeitung das Programm intuitiv bedienen können.

6.1.7. Einordnung INOSIM Batch

Wie im Projektantrag beschrieben wurde mit INOSIM Batch ein Prototyp für die Bioprozesssimulation geschaffen, der es unter anderem erlaubt eine durchgehende Massen- und Energiebilanz für biotechnologische Aufarbeitungsprozesse zu erzeugen. Die mit der Software berechneten Ergebnisse dienen existierenden Werkzeugen zur Ökoeffizienzanalyse, wie z.B. Sabento, Eatos oder der SeeBalance, als Eingangsparameter und liefern eine bessere Datenbasis für deren Bewertung, vgl. Abbildung 7. Die Entwicklung einer eigenen Methodik zur Ökoeffizienzanalyse mittels INOSIM Batch war nicht Bestandteil des Projektes.

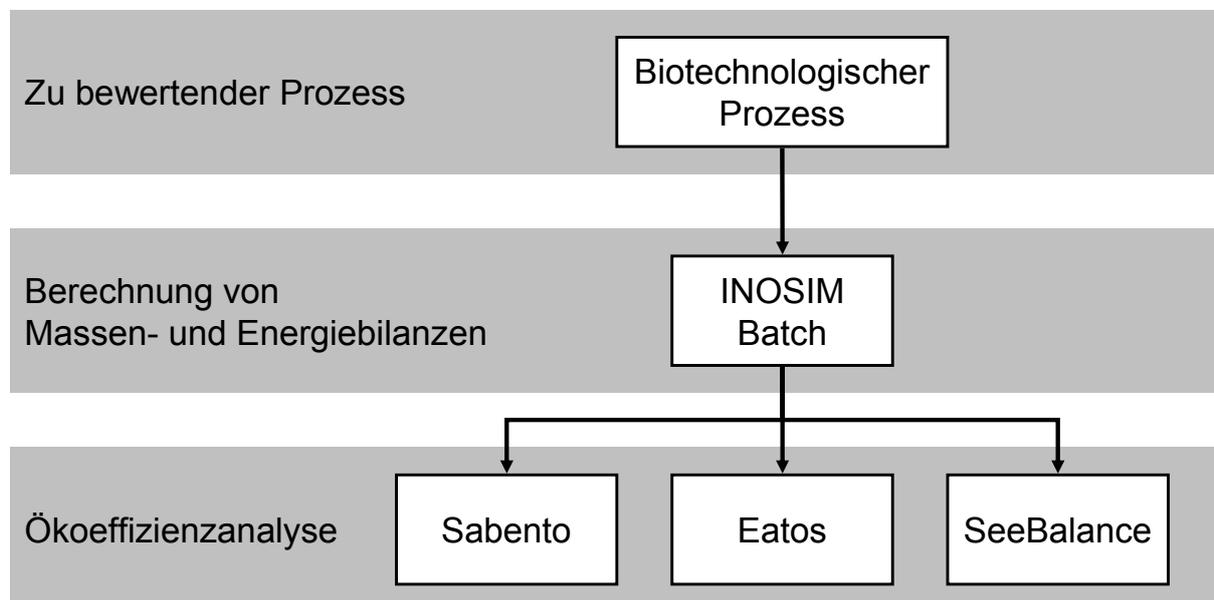


Abbildung 7: Eingliederung von INOSIM Batch in die Ökoeffizienzanalyse

6.2. Weiterentwicklung des Ectoilverfahrens

Als Nachweis, dass der Einsatz des neuen Simulationstools bei der Identifizierung von Verfahrensverbesserungen biotechnologischer Prozesse

vorteilhaft ist, dient der Produktionsprozess des Cosmaceuticals Ectoin. Als Bewertung für die Ökoeffizienz werden dabei die Gesamtmassen- und Energiebilanz des Prozesses verwendet. Die wirtschaftliche Bewertung erfolgt anhand der anfallenden Produktionskosten.

Grundlegend für die Identifizierung von Verfahrensverbesserungen oder -alternativen ist die Erstellung einer durchgängigen Massen- und Energiebilanz, so dass Schwachstellen im aktuellen Prozess gezielt untersucht werden können. Aus diesem Grund ist in INOSIM Batch ein Simulationsmodell für den Gesamtprozess erstellt worden, das in der Lage ist, eine durchgehende Massenbilanz zu erzeugen. Dieses Modell basiert auf Daten des zu Projektbeginn aktuellen Produktionsprozesses (Stand: Juli 2006) und dient deshalb als Referenz für alle folgenden Vergleichs- und Bewertungen.

Aufgrund der erstellten Massen- und Energiebilanz ist eine Analyse des bestehenden Ectoinverfahrens durchgeführt worden, um Schwachstellen im Prozess zu identifizieren und mögliche Lösungsansätze zu untersuchen.

6.2.1. Massen- und Energiebilanz (Stand: Juli 2006)

Wie zu Projektbeginn prognostiziert zeichnet sich der Prozess durch hohe Ausbeuteverluste, hohe Abwasser- und Abfallmengen und einen hohen Energieverbrauch aus. Weiterhin wird deutlich, dass die anfallenden Abwässer eine extrem hohe Salzbelastung aufweisen.

Zur Analyse der Ursachen, die zur Entstehung der Ausbeuteverluste führen, wurden die Ausbeuteverluste für jede Prozessstufe berechnet, um zu erkennen in welchen Prozessschritten das größte Optimierungspotential liegt, vgl. Abbildung 8. Dabei ist deutlich zu erkennen, dass in den Prozessschritten Mikrofiltration 2 (MF2), Elektrodialyse 1 (ED1) und Kristallisation (Krist) extrem hohe Ausbeuteverluste auftraten. Besonders nachteilig ist dies im Falle der Kristallisation, da eine große Menge des weitgehend aufgereinigten Produktes verloren geht. Unklar war zu Projektbeginn auch, warum in der Elektrodialyse 1 im Vergleich zur Elektrodialyse 2 (ED2) ein so großer Ausbeuteverlust auftritt, da beide Prozessschritte auf derselben Anlage durchgeführt werden.

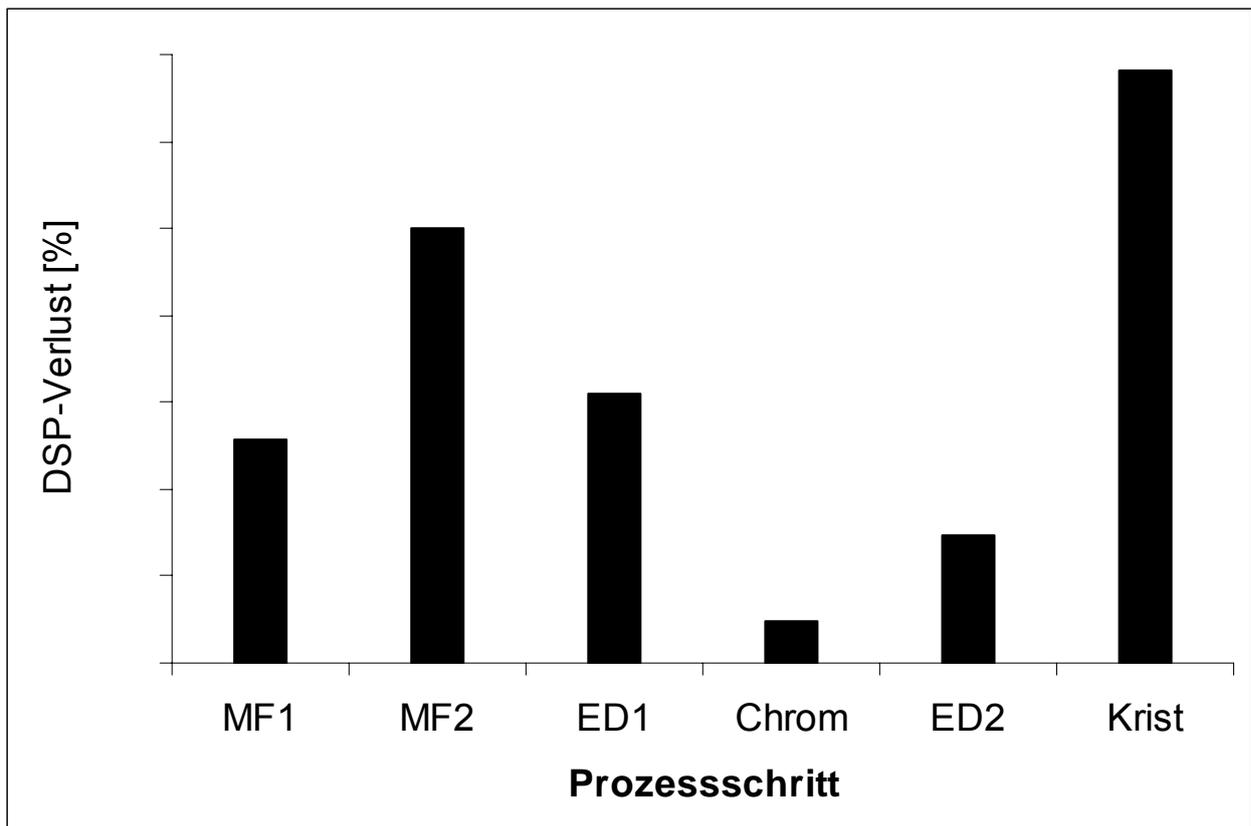


Abbildung 8: Ausbeuteverluste aufgeschlüsselt nach Prozessschritten in Verfahrensreihenfolge

Weiterhin sind die Quellen der anfallenden Abwasser- und Abfallmengen und des Energieverbrauches analysiert worden, um auch dort das Optimierungspotential zu ermitteln. Dabei zeigen vor allem drei Verfahrensschritte einen starken Einfluss in den jeweiligen Bewertungskategorien:

Mirkofiltration 1 (MF1): Nach dem Fermenter werden die Zellen aus der Fermenterbrühe abfiltriert, um danach den osmotischen Schock zu erfahren. Das Filtrat der Mikrofiltration 1 enthält dabei etwa 52 % der im Prozessabwasser anfallenden Salzmenge, die durch Zugabe in den Fermenter in den Prozess gelangt.

Verdampfung 1 (VD1): Im Prozessverlauf erfolgt ein Lösemittelwechsel von Wasser auf ein organischen Lösungsmittel, wozu im aktuellen Prozess das gesamte Wasser mittels Eindampfung und Trocknung entfernt wird. Da dies energetisch sehr aufwendig ist, fallen allein in der Verdampfung 47 % des gesamten Energieverbrauches an.

Hordentrocknung (HT): Wie erwähnt muss vor dem Lösemittelwechsel das Wasser nahezu vollständig aus dem Produktstrom entfernt werden. Dazu erfolgt nach der Eindampfung eine Trocknung. Im Verlauf dieser Trocknung wird der Apparat mit Wasser gekühlt.

Neben den aufgezeigten Schwachstellen sind eine Reihe weiterer identifiziert worden, womit nach Analyse der durchgehenden Massen- und Energiebilanz ein deutliches Optimierungspotential für den Produktionsprozess zu erkennen war. Sowohl im Bereich der Ausbeute als auch für die Salz-, Abwasser-, Abfall- und Energiemengen waren deutliche Verbesserungen zu erwarten.

6.2.2. Durchgeführte Prozessverbesserungen

Ausgehend von der erstellten Massen- und Energiebilanz und den erkannten Schwachstellen sind verschiedene Prozessalternativen und das daraus resultierende Optimierungspotential untersucht worden. Im Folgenden sind die Verfahrensänderungen aufgeführt die bereits im Projektzeitraum umgesetzt wurden.

Mehrstufiger osmotischer Schock

Die Reduzierung der Leitfähigkeit des umgebenden Mediums bewirkt, dass die Zellen das in ihnen enthaltene Ectoin an das Medium abgeben. Bisher ist dieser Schritt einfach mit einer bestimmten Menge Wasser durchgeführt worden. Simulation und ausführlich durchgeführte Experimente zeigen allerdings, dass ein mehrfacher Schock bei gleicher Gesamtwassermenge zu einer niedrigeren Leitfähigkeit im Medium führt und für eine bessere Ausschleusung des Ectoins sorgt. Weiterhin ist experimentell nachgewiesen, dass durch das mehrfache Waschen zusätzlich die Ectoinmenge verringert werden kann, die im Zellrückstand zurückbleibt. Alternativ wurde untersucht, die aufgeteilte Frischwassermenge so zu reduzieren, dass sich dieselbe Endleitfähigkeit wie im Originalprozess ergibt. Insgesamt zeigte sich dabei, dass der Ausbeutegewinn bei gleicher Gesamtwassermenge und Aufteilung in drei Schockschritte die bessere Alternative ist. Die zusätzliche Prozesszeit und die Zerstörung der Zellen durch weitere Filtrationsschritte machen eine weitere Unterteilung des Schockvolumens auf vier oder mehr Waschschrte unrentabel.

| Vorteile | Nachteile |
|--|---|
| <ul style="list-style-type: none"> Steigerung der Ausbeute bei gleicher Wassermenge | <ul style="list-style-type: none"> Personell aufwendiger, da viele manuelle Arbeitsschritte erforderlich |

Erweiterung der Elektrodialyse (ED1 und ED2)

Nach Analyse von Prozessdaten der Elektrodialyse 1 (ED1) und Vergleich mit den Daten der Elektrodialyse 2 (ED2) wurde erkannt, dass die hohen Ausbeuteverluste

aufgrund einer zu klein dimensionierten Membranfläche entstanden. Die geringe Membranfläche war nicht in der Lage, den entstehenden Salzstrom zu transportieren, wodurch sich eine deutlich längere Prozesszeit und entsprechende Ausbeuteverluste einstellten. Durch Anpassung der Membranfläche an die zu transportierende Salzmenge konnte die Ausbeute in beiden Elektrodialyseschritten gesteigert werden.

| Vorteile | Nachteile |
|--|-----------|
| <ul style="list-style-type: none"> • Ausbeutesteigerung ED1 • Ausbeutesteigerung ED2 | |

Modernisierung der Kristallisation

Durch Betrachtung der erstellten Massenbilanz wurde klar, dass in der Kristallisation ein erheblicher Teil des fast aufgereinigten Ectoins verloren geht. Aus diesem Grund ist eine moderne Anlage zur Kühlungskristallisation angeschafft worden, die tiefere Temperaturen erreicht. Mit dieser neuen Anlage und der dadurch veränderten Betriebsweise wird eine deutliche Steigerung der Produktausbeute in diesem Verfahrensschritt erreicht. Dieser Ausbeutegewinn ist besonders wertvoll, da zu diesem späten Prozesszeitpunkt weniger Produkt verloren geht, für das schon ein erheblicher Aufwand betrieben worden ist.

| Vorteile | Nachteile |
|--|-----------|
| <ul style="list-style-type: none"> • Deutliche Ausbeutesteigerung • Verbessertes Produkthandling | |

Im Vergleich der bereits durchgeführten Verbesserungen mit den Daten aus dem Referenzprozess aus dem Jahr 2006 zeigt sich, dass in den betrachteten Prozessschritten, deutlich verbesserte Prozessausbeuten erzielt werden konnten, vgl. Abbildung 9.

Vor allem die Reduktion der Ausbeuteverluste in der Kristallisation (Krist) und den Elektrodialyseschritten 1 (ED1 und ED2) sorgten für eine Steigerung der Gesamtausbeute um 27%. Weiterhin war es möglich, die Produktionskapazität des Prozesses um ca. 60 % durch eine verbesserte Fermentation und geringe Investitionen in zusätzliche Apparate zu steigern. Durch die Ausbeutesteigerung verbunden mit der gestiegenen Produktivität konnten die Produktionskosten

inflationbereinigt um 26% reduziert werden. Unter Berücksichtigung der steigenden Löhne und Rohstoffpreise sind die Produktionskosten um 21,5% reduziert worden.

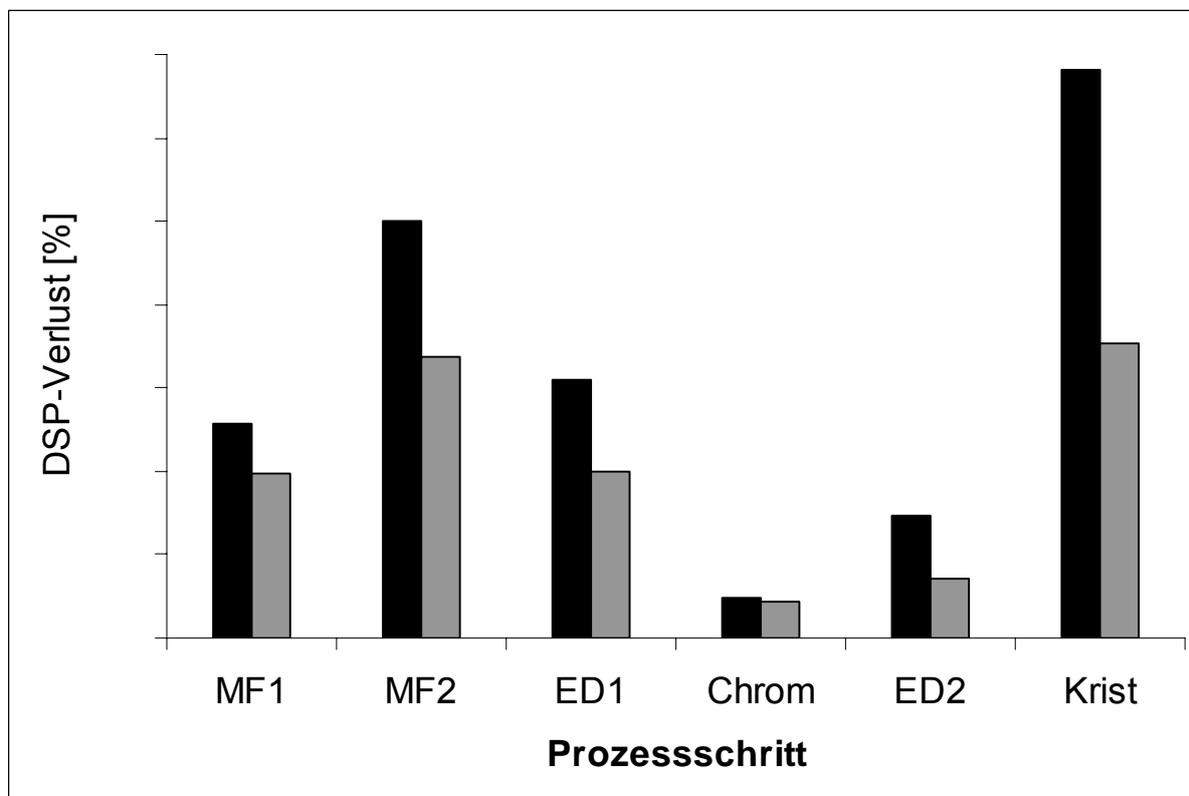


Abbildung 9: Ausbeuteverluste aufgeschlüsselt nach Prozessschritten in Verfahrensreihenfolge für die Jahre 2006 und 2008

Zusätzlich zur Reduktion der Produktionskosten gelang es auch die Abwasser- und Abfallströme in beträchtlichem Umfang zu reduzieren, vgl. Tabelle 3. Damit ist eine deutliche Entlastung der Umwelt verbunden.

| | | Umgesetzte Verbesserungen |
|--------------------|---|---------------------------|
| Ausbeute | [%] | +27 % |
| Organische Abfälle | [kg/kg _{Ectoin}] | -3 % |
| Abwasser | [m ³ /kg _{Ectoin}] | -38 % |
| Kochsalz | [kg/kg _{Ectoin}] | -17 % |
| Organische Salze | [mol/kg _{Ectoin}] | -14 % |
| Energie | [kWh/kg _{Ectoin}] | -16 % |
| Produktionskosten | [€/kg _{Ectoin}] | -26% |

Tabelle 3: Vergleich des realisierten Verfahrens (Stand September 2008) mit dem Prozess zu Projektbeginn (Stand Juli 2006)

6.2.3. Potentielle Prozessverbesserungen

Neben den umgesetzten Verbesserungen existiert eine Reihe weitere Ideen, die Leistungsfähigkeit des Produktionsprozesses weiter zu erhöhen. Der Status der verschiedenen Prozessalternativen ist in der Kapitelüberschrift dargestellt.

Ionenaustauschschritt in H⁺-Form (Pilot-Plant)

Das stark kationische Austauschermaterial verwendet im Originalprozess Natriumionen als Gegenionen (Na⁺-Form). Nach jedem Lauf des Capture-Schrittes wird dieser Zustand durch Regeneration mit einer starken Kochsalzlösung wieder hergestellt. Aus der Literatur und von Herstellerangaben ist bekannt, dass dieses Material auch mit Wasserstoffionen als Gegenion verwendet werden kann (H⁺-Form), wobei die Regeneration mit Salzsäure erfolgt. Aus diesem Grund wurden im Rahmen des Projektes Gleichgewichtsdaten mit dem Ionentauscher in H⁺-Form vermessen. Weiterhin wurde ein Simulationsmodell erstellt, das die gesamte Capture-Sequenz umfasst. Diese beginnt bei der ersten Elektrodialyse (ED1) über den Ionenaustauschschritt bis zur anschließenden Elektrodialyse (ED2). Hierfür wurden verschiedene Freiheitsgrade in den Elektrodialysesritten und dem Capture-Schritt untersucht. Dabei stellte sich heraus, dass die durchgeführte Betriebsweise der Elektrodialysesritte sich nahe am Optimum bewegt. Allerdings zeigte sich, dass ein Wechsel von der Na⁺-Form auf die H⁺-Form im Capture-Schritt zu einer Produktivitätssteigerung und einer Reduktion der Betriebsmittelkosten führt. Da diese Ergebnisse mit einem reinem Gleichgewichtsmodell für den Capture-Schritt ermittelt wurden, sind noch weitere experimentelle Untersuchungen notwendig, die das dynamische Verhalten der Säule untersuchen. Aus vorherigen Untersuchungen ist aber bereits bekannt, dass sich das Ionenaustauschermaterial in der H⁺-Form deutlich besser beladen lässt, da es im Vergleich mit der Na⁺-Form zu einem deutlich späterem Durchbruch der Ectoinfront kommt. Zur Überprüfung der erzielten Ergebnisse sind Pilot-Plant-Versuche bei der bitop AG geplant, in denen die Eignung der vorgeschlagenen Prozessveränderung für die Produktion untersucht werden soll.

| Vorteile | Nachteile |
|--|-----------|
| <ul style="list-style-type: none">• Höhere Säulenkapazität• Höhere Produktivität um ca. 15%• Reduktion der Lösemittelkosten um ca. 50% | |

Chromatographie anstelle des Ionenaustauschschrittes (Pilot-Plant)

Aus aktuellen Prozessdaten ist bekannt, dass bei der Elution der Produktfraktion ein Trenneffekt der eluierenden Komponenten zu erkennen ist. Eine Umstellung der Betriebsweise des Ionenaustauschschrittes von Capture- auf eine Gradientenfahrweise ermöglicht die Gewinnung einer deutlich reineren Produktfraktion. In Labormessungen zeigte sich dabei, dass eine Gradientenfahrweise mit dem verwendeten stark kationischen Ionenaustauschermaterial keine umsetzbare Trennwirkung zeigte. Alternativ dazu sind Versuche mit einem schwach kationischen Material durchgeführt worden, in denen sich ein Trenneffekt zwischen Ectoin und Hydroxyectoin ergibt. Da sich auf diesem Material die Trennung dieser sehr ähnlichen Moleküle erreichen lässt, wird erwartet, dass sich auf diesem Material nahezu alle anderen Verunreinigungen aus der Produktfraktion entfernen lassen. Sollte diese zusätzliche Aufreinigung gelingen hätte dies zur Folge, dass die aufwendige Aktivkohlung zur Entfärbung, der Lösemittelwechsel und die anschließende Kristallisation, wie bisher praktiziert, nicht mehr notwendig sind. Durch diese Alternative entfallen die gravierenden Ausbeuteverluste in der Kristallisation und die anschließende Aufarbeitung des Lösemittels. Zusätzlich ergäben sich deutliche Einsparungen in den Verbrauchsmaterialien für die Aktivkohlung und den in Personalkosten. Nach den erfolgreichen Trennungen der Ectoine im Labormaßstab erfolgen Anfang 2009 Pilot-Versuche mit dem Produktionsgemisch, um die Qualität der Aufreinigung zu untersuchen. Sollten diese Versuche positiv verlaufen, wäre eine direkte Umrüstung der bestehenden Produktionsanlage mit dem neuen Ionenaustauschermaterial in kurzer Zeit möglich.

| Vorteile | Nachteile |
|---|---|
| <ul style="list-style-type: none">• Steigerung der Gesamtausbeute durch Wegfall der Kristallisation• Reduktion der Produktionskosten durch Ausbeutesteigerung und Materialeinsparungen | <ul style="list-style-type: none">• Niedrigere Produktkonzentrationen nach der Chromatographie, höherer Konzentrierungsaufwand erwartet |

Umkehrosmose vor Eindampfung (Geplant für 2009)

In Experimenten im Pilot-Plant Maßstab konnte nachgewiesen werden, dass mittels Umkehrosmose eine Aufkonzentrierung des Produktstromes nahezu ohne Ausbeuteverluste möglich ist. Auf diese Weise können mit geringem Energieaufwand

etwa 75 % des Wassers entfernt werden. Zu dem besitzt das gewonnene Wasser eine gute Qualität und kann als Prozesswasser zurückgeführt werden. Durch diese Umrüstung ergeben sich bei aktueller Produktionsmenge deutliche Energieeinsparungen, was etwa 55% der bisher anfallenden Verdampferenergie entspricht. In wie weit das zurück gewonnene Wasser sich positiv auf den Gesamtwasserhaushalt auswirkt ist zu diesem Zeitpunkt noch nicht abzuschätzen. Vor einer Rückführung des anfallenden RO-Wassers muss erst dessen Qualität in der Produktion untersucht werden. Sollte sich ein Einsatz für das gewonnene Wasser finden könnte damit pro Jahr etwa 350 m³ Frischwasser eingespart werden. Anschaffung und Inbetriebnahme einer Umkehrosmoseanlage sind für das Jahr 2009 geplant.

| Vorteile | Nachteile |
|--|-----------|
| <ul style="list-style-type: none"> • Reduktion des Energieverbrauchs um 55% in der Verdampfung • Reduktion des Energieverbrauchs im Gesamtprozess um 26% • Kosteneinsparung • Wasserrückführung denkbar, muss nach Inbetriebnahme geprüft werden | |

Wie erläutert existieren eine Reihe möglicher Prozessverbesserungen, die zukünftig umgesetzt werden oder sich in der Erprobung befinden. Dabei sind die wichtigsten Prozessalternativen, der Wechsel vom Ionenaustausch-Capture zu einer fraktionierenden Chromatographie und die Anschaffung der Umkehrosmoseanlage. Unter Berücksichtigung dieser Prozessverbesserungen ergibt sich eine um 12% verbesserte Produktausbeute. Weiterhin ergäbe sich eine Reduktion der Arbeits- sowie der Betriebsmittelkosten, da sowohl das organische Lösemittel für die Kristallisation als auch die Aktivkohlefilter nicht mehr benötigt würden. Zu dem wird durch den Einsatz der Umkehrosmoseanlage vor der Verdampfung mit einer Energieeinsparung von 55% in diesem Prozessschritt gerechnet. Unter Berücksichtigung dieser Annahmen ergeben sich die in Tabelle 4 aufgeführten Kenngrößen im Vergleich mit den Referenzwerten aus dem Jahr 2006.

| | Potentielle Verbesserungen |
|--|----------------------------|
| Ausbeute [%] | +42 % |
| Organische Abfälle [kg/kg _{Ectoin}] | -14 % |
| Abwasser [m ³ /kg _{Ectoin}] | -47 % |
| Kochsalz [kg/kg _{Ectoin}] | -36 % |
| Organische Salze [mol/kg _{Ectoin}] | -24 % |
| Energie [kWh/kg _{Ectoin}] | -40 % |
| Produktionskosten [€/kg _{Ectoin}] | -37% |

Tabelle 4: Vergleich des alternativen Verfahrens mit dem Prozess zu Projektbeginn

Neben den damit verbundenen Umweltentlastungen ergibt sich daraus auch eine weitere Kostenersparnis bei den Produktionskosten um 37% gegenüber dem Referenzprozess und 21% gegenüber dem aktuellen Prozess. Weiterhin führt die Ausbeutesteigerung auch indirekt zu einer verbesserten Produktionskapazität. Die bisher erreichte Kapazität könnte um weitere 12% erhöht werden.

6.2.4. Abgelehnte Prozessverbesserungen

Neben den umgesetzten oder im Test befindlichen Prozessalternativen, musste eine Möglichkeit, die Ökologie des Prozesses zu steigern abgelehnt werden.

Salzrecycle nach dem Fermenter

Wie erwähnt wird über das Filtrat der Mikrofiltration 1 MF1 ein Großteil der vorhandenen Salzfracht ins Abwasser geleitet. Durch eine Rückführung dieses salzhaltigen Filtratstroms kann die benötigte Salzmenge zur Erzeugung des Fermentationsmediums deutlich reduziert werden. In Untersuchungen zeigte sich jedoch, dass ein Recycle der eingebrachten Salzfracht nicht sinnvoll ist, da die Fermentationsleistung drastisch beeinträchtigt wird. Sowohl Produktivität als auch Zellwachstum gingen nach einer Rückführung des salzhaltigen Filtrats deutlich zurück. Aus diesem Grund wurde dieser Schritt nicht in der Produktion umgesetzt, insbesondere vor dem Hintergrund einer nur geringen Kostenreduktion.

| Vorteile | Nachteile |
|---|--|
| <ul style="list-style-type: none"> • Reduktion der Salzfracht im Abwasser • Geringe Kostenreduktion | <ul style="list-style-type: none"> • Deutliche Beeinträchtigung der Fermentationsleistung |

7. Soll-/Ist-Vergleich

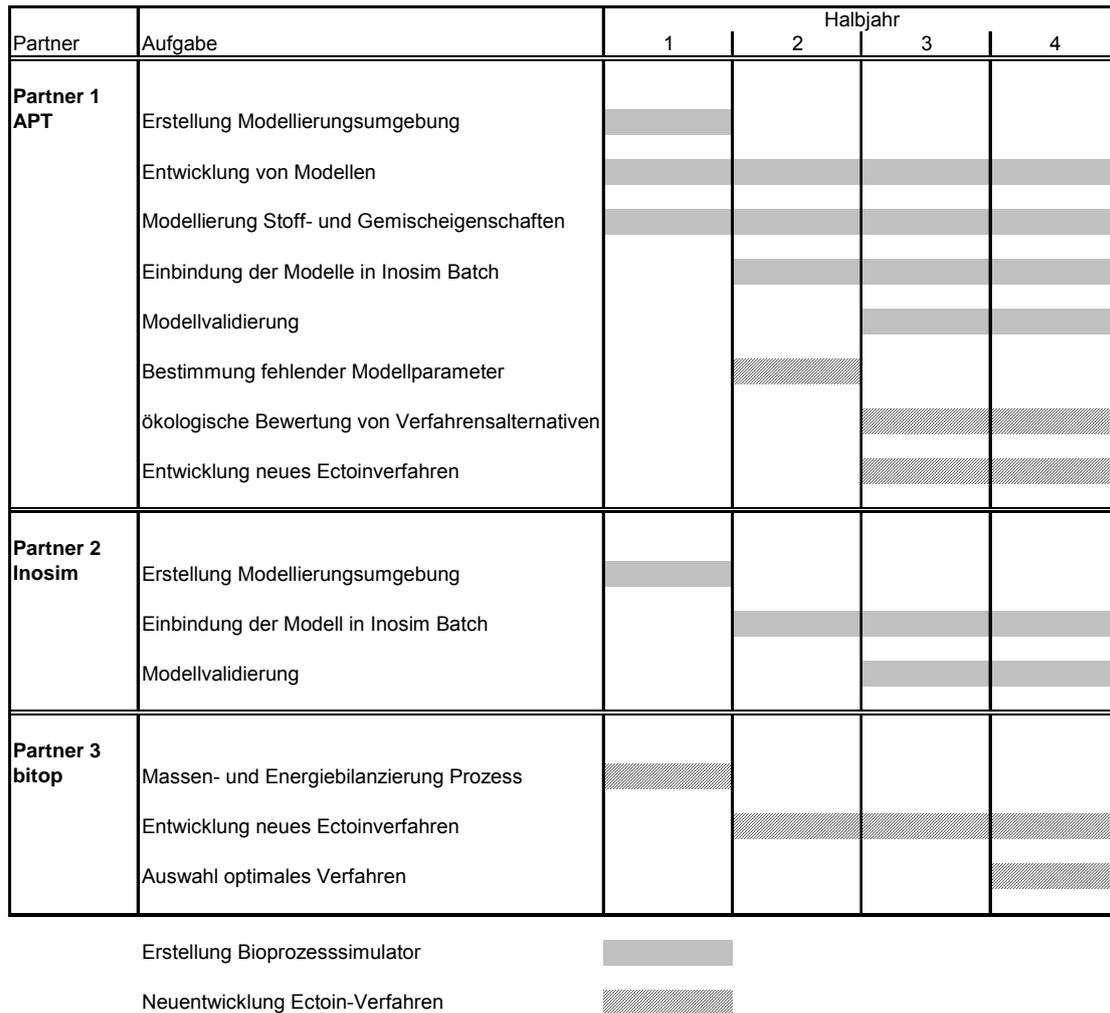


Abbildung 10: Zeitliche Abstufung der geplanten Arbeiten

Für die Entwicklung eines Bioprozesssimulators ist in Kooperation zwischen INOSIM und der APT eine Umgebung zur Modellerstellung entwickelt und in INOSIM Batch implementiert worden. In dieser wurden Prozessmodelle erstellt, die notwendigen Modellparameter bestimmt und anschließend mit realen Prozessdaten der bitop AG validiert. Anhand der dabei ermittelten Massen- und Energiebilanz sind Schwachstellen im bestehenden Prozess analysiert worden. Auf Basis der so gewonnenen Erkenntnisse sind Vorschläge für Prozessverbesserungen entstanden, die zum Teil direkt umgesetzt wurden und zu ökonomischen und ökologischen Verbesserungen im Herstellprozess geführt haben. Weitere vielversprechende Alternativen befinden sich momentan bei der bitop AG in der Pilotphase, um die Simulationsergebnisse im technischen Maßstab zu bestätigen. In Anbetracht der vorliegenden Ergebnisse bleibt festzustellen, dass alle gesetzten Projektziele wie geplant erreicht wurden.

8. Wirtschaftlichkeitsbetrachtung

Durch die implementierten Verbesserungen an der Software INOSIM Batch ist der Prototyp einer Simulationsumgebung für biotechnologische Aufarbeitungsprozesse geschaffen worden. Allerdings benötigt die INOSIM GmbH noch etwa ein Jahr bis eine marktreife Version des neu entwickelten Bioprozesssimulators veröffentlicht werden kann. Hiermit öffnet sich für die INOSIM GmbH ein völlig neuer und zum Teil unerschlossener Markt. Zahlreiche Bekundungen aus Forschung und Industrie als Reaktion auf die im Rahmen des Projektes erfolgten Veröffentlichungen deuten auf hohes Interesse der Marktteilnehmer hin, dessen wirtschaftliches Potential zum jetzigen Zeitpunkt allerdings noch nicht abzuschätzen ist.

In Hinblick auf die Maßstabsvergrößerung des Produktionsprozesses auf eine Kapazität von 10 t/a zeigen sich deutliche Verbesserungen in ökonomischer und ökologischer Hinsicht im Vergleich zum Referenzprozess aus dem Jahr 2006.

Im Vergleich der aktuellen Zahlen mit dem Referenzprozess wird deutlich, welche Umwelt- und Kosteneinsparungen durch die eingeführten Prozessveränderungen erreicht werden. Zudem besteht weiteres Potential, den Produktionsprozess auch weiterhin zu optimieren.

9. Projektinterne Kooperationen

Im laufenden Projektzeitraum fanden zahlreiche Treffen der Kooperationspartner und Projektbearbeiter statt. Vor Beginn des Projektes erfolgt ein Kick-Off-Meeting mit allen Kooperationspartnern und Projektarbeitern. Im weiteren Projektverlauf fanden 4 Projekttreffen statt. Zusätzlich gab es 8 Treffen und mehr als 20 Telefonkonferenzen zwischen der APT und INOSIM und 14 Treffen zwischen APT und der bitop AG.

10. Außendarstellung des Projektes

10.1. Vorträge

Systematische Prozessentwicklung, GDCh-Ortsverband Saar, Universität des Saarlandes, Saarbrücken, 22.01.2007.

Synthese und Simulation von Downstream-Prozessen, GVC-Ausschuss „Prozess- und Anlagentechnik“, Karlsruhe, 13.02.2007.

Systematische Entwicklung biotechnologischer Prozesse. Informationsveranstaltung „Biotechnologische Entwicklungen zwischen Forschung und industrieller Anwendung – Wege der Kooperation“, BioMedizinZentrumDortmund, Dortmund, 14.03.2007.

Optimierung eines biotechnischen Prozesses mit Hilfe einer Simulationsumgebung - Beispielhafte Kooperation zwischen der Universität Dortmund, der Inosim GmbH und der bitop AG, Witten. Forumveranstaltung CLIB2021: Akademia - KMU – Industrie. Forschungszentrum Jülich, Jülich, 06.09.2007.

Prozessentwicklung und –optimierung biotechnologischer Verfahren mit Hilfe einer Simulationsumgebung am Beispiel des Scale-ups eines Prozesses zur Herstellung von Ectoin. ChemBioTec Workshop "Ökoeffizienzsysteme - Quantifizierung und Nachhaltigkeit / Methoden und Tools, DBU, Osnabrück, 12.09.2007.

Conceptual Design and Simulation of Biochemical Processes. WorldBioPharm Conference, Cambridge, UK, 25.09.2007.

Synthesis and Simulation of Downstream Processes. NRW-Panel "Shaping the future with biotechnology made in NRW", Biotechnica, Hannover, 10.10.2007.

Systematischer Entwurf energieeffizienter biotechnologischer Prozesse, ef-Ruhr Workshop: Aktuelle Energieforschung im Ruhrgebiet, Gelsenkirchen, 17.04.2008

Systematische Entwicklung von Downstream Prozessen – Modellierung und Simulation, GVC / Dechema Vortrags- und Diskussionstagung Modellierung: Von der Zelle zum Prozess, Bremen, 29.04.2008

Modelling and simulation of downstream processes, Biospectives, Hannover, 08.10.2008

Integrated biochemical and chemical processes, BioTrends 2008 SusChemEng-Conference, Dortmund, 06.11.2008

Projektvorstellung, Projekt- und Partnerfindungsworkshop ChemBioTec, Frankfurt, 13.11.2008

Projektvorstellung, DBU Stipendiaten Workshop: Nachhaltige Bioprozesse, Düsseldorf, 27.11.2008

10.2. Poster

Systematic Design of Downstream Processes - Modeling and Simulation, Symposium on Preparative and Industrial Chromatography and Allied Techniques (SPICA), Zurich, Schweiz, 30.10.2008, Ausgezeichnet mit dem Posterpreis der Konferenz

Systematic Design of Downstream Processes - Modeling and Simulation, 7th European Symposium on Biochemical Engineering Science (ESBES), Faro, Portugal 08.09.2008 – 10.09.2008

10.3. Pressemitteilungen

bitop AG: Deutsche Bundesstiftung Umwelt fördert Projekt zur Optimierung der Ectoin-Produktion mit Hilfe der Software-Simulation INOSIM Batch; 05.09.2006

multo 8/07, Das Magazin der Technischen Universität Dortmund, Querdenken gegen die Verschwendung ISSN 1612-9393

DBU: Vorrasschauen für die Nachhaltigkeit, in Vorbereitung