

Endbericht zum Projekt „Phosphor-angepasste Futtermittel am Beispiel Kleie“ (PhANG, AZ 34976/01)

Projektlaufzeit: 01.07.2020 – 30.06.2023, kostenneutral verlängert bis 31.03.2024
Hamburg, den 28. Juni 2024

gefördert durch



Deutsche
Bundesstiftung Umwelt

www.dbu.de

Kooperationspartner:

Prof. Dr.-Ing. Martin Kaltschmitt
Technische Universität Hamburg
Institut für Umwelttechnik und Energiewirtschaft
Eißendorfer Str. 40
21073 Hamburg

Institut für Umwelttechnik
und Energiewirtschaft



Prof. Dr. rer. nat. Andreas Liese
Technische Universität Hamburg
Institut für Technische Biokatalyse
Denickestr. 15
21073 Hamburg



Prof. Dr. Ulrich Schwaneberg
RWTH Aachen University
Lehrstuhl für Biotechnologie
Worringerweg 3
52074 Aachen



Prof. Dr. Christian Visscher
Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover
Institut für Tierernährung
Bischofsholer Damm 15
30559 Hannover



AutorInnen:

Paul Bubenheim, Martin Kaltschmitt, Andreas Liese, Florian Lohkamp, Natalie Mayer, Anna Joëlle Ruff,
Ulrich Schwaneberg, Johanna Stotz, Christian Visscher, Niklas Widderich

Projektkennblatt
der
Deutschen Bundesstiftung Umwelt



AZ	34976/01	Referat	36	Fördersumme	636.492 €
Antragstitel	Phosphor-angepasste Futtermittel am Beispiel Kleie (PhANG)				
Stichworte	Landwirtschaft/Umweltgerechte Landnutzung, Futtermittel, Gülle, Landwirtschaftliche Fläche, Nutztiere, Phosphatdüngung, Stickstoffdüngung, Tierproduktion, Tierwohl				
Laufzeit	Projektbeginn	Projektende	Projektphase(n)		
45 Monate	01.07.2020	31.03.2024			
Zwischenberichte	Juni 2021	Juni 2022	Juni 2023		
Bewilligungsempfänger	Technische Universität (TU) Hamburg Institut für Umwelttechnik und Energiewirtschaft (IUE) Eißendorfer Str. 40 21073 Hamburg		Tel	+49 40/428 78 3008	
			Fax		
			Projektleitung	Prof. Dr.-Ing. Kaltschmitt	
		Bearbeiterin	Natalie Mayer, M.Sc.		
Kooperationspartner	<ul style="list-style-type: none"> - TU Hamburg, Institut für Technische Biokatalyse (ITB) - RWTH Aachen, Lehrstuhl für Biotechnologie - Tierärztliche Hochschule Hannover, Institut für Tierernährung 				

Zielsetzung und Anlass des Vorhabens

Phosphor (P) ist ein essenzieller Nährstoff für jegliche Art von Leben und wird deshalb in der Nahrungs-, Futter- und vor allem Düngemittelindustrie eingesetzt. Gleichzeitig ist mineralischer P eine stark limitierte Ressource. In der Biosphäre liegt P natürlicherweise zumeist in organisch gebundener Form (z. B. als Phytat/Phytinsäure in Getreide und Hülsenfrüchten) vor. In dieser Form kann P jedoch ohne die entsprechenden Enzyme nur schwer bis gar nicht verdaut werden. Daher wird der mit dem Futter aufgenommene P vor allem von Monogastriern, die nicht über Phytasen im Verdauungstrakt verfügen, größtenteils unverdaut wieder ausgeschieden. Diese Exkretion hoher Mengen von P führt (als eine Folge der Ausbringung von entsprechenden Wirtschaftsdüngern auf landwirtschaftliche Böden) zu einer Überversorgung der Böden und damit zu einer potenziell erhöhten Gewässereutrophierung. Daher wird durch eine aktualisierte Düngemittelverordnung die flächenspezifische Ausbringungsmenge von P, sowohl in organischer als auch mineralischer Form, stark reguliert.

Vor diesem Hintergrund ist es das Ziel dieses Projekts, die Roggenkleie als beispielhaftes mineralstoffreiches Tierfutter an P abzureichern, sodass ein P-armes Futtermittel verfügbar gemacht wird, das eine erhöhte P-Exkretion bei gleichzeitiger Nutzung des verbleibenden Protein- und Fasergehalts verhindert. Der dadurch gewonnene P kann dann in einer nutzbaren Form (z. B. als direkt verfügbare Dünge- oder Futtermittelzusatzstoffe) in den natürlichen P-Kreislauf zurückgeführt werden. Somit kann durch eine Substitution mineralischen Ps durch biogenen P dazu beigetragen werden, wertvolle mineralische P-Ressourcen zu schonen und gleichzeitig die Belastung der Umwelt durch P-Ausschwemmung (d. h. Gefahr der Eutrophierung) substanziell zu reduzieren.

Darstellung der Arbeitsschritte und der angewandten Methoden

Im Projekt soll ein gesamtheitlicher Prozess entwickelt werden, der von der nativen Roggenkleie bis hin zu einer an P abgereicherten Roggenkleie zur direkten Verfütterung und einem Phosphat-Salz zur weiteren Anwendung in verschiedenen Produkten führt. Hierbei werden unterschiedliche Prozesspfade zur parallelen oder kombinierten Anwendung betrachtet, um den organisch gebundenen P aus der Kleie-matrix zu lösen. Anschließend soll Phytat gespalten werden, um Phosphat freizusetzen.

- Zunächst wird die mechanische Abtrennung einer P-reichen Fraktion aus dem Getreide untersucht, um so bereits einen P-reichen Masseanteil vor Überführung der Kleie in die Nassphase zur weiteren Verarbeitung abtrennen zu können. Mit Blick auf eine technische Umsetzung könnten dadurch Reaktionsvolumen und Energieaufwand für eine anschließende Trocknung reduziert werden.
- Aufbauend auf Vorarbeiten der Projekte „BusinessP“ und „ValuePP“ wird eine enzymatische Behandlung der Kleie im wässrigen Milieu zur P-Reduktion untersucht. Dabei werden sowohl spezifische Phytasen optimiert als auch kommerziell erhältliche Enzymformulierungen hinsichtlich der maximalen P-Reduktion in der Kleie untersucht.
- Ergänzend dazu werden neuartige chemische Methoden untersucht, um die Spaltung der Phosphoresterbindungen thermisch bzw. katalytisch zu induzieren. Dabei steht eine saure Extraktion mit anschließender Mikrowellen-Behandlung im Fokus.
- Der auf mechanischem, enzymatischem oder chemischem Weg herausgelöste P wird in einem Folgeschritt, vorzugsweise in Salzform (d. h. mittels Fällung), verfügbar gemacht.

Der so im Labor dargestellte Prozess zur P-Reduktion der Kleie soll anschließend hochskaliert werden, um Fütterungsstudien vorzunehmen und die Verdaulichkeit der angepassten Kleie bewerten zu können. Abschließend führt eine technische, ökonomische und ökologische Analyse des Gesamtprozesses zur übergreifenden Bewertung der Umsetzbarkeit des entwickelten Prozesses.

Ergebnisse und Diskussion

Die Untersuchung der mechanischen P-Abtrennung aus Getreidekörnern bereits während des Mahlprozesses zeigte eine deutliche Akkumulation des P in den äußeren Schalen von Roggen-, Weizen-, Gerste- und Haferkörnern. Da im Getreide jedoch biologische Schwankungen der Schalenanteile auftreten und während des Mahlens relativ grobe Zerkleinerungsmechanismen angewandt werden, kann eine spezifische Abtrennung eines P-reichen Getreideanteils nicht ohne einen größeren Umrüstungsaufwand in den vorhandenen Getreidemöhlen erreicht werden. Alle weiteren Untersuchungen finden daher weiterhin mit der nicht separierten Roggenkleie statt.

Der Pfad der enzymatischen Kleie-Behandlung wurde mit einem durch die KnowVolution-Strategie maßgeschneiderten Phytase-Blend durchgeführt, der letztlich zu einer im Vergleich mit kommerziellen Enzymen deutlich erhöhten Phytat-Reduktion führte. So konnten enzymatisch bis zu 93 % Phosphat aus der Phytinsäure freigesetzt werden. Eine ergänzende Nutzung zellsplattendes Enzyme kann den Stofftransport der Phytinsäure in Lösung etwa verdoppeln und somit den Prozess beschleunigen. Die enzymatische Behandlung mit dem Phytase-Blend wurde vom Labormaßstab ausgehend stufenweise bis zu 400 L mit einem Kleie-zu-Wasser-Verhältnis von 1:7 hochskaliert. So konnten in mehreren Chargen etwa 20 kg konditionierte Roggenkleie für die folgenden Fütterungsstudien bereitgestellt werden. Das verbleibende Hydrolysat wurde hinsichtlich einer Wertstoffnutzung, insbesondere durch Rückgewinnung des Phosphats, untersucht.

Eine chemische Behandlung der Kleie führte mittels salzsaurer Extraktion im Kleie-zu-Säure-Verhältnis von 1:20 zu einer hohen Solubilisierungsrate der Phytinsäure, die bereits bei Raumtemperatur und Extraktionszeiten von unter 40 min maximiert werden konnte. Die verbleibende Kleie zeigt nach einer Waschung mit Wasser einen deutlich reduzierten P-Gehalt bei weiter hohen Mengen an Stärke, Proteinen und Fasern. Somit eignet sich die zurückbleibende Kleie potenziell zur weiteren Verfütterung. Eine anschließende thermische Behandlung des flüssigen Roggenkleie-Extrakts in der Mikrowelle führte bei 200 °C und nach 15 min zu 98,5 % Phytinsäure-Spaltung. Damit konnte eine neue Methode der Phosphat-Freisetzung aus Roggenkleie dargestellt werden; Produkt ist ein Hydrolysat mit hohem Gehalt an freiem Phosphat für eine Rückgewinnung in Salzform.

Die Rückgewinnung des P-Gehalts aus dem (sowohl enzymatisch als auch thermo-chemisch dargestellten) Hydrolysat wurde vergleichend für beide Pfade als Fällung von Struvit bzw. Magnesium-/Calciumphosphat untersucht. In beiden Substraten führte trotz der unterschiedlichen Zusammensetzung der beiden Hydrolysate eine Zugabe von Magnesiumchlorid bzw. Calciumchlorid/ Calciumhydroxid unter alkalischen Bedingungen zu hohen P-Rückgewinnungsraten von bis zu > 99 %. Eine Röntgenstrukturanalyse der Präzipitate zeigte eine erfolgreiche Fällung von Struvitkristallen, die Anwendung in der Düngemittelindustrie finden, sowie von Magnesiumkaliumphosphat und von Calciumhydrogenphosphat, welches potenziell als Futterergänzungsmittel genutzt werden kann.

Mittels Adsorption können aus dem Hydrolysat außerdem phenolische Komponenten gewonnen werden. Etwa 80 % der Phenole binden beispielsweise an Amberlit als Adsorbens und könnten so für weitreichende Einsatzmöglichkeiten zur Verfügung stehen. Die verbleibende Organik, insbesondere gelöste Zucker, könnten außerdem als Nährmedium für mikrobiologische Prozesse weitergenutzt werden, um die Abfallströme aus dem Prozess zu minimieren.

Die Fütterungsstudien mit der konditionierten, an P abgereicherten Kleie zeigen eine gute Futteraufnahme der als Modelltiere eingesetzten Kaninchen. Die Verdaulichkeit des in der Kleie verbleibenden P ist zwar niedrig und schlechter als in der nativen Kleie; der insgesamt deutlich gesenkte P-Gehalt erlaubt jedoch einen höheren Anteil an Kleiebeimischung in Futtermitteln.

Die übergreifende Prozessbewertung erfolgte unter der Annahme eines Maßstabs von 660 kg/h an zu prozessierender Kleie; die großtechnische Umsetzung in diesem Maßstab ist aus Sicht der technischen Analyse für beide Pfade möglich. Eine überschlägige Kostenanalyse ergibt Produktgestehungskosten von 29 bzw. 58 €/kg Phosphat-Präzipitat für den enzymatischen bzw. den thermo-chemischen Prozesspfad; damit ist eine Produktion des Phosphat-Präzipitats unter den aktuellen Rahmenbedingungen deutlich kostenintensiver im Vergleich zu Phosphat-Additiven, die kommerziell für die Futter- bzw.

Düngemittelindustrie angeboten werden. Anpassungen in den Prozessbedingungen, die technisch denkbar wären, könnten jedoch zu signifikanten Kosteneinsparungen führen; so z. B. eine Nassfütterung der Kleie oder eine elektrochemische statt der klassischen Fällung.

Die ökologische Bewertung zeigt deutliche Vorteile des enzymatischen Pfads gegenüber der Gewinnung mineralischer Düngemittel (am Beispiel Diammoniumphosphat) und der Rückgewinnung von P aus Klärschlamm (beispielhaft mittels der Verfahren AquaReci und PHOXNAN), da sowohl die Umweltauswirkungen auf die Wirkungskategorien Klimawandel und Versauerung von Böden niedriger sind als in den jeweiligen Vergleichsprozessen. Die Umweltauswirkungen des chemischen Pfads liegen in etwa in derselben Größenordnung wie die der entsprechenden Vergleichsprozesse; Hauptgrund hierfür ist der hohe Einsatz an Salzsäure im Extraktionsschritt sowie die hohe Energienachfrage über den gesamten Prozess.

Öffentlichkeitsarbeit und Präsentation

Die Projektergebnisse wurden laufend sowohl auf nationalen und internationalen Konferenzen als auch in wissenschaftlichen Artikeln veröffentlicht. Beiträge wurden beispielsweise auf den Himmelfahrtstagungen der Dechema in Frankfurt, der ISGC in La Rochelle, der ESPC in Wien, der EUBCE in Bologna und der ProcessNet vorgestellt.

Die Publikationen, die im Zusammenhang mit diesem Projekt entstanden sind, können unter den folgenden Links abgerufen werden

- Hintergrund und Stand der Technik zum im Projekt angestrebten Kleie-Konditionierungsprozess: <https://doi.org/10.3390/su14073998>
- Ausführliche Darstellung und Diskussion der mechanischen Abtrennung einer P-reichen Fraktion aus Roggen-, Weizen-, Gerste- und Haferkörnern: <https://doi.org/10.1007/s11947-022-02981-3>
- Anpassung einer aus *E. coli* exprimierten Phytase zur verbesserten Spaltung von Inositoltetraphosphat mittels KnowVolution-Strategie: <https://doi.org/10.3389/fceng.2022.838056>
- Darstellung von Polyphosphat zur Nahrungsmittelanwendung aus Samen und Kleie mit Hilfe von Enzymen: <https://doi.org/10.1016/j.bioeco.2023.100048>
- Kurzvorstellung der FTIR-Analytik zur inline-Messung des Phytatgehalts: <https://doi.org/10.1002/cite.202255084>
- Experimentelle Untersuchungen und Modellierung der thermischen Phytat-Spaltung im Mikrowellen-System: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.115499>
- Scale-Up der enzymatischen Roggenkleie-Behandlung: <https://doi.org/10.1186/s40643-024-00765-5>

Fazit

Im Projekt angestrebt wurde die Konditionierung von Kleie im Hinblick auf einen reduzierten P-Gehalt sowie die Nutzbarmachung des herausgelösten P als Phosphatsalz. Beide Produkte konnten mit zwei alternativen Pfaden dargestellt werden. Die chemische Hydrolyse stellt dabei eine neuartige Methode der Phytinsäure-Spaltung mit hoher Ausbeute dar. Die enzymatische Kleie-Behandlung findet hingegen bei deutlich mildereren Bedingungen statt und konnte bereits erfolgreich in Reaktoren mit bis zu 400 L hochskaliert werden. Die Kostenanalyse zeigt vergleichsweise hohe Produktgestehungskosten, die einer potenziellen Markteinführung prohibitiv entgegenstehen; deshalb müssen zukünftig mögliche Einsparpotenziale bei einer ggf. zu realisierenden großtechnischen Umsetzung des Prozesses erschlossen werden. So könnte ein kostengünstiges – und damit potenziell wettbewerbsfähiges – Phosphatsalz erzeugt werden, das durch deutliche umweltseitige Vorteile gegenüber mineralischem Düngemittel-P bzw. Rezyklaten aus Klärschlamm gekennzeichnet ist.

Inhaltsverzeichnis

1	Zusammenfassung	7
2	Projektziele	8
3	Projektergebnisse	8
3.1	Etablierung analytischer Methoden	8
3.2	Prozessentwicklung	9
3.2.1	Mechanische P-Abtrennung	9
3.2.2	Enzymatische P-Mobilisierung	11
3.2.3	Thermo-chemische P-Rückgewinnung	14
3.2.4	Fütterungsstudie mit der P-reduzierten Kleie	16
3.2.5	Gewinnung weiterer Wertstoffe	18
3.3	Prozessanalyse	18
3.3.1	Technische Analyse	18
3.3.2	Ökonomische Analyse	20
3.3.3	Ökologische Analyse	22
4	Öffentlichkeitsarbeit	26
4.1	Tagungen	26
4.2	Publikationen	27
5	Fazit und Ausblick	28

1 Zusammenfassung

Die Rückgewinnung von Phosphor (P) aus nachhaltigen Quellen ist entscheidend, da mineralische P-Ressourcen begrenzt sind und P in der Landwirtschaft als Düngemittel und Futterzusatz unverzichtbar ist. Eine ineffiziente Nutzung von P in Futtermitteln führt zu P-Ausscheidungen, die über eine Ausbringung als Wirtschaftsdünger potenziell Böden überversorgen und Gewässer eutrophieren können. Durch eine effiziente P-Rückgewinnung können mineralische P-Ressourcen geschont und Umweltbelastungen reduziert werden.

Daher zielte das Projekt „Phosphor-angepasste Futtermittel am Beispiel Kleie“ darauf ab, den P-Gehalt in Roggenkleie zu reduzieren und den derart gewonnenen P in nutzbarer Form zurückzugewinnen. Hierfür wurden mechanische, enzymatische und chemische Verfahren der P-Abtrennung untersucht und zu einem übergreifenden Prozess zusammengeführt, der sowohl ökonomisch als auch ökologisch bewertet wurde. So sollten eine ernährungsphysiologisch vorteilhafte und umweltfreundlichere Kleie als Tierfutter sowie nachhaltige Phosphat-Salze für Futter- und Düngemittelanwendungen hergestellt werden.

Die Untersuchung der mechanischen P-Abtrennung aus Getreidekörnern zeigte eine deutliche P-Akkumulation in den äußeren Schalen, jedoch erfordert die spezifische Abtrennung in vorhandenen Getreidemöhlen größere Umrüstungen und kann nicht direkt in bestehende Infrastruktur integriert werden. Eine chemische Behandlung der Kleie durch salzsaure Extraktion führte zu einer hohen Solubilisierungsrate des Phytats, wodurch die Kleie zu über 90 % an P abgereichert wurde; eine anschließende Mikrowellenbehandlung des Extrakts erzielte durch eine Phytat-Hydrolyse hohe Ausbeuten an freiem Phosphat (ca. 98 %). Die enzymatische Behandlung von Roggenkleie als Alternativpfad erreichte mit maßgeschneiderten Phytase-Blends und / oder kommerziellen Phytase-Mischungen ebenfalls eine hohe Phosphatfreisetzung in Lösung (über 90 %). Dieser Prozesspfad wurde bis zu einem Maßstab von 400 L hochskaliert, sodass 20 kg konditionierte Kleie für Fütterungsstudien hergestellt werden konnten. Die Fütterungsstudien mit Kaninchen zeigten eine gute Futteraufnahme der konditionierten Kleie; der reduzierte P-Gehalt erlaubt somit eine wesentlich höhere Kleiebeimischung in Futtermitteln.

Sowohl aus der chemischen als auch aus der enzymatischen Behandlung erfolgte abschließend eine P-Rückgewinnung (Struvit- und Calciumphosphatfällung); diese zeigte hohe Rückgewinnungsraten von bis zu 99 % und führte zu wertvollen Produkten für die Landwirtschaft. Phenolische Komponenten konnten aus dem Hydrolysat mittels Adsorption gewonnen werden und die verbleibende Organik könnte sich als Nährmedium für mikrobiologische Prozesse eignen.

Die wirtschaftliche und ökologische Analyse zeigte, dass der enzymatische Pfad kostengünstiger und ökologisch vorteilhafter realisierbar ist als der ebenfalls hier entwickelte chemische Prozess; auch gegenüber der mineralischen Düngemittelgewinnung und der P-Rückgewinnung aus Klärschlamm weist der enzymatische Prozesspfad zur P-Rückgewinnung aus Roggenkleie ökologische Vorteile auf, ist jedoch aus der theoretischen Skalierung heraus kostenintensiver. Anpassungen in Pilotanlagen können die Kosten signifikant senken und die Möglichkeiten einer großtechnischen Umsetzung verbessern.

2 Projektziele

Das Projekt „Phosphor-angepasste Futtermittel am Beispiel Kleie“ hat sich zum Ziel gesetzt, den Phosphor (P)-Gehalt in Roggenkleie als Beispielsubstrat für Futtermittel zu reduzieren und den so abgetrennten P in einer nutzbaren Form zurückzugewinnen. Eine Reduktion des P-Gehalts in der Kleie soll zunächst dazu führen, dass auch die Ausscheidungen der Tiere weniger P enthalten und somit bei einer Ausbringung als Wirtschaftsdünger das Eutrophierungsrisiko in der Umwelt gesenkt wird. Außerdem soll die potenziell komplexierende Wirkung der Phytinsäure als Haupt-P-Komponente vermieden werden, durch welche es in der Ernährung zu Mangelerscheinungen an Mineralstoffen kommen kann. Für den aus der Kleie rückgewonnenen P steht der Einsatz als Futtermitteladditiv oder als Düngemittel im Fokus der Untersuchungen, da P als essenzieller Nährstoff insbesondere in diesen Sektoren eingesetzt wird.

Zur Abtrennung des P aus der Kleie werden mechanische, enzymatische und chemische Prozessalternativen untersucht und letztlich zu einem übergreifenden verfahrenstechnischen Prozess zusammengeführt. Dieser soll anschließend aus technischer Perspektive hinsichtlich einer großtechnischen Umsetzbarkeit bewertet werden. Eine ökonomische und ökologische Analyse ermöglichte schlussendlich eine Bewertung, wie sich der Prozess kostenseitig darstellt und welche Umwelteffekte im Vergleich zur Phosphat-Gewinnung aus mineralischen Ressourcen gegeben sind.

Insgesamt strebt das Projekt also sowohl die Erzeugung einer ernährungsphysiologisch und umweltseitig vorteilhafteren Kleie als Futtermittel als auch die Herstellung eines Phosphat-Salzes für die Anwendung im Futter- und/oder Düngemittelbereich an.

3 Projektergebnisse

Für die Prozessentwicklung einer enzymatischen bzw. mechanisch-chemischen Gewinnung von Phosphat aus Roggenkleie erfolgte eine eingehende Untersuchung aller Prozessschritte im Labor. Anschließend wurde die enzymatische Behandlung zur Herstellung ausreichender Mengen an P-reduzierter Kleie für die Fütterungsstudien an Modelltieren hochskaliert. Auf Basis der klein- bzw. mittelskaligen Erkenntnisse erfolgte eine theoretische weitere Hochskalierung der entwickelten Prozessalternativen, um abschließend eine kosten- und umweltseitige Bewertung des Gesamtkonzepts vornehmen zu können. Die jeweiligen Hauptergebnisse werden im Folgenden erläutert. Weitere Angaben zur Methodik bzw. einzelnen Versuchsreihen sind den jeweiligen Zwischenberichten und Veröffentlichungen zu entnehmen.

3.1 Etablierung analytischer Methoden

Innerhalb des Projekts wurde eine Analytik zur Quantifizierung von Inositolphosphaten an der TUHH etabliert und an der RWTH erweitert. Mit der entwickelten HPLC-Methode können die unterschiedlich stark phosphorylierten Inositol-InsP3 bis InsP6 gut voneinander separiert werden; die Isomere InsP3 bis InsP5 können damit qualitativ und InsP6 quantitativ nachgewiesen werden. Die etablierte Analytik ist nicht nur auf Roggenkleie, sondern auch auf andere Phytat-reiche Pflanzenschrote wie Sonnenblumen, Raps oder Soja anwendbar.

Im weiteren Verlauf des Projekts wurde eine HPIC Methode entwickelt, die es ermöglicht, quantitativ auf InsP5 und InsP6 sowie auch qualitativ auf InsP1 bis InsP6 zu untersuchen. Die neu etablierte Analytik wurde insbesondere eingesetzt, um den Abbau der Isomere in den Scale-Up Versuchen nachzuweisen.

3.2 Prozessentwicklung

Zur Entwicklung eines umfassenden Prozesskonzepts standen eine maximale Reduzierung des P-Gehalts in der Kleie und die anschließende Rückgewinnung eines Phosphat-Salzes mit definierter Kristallstruktur im Fokus. Dabei wurden mechanische, enzymatische und chemische Prozessschritte separat untersucht, um anschließend einzeln und / oder kombiniert zu einem effizienten Gesamtprozess zu führen. Eine mechanische Abtrennung sollte dabei möglichst in den bestehenden Getreidemahlprozess integriert werden, um eine an P abgereicherte Getreidefraktion zur direkten Verfütterung und eine kleine, an P angereicherte Getreidefraktion für eine Phosphat-Rückgewinnung zu gewinnen. Die Rückgewinnung des nutzbaren Phosphat-Salzes müsste darauf aufbauend in einem zusätzlichen chemischen oder mikrobiellen Prozessschritt stattfinden.

Der enzymatische Pfad zielt hauptsächlich auf eine P-Abtrennung in Kombination mit einer Freisetzung anorganischen Phosphats ab. Daran anschließend müsste eine Rückgewinnung des Phosphats ebenfalls in chemischer oder mikrobieller Weise erfolgen. Die chemische P-Separation soll als mehrstufige kombinierte Prozessoption dargestellt werden, durch die sowohl P aus der Roggenkleie abgetrennt als auch in einem weiteren Schritt als Phosphat-Salz verfügbar gemacht wird. Die Zusammenstellung der unterschiedlichen Optionen ist graphisch Abbildung 1 zu entnehmen.

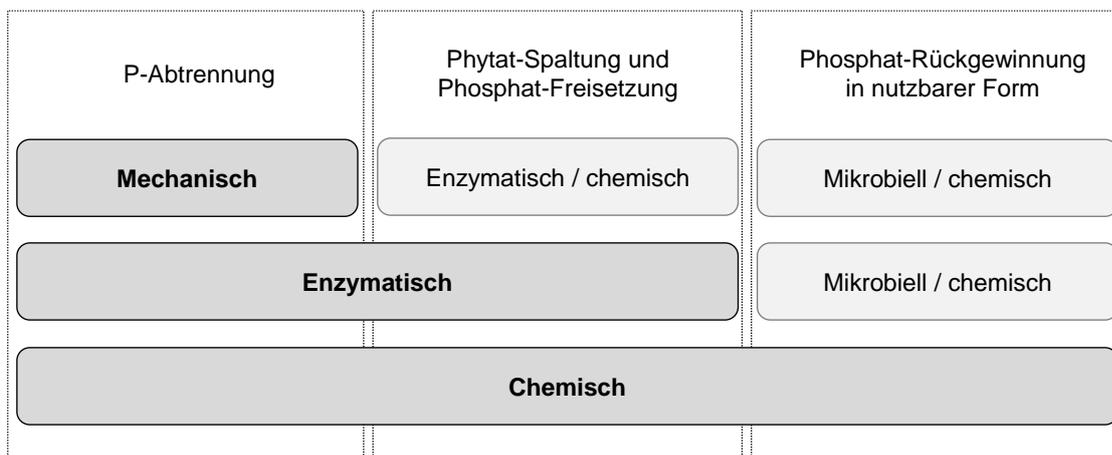


Abbildung 1: Darstellung der Prozessalternativen in Bezug auf die Projektziele

3.2.1 Mechanische P-Abtrennung

Der Großteil an P in Getreide dürfte in der Aleuronschicht angereichert vorliegen; dies ist eine etwa 2 bis 3 Zellen starke Schicht zwischen dem Mehlkörper und der Getreideschale (Abbildung 2). Diese Schale macht dabei, je nach Getreideart und entsprechend der natürlichen / biologischen Schwankungen, 13 bis 25 Gew.-% aus [1, 2]. Beim kommerziellen Mahlprozess werden nach der Aufmahlung des Vollkorns weiße Mehle durch Dichteunterschiede von den gesamten Schalenanteilen (den Kleien) getrennt; großtechnisch etablierte Prozesse zur spezifischen Aleuronseparation bestehen aktuell nicht. In diesem Projekt wird daher untersucht, ob durch das schrittweise Schälen der Roggenkörner von außen eine Getreidefraktion erzielt werden kann, die signifikant an P angereichert ist. Die Rückgewinnung an nutzbarem P könnte unter diesen Bedingungen in einem anschließenden, nass-chemischen Schritt aus einem deutlich geringeren Massenstrom erfolgen als der Gesamtschale.

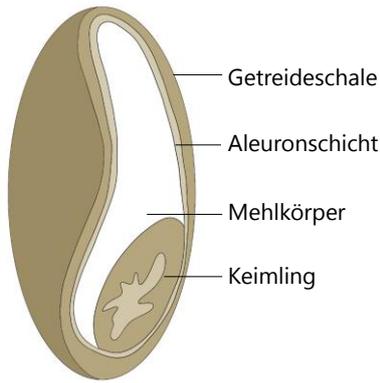


Abbildung 2: Aufbau eines Getreidekorns

Innerhalb einer schichtweisen Schälung von Roggenkörnern zeigte sich eine Anreicherung des P-Gehalts zwischen 5 und 15 Gew.-% der abgetrennten Schale (Abbildung 3), wobei etwa 80 Gew.-% als Phytat vorlagen. Im Mikroskop konnte bestätigt werden, dass die Aleuronzellen vollständig entfernt wurden. Die breite Spanne ergibt sich einerseits durch die natürlichen / biologisch bedingten Inhomogenitäten der Körner und andererseits durch prozessbedingte Abweichungen in der Schälung. Die Verteilung der Phytase-Aktivität über den Kornquerschnitt zeigte ein Maximum bei etwa 20 Gew.-% und ist damit leicht versetzt zum Peak des P-Gehalts.

Um mittels einer schichtweisen Schälung zuverlässig mindestens die Hälfte des Ps aus dem Roggen abzutrennen, müsste eine Schälung von ca. 25 Gew.-% der Körner erfolgen. Dies entspricht praktisch einer Entfernung des gesamten Schalenanteils, sodass im Vergleich zum klassischen Mahlprozess keine robustere und präzisere Abtrennung des P-Anteils möglich war. Da eine gezielte Schälung somit nur durch deutlich höheren Aufwand möglich wäre und eine Integration in den bestehenden Mahlprozess mit groben Walzen unter kommerziellen Aspekten nicht praktisch realisierbar und damit umsetzbar erscheint, wird eine enzymatische bzw. chemische Prozessierung der Kleie ohne eine mechanische Behandlung im Vorhinein betrachtet.

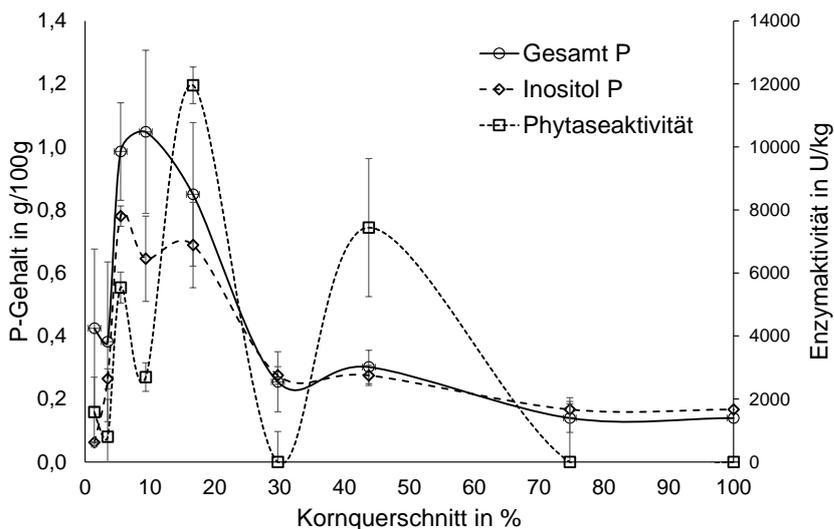


Abbildung 3: Verteilung des gesamten und organischen P in Roggenkörnern sowie der Phytaseaktivität über den Kornquerschnitt

3.2.2 Enzymatische P-Mobilisierung

Eine enzymatische Behandlung der nativen Kleie sollte sowohl zur Solubilisierung des Ps aus der Kleie als auch zur gleichzeitigen Aufspaltung der organischen Form Phytat zu Phosphat führen. Im Anschluss wurde in einem zweiten Prozessschritt Phosphat als Salz ausgefällt. Das grobe Schema dieser zwei-stufigen enzymatischen Mobilisierung und P-Rückgewinnung ist in Abbildung 4 gezeigt. Die enzymatische Behandlung wurde mittels speziell angepasster Phytasen sowie unter Zugabe kommerzieller zellsplattender Enzyme im Labormaßstab durchgeführt und anschließend in einen ersten Pilotmaßstab mit einer Maßstabsvergrößerung von mehr als einem Faktor 100 übertragen.

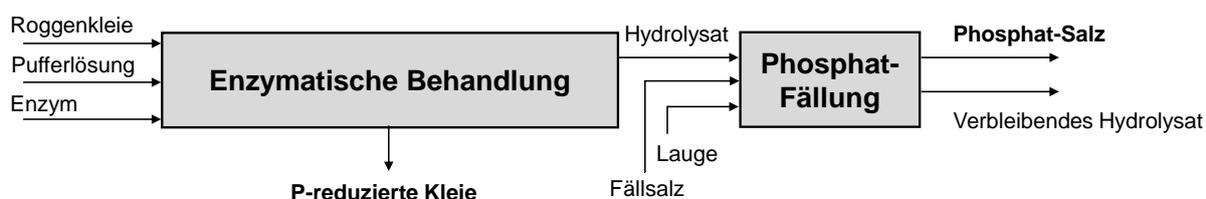


Abbildung 4: Schema der enzymatischen P-Abtrennung und -Rückgewinnung aus Roggenkleie

Enzymengineering

Phytasen für den Einsatz in Lebens- und Futtermitteln stehen bereits kommerziell zur Verfügung, jedoch stellen Einschränkungen wie eine geringe Enzymaktivität oder eine unvollständige Phytathydrolyse zu Inositol und freiem Phosphat eine große Herausforderung bei der Anwendung zur P-Mobilisierung aus Kleie dar.

In einer KnowVolution-Kampagne wurde die *E. coli AppaA* Phytase erfolgreich hinsichtlich der Hydrolyse von niederen Inositolphosphaten (InsP4 und InsP3) verbessert. Die Durchmusterung von insgesamt zehntausend Klonen ergab einen Datensatz von 46 Varianten für den Abbau der drei Isomere Ins(2,4,5)P3, Ins(2,3,4,5)P4, Ins(1,2,5,6)P4. Dieser generierte Datensatz wurde verwendet, um maschinelle Lernmodelle zu trainieren. Rekombinanten wurden erfolgreich durch die Anwendung der PyPEF Methode vorausgesagt.

Die Varianten wurden mittels Sättigungsmutagenese erstellt und die Aktivitätsprofile für die Inositolphosphate bestimmt. Schließlich wurden beim Screening von Bibliotheken zur Zufalls- und Sättigungsmutagenese sechs Varianten mit einer mehr als 2,5-fach verbesserten InsP4-Hydrolyse identifiziert. Die Variante T23L/K24S weist eine um 3,7-fach verbesserte relative Aktivität für Ins(1,2,5,6)P4 und gleichzeitig eine 3,2-fach verbesserte Hydrolyse von Ins(2,3,4,5)P4 auf. Bei den berichteten Substitutionen handelt es sich um die ersten veröffentlichten *Ec phy*-Varianten mit verbesserter Hydrolyse von InsP4 und InsP3.

Enzymatische Behandlung

Für die enzymatische Behandlung wurden unterschiedliche Phytasen und Phytase-Mischungen untersucht, um die maximale Ausbeute an Phosphat in Lösung zu erreichen. Dabei wurde der organische P in einem Schritt parallel aus der Kleie herausgelöst und zu Phosphat aufgespalten. Bei Nutzung einer Phytasemischung aus rPhyXT52 und *D. castelli* (beide exprimiert in *P. pastoris*) mit einer Aktivität von ca. 1800 U/mg und einem Kleie-zu-Flüssigkeit-Verhältnis von 1:7 (w/v) konnten bis zu 93 % des ursprünglich als Phytat vorliegenden Ps als Phosphat dargestellt werden. Die Behandlung wurde bei 37 °C und in einem Natriumacetatpuffer bei pH 4,4 durchgeführt. Die mit der Enzym-Mischung erzielten Phosphatausbeuten von bis zu 39 mg/g_{Roggenkleie} übersteigen alle bisher veröffentlichten Werte

signifikant [3]. Dies unterstreicht das Potenzial von Roggenkleie zur P-Rückgewinnung und die Effizienz der Phytase-Mischung.

Um die Freisetzung des Phytats zu beschleunigen, können zusätzlich zu den Phytasen zellsplattende Enzyme eingesetzt werden. Die Nutzung der kommerziellen Enzymmischungen Viscozyme L, Pektinex und auch Depol 740 wirkte sich dabei positiv auf den Stofftransport und damit die Behandlungsdauer aus (Abbildung 5). Über den Betrachtungszeitraum von 120 min konnte so auch die freigesetzte Menge an P erhöht werden.

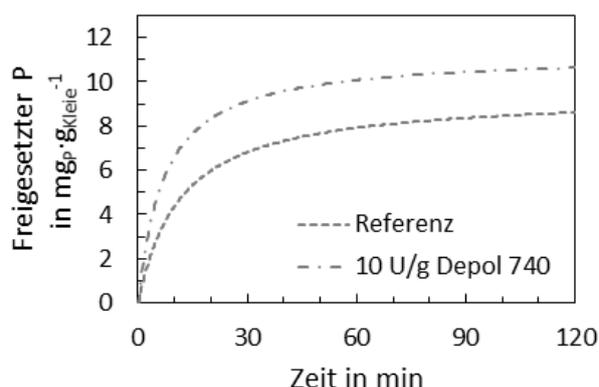


Abbildung 5: Zeitlicher Verlauf der P-Freisetzung ohne und mit zusätzlicher enzymatischer Behandlung des Zellverbands zur unterstützenden Phytat-Freisetzung

Aufbauend auf den Laboruntersuchungen wurde eine schrittweise Skalierung der enzymatischen Behandlung bis zu einem Maßstab von 400 L durchgeführt. Dabei wurde die gleiche Phytasemischung ohne Zusatz zellsplattender Enzyme eingesetzt und bei 25 bis 37 °C und pH 4,4 gearbeitet. Die Ergebnisse zeigen eine gute Vergleichbarkeit der unterschiedlichen Ansätze und ebenfalls eine Reduktion von über 90 % des P-Gehalts in der Roggenkleie (Abbildung 6).

Mit dem P-Gehalt wurde auch der Gesamtaschegehalt der P-reduzierten Kleie im Vergleich zur nativen Kleie deutlich gesenkt (ca. - 90 %). Auch der Protein- und der Stärkegehalt wurden durch die Behandlung um durchschnittlich je 30 bzw. 50 % reduziert. Der Fett- und der Faseranteil dagegen nahmen relativ gesehen um etwa 30 bzw. sogar 90 % zu, da ein Teil der Kleiemasse solubilisiert wird. Zucker wurden mit der Behandlung zum Großteil herausgelöst bzw. abgebaut. Insgesamt bleibt durch den Anteil an Rohfaser und die verbleibenden Proteine sowie Fette der Nährwert erhalten und die P-abgereicherte Kleie kann weiterhin als Futtermittel genutzt werden.

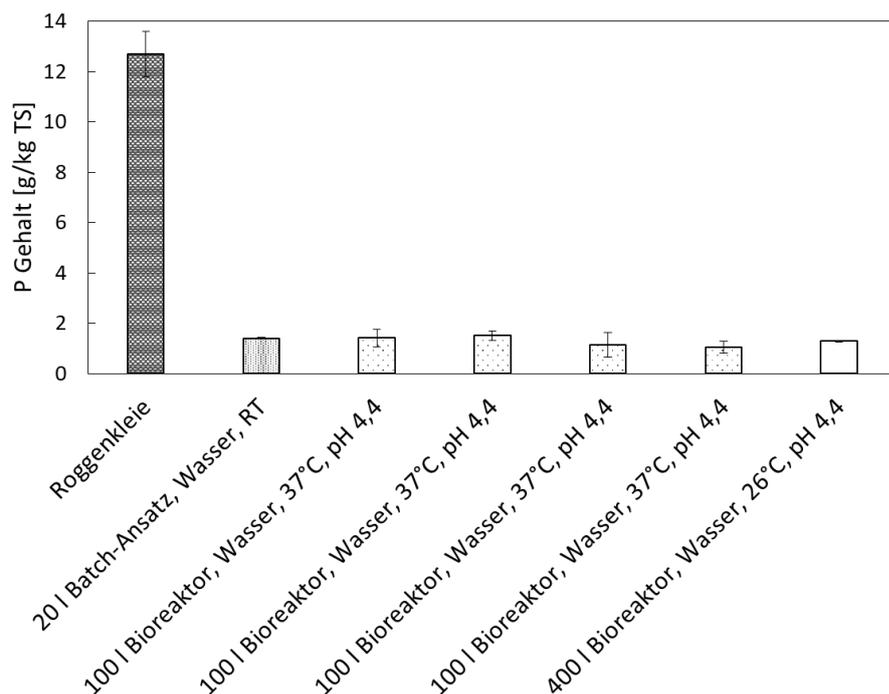


Abbildung 6: P-Reduktion während der Hochskalierung der enzymatischen P-Mobilisierung aus Roggenkleie

Fällung des Phosphat-Salzes

Nach der Abtrennung des festen Kleierückstands wurde aus der verbleibenden Flüssigphase (im Weiteren als Hydrolysat bezeichnet) Phosphat durch Zugabe von Fällsalzen rückgewonnen. Eine im Verhältnis zum Phosphat-Gehalt stöchiometrische Menge an Magnesium- und Ammoniumchlorid und die anschließende Anhebung des pH-Werts auf 9 führte bei Raumtemperatur zu 99 % P-Rückgewinnung in Form von Struvit. Auch die Zugabe einer stöchiometrischen Menge an Calciumhydroxid mit einem Ziel-pH-Wert von 10 führte zu 98 % P-Rückgewinnung in Form von Calciumhydrogenphosphat (Monohydrat). Die kristalline Struktur wurde mittels Röntgendiffraktometrie nachgewiesen (Abbildung 7).

Das so gewonnene Präzipitat weist einen P-Gehalt von ca. 12 Gew.-% auf. Darüber hinaus machen Magnesium und Stickstoff mit ungefähr 15 Gew.-% die größten Anteile des Präzipitats aus. Etwa 6 Gew.-% sind in Form von Wasser und 4 % in Organik gebunden.

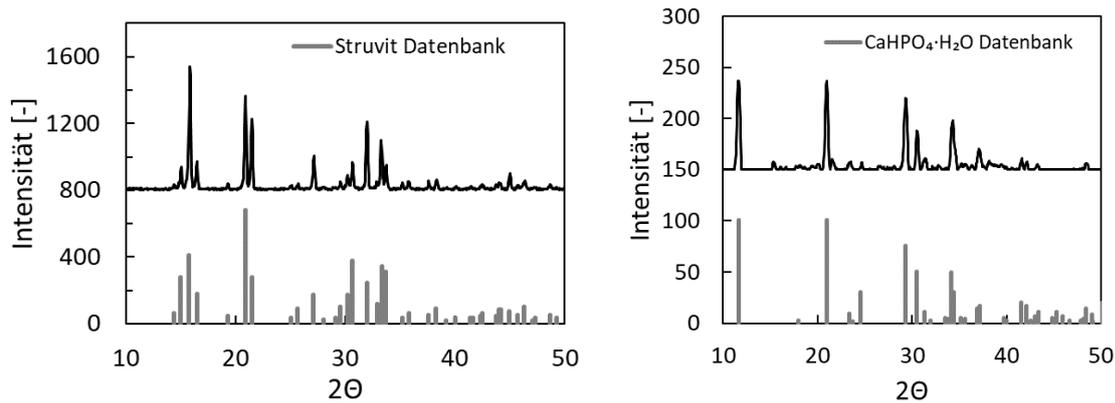


Abbildung 7: Diffraktogramme der Präzipitate aus der Phosphat-Rückgewinnung nach enzymatischer Behandlung (Intensität über den Einstrahlwinkel 2θ); links: Struvit nach Magnesium- und Ammoniumzugabe; rechts: Calciumhydrogenphosphat nach Calciumzugabe

3.2.3 Thermo-chemische P-Rückgewinnung

Als Alternative zum enzymatischen Pfad wurde ein mehrstufiger thermo-chemischer Prozess entwickelt (Abbildung 8). Es erfolgte zunächst die Extraktion des Phytats aus der Roggenkleie mit einer nachgeschalteten Waschung der extrahierten Kleie, anschließend die thermische Hydrolyse des Extrakts zur Freisetzung von anorganischem Phosphat und eine abschließende Fällung des Phosphats in Salzform. Jeder Schritt wurde dabei einzeln auf die Prozessparameter mit den entsprechend höchsten Ausbeuten bezüglich der jeweiligen Produktströme untersucht.

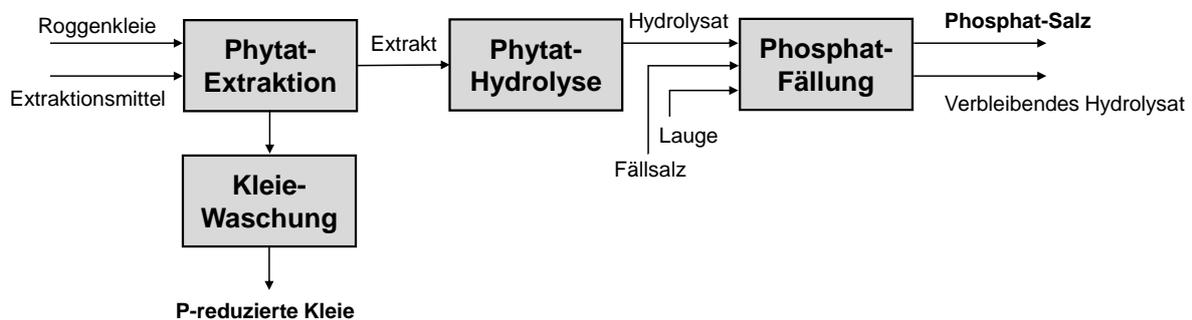


Abbildung 8: Schema der thermo-chemischen P-Abtrennung und -Rückgewinnung aus Roggenkleie

Saure Extraktion des Phytats

Aus einem Screening unterschiedlicher mineralischer und organischer Säuren hat sich Salzsäure mit einer Ausbeute von 97 % als das beste Extraktionsmittel gezeigt. Bereits bei Raumtemperatur und nach kurzen Extraktionszeiten von nur 20 min konnte die maximale Menge an P aus der Roggenkleie herausgelöst werden. Die Konzentration der Salzsäure sollte ca. 0,66 mol/L betragen, um die maximale Ausbeute bei gleichzeitig möglichst niedrigem Ressourcenverbrauch und geringster Acidität zu erreichen. Ein Fest-Flüssig-Verhältnis von 1 g Kleie auf 20 mL Salzsäure ist dabei mindestens einzuhalten. Nach einer Extraktion für 40 min (in 0,66 mol/L HCl in einem Verhältnis von 1:20 (w/v) bei Raumtemperatur) ergaben sich auch über wiederholte Messungen reproduzierbare Ergebnisse mit einer Standardabweichung von unter 5 %. 90 % des in Lösung gebrachten P liegt nach der Extraktion im Extrakt bei einem pH-Wert von ca. 0,2 als Phytat vor und muss daher für eine Nutzbarmachung zu Phosphat gespalten werden. Der

Feststoff wurde für die weitere Nutzung als Futtermittel einer Waschung zugeführt und auf die verbleibenden Nährstoffe analysiert.

Waschung des Kleierests

Die sauer extrahierte Kleie wurde in 5-facher Menge mit Wasser gewaschen; so wurde der pH-Wert auf 4,5 angehoben und die sensorische Wahrnehmung des sauren Aromas entfernt. Insbesondere der Mineralstoffanteil ist nach der Extraktion und Waschung der Roggenkleie mit ca. - 90 % deutlich reduziert; es bleiben jedoch Proteine, Faseranteile und ein Teil der Stärke als Nährstoffe erhalten. Damit eignet sich die mittels Salzsäureextraktion P-reduzierte Kleie ebenfalls weiterhin als Futtermittel.

Thermische Hydrolyse des Phytats

Das aus der Extraktion verbleibende flüssige Extrakt wurde einer Mikrowellenbehandlung unterzogen, um Phytat zu Phosphat zu hydrolysieren. Die maximale Ausbeute von 98,5 % anorganischem P wurde unter den härtesten untersuchten Bedingungen (200 °C, 15 min) erreicht. Der Einfluss der Temperatur auf die Ausbeute verläuft sigmoidal; dabei beginnt die Phytat-Spaltung bei etwa 130 °C und steigt, je nach Haltezeit bis zu 170 bis 180 °C steil an. Auch der pH-Wert hat einen signifikanten Einfluss auf die Ausbeute; diese ist im sauren Milieu deutlich höher als im neutralen oder alkalischen Bereich.

Zur genauen Bestimmung der jeweils geeignetsten Parameterkombination aus Temperatur und Zeit wurde eine kinetische Untersuchung (bei pH 0,2) durchgeführt, die auch eine Extrapolation der Daten über den Untersuchungsraum hinaus zulässt. Dabei ergab sich eine experimentelle Reaktionsordnung von 0,68 und eine Aktivierungsenergie der Phytat-Hydrolyse von 112,7 kJ/mol. Die daraus ermittelte nötige Haltezeit bei Temperaturen von 120 bis 170 °C zur Erzielung einer Ausbeute von 95 % ist in Abbildung 9 dargestellt.

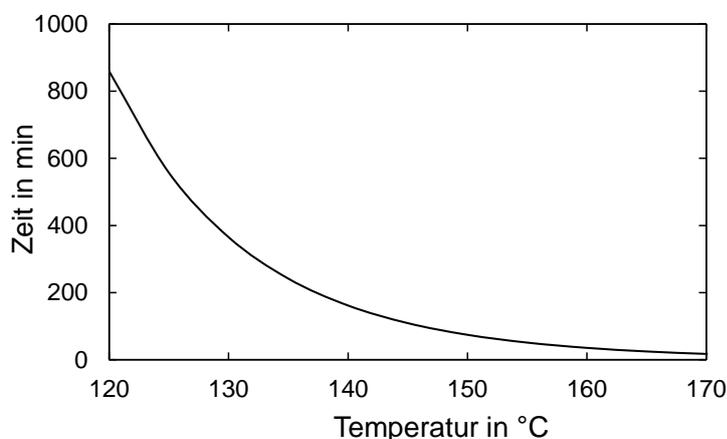


Abbildung 9: Parameterkombination aus Reaktionstemperatur und Haltezeit der thermischen Phytat-Hydrolyse mit einer Zielausbeute von 95 %; ermittelt aus einer kinetischen Modellierung

Fällung des Phosphat-Salzes

Abschließend zum thermo-chemischen Prozesspfad wurde aus dem Hydrolysat Magnesiumphosphat als Zielprodukt ausgefällt. Hierfür wurde dem Hydrolysat unter Rühren Magnesiumchlorid zugegeben und der pH-Wert bis in den alkalischen Bereich angehoben, um Magnesiumphosphat auszufällen. Es ergaben sich Ausbeuten von > 99 % ausgefälltem P; diese wurden ab einem pH-Wert von 10 und unter Zugabe einer überstöchiometrischen Menge an Mg^{2+} zu Phosphat in Höhe von 1,4:1 erreicht. Weder eine Temperaturvariation zwischen 20 und 50 °C noch die Änderung der Rührzeit zwischen 10 min und 4 h (bei 500 min^{-1}) hatten einen signifikanten Einfluss auf die Ausbeute der Fällung. Während bei 20 und

35 °C jedoch eine Mischung aus Magnesiumphosphat, Kaliummagnesiumphosphat, Natriumchlorid sowie eine geringe Menge an Struvit vorlag (Abbildung 10), konnten bei einer Fällung von 50 °C keine kristallinen Strukturen mehr nachgewiesen werden.

Das kristallin gewonnene Präzipitat weist einen P-Gehalt von ca. 11 Gew.-% auf. Insbesondere Magnesium und Natrium machen daneben mit je 10 Gew.-% die größten Anteile des Präzipitats aus. Etwa 20 bis 25 Gew.-% sind in Form von Wasser gebunden; nur ein sehr geringer Massenanteil entfällt auf die verbleibende Organik. Aus den genannten Erkenntnissen lässt sich der thermo-chemische Prozess zur P-Rückgewinnung aus Roggenkleie mit einer Gesamteffizienz von 94 % (bezogen auf den P-Gehalt des Substrats) realisieren.

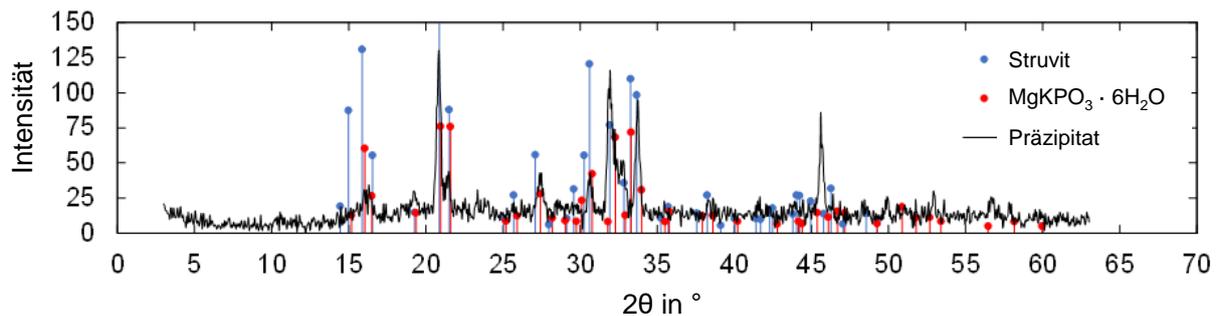


Abbildung 10: Röntgendiffraktogramm des Phosphat-Präzipitats nach thermo-chemischer Behandlung (Intensität über den Einstrahlwinkel 2θ)

3.2.4 Fütterungsstudie mit der P-reduzierten Kleie

Die P-reduzierte Kleie kann folgend auf die Laboranalysen wieder als Futtermittel eingesetzt werden. Um sowohl die Futteraufnahme als auch die Verdaulichkeit des verbliebenen Ps zu untersuchen, wurden Fütterungsstudien mit der aus der hochskalierten enzymatischen Behandlung resultierenden Kleie durchgeführt. Die P-reduzierte Roggenkleie sollte dabei im Vergleich zur unbehandelten, nativen Roggenkleie an Kaninchen untersucht werden. Das Kaninchen wurde als Modelltier gewählt, weil es aufgrund seiner Verdauungsphysiologie die maximale P-Löslichkeit aufzeigen kann; d. h. wenn Kaninchen den P in der Kleie nicht nutzen können, ist dies auch bei anderen monogastrischen Tieren unwahrscheinlich. Die Haltung ermöglicht einfache und vollständige Kotsammlungen, vermeidet Kotverluste und erfordert keine genehmigungspflichtigen Tierversuche. Für die Fütterungsstudie wurden auf Basis der analysierten Nährstoffzusammensetzungen der nativen und P-reduzierten Kleie maßgeschneiderte (d. h. bedarfsdeckende) Mischfuttermittel konzipiert und anschließend vergleichend als Futtermittel gereicht.

Futtermittelmischungen

Anhand der Nährstoffanalysen wurden zunächst drei unterschiedliche Futtermischungen mit identischem P-Gehalt ermittelt, die je aus dem Grundfutter auf Basis von Zuckerrübenschnitzeln, Luzernegrünmehl, Weizen und Faserträgern (Cellulose, Lignocellulose) sowie einer P-Quelle bestanden. Dem Kontrollfutter wurde zur Grundmischung gut verdauliches Mononatriumphosphat zugemischt; vergleichend wurde die Grundmischung je mit einem Anteil nativer Roggenkleie sowie mit der behandelten Roggenkleie und zudosiertem Mononatriumphosphat eingesetzt. So konnte das Kontrollfutter gegen die beiden Kleie-basierten Futtermittel getestet werden (Abbildung 11). Neben den Mischfuttermitteln wurde ein Gerstenstroh mit einem besonders niedrigen P-Gehalt (0,46 g P / kg TS) zur Bedarfsdeckung von strukturiertem Raufutter eingesetzt.

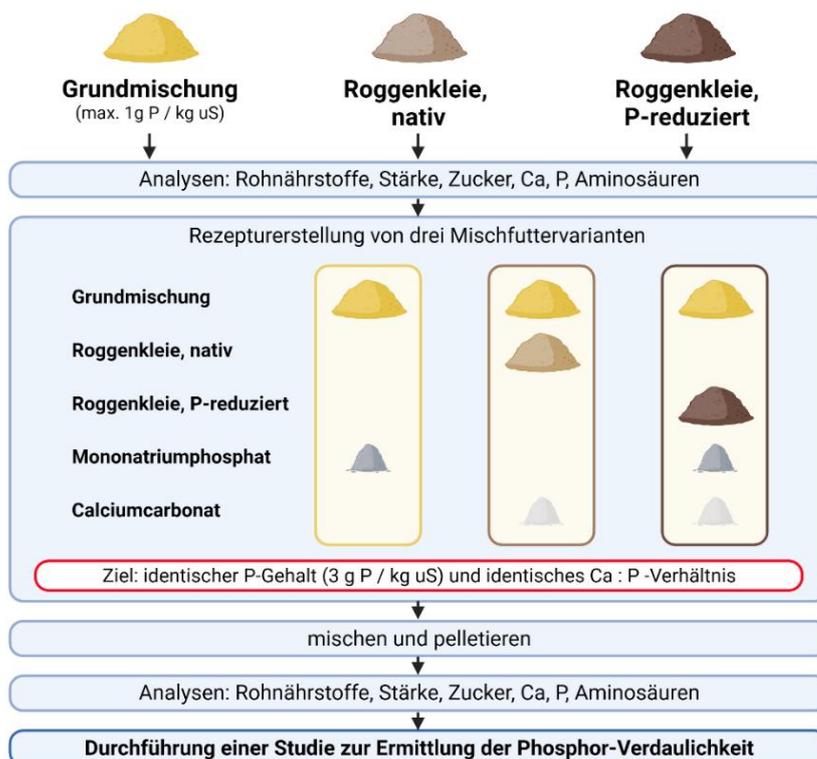


Abbildung 11: Futtermischungen zur Fütterungsstudie

Durchführung der Fütterungsstudie

Die drei Futtermischungen wurden an 8 Tiergruppen mit je zwei Kaninchen verfüttert. Nach einer dreitägigen „Verschneidungsphase“ mit dem gewohnten Mischfutter aus dem Herkunftsbetrieb, begann die fünftägige Adaptationsphase gefolgt von einer fünftägigen Kollektionsphase. Neben den zu prüfenden Mischfuttermitteln wurde den Kaninchen zusätzlich gehäckseltes Stroh *ad libitum* sowie Wasser über Nippeltränken angeboten. Beide Futtermittel wurden in Tontrögen mit einem Fassungsvermögen von 0,5 L angeboten. Das Lichtregime für die künstliche Beleuchtung erfolgte täglich mit einer zwölfstündigen Lichtphase (6:00 Uhr bis 18:00 Uhr), an deren Anfang und Ende jeweils eine zweistündige Dämmerungsphase, unterteilt in zwei Helligkeitsstufen, integriert war. Nach Abschluss der Kollektionsphase wurden die Kaninchen an private Tierhalter vermittelt.

Futtermitteltauglichkeit

In allen drei Versuchsgruppen konnten mittlere P-Verdaulichkeiten von mehr als 80 % beobachtet werden, wobei der P jeweils aus unterschiedlichen Quellen stammte. Die scheinbare Verdaulichkeit ermittelt sich aus der Differenz des durch das Tier insgesamt aufgenommenen und des durch den Kot ausgeschiedenen Ps an jedem Kollektionstag und liegt mit ca. 53 % für die behandelte Kleie deutlich niedriger als die native Roggenkleie; d. h. der P in der P-reduzierten Kleie ist weniger gut nutzbar von dem entsprechenden monogastrischen Tier als der P in unbehandelter Roggenkleie. Allerdings ist der P-Gehalt mit 1,3 g / kg uS (umsetzbarer Substanz) auch deutlich geringer.

Der hohe Grad der P-Reduzierung ermöglicht damit einen deutlich höheren Einsatz / Anteil von behandelter Roggenkleie im Tierfutter als bisher, da die Limitierungen aufgrund des hohen P-Gehaltes wegfallen. Die Futteraufnahme der Modelltiere zeigte keine Auffälligkeiten zwischen den Rationen. Wenngleich sich doch einige Nährstoffverschiebungen durch den Prozess der P-Abreicherung ergaben, lässt sich abschließend eine Futtermitteltauglichkeit feststellen. Dies gilt insbesondere für Wiederkäuer

und Schweine, für die der kalkulierte Energiegehalt pro kg Kleie durch die Behandlung nicht nachteilig beeinflusst wird. Auch zeigt die P-Reduktion der Roggenkleie, dass sich umweltrelevante Vorteile bei Einsatz der behandelten Kleie im Tierfutter ergeben. Bei gleichem Mengeneinsatz im Mischfutter ist der P-Eintrag in die Umwelt bei Verwendung der behandelten Kleie um 2/3 reduziert (Tabelle 1).

Tabelle 1: Vergleich der absoluten P-Ausscheidungen bzw. Umwelteinträge bei gleichem Einsatz im Tierfutter am Beispiel der ermittelten scheinbaren P-Verdaulichkeiten von Kaninchen (uS = umsetzbare Substanz)

		native Roggenkleie	P-reduzierte Roggenkleie
P-Gehalt	g/kg uS	12,9	1,3
scheinbare Verdaulichkeit	%	85,73	52,81
P absolut verdaut	g/kg uS	11,06	0,69
P absolut ausgeschieden	g/kg uS	1,84	0,61
P-Eintrag in die Umwelt	%	100	33,33

3.2.5 Gewinnung weiterer Wertstoffe

Die Hauptprodukte aus dem bisher dargestellten Prozess sind die P-reduzierte Kleie, die als verbessertes Futtermittel eingesetzt werden kann, sowie das Phosphat-Salz mit einer potenziellen Anwendung in der Futter- oder Düngemittelindustrie. Um die Wertschöpfung aus dem Prozess noch weiter zu steigern, wurde untersucht, ob sich aus dem Hydrolysat als Abfallstrom Potenzial für weitere Produkte ergibt. Laboranalysen zeigten neben P insbesondere eine hohe Menge an phenolischen Komponenten im Hydrolysat, die alle Derivate von Phenol umfassen. Phenole finden u. a. in der Lebensmittel- oder chemischen Industrie Anwendung, da viele Vertreter Aromastoffe bilden bzw. antioxidative und antimikrobielle Eigenschaften aufweisen [4].

Untersuchungen ergaben eine Rückgewinnung von bis zu 80 % der im Hydrolysat vorliegenden phenolischen Komponenten. Dies wurde mittels Adsorption an XAD 16 bzw. XAD 7 HP, beides Adsorbentien aus dem Ionenaustauschharz Amberlit, erreicht. Eine Desorption in Natronlauge und Ethanol führte über mehrere Zyklen hinweg zu stabilen Ergebnissen. Alternativ oder ggf. anschließend könnten im Hydrolysat verbleibende Zucker als Nährmedium in der biotechnologischen Industrie genutzt werden, sodass Bakterienstämme oder Pilzkulturen direkt im Hydrolysat nach der P-Abtrennung angezüchtet werden könnten.

3.3 Prozessanalyse

Aus den im Labormaßstab untersuchten Prozessalternativen wurde ein übergreifendes Konzept entwickelt, um die Ziele einer P-reduzierten Kleie sowie eines als Futter- oder Düngemittel einsetzbaren Phosphat-Salzes zu erreichen. Da die mechanische Abtrennung nicht in den üblichen Mahlprozess integrierbar ist, wird diese nicht in den Prozess mit inkludiert. Die enzymatische sowie thermo-chemische Methode verlaufen parallel und stellen daher zwei alternative Prozesspfade dar, die im Weiteren vergleichend betrachtet wurden.

3.3.1 Technische Analyse

Die Grundidee der großtechnischen Umsetzung ist eine Integration des Prozesses bei Mischfutterwerken, welche die Kleie zentral zu einem P-angepassten Getreidefutter verarbeiten könnten. Die Auslegung erfolgte in einem theoretischen Maßstab von 5 300 t/a; dies entspricht der maximal zu verarbeitenden Menge an Getreidekleie je Futtermittelwerk in Deutschland, wenn die gesamte Menge an Futterkleie (aller Getreidetypen) in den deutschen Futtermittelwerken behandelt wird [5]. Es wird also

angenommen, dass der hier für Roggen entwickelte Prozess auch auf andere Getreidetypen übertragbar ist und analog angewendet werden kann.

Die im Labor entwickelten Prozessschritte wurden zu den in den Fließbildern gezeigten Prozessalternativen zusammengeführt (Abbildung 12 und Abbildung 13). Die Prozessparameter sowie Massenströme der einzelnen Komponenten wurden direkt aus den Untersuchungen im Labor übernommen bzw. hochskaliert.

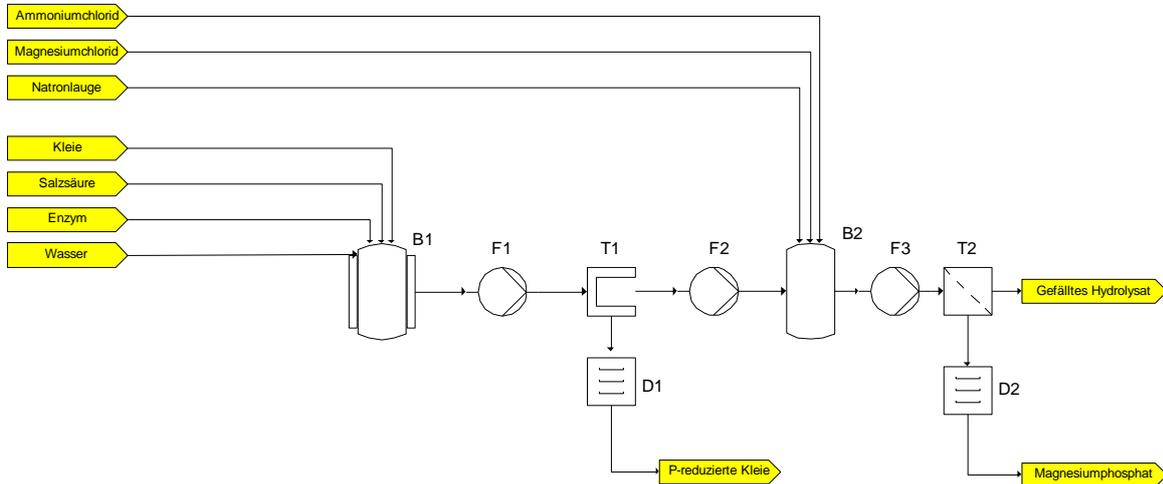


Abbildung 12: Verfahrensfliessbild der enzymatischen P-Abtrennung und -Rückgewinnung aus Roggenkleie (Behälter (B), Fördereinheiten (F), Trennapparate (T) und Trockner (D))

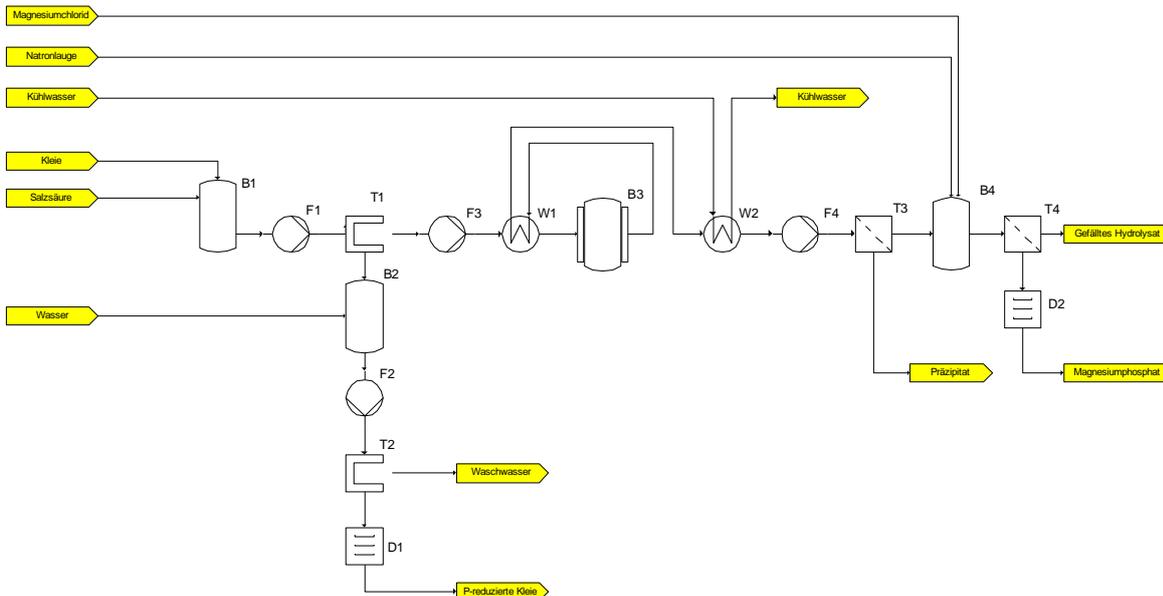


Abbildung 13: Verfahrensfliessbild der thermo-chemischen P-Abtrennung und -Rückgewinnung aus Roggenkleie (Behälter (B), Fördereinheiten (F), Trennapparate (T) und Trockner (D))

Eine prinzipielle technische Machbarkeit ist für beide Prozesspfade gegeben. Dabei ergeben sich innerhalb der Prozesse jedoch unterschiedliche Herausforderungen. Die enzymatische Mobilisierung wird mit einer Verweilzeit von 960 min betrachtet, was im kontinuierlichen Betrieb zu großen Behältervolumina und im Anschluss daran zu hohen Wandstärken und großen Herausforderungen in der Durchmischung der Medien führen würde. Daher wird für die enzymatische Behandlung ein Chargenbetrieb in zehn parallelen und deutlich kleiner dimensionierten Bioreaktoren vorgesehen (B1 =

B1.1 bis B1.10). Die verbleibenden Prozessschritte werden kontinuierlich ausgelegt. Insgesamt benötigt dieser Prozess ca. 4 000 MWh/a Energie.

Der chemische Pfad zeichnet sich im Vergleich dazu durch relativ kurze Verweilzeiten aus. Allerdings muss insbesondere bei der thermischen Behandlung mit Salzsäure die Korrosionsbeständigkeit aller Bauteile sichergestellt werden; daher müssen der Behälter und alle Anschlussteile aus einer Speziallegierung gefertigt werden. Die Gesamtenergienachfrage beläuft sich auf ca. 14 500 MWh/a und liegt damit etwas mehr als dreimal so hoch wie beim enzymatischen Pfad.

In beiden Prozessen wird eine hohe Menge an Trägerflüssigkeit durch den Prozess geschleust; diese folgt aus dem im jeweils ersten Schritt eingestellten Fest-Flüssig-Verhältnis für die maximale Phytat-Solubilisierung. Beim chemischen Prozess ist die Gesamtmasse noch um einen Faktor 3 höher als beim enzymatischen, sodass eine Aufkonzentrierung des P-Gehalts ggf. sinnvoll wäre.

3.3.2 Ökonomische Analyse

Aufbauend auf die technische Analyse wurden die Einzelkosten aller zu tätigen Investitionen sowie der im Bau und Betrieb anfallenden Kosten beider Prozesspfade aufsummiert und über eine technische Anlagenlaufzeit von 20 Jahren in ein jährliches Mittel aufgeteilt. Dabei wurde ein Zinssatz von 5 % angenommen. Daraus errechnen sich spezifische Produktgestehungskosten für das Phosphat-Salz (anlehnend an die VDI Richtlinie 2067/6025). Die P-reduzierte Kleie wurde im Prozess damit als Nebenprodukt angerechnet, welches entsprechend Erlöse einbringt. Die Kostenannahmen für Substrate und Hilfsströme sind in Tabelle 2 gegeben. Die Investitionskosten wurden überschlägig mit Angaben aus der Literatur bzw. von führenden Herstellern der entsprechenden Apparatetypen bestimmt.

Tabelle 2: Kostenannahmen

Kosten für Verbrauchsmittel		Kosten für Hilfsstoffe	
Kleie / €/t	110	Kühlwasser / €/t	0,4
Salzsäure (32 %) / €/t	740	Wasser (incl. Abwasserkosten) / €/t	4
Natronlauge (32 %) / €/t	800	Strom / €/kWh	0,27
Enzym / €/t	45000	Abwärme / €/kWh	0,03
Magnesiumchlorid Hexahydrat / €/t	710		
Ammoniumchlorid / €/t	1310		

Kostenverteilung

Insgesamt ergeben sich für den enzymatischen und chemischen Prozesspfad Investitionskosten von ca. 2,6 bzw. 3,6 Mio. €; die Hauptinvestitionen entfallen mit ca. 50 % in der enzymatischen Behandlung und mit ca. 40 % in der chemischen Behandlung auf den Trockner für die P-reduzierte Kleie (Abbildung 14).

Die verbrauchsgebundenen Kosten ergeben sich aus den Massenströmen und den in Tabelle 2 genannten Kostenannahmen zu 1,7 Mio. €/a in der enzymatischen Behandlung und zu ca. 16,5 Mio. € im thermo-chemischen Prozess; hier fallen insbesondere die großen Mengen an Salzsäure und Natronlauge mit je einem Drittel der Kosten ins Gewicht. Im enzymatischen Pfad fallen vor allem Ausgaben für das Substrat und die Fällungsreagenzien an (Abbildung 15). Die betriebsgebundenen Kosten werden mit je ca. 1,3 Mio. €/a für Anlagen- und Verwaltungspersonal berücksichtigt.

Für den enzymatischen Prozesspfad ergaben sich unter Einbezug aller genannten Kostenpositionen Produktgestehungskosten in Höhe von ca. 29 €/kg und für den thermo-chemischen Pfad in Höhe von 58 €/kg. Dies bezieht sich auf je ca. 11 Gew.-% P-Gehalt im Endprodukt. Übliche Phosphat-basierte Additive (mit ca. 20 Gew.-% P) werden für < 1 €/kg angeboten. Damit sind die aus dem hier entwickelten

Prozess dargestellten Produkte unter den gewählten Randbedingungen unter kommerziellen Bedingungen noch nicht am Markt darstellbar. Um die größten Stellschrauben für eine kostengünstigere Produktion zu identifizieren, wurde eine Sensitivitätsanalyse der Produktionskosten durchgeführt.

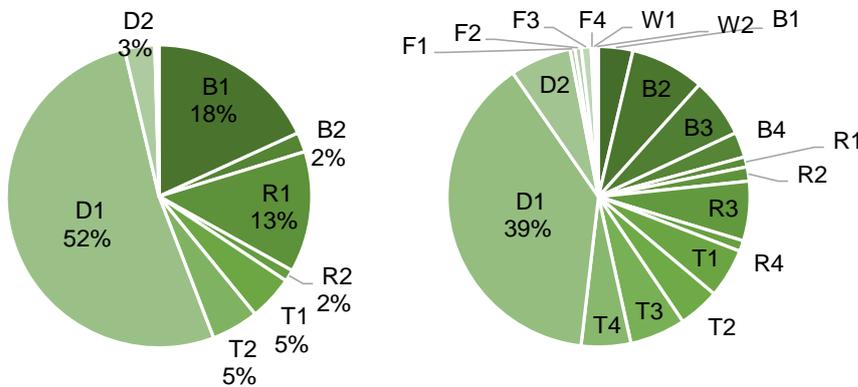


Abbildung 14: Verteilung der Investitionskosten; links: enzymatischer Prozesspfad; rechts: thermo-chemischer Prozesspfad; B: Behälter; R: Rührer; T: Trenneinheit; D: Trockner; F: Fördereinheit; W: Wärmeübertrager

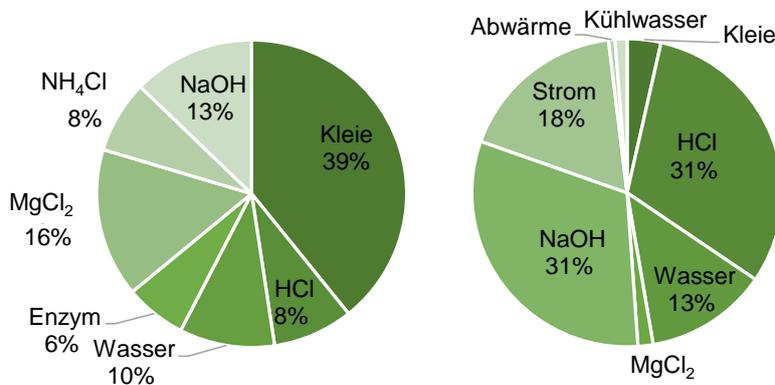


Abbildung 15: Verteilung der Verbrauchskosten; links: enzymatischer Prozesspfad; rechts: thermo-chemischer Prozesspfad

Sensitivitätsanalyse

Innerhalb der Sensitivitätsanalyse wurden große Kostenpositionen innerhalb eines Rahmens von $\pm 50\%$ variiert und der Einfluss auf die Produktgestehungskosten betrachtet. Die größten Unsicherheiten in der Datenbasis liegen bei den Investitionen, da in einem derart frühen Entwicklungsstadium des Prozesses nur sehr überschlägige Annahmen möglich sind. In beiden Prozessalternativen wirken sich die Änderungen der Investitionen im betrachteten Bereich mit unter 1 €/kg nur sehr gering auf die Produktgestehungskosten aus; diese dürften daher aus aktueller Sicht relativ robust sein. Die Sensitivitätsanalyse zeigt jedoch, dass die Investitionskosten den größten Einfluss im enzymatischen Prozess haben; für den thermo-chemischen Prozesspfad wirken sich die Kosten für NaOH und HCl mit 0,09 €/kg pro Prozent Änderung des Preises (oder der benötigten Menge) am größten aus.

Unter der Annahme, dass eine Verfütterung der nicht getrockneten Kleie mit einem Restfeuchtegehalt von ca. 60 Gew.-% erfolgt, entfallen Investitionen und Energiekosten für den Trocknungsschritt und die Produktgestehungskosten würden sich auf 15 €/kg für den enzymatischen und 45 €/kg für den chemischen Prozess reduzieren. Eine weitere Reduktion der Kosten des chemischen Prozesses könnte durch geringere Mengen an eingesetzter NaOH erfolgen; dies wäre mittels einer elektrochemischen Fällung möglich. Damit zeigt sich zwar, dass der dargestellte Prozess mit dem Phosphat-Salz als hauptsächliches Wertprodukt unter den aktuellen Rahmenbedingungen nicht unter kommerziellen

Bedingungen durchgeführt werden kann, jedoch auch, dass ein hohes Potenzial an Kostenreduktionen bezogen auf den hier untersuchten Standardprozess besteht.

3.3.3 Ökologische Analyse

Mit der Darstellung der P-reduzierten Kleie und eines nachhaltigen Phosphat-Salzes zielt der Prozess auf einen ökologischen Mehrwert ab, produziert gleichzeitig jedoch auch selbst Umweltauswirkungen. Im Fokus der Ökobilanzierung stehen hier die Auswirkungen des Prozesses auf den anthropogen verursachten Klimawandel (angegeben als Ausstoß an CO₂-Äquivalenten pro Tonne modifizierte Kleie) sowie auf die Versauerung von Böden (angegeben als Ausstoß an SO₂-Äquivalenten pro Tonne modifizierte Kleie).

Systemgrenzen und Methode der Wirkungsabschätzung

Für beide Prozesse wird ein „Cradle-to-gate“-Ansatz verfolgt; d. h. alle Umweltauswirkungen der Beschaffung von Energie und Materialien für den Prozess sowie die Auswirkungen des Produktionsprozesses selbst werden einbezogen. Die Nutzungsphase der beiden Produkte wird nicht in der Analyse berücksichtigt (Systemgrenzen in Abbildung 16 und Abbildung 17).

Es wurde die ReCiPe-Methode für die Wirkungsabschätzung (Life Cycle Impact Assessment, LCIA) gewählt; die Produktionsdaten entsprechen den europäischen Mittelwerten. Die Umweltauswirkungen werden innerhalb des Prozesses massenbezogen auf beide Endprodukte aufgeteilt; hierzu fand eine kausale Allokation zwischen der P-reduzierten Kleie (Hauptprodukt) und dem Phosphat-Präzipitat (Koppelprodukt) statt.

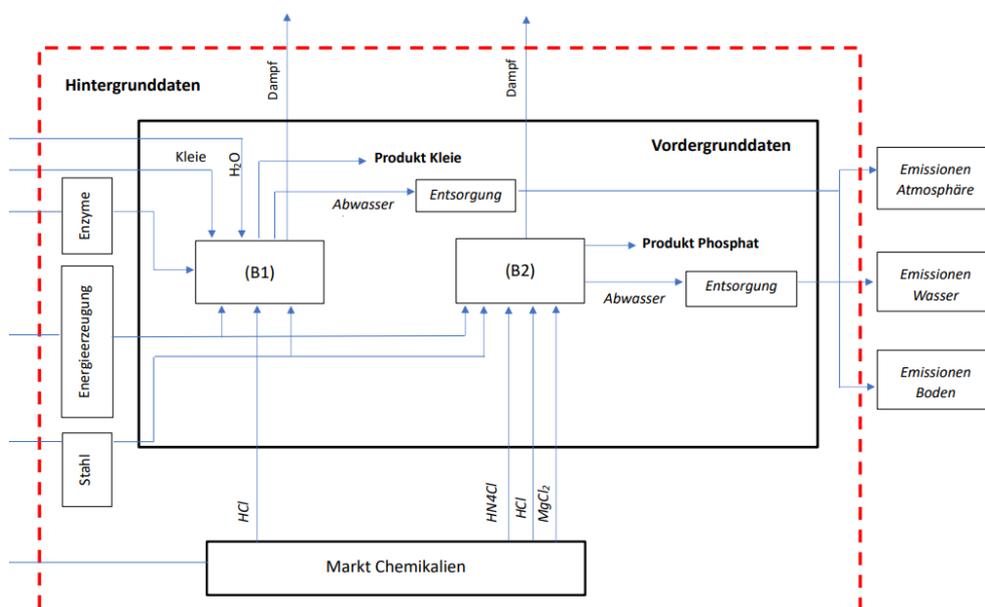


Abbildung 16: Systemgrenzen zur Ökobilanzierung des enzymatischen Verfahrens

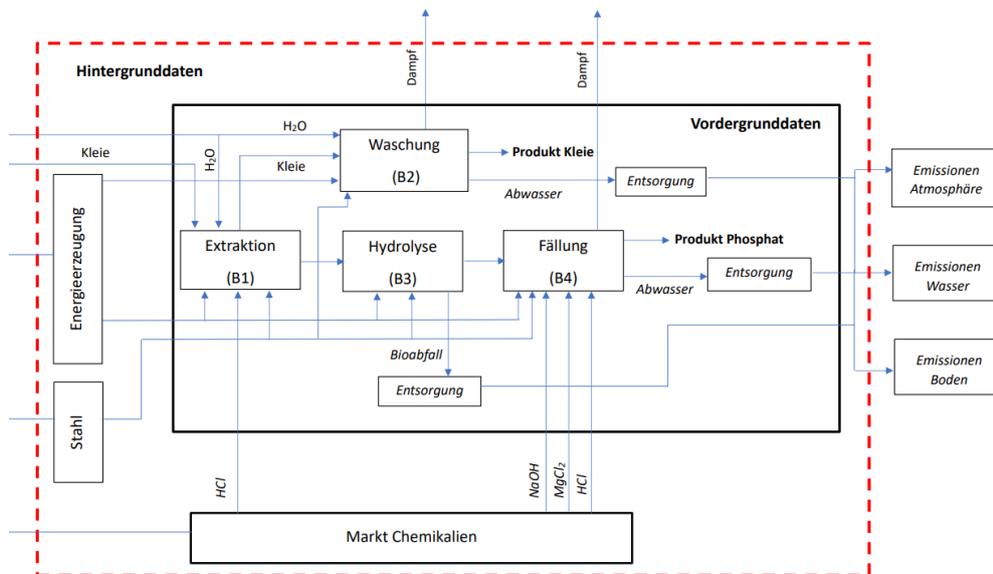


Abbildung 17: Systemgrenzen zur Ökobilanzierung des thermo-chemischen Verfahrens

Umweltauswirkungen der P-reduzierten Kleie

Bezüglich der absoluten Umweltauswirkungen der Herstellung von 1 t modifizierter Kleie zeigt sich, dass der thermo-chemische Prozess mit einem Faktor von 11 eine größere Auswirkung auf den Klimawandel hat als der enzymatische Prozess (absolut 1700 bzw. 150 kg CO₂-Äquivalente). Auch der Beitrag zur Versauerung durch den thermo-chemischen Prozess ist erheblich größer als beim enzymatischen Prozess (absolut 9 bzw. 0,3 SO₂-Äquivalente/t Kleie). Der Hauptbeitrag zu den Umweltauswirkungen (Abbildung 18) entfällt, vor allem für den enzymatischen Pfad, auf die Energienachfrage sowie beim thermo-chemischen Prozess auf den Bedarf an Chemikalien.

Die Bewertung der Umweltauswirkungen basiert auf dem Energiemix für Deutschland, der auch eine Stromerzeugung aus Braunkohle, Steinkohle und Erdgas umfasst [6] und somit einen großen Einfluss auf die Wirkungskategorie Klimawandel hat. Im Braunkohletagebau entstehen außerdem Schwefelsäure und Eisensulfat, die zur Versauerung von Böden und Grundwasser beitragen [7, 8]. Damit kann eine Nutzung ausschließlich erneuerbarer Energien für Wärme und Strom die Umweltauswirkungen sowohl auf den Klimawandel als auch auf die Versauerung für beide Prozesse signifikant reduzieren; für den enzymatischen Pfad um etwa 70 %, für den chemischen Pfad um ein Viertel.

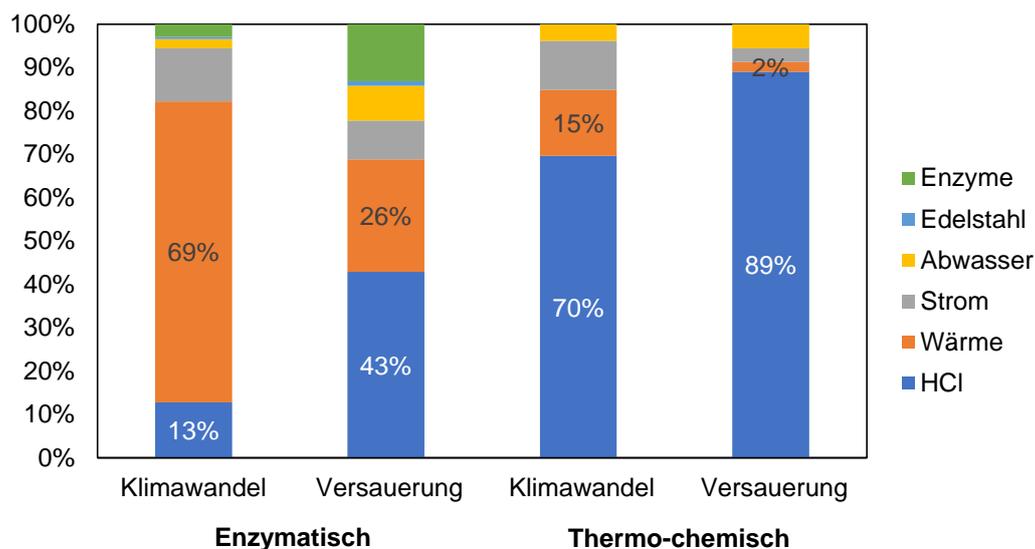


Abbildung 18: Beitrag der Produktion P-reduzierter Kleie zum Klimawandel bzw. der Versauerung von Böden

Umweltauswirkungen des Phosphat-Salzes

Eine Rückgewinnung von Phosphat-Präzipitaten erfolgt aktuell meist aus Klärschlamm und wird im Rahmen einer ökologischen Bewertung üblicherweise ohne Allokation betrachtet, da Phosphat häufig das einzige Wertprodukt aus dem Prozess ist [9, 10]. In diesem Kapitel ist das Phosphat-Präzipitat die funktionelle Einheit und die Umweltauswirkungen aller Prozessschritte werden dem Phosphat-Präzipitat zugeordnet, um die Ergebnisse mit der Literatur vergleichen zu können.

Bezüglich der Auswirkungen auf den Klimawandel ergeben sich bei der Herstellung von 0,17 t Phosphat-Präzipitat (skaliert entsprechend einer Menge von 1 t modifizierter Kleie) 540 kg CO₂-Äquivalente im enzymatischen Prozess und 6000 kg CO₂-Äquivalente im thermo-chemischen Prozess. Diese Ergebnisse werden mit den Umweltauswirkungen der P-Rückgewinnung aus Klärschlamm mittels der Technologien AquaReci sowie PHOXNAN verglichen, die sich in einem frühen Pilotmaßstab befinden. Beide Verfahren beinhalten je einen Fällungsschritt, der auf Calciumphosphat (AquaReci) bzw. Struvit (PHOXNAN) abzielt. Beim AquaReci-Prozess geht der Fällung eine superkritische Oxidation voraus und beim PHOXNAN-Prozess eine wässrige Oxidation [9]. Es zeigt sich, dass die thermo-chemische P-Rückgewinnung ein ähnliches, nur leicht höheres Niveau an CO₂-Äquivalenten aufweist wie die P-Rückgewinnungsprozesse aus Klärschlamm; der enzymatische Prozess liegt deutlich darunter (Abbildung 19). Darüber hinaus wird ein Vergleich mit der konventionellen Herstellung des mineralischen Düngers Diammoniumphosphat (DAP) angestellt [10], der ebenfalls verdeutlicht, dass der enzymatische Prozess vorteilhaft ist; die Klimaauswirkungen des thermo-chemischen Prozesses sind etwas höher als die der DAP-Herstellung. Wird die P-reduzierte Kleie als Wertprodukt betrachtet und somit eine kausale Allokation vorgenommen, reduzieren sich die Umweltauswirkungen.

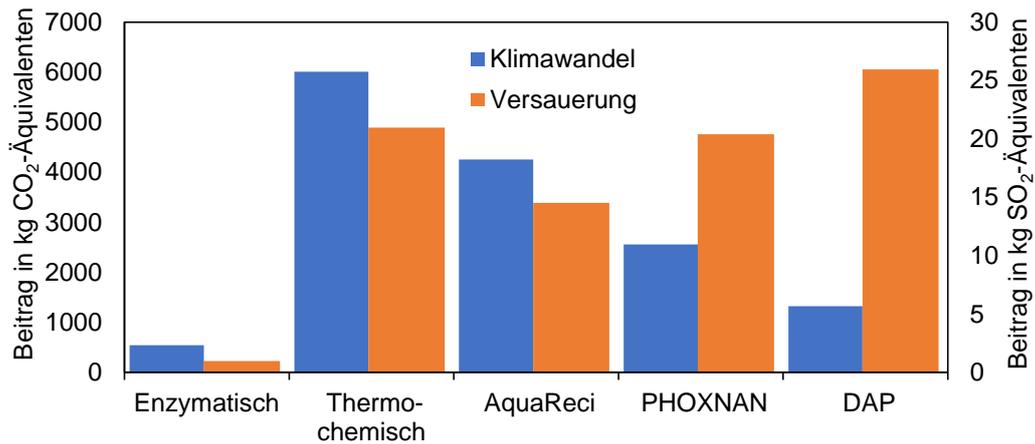


Abbildung 19: Vergleich der Auswirkungen verschiedener P-Rückgewinnungstechnologien auf den Klimawandel (links) und die Versauerung von Böden (rechts)

Im Hinblick auf die Wirkungskategorie Versauerung sind die Ergebnisse der verschiedenen P-Rückgewinnungsverfahren schwer zu vergleichen, da die Verfahren unterschiedliche Arten und Mengen an Chemikalien verwenden. Insgesamt zeigt jedoch auch bzgl. dieser Wirkungskategorie der enzymatische Prozesspfad gegenüber den Vergleichsverfahren und dem thermo-chemischen Pfad deutlich niedrigere Umweltauswirkungen; der chemische Prozess befindet sich etwa in der Größenordnung anderer P-Rückgewinnungsverfahren.

Der Beitrag der unterschiedlichen Inputströme auf die Umweltauswirkungen (Abbildung 20) zeigt einen analogen Trend wie für die Darstellung der P-reduzierten Kleie; die Hauptbeiträge entfallen auf die Energienachfrage sowie den Bezug von Chemikalien, hier Salzsäure und Natronlauge.

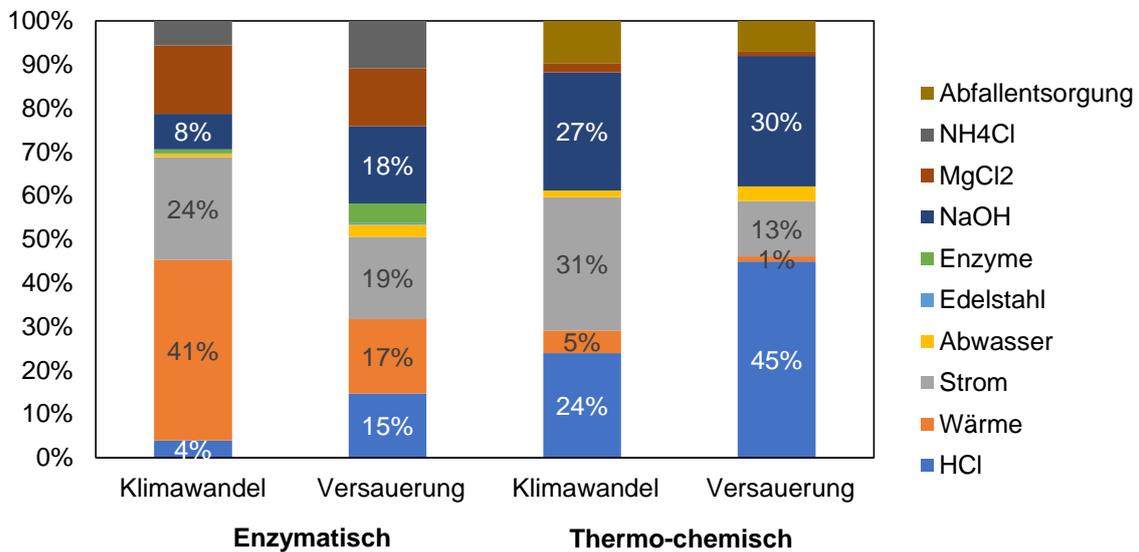


Abbildung 20: Beitrag der Phosphat-Rückgewinnung aus Kleie zu den Umweltauswirkungen

In Summe zeigte die ökologische Bewertung des entwickelten Prozesses, dass die Auswirkungen auf den Klimawandel und die Versauerung von Böden als Hauptkategorien in einer ähnlichen Größenordnung liegen wie P-Rückgewinnungsverfahren aus Klärschlamm bzw. die Herstellung von Düngemitteln aus mineralischen Ressourcen. Besonders der enzymatische Pfad hebt sich jedoch durch den geringen Einsatz von Chemikalien und damit eine deutlich niedrigere Umweltauswirkung als der thermo-chemische Pfad und auch eine niedrigere Umweltauswirkung als die Vergleichsprozesse ab.

4 Öffentlichkeitsarbeit

Über die Projektlaufzeit wurde das Projekt auf nationalen und internationalen Konferenzen vertreten und Projektergebnisse wurden durch Publikationen in wissenschaftlichen Zeitschriften verbreitet.

4.1 Tagungen

Inhalte des Projekts wurden in Absprache der Projektpartner auf den folgenden Tagungen vorgestellt:

Himmelfahrtstagung on Bioprocess Engineering 2021

Widderich, N. Vortrag mit dem Titel „Taking Advantage of in vivo Hydrolysis in Animal Feeds for Phosphorus Adjustment“.

Aachen Protein Engineering Symposium (ACES 2021)

Stotz, J.; Lenz, P.; Ruff, A. J.; Schwaneberg, U. Posterpräsentation mit dem Titel „From Farm to Table: New Strategies for Phosphate Recovery“.

13th European Congress of Chemical Engineering and 6th European Congress of Applied Biotechnology 2021

Widderich, N. Posterpräsentation mit dem Titel: „Finding the Optimal Operating Point to Utilize Intrinsic Enzymes for The Phosphorus Adjustment in Animal Feeds“.

International Symposium on Green Chemistry (ISGC 2022)

Widderich, N. Vortrag mit dem Titel: „Inline Determination of Phytic Acid Content in Cereals during Enzymatic Phosphorus-Adjustment“.

International Symposium on Green Chemistry (ISGC 2022)

Mayer, N. Vortrag mit dem Titel: „Phosphorus Sustainability: Approaches for an efficient P utilization from cereal by-products in feed industry“.

Himmelfahrtstagung on Bioprocess Engineering 2022

Widderich, N. Posterpräsentation mit dem Titel: „Inline Determination of Phytic Acid Content in Cereals During Enzymatic Phosphorus Adjustment“.

RWTH Transparent 2023 – Biotechnologische Phosphat Herstellung

European Sustainable Phosphorus Conference 2023 (ESPC 4)

Widderich, N. Posterpräsentation mit dem Titel „Inline Determination of Phytic Acid Content in Cereal During Enzymatic Phosphorus Adjustment“.

Phosphorus in Europe Research Meeting 2023 (PERM5)

Mayer, N. Vortrag mit dem Titel „A novel process for an efficient phosphorus utilization from cereal by-products in feed industry“.

ProcessNet 2023: (bio)Process Engineering - A Key to Sustainable Development.

Widderich, N. Posterpräsentation mit dem Titel: „ATR-FTIR Quantification of Phytic Acid for Feed Conditioning“.

Biocat 2023: 10th International Congress on Biocatalysis

Widderich, N. Posterpräsentation mit dem Titel: „ATR-FTIR Based Inline Analysis for Phytate-Quantification During Feed Conditioning“.

Himmelfahrtstagung on Bioprocess Engineering 2023

Widderich, N. Vortrag mit dem Titel: „Project PhANG – Phosphorus Utilization from Plant-Based Material“.

European Biomass Conference and Exhibition 2023 (EUBCE)

Mayer, N. Vortrag mit dem Titel „Sustainable Phosphorus from cereal-based animal feed: A novel recovery technology“.

Forschungsschwerpunkt Biobased Processes and Reactor Technologies der TUHH, 2023

Mayer, N. Vortrag mit dem Titel „Process development for phosphorus recovery from rye bran“.

4.2 Publikationen

Im Rahmen des Projektes wurden die folgenden Veröffentlichungen erarbeitet:

Evolution of E. coli phytase towards improved hydrolysis of inositol tetrakisphosphate

Herrmann, K. R., Brethauer, C., Siedhoff, N. E., Hofmann, I., Eyll, J., Davari, M. D., Schwaneberg, U., Ruff, A. J.* (2022). Evolution of E. coli phytase towards improved hydrolysis of inositol tetrakisphosphate (InsP4). *Frontiers in Chemical Engineering*, 4.

DOI: 10.3389/fceng.2022.838056

FTIR Quantification of Phytic Acid for Feed Conditioning

Widderich, N.; Liese, A.; Bubenheim, P. (2022). FTIR Quantification of Phytic Acid for Feed Conditioning. *Chem. Ing. Tech.* 94 (9).

Conditioning of Feed Material Prior to Feeding: Approaches for a Sustainable Phosphorus Utilization

Widderich, N., Mayer, N., Ruff, A.J., Reckels, B., Lohkamp, F., Visscher, C., Schwaneberg, U., Kaltschmitt, M., Liese, A., Bubenheim, P. (2022). Conditioning of Feed Material Prior to Feeding: Approaches for a Sustainable Phosphorus Utilization. *Sustainability*, 14 (7).

DOI: 10.3390/su14073998

Biotechnological production of food-grade polyphosphate from deoiled seeds and bran

Herrmann, K. R., Fees, J., Christ, J., Hofmann, I., Block, C., Herzberg, D., Bröring, S., Reckels, B., Visscher, C., Blank, L. M., Schwaneberg, U., Ruff, A. J.* (2023). Biotechnological production of food-grade polyphosphate from deoiled seeds and bran. *EFB Bioeconomy Journal*, 100048.

DOI: 10.1016/j.bioeco.2023.100048

Comparison of Phosphorus and Phytase Activity Distribution in Wheat, Rye, Barley and Oats and Their Impact on a Potenzial Phytate Separation

Mayer, N., Widderich, N., Scherzinger, M., Bubenheim, P., Kaltschmitt, M. (2023). Comparison of Phosphorus and Phytase Activity Distribution in Wheat, Rye, Barley and Oats and Their Impact on a Potenzial Phytate Separation. *Food and Bioprocess Technology*, 16.

DOI: 10.1007/s11947-022-02981-3

Microwave-assisted Acidic Hydrolysis of Phytate from Rye Bran – Experimental Procedure and Model Prediction

Mayer, N.; Dirauf, M.; Kaltschmitt, M. (2023). Microwave-assisted acidic hydrolysis of phytate from rye bran – Experimental procedure and model prediction. *LWT – Food Science and Technology*, 189.

DOI: 10.1016/j.lwt.2023.115499

Online monitoring of phytate content in plant residuals during wet-treatment

Widderich, N.; Bubenheim, P.; Liese, A. (2024). ATR-FT-MIR Based Inline Analysis for Determination of Phytate in Plant Residuals During Wet-Treatment. *Scientific Reports*, 14.

DOI: 10.1038/s41598-023-49950-0

An up-scaled biotechnological approach for phosphorus-depleted rye bran as animal feed

Widderich, N.; Stotz, J.; Lohkamp, F.; Visscher, C.; Schwaneberg, U.; Liese, A.; Bubenheim, P.; Ruff, A.J. (2024) An up-scaled biotechnological approach for phosphorus-depleted rye bran as animal feed. *Bioresources and Bioprocessing*, 11.

DOI: 10.1186/s40643-024-00765-5

5 Fazit und Ausblick

Während der Projektlaufzeit konnten alle Arbeitspakete vollständig bearbeitet werden. Es wurden zwei alternative Prozesspfade entwickelt, die als Produkte jeweils die P-reduzierte Kleie mit nachgewiesener Futtermittleignung sowie ein Phosphatsalz mit definierter Kristallstruktur erzielten. Die Fütterungsstudien mit der enzymatisch behandelten und P-reduzierten Kleie zeigten eine gute Futteraufnahme der Kaninchen und der Energiegehalt der Kleie verändert sich durch die Behandlung nicht signifikant. Zwar ist der verbleibende P-Gehalt schwerer verdaulich als in der nativen Kleie; die Behandlung ermöglicht jedoch die Beimischung deutlich höherer Mengen an Kleie zu Futtermittelmischungen, sodass Kleie als Rohstoff zu höherem Anteil genutzt werden kann.

Mit einer Gesamtausbeute von > 90 % kann mittels beider Prozesspfade der Großteil des Ps in Roggenkleie als Phosphatsalz nutzbar gemacht werden. Der enzymatische Pfad stützt sich dabei auf die Nutzung eigens angepasster Phytasen bei Raumtemperatur und pH 4,4 mit einer anschließenden Fällung des Phosphats als Struvit oder Calciumphosphat. Im thermo-chemischen Pfad erfolgt ein dreistufiger Prozess, in dem eine Extraktion der Kleie in Salzsäure (pH 0,2), die thermische Spaltung organischen Ps bei 180 bis 200 °C sowie die abschließende Fällung als Magnesiumphosphat aufeinanderfolgen.

Während also der enzymatische Prozesspfad bei mildereren Bedingungen abläuft und somit eine deutlich niedrigere Energienachfrage und auch niedrigere Verbrauchskosten aufweist, verläuft der thermo-

chemische Prozess mit deutlich niedrigeren Verweilzeiten und kann eine noch etwas höhere Ausbeute erreichen. Nach den aktuellen Rahmenbedingungen sind die Phosphatsalze aus den beiden Prozesspfaden verglichen mit Düngemitteln und Futtermittelzusätzen auf dem Markt nicht kommerziell umsetzbar. Verglichen mit der Darstellung mineralischen Ps sowie Methoden der P-Rückgewinnung aus Klärschlamm zeigt der enzymatische Prozesspfad deutliche umweltseitige Vorteile, da sowohl die Auswirkungen auf den Klimawandel auch die Versauerung durch den hier dargestellten Prozess deutlich geringer sind. Die Umweltauswirkungen des thermo-chemischen Prozesspfads befinden sich in ähnlicher Größenordnung wie die der Vergleichsprozesse.

Aus diesem Grund soll insbesondere der enzymatische Prozesspfad, dessen Hochskalierung bereits bis zu einem Maßstab von ca. 400 L pro Batch erfolgreich durchgeführt wurde, in einem Folgeprojekt („PhANG-Up“) weiter untersucht werden. Ziel wäre es, eine Pilotanlage in einer landwirtschaftlichen Umgebung aufzubauen und anlehnend an die hier getätigte Sensitivitätsanalyse eine Prozessmodifikation zu finden, die auch kommerziell darstellbar ist. Hierfür müssen unterschiedliche Prozessanpassungen untersucht und jeweils begleitend technisch und ökonomisch analysiert werden.

Literatur

- [1] M. Prückler *et al.*, "Wheat bran-based biorefinery 1: Composition of wheat bran and strategies of functionalization," *LWT - Food Science and Technology*, vol. 56, no. 2, 2014, doi: 10.1016/j.lwt.2013.12.004.
- [2] Z. Sramkova, "Chemical composition and nutritional quality of wheat grain," *Acta Chimica Slovaca*, no. 2, 2009.
- [3] K. R. Herrmann, A. J. Ruff, and U. Schwaneberg, "Phytase-Based Phosphorus Recovery Process for 20 Distinct Press Cakes," *ACS Sustainable Chem. Eng.*, vol. 8, no. 9, 2020, doi: 10.1021/acssuschemeng.9b07433.
- [4] B. R. Albuquerque, S. A. Heleno, M. B. P. P. Oliveira, L. Barros, and I. C. F. R. Ferreira, "Phenolic compounds: current industrial applications, limitations and future challenges," *Food & function*, vol. 12, no. 1, 2021, doi: 10.1039/d0fo02324h.
- [5] Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung, "Bericht zur Markt- und Versorgungslage: Futtermittel 2020," 2020.
- [6] Umweltbundesamt, *Kohlendioxid-Emissionsfaktoren für die deutsche Berichterstattung atmosphärischer Emissionen*. [Online].https://view.officeapps.live.com/op/view.aspx?src=https%3A%2F%2Fwww.umweltbundesamt.de%2Fsites%2Fdefault%2Ffiles%2Fmedien%2F361%2Fdokumente%2Fco2_ef_liste_2022_brennstoffe_und_industrie_final.xlsx&wdOrigin=BROWSELINK (zuletzt geprüft: 26.04.2024).
- [7] U. Stottmeister *et al.*, "Strategies for Remediation of Former Opencast Mining Areas in Eastern Germany," in *Environmental Impacts of Mining Activities: Emphasis on Mitigation and Remedial Measures*, J. M. Azcue, Ed., Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 1999, pp. 263–296.
- [8] E. Kampouroglou, K. Kollias, C. Stouraiti, L. Arvaniti, and N. Papassiopi, "Acid Generation and Heavy Metal Leachability from Lignite Spoil Heaps: Impact to the Topsoils of Oropos Basin, North Attica, Greece," *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, vol. 106, no. 3, 2021, doi: 10.1007/s00128-021-03122-w.
- [9] A. Amann, O. Zoboli, J. Krampe, H. Rechberger, M. Zessner, and L. Egle, "Environmental impacts of phosphorus recovery from municipal wastewater," *Resources, Conservation and Recycling*, vol. 130, 2018, doi: 10.1016/j.resconrec.2017.11.002.
- [10] S. Goel, A. Kansal, and S. Pfister, "Sourcing phosphorus for agriculture: Life cycle assessment of three options for India," *Resources, Conservation and Recycling*, vol. 174, 2021, doi: 10.1016/j.resconrec.2021.105750.