



„FABRIK DER ZUKUNFT“ Projekt 804136

eine Initiative des Bundesministeriums für Verkehr, Innovation und Technologie (BMVIT)

ENDBERICHT

Erstellt am 28.02.2003

Grüne Bioraffinerie - Gewinnung von Proteinen aus Grassäften

Ausschreibung	1. Ausschreibung der Programmlinie Fabrik der Zukunft
Projektstart	01/08/2001
Projektende	31/01/2003
Gesamtprojektdauer	18 Monate
Gesamtbudget	139.530 €
BMVIT-Finanzierung	125.580 €
Auftragnehmer (Institution)	Steirisches Vulkanland Regionalentwicklung GmbH
Ansprechpartner	Christian Krotscheck
Postadresse	Dörfel 2, 8330 Feldbach
Telefon	+43 3152-8575-330
Fax	+43 3152-8575-335
E-mail	ckrotscheck@imzentrum.at
Website	www.vulkanland.at

Erforschung und Entwicklung eines technischen Verfahrens zur Proteingewinnung aus Gras bzw. Silage, in Hinsicht auf Spezialfuttermittel mittels Ultrafiltration im Vergleich zu klassischen Verfahren.

Projektleiter
Dipl.-Ing. Dr. Christian <u>Krotscheck</u> und Dipl.-Ing. Dr. Stefan <u>Kromus</u> Kornberg Institut für nachhaltige Regionalentwicklung und angewandte Forschung, Steirisches Vulkanland Regionalentwicklung GmbH Haus der Region, Dörfel 2, A-8330 Feldbach Tel.: 03152/8575-330 (Fax: 8575-335), ckrotscheck@imzentrum.at
Projektmitarbeiter Wissenschaft
Mag. Werner <u>Koschuh</u>
Günter <u>Povoden</u> (Diplomand)

Projektpartner Wissenschaft
Ao. Univ.-Prof. Dipl.-Ing. Dr. Michael <u>Narodoslawsky</u> Institut für Grundlagen der Verfahrens- und Anlagentechnik, TU Graz Inffeldgasse 25, A – 8010 Graz Tel.: 0316-873 7465, braunegg@glvt.tu-graz.ac.at
Univ.-Doz. Dr. Karl <u>Buchgraber</u> Bundesanstalt für alpenländische Landwirtschaft (BAL) Gumpenstein, Institut für Pflanzenbau und Kulturlandschaft A – 8952 Irdning Tel.: 03682-22451-277, karl.buchgraber@bal.bmlf.gv.at

Kooperationspartner Wirtschaft
Dipl.-Ing. Werner <u>Lorenz</u> LactoProt AG Ferdinand Leihls Str. 40, A – 8230 Hartberg Tel.: 03332-6011-0, w.lorenz@artax.at
Dipl.-Ing. Dr. Michael <u>Koncar</u> VTU-Engineering GmbH Parkring 1, A – 8074 Grambach/Graz Tel.: 0316-405522, michael.koncar@vtu.com
Christian <u>Hiel</u> KeyDreams Bilhabergstr. 1, A – 3013 Tullnerbach Tel.: 0676-33 68 581, christian.hiel@keydreams.at

Kooperationspartner Wissenschaft

Dipl.-Ing. Michael Mandl und Dipl.-Ing. Dr. Bruno Wachter
JOANNEUM RESEARCH Forschungsgesellschaft mbH,
Regionale Innovations- und Forschungsstelle Hartberg
Am Ökopark 7, A-8230 Hartberg
Tel.: 03332-65085, michael.mandl@joanneum.at

Ao. Univ.-Prof. Dipl.-Ing. Dr. Gerhart Braunegg
Inst. f. Biotechnologie, TU Graz
Petersgasse 12, A – 8010 Graz
Tel.: 0316-873-8412 braunegg@biote.tu-graz.ac.at

Univ.-Ass. Dipl.-Ing. Dr. Herbert Danner
Abteilung für Umweltbiotechnologie, IFA-Tulln
Konrad Lorenz Str. 20, A - 3430 Tulln
Tel.: 02272-66280 559, danner@ifa-tulln.ac.at

Feldbach, Februar 2003

Kurzfassung – Teil A

Die Grüne Bioraffinerie – Ausgangslage und Motivation

Die Bewirtschaftung von Grünland zählt zweifellos zu den nachhaltigsten Produktionsweisen der Landwirtschaft. Die stoffliche Nutzung von Grünlandbiomasse („Gras“) bietet eine breite Palette von möglichen Produkten, die bisher im technischen Bereich nicht genutzt werden. Mittelfristig werden durch den Strukturwandel in der Landwirtschaft nach Schätzungen der BAL-Gumpenstein 750.000 Tonnen Trockenmasse pro Jahr von Wiesen Österreichweit verfügbar sein. Gras soll in Zukunft nicht nur als Energiequelle dienen, sondern auch zur Produktion von Chemikalien, biogener Werkstoffe (wie Kunststoff und Verpackungsmaterial) und Pflanzenfasern (z.B. für Dämmplatten) verwendet werden. Gemeinsam mit potenten Industriepartnern wird durch das KORNBERG INSTITUT und die Hartberger Außenstelle des JOANNEUM RESEARCH ein wirtschaftlich rentables Konzept entwickelt. Dazu wurde im Rahmen der „Fabrik der Zukunft“ ein Projektbündel Grüne Bioraffinerie definiert, welches sich aus drei Teilprojekten mit jeweils eigenen Zielen zusammensetzt: Teilprojekt-I: „Verwertung der Faserfraktion“, Teilprojekt-II: „Proteine aus Grassäften“, Teilprojekt-III: „Milchsäure aus Grassilagesäften“. Das Gesamtprojekt Grüne Bioraffinerie Österreich birgt eine Fülle regionalpolitischer Aspekte. Exemplarisch sei hier der Erhalt und Schutz der Kulturlandschaft und die Ökologisierung der Landwirtschaft auf Basis eines wirtschaftlich tragfähigen Konzepts zu nennen.

Proteine aus Grassäften – Inhalt und Ziele des Teilprojekts

Proteine aus Grünlandbiomasse sind wohl das bekannteste Produkt aus dieser Gruppe der Nachwachsenden Rohstoffe. Bereits 1773 wurde eine Proteinfraction aus Grünmasse gewonnen. Die Erzeugung der Proteine aus frischer Grünmasse erfordert Kampagnenbetrieb von Mai bis Oktober. Durch das Konzept der Lagerung der Grünmasse in Form von Silage soll ein ganzjähriger Betrieb ermöglicht werden. Leider existiert derzeit keine oder kaum Literatur zur Gewinnung von Proteinen aus Silage. Der Industriepartner LACTOPROT AG, einer der führenden Casein-Hersteller, ist daran interessiert gentechnikfreie „Grassaftproteine“ in hochwertigen Spezialfuttermitteln (Milchaustauscher) einzusetzen. In diesem Projektmodul wird nun untersucht inwiefern sich derartige Eiweiße dafür eignen und welche Unterschiede zwischen Grünmasse- und Silageproteinen in Struktur (Proteine, Peptide, freie Aminosäuren), Abtrennbarkeit (Gewinnung) und Verarbeitung bestehen. Ziel ist die Formulierung eines hochwertigen Milchaustauscherfutters bzw. das Aufzeigen möglicher Produktalternativen auf Basis von Silageproteinen.

Methode der Bearbeitung und verwendete Daten

Die Umsetzung des Teilprojekts „Proteine aus Grassäften“ erfolgte in sechs Arbeitspaketen. (I) Rohstoffgewinnung, (II) Analytik, (III) Versuche im Technikums- bzw. Pilotanlagenmaßstab, (IV) Produktspezifikation u. Pilotanlagenkonzipierung, (V) Logistik und (VI) Literaturrecherche und Berichtslegung. Bei diesem Projekt handelte es sich primär um empirische Forschung. In begrenztem Umfang (Saft-Basisanalytik) konnte auf Vorprojekte zurückgegriffen werden. Die vorangestellten Versuche zur Fraktionierung der Grünlandbiomasse und Silagen fanden bereits in der Größenordnung von Pilotanlagen statt. Ultrafiltrationsversuche konnten im bis zu 100 l Maßstab durchgeführt werden. Die begleitende Analytik der unterschiedlichen Phasen wurde einerseits durch das IFA-Tulln, das Institut für Lebensmitteltechnologie der BOKU und der Bundesanstalt für Alpenländische Landwirtschaft durchgeführt. Bevor mit der Arbeit im Labor begonnen wurde, wurde die Literatur recherchiert und mit Experten diskutiert. Die Ergebnisse der Versuche wurden direkt mit den beteiligten Firmen besprochen. Darauf folgte die Überprüfung der vorgeschlagenen Prozesswege auf ihre Wirtschaftlichkeit. Prinzipiell wurden nur solche Verfahrensschritte weitergehend verfolgt, die das Prädikat „Nachhaltige Technologie“ bestmöglich erfüllen.

Kurzfassung – Teil B

Ergebnisse

Grünlandbiomasse mit durchschnittlichen bis hohen Proteingehalten (Klee gras, Bastardraygras, Dauerwiese, Luzerne und Knautgras) wurde für die Versuche der Jahre 2001 und 2002 herangezogen. Grünlandbiomasse wurde entweder erntefrisch oder als, mit Milchsäurebakterien beimpfte, Silage eingesetzt. Alle erzeugten Siloballen wiesen hervorragende Qualität (keine Fehlgärung) auf. Die Abtrennung der Proteine erfolgte nach der Zerkleinerung mittels Schneckenpressen bei einem Durchsatz von bis zu 500 kg FM/h. Die Rohproteinausbeute (CP) aus frischer Grünlandbiomasse betrug rund 20 % in beiden Versuchsjahren, trotz Variation der Versuchsparameter (Doppelpressung). Die CP-Ausbeute aus der Silage konnte gegenüber dem ersten Versuchsjahr um ca. 70 % auf rund 50 % gesteigert werden. Im Rahmen des vorliegenden Projekts konnte schlüssig bewiesen werden, dass nur ein Teil des Rohproteins aus den Säften mit den untersuchten Technologien abtrennbar ist. Zwei wichtige Technologien, die Ultrafiltration und die Koagulation/Zentrifugation mit unterschiedlichen Vor- und Nachteilen wurden für die Abtrennungsversuche herangezogen. Die Ergebnisse zeigten für beide Wege ähnliche Produkte. Allerdings wurde festgestellt, dass lediglich aus frischer Luzerne eine ausreichend hohe Proteinausbeute aus dem Saft erreicht werden kann. Durch eine Diplomarbeit (Povoden 2002) wurde dieser Sachverhalt verifiziert. Es stellte sich heraus, dass zwischen dem gängigen Parameter „Rohprotein“ und dem tatsächlich vorliegenden (abtrennbaren) Protein eine große Kluft herrscht. Besonders der Silagesaft zeigt nur rund 5 bis 10 % des gemessenen Rohproteins als Peptide > 1,2 kD (ca. 15 Aminosäuren). Silagesaftproteine können daher wirtschaftlich sinnvoll mit keiner der beiden Technologien großtechnisch abgetrennt werden. Die Ausbeuten aus Grünem Saft (außer Luzerne) sind mit < 50 % als unbefriedigend einzustufen. Dennoch konnten hochwertige Proteinprodukte, die als Futtermittel geeignet sind, hergestellt werden. Die Trocknung der Konzentrate erfolgte problemlos ohne Zusatzstoffe. Die mikrobiologische Untersuchung der UF-Retentate ist zunächst nicht befriedigend und Verfahren zur Verringerung der Keimbelastung müssten gefunden werden. Aufwendige Aminosäureanalytik zeigte ein sehr positives und vielversprechende Aminosäureprofil. Viele essentielle Aminosäuren sind überdurchschnittlich vertreten. Besonders die Silagesäfte bieten mit sehr hohen Ausbeuten aus den Rohstoffen ein enormes Potenzial an freien Aminosäuren.

Schlussfolgerungen

Die Gewinnung eines Proteinkonzentrats aus Luzerne wäre ein technologisch gangbarer Weg zu einem hochwertigen Produkt. Durch den Ausfall der Silage als Proteinlieferantin ist die Wirtschaftlichkeit nur bedingt gegeben und Teile des innovativen Elements bleiben auf der Strecke. Allerdings zeigt die Zusammensetzung der Silagesäfte (freie Aminosäuren) wesentlich höheres Potenzial, als dies durch ein Futtermittelproteinkonzentrat jemals erreichbar gewesen wäre. Die Abtrennung dieser Aminosäuren benötigt jedoch größeren Technologieentwicklungsaufwand. Eine Analyse der Silage-Aminosäuren nach wirtschaftlichen Gesichtspunkten zeigt, dass großer Spielraum für Investitionen in Trenntechnologien besteht. Durch die strategische Fokussierung der Grünen Bioraffinerie Österreich und dem positiven Ausblick auf den modularen Systemaufbau in den Bereichen Aminosäuren und Milchsäure wird das Projekt einem Leuchtturm im Sinne der Programmlinie "Fabrik der Zukunft" gerecht. Es konnte im Rahmen dieses Projekts ein Know-how Vorsprung gegenüber anderen europäischen Grüne Bioraffinerie Projekten erarbeitet werden. Durch die Weiterführung des Konzepts auf Basis von Silage wird die Technologieführerschaft weiter ausgebaut werden.

Abstract – Part A

The Green Biorefinery – Starting Point and Motivation

One major motivation for the development of Green Biorefineries in Austria is the improvement or conservation of cultural landscapes i.e. grassland pasture. Due to the restructuring of the European agriculture and the possible reduction of the milk quota huge amounts of forage-grassland could be spare within the next years. Official estimations stress that the available grassland-biomass could amount to 500,000 to 1,000,000 tons dry matter a year only in Austria in future. In case of not utilizing the grassland pasture in future the cultural landscape would diminish significantly. The Green Biorefinery is therefore a technological concept to utilize green biomass as an abundant and versatile raw material for industrial products. The basic idea of this concept is to utilize the whole green biomass like grass, clover and alfalfa and generate a variety of products that are either valuable products themselves or form the basis for further production lines. Besides bio-based materials, energy (via biogas generation) may be supplied by this technology. The KORNBERG INSTITUT and JOANNEUM RESEARCH are committed to elaborate a feasible and sustainable concept. The Biorefinery Project consists of three Modules: Module-1: „Utilization of Grass Fiber“, Module-2: „Proteins from Grass Juice“, Module-3: „Lactic Acid from Grass-Silage“. The Green Biorefinery offers not only a very high economic potential but may support sustainable development efforts, especially in rural regions. Green Biorefineries could therefore significantly contribute to a sustainable development of the Bio-Industry sector.

Proteins from Grass Juice – Content and Targets of the Module

The best known product which can be obtained from grassland-biomass are Proteins. Protein fractions from alfalfa could be isolated already in 1773. But the production of Proteins from fresh biomass is only possible from Mai to October each year. Thus through the concept of ensiling the green biomass continuous production can be ensured over the whole year. The project's industry partner LACTOPROT AG is very much interested to replace soy protein with GMO-free Grass Juice Proteins in his specialty feed (Milk replacer). As there is almost no literature available, research focuses on the characteristics and suitability of Silage Proteins in comparison to Green Proteins. Therefore, the structure (Proteins, Peptides, free Amino Acids), the necessary Downstream-Technology and the product upgrading will be compared. However, final target is the formulation of a high quality milk replacer or/and the elaboration of alternative products based on Silage-Proteins.

Methods and Data

The research tasks are based on six work packages. (1) Production of the Raw Material (Grass-silage), (2) Chemical Analysis of all Phases, (3) Experiments in Pilot plant scale, (4) Formulation of possible products and Pilot plant concept elaboration, (5) Logistics and (6) Literature search and Reporting. Scientific work is mainly based on empiric experiments. Previous Projects can deliver basic data in a limited amount. Certain Downstreaming steps are already carried out in pilot plant scale. IFA-Tulln, Dep. of Food Technology of BOKU and Bundesanstalt für Alpenländische Landwirtschaft are in charge of the chemical analysis of the different product streams. Previous to the experiments all steps are discussed with partner experts. All results undergo economic assessment. This procedure is strongly supported by our industry partners. As a principal only sustainable technologies will be further elaborated to avoid “end of the pipe” measurements.

Abstract – Part B

Results

Green Biomass with medium to high protein content (Clover/Grass, Ryegrass, Permanent Pasture, Alfalfa and Cocksfoot) have been harvested for the experiments in the years 2001 and 2002. Both, fresh green matter and silage, inoculated with lactic acid bacteria, underwent cutting and pressing. During this project two different screw presses with a capacity of up to 500 kg FM/h were used to produce Green and Silage Juices rich in crude protein. In case of fresh matter the recovery rate of crude protein into the juice was about 20 % despite the variation of parameters, in both years. The recovery rate of silage proteins could be increase by 70 % to about 50 % in year 2002. However, the experiments show that only part of the Crude Protein (CP) can be separated either by ultra filtration or by coagulation/centrifugation. The project illuminates the different advantages and disadvantages of the two technologies. All protein products produced show similar characteristics. Regarding efficiency protein concentrates can only be produced by the utilization of Alfalfa as raw material. Due to the results of a Master thesis (Povoden 2002), done for this project, evidence was found that there is a gap between the so called “crude protein” and the protein which can be separated. Especially in silage juices only 5 to 10 % of the proteins are peptides > 1.2 kD (~ 15 amino acids) and can be isolated. Thus the yield of silage protein is too low as to be separated by the suggested technologies economically. However, it was possible to yield high quality protein products out of green matter. Drying in a pilot-scale spray dryer could be managed without any major difficulties. Due to the retention time in the ultra filtration system concentrates produced by this technology showed increased contamination by pathogen microorganisms. Thus gentle technologies for sterilization have to be found. All different liquid streams underwent comprehensive chemical analysis. The amino acid profile of the products shows a very high content of essential amino acids. However, Silage Juices offer very high yields and an enormous potential on free amino acids available for separation by innovative technologies.

Conclusions

The production of a protein concentrate from Alfalfa for animal feeding could be realized on basis of this project. As Silage can not be integrated in such a system the feasibility is impaired negatively and the degree of innovation must be considered as low. However, the project shows enormous potential for the separation of amino acids from Grass silage Juices. Although the isolation of amino acids is more demanding by means of down stream processing a feasibility study within this report shows enough financial scope for investments in separation technology. Due to the strategic focus of the Austrian Green Biorefinery and the modular production of amino acids, lactic acids and side products based on Grass silage, the project is considered as a “light house” regarding the program “Fabrik der Zukunft”. The results and developed know-how of this project constitutes a leading position of the Austrian Green Biorefinery within Europe. Subsequent and consequent further development of sustainable and innovative Biorefinery technologies based on Grass silage will result in the extension of the innovation leadership.

ENDBERICHT

Inhaltsverzeichnis

KURZFASSUNG – TEIL A	4
KURZFASSUNG – TEIL B	5
ABSTRACT – PART A	6
ABSTRACT – PART B	7
ENDBERICHT	8
INHALTSVERZEICHNIS	8
1 EINLEITUNG	13
2 VERWENDETE METHODE UND DATEN	15
3 ERGEBNISSE DES PROJEKTS UND SCHLUSSFOLGERUNGEN	17
3.1 <i>Proteine aus Gras- und Silagesäften für Milchaustauscher</i>	17
3.2 <i>Toxische und Antinutritive Substanzen in Gras- bzw. Silageproteinprodukten</i>	18
3.3 <i>Grünlandbiomasse und Grassilage zur Herstellung von Proteinprodukten</i>	19
3.4 <i>Gewinnung von Proteinreichen Säften durch Fraktionierung (Pressung)</i>	21
3.5 <i>Abtrennung der Proteine und Herstellung von Proteinkonzentraten aus Grünen und Silage Presssäften</i>	29
3.6 <i>Vergleich der Proteinausbeuten und der Proteinmessungen nach Lowry und Konsequenzen für die Proteinabtrennung und Produktqualität</i>	34
3.7 <i>Aminosäurespektrum der Proteinkonzentrate und Silagesäfte</i>	37
3.8 <i>Wirtschaftlich Bewertung der Gewinnung eines Proteinkonzentrats aus Luzernesaft plus Nebenprodukte</i>	41
3.8.1 Erlöse durch ein Proteinkonzentrat und der Restströme	41
3.8.2 DCF Ergebnisse und Diskussion	42
4 EMPFEHLUNGEN	46
5 LITERATURVERZEICHNIS	47
6 ABBILDUNGSVERZEICHNIS	50
7 TABELLENVERZEICHNIS	55
ANHANG A BIS K	59
ANHANG A	60
AUSGANGSSITUATION – PROTEINE FÜR MILCHAUSTAUSCHER	60
1 PROTEINE AUS GRAS- UND SILAGESÄFTEN FÜR MILCHAUSTAUSCHER	60
1.1 <i>Proteinkonzentrate als Proteinquelle für ein Milchaustauscher Futter</i>	62
2 TOXISCHE UND ANTINUTRITIVE SUBSTANZEN IN GRAS- BZW. SILAGEPROTEINPRODUKTEN	64
2.1 <i>Toxische und Antinutritiv wirkende Stoffgruppen</i>	66
2.1.1 Cyanogene Verbindungen	66
2.1.2 Glucosinolate (Senfölglycoside)	66
2.1.3 Nitrat, Nitrit und Nitrosamine	66
2.1.4 Oxalate	67

Endbericht „Grüne Bioraffinerie – Gewinnung von Proteinen aus Grassäften“ <i>Kornberg Institut</i>	9
2.1.5 Pflanzliche Östrogene (Isoflavone)	67
2.1.6 Toxische bzw. Antinutritive Aminosäuren	67
2.1.7 Alkaloide	68
2.1.8 Saponine	68
ANHANG B	69
ROHSTOFFE ZUR GEWINNUNG VON PROTEINEN AUS GRAS- UND SILAGESÄFTEN	69
1 GRÜNLANDBIOMASSE UND GRASSILAGE ALS ROHSTOFF ZUR HERSTELLUNG VON PROTEINPRODUKTEN	69
1.1 <i>Bevorzugte Flächen für die GBR-Rohstoffversuche in Feldbach</i>	69
1.2 <i>Versuchsflächen in den Jahren 2001 und 2002</i>	69
ANHANG C	71
GEWINNUNG VON PROTEIN REICHEN SÄFTEN IN DEN JAHREN 2001 UND 2002	71
1 FRAKTIONIERUNG IM JAHR 2001	71
1.1 <i>Vorbehandlung – Häckseln</i>	71
1.2 <i>Versuchsdurchführung Pressversuche 2001</i>	72
1.3 <i>Ergebnisse der Pressungen 2001</i>	73
1.3.1 Proteinbilanzen	74
2 FRAKTIONIERUNG IM JAHR 2002	77
2.1 <i>Versuchsdurchführung Pressversuche 2002</i>	78
2.2 <i>Versuchsergebnisse der Pressungen 2002</i>	80
2.2.1 <i>Pressleistung und Stromverbrauch in Abhängigkeit der Trockenmasse</i>	82
2.3 <i>Rohstoffe für die Weiterverarbeitung – Pressversuche 2002</i>	84
2.4 <i>Abpressgrad Pressversuche 2002</i>	85
2.5 <i>Proteinbilanzen Pressversuche 2002</i>	86
2.6 <i>Pressbilanzen für 1000 kg Trockenmasse Input</i>	89
ANNEX: ANHANG C	91
ANHANG D	100
GEWINNUNG VON PROTEINEN AUS GRÜNEN BZW. SILAGE SÄFTEN JAHRE 2001 UND 2002	100
1 PROTEINE AUS GRÜNLANDBIOMASSE UND SILAGE (BLATTPROTEINE)	100
2 VERWENDETE METHODEN UND DATEN	103
2.1 <i>Proteingewinnung durch Hitzeoagulation und Zentrifugation</i>	104
2.1.1 <i>Theorie zur Hitzeoagulation</i>	104
2.1.2 <i>Versuchsaufbau zur Proteingewinnung durch Hitzeoagulation</i>	106
2.2 <i>Proteingewinnung durch Ultrafiltration</i>	111
2.2.1 <i>Theorie zur Ultrafiltration</i>	111
2.2.2 <i>Versuchsaufbau zur Proteingewinnung durch Ultrafiltration</i>	113
2.2.3 <i>Diafiltration und Mikrofiltration</i>	119
3 ERGEBNISSE DER PROTEINABTRENNUNG MIT HITZEKOAGULATION/ ZENTRIFUGATION UND ULTRAFILTRATION	120
3.1 <i>Proteinausbeuten der Versuche zur Hitzeoagulation/ Zentrifugation und Ultrafiltration von Grünen Säften</i>	121
3.2 <i>Proteinausbeuten der Versuche zur Ultrafiltration von Silage-Säften</i>	124
3.3 <i>Vergleich der Proteinausbeuten und der Proteinmessungen nach Lowry</i>	125
3.4 <i>Detaillergebnisse repräsentativer Ultrafiltrationsversuche des Jahres 2001</i>	126
3.4.1 <i>Ultrafiltration von Grünem Saft, Bastardraygras mit 50 kD Membran</i>	126
3.4.2 <i>Ultrafiltration von Silagesaft aus Kleegrassilage mit einem MWCO von 15 kD</i>	130

Endbericht „Grüne Bioraffinerie – Gewinnung von Proteinen aus Grassäften“ <i>Kornberg Institut</i>	10
<hr/>	
3.4.3 Ultrafiltration von Silagesaft aus Kleegrassilage mit einem MWCO von 1 kD	132
3.5 <i>Detailergebnisse der Ultrafiltrationsversuche unter produktionsnahen Bedingungen des Jahres 2002</i>	135
3.5.1 Ultrafiltration von Grünem Saft aus Bastardraygras, MWCO 15kD	135
3.5.2 Ultrafiltration von Grünem Saft aus Luzerne, MWCO 15kD	137
3.5.3 Ultrafiltration von Silagesaft aus Bastardraygrassilage mit einem MWCO von 1 kD	139
ANHANG E	142
ANALYSE DES PROTEINABBAUS IN GRASSÄFTEN IN ABHÄNGIGKEIT VON TEMPERATUR UND ZEIT HINSICHTLICH EINER OPTIMALEN PROTEINAUSBEUTE	142
(DIPLOMARBEIT VON GÜNTER POVODEN)	142
1 PROTEINABBAU IN PFLANZEN	142
2 ANALYTISCHE METHODEN	144
2.1 <i>Proteinbestimmung nach Lowry</i>	145
2.2 <i>SDS-Page, Elektrophoretische Trennung der Proteine</i>	145
3 ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE	146
3.1 <i>Gesamtproteingehalt in Grassäften nach Lowry</i>	146
3.1.1 Lowry Protein in Grünen Säften	147
3.1.2 Lowry-Proteingehalt der Grünsaft-Retentate aus der Ultrafiltration	148
3.1.3 Lowry-Proteingehalt des Silagesaftes	149
3.2 <i>Bestimmung des Proteinabbaus mittels SDS-PAGE</i>	151
3.2.1 SDS-PAGE Referenzproben, Gel 1	151
3.2.2 Zum Vergleich: Proteingehalt in Luzernen, Gel 6	152
3.2.3 Zusammenfassung der Untersuchungen bezüglich des Proteinabbaus von Proteinen in Grassäften mittels SDS-PAGE	154
3.2.4 Proteinabbau bei Silage-Saft, Gel 5	154
3.3 <i>Zusammenfassung der Ergebnisse in Hinblick auf optimale Lager- und Prozessbedingungen</i>	156
3.4 <i>Zusammenfassung – Vergleich der Ergebnisse mit Literaturdaten</i>	156
ANHANG F	158
WEITERVERARBEITUNG DER PROTEINKONZENTRATE ZU PRODUKTEN FÜR MILCHAUSTAUSCHER FUTTERMITTEL	158
1 HALTBARMACHUNG DURCH TROCKNUNG	158
1.1 <i>Sprühtrocknung</i>	158
1.1.1 Sprühtrocknungsversuch im Februar 2002	158
1.1.2 Sprühtrocknungsversuch Mai (Luzerne) und Juni (Raygras) 2002	159
1.2 <i>Gefriertrocknung</i>	160
2 LÖSLICHKEIT GETROCKNETER PROTEINKONZENTRATE AUS GRASSÄFTEN	160
3 MIKROBIOLOGISCHE ASPEKTE EINES PROTEINKONZENTRATS AUS GRASSÄFTEN	162
3.1 <i>Mikrofiltration zur Entfernung pathogener Keime</i>	163
3.2 <i>Weitere Möglichkeiten zur Entfernung von Mikroorganismen</i>	163
4 EIGNUNG VON PROTEINKONZENTRATEN AUS GRASSÄFTEN FÜR MILCHAUSTAUSCHER AUFGRUND IHRER ZUSAMMENSETZUNG	164
4.1 <i>Exkurs: Aminosäurenprofil in Silagesäften</i>	170

ANHANG G 174

TECHNISCHE AUSLEGUNG EINER ULTRAFILTRATIONSANLAGE FÜR EINE GRÜNE BIORAFFINERIE 174

1	DRUCK, ÜBERSTRÖMGESCHWINDIGKEIT UND RÜCKHALTUNG	174
1.1	<i>Druck als Auslegungsparameter einer Ultrafiltrationsanlage</i>	174
1.2	<i>Überströmgeschwindigkeit</i>	175
1.3	<i>Rückhaltung bei verschiedenen MWCO</i>	177
2	AUSLEGUNG EINER ULTRAFILTRATIONSANLAGE FÜR EINE GRÜNE BIORAFFINERIE	178
2.1	<i>Variante 1 : Saft laut Versuch (Probennummer 02/01)</i>	178
2.1.1	Fraktionierung der Luzerne (B02/08)	179
2.1.2	Bilanz der Ultrafiltration Fall 1 (ohne Herstellung von Biogas) (Luzerne Saft 02/01)	181
2.1.3	Referenzprozess: Hitzekoagulation und Zentrifugation	182
2.2	<i>Variante 2: Saft laut Angaben der Fa. FRANCE LUZERNE</i>	182

ANHANG H 183

AMINOSÄUREN AUS SILAGESÄFTEN ALS WIRTSCHAFTLICHE ALTERNATIVE ZU FUTTERMITTELPROTEINKONZENTRATEN 183

1	AMINOSÄUREN UND AMINOSÄURENGEMISCHE	183
2	GEWINNUNG EINZELNER AMINOSÄUREN	185
2.1	<i>Chemische Synthese</i>	186
2.2	<i>Fermentation</i>	186
2.3	<i>Enzymatische Synthese</i>	187
2.4	<i>Extraktion aus Proteinhydrolysaten und Melasse</i>	187
3	GRASSILAGESAFT ALS QUELLE VON AMINOSÄUREN	188
3.1	<i>Vorteile von Silagesaft gegenüber Melasse und Hydrolysaten</i>	188
3.2	<i>Mögliche technische Umsetzung</i>	188
3.3	<i>Aminosäurenanalytik</i>	192
3.3.1	Methoden und Daten	192
3.3.2	Untersuchungen zu freien Aminosäuren in Ultrafiltrationspermeat	193

ANHANG I 196

WIRTSCHAFTLICHE BEWERTUNG DER GEWINNUNG EINES PROTEINKONZENTRATS AUS LUZERNESAFT 196

1	AUSGANGSLAGE UND DATEN ZUR BERECHNUNG	196
1.1	<i>Erlöse durch ein Proteinkonzentrat und der Restströme</i>	196
1.2	<i>Methodik und Daten</i>	197
1.3	<i>Investitionskosten</i>	198
1.3.1	Fraktionierung (Zerkleinerung, Presse) Fall 1 und Fall 2	198
1.3.2	Fraktionierung (Zerkleinerung, Presse) Fall 3	198
1.3.3	Ultrafiltrationsanlage Fall 1 und Fall 2	199
1.3.4	Ultrafiltrationsanlage Fall 3	199
1.3.5	Koagulation und Zentrifugation Fall 1 und Fall 2	199
1.3.6	Koagulation und Zentrifugation Fall 3	200
1.3.7	Fermentationspromotor Fall 1 und Fall 2	201
1.3.8	Fermentationspromotor Fall 3	201
1.3.9	Grünmehlherstellung Fall 1	202
1.3.10	Biogasanlage Fall 2	202
1.3.11	Biogasanlage Fall 3	203
1.4	<i>Personalkosten</i>	203
1.4.1	Fall 1	203

1.4.2	Fall 2	204
1.4.3	Fall 3	204
2	DISCOUNTED CASH FLOW (DCF)	205
2.1	WACC (<i>Weighted Average Cost of Capital</i>)	205
2.2	Rohstoffkosten	206
2.3	EBIT der Kuppelproduktion	207
2.3.1	EBIT Fraktionierung Fall 1 und Fall 2	207
2.3.2	EBIT Fraktionierung Fall 3	208
2.3.3	EBIT Ultrafiltration Fall 1	208
2.3.4	EBIT Ultrafiltration Fall 2	209
2.3.5	EBIT Ultrafiltration Fall 3	209
2.3.6	EBIT Koagulation und Zentrifugation Fall 1	210
2.3.7	EBIT Koagulation und Zentrifugation Fall 2	210
2.3.8	EBIT Koagulation und Zentrifugation Fall 3	211
2.3.9	EBIT Fermentationspromotor Fall 1	211
2.3.10	EBIT Fermentationspromotor Fall 2	212
2.3.11	EBIT Fermentationspromotor Fall 3	212
2.3.12	EBIT Grünmehlerzeugung Fall 1	213
2.3.13	EBIT Biogaserzeugung Fall 2	213
2.3.14	EBIT Biogaserzeugung Fall 3	214
2.4	DCF Berechnung aus dem Gesamt-EBIT der Kuppelproduktion	214
2.4.1	Wirtschaftlichster DCF Fall 1	215
2.4.2	Wirtschaftlichster DCF Fall 2	217
2.4.3	Wirtschaftlichster DCF Fall 3	219
3	INTERPRETATION DER ERGEBNISSE	223
ANHANG J		226
WIRTSCHAFTLICHE BEWERTUNG DER GEWINNUNG VON AMINOSÄUREN AUS GRASSILAGE		226
1	GRUNDSÄTZLICHE ÖKONOMISCHE ÜBERLEGUNGEN ZUR GEWINNUNG VON AMINOSÄUREN AUS GRASSILAGE	226
2	KOSTENSTRUKTUR DER SILAGESAFTERZEUGUNG UND AMINOSÄURENGEWINNUNG ANHAND DER VERSUCHSERGEBNISSE 2002	230
ANHANG K		232
TABELLEN ZU DEN ANALYTIKERGEBNISSEN - SÄFTE		232

1 Einleitung

Proteine sind hochwertige Bestandteile der Ernährung von Mensch und Tier. Aber auch für technische Anwendungen (z.B. Klebstoffe) und im Pharma- und Kosmetikbereich (z.B. Emulgatoren) sind sie eine wichtige Produktgruppe. Bisher wurde weltweit ausschließlich die Abtrennung von Blattproteinen aus grünen Pflanzen untersucht. Die Ergebnisse zeigen, dass diese Proteine hohes Potenzial besitzen, um in den erwähnten Einsatzgebieten Eingang zu finden. Allerdings haben die bisherigen Methoden den Nachteil ausschließlich auf frische Grünpflanzen zu fokussieren. Dies erfordert kostenintensiven Kampagnenbetrieb und ist daher in den meisten Fällen und speziell als Einproduktsystem nicht wirtschaftlich. Die „Spezialität“ der Österreichischen Grünen Bioraffinerie ist daher die Verarbeitung von Grassilage als Proteinquelle.

Die einzelnen Produktbereiche der Grünen Bioraffinerie ergeben daher ein sehr interessantes Bild für zukünftige Anwendungen in einer einzigen Fabrik, die einen hochverfügbaren und nachhaltig in der Landwirtschaft produzierten Rohstoff (Gras) verarbeitet. Die Fabrik der Zukunft „Grüne Bioraffinerie“ ist daher ein innovativer Prozess, der

- abfall- und emissionsfrei - im Sinne einer Kreislaufwirtschaft - Wertstoffe aus Gras gewinnt (die Grüne Bioraffinerie verwertet alle Restströme in einer Biogasanlage),
- auf Hilfsstoffe in der Produktion weitgehend verzichtet,
- autoenergetisch betrieben werden kann,
- Produkte für den zukünftigen Markt aus dem nachwachsenden Rohstoff „Gras“ (oder allgemein aus grünen Einjahrespflanzen) erzeugt
- und beispielgebend für Verfahren und Verarbeitungsarten von nachwachsenden Rohstoffen ist, weil viele Produkte (multi-product) aus einem Rohstoff bzw. Rohstoffgemisch erst die Wirtschaftlichkeit ermöglichen und eine interdependente Optimierung vollzogen wird.

Dieses Projekt kann auf ein Vorprojekt, das in Bund-Bundesländer Kooperation (BBK) gefördert wurde, zurückgreifen. In diesem Projekt wurde eine prinzipielle wirtschaftliche Modellierung vorgenommen. Außerdem wurden Rohstoffparameter von Wiese und Silage erfasst (Kromus et al. 2002). Darauf aufbauend wird in diesem „Fabrik der Zukunft“ Projekt detaillierte Technologie- und Produktentwicklung vorgenommen.

In diesem Projekt wird demnach untersucht, wie und ob es möglich ist aus Graspresssaft bzw. Silagepresssaft eine Proteinfraction abzutrennen, die als Futtermittel (Ersatz von Sojaschrot als Eiweißlieferant, hochwertiges Proteinkonzentrat in Milchaustauscher) geeignet ist. Neben Saft aus frischer Grünlandbiomasse (inkl. Luzerne) wurde im besonderen Saft aus gepresster Grassilage untersucht. Silagesaft hat gegenüber frischem grünen Saft den Vorteil, dass er unabhängig von Erntezeitpunkten über das ganze Jahr verfügbar ist. Die Untersuchungen zum Silagesaft liefern völlig neue Erkenntnisse, da es bisher keine Applikationen für einen solchen Rohstoff im Bereich "Proteine" gab.

Für die Bearbeitung dieses Projekts wurden folgende Thesen aufgestellt:

- These 1:** Grünlandbiomasse kann gemeinsam mit Grassilage in einer Anlage verarbeitet werden (im Sommer Grünlandbiomasse und Luzerne, im Winter Grassilage).
- These 2:** Die Proteine in der Grassilage können "nativ" gewonnen werden. D.h. es können Silagen hergestellt werden, die geringe proteolytische Aktivität aufweisen.

- These 3:** Mittels Ultrafiltration können Produkte hergestellt werden, die qualitativ höherwertiger sind, als jene die mittels klassischer Methoden (Koagulation und Zentrifugation) erzeugt werden.
- These 4:** Es ist technologisch vorteilhafter Silageproteine durch Ultrafiltration abzutrennen.
- These 5:** Die Ultrafiltration bietet durch die höhere Produktqualität eine erhöhte Wertschöpfung (eventuell durch Proteinfractionierung).
- These 6:** Durch die Ökologisierung der Landwirtschaft ist ein "Premium" Preis für "Gras"-Proteine zu erzielen.
- These 7:** Proteine sind ein wesentliches Produkt der Grünen Bioraffinerie und tragen in besonderem Maße zur Wertschöpfung bei.

Alle diese Thesen wurden wissenschaftlich anhand von empirischen Untersuchungen, Literaturrecherchen und Expertengesprächen untersucht. Die Ergebnisse bzw. die Annahme oder Verwerfung dieser Thesen werden in diesem Bericht ausführlich dargestellt und diskutiert. Eine Strategie für die weitere Vorgehensweise, um zu einer Umsetzung der Grünen Bioraffinerie als "Leuchtturmprojekt" im Rahmen der Initiative "Fabrik der Zukunft" wird entwickelt.

2 Verwendete Methode und Daten

Die Umsetzung des Teilprojekts „Proteine aus Grassäften“ erfolgte in sechs Arbeitspaketen. (I) Rohstoffgewinnung, (II) Analytik, (III) Versuche im Technikums- bzw. Pilotanlagenmaßstab, (IV) Produktspezifikation u. Pilotanlagenkonzipierung, (V) Logistik und (VI) Literaturrecherche und Berichtslegung. Bei diesem Projekt handelte es sich primär um empirische Forschung. In begrenztem Umfang (Rohstoffanalytik) kann auf Vorprojekte zurückgegriffen werden. Bevor mit der Arbeit im Labor begonnen wurde, wurde weitere Literatur recherchiert und mit Experten diskutiert. Die Ergebnisse aus der Versuchstätigkeit wurden direkt mit den beteiligten Firmen besprochen. Darauf folgte die Überprüfung der vorgeschlagenen Prozesswege auf ihre Wirtschaftlichkeit. Prinzipiell wurden nur solche Verfahrensschritte weitergehend verfolgt, die das Prädikat „Nachhaltige Technologie“ bestmöglich erfüllen.

Für die Versuche zur Proteinabtrennung und Aufkonzentrierung wurden folgende Methoden eingesetzt:

1. Ernte von frischer Grünlandbiomasse
2. Silierung von Grünlandbiomasse mit speziellen Starterkulturen
3. Fraktionierung (Zerkleinerung und Pressung) der Rohstoffe und Herstellung von Presssaft und Presskuchen
4. Hitzekoagulation und Zentrifugation
5. Ultrafiltration
6. Trocknung
7. Analytik

Der Großteil der Technologie- und Produktentwicklungsversuche wurde im Pilotanlagenmaßstab bzw. Semipilotanlagenmaßstab durchgeführt. Diese Größenordnung wurde deshalb gewählt, um "Realbedingungen" zu simulieren und annähernd verlässliche Daten für oder gegen eine Weiterverfolgung des vorgeschlagenen Weges zu erhalten. Das Vorschalten von Laborversuchen hätte in diesem Fall zwar den enormen Logistikaufwand reduziert, aber letztlich den Weg zu einer kontinuierlich betriebenen Demonstrationsanlage verlängert.

Es konnten zwei Typen Schneckenpressen getestet werden. Die Pressen boten eine Durchsatzleistung von ca. 200 bis 500 kg FM/h, je nach Trockenmassegehalt des Input-Materials. Die entstandenen proteinreichen Säfte wurden entweder tiefgefroren (Jahr 2001) oder direkt von der Presse (Jahr 2002) weiterverarbeitet.

Die Dampfeinblasungsversuche fanden ausnahmslos in Hartberg bei der Fa. LACTOPROT AG statt. Die darauffolgende Zentrifugation und Gefriertrocknung wurde mit einer Ausnahme am Institut für Biotechnologie an der TU-Graz durchgeführt. Es zeigte sich, dass nur mit einer Becherzentrifuge eine genaue Massenbilanz zur Berechnung der Proteinausbeute möglich ist. Der erste Versuch an der Universität für Bodenkultur in Wien zeigte, dass die Abtrennung von koagulierte Protein aus dem Saft zwar einfach mit kontinuierlich betriebenen Technikumsseparatoren bzw. Zentrifugen sehr gut funktioniert, aber eine exakte Bestimmung des abgetrennten Proteinkonzentrats nicht möglich ist.

Die Ultrafiltrationsversuche wurden mit einer Technikumsanlage der Universität für Bodenkultur durchgeführt. Die eingesetzten keramischen Ultrafiltrationsmembrane (1, 15 und 50 kD) der Fa. TAMI (F/D) sind identisch mit jenen, die in Großanlagen eingesetzt werden. Die dabei gewonnen Erkenntnisse lassen sich daher auf Großanlagen übertragen.

Die erzeugten Proteinkonzentrate wurden sprühgetrocknet oder gefriergetrocknet. Besonderes Augenmerk wurde allerdings auf die Sprühtrocknung in einem Versuchsturm der Fa. LACTOPROT AG gelegt, da diese auch großtechnisch sinnvoll wäre.

Begleitend zu den oben genannten Versuchen wurden verschiedene Methoden zur Analytik angewendet:

- Gefriertrocknung des koagulierten Proteins nach Abtrennung vom Saft durch Zentrifugation
- Stickstoffbestimmung nach Kjeldhal
- Aschebestimmung
- Bestimmung von org. Säuren und monomeren Zuckern mittels HPLC und UV-Detektion.
- Bestimmung der Aminosäuren mittels HPLC und Fluoreszenzdetektion der derivatisierten Aminosäuren
- Bestimmung der Kationen
- Bestimmung der Kationen und Anionen mit Ionenchromatographie
- Löslichkeitsbestimmung von Proteinkonzentraten in pulvriger Form
- Mikrobielle Untersuchungen (Gesamtkeimzahl, etc.)
- Bestimmung der Proteine nach Lowry und mit SDS-PAGE

Die begleitende Analytik der unterschiedlichen Phasen wurde durch das IFA-Tulln, das Institut für Lebensmitteltechnologie der BOKU und der Bundesanstalt für Alpenländische Landwirtschaft durchgeführt.

Chronologisch sind die Versuchsreihen zu den Säften der Saison 2001 und Säften der Saison 2002 zu unterscheiden. Die ersteren Versuche wurden ausschließlich mit Säften, die nach der Pressung eingefroren und gelagert wurden. Für die Proteinabtrennungsversuche wurden diese in 20 Liter Kanistern gefrorenen Säfte über einen Zeitraum von 10 bis 15 Stunden aufgetaut. Im Gegensatz dazu wurden die Säfte von 2002 direkt am Ort der Pressung in Hartberg auch weiterverarbeitet. Verfälschungen durch Änderung der Proteinkonfiguration beim Einfrier- oder Auftauprozess, bzw. Veränderung bei der Lagerung können hier ausgeschlossen werden. Die 2 Koagulations- und 2 Ultrafiltrationsversuche des Jahres 2002 mit Grünem Saft stellen den Abschluss der Proteinabtrennungsversuche dar. Alle Erfahrungen der vorhergehenden Versuche wurden berücksichtigt und flossen in die Wahl der Versuchsparameter und sonstiger handwerklichen und logistischer Abläufe ein.

Für die abschließende Bewertung der Wirtschaftlichkeit wurde die Methode des „Discounted Cashflows“ gewählt. Als Abzinsungszinssatz wurden die „Weighted Average Capital Cost“ berechnet. Für die Berechnungen wurden einerseits Erfahrungswerte, Rechercheergebnisse, Firmenangaben und zum geringeren Teil Annahmen herangezogen.

Die gesamte Versuchsanordnung wurde so gewählt, dass nach Projektende für bestimmte Module der Grünen Bioraffinerie der Aufbau einer Demonstrationsanlage möglich ist.

3 Ergebnisse des Projekts und Schlussfolgerungen

3.1 Proteine aus Gras- und Silagesäften für Milchaustauscher

Der Einsatz von Blattproteinkonzentraten als Eiweiß- bzw. Aminosäurenquelle für ein Kälbermastfuttermittel wäre eine hochwertige und damit wirtschaftlich interessante Nutzung des Grasrohstoffes.

Mastkälber müssen bis zum Schlachten monogastrische Tiere bleiben, wenn die vom Markt geforderte weiße Fleischfarbe erhalten bleiben soll. Dies ist nur möglich, wenn die Kälber während der ganzen Mastperiode mit flüssiger Nahrung (Suspensionen) gefüttert werden. Die Fütterung wird dabei den Verdauungsvorgängen des Säuglingsalters angepasst.

Das Mastfuttermittel Milch ist sehr teuer, weshalb sie, mit Ausnahme der Biestmilch, in der Kälbermast nicht mehr häufig zum Einsatz kommt. Des weiteren ist die Vollmilch bei der über 100 kg hinausgehenden Mast kein ideales Mastfutter mehr. Der größte Teil aller Kälber wird daher mit Milchaustauscherfuttermitteln gemästet. Die Tiere erreichen so höhere Zuwachsraten als kuhmilchernährte Tiere. Die Milchaustauscherfuttermittel sind überwiegend aus Trockenmilchprodukten, die mit Proteinen angereichert werden, zusammengesetzt und durch Verwendung von milchfremden Fetten billiger als Vollmilch. Der Zusatz von Wirk- und Nährstoffen sichert außerdem die vollwertige Ernährung der Kälber (Knaus 1992).

Die Kälbermast wird in zwei Abschnitte eingeteilt:

1. Im ersten Abschnitt liegt das Augenmerk auf der Verträglichkeit. Milcheiweiß kann mit eigenen Enzymen (Chymosin) gespalten werden, andere Eiweißsorten benötigen Pepsin. Fremdfett wird gut vertragen.
2. Im zweiten Abschnitt ist ein hoher Energieinhalt und der Preis wichtig. Fremdproteine können nun mit selbstgebildeten Enzymen abgebaut werden.

Ein vollständiger Ersatz der Trockenmagermilch im Milchaustauscherfutter (MAF) kann nur über geeignete Kombinationen mehrerer Proteinarten, die sich in ihrem Futterwert ergänzen, erzielt werden. Hier kommt vor allem ein auf Soja basierendes Proteinkonzentrat (entfettete Sojaflocken, ausgewaschene Oligosaccheride) zum Einsatz, das mit anderen Proteinquellen (z.B. Kartoffel oder Molke) ergänzt wird. Die GMO-Freiheit von Sojaproteinen kann allerdings nicht mehr garantiert werden.

Problematisch für den Einsatz als Milchaustauscherbestandteil ist der Gehalt an

1. milchfremden Zuckern, besonders Oligosaccheride,
2. Substanzen (z.B.: bestimmte Sojaproteine), die das Immunsystem aktivieren,
3. Enzymhemmende Substanzen (Trypsininhibitoren) und
4. hohe Ascheanteile.

Dies bedeutet für die Entwicklung eines entsprechenden Proteinprodukts auf Basis von Gras- bzw. Silagesäften die weitgehende Vermeidung von milchfremden Zuckern (z.B. Fructose bzw. Fructane) im Produkt und die Abreicherung der Asche aus dem Saft. Inwieweit sonstige toxische oder antinutritive Bestandteile in Grün- bzw. Silageproteinkonzentraten auftreten können wurde durch eine Literaturrecherche erhoben.

3.2 Toxische und Antinutritive Substanzen in Gras- bzw. Silageproteinprodukten

Die Herkunft toxischer bzw. antinutritiver Substanzen oder deren Vorläufer kann drei verschiedenen Quellen zugeordnet werden:

1. der(n) angebauten Futterpflanze(n)
2. Beikräutern („Unkräutern“)
3. sonstigen Quellen (z.B. Dünger)

Die Auswahl der untersuchten Feldpflanzen richtet sich nach der Tatsache, dass in diesem Projekt einerseits gemischte Dauerwiesen mit verschiedenen Grassorten (Fam. Poaceae) mit nicht genau definierten Beikräutern, andererseits Wechselwiesen (1-3 jähriger Feldfutteranbau oder Zwischenfruchtanbau) mit einem definierten Gemisch aus Poaceae und Kleesorten und drittens reines Feldfutter (Feldfutterbau mit einer einzelnen Art; z.B. Luzerne oder Raygras) untersucht wurde.

Für deren Bewertung bezüglich unerwünschter Pflanzeninhaltsstoffe werden Untersuchungen dieser Pflanzen beziehungsweise Untersuchungen dieser Pflanzengruppen oder einzelner Spezies (die mit den oben genannten verwandt sind) dieser Pflanzengruppen herangezogen.

In kommerziellem Saatgut (und auch in zur Gewinnung von Protein geeigneten Arten) für den Feldfutteranbau sind vor allem Vertreter der Lolium-, Trifolium- und Festuca-Arten vertreten. In den extensiven Dauerwiesen gibt es ein breites Spektrum mit Vertretern aller Poaceae.

Bei- und Unkräuter sind vor allem in späteren Nutzungsjahren einer Feldfutterwiese und insbesondere bei Dauerwiesen zu finden. Je intensiver die Wiese genutzt wird (mehr Schnitte, auf die Futterpflanze optimierte Düngung, etc.) umso schwieriger ist der Konkurrenzkampf dieser begleitenden Pflanzengesellschaft. Typische giftige Beikräuter werden bei der Nutzung der Wiese als Weidefläche aber auch bei Heufütterung meist von Kühen erkannt und ausgeslektiert. Trotzdem kommt es immer wieder zu Vergiftungen und Beeinträchtigungen der Milchqualität.

Auf folgende mögliche Inhaltsstoffe wurde die Recherche ausgerichtet:

1. Cyanogene Verbindungen
2. Glucosinolate (Senfölglycoside)
3. Nitrat, Nitrit und Nitrosamine
4. Oxalate
5. Pflanzliche Östrogene (z.B. Isoflavone)
6. Toxische bzw. Antinutritive Aminosäuren
7. Alkaloide
8. Saponine (z.B. in Luzernen)
9. Sonstige unerwünschte Substanzen

Die Analyse, die inklusive der Literaturangaben ausführlich in Anhang A, Kapitel 2 dargestellt ist, weist für mögliche Produkte aus Grünlandbiomasse bzw. Silage keine wesentlichen Gefahren auf. Bei einer typischen Wiese für eine Grüne Bioraffinerie bzw. bei den hergestellten Proteinkonzentraten ist allerdings vor allem auf Nitrat, Nitrit als Vorläuferstoffe für die sehr toxischen Nitrosamine zu achten. Die Belastung durch toxische Substanzen (Alkaloide, etc.) in Begleitkräutern kann durch ein gutes Qualitätsmanagement (Schnittzeiten vor der Ausbildung von Samen der Beikräuter, Düngung optimiert auf die Nutzpflanze, Ampferbekämpfung, etc.) gering gehalten werden.

Zusätzlich kann der statistische Ausreißer, wie die „Belastung einer Wiese mit einem giftigen Beikraut“ durch logistische Maßnahmen während der Verarbeitung in der Grünen Bioraffinerie entschärft (Verdünnung) werden. Die Proteinabtrennung durch Koagulation oder Ultrafiltration führt eher zu einer Abreicherung der obigen toxischen Substanzen als zu einer Anreicherung.

Es können daher alle für eine Grüne Bioraffinerie interessanten Flächen, wie Dauerwiesen, Wechselwiesen (z.B. Klee gras) bzw. Feldfutter(z.B. Bastardraygras oder Luzerne) in die Entwicklung von Technologie und Proteinprodukt einbezogen werden.

3.3 Grünlandbiomasse und Grassilage zur Herstellung von Proteinprodukten

Bei der Auswahl der entsprechenden Flächen konnte auf die Expertise von K. Buchgraber (BAL-Gumpenstein) und die Unterstützung von Landwirten der Region "Steirisches Vulkanland" zurückgegriffen werden. In einem Vorprojekt (Kromus et al. 2002) wurden die Rohstoffe der Saisonen 2000 und 2001 ausführlich diskutiert und die Silageherstellung beschrieben. Für die Versuche der Jahre 2001 und 2002 wurden im Rahmen dieses Projektes folgende Flächen einbezogen:

1. Gumpensteiner Bastard – Raygraswiese – Sämereienwiese (verwendete Abkürzung: **BRG01**) (1. Schnitt nur Ertragsprobe) – 3. Schnitt Silierung
2. Klee graswiese – Feldfutter – ÖAG-Mischung "IM" – 1. und 2. Schnitt Silierung (verwendete Abkürzung **KL G01**) (3. Schnitt nur Ertragsprobe)
3. Dauerwiese-Obersteiermark bei Admont - Buchau (verwendete Abkürzung **DW01 bzw. DWB01**) – 1. Schnitt Silierung
4. Knautgraswiese – Sämereienwiese (verwendete Abkürzung **KG01**)



Abb. 1: Wechselwiese Klee gras (KLG) in Auersbach, Stmk. – Rohstofflieferantin der Jahre 2001 und 2002 (Foto: Joanneum Research)

Silagen der oben beschriebenen Grünlandbiomasse wurden mit Silagestarterkulturen des IFA Tulln beimpft (ca. 10^5 cfu/g FM).

**Tab. 1 Verwendete Silagestarter der
Saison 2001**

IFA-M2	Stammischung des IFA-Tulln
IFA-S3	Stammischung des IFA-Tulln

Im Jahr 2002 wurde als Ergänzung zu den bewährten Flächen (Bastardraygras einer Sämereienwiese und Klee gras Wechselwiese) eine Luzernefläche in Großsteinbach (Bez. Hartberg) einbezogen. Als Starterkultur wurde das kommerziell erhältliche „BonSilage“ (ca. 10^5 cfu/g FM) der Firma LACTOSAN eingesetzt. Die Zusammensetzung der einzelnen Rohstoffe, mit Fokus auf die Proteingewinnung, sind im Annex des Anhangs C zu finden.

Es wurden für die Versuche 2002 sechs Siloballen Klee gras, 1. Schnitt und drei Siloballen Bastardraygras, 1. Schnitt erzeugt. Für die Versuche mit frischer Grünmasse wurden zwei Ballen (ca. 500 bis 600 kg FM) Luzerne, 1. Schnitt, sechs Ballen Klee gras, 2. Schnitt und drei Ballen Bastardraygras, 2. Schnitt erzeugt.

Die Versuchsanordnung der Grünlandversuche war so gewählt, dass ausreichende Mengen hergestellt werden können, um den Großteil der Technologie- und Produktentwicklungsversuche bereits im Pilotanlagenmaßstab bzw. Semipilotanlagenmaßstab durchzuführen. Diese Größenordnung wurde deshalb gewählt, um "Realbedingungen" zu simulieren und annähernd verlässliche Daten für oder gegen eine Weiterverfolgung des vorgeschlagenen Weges zu erhalten. Das Vorschalten von Laborversuchen hätte in diesem Fall zwar den enormen Logistikaufwand reduziert, aber letztlich den Weg zu einer kontinuierlich betriebenen Demonstrationsanlage verlängert.

Daher wurden die Rohstoffe entweder erntefrisch direkt von der Wiese (Grünlandbiomasse) mit einem PKW-Anhänger oder die Silage per Spedition zu den unterschiedlichen Versuchsstandorten (Fa. HERNACH in Grasdorf und Fa. LACTOPROT AG in Hartberg) verbracht. An diesen Standorten wurden 2001 (Fa. HERNACH) und 2002 (Fa. LACTOPROT AG) zunächst die Fraktionierungsversuche durchgeführt.

3.4 Gewinnung von Proteinreichen Säften durch Fraktionierung (Pressung)

Mit der Fa. HERNACH, einem Krenverarbeiter im Süd-Westen des Bezirks Feldbach (Grasdorf) konnte ein im Fraktionieren von Pflanzenrestmassen erfahrener Partner gefunden werden. Alle Pressversuche der Saison 2001 wurden deshalb bei der Fa. HERNACH durchgeführt.

Diese Kooperation war auch deshalb wichtig, da es für die Produktabtrennungsversuche unbedingt notwendig war entsprechende (halbtechnische) Mengen Presssaft zu erzeugen. So konnten pro Pressung bis zu 300 kg Presssaft aus Frischmasse (Grüner Saft) und Silage (Silage Saft) erzeugt werden.

Durch die wichtigen Erfahrungen dieser Pressversuche war es möglich für das Jahr 2002 bereits einen weiteren Optimierungsschritt zu gehen bzw. die Presstechnik ausschreibungsreif vorliegen zu haben.

Es handelt sich bei der Presse der Fa. HERNACH um ein Modell der Fa. PONNDORF Typ 403 BJ 1984 mit 9,3 kW_{el}. Nachdem die Pressversuche generell sehr gut verlaufen sind, wurde der Kontakt zur Fa. PONNDORF intensiviert und Angebote für GBR-Pressen wurden eingeholt.



Abb. 2: Versuchspresse der Fa. HERNACH in Grasdorf (Stmk.) (Foto: Joanneum Research)

Grünlandbiomasse	Grassilage
2100 kg (460 kg TM)	3900 kg (1450 kg TM)
	

- 1100 kg Grüner Saft mit
- ø 6,1 % TM
- 1000 kg Grüner Presskuchen mit
- ø 39 % TM
- ø Abpressgrad: 63 % (Feuchte)
- 1480 kg Silage Saft mit
- ø 16,1 % TM
- 2430 kg Silage Presskuchen mit
- ø 51 % TM
- ø Abpressgrad: 50 % (Feuchte)

Abb. 3: Grüne Bioraffinerie Pressversuche 2001: eingesetzte Massen und Ergebnisse (TM = Trockenmasse)

Es wurden in den Monaten Mai bis September 2001 14 erfolgreiche Pressungen durchgeführt. Die gewonnene Saftmenge betrug pro Pressung zwischen 70 und 300 kg. Der durchschnittliche Abpressgrad bei der frischen Grünlandbiomasse betrug 63 %, der Abpressgrad bei Grassilage 50 %.

Das Inputmaterial Grün war mit einem durchschnittlichen TM Gehalt von 22 % eingebracht worden, die Silage mit 38 %. Der Grüne Presskuchen war mit ca. 39 % TM entsprechend feuchter als der Silagepresskuchen mit durchschnittlich 51 %.

Die gefundene Trockenmasse im Saft im Verhältnis zur Trockenmasse des Ausgangsmaterials war bei Grünmasse und Grassilage mit 15,8 bzw. 15,5 % annähernd gleich. Die Relation TM Saft zu FM Input war aber für Grün nur 3,2 % und für Silage immerhin 5,6 %. Dies bedeutet, dass im Falle der Verarbeitung von Grünmasse ca. 75 % mehr Masse umgesetzt werden muss, um die selbe Menge Trockenmasse im Saft zu erhalten.

Alle Silagepressungen mit einem TM Gehalt des Ausgangsmaterials bis 42 % waren als problemlos einzustufen. Bei trockenerem Material bzw. Material mit hohen Rohfaserwerten wurde dieses Modell einer Schneckenpresse teilweise überbeansprucht. Im Rahmen der Grünen Bioraffinerie Entwicklung kann aber nun davon ausgegangen werden, dass Silage mit einem TM Gehalt von 30 bis 40 % problemlos abgepresst werden kann.

Es konnten Säfte mit hohem Proteingehalt gewonnen werden. Die Ausbeute an Proteinen aus den Rohstoffen war aber nach Einschätzung des Projektteams noch nicht befriedigend.

Abb. 4 und 5 zeigen die Proteinausbeuten für Grünlandbiomasse (Grüne Säfte) und Grassilage (Silagesäfte)

Die Ausbeute an Rohprotein aus Grünlandbiomasse betrug im Mittel 22,1 %, die für Silage 26,9 %. Aufgrund dieser Ergebnisse war ein erstes Indiz dafür gefunden, dass Silageproteine doch in einem höheren Grad, als zunächst erwartet wurde, hydrolysiert vorliegen. Denn aufgrund des höheren Trockenmassegehalts in der Silage wurde aus presstechnischen Gründen mit einer niedrigeren Ausbeute verglichen mit Grünlandbiomasse gerechnet.

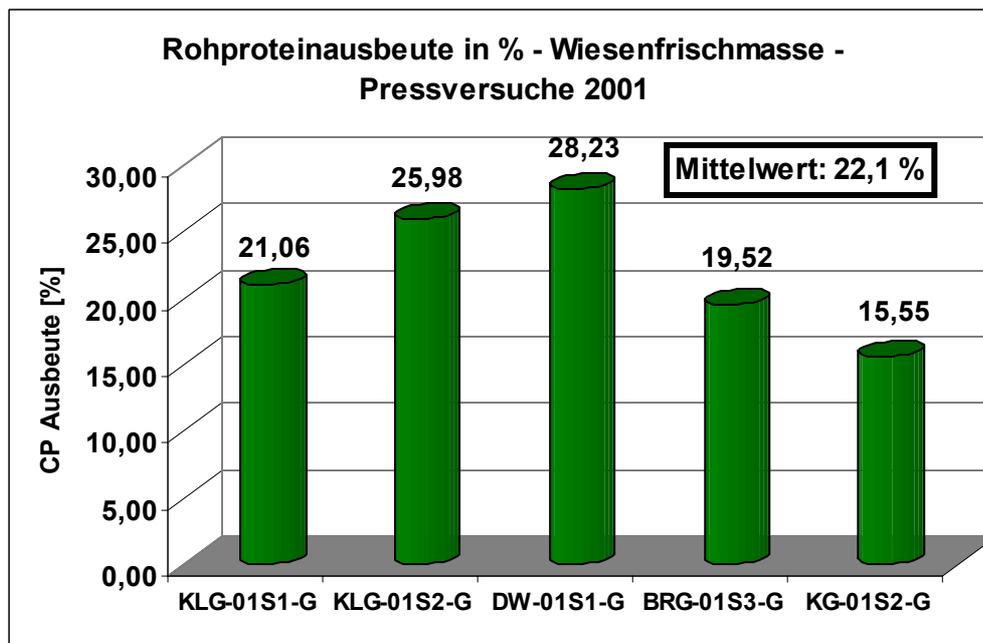


Abb. 4: Rohproteinausbeute (= CP-Ausbeute) in % der abgepressten Grünlandbiomasse – Pressversuche 2001

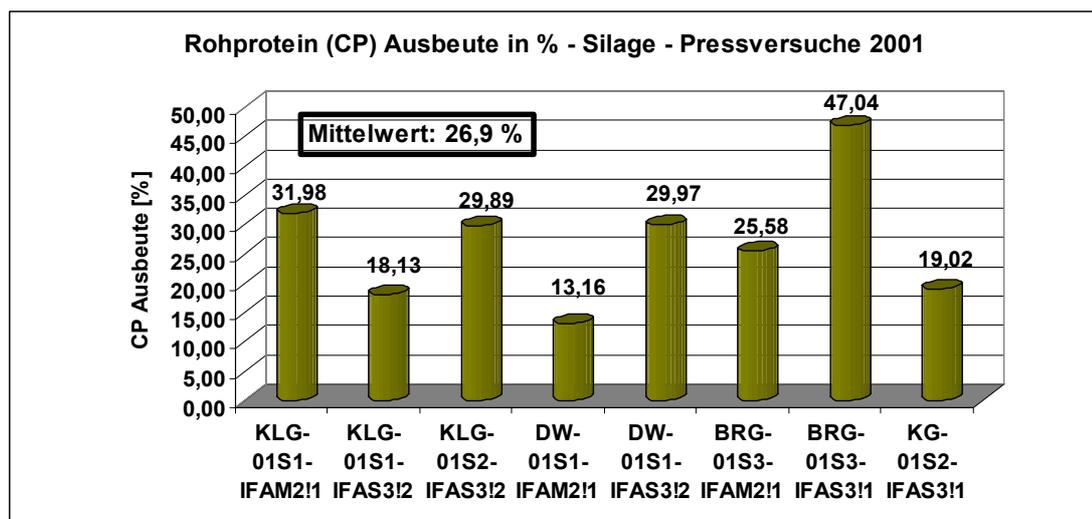


Abb. 5: Rohproteinausbeute (CP-Ausbeute) in % der abgepressten Silagen – Pressversuche 2001

Anhand der Ergebnisse, die durch die Versuchsreihe 2001 erreicht wurden, kann ein für die Bewertung der Wirtschaftlichkeit wichtiges Ablaufschema erstellt werden (Abb. 6).

Die Versuche 2001 wurden als Einfachpressung durchgeführt. Anhand dieser Ergebnisse wurde unter Abwägung der Wirtschaftlichkeit beschlossen die zukünftige Strategie auf Doppelpressung (Versuche 2002) zu erweitern. Dadurch könnte auf einen vorhergehenden Zellaufschluss (Kromus et al. 2002) verzichtet werden.

Alternativ zu dem Schema, das in Abb. 6 gezeigt wird, kann eine weitere Feinzerkleinerung des Rohmaterials auch nach der Entnahme aus dem Silo erfolgen.

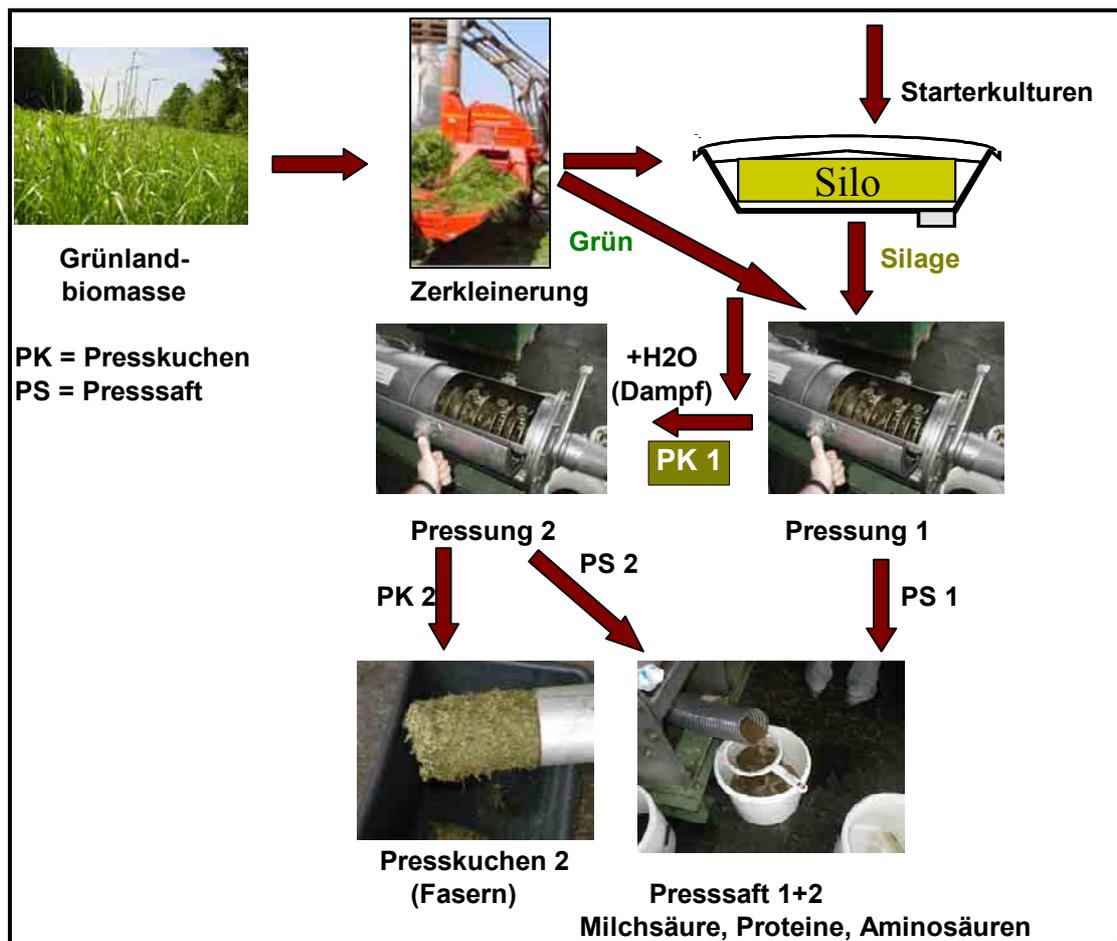


Abb. 6: Schema der Fraktionierung mit Doppelpressung

Im Projekt „Proteine aus Grassäften“ wurden mit der Presskampagne 2002 im wesentlichen drei Ziele verfolgt:

1. Signifikante Steigerung der Protein- bzw. Aminosäureausbeute vom Rohstoff in den Saft gegenüber 2001.
2. Versuche zur Doppelpressung mit teilweise befeuchten bzw. bedampfen des ersten Presskuchens mit dem Ziel die Ausbeute weiter zu steigern.
3. Herstellung von frischem Saft, der ohne Zwischenlagerung (Tiefkühlung) zur Weiterverarbeitung (Koagulation/Zentrifugation bzw. Ultrafiltration) gelangt.

Mit der Mietpresse der Firma Ponndorf, Type PP7 wurden innerhalb von sechs Wochen 5200 kg Grünlandbiomasse und 4650 kg Silage abgepresst (siehe Abb. 7 d)). Die durchschnittliche Trockenmasse betrug 20,6 % für die Grünlandbiomasse und 20,3 % für die Silage.

Alle Siloballen zeichneten sich, trotz geringem Trockenmassenanteil, durch hervorragende Qualität aus (hohe Milchsäurewerte, keine Fehlgärung, hohe Proteingehalte, niedrige Zuckergehalte) (siehe Annex, Anhang C).

Für die Durchsatzleistung der Presse konnte eine lineare Abhängigkeit von der Trockenmasse gefunden werden. Damit besteht auch für den spezifischen Stromverbrauch (kWh/t FM) eine derartige Abhängigkeit. Damit könnte nun die Pressung für die Errichtung einer Pilotanlage ausgeschrieben werden.

Die gefundene Trockenmasse im Saft im Verhältnis zur Trockenmasse des Ausgangsmaterials war bei Grünmasse mit 14,6 % (2001: 15,8 %) ähnlich dem Ergebnis des Jahres 2001, aber für Silage mit 28,0 % (2001: 15,5 %) beträchtlich höher als im Vorjahr. Die Doppelpressung ergab für Grün 7,6 % und für die Silage nur 3,9 %. Dies bedeutet, dass Doppelpressung mit dieser Versuchsanordnung sehr ineffizient ist.



Abb. 7: a) Mähen der Klee graswiese, b) Anlieferung des frischen Klee grasballen, c) Zerkleinern des Klee gras, d) Versuchs presse – Pressversuche 2002 (Fotos: Kornberg Institut)

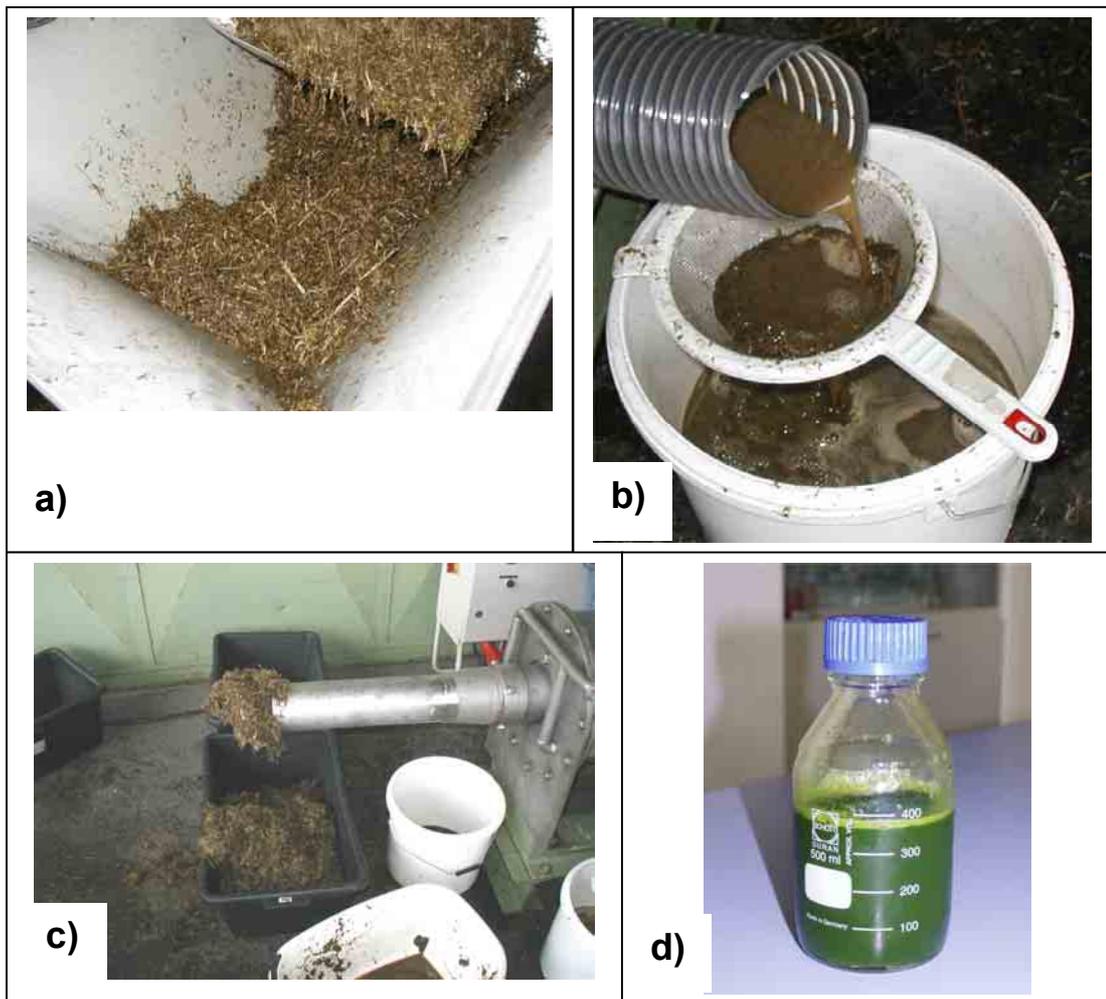


Abb. 8: a) Befüllung der Presse mit Silage, b) Silagepresssaft, c) Silagepresskuchen, d) Luzernepresssaft – Pressversuche 2002
(Fotos: Kornberg Institut)

Die Ausbeute des Rohproteins aus der Silage betrug im Mittel bei Einfachpressung 47,7 %. Dies entspricht einer **Steigerung von 77 %** gegenüber den Versuchen des Jahres 2001. Durch die geänderte Versuchsdurchführung ist man den Ausbeuten der Verfahren VEPEX und PROXAN einen entscheidenden Schritt näher gekommen (vgl. Kromus et al. 2002). Die Werte der Fa. FRANCE LUZERNE (vgl. Kromus et al. 2002) konnten wesentlich übertroffen werden (Abb. 9).

Die Doppelpressung sowohl mit anfeuchten des ersten Presskuchens auf ca. 35 bis 40 % TM als auch ohne anfeuchten des ersten Presskuchens ergibt lediglich eine Ausbeutesteigerung gegenüber der Einfachpressung der Silage von 9 % auf 51,8 % Rohproteinausbeute in den Saft. Diese verbesserte Ausbeute bedingt aber einen ca. 2,5 mal höheren Gesamtstromverbrauch (Abb. 37).

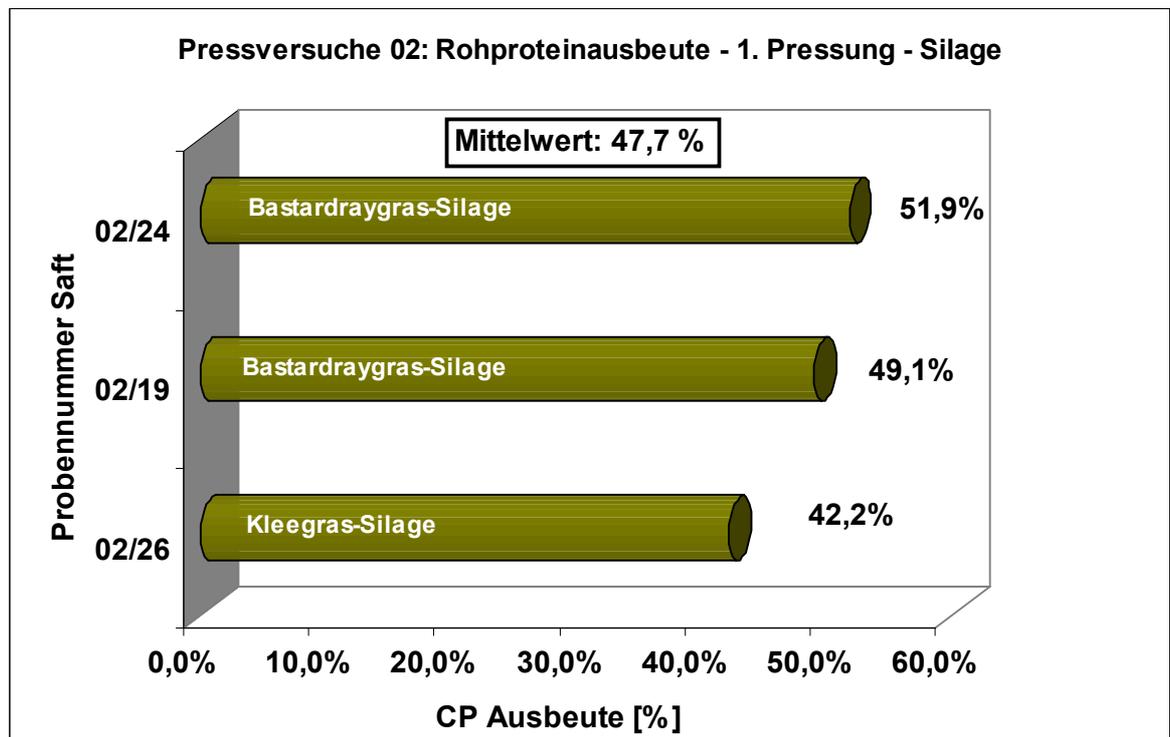


Abb. 9: Pressversuche 2002: Rohproteinausbeute (CP) – 1. Pressung – Silage

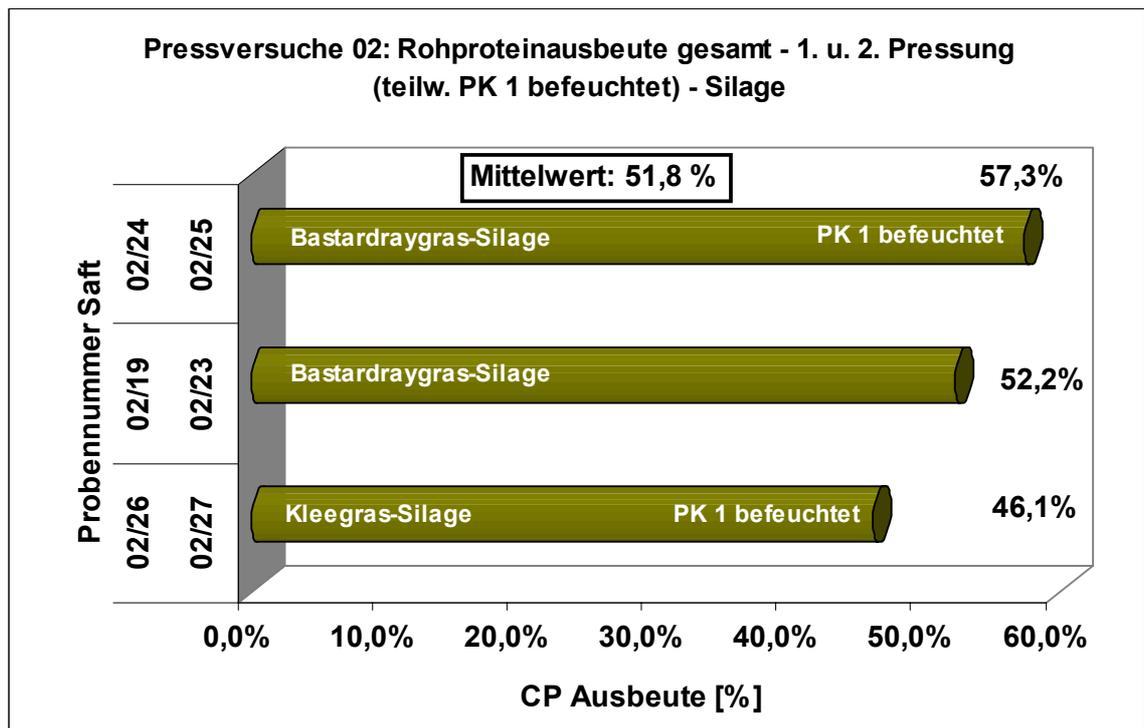


Abb. 10: Pressversuche 2002: Rohproteinausbeute gesamt – 1. u. 2. Pressung (teilw. befeuchtet) – Silage

Im Gegensatz dazu waren die Rohproteinausbeuten der Grünlandbiomasse enttäuschend. Mit durchschnittlich 18,6 % nach der ersten Pressung, lagen sie sogar unter den Ausbeuten des Jahres 2001 (22,1 %). Die Doppelpressung brachte eine durchschnittliche Steigerung um 38 % auf 25,8 %. Trotz beträchtlich größerer Ausbeute durch die Doppelpressung ist dieses Ergebnis ein weiterer Hinweis darauf, dass die Gewinnung von Proteinen bzw. Aminosäuren ausschließlich aus Silage erfolgen sollte (Abb. 40 und Abb. 41). Dieser nun doch sehr beträchtliche Unterschied zwischen Grün und Silage ließ das Projektteam vermuten, dass die Proteincharakteristik in der Silage gegenüber der Grünlandbiomasse doch sehr unterschiedlich ist. Dies sollte durch die weiteren Versuche (Ultrafiltration und Analytik) bestätigt werden.

3.5 **Abtrennung der Proteine und Herstellung von Proteinkonzentraten aus Grünen und Silage Presssäften**

Proteine sind Makromoleküle, aufgebaut aus aneinandergelagerten Aminosäuren. Die zwanzig verschiedenen Aminosäuren bilden einen Code der eine enorm mächtige Anzahl von verschiedenen Proteinen ermöglicht. Bei einer kurzen Kette bis zu 10 Aminosäuren wird in diesem Bericht von Oligopeptiden gesprochen.

Bei einer Kettenlänge von 10 bis 100 Aminosäuren spricht man von Polypeptiden. Ab einer Kettenlänge von 100 Aminosäuren (rund 11kD) sind in diesem Bericht Proteine angesprochen (kD = kilo Dalton).

Die Abtrennungstechnologie, die zur Gewinnung von Proteinkonzentraten herangezogen wurde kann in zwei Gruppen gegliedert werden:

1. Ultrafiltration mit Keramikmembranen mit unterschiedlicher Trenngrenze (1 kD bis 50 kD)
2. Hitzekoagulation durch Dampfdirjektion und Zentrifugation

Daran anschließend wurden die Produkte entweder gefriergetrocknet oder sprühgetrocknet und auf ihre Eigenschaften und auf die Erfüllung von Qualitätskriterien untersucht.

Primäres Zielprodukt ist ein Proteinkonzentrat mit einem Rohproteinanteil von ca. 50 %, verwendbar als Futtermittel in Konkurrenz zu Sojaprodukten und Tiermehl. Das Produkt sollte als Proteinquelle wertvoller als Sojaschrot (ca. 45 % Rohprotein) und von der Herkunft unbedenklicher als Sojaisolate (Verdacht auf genmanipulierte Ausgangsstoffe) und Tiermehl (BSE) sein.



Abb. 11: Herstellung eines Proteinkonzentrats aus Luzerne durch a) Hitzekoagulation, b) Zentrifugation, c) Trennung des Überstandes vom Pellet und c) gefrier-trocknen – Versuche 2002 (Fotos: Kornberg Institut)

Beim Vergleich der Ausbeuten wird jeweils auf ein Kilogramm Trockenmasse im Saft Bezug genommen.

Tab. 2 Proteinausbeuten aus Grünem Saft, Trenntechnologie Hitzeokoagulation und Zentrifugation

	Kleegras 2.Schnitt, 2001	Dauerwiese 1.Schnitt, 2001	Luzerne 1.Schnitt 2002	Bastard- raygras 2.Schnitt 2002	Referenz: Fa. France Luzerne (F)
Koagulationstemperatur	90	90	90	85	85
Probennummern	01/14 01/15 01/16 01/27 01/26	01/09 01/11	02/06 (02/01) 02/07	02/13 (02/08) 02/14	
Saftmenge [kg]	18,97	13,24	13,47	15,50	10,00
Eingangstrockenmasse [kg]	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Rohprotein [g]	237,33	136,14	290,87	243,30	275,00
AA [g]	152,05	105,49	199,15	120,71	-
Konzentratmenge [kg]	0,20	0,12	0,42	0,27	0,31
Konzentrattrockenmasse [g]	183,44	113,80	377,02	237,95	275,00
Rohprotein [g]	93,62	36,28	151,21	110,12	143,00
AA [g]	96,55	39,27	145,45	113,26	-
Ausbeute in % d. TM	18 %	11 %	38 %	24 %	28 %
Ausbeute Rohprotein in %	39 %	27 %	52 %	45 %	52 %
Ausbeute Aminosäure	64 %	37 %	73 %	94 %	-
Rohprotein % der TM	51 %	32 %	40 %	46 %	52 %

Tab. 2 zeigt, dass durch Hitzeokoagulation und anschließende Zentrifugation bei Luzerne ähnliche Proteinausbeuten aus dem Saft (nicht aus dem ursprünglichen Rohstoff) erreicht werden konnten, wie dies der Fall bei dem Referenzprodukt der Fa. FRANCE LUZERNE ist. Diese Proteinausbeute ist vergleichbar mit dem gefundenen Lowry-Protein (Anhang E). Die Werte in Tabelle 2 zeigen aber auch sehr deutlich, dass doch ein großer Unterschied zwischen den Rohstoffen Luzerne und übriger Grünlandbiomasse besteht. Es muss daher angenommen werden, dass ein Proteinkonzentrat nur aus Luzerne mit ausreichenden Ausbeuten gewonnen werden kann. Diese Ergebnisse decken sich mit den Erkenntnissen der Ultrafiltrationsversuche. Es gelang nicht diese Technologie für Silagesäfte erfolgreich einzusetzen. Es war kein koagulierbares Protein mehr vorhanden.

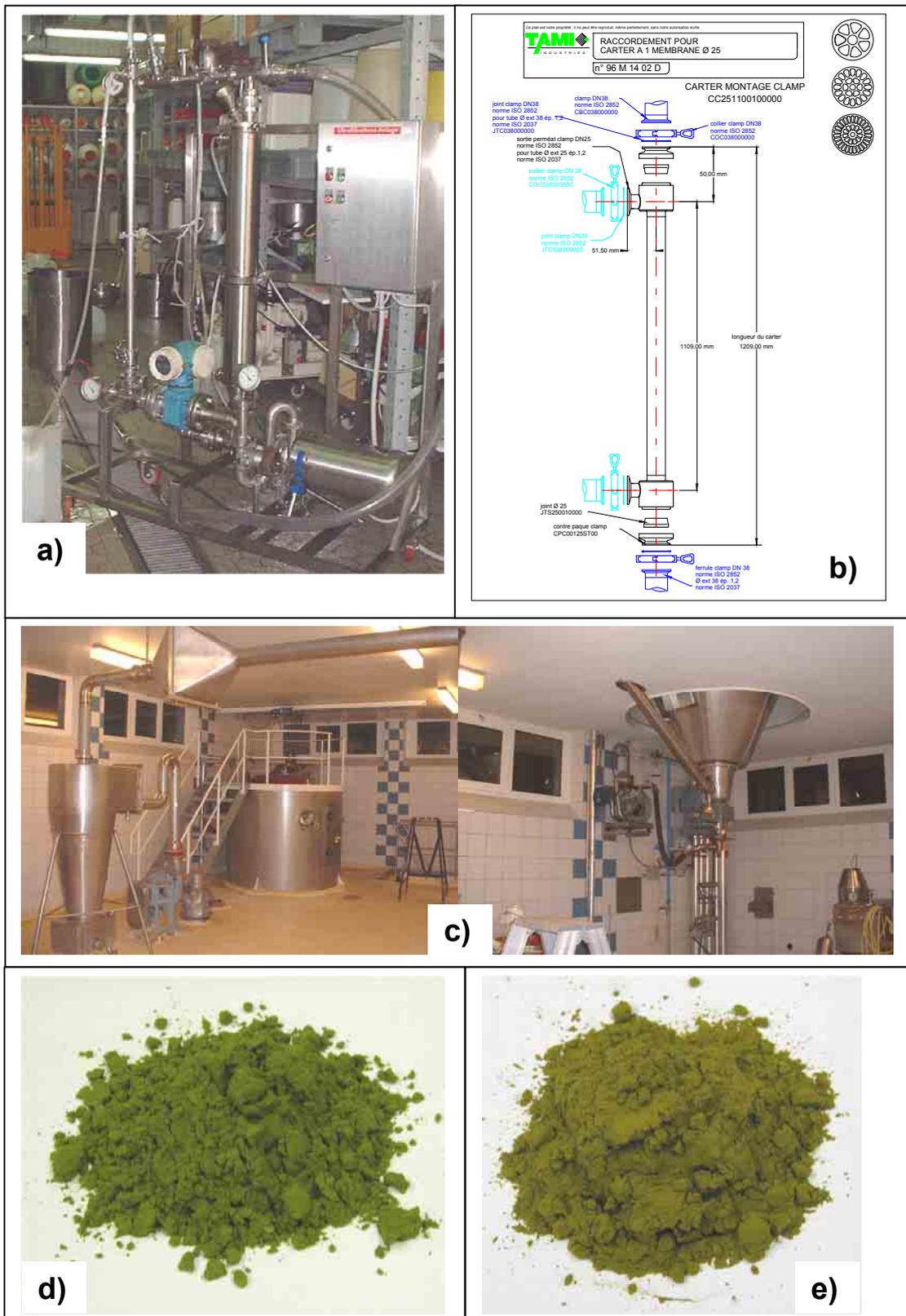


Abb. 12: Gewinnung von Proteinkonzentraten aus Grünen und Silage Säften durch a) Ultrafiltration mit b) TAMI Membranen, c) Trocknung im Versuchssprühturm d. Fa. LACTOPROT AG mit d) Luzerne und e) Silageprodukten (Fotos: Kornberg Institut)

**Tab. 3 Proteinausbeuten aus Grünem Saft,
Trenntechnologie Ultrafiltration MWCO 15
kD**

Feed	Kleegras 2.Schnitt 01	Dauerwiese 1.Schnitt 01	Bastard- raygras 3.Schnitt 01	Luzerne 1.Schnitt 02	Bastard- raygras 2.Schnitt 02
Cut Off [kD]	15	15	15	15	15
Probennummern	01/14 01/15 01/16 01/21 01/22	01/10 01/12 01/13	01/30 01/31 01/32	02/01 02/03 02/04 02/05	02/08 02/09 02/10 (02/11)
Saftmenge [kg]	18,97	13,50	12,71	14,60	16,21
Eingangstroeknenmasse [kg]	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Rohprotein [g]	237,33	122,94	223,28	283,97	170,34
AA [g]	152,05	103,27	182,62	199,15	120,71
Konzentratmenge [kg]	3,22	2,59	2,51	2,27	2,28
Konzentratstroeknenmasse [g]	332,60	484,16	352,35	329,13	355,55
Rohprotein [g]	128,89	80,42	117,28	150,81	101,17
AA [g]	120,15	75,98	116,90	136,66	92,12
Ausbeute in % d. TM	33%	48%	35%	33%	36%
Ausbeute Rohprotein in %	54%	65%	53%	53%	59%
Ausbeute Aminosäure in %	79%	74%	64%	69%	76%
CP in % der TM	39 %	17 %	33 %	46 %	28 %
UF-Faktor	5,89	5,22	5,06	6,43	7,11

Wenn man die Ergebnisse (Tab. 2 und Tab. 3) vergleicht erkennt man, dass beide Technologien ein ähnliches Ergebnis liefern. Die Ursache liegt an der Trenneigenschaft der Proteine. Hitzeoagulation und Ultrafiltration von Proteinen funktioniert nur, wenn das Rohprotein (Summe der organischen Stickstoffverbindungen) als makromolekulares Protein vorliegt. Bei Grünem Grassaft liegt rund 30 bis 45 % des Rohproteins als makromolekulares Protein vor. Bei der Luzerne sind dies immerhin ca. 69 %. Beide Trenntechnologien trennen nur diesen Anteil ab. Damit ist auch klar, dass für die Erzeugung eines Proteinkonzentrats, wie in den Thesen postuliert, ausschließlich Luzernepresssaft herangezogen werden sollte.

Generell zeigen die Versuche zur Ultrafiltration aber ein enttäuschendes Ergebnis. Es wurde festgestellt, dass eine Fraktionierung (Herstellung von reinem Rubisco) auch aus Grünen Säften mittels Ultrafiltration nicht möglich ist. Des weiteren wurde festgestellt, dass außer bei Luzerne weitere, nicht identifizierte Substanzen, eventuell Fructane, rückgehalten werden. Dies ist deshalb erstaunlich, da dies bei diesem Cut-off laut der geltenden Meinung nicht der Fall hätte sein dürfen. Es wurde versucht durch gängige Untersuchungsmethoden (Hydrolyse und HPLC) einen Hinweis zu erhalten, ob es sich möglicherweise um Fructane handeln könnte. Allerdings konnte diese Annahme im Rahmen dieses Projekts nicht verifiziert werden, da dafür weitere aufwendige Spezialanalytik nötig gewesen wäre.

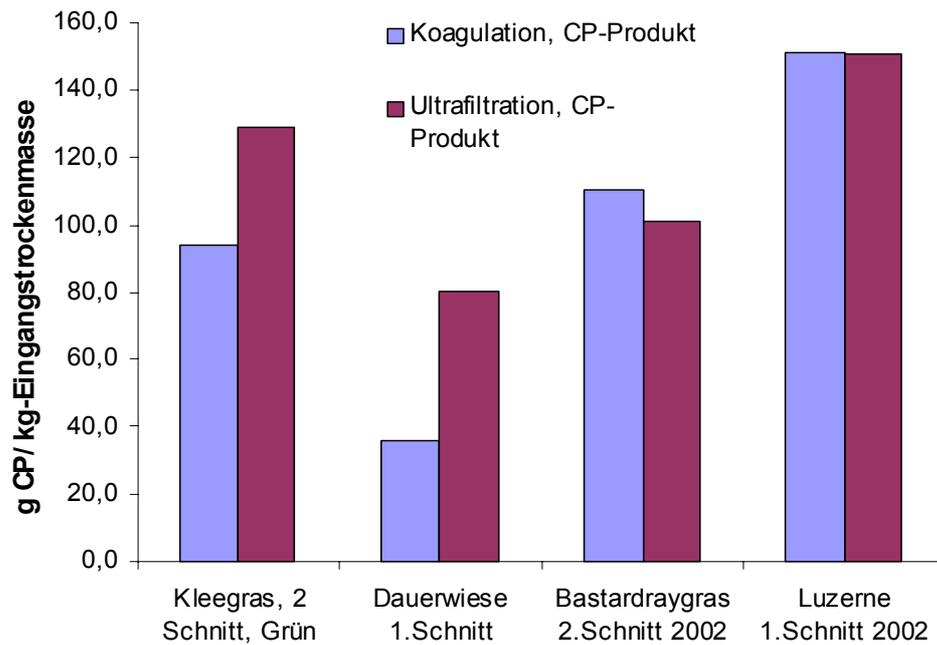


Abb. 13: Direkter Vergleich der Proteingewinnung aus Grünem Saft durch Ultrafiltration und Hitze-koagulation/Zentrifugation

Die Versuche zur Abtrennung von Proteinen aus Grassilagepresssäften mittels Ultrafiltration müssen als nicht zielführend bewertet werden (Tab. 4). Damit steht nun eindeutig fest, dass die Silageproteine durchgängig für alle Versuchsjahre hydrolysiert als Aminosäuren vorliegen. Diese Erkenntnis ist wohl das wichtigste Ergebnis des Projekts, da es bisher keine definitiven wissenschaftlichen Publikationen gab, die so drastisch darauf hinweisen. Die Abweichung (Abb. 13) bei der Dauerwiese, 1. Schnitt konnte nicht näher verifiziert werden und gilt als Ausreißer.

Tab. 4 Protein und Aminosäureausbeuten durch Ultrafiltration von Silagesäften

	Bastardraygras 1.Schnitt 02	Kleegras 1.Schnitt 01	Kleegras 1.Schnitt 01
Cut Off [kD]	1	15	1
Probennummern	02/19, 02/20, 02/21, 02/22	01/38, 01/43, 01/40	01/44, 01/45, 01/46, 01/52,
Saftmenge [kg]	11,67	5,22	6,56
Eingangstroeknmasse [kg]	1	1	1
Rohprotein [g]	336	220	221
AA [g]	292	165	144
Konzentratmenge [kg]	1,03	0,87	2,09
Konzentratstroeknmasse [g]	156	209	405
Rohprotein [g]	49	46	88
AA, [g]	40	31	84
Ausbeute TM	16 %	21 %	41 %
Ausbeute Rohprotein	14 %	21 %	40 %
Ausbeute Aminosäure	14 %	19 %	58 %
CP in der TM	31 %	22 %	22 %
UF-Faktor	11,29	6,01	3,13

In der letzten Zeile der Tabelle 4 ist der UF-Faktor (Feed zu Retentat) angegeben. Bei dem Versuch mit Kleegras 1. Schnitt 01 (Feed 01/44) ist die hohe Roproteinausbeute lediglich auf den niedrigen UF-Faktor zurückzuführen. Die Rückhaltung war bei diesem Versuch durchaus ähnlich jenen der beiden anderen Versuche. Der Versuch 2002 (Feed 01/19) wurde bereits unter Semi-Pilotanlagenbedingungen durchgeführt.

Die Versuche wurden durch eine Diplomarbeit begleitet, die die Erkenntnisse aus den Versuchen einerseits analytisch verifizieren sollte (Lowry-Protein) und andererseits die notwendigen Lager- und Prozessbedingungen (Proteinabbau abhängig von Zeit und Temperatur) abklären sollte.

Die Ultrafiltrationsversuche, besonders jene des Jahres 2002, wurden gleichzeitig genutzt, um die Auslegungsparameter für eine Demonstrations- bzw. Full-scale Anlage zu ermitteln. Die Ergebnisse werden allerdings aus Platzgründen lediglich im Anhang G dargestellt, sind aber in die Darstellung der wirtschaftlichen Berechnungen eingeflossen.

3.6 Vergleich der Proteinausbeuten und der Proteinmessungen nach Lowry und Konsequenzen für die Proteinabtrennung und Produktqualität

Jener Anteil am Rohprotein (CP) der mit beiden Trenntechnologien abtrennbar ist, lässt sich durch die Proteinbestimmung nach Lowry quantifizieren. Diese Bestimmungsmethode wurde im Rahmen einer Diplomarbeit für das Projekt ausgearbeitet. Sie ist eine praxisnahe (durch durchschnittliche Laborkräfte ausführbare) und kostengünstige Methode zur Bestimmung der durch die untersuchten Technologien abtrennbaren Proteine bzw. den Hydrolysegrad der Silageproteine. Damit können in Zukunft sehr einfach die Rohstoffe bewertet werden und ein Beitrag zum Aufbau eines Qualitätsmanagementsystems für eine Grüne Bioraffinerie wurde geleistet (Povoden 2002).

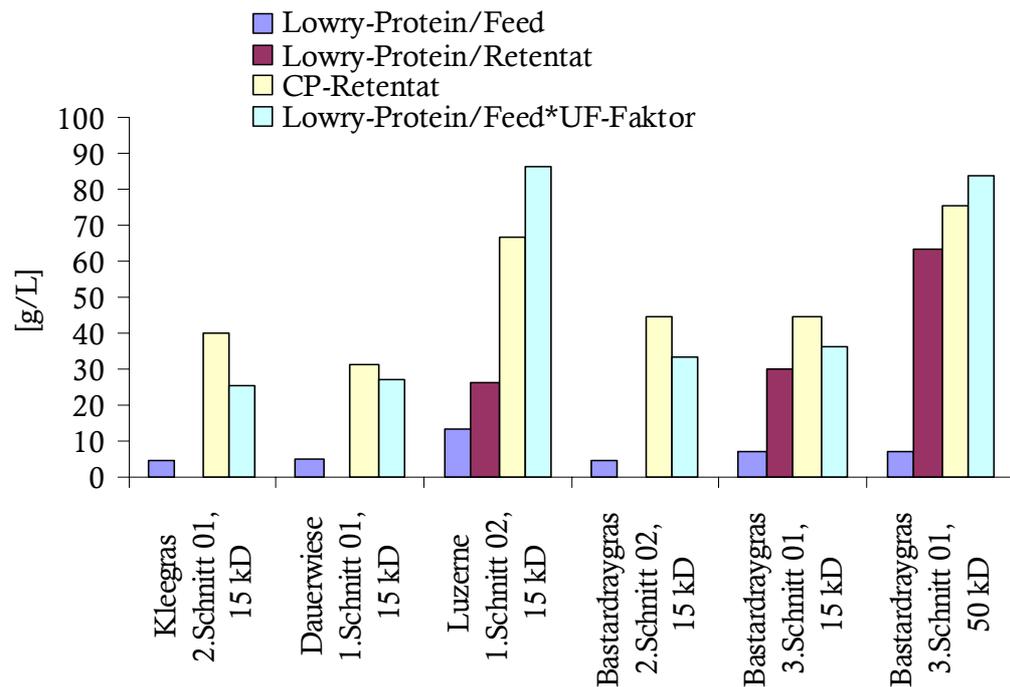


Abb. 14: Vergleich der theoretischen Proteinausbeute (dargestellt als Lowry Protein im Feed mal UF Faktor) mit tatsächlicher Proteinausbeute (CP) (Rohprotein im Retentat)

Im obigen Balkendiagramm sind pro Ultrafiltrationsdurchgang jeweils der Gehalt an abtrennbarem Protein (Lowry-Protein), die gemessene Lowryproteinmenge im Retentat, die Rohproteinmenge im Retentat und die theoretische Ausbeute, wenn das gesamte Lowry-Protein abgetrennt wird dargestellt.

Ein Grund für die Differenz zwischen Lowryprotein im Retentat und der theoretischen Ausbeute ist der enzymatische Proteinabbau im frischen Grünen Saft. Besonders bei Luzerne scheint dieser Effekt sehr stark ausgeprägt zu sein. Das Verhältnis zwischen Rohprotein und theoretischer Ausbeute kann sich zu Gunsten des gemessenen Rohproteinanteils verschieben, da bei der Ultrafiltration immer eine Restmenge der ursprünglichen Ausgangslösung im Retentat verbleibt.

Der zweite Teil der Diplomarbeit sollte sich demnach mit dem Abbau der Proteine im Grünen Presssaft bzw. während der Ultrafiltration befassen. Die Auswertung von Versuchen mit SDS-PAGE zeigen hier eindeutige Ergebnisse (Abb. 15).

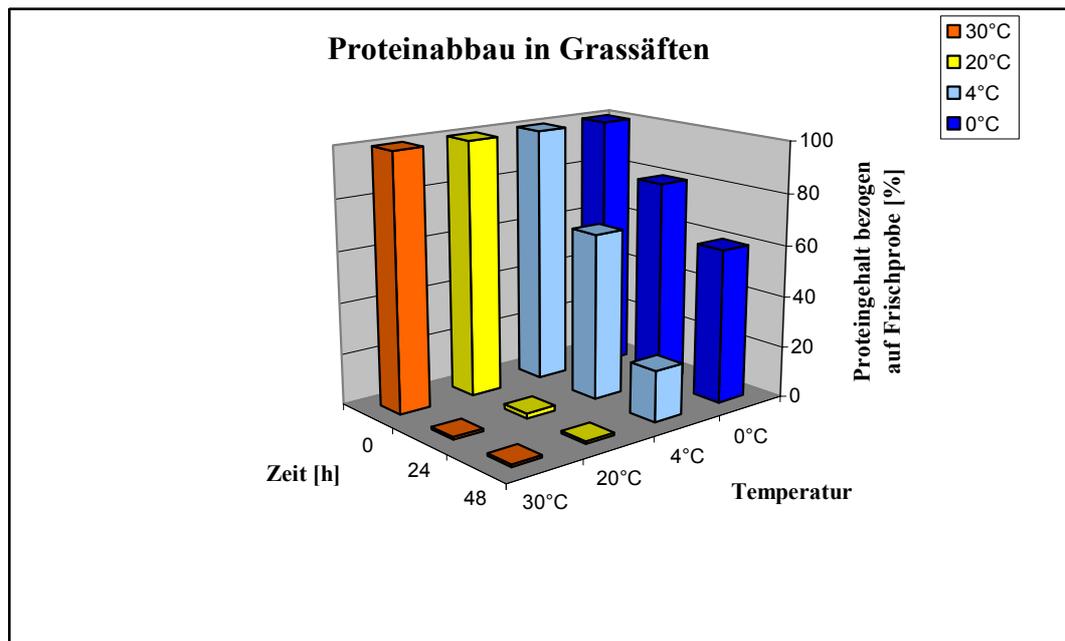


Abb. 15: Zusammenfassung – Proteinabbau in Grassäften mittels SDS-Page nach den Parametern Zeit und Temperatur (Povoden 2002)

Abb. 15 zeigt, dass die Ultrafiltration bei höchstens 10° C mit möglichst kurzer durchschnittlicher Verweilzeit der Grünen Säfte betrieben werden sollte. Um dennoch zu einem interessanten Proteinprodukt zu gelangen (UF-Faktor 8) werden zwei Kreisläufe, die parallel angeordnet sind, für eine etwaige Full-scal Anlage geplant.

Durch die Einschränkungen der Verweilzeiten im UF-System und den gemessenen Flux von ca. 25 l/h*m² können zwar Produkte mit interessantem Aminosäurespektrum, aber doch relativ geringer Aufkonzentrierung (ca. 49 % Rohprotein i. d. TM des Produkts) erreicht werden. Dies führt allerdings auch zu hohen Restzucker- und Restaschewerten in den grünen Konzentraten. Damit ist die Nutzung der Proteinkonzentrate für Milchaustauscherfutter nicht ohne größer angelegte Fütterungsversuche bestätigbar. Leider entsteht durch die Ultrafiltration auch erhöhte Keimbelastung im Produkt (Anhang F). Um jedoch die durch die Ultrafiltration gegenüber der Koagulation/Zentrifugation höhere Löslichkeit des Produkts zu erhalten kann weder die Pasteurisation noch die Sterilisation die Methode der Wahl sein. Die Löslichkeit wurde mittels Standardmethoden durch das Labor der Fa. LACTOPROT AG untersucht und handelsüblichen Milchaustauschfuttermitteln gegenübergestellt (Anhang F). Hier müssten im Rahmen einer Demonstrationsanlage, die auch entsprechende Mengen für Fütterungsversuche liefert, Versuche mit Pascalisierung oder UV-Entkeimung durchgeführt werden. Bezüglich der Löslichkeit müssten fertige Produktmischungen erzeugt werden, um endgültige Aussagen treffen zu können.

3.7 Aminosäurespektrum der Proteinkonzentrate und Silagesäfte

Die Qualität von Proteinkonzentraten wird wesentlich durch ihr Aminosäurenprofil bestimmt. Sowohl die Proteinkonzentrate aus grünem Saft als auch die Silagesäfte bieten hier ein sehr attraktives Spektrum.

Da es sich um sehr aufwendige Analytik handelt wurden generell nur 16 Aminosäuren bestimmt. Nur von ausgewählten Proben konnten aufgrund des finanziellen Aufwandes auch die restlichen proteinogenen Aminosäuren bestimmt werden (Abb. 16 und 17). Aus den gewonnenen Daten kann sehr gut extrapoliert werden. Die Menge der Aminosäuren in den Produkten aus grünem Saft entspricht in etwa dem Rohprotein. Im Gegensatz zum Ausgangssaft, wo nur ca. 50 bis 70 % des gemessenen Rohproteins auch Aminosäuren sind, wird dieses Verhältnis bei dem Konzentrierungsvorgang auf ca. 100 % verschoben. D.h. diese Ergebnisse sind wiederum kongruent mit den Lowry Messungen (vgl. Povoden 2002).

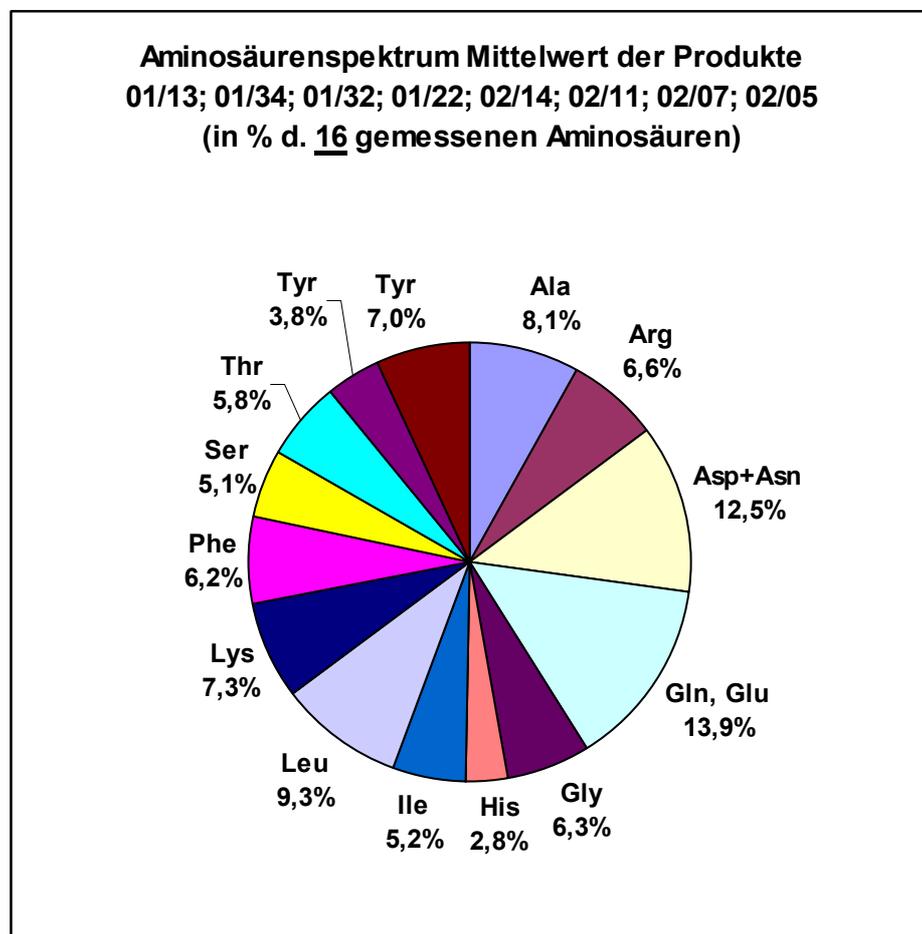


Abb. 16: Aminosäurespektrum Mittelwert der Produkte 01/13; 01/34; 01/22; 02/14; 02/11; 02/07; 02/05 (in % d. 16 gemessenen Aminosäuren)

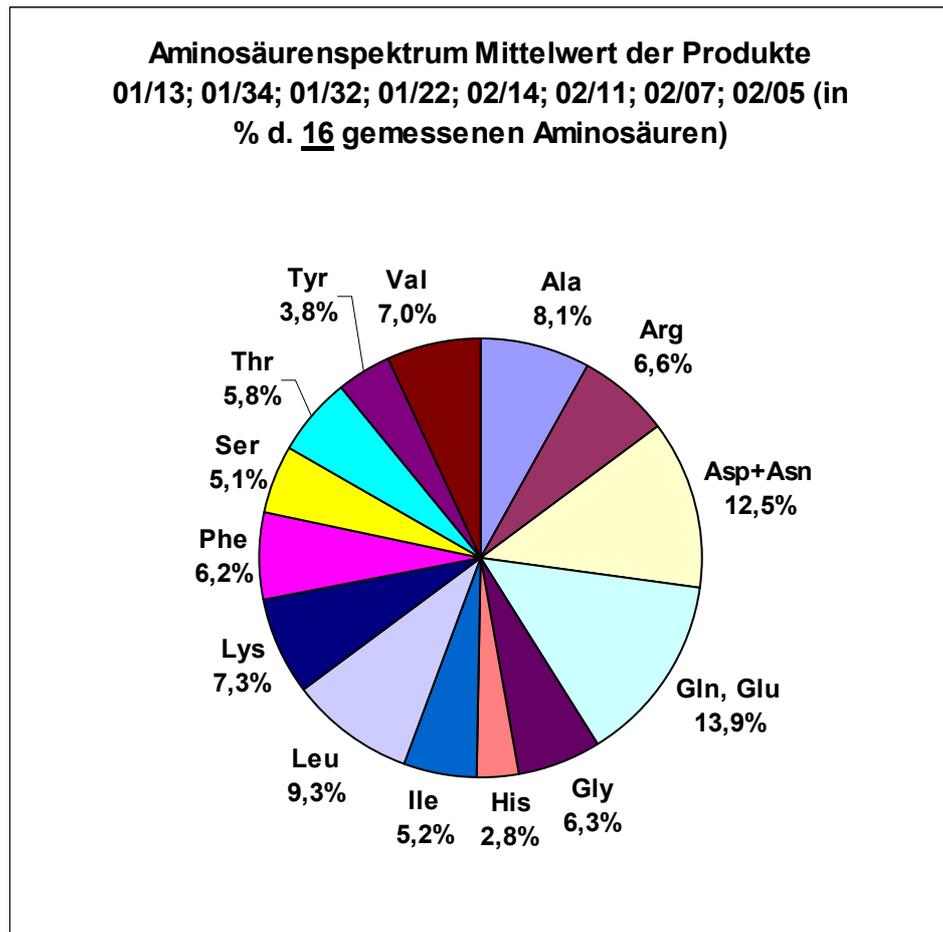


Abb. 17: Aminosäurespektrum Mittelwert der Produkte 01/11; 01/28; 01/26
(in % d. 16 gemessenen Aminosäuren)

Der Vergleich mit Sojaprotein und Kartoffelprotein zeigt, dass die Produkte ein sehr hochwertiges Aminosäurespektrum aufweisen (Abb. 18). Blattprotein ist besonders reich an den essentiellen Aminosäuren Leucin, Isoleucin, Valin, Threonin und Tryptophan und könnte damit einen ähnlich positiven Effekt wie das hochwertige Kartoffeleiweiß erzielen.

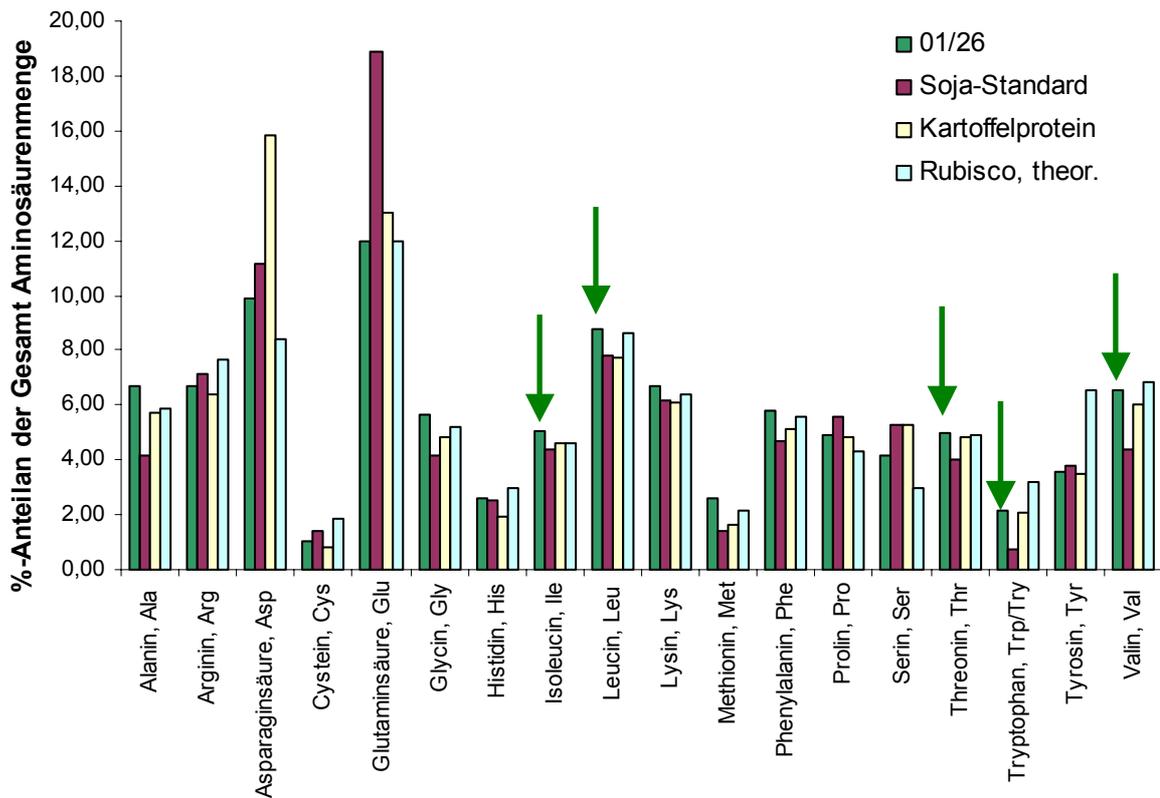


Abb. 18: Aminosäureprofil eines Blattproteinkonzentrats 01/26 im Vergleich zu Soja und Kartoffelprotein und dem Spektrum von Rubisco

Die Ergebnisse des Projekts führen zwar zu dem Ergebnis, dass aus Silagesaft kein Proteinkonzentrat mit den vorgeschlagenen Technologien gewonnen werden kann, allerdings zeigen die Säfte ein wertvolles Aminosäureprofil, wobei die meisten Aminosäuren als freie Aminosäuren vorliegen (vgl. Anhang H). Gezeigt werden hier Säfte aus den optimalsten Silagen der Jahre 2001 und 2002 (Abb. 19).

Im Gegensatz zum Grünen Presssaft zeigt der Silagesaft, dass das gemessene Rohprotein annähernd deckungsgleich mit den gemessenen Aminosäuren ist (ca. 90 %). Als freie Aminosäuren wurden in Saft 01/63 (Bastardraygras, 3. Schnitt, Jahr 2001) 76 % der gesamten (hydrolysierten) Aminosäuren gemessen.

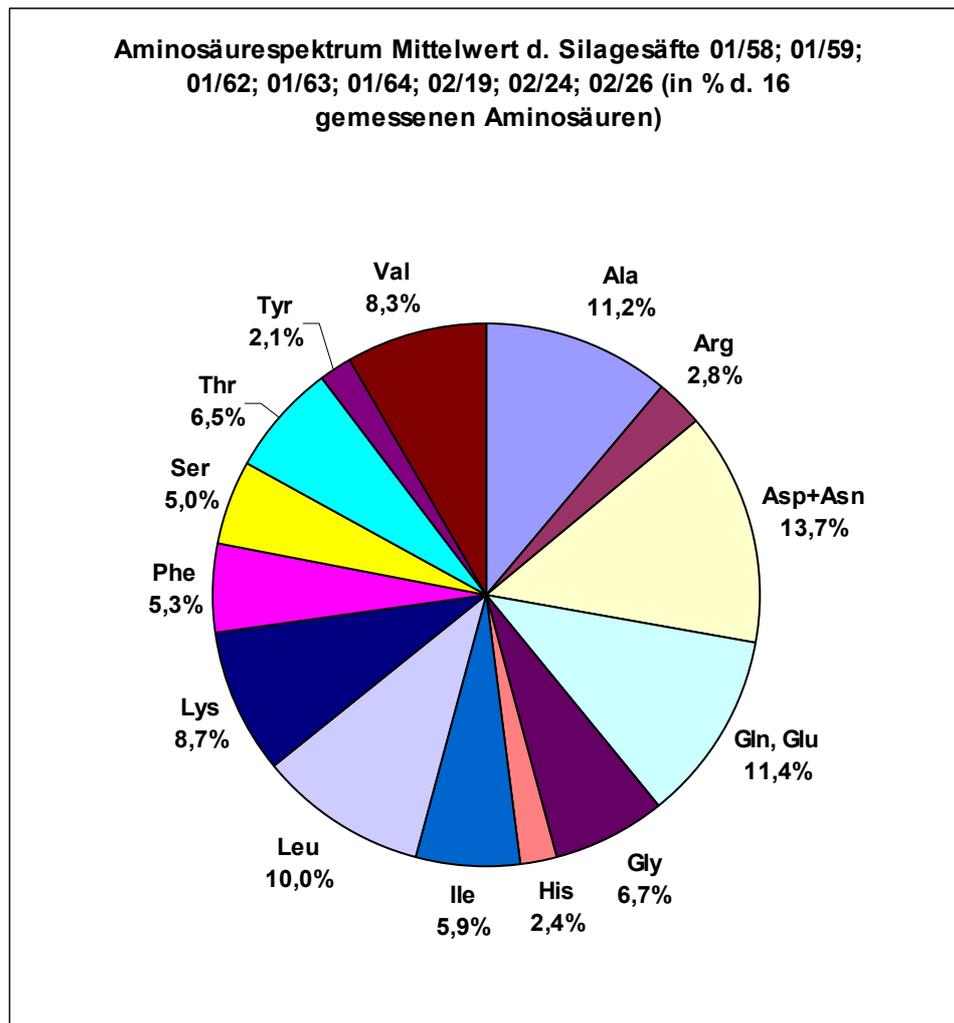


Abb. 19: Aminosäurespektrum in % der 16 gemessenen Aminosäuren als Mittelwert ausgewählter Silagepresssäfte der Jahre 2001 und 2002 (01/58; 01/59; 01/62; 01/63; 01/64; 02/19; 02/24; 02/26)

Ein Einsatzgebiet für einzelne Aminosäuren aus Silagesäften wäre die Pharmazie. Proteinhydrolysate könnten je nach Qualitätsstandard auch in der Futtermittelindustrie und der Lebensmittelindustrie (Spezialernährung im Gesundheits- und Sportbereich) eingesetzt werden. Da Silagesaft bis zu 35 % der Trockenmasse aus Aminosäuren besteht scheint dieser Weg sinnvoll. Der Silagesaft steht dabei allerdings in Konkurrenz zu anderen Rohstoffen wie Melasse (Amino 2002) und Soja. Für Silagesaft spricht das breite Spektrum der Aminosäuren, der hohe Gehalt an Aminosäuren im Silagesaft und die Tatsache, dass ein Grossteil der Aminosäuren als freie Aminosäuren vorliegt.

Es wurden zum Teil im Rahmen dieses Projekts und mit zusätzlicher Eigenleistung des Teams und der Firmen Überlegungen und erste Versuche zur Abtrennung von Aminosäuren gemeinsam mit der Milchsäure aus Silagesaft unternommen. Diese sind vielversprechend (65 % des Rohproteins im Saft können als Aminosäuren gewonnen werden) und die Technologien sollten daher in Folgeprojekten weiter entwickelt werden (siehe Anhang H).

Neben der wirtschaftlichen Bewertung der Gewinnung eines Proteinkonzentrats aus Luzerne, da nur diese Variante technologisch Sinn macht, konnten bereits Erhebungen über das wirtschaftliche Potenzial der Gewinnung von Aminosäuren aus Silagesäften in diesen Bericht integriert werden. Denn die Verarbeitung von Silage kann als die eigentliche Grüne Bioraffinerie Österreich bezeichnet werden.

3.8 Wirtschaftlich Bewertung der Gewinnung eines Proteinkonzentrats aus Luzernesaft plus Nebenprodukte

Für die Berechnung der Wirtschaftlichkeit wurde die dynamische Methode "Discounted Cash Flow" ausgewählt. Auf Basis der in Anhang G und Anhang I dargestellten Parameter wurden drei mögliche Fälle entwickelt und ausgewertet.

Variante 1:

Fall 1. Produktion der Produkte Proteinkonzentrat, Fermentationspromotor und Grünmehl (getrockneter Luzernepresskuchen), wobei das Proteinkonzentrat alternativ mittels Ultrafiltration bzw. Koagulation hergestellt wird.

Fall 2. Produktion der Produkte Proteinkonzentrat, Fermentationspromotor und Biogas (seit Jan. 2003 existieren attraktive Einspeisetarife für Ökostrom)

Variante 2:

Fall 3. Produktion eines Proteinkonzentrats nach dem Modell von FRANCE LUZERNE (ca. 10.000 t TM pro Jahr und 10 % TM im Saft), allerdings gelangt der Presskuchen in eine Biogasanlage. Die Ultrafiltrationsanlage ist ca. um einen Faktor 3 größer.

Für die Darstellung des Fermentationspromotors, der Grünmehlproduktion und der Biogasanlage dienen die Daten aus Kromus et al. (2002) bzw. Kromus (2002)..

3.8.1 Erlöse durch ein Proteinkonzentrat und der Restströme

Kurz vor dem Start dieses Projekts war die BSE Krise auf ihrem Höhepunkt und es wurde angenommen, dass pflanzliche Proteine, die auch garantiert GMO-frei angeboten werden können einen „Premium“ Preis erzielen würden. Inzwischen ist die Aufregung um BSE abgeklungen und es wird weiterhin, außer für Wiederkäuer, Fischmehl in großem Umfang eingesetzt. Niemand kann allerdings garantieren, dass nicht illegale „Blends“ aus Fischmehl und Tiermehl in Europa im Umlauf sind.

Es scheint auch Faktum zu sein, dass ca. 60 % des in Österreich eingesetzten Soja als Eiweißquelle zumindest Spuren einer gentechnischen Veränderung aufweisen. Inzwischen hat sich aber, offenbar auch aufgrund des herrschenden Preisdrucks, ein gewisser Gewöhnungseffekt breit gemacht. Nach Auskunft der Fa. BIOMIN AG kann jedoch immer noch ein Mehrpreis für GMO-freies Protein von 10% lukriert werden. Diese Produkte lassen sich aber in der durchschnittlichen landwirtschaftlichen Produktion wirtschaftlich nicht unterbringen. Diese Produkte finden lediglich z.B. in der Markenfleischproduktion Eingang.

In Milchaustauschern der Fa. LACTOPROT AG wurde bis zur Auslagerung der Produktion von Österreich nach Deutschland ein Sojaproteinprodukt mit ca. 71,4 % i. d. TM Rohprotein eingesetzt. Der Preis dafür betrug ca. 0,95 €/kg Produkt.

Nach Auskunft der Firmen LACTOPROT AG und BIOMIN AG richtet sich der Proteinpreis im wesentlichen nach dem Rohproteingehalt. D.h. pro Prozentpunkt Rohprotein in der Trockenmasse kosten hochwertige Proteinprodukte 0,0013 €. Dieser Preis ist unabhängig

davon, ob das Produkt für die Kälberaufzucht, Schweinemast oder sonstige Anwendungen eingesetzt wird.

Aufgrund eines vorliegenden Angebots der Firma FRANCE LUZERNE ist bekannt, dass ein Produkt aus Luzerne mit 50 bis 52 % Rohprotein i. d. TM ca. 0,70 €/kg frei Werk Frankreich kostet.

Für das Proteinkonzentrat einer Luzerne Bioraffinerie mit 48,9 % Rohprotein i. d. TM ergibt sich somit ein planbarer Erlös von 0,65 €/kg plus 10% Prämie für GMO-frei ergibt 0,72 €/kg. Es muss angemerkt werden, dass dieser Preis nicht elastisch ist. Wenn sich nicht große ökologische Umstrukturierungen in der Landwirtschaftspolitik ergeben, kann angenommen, dass der angegebene Erlös pro kg praktisch keinen Schwankungen unterworfen ist. Auch eine zusätzliche Prämie für Nachhaltigkeit bzw. österreichische Herkunft muss derzeit ausgeschlossen werden. Für die Berechnungen der unterschiedlichen Fälle wird der Proteinerlös demnach mit 0,70 €/kg frei Werk LACTOPROT AG Hartberg festgeschrieben.

In Kromus et al. (2002) wurde untersucht inwieweit sich UF-Permeat bzw. Zentrifugenüberstand zur Promotion von Submersfermentationen eignen. Es wurde festgestellt, dass die Eigenschaften dieser Ströme jenen des bisher eingesetzten Corn Steep Liquor (CSL) ähnlich sind. Nachdem der Weltmarktpreis für CSL 0,25 €/kg Trockenmasse beträgt, kann davon ausgegangen werden, dass der flüssige Reststrom zum gleichen Preis verkauft werden kann.

Der Presskuchen kann alternativ als Grünmehl verkauft oder zu Biogas verarbeitet werden, da weitere Anwendungen noch in der wirtschaftsbezogenen Grundlagenforschung stecken. Im Falle des Grünmehls aus Luzerne liegt der Marktpreis stabil bei 0,153 €/kg TM (vgl. Kromus et al. 2002).

Im Falle der Verwertung der Restströme in einer Biogasanlage wird angenommen, dass diese den Wärmeüberschuss generell um 0,025 €/kWh verkaufen kann. Im Gegenzug dazu kann für die Trocknung die Eigenwärme um 0,025 €/kWh bezogen werden. Für den ersten Fall (Grünmehlerzeugung) werden die Wärmekosten mit 0,044 €/kWh kalkuliert. Der Verkaufserlös für den Biogasüberschussstrom wird für Fall 1 und Fall 2 mit 0,125 €/kWh festgelegt (500 bis 1000 kW Leistung) und für Fall 3 mit 0,103 €/kWh (über 1 MW) (EVA 2003), wobei der Eigenverbrauch der Bioraffinerie mit nur 0,073 €/kWh bewertet wird.

3.8.2 DCF Ergebnisse und Diskussion

Aus den jeweils wirtschaftlichsten Gesamt-EBITs (EBIT = Earnings Before Interest and Taxes) wird der Discounted Cash Flow berechnet. Es zeigt sich, dass im Fall 1 und Fall 2 die Koagulation gegenüber der Ultrafiltration wirtschaftlich vorteilhafter ist. Bei Fall 3 beträgt der Unterschied allerdings lediglich 1,7 % zugunsten der Koagulation/Zentrifugation. Daher könnte die Ultrafiltration zur Qualitätsverbesserung des Produkts eingesetzt werden. Für den Fall 1 und Fall 2 ergibt sich allerdings keine Wirtschaftlichkeit des Gesamtsystems "Luzerne Bioraffinerie". Erst durch das Ausnutzen der "Economy of Scale" und eine Vergrößerung der Anlage um ca. den Faktor 3 und eine angenommene Verbesserung der Proteinausbeute aus dem Rohstoff Luzerne wird ab dem Jahr 9,7 (Break Even) ein positiver Cumulated Discounted Cashflow ausgewiesen. Der Shareholder Value als Ansatz für die Unternehmenswertberechnung konnte mit rund 3.500.000 € errechnet werden. Als Zinssatz wurde ein WACC (Weighted Average Capital Cost) von 6,30 % (55 % Eigenkapitalquote) angenommen.

Generell werden keine Erlöselastizitäten einbezogen, da die Erlösstruktur sehr genau recherchiert und für nicht veränderbar befunden wurde (Biogas Einspeistarif auf 13 Jahre festgelegt). Einzige Möglichkeit für eine verbesserte Erlösstruktur ergäbe sich für den Bereich Wärme. Allerdings wäre aus heutiger Sicht die Planung mit höheren Wärmeerlösen aus der Biogasanlage unseriös.

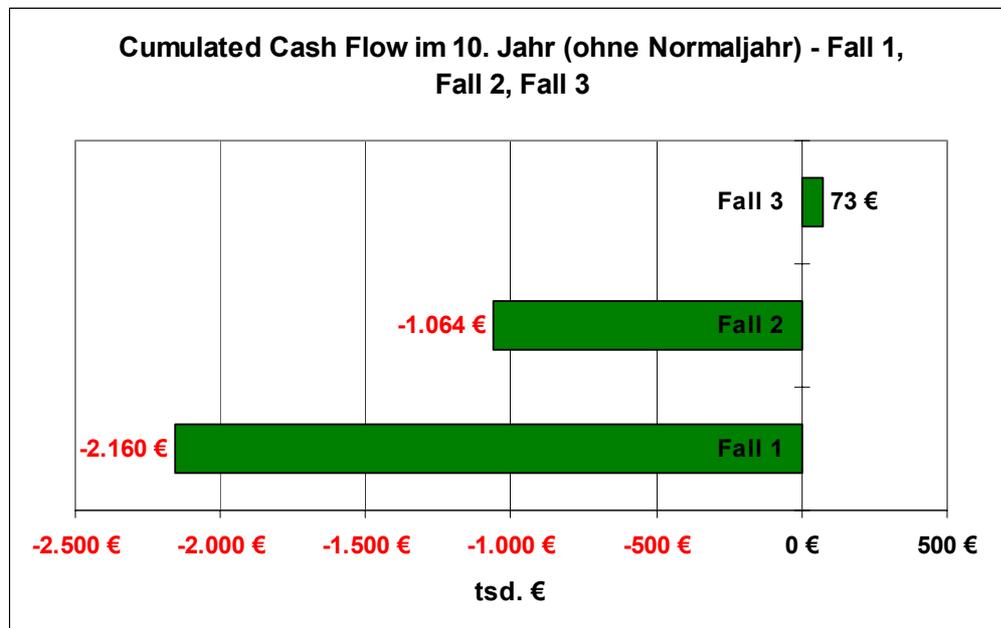


Abb. 20: Cumulated Cash Flow der Fälle 1, 2 und 3 im 10. Jahr (ohne Normaljahr) – Fall 3 "Economy of Scale" ca. Faktor 3

Die Kostenstruktur der Rohstoffe ist als sehr hoch einzuschätzen. Diese wurde aber sehr aufwendig erhoben und mit vielen Experten diskutiert. Die Rohstoffkosten sind demnach so angesetzt, dass die Landwirte damit vernünftige Einnahmen lukrieren können. Niedrigere Rohstoffpreise würde die Problematik und die soziale Schere der Landwirtschaft negativ beeinflussen. Durch die EU Erweiterung wird es aber voraussichtlich zu einer Verringerung dieser Kosten kommen. Wird den österreichischen Bauern dann nicht durch Förderungen geholfen, muss man bezweifeln, dass die soziale Nachhaltigkeit in der Landwirtschaft weiterhin gegeben ist. Nachdem es sich bei der Grünen Bioraffinerie allerdings um ein gesamtheitlich nachhaltiges Projekt handeln soll, wird in allen Modellen der Rohstoffpreis konstant hoch gehalten.

Trotz einem Break Even nach gerade noch akzeptablen 9,7 Jahren und der nachhaltigen Wirtschaftlichkeit im Fall 3 kann aus folgenden Gründen keine eindeutige Investitionsempfehlung abgegeben werden:

1. In Fall 3 wurde eine Steigerung der Proteinproduktausbeute von 35 % bis 40 % gegenüber Fall 1 und 2 angenommen. Diese ist durchaus realistisch, da eine diesbezügliche Referenzanlage in Frankreich existiert, dennoch existiert doch ein hohes Risiko, da man über die Schwankungen der Rohstoffqualitäten bei Luzerne noch zu wenig weiß. Hier müsste zunächst der Betrieb einer Pilotanlage über zumindest zwei Saisonen vorangestellt werden. Die Investition in diese Pilotanlage kann die Gesamtinvestitionskosten aber beträchtlich erhöhen.

2. Trotz verbesserter Produkteigenschaften (Löslichkeit) durch die Verwendung einer modernen Ultrafiltrationsanlage mit Keramikmembranen handelt es sich bei dieser Anlage um keine echte Innovation. Das Modell widerspricht dem Ansatz der Grünen Bioraffinerie sowohl im Rohstoffmix als auch im Bereich des Produktstammbaums. Alle Produkte sind althergebrachte Produkte ohne wesentlichen Zusatznutzen. Dies wirkt sich natürlich auf die Erlösstruktur und auf die als negativ zu bewertende Abhängigkeit vom Weltmarkt aus.
3. Die Österreichische Grüne Bioraffinerie hat die Nutzung von Silage als Prämisse gewählt. Diese Prämisse wurde aufgestellt, um Kampagnenbetrieb zu vermeiden und um die Logistikkosten gering zu halten. Diese Luzerne Anlage müsste im Kampagnenbetrieb mit enormem Logistikaufwand (außer Biogas) betrieben werden. Es müssten 60.000 t FM „Just in Time“, nämlich erntefrisch, aus der kleinräumigen österreichische Landwirtschaft zur Verarbeitungsanlage gebracht werden. Die Luzerne dürften voraussichtlich maximal drei Stunden in einem Pufferlager verbringen. Dieser Parameter wäre als nicht nachhaltig anzusehen. Außerdem ist die Fokussierung auf nur einen Rohstoff als wirtschaftlich riskant anzusehen (Ernteauffälle), denn die Erfahrung mit großflächigem Luzerneanbau ist in Österreich gering, auch wenn die Luzerne als Leguminose eine ökologisch sinnvolle Alternative zu Mais ist.
4. Nachdem in einer derartigen Anlage nur durch die Biogasanlage auch die Kulturlandschaft (z.B. Streuobstwiesensilage im Winterbetrieb) gepflegt werden kann ist von der Luzerneanlage diesbezüglich kein Beitrag zu erwarten. Die Größe der Biogasanlage ist mit ca. 19.000 t TM pro Jahr als „sehr groß“ zu bewerten. Es konnte im Rahmen dieses Projekts nicht geklärt werden inwieweit sich eine Rückführung der Biogasgülle auf die Felder logistisch organisieren ließe.
5. Der ursprüngliche Plan der Dezentralisierung der Fraktionierung und der Biogasproduktion könnte eine Entlastung im Logistikaufwand bringen. Nur lässt sich dann die Investitions- und Personalkostendegression nur noch bedingt realisieren. D.h. die Wirtschaftlichkeit einer derartigen dezentralen oder semi-dezentralen Anlage (vgl. Kromus et al. 2002) ist dann nicht mehr gegeben.

Aufgrund der Betrachtungen in Punkt 1 bis 5 muss daher betont werden, dass der Ansatz der Grünen Bioraffinerie Österreich aufgrund der Projektergebnisse nun voll auf die alleinige Verarbeitung von Silage konzentriert ist. Nur im Falle der Nutzung von Spezialprodukten aus der Luzerne oder Rotklee (z.B. Saponine, Lutein, Isoflavone, etc.) würde die Einbeziehung von grüner Frischmasse wieder Sinn machen.

Sollten sich die Rahmenbedingungen in Europa durch die Ökologisierung der Landwirtschaft und die Entwicklung eines nachhaltigen Wirtschaftssystems ändern, dann könnten durch eine verbesserte Erlösstruktur dezentrale ökologisch arbeitende Luzerne Anlagen innerhalb eines Jahres errichtet werden.

Die zukünftige Fokussierung auf Silage kann daher wie folgt begründet werden:

1. Silage bietet durch natürliche und ökologische Vorgänge freie Aminosäuren, die mittels hoch innovativer Technologien gemeinsam mit Milchsäure abgetrennt werden können. Die Technologien benötigen allerdings eine verlängerte Entwicklungsphase gegenüber den in diesem Projekt untersuchten, sind aber dafür als einzigartig (Technologievorsprung) anzusehen.

2. Kein anderer Rohstoff, außer Grünlandsilage, bietet diesen Vorteil. Jegliche andere Proteine, die derzeit im Einsatz sind, müssen aufwendig chemisch hydrolysiert werden.
3. Die Ausbeute an Aminosäuren beträgt ca. 40 bis 50 % des Rohproteins im Grassilagerohstoff. Ca. 65 % davon könnten aus dem Saft als hochwertiges Produkt gewonnen werden. Dies bedeutet auf Basis des Rohproteins zumindest eine Steigerung der Ausbeute um 50 bis 60 %, selbst im Vergleich mit FRANCE LUZERNE.
4. Das mögliche Produktspektrum in Kombination mit der Milchsäuregewinnung (siehe Projekt „Milchsäure aus Grassilage“) ist riesig und reicht von Futtermittel über Lebensmittel bis zu Kosmetik und Pharma.
5. Durch die breiten Einsatzmöglichkeiten sind der Produktentwicklungsphantasie keine Grenzen gesetzt. Ein großes Wertschöpfungspotenzial durch Sekundär- und Tertiärprodukte kann prognostiziert werden (z.B. „Functional Food“).
6. Die Technologien können voraussichtlich so flexibel gestaltet werden, dass sie auch die Grundlage für die Abtrennung von Spezialstoffen bieten (Stichwort: „Low volume – High Price“).

Grundsätzliche Betrachtungen zur Wirtschaftlichkeit der Abtrennung von Aminosäuren aus Silagesäften sind in Anhang J zu finden.

Obwohl aufgrund der Erkenntnislage keine der Thesen, die in der Einleitung formuliert wurden zu 100 % verifiziert werden konnten, bringt das Projekt umfassende Klarheit über die Möglichkeiten der Gewinnung von Proteinen aus Grünen Säften bzw. Aminosäuren aus Silagesäften. Aufgrund der Tatsache, dass bereits erste Optimierungsschritte im Falle der Gewinnung von Aminosäuren aus Grassilage durchgeführt werden konnten ist Zuversicht über die technologische Machbarkeit der Grünen Bioraffinerie angebracht. Durch die Tatsache, dass nunmehr ausschließlich Silagen untersucht werden sollen, wird die weitere Entwicklung fokussiert und vereinfacht.

Aminosäuren lassen gegenüber dem untersuchten Proteinkonzentrat aus Luzerne eine wesentlich höhere Wertschöpfung erwarten. Dies bedeutet, dass die Umsetzung von Grüne Bioraffinerie Systemen in Österreich wieder ein großes Stück näher gerückt ist. Relativ kurzfristig sollte nun mit dem Aufbau einer Demonstrationsanlage mit der Option der modularen Weiterentwicklung (längere Entwicklungszeit bei der Aminosäurenabtrennung) begonnen werden.

Durch die strategische Fokussierung der Grünen Bioraffinerie Österreich und dem positiven Ausblick auf den modularen Systemaufbau in den Bereichen Aminosäuren und Milchsäure wird das Projekt einem Leuchtturm im Sinne der Programmlinie "Fabrik der Zukunft" gerecht.

4 Empfehlungen

Proteinkonzentrate könnten auf Basis der Ergebnisse dieses Projekts großtechnisch aus Luzernesäften (Luzerne Bioraffinerie) gewonnen werden. Die Wirtschaftlichkeit einer derartigen Anlage wäre allerdings nur bedingt gegeben und die Innovationskraft wäre beschränkt.

Es wird daher empfohlen diesen Weg zu Gunsten der Gewinnung von Aminosäuren, Milchsäure und weiteren Nebenprodukten aus Silagesäften aufzugeben.

Im Rahmen dieses Projekts und mit zusätzlicher Eigenleistung des Teams und der beteiligten Firmen wurden Überlegungen und erste Versuche zur Abtrennung von Aminosäuren gemeinsam mit der Milchsäure aus Silagesaft unternommen. Diese sind sehr vielversprechend (65 % des Rohproteins im Saft können als Aminosäuren gewonnen werden) und die Technologien sollten daher in Folgeprojekten unbedingt weiter entwickelt werden.

Ausschlaggebend für diese Empfehlung sind, wie bereits in Kapitel 3 dargestellt, folgende Gründe:

1. Silage bietet durch natürliche und ökologische Vorgänge freie Aminosäuren, die mittels hoch innovativer Technologien gemeinsam mit Milchsäure abgetrennt werden können.
2. Kein anderer Rohstoff, außer Grünlandsilage, bietet diesen Vorteil. Jegliche andere Proteine, die derzeit im Einsatz sind, müssen aufwendig chemisch hydrolysiert werden.
3. Das mögliche Produktspektrum in Kombination mit der Milchsäuregewinnung (siehe Projekt „Milchsäure aus Grassilage“) ist riesig und reicht von Futtermittel über Lebensmittel bis zu Kosmetik und Pharma.
4. Durch die breiten Einsatzmöglichkeiten sind der Produktentwicklungsphantasie keine Grenzen gesetzt. Ein großes Wertschöpfungspotenzial durch Sekundär- und Tertiärprodukte kann prognostiziert werden (z.B. „Functional Food“).
5. Die Technologien können voraussichtlich so flexibel gestaltet werden, dass sie auch die Grundlage für die Abtrennung von Spezialstoffen bieten (Stichwort: „Low volume – High Price“).

Durch die Ergebnisse des Projekts konnte ein Know-how Vorsprung gegenüber anderen europäischen Grüne Bioraffinerie Projekten erarbeitet werden. Durch die Weiterführung des Konzepts auf Basis von Silage wird die Technologieführerschaft weiter ausgebaut werden.

5 Literaturverzeichnis

- ADLER W.; et al. (1994). Exkursionsflora von Österreich. Ulmer, Stuttgart und Wien.
- ADLER-NIESSEN, J. (1986). Enzymatic Hydrolysis of Food Protein. Elsevier Applied Science. Publishers London and New York.
- AJINOMOTO (2002): Firmenhomepage zu Aminosäuren.
http://www.ajinomoto.com/mx_03/ar/i_r/fact.html.
- AMINO GMBH (2002). Firmenhomepage: www.amino.de.
- ANDERSEN, M. und P. KIEL (2000). Integrated utilisation of green biomass in the green biorefinery. In: Industrial Crops and Products 11, pp. 129-137.
- ATKINS, P. W. (1996). Physikalische Chemie. 2. Auflage. VCH-Verlagsgesellschaft, Weinheim.
- BELITZ, H.-D.; et al. (2001). Lehrbuch der Lebensmittelchemie. 5. vollst. überarb. Auflage. Springer, Berlin Heidelberg.
- BIOMIN (2002). Persönliche Information. Fa. Biomin AG, Herzogenburg.
- BOULTER, D. und B. PARTHIER (1982). Encyclopedia of plant physiology 14A – Structure, biochemistry and physiology of plant proteins. Springer-Verlag, Heidelberg.
- DAVIES, D. R.; et al. (1998). Proteolysis During Ensilage of Forages Varying in Soluble Sugar Content. In: J. Dairy Sci. 81, pp. 444-453.
- DORFNER, K. (1970): Ionentauscher. Walter de Gruyter.
- DORFNER, K. (1991): Ion Exchangers. Walter de Gruyter.
- EVA (2003): Homepage der Energieverwertungsagentur Österreich:
www.eva.wsr.ac.at/enz/einspeis_at.htm.
- FAIRBAIRN R.; et al. (1988). Proteolysis Associated with the Ensilage of Chopped Alfalfa. In: J. Dairy Sci. 71, pp. 152-158.
- FRANCE LUZERNE (2000). Alfalis – Dossier PX. France Luzerne.
- FUHRMEISTER, H. (2001). Herstellung von Proteinprodukten auf der Grundlage eines Verfahrens zur Stärkegewinnung aus Markerbsen. Dissertation an der TU, Berlin.
- HEGNAUER, R. (1986). Chemotaxonomie der Pflanzen, Bd. 7. Birkhäuser Verlag, Basel.
- HEGNAUER, R. (1994). Chemotaxonomie der Pflanzen, Bd. 11a. Birkhäuser Verlag, Basel.
- HEGNAUER, R. (2001). Chemotaxonomie der Pflanzen, Bd. 11b2. Birkhäuser Verlag, Basel.
- HELFFERICH (1959): Ionenaustauscher Bd. 1. Verlag Chemie, Weinheim.

- INKYU LEEA; et al. (2002). The use of ion exclusion chromatography as approved to the normal ion exchange chromatography to achieve a more efficient lysine recovery from fermentation broth. *Enzyme and Microbial Technology* 30, pp. 798–803.
- JONES, W. T. und J. MANGAN (1976). Large-scale isolation of fraction 1 leaf protein (18S) from lucerne (*Medicago sativa* L.). In: *J. agric. Sci.* 86, pp. 495-501.
- KIRSCHNER, B (2003). Strategisches und operatives Controlling. Lehrgangsunterlagen General Management 2002/2003. Management Center Innsbruck.
- KNAUS, W (1992). Einsatz von Sojaprodukten und Kartoffeleiweiß im Milchaustauschfutter für die Kälbermast. Dissertation, Universität für Bodenkultur, Wien.
- KOCH, L. (1983). The Vepex process. In: Telek, L. and H. D. Graham (1983). *Leaf Protein Concentrates*. AVI Publishing Company Inc., Connecticut.
- KOHLER, G. O.; et al. (1983). LPC for Feed and Foods: The Pro-Xan Process. In: Telek, L. and H. D. Graham (1983). *Leaf Protein Concentrates*. AVI Publishing Company Inc., Connecticut.
- KROMUS, S. (2002). Die Grüne Bioraffinerie Österreich – Entwicklung eines integrierten Systems zur Nutzung von Grünlandbiomasse. Dissertation an der TU, Graz.
- KROMUS, S.; et al. (2002). Grüne Bioraffinerie. Integrierte Grasnutzung als Eckstein einer nachhaltigen Kulturlandschaftsnutzung. BBK-Endbericht. Kornberg Institut, Feldbach.
- LACTOPROT (2002). Persönliche Information. Fa. Lactoprot AG, Hartberg.
- LAEMMLI, U. K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. In: *Nature* 227, pp. 680-685.
- LEUCHTENBERGER W. (1996): Amino Acids – Technical Production and Use. In: Rehm H.J. und G. Redd. *Biotechnology Vol 6*, VCH.
- LOWRY; et al. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. In: *Biol. Chem.* 193, pp. 265-275.
- MAID-KOHNERT et al. (2001a). *Lexikon der Ernährung*, Bd. 1, Spektrum.
- MAID-KOHNERT et al. (2001b). *Lexikon der Ernährung*, Bd. 1, Spektrum.
- MAID-KOHNERT et al. (2001c). *Lexikon der Ernährung*, Bd. 1, Spektrum.
- MAKONI, N. F.; et al. (1993). Characterization of Protein Fractions in Fresh, Wilted and Ensiled Alfalfa. In: *J. Dairy Sci.* 76, pp. 1934-1944.
- MEHLMAUER-LARCHNER, B. (1988). Vergleich verschiedener Milchaustauscher für die Kälbermast. Diplomarbeit für die Universität für Bodenkultur, Wien.
- MESSMAN, M. A.; et al. (1994). Changes in Total and Individual Protein During Drying, Ensiling and Ruminant Fermentation of Forages. In: *J. Dairy Sci.* 77, pp. 492-

500.

MOORE und STEIN (1954). J. Biol. Chem. 211/893.

NSEREKO, V. L. und J. A. ROOKE (2000). Characterization of peptides in silages made from perennial ryegrass with different silage additives. In: J. Sci. Food Agric. 80, pp. 725-731.

NULTSCH, W. (2001). Allgemeine Botanik. 11. Auflage. Thieme, Stuttgart.

OSTROWSKI-MEISSNER, H. T. (1983). Protein Concentrates from Pasture Herbage and their Fractionation into Feed and Food-grade Products. In: Telek, L. and H. D. Graham (1983). Leaf Protein Concentrates. AVI Publishing Company Inc., Connecticut.

PAANANEN, H. A. (1997). Trends in the chromatographic separation of molasses. Zuckerindustrie 122/1.

PAVIS, N.; et al. (2001). Structure of Fructans in Roots and Leaf Tissues of Lolium Perenne. In: New Phytologist 150, pp. 83 – 95.

POLLAK, C. J. und A. J. CAIRNS (1991). Fructan Metabolism in Grasses and Cereals. Annu. In: Rev. Plant Mol. Bio. 42, pp. 77 – 1001.

POVODEN, G. (2002). Analyse des Proteinabbaus in Grassäften in Abhängigkeit von Temperatur und Zeit für die Bestimmung der Lager- und Prozessbedingungen hinsichtlich einer optimalen Proteinausbeute im Rahmen der Grünen Bioraffinerie. Diplomarbeit an der TU, Graz.

RAUTENBACH, R. (1997). Membranverfahren, Grundlagen der Modul,- und Anlagenauslegung. New York, Springer Verlag Berlin Heidelberg.

ROZELL, D. und F. WAGNER (1992): Biocatalytic Production of Amino Acids & Derivates, Hanser, München.

SCHÄRTGES (1993). Zum Einsatz von Membranverfahren bei der fermentativen Aminosäuregewinnung am Beispiel Isoleucin.

SEIDELMANN (1997). Performance limits in industrial chromatographic separation processes. Zuckerindustrie 122/1.

STEINMETZER (1991). Die Verwertung von Nichtzuckerstoffen der Zuckerrübenmelasse. In: Zuckerindustrie 116/1.

TAMI (2001). Persönliche Information und Firmenunterlagen. Fa. Tami, Hermsdorf.

TELEK, L. und H. D. GRAHAM (1983). Leaf Protein Concentrates. AVI Publishing Company Inc., Connecticut.

VOET D. und J. G. VOET (1994). Biochemie. VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim.

WACHTER, B.; et al. (2002). Silierungs- und Abtrennversuche 2001. Interner Bericht des JR-RIF, Hartberg.

6 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1:	Wechselwiese Klee gras (KLG) in Auersbach, Stmk. – Rohstofflieferantin der Jahre 2001 und 2002 (Foto: Joanneum Research)	19
Abb. 2:	Versuchspresse der Fa. Hernach in Grasdorf (Stmk.) (Foto: Joanneum Research)	21
Abb. 3:	Grüne Bioraffinerie Pressversuche 2001: eingesetzte Massen und Ergebnisse (TM = Trockenmasse)	22
Abb. 4:	Rohproteinausbeute (= CP-Ausbeute) in % der abgepressten Grünlandbiomasse – Pressversuche 2001	23
Abb. 5:	Rohproteinausbeute (CP-Ausbeute) in % der abgepressten Silagen – Pressversuche 2001	23
Abb. 6:	Schema der Fraktionierung mit Doppelpressung	24
Abb. 7:	a) Mähen der Klee graswiese, b) Anlieferung des frischen Klee grasballen, c) Zerkleinern des Klee gras, d) Versuchspresse – Pressversuche 2002 (Fotos: Kornberg Institut)	25
Abb. 8:	a) Befüllung der Presse mit Silage, b) Silagepresssaft, c) Silagepresskuchen, d) Luzernepresssaft – Pressversuche 2002 (Fotos: Kornberg Institut)	26
Abb. 9:	Pressversuche 2002: Rohproteinausbeute (CP) – 1. Pressung – Silage	27
Abb. 10:	Pressversuche 2002: Rohproteinausbeute gesamt – 1. u. 2. Pressung (teilw. befeuchtet) – Silage	28
Abb. 11:	Herstellung eines Proteinkonzentrats aus Luzerne durch a) Hitze koagulation, b) Zentrifugation, c) Trennung des Überstandes vom Pellet und c) gefriertrocknen – Versuche 2002 (Fotos: Kornberg Institut)	29
Abb. 12:	Gewinnung von Proteinkonzentraten aus Grünen und Silage Säften durch a) Ultrafiltration mit b) TAMI Membranen, c) Trocknung im Versuchssprühturm d. Fa. LACTOPROT AG mit d) Luzerne und e) Silageprodukten (Fotos: Kornberg Institut)	31
Abb. 13:	Direkter Vergleich der Proteingewinnung aus Grünem Saft durch Ultrafiltration und Hitze koagulation/Zentrifugation	33
Abb. 14:	Vergleich der theoretischen Proteinausbeute (dargestellt als Lowry Protein im Feed mal UF Faktor) mit tatsächlicher Proteinausbeute (CP) (Rohprotein im Retentat)	35
Abb. 15:	Zusammenfassung – Proteinabbau in Grassäften mittels SDS-Page nach den Parametern Zeit und Temperatur (Povoden 2002)	36
Abb. 16:	Aminosäurespektrum Mittelwert der Produkte 01/13; 01/34; 01/22; 02/14; 02/11; 02/07; 02/05 (in % d. 16 gemessenen Aminosäuren)	37
Abb. 17:	Aminosäurespektrum Mittelwert der Produkte 01/11; 01/28; 01/26 (in % d. 16 gemessenen Aminosäuren)	38
Abb. 18:	Aminosäurenprofil eines Blattproteinkonzentrats 01/26 im Vergleich zu Soja und Kartoffelprotein und dem Spektrum von Rubisco	39
Abb. 19:	Aminosäurespektrum in % der 16 gemessenen Aminosäuren als Mittelwert ausgewählter Silagepresssäfte der Jahre 2001 und 2002 (01/58; 01/59; 01/62; 01/63; 01/64; 02/19; 02/24; 02/26)	40
Abb. 20:	Cumulated Cash Flow der Fälle 1, 2 und 3 im 10. Jahr (ohne Normaljahr) – Fall 3 "Economy of Scale" ca. Faktor 3	43
Abb. 21:	RUBISCO das Blattprotein – das häufigste Protein der Welt (Quartäre Struktur)	61
Abb. 22:	Vereinfachtes Schema der Verwandtschaftsverhältnisse der untersuchten Pflanzen (Adler et al. 1994)	65
Abb. 23:	Wechselwiese Klee gras (KLG) in Auersbach, Stmk. – Rohstofflieferantin der Jahre 2001 und 2002 (Foto: Joanneum Research)	70

Endbericht „Grüne Bioraffinerie – Gewinnung von Proteinen aus Grassäften“ <i>Kornberg Institut</i>	51
<hr/>	
Abb. 24: Standhäcksler der Fa. Egger-Futtermittel (Foto: Joanneum Research)	72
Abb. 25: Versuchspresse der Fa. Hernach in Grasdorf (Stmk.) (Foto: Joanneum Research)	72
Abb. 26: Grüne Bioraffinerie Pressversuche 2001: eingesetzte Massen und Ergebnisse (TM = Trockenmasse)	73
Abb. 27: Rohproteinausbeute (= CP-Ausbeute) in % der abgepressten Grünlandbiomasse – Pressversuche 2001	74
Abb. 28: Rohproteinausbeute (CP-Ausbeute) in % der abgepressten Silagen – Pressversuche 2001	75
Abb. 29: Rohprotein-Ausbeuten in Presssaft und Presskuchen als Funktion von TM-Feed und Grasprobenart (in kg/t TS-Feed) (Wachter et al. 2002)	75
Abb. 30: Gesamtzuckerbilanz für Grünlandbiomasse und Silage auf Basis des arithmetischen Mittels (exkl. Ausreißer) mit Feed-Charakterisitk, Ausbeute des Zuckers im Presskuchen und Ausbeute des Zuckers im Saft inkl. Darstellung der Bilanzabweichung durch Analytik aller drei Ströme – Pressversuche 2001 (Wachter et al. 2002)	76
Abb. 31: Gesamtrohaschebilanz für Grünlandbiomasse und Silage auf Basis des arithmetischen Mittels (exkl. Ausreißer) mit Feed-Charakterisitk, Ausbeute der Asche im Presskuchen und Ausbeute der Asche im Saft inkl. Darstellung der Bilanzabweichung durch Analytik aller drei Ströme – Pressversuche 2001 (Wachter et al. 2002)	77
Abb. 32: Schema der Fraktionierung mit Doppelpressung	78
Abb. 33: Versuchspresse der Fa. Ponndorf (Kassel, D) – Pressversuche 2002 (Foto: Fa. Ponndorf)	79
Abb. 34: Fraktionierung 2002 – gesamter Rohstoffinput in kg FM	80
Abb. 35: Silagepresssaft der Pressversuche 2002 mit den Produkten Milchsäure und Proteine (Aminosäuren) (Foto: Kornberg Institut)	81
Abb. 36: Pressversuche 2002 mit der Presse PP7 – Fa. Ponndorf (D): Silagedurchsatz in Abhängigkeit der Trockenmasse (TM) bei Geschwindigkeitsstufe 4 (Ausreißer bereinigt)	82
Abb. 37: Pressversuche 2002: Stromverbrauch in Abhängigkeit der Trockenmasse bei 3,75 U/min. Pressgeschwindigkeit – Silage	83
Abb. 38: Pressversuche 2002: Rohproteinausbeute (CP) – 1. Pressung – Silage	86
Abb. 39: Pressversuche 2002: Rohproteinausbeute gesamt – 1. u. 2. Pressung (teilw. befeuchtet) – Silage	87
Abb. 40: Pressversuche 2002: Rohproteinausbeute (CP) – 1. Pressung – Grün (frisch)	88
Abb. 41: Pressversuche 2002: Rohproteingemaisausbeute – 1. u. 2. Pressung (teilw. PK bedampft) – Grün	88
Abb. 42: Pressversuche 2002: Durchschnittliche Fraktionierungsbilanz der untersuchten Grünlandbiomasserohstoffe	89
Abb. 43: Pressversuche 2002: Durchschnittliche Fraktionierungsbilanz der untersuchten Grassilagen	90
Abb. 44: Die potenzielle Energie der Wechselwirkung als Funktion des Abstands der Zentren zweier Teilchen sowie des Verhältnisses von Teilchengröße a zur Dicke r_D der elektrischen Doppelschicht. Die mit Koagulation und Flockung bezeichneten Bereiche sind die minimaler potentiellen Energie, in welchen die jeweiligen Prozesse eintreten. (Atkins 1996)	104
Abb. 45: Schema der Produktion von Super PX (France Luzerne 2000)	105
Abb. 46: Steaminjektion Einheit: Eigenkonstruktion zur Hitzekoagulation von Grassaftproteinen – mit Unterstützung der Fa. LACTOPROT AG	106
Abb. 47: Steaminjektion-Einheit – Sonderanfertigung bei der Fa. LACTOPROT AG in Hartberg	107

Abb. 48:	Zentrifugierversuche des Jahres 2001 (TU-Graz): Foto a) Zentrifugenpellet im Zentrifugenbecher (Proteinkonzentrat); Foto b) Zentrifugenüberstand (Brown Juice)	109
Abb. 49:	Zuordnung der druckgetriebenen Membranverfahren (Rautenbach 1997)	111
Abb. 50:	Geschwindigkeits- und Konzentrationsprofil vor der Ultrafiltrationsmembran (Rautenbach 1997)	112
Abb. 51:	Ultrafiltrationsanlage, UF Modul, 0,35 m ² ; 1 - UF-Modul, 2 - Permeatabfluss, 3 – Manometer Membranausgang, 4 –Manometer Membraneingang, 5 – Durchflusszähler, 6 – Drehzahlregelbare Pumpe, 7 – Entleerungsklappe, 8 – Behälter, 9 –Drosselventil, 10 – Probenentnahme	113
Abb. 52:	Ultrafiltrationsanlage im Technikum der BOKU-Wien (Foto: Kornberg Institut)	114
Abb. 53:	Korrekturwert zur Berechnung des Einflusses der Temperatur auf den Permeatflux. (Tami 2001).	115
Abb. 54:	Direkter Vergleich der Proteingewinnung aus Grünem Saft durch Ultrafiltration und Hitzeokoagulation/Zentrifugation	123
Abb. 55:	Vergleich der theoretischen Proteinausbeute (dargestellt als Lowry Protein im Feed mal UF Faktor) mit tatsächlicher Proteinausbeute (CP) (Rohprotein im Retentat)	125
Abb. 56:	Permeatfluxverlauf Feed 01/30, Konzentrationsfaktor 11,78	127
Abb. 57:	Zunahme der Trockenmasse (Drymatter, DM) und Rohprotein (Crude Protein, CP); Versuch mit 01/30 Feed und 50 kD	128
Abb. 58:	Zusammensetzung des Rohproteins im Rohsaft, Probe 01/30	128
Abb. 59:	Veränderung des Aschegehalts und der gemessenen Proteinmasse nach Lowry während der Ultrafiltration ; Feed 01/30 mit 50 kD Membran	129
Abb. 60:	Permeatfluxverlauf des Silagesaftversuchs, Feed 01/39 bzw. 01/38, Membran 15 kD	130
Abb. 61:	Veränderung der Trockenmasse und des Rohproteingehalts - Silagesaftversuch; Feed 01/39 bzw. 01/38, Membran 15 kD	131
Abb. 62:	Veränderung des Aschen- und Milchsäuregehalts – Silagesaftversuch; Feed 01/39 bzw. 01/38, Membran 15 kD	131
Abb. 63:	Permeatfluxverlauf des Silagesaftversuchs, Feed 01/44 bzw. 01/45, Membran 1 kD	132
Abb. 64:	Veränderung im Trockenmasse- und Rohproteingehalt – Silageversuch, Feed 01/44 bzw. 01/45, Membran 1 kD	133
Abb. 65:	Vergleich der rückgehaltenen Trocken- und Proteinmassen (dargestellt sind Massendifferenzen) – Silageversuch, Feed 01/44 bzw. 01/45, Membran 1 kD	134
Abb. 66:	Veränderung in Asche- und Milchsäuregehalts - Silageversuch, Feed 01/44 bzw. 01/45, Membran 1 kD	134
Abb. 67:	Permeatfluxverlauf; obere Kurve für das erste Modul von 2 in Serie geschalteten Ultrafiltrationsmodulen – Grüner Saft, Feed 02/08, Membran 15 kD	135
Abb. 68:	Verlauf des Trockenmassegehalts und des Rohproteingehalts – Grüner Saft, Feed 02/08, Membran 15 kD	136
Abb. 69:	Verlauf des Aschegehalts – Grüner Saft, Feed 02/08, Membran 15 kD	136
Abb. 70:	Permeatfluxverlauf; obere Kurve für das erste Modul von 2 in Serie geschalteten Ultrafiltrationsmodulen – Grüner Saft Luzerne Feed 02/01, Membran 15 kD	137
Abb. 71:	Verlauf des Trockenmasse- und Rohproteingehalts – Grüner Saft Luzerne Feed 02/01, Membran 15 kD	138
Abb. 72:	Verlauf des Lowry-Proteins und Aschegehalts – Grüner Saft Luzerne Feed 02/01, Membran 15 kD	138

Abb. 73:	Permeatfluxverlauf während der Ultrafiltration von Silagesaft Feed 02/19, Membran 1 kD	139
Abb. 74:	Rohprotein- und Trockenmassegehalt während der Ultrafiltration von Silagesaft Feed 02/19, Membran 1 kD	140
Abb. 75:	Milchsäure und Aschengehalt während der Ultrafiltration von Silagesaft Feed 02/19, Membran 1 kD	141
Abb. 76:	Proteinabbau mittels Carboxypeptidase (Voet und Voet 1994)	142
Abb. 77:	Proteinabbau mittels Endopeptidase (Voet und Voet 1994)	143
Abb. 78:	Kalibrationskurve SDS-Page, Elektrophoretische Trennung der Proteine	145
Abb. 79:	Versuchsaufbau der SDS-PAGE	146
Abb. 80:	Lowry-Protein Gehalt im Frischgrassaft (Povoden 2002)	147
Abb. 81:	Lowryprotein in Grünen Säften im Verhältnis zur Trockenmasse (Povoden 2002)	148
Abb. 82:	Lowry-Proteingehalt der Retentate nach Ultrafiltrationen mit verschiedenem Molecular Weight Cut Off (MWCO) (Povoden 2002)	149
Abb. 83:	Lowry-Proteingehalt in Silagesäften (Povoden 2002)	150
Abb. 84:	Lowry-Proteingehalt Silagesäfte im Verhältnis zur Trockenmasse (Povoden 2002)	150
Abb. 85:	SDS-PAGE frischer Proben (DW, KLG, BRG), Gel 1. (Povoden 2002)	151
Abb. 86:	SDS-PAGE Luzerne-Saft, Gel 6 (Povoden 2002)	153
Abb. 87:	Zusammenfassung – Proteinabbau in Grassäften mittels SDS-Page nach den Parametern Zeit und Temperatur (Povoden 2002)	154
Abb. 88:	SDS-PAGE Silagesaft, Gel 5 (Povoden 2002)	155
Abb. 89:	Versuchssprühturm der Fa. LactoProt – Hartberg (Foto: Kornberg Institut)	158
Abb. 90:	Proteinkonzentrat aus Grünen Säften (Ultrafiltration) – sprühgetrocknet („abpackfertig“) – a) Luzerne (02/05); b) Bastardraygras (02/11) (Foto: Kornberg Institut)	159
Abb. 91:	Lyophilisiertes Proteinkonzentrat aus Grassäften (Hitzekoagulation/Zentrifugation) – a) Luzerne (02/07); b) Bastardraygras (02/14) (Fotos: Kornberg Institut)	160
Abb. 92:	Ergebnis der mikrobiellen Untersuchung der sprühgetrockneten Produktprobe (01/28) (Fa. LACTOPROT AG)	162
Abb. 93:	Aminosäurenspektrum Mittelwert der Produkte 01/13; 01/34; 01/22; 02/14; 02/11; 02/07; 02/05 (in % d. 16 gemessenen Aminosäuren)	166
Abb. 94:	Aminosäurenspektrum Mittelwert der Produkte 01/11; 01/28; 01/26 (in % d. 16 gemessenen Aminosäuren)	167
Abb. 95:	Aminosäurenprofil eines Blattproteinkonzentrats 01/26 im Vergleich zu Soja und Kartoffelprotein und dem Spektrum von Rubisco	169
Abb. 96:	Verhältnis von Aminosäuren zu Rohprotein gemessen in den Silagesäften 01/58; 01/59; 01/62; 01/63; 01/64; 02/19; 02/24; 02/26	170
Abb. 97:	Aminosäurespektrum in % der 16 gemessenen Aminosäuren als Mittelwert ausgewählter Silagepresssäfte der Jahre 2001 und 2002 (01/58; 01/59; 01/62; 01/63; 01/64; 02/19; 02/24; 02/26)	171
Abb. 98:	Fluxverlauf bei Variation des Eingangsdrucks (beim letztem Messpunkt bei Minute 425 sank der Flux auf Grund des zu geringen Kreislaufvolumens)	174
Abb. 99:	Der Flux bei einem Konzentrationsfaktor von 3 abhängig vom mittleren Membrandruck	175
Abb. 100:	Fluxverlauf in Abhängigkeit der Überstromgeschwindigkeit	176
Abb. 101:	Permeatflux in Abhängigkeit der Überströmgeschwindigkeit	176
Abb. 102:	Druckabfall in Abhängigkeit der Überstromgeschwindigkeit	176
Abb. 103:	Einfachpressung von Luzerne – Pressbilanz (Luzerne Probe B02/08; Saftprobe 01/02) – Bilanzerstellung aus Input und Saft	180
Abb. 104:	Bilanz der Ultrafiltration von Luzernesaft (02/01)	181

Abb. 105: Dissoziationsverhalten von Aminosäuren, Anteil der neutralen Zwitterionen bezogen auf 100 % des Gesamtanteils einer Aminosäure. Im Diagramm sind die 20 Kurven von einzeln in Wasser gelösten Aminosäuren dargestellt	189
Abb. 106: Mögliche Verfahrenskette zur Gewinnung einer aufgereinigten Aminosäurefraktion.	191
Abb. 107: Zusammensetzung des Ultrafiltrationspermeats von Bastardraygras 1.Schnitt 2002, Silage (02/20) und Anteil einer Auswahl freier Aminosäuren am Rohprotein	193
Abb. 108: Aminosäuren HPLC von Silagesaft (01/63), ohne Hydrolyse	193
Abb. 109: Aminosäuren HPLC von Silagesaft (01/63), mit Hydrolyse	194
Abb. 110: Discounted Cashflow Fall 3 (ohne Normaljahr) – Proteinkonzentrat aus Luzerne	221
Abb. 111: Cumulated Discounted Cashflow Fall 3 (ohne Normaljahr) – Proteinkonzentrat aus Luzerne	222
Abb. 112: Zusammensetzung der Trockenmasse eines Bastardraygras Silagesaftes der 1. Pressung 2002 (Probe 02/19) [% i. d. TM]	227
Abb. 113: Zusammensetzung der Trockenmasse von Melasse [% i. d. TM] (AMINO 2002)	228

7 Tabellenverzeichnis

Tab. 1	Verwendete Silagestarter der Saison 2001	20
Tab. 2	Proteinausbeuten aus Grünem Saft, Trenntechnologie Hitzekoagulation und Zentrifugation	30
Tab. 3	Proteinausbeuten aus Grünem Saft, Trenntechnologie Ultrafiltration MWCO 15 kD	32
Tab. 4	Protein und Aminosäureausbeuten durch Ultrafiltration von Silagesäften	34
Tab. 5	Inhaltstoffe von MAT für Mastkälber: Typ1/2 (Mehlmauer-Larchner 1988)	62
Tab. 6	Aminosäuren in Milchaustauscher	63
Tab. 7	Verwendete Silagestarter der Saison 2001	70
Tab. 8	Analytikerggebnisse des BAL-Gumpenstein – GBR-Silageversuche 2001 – TEIL 1	91
Tab. 9	Analytikerggebnisse des BAL-Gumpenstein – GBR-Silageversuche 2001 – TEIL 2	92
Tab. 10	Legende zu den Analytikerggebnissen des BAL-Gumpenstein – 2001	93
Tab. 11	Feststoffanalytik Jahr 2002 – BAL Gumpenstein Teil 1 (Rohprotein)	94
Tab. 12	Feststoffanalytik Jahr 2002 – BAL Gumpenstein Teil 2 (Rohprotein)	95
Tab. 13	Pressversuche 02: Errechnung der Durchsatzleistung in Abhängigkeit des Trockenmassegehaltes - Silage	96
Tab. 14	Pressversuche 02: Errechnung der Durchsatzleistung in Abhängigkeit des Trockenmassegehaltes - Grün	96
Tab. 15	Pressversuche 02: Errechnung des Stromverbrauchs in Abhängigkeit des Trockenmassegehaltes - Grün	97
Tab. 16	Pressversuche 02: Errechnung des Stromverbrauchs in Abhängigkeit des Trockenmassegehaltes - Grün	97
Tab. 17	Zusammenfassung der Fraktionierungsversuche 2002	98
Tab. 18	Zusammenfassung der Fraktionierungsversuche 2002	99
Tab. 19	Blattproteine (Boulter und Parthier 1982, Nultsch 2001)	101
Tab. 20	Aufteilung des Rohproteins in Luzernen (Alfalfa) und Raygras (Messmann et al. 1994)	102
Tab. 21	Ultrafiltrationsdurchgänge mit variiertem Eingangsdruck	115
Tab. 22	Ultrafiltrationsdurchgänge mit variiertem Überstromgeschwindigkeit	116
Tab. 23	Ultrafiltrationsdurchgänge mit variiertem Überstromgeschwindigkeit	116
Tab. 24	Ultrafiltrationsdurchgänge mit variiertem Überstromgeschwindigkeit	117
Tab. 25	Rohproteinerträge verschiedener Pflanzen (Kohler et al. 1983, eigene Daten)	120
Tab. 26	Proteinausbeuten aus Grünem Saft, Trenntechnologie Hitzekoagulation und Zentrifugation	121
Tab. 27	Proteinausbeuten aus Grünem Saft, Trenntechnologie Ultrafiltration MWCO 15 kD	122
Tab. 28	Protein und Aminosäureausbeuten durch Ultrafiltration von Silagesäften	124
Tab. 29	Zusammenfassung der Gesamtprotein – Analysen nach der Lowry Methode (Povoden 2002)	147
Tab. 30	Lane-Beschickung von Gel 1, Referenzproben (Povoden 2002)	152
Tab. 31	Löslichkeitsindex ausgewählter Proteinkonzentrate aus grünen Grassäften im Vergleich zu Handelsprodukten	161
Tab. 32	Proteinkonzentrate aus Grassäften, die im Laufe des Projekts erzeugt wurden	164
Tab. 33	Biologische Wertigkeit einiger Nahrungsproteine nach verschiedenen Methoden (Belitz 2001)	165
Tab. 34	Aminosäurespektrum der Proteinkonzentrate aus grünem Grassaft	168
Tab. 35	Aminosäurespektrum ausgewählter Silagepresssäfte der Jahre 2001 und 2002	172

Tab. 36	Druckparameter zur Auslegung einer Ultrafiltrationsanlage zur Gewinnung von Proteinen aus grünen Gras-Säften	174
Tab. 37	Druck- und Geschwindigkeitsverhältnisse gemessen zur Auslegung einer Anlage für die Abtrennung eines Proteinprodukts aus grünen Gras-Säften (u...Überströmgeschwindigkeit)	175
Tab. 38	Rückhaltung der einzelnen Fraktionen in Abhängigkeit des MWCO. Der Bilanzfehler gibt an, wie groß die Differenz zwischen der Masse des Stoffes X in Feed minus den Massen des Stoffes X in Permeat und Retentat bezogen auf den Feedanteil ist.	177
Tab. 39	Rückhaltung an der 1 kD Membran. Als Feed wird das Permeat aus dem 50 kD Durchgang eingesetzt.	177
Tab. 40	Auslegungsparameter einer UF-Anlage zu Abtrennung von Proteinen aus Luzernesaft – Variante 1 – Saft laut Versuch (02/01)	179
Tab. 41	Weltmarkt für Aminosäuren die als Futtermitteladditive verwendet werden (Anjinomoto 2002)	184
Tab. 42	Zusammenstellung der Aminosäuren nach Produktionsmengen, Verwendung und Produktionsart. (Leuchtenberger 1996)	185
Tab. 43	Gehalt an freien Aminosäuren und Gesamtaminosäuregehalt	195
Tab. 44	Investitionskosten einer Fraktionierungsanlage zur Abtrennung Luzernesaft aus Luzerne; Fall 1 und Fall 2	198
Tab. 45	Investitionskosten einer Fraktionierungsanlage zur Abtrennung Luzernesaft aus Luzerne; Fall 3	198
Tab. 46	Investitionskosten einer Ultrafiltrationsanlage zur Abtrennung von Proteinen aus Luzernesaft; Fall 1 und Fall 2	199
Tab. 47	Investitionskosten einer Ultrafiltrationsanlage zur Abtrennung von Proteinen aus Luzernesaft; Fall 3	199
Tab. 48	Investitionskosten einer Hitzekoagulation und Zentrifugation zur Abtrennung von Proteinen aus Luzernesaft; Fall 1 und Fall 2	200
Tab. 49	Investitionskosten einer Hitzekoagulation und Zentrifugation zur Abtrennung von Proteinen aus Luzernesaft; Fall 3	200
Tab. 50	Investitionskosten einer für die Herstellung eines Fermentationspromotors aus den flüssigen Rückständen der Proteinabtrennung; Fall 1 und Fall 2	201
Tab. 51	Investitionskosten einer für die Herstellung eines Fermentationspromotors aus den flüssigen Rückständen der Proteinabtrennung; Fall 3	201
Tab. 52	Investitionskosten einer für die Herstellung von Grünmehl aus den festen Rückständen (Presskuchen) der Proteinabtrennung; Fall 1	202
Tab. 53	Investitionskosten einer für die Herstellung Biogas aus den festen Rückständen der Proteinabtrennung; Fall 1 und Fall 2	202
Tab. 54	Investitionskosten einer für die Herstellung Biogas aus den festen Rückständen der Proteinabtrennung; Fall 1 und Fall 3	203
Tab. 55	Personalkosten für eine Proteinkonzentratproduktion aus Luzernesaft auf dem Standort der Fa. LactoProt; Fall 1	203
Tab. 56	Personalkosten für eine Proteinkonzentratproduktion aus Luzernesaft auf dem Standort der Fa. LactoProt; Fall 2	204
Tab. 57	Personalkosten für eine Proteinkonzentratproduktion aus Luzernesaft auf dem Standort der Fa. LactoProt; Fall 2	204
Tab. 58	Darstellung des WACC anhand von Annahmen	205
Tab. 59	Rohstoffkosten von Luzerne zur Verarbeitung in Proteinkonzentrat und Nebenprodukte Fall 1	206
Tab. 60	Rohstoffkosten von Luzerne zur Verarbeitung in Proteinkonzentrat und Nebenprodukte inkl. Biogas Fall 2	206
Tab. 61	Rohstoffkosten von Luzerne zur Verarbeitung in Proteinkonzentrat und Nebenprodukte inkl. Biogas Fall 3	207

Tab. 62	EBIT der Fraktionierung (Kosten inkl. Abschreibung) zur Gewinnung von Proteinen aus Luzerne Fall 1 und Fall 2	207
Tab. 63	EBIT der Fraktionierung (Kosten inkl. Abschreibung) zur Gewinnung von Proteinen aus Luzerne Fall 3	208
Tab. 64	EBIT der Ultrafiltration (Kosten inkl. Abschreibung) zur Gewinnung von Proteinen aus Luzerne Fall 1	208
Tab. 65	EBIT der Ultrafiltration (Kosten inkl. Abschreibung) zur Gewinnung von Proteinen aus Luzerne Fall 2	209
Tab. 66	EBIT der Ultrafiltration (Kosten inkl. Abschreibung) zur Gewinnung von Proteinen aus Luzerne Fall 3	209
Tab. 67	EBIT der Koagulation und Zentrifugation (Kosten inkl. Abschreibung) zur Gewinnung von Proteinen aus Luzerne Fall 1	210
Tab. 68	EBIT der Koagulation und Zentrifugation (Kosten inkl. Abschreibung) zur Gewinnung von Proteinen aus Luzerne Fall 2	210
Tab. 69	EBIT der Koagulation und Zentrifugation (Kosten inkl. Abschreibung) zur Gewinnung von Proteinen aus Luzerne Fall 3	211
Tab. 70	EBIT der Herstellung eines Fermentationspromotors aus dem Überstand der Koagulation und Zentrifugation (Kosten inkl. Abschreibung) Fall 1	211
Tab. 71	EBIT der Herstellung eines Fermentationspromotors aus dem Überstand der Koagulation und Zentrifugation (Kosten inkl. Abschreibung) Fall 3	212
Tab. 72	EBIT der Herstellung von Grünmehl aus dem Presskuchen (Kosten inkl. Abschreibung) Fall 1	213
Tab. 73	EBIT der Herstellung von Biogas aus dem Presskuchen (Kosten inkl. Abschreibung) Fall 2	213
Tab. 74	EBIT der Herstellung von Biogas aus dem Presskuchen (Kosten inkl. Abschreibung) Fall 3	214
Tab. 75	Wirtschaftlichster DCF Fall 1 – Proteinkonzentrat aus Luzerne Tabelle Teil 1	215
Tab. 76	Wirtschaftlichster DCF Fall 1 – Proteinkonzentrat aus Luzerne Tabelle Teil 2	216
Tab. 77	Wirtschaftlichster DCF Fall 2 – Proteinkonzentrat aus Luzerne Tabelle Teil 1	217
Tab. 78	Wirtschaftlichster DCF Fall 2 – Proteinkonzentrat aus Luzerne Tabelle Teil 2	218
Tab. 79	Wirtschaftlichster DCF Fall 3 – Proteinkonzentrat aus Luzerne Tabelle Teil 1	219
Tab. 80	Wirtschaftlichster DCF Fall 3 – Proteinkonzentrat aus Luzerne Tabelle Teil 2	220
Tab. 81	Shareholder Value Fall 3 – Proteinkonzentrat aus Luzerne	221
Tab. 82	Durchschnittswert des Aminosäurenmixes des Silagesaftpermeats 02/20 anhand von Richtpreisen der Fa. DEGUSSA AG bzw. eigenen Annahmen - Pharmaqualität	229
Tab. 83	Übersicht über die durchgeführten Analysen – Teil 1 (grüne Säfte 2001)	232
Tab. 84	Übersicht über die durchgeführten Analysen – Teil 2 (Silageäfte 2001)	233
Tab. 85	Übersicht über die durchgeführten Analysen (alle Säfte 2002)	234
Tab. 86	Grundanalytik, Teil 1	235
Tab. 87	Grundanalytik, Teil 2	236
Tab. 88	Grundanalytik, Teil 3	237
Tab. 89	Zusammenfassung Stickstoffanalytik, Teil 1	238
Tab. 90	Zusammenfassung Stickstoffanalytik, Teil 2	239
Tab. 91	Zusammenfassung Stickstoffanalytik, Teil 3	240
Tab. 92	Annorganische Analytik, Teil 1	241
Tab. 93	Annorganische Analytik, Teil 2	242
Tab. 94	Annorganische Analytik, Teil 3	243

Tab. 95	Analytik, freie Aminosäuren, Teil 1	244
Tab. 96	Analytik, freie Aminosäuren, Teil 2	245
Tab. 97	Analytik, freie Aminosäuren, Teil 3	246
Tab. 98	Analytik, Aminosäuren nach Hydrolyse der Proteine, Teil 1	247
Tab. 99	Analytik, Aminosäuren nach Hydrolyse der Proteine, Teil 2	248
Tab. 100	Analytik, Aminosäuren nach Hydrolyse der Proteine, Teil 3	249
Tab. 101	Analytik, Zucker und organische Säuren, Teil 1	250
Tab. 102	Analytik, Zucker und organische Säuren, Teil 2	251
Tab. 103	Analytik, Zucker und organische Säuren, Teil 3	252

Anhang A bis K

**Grüne Bioraffinerie -
Gewinnung von Proteinen aus Grassäften**

Anhang A

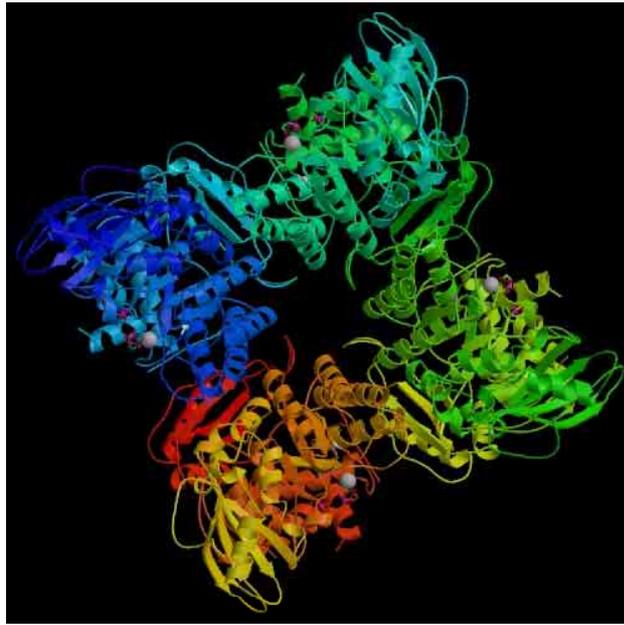
Ausgangssituation – Proteine für Milchaustauscher

1 Proteine aus Gras- und Silagesäften für Milchaustauscher

Proteine sind hochwertige Bestandteile der Ernährung von Mensch und Tier. Aber auch für technische Anwendungen (z.B. Klebstoffe) und im Pharma- und Kosmetikbereich (z.B. Emulgatoren) sind sie eine wichtige Produktgruppe. Bisher wurde weltweit ausschließlich die Abtrennung von Blattproteinen aus grünen Pflanzen untersucht. Die Ergebnisse zeigen, dass diese Proteine hohes Potenzial besitzen, um in den erwähnten Einsatzgebieten Eingang zu finden. Allerdings haben die bisherigen Methoden den Nachteil ausschließlich auf frische Grünpflanzen zu fokussieren. Dies erfordert kostenintensiven Kampagnenbetrieb und ist daher in den meisten Fällen und speziell als Einproduktsystem nicht wirtschaftlich. Die „Spezialität“ der Österreichischen Grünen Bioraffinerie ist daher die Verarbeitung von Grassilage als Proteinquelle.

Dieses Projekt kann auf ein Vorprojekt, das in Bund-Bundesländer Kooperation (BBK) gefördert wurde zurückgreifen. In diesem Projekt wurde eine prinzipielle wirtschaftliche Modellierung vorgenommen. Außerdem wurden Rohstoffparameter von Wiese und Silage erfasst (Kromus et al. 2002). Darauf aufbauend wird in diesem „Fabrik der Zukunft“ Projekt detaillierte Produktentwicklung vorgenommen.

In diesem Projekt wird demnach untersucht, wie und ob es möglich ist aus Graspresssaft bzw. Silagepresssaft eine Proteinfraction abzutrennen, die als Futtermittel (Ersatz von Sojaschrot als Eiweißlieferant, hochwertiges Proteinkonzentrat in Milchaustauscher) geeignet ist. Neben Saft aus frischer Grünlandbiomasse wurde im besonderen Saft aus gepresster Grassilage untersucht. Silagesaft hat gegenüber frischem grünen Saft den Vorteil, dass er unabhängig von Erntezeitpunkten über das ganze Jahr verfügbar ist. Die Untersuchungen zum Silagesaft liefern völlig neue Erkenntnisse da es bisher keine Applikationen für einen solchen Rohstoff gab.



**Abb. 21: RUBISCO das Blattprotein – das häufigste Protein der Welt
(Quartäre Struktur)**

1.1 Proteinkonzentrate als Proteinquelle für ein Milchaustauscher Futter

Der Einsatz von Blattproteinkonzentraten als Eiweiß- bzw. Aminosäurenquelle für ein Kälbermastfuttermittel wäre eine hochwertige und damit wirtschaftlich interessante Nutzung des Grasrohstoffes.

Mastkälber müssen bis zum Schlachten monogastrische Tiere bleiben, wenn die vom Markt geforderte weiße Fleischfarbe erhalten bleiben soll. Dies ist nur möglich wenn die Kälber während der ganzen Mastperiode mit flüssiger Nahrung gefüttert werden. Die Fütterung wird dabei den Verdauungsvorgängen des Säuglingsalters angepasst.

Das Mastfuttermittel Milch ist sehr teuer, weshalb sie, mit Ausnahme der Biestmilch, in der Kälbermast nicht mehr häufig zum Einsatz kommt. Des weiteren ist die Vollmilch bei der über 100 kg hinausgehenden Mast kein ideales Mastfutter mehr. Der größte Teil aller Kälber wird daher mit Milchaustauscherfuttermitteln gemästet. Die Tiere erreichen so höhere Zuwachsraten als kuhmilchernährte Tiere. Die Milchaustauscherfuttermittel sind überwiegend aus Trockenmilchprodukten zusammengesetzt und durch Verwendung von milchfremden Fetten billiger als Vollmilch. Der Zusatz von Wirkstoffen sichert außerdem die vollwertige Ernährung der Kälber (Knaus 1992).

Die Kälbermast wird in zwei Abschnitte eingeteilt:

3. Im ersten Abschnitt liegt das Augenmerk auf der Verträglichkeit. Milcheiweiß kann mit eigenen Enzymen (Chymosin) gespalten werden, andere Eiweißsorten benötigen Pepsin. Fremdfett wird gut vertragen.
4. Im zweiten Abschnitt ist ein hoher Energieinhalt und der Preis wichtig. Fremdproteine können nun mit selbstgebildeten Enzymen abgebaut werden.

Die typische Zusammensetzung eines Milchaustauschers (Tab. 5) erhält man durch Mischung mehrerer Zutaten.

Tab. 5 Inhaltstoffe von MAT für Mastkälber: Typ1/2 (Mehlmauer-Larchner 1988)

	Typ 1	Typ 2
Rohprotein, %	min 22	17
Rohfett, %	12-30	15-30
Rohfaser, %	max 1,5	2
Rohasche, %	max 10	10
Milchpulver, %	min 50	25
darunter BMP, %	max 25	25

Neben Milchpulver kommen unterschiedliche Protein- und Kohlenhydratquellen in Frage. Ein vollständiger Ersatz der Trockenmagermilch im Milchaustauscherfutter (MAF) kann nur über geeignete Kombinationen mehrerer Proteinarten die sich in ihrem Futterwert ergänzen, erzielt werden. Hier kommt vor allem ein auf Soja basierendes Proteinkonzentrat (entfettete Sojaflocken, ausgewaschene Oligosaccheride) zum Einsatz das mit anderen Proteinquellen (z.B. Kartoffel oder Molke) ergänzt wird.

Tab. 6 Aminosäuren in Milchaustauscher

Rohprotein, %	22	18
Rohfett, %	15	22
Lysin, %	1,7	1,4
Met, %	0,6	0,5
Met+Cys, %	1	0,75

Problematisch für den Einsatz als Milchaustauscherbestandteil ist der Gehalt an

1. milchfremden Zuckern, besonders Oligosaccheride,
2. Substanzen (z.B.: bestimmte Sojaproteine), die das Immunsystem aktivieren,
3. Enzymhemmende Substanzen (Trypsininhibitoren) und
4. hohe Ascheanteile.

Ersteres liegt am Enzymsystem des Kalbes, welches anfangs nur über das milchzuckerspaltende Enzym Lactase verfügt und daher nur Laktose spalten kann bzw. deren Monosaccharide Glucose und Galactose effizient nutzen kann. Nicht absorbierte Zucker führen zu Spontandurchfall und erleichtern infektiösen Keimen die Ansiedlung im Darmkanal.

Aufgrund von Immunsystemaktivierung und den beinhalteten enzymhemmenden Substanzen können Sojakonzentrate nicht als alleinige Proteinquelle eingesetzt werden.

Ein erhöhter Ascheanteil über 10 % wird für Diarrhöe-Fälle verantwortlich gemacht.

Als Proteinquelle der heute verwendeten Milchaustauscher dienen speziell behandelte Sojakonzentrate. Durch Hitzebehandlung werden Proteaseninhibitoren und Hämagglutinine. Unschädlich gemacht. Oligosaccheride werden ausgewaschen. Zur Verminderung der antigenen Effekte erfolgt eine Behandlung mit heißem Ethanol (Knaus 1992).

Im Rahmen des Projekts wurde untersucht, inwieweit Proteinprodukte, die diese Anforderungen erfüllen aus Gras- bzw. Silagesäften technologisch und wirtschaftlich herstellbar sind. In Bezug auf Produkte aus frischen Grassäften existiert ausführliche Literatur (siehe Kromus et al. 2002), wobei für den Fall der Gewinnung von Proteinen aus Silagesäften keine Vorarbeiten existieren.

Ein wesentlicher Punkt bei der Auswahl von geeigneten Rohstoffen sind auch etwaige toxisch oder antinutritiv wirkende Substanzen, deren Untersuchung als Literaturrecherche durchgeführt wurde.

2 Toxische und Antinutritive Substanzen in Gras- bzw. Silageproteinprodukten

Die Herkunft toxischer bzw. antinutriver Substanzen oder deren Vorläufer kann drei verschiedenen Quellen zugeordnet werden:

4. der(n) angebauten Futterpflanze(n)
5. Beikräutern („Unkräutern“)
6. sonstigen Quellen (z.B. Dünger)

Die Auswahl der untersuchten Feldpflanzen richtet sich nach der Tatsache, dass in diesem Projekt einerseits gemischte Dauerwiesen mit verschiedenen Grassorten (Fam. Poaceae) mit nicht genau definierten Beikräutern, andererseits Wechselwiesen (1-3 jähriger Feldfutteranbau oder Zwischenfruchtanbau) mit einem definierten Gemisch aus Poaceae und Kleesorten und drittens reines Feldfutter (Feldfutterbau mit einer einzelnen Art; z.B. Luzerne oder Raygras) untersucht wurde.

Die untersuchten Feldpflanzen sind Luzerne (*Medicago sativa*) und Trifolium Arten (z.B.: Rotklee, *Trifolium pratense*) und verschiedene Poaceae Arten (z.B.: Bastardraygras, *Lolium hybridum*). Für deren Bewertung bezüglich unerwünschter Pflanzeninhaltsstoffe werden Untersuchungen dieser Pflanzen beziehungsweise Untersuchungen dieser Pflanzengruppen oder einzelner Spezies (die mit den oben genannten verwandt sind) dieser Pflanzengruppen herangezogen.

In kommerziellem Saatgut (und auch in zur Gewinnung von Protein geeigneten Arten) für den Feldfutteranbau sind vor allem Vertreter der Lolium-, Trifolium- und Festuca-Arten vertreten. In den extensiven Dauerwiesen gibt es ein breites Spektrum mit Vertretern aller Poaceae.

Bei- und Unkräuter sind vor allem in späteren Nutzungsjahren einer Feldfutterwiese und insbesondere bei Dauerwiesen zu finden. Je intensiver die Wiese genutzt wird (mehr Schnitte, auf die Futterpflanze optimierte Düngung...) umso schwieriger ist der Konkurrenzkampf dieser begleitenden Pflanzengesellschaft. Typische giftige Beikräuter werden bei der Nutzung der Wiese als Weidefläche aber auch bei Heufütterung meist von Kühen erkannt und ausgeleckt. Trotzdem kommt es immer wieder zu Vergiftungen und Beeinträchtigungen der Milchqualität.

Auch Dünger und hier vor allem Stickstoffdünger kommt als Vorläufer toxischer Substanzen in Frage.

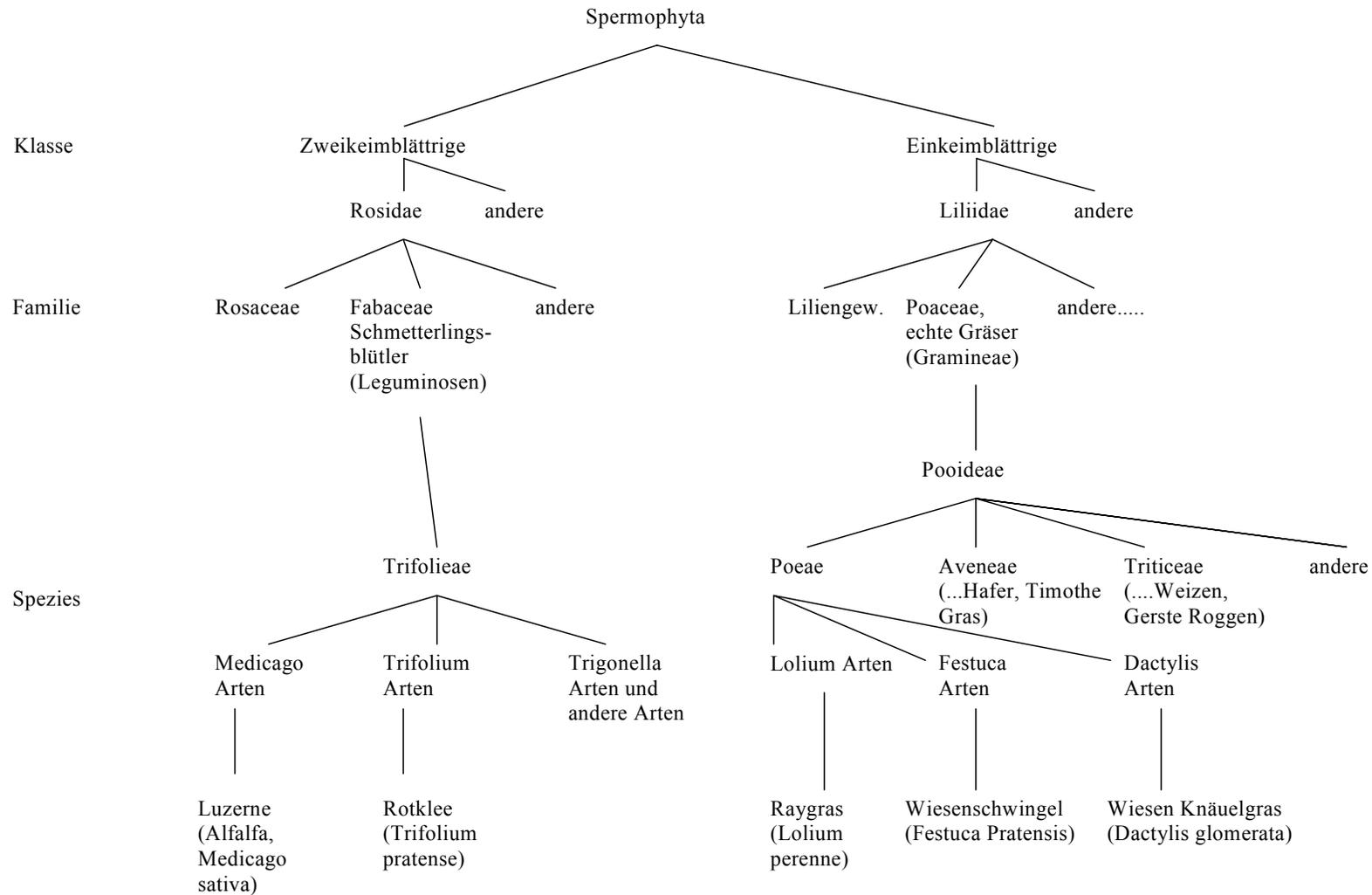


Abb. 22: Vereinfachtes Schema der Verwandtschaftsverhältnisse der untersuchten Pflanzen (Adler et al. 1994)

2.1 Toxische und Antinutritiv wirkende Stoffgruppen

2.1.1 Cyanogene Verbindungen

Besondere Beachtung ist den Cyanogenen Glycosiden (CG) beizumessen. Diese blausäurehaltigen Verbindungen bestehen aus einer Aminosäure und einer Zuckerkomponente. Diese zählen zu den antinutritiven Substanzen (Maidt-Kohnert et al. 2001a).

Bei der mechanischen Zerstörung des Pflanzengewebes können durch enzymatische Hydrolyse der CG Cyanhydrine gebildet werden, die sofort weiter zerfallen, wobei Blausäure entsteht.

Vor allem Leguminosen sind reich an säureabspaltenden Glykosiden. Frische *Medicago sativa* (Luzerne) beinhalten 2 ppm Cyanid. Dieser Wert kann als sehr gering angenommen werden (einige *Lotononis*arten beinhalten 1200 ppm und sind für das Vieh toxisch. Einige tropische *Acacieae* Arten bilden bis zu 30.000 ppm (Hegnauer 2001).

Bei übermäßigem Verzehr von Erbsen (*Lathyrus* Arten) kann es zur sogenannten Kicherbsenvergiftung (*Lathyrismus*) kommen, verursacht durch Aminosäurederivate die durch die reaktive Blausäure entstehen. CG sind in Größenordnungen von 0,5 – 5 g/kg in Kernen von Äpfeln, Leinsamen, Limabohnen und Sorgumhirse (0,3 bis 2,5 g/kg) vorhanden.

Bei den Feldpflanzen der Grünen Bioraffinerie ist der Gehalt an Cyanogenen Glycosiden gering bis vernachlässigbar. Der Eintrag von cyanogenen Verbindungen durch Beikräuter würde bei einer großtechnischen Produktion so verdünnt werden, dass der Rohstoff eines einzelnen besonders belasteten Feldes nur einen geringen Einfluss hat.

2.1.2 Glucosinolate (Senfölglycoside)

Senfölglycoside zählen zu den schwefelhaltigen sekundären Pflanzeninhaltsstoffen mit anticancerogenen, antimikrobiellen, aber auch hepatoxischen und goitrogenen (Kropffördernden) Eigenschaften. Es sind ca. 100 in der Natur vorkommende Glucosinolate bekannt, von denen bis zu 20 in den für Menschen ernährungsspezifischen Gemüsesorten vorkommen (z.B. Kohlrabi 1 g/kg Frischmasse, Brokkoli 0,8 g/kg Frischmasse).

Glycosinolatbauprodukte können auch aromaintensiv (z.B. Allylithiocyanat (AITC) des Meerrettichs) oder enzyminhibitorisch wirken (Maid-Kohnert et al. 2001b).

Auch in Rapsschrot wurde ein toxisches Glucosinolat (Goitrin) gefunden (Telek und Graham 1983).

Es gibt keine Hinweise auf bedenkliche natürlich vorkommende schädliche Glucosinolate in den untersuchten Feldpflanzen. Geringe Konzentrationen durch Beikräuter werden als unbedenklich eingeschätzt.

2.1.3 Nitrat, Nitrit und Nitrosamine

Nitrosamine gelten als extrem cancerogen. Die Bildung erfolgt ausgehend von Nitrat oder N-Verbindungen (Aminosäuren, Aminen, etc.) über Nitrit zu Nitrosaminen. Der erste Schritt von Nitrat zu Nitrit kann auch im oralen Bereich (mit Hilfe von reduzierendem Speichel) erfolgen.

Die Entstehungswege von Nitrosaminen sind nicht bis ins letzte Detail geklärt, klar ist aber, dass hohe Nitrat und Nitritanteile die Nitrosamingefahr erhöhen. Nitrite reagieren mit Hämoglobin zu Methemoglobin und sind toxisch.

Für Pflanzenproteinkonzentrate als Fütterungsmittel ist daher besonders darauf zu achten, dass das Rohmaterial möglichst nicht Nitrat belastet ist (negatives Extremum: Ernte nach einer Nitratdüngung). Weiters muss einer mikrobiellen Reduktion zu Nitrit während der Lagerung gegengesteuert werden (z.B. durch qualitativ hochwertige Silagen).

2.1.4 Oxalate

Bekannt sind Oxalsäurevergiftungen beim Genuss von jungen Rhabarberpflanzen in denen es als Kaliumoxalat vorkommt. Oxalate haben einen negativen Einfluss auf den Kalziumhaushalt.

In den relevanten Feldpflanzen ist der höchste Oxalsäuregehalt beim ersten Schnitt zu erwarten. Ein relevanter Gehalt ist aber nicht zu erwarten.

Bei den Beikräutern und hier vor allem bei Ampfer (Rumex Arten) sind höhere Oxalatanteile zu erwarten. Ob es hier (Wiesen mit über 20% Ampferanteil) zu bedenklichen Werten kommt ist zu überprüfen. Allerdings ist es aus ökologischen Gründen Ziel der Grünlandbewirtschaftung den Ampferanteil gering zu halten. Grünland mit hohen Ampferanteilen sollten über das Qualitätsmanagement ausgesondert bzw. saniert werden.

2.1.5 Pflanzliche Östrogene (Isoflavone)

Pflanzenöstrogene (darunter auch Isoflavone) kommen vor allem in Leguminosen, also auch in Klee vor. Ein hoher Gehalt in den untersuchten Feldpflanzen ist vor allem durch Kleearten zu erwarten (Telek und Graham 1983). Bedenklich sind diese Stoffe vor allem in der Kälberaufzucht (Milchaustauscher) darüber hinaus gelten Isoflavone allerdings als positive Begleitstoffe.

Typische Gehalte in tropischen Hülsenfrüchten:

- Sojabohne >1,2 g/kg Frischmasse (FM)
- Mungobohnenkeimlinge >2,6 g/kg FM

(Maid-Kohnert et al. 2001c).

Im Falle der Nutzung von Grünmasse bzw. Silage Proteinen müsste demnach durch das Qualitätsmanagement geklärt werden, inwieweit Grenzwerte überschritten werden können. Bei hohen Gehalten an Pflanzenöstrogenen kann auch daran gedacht werden diese als Wertstoff zu gewinnen (z.B. Isoflavone aus Rotklee).

2.1.6 Toxische bzw. Antinutritive Aminosäuren

Neben den 20 proteinogenen Aminosäuren sind in Pflanzen eine große Anzahl von freien nicht-proteinogenen Aminosäuren zu finden. Einige dieser Aminosäuren sind auch toxisch.

In den untersuchten Säften wurde neben den 20 proteinogenen Aminosäuren eine zusätzliche Aminosäure, 4-Amonobuttersäure (GABA) gefunden. GABA ist bekannt als Neurotransmitter. Im Handel sind GABA-Präparate rezeptfrei erhältlich. Wie man aus den HPLC-Bildern aus der Aminosäurenanalyse sehen kann (siehe Anhang H, Kapitel 3.3.2) ist der Gehalt an weiteren unbekanntem Aminosäuren als gering einzuschätzen.

Prinzipiell ist bei Pflanzen auf Canavanin zu achten. Canavanin gehört zu den am intensivsten untersuchten nicht proteinogenen Aminosäuren. Dafür gibt es verschiedene

Ursachen. Es kristallisiert gut, kommt in Samen oft in relativ großen Mengen vor, ist papierchromatographisch leicht und spezifisch nachweisbar und für viele Organismen mehr oder weniger toxisch. Dazu kommt das bei dieser basischen Aminosäure die Akkumulation offenbar auf eine Unterfamilie der Leguminosen, die Papilionoideae, beschränkt ist. Die Speicherung erfolgt in den Samen (Hegnauer 1994).

2.1.7 Alkaloide

Alkaloide sind Endprodukte des pflanzlichen sek. Stoffwechsels, die keinem nennenswerten Abbau unterliegen. Sie häufen sich an, weil den Pflanzen Ausscheidungsorgane fehlen. Die meisten Alkaloide wirken in höheren Dosen lethal (Maid-Kohnert et al. 2001c).

Gewisse für weidendes Vieh toxische Graspopulationen erzeugen diese Gifte nicht selbst, sondern sie werden erst nach Infektion durch bestimmte Mikroorganismen giftig. Das gilt beispielsweise für die Claviceps Arten und weitere Pilzsippen, die in den Fruchtständen zahlreicher Gräser Mutterkornalkaloide bilden, die tremorigene Neurotoxine von *Lolium Perenne* (Lolitremer-A bis D verursachen Ryegrass-stagger). (Hegnauer 1986).

Alkaloide sind in unseren Feldpflanzen, die vor der Samenausbildung geerntet werden, nicht in relevanten Konzentrationen zu erwarten. Die großflächige Infektion der Anbauflächen durch Mutterkornalkaloidbildner ist zu überprüfen. Alkaloidgehalte durch Beikräuter sind vor allem bei Extensivwiesen nicht auszuschließen, werden aber mit steigender Größe einer eventuellen Verarbeitungsanlage verdünnt.

2.1.8 Saponine

Luzerne sind reich an Saponinen, welche zu einer Verminderung der biologischen Wertigkeit führen können (Telek und Graham 1983).

Bei einer typischen Wiese für eine Grüne Bioraffinerie bzw. bei den hergestellten Proteinkonzentraten ist vor allem auf Nitrat, Nitrit als Vorläuferstoffe für die sehr toxischen Nitrosamine zu achten. Die Belastung durch toxische Substanzen (Alkaloide, etc.) in Begleitkräutern kann durch ein gutes Qualitätsmanagement (Schnittzeiten vor der Ausbildung von Samen der Beikräuter, Düngung optimiert auf die Nutzpflanze, Ampferbekämpfung, etc.) gering gehalten werden. Zusätzlich kann der statistische Ausreißer, wie die „Belastung einer Wiese mit einem giftigen Beikraut“ durch logistische Maßnahmen während der Verarbeitung in der Grünen Bioraffinerie entschärft (Verdünnung) werden.

Die Proteinabtrennung durch Koagulation oder Ultrafiltration führt eher zu einer Abreicherung der obigen toxischen Substanzen als zu einer Anreicherung.

Anhang B

Rohstoffe zur Gewinnung von Proteinen aus Gras- und Silagesäften

1 Grünlandbiomasse und Grassilage als Rohstoff zur Herstellung von Proteinprodukten

Obwohl die Feldversuche zur Grünen Bioraffinerie primär im Steirischen Vulkanland (Bezirk Feldbach, Steiermark.) erfolgten, kann hier zunächst keine pflanzensoziologische Beschreibung der Wiesen erfolgen. Die Einteilung erfolgt lediglich in (vgl. Kromus et al. 2002):

- Dauerwiesen
- Wechselwiesen (Feldfutterbau als Klee-Gras dominierter Bestand)
- Sämereienwiesen (Monokulturen)
- Leguminosenanbau (Beispiel Luzerne)

All dieses Grünland kann ein wesentlicher und interessanter Rohstofflieferant für die Grüne Bioraffinerie sein. Besonderes Augenmerk wurde bei der Auswahl auf die Simulation von "Realbedingungen", d.h. Bedingungen, wie sie für eine Grüne Bioraffinerie relevant sind, gelegt. Ziel der Versuche war es Silagen mit hohen Milchsäure- und Proteingehalten zu erzeugen und eine prozesstechnische Vorauswahl zu treffen.

1.1 Bevorzugte Flächen für die GBR-Rohstoffversuche in Feldbach

- Hügelland oder Seitentäler der Raab mit keiner bis mittlerer Hangneigung (0 – 10°)
- Böden mit mäßiger bis mittlerer Erosionsgefahr (Böden mit hoher Erosionsgefahr können bei Erfolg der Bioraffinerie zusätzlich einbezogen werden)
- Böden sollten schwach sauer bis sauer sein (75 % der Böden in Feldbach)
- Die Bewirtschaftung sollte nicht durch zu große Feuchtigkeit, Dichtlagerung und zu große Hangneigung behindert werden

Für die Versuche im Jahr 2001 wurden interessante Flächen ausgewählt. Leider konnte für die Versuche 2001 keine entsprechende Dauerwiese (mittelintensiv ohne Ampferproblem) gefunden werden. Daher wurde die Gelegenheit ergriffen eine höher gelegene (800 m) Dauerwiese in der Obersteiermark bei Admont in Kooperation mit der BAL-Gumpenstein zu bewirtschaften. Es wurden insgesamt vier Flächen ausgewählt:

1.2 Versuchsflächen in den Jahren 2001 und 2002

5. Gumpensteiner Bastard – Raygraswiese – Sämereienwiese (verwendete Abkürzung: **BRG01**) (1. Schnitt nur Ertragsprobe) – 3. Schnitt Silierung
6. Klee-graswiese – Feldfutter – ÖAG-Mischung "IM" – 1. und 2. Schnitt Silierung (verwendete Abkürzung **KLG01**) (3. Schnitt nur Ertragsprobe)
7. Dauerwiese-Obersteiermark bei Admont - Buchau (verwendete Abkürzung **DW01 bzw. DWB01**) – 1. Schnitt Silierung
8. Knautgraswiese – Sämereienwiese (verwendete Abkürzung **KG01**)

Besonders die ÖAG-Mischung IM eignet sich hervorragend für die Silierung. Der relativ hohe Anteil an Raygräsern sorgt für ein intensives Wachstum hohe Zuckergehalte (gute Silierfähigkeit). Diese ÖAG-Mischung hält in milden Lagen bei nicht zu langer Schneelage

zwei Winter durch (1 bis 2 Hauptnutzungsjahre). Diese Feldfutter-Intensivwiese kann 4 bis 6 mal pro Jahr gemäht werden.



Abb. 23: Wechselwiese Klee gras (KLG) in Auersbach, Stmk. – Rohstofflieferantin der Jahre 2001 und 2002 (Foto: Joanneum Research)

Silagen der oben beschriebenen Grünlandbiomasse wurden mit Silagestarterkulturen des IFA Tulln beimpft (ca. 10^5 cfu/g FM).

Tab. 7 Verwendete Silagestarter der Saison 2001

IFA-M2	Stammischung des IFA-Tulln
IFA-S3	Stammischung des IFA-Tulln

Die Gewinnung der Rohstoffe im Jahr 2001 wurde bereits ausführlich in Kromus et al. (2002) diskutiert.

Im Jahr 2002 wurde als Ergänzung zu den bewährten Flächen (Bastardraygras einer Sämereienwiese und Klee gras Wechselwiese) eine Luzernefläche in Großsteinbach (Bez. Hartberg) einbezogen. Als Starterkultur wurde das kommerziell erhältliche „BonSilage“ (ca. 10^5 cfu/g FM) der Firma LACTOSAN eingesetzt. Die Zusammensetzung der einzelnen Rohstoffe, mit Fokus auf die Proteingewinnung, sind im Annex, Anhang C zu finden.

Es wurden für die Versuche 2002 sechs Siloballen Klee gras, 1. Schnitt und drei Siloballen Bastardraygras, 1. Schnitt erzeugt. Für die Versuche mit frischer Grünmasse wurden zwei Ballen (ca. 500 bis 600 kg FM) Luzerne, 1. Schnitt, sechs Ballen Klee gras, 2. Schnitt und drei Ballen Bastardraygras, 2. Schnitt erzeugt.

Anhang C

Gewinnung von Protein reichen Säften in den Jahren 2001 und 2002

1 Fraktionierung im Jahr 2001

Im bereits erwähnten Vorprojekt (Kromus et al. 2002) konnten wesentliche Technologien theoretisch erhoben und zum Teil in der Praxis erprobt werden. Diese Vorarbeiten waren die Grundlage für die Auswahl der Fraktionierungstechnologie, wie sie in diesem Projekt zur Anwendung kam.

Aufgrund der Vorversuche im September 2000 und März 2001 (Kromus et al. 2002) konnte festgestellt werden, dass Schneckenpressen für das Auspressen von Anwelksilagen prinzipiell geeignet sind. Mit der Fa. HERNACH, einem Krenverarbeiter im Süd-Westen des Bezirks Feldbach (Grasdorf) konnte ein im Fraktionieren von Pflanzenrestmassen erfahrener Partner gefunden werden. Alle Pressversuche der Saison 2001 wurden deshalb bei der Fa. HERNACH durchgeführt.

Diese Kooperation war auch deshalb wichtig, da es für die Produktabtrennungsversuche unbedingt notwendig war entsprechende (halbtechnische) Mengen Presssaft zu erzeugen. So konnten pro Pressung bis zu 300 kg Presssaft aus Frischmasse (Grüner Saft) und Silage (Silage Saft) erzeugt werden.

Durch die wichtigen Erfahrungen dieser Pressversuche war es möglich für das Jahr 2002 bereits einen weiteren Optimierungsschritt zu gehen bzw. die Presstechnik ausschreibungsreif vorliegen zu haben.

1.1 Vorbehandlung – Häckseln

Bei der Futtermittelfirma Egger in Mitterlabill konnte ein leistungsfähiger Standhäcksler angemietet werden. Folgender Häcksler wurde benutzt:

- Buchmann, Epple Blasius 1040, Motordrehzahl 700 U/min

Das Gerät ist mit sechs Schneidmessern ausgestattet und wurde mit zwei Umlaufgeschwindigkeiten der Schneidwalzen, betrieben.



Abb. 24: Standhäcksler der Fa. Egger-Futtermittel (Foto: Joanneum Research)

1.2 Versuchsdurchführung Pressversuche 2001

Es handelt sich bei der Presse der Fa. HERNACH um ein Modell der Fa. PONNDORF Typ 403 BJ 1984 mit 9,3 kW_{el}. Nachdem die Pressversuche generell sehr gut verlaufen sind, wurde der Kontakt zur Fa. PONNDORF intensiviert und Angebote für GBR-Pressen wurden eingeholt.



Abb. 25: Versuchspresse der Fa. Hernach in Grasdorf (Stmk.) (Foto: Joanneum Research)

Pro Versuch wurden ca. 500 kg Material, Frischgras bzw. Silage abgepresst. Der entstandene Saft (bis 300 kg) wurde sofort auf 10 bis 12° C abgekühlt und innerhalb einer Stunde auf 4° C gebracht, in desinfizierte und lebensmittelechte 20 l HDPE Kanister abgefüllt und für ca. 12 bis 24 h bei -2° C gelagert bzw. gleich bei -21° C tiefgefroren. Es ist anzunehmen, dass bei -21° C tiefgefrorener Saft zumindest ein Jahr lagerfähig ist.

Durch diese Arbeitsweise sollte Proteolyse verhindert werden. Somit wurde ein Saft erhalten, der in annähernd nativem Zustand analysiert werden kann - allerdings mit der Einschränkung der Reaktionen, die durch das Einfrieren hervorgerufen werden.

Der Presskuchen wurde in Big Bags aufgefangen und zum JR-RIF Hartberg verbracht, wo er zunächst luftgetrocknet und zwischengelagert wurde. Teile des getrockneten Presskuchens wurden dann für die Hydrolyseversuche des IFA-Tulln herangezogen.

1.3 Ergebnisse der Pressungen 2001

Es wurde sowohl Grünlandbiomasse als auch Grassilage verarbeitet. Die eingesetzten Massen und wesentlichen Ergebnisse sind in Abb. 26 aufgezeigt.

Grünlandbiomasse	Grassilage
2100 kg (460 kg TM)	3900 kg (1450 kg TM)
	

- 1100 kg Grüner Saft mit
- ø 6,1 % TM
- 1000 kg Grüner Presskuchen mit
- ø 39 % TM
- ø Abpressgrad: 63 % (Feuchte)
- 1480 kg Silage Saft mit
- ø 16,1 % TM
- 2430 kg Silage Presskuchen mit
- ø 51 % TM
- ø Abpressgrad: 50 % (Feuchte)

Abb. 26: Grüne Bioraffinerie Pressversuche 2001: eingesetzte Massen und Ergebnisse (TM = Trockenmasse)

Es wurden in den Monaten Mai bis September 2001 14 erfolgreiche Pressungen durchgeführt. Die gewonnene Saftmenge betrug pro Pressung zwischen 70 und 300 kg. Der durchschnittliche Abpressgrad bei der frischen Grünlandbiomasse betrug 63 %, der Abpressgrad bei Grassilage 50 %.

Das Inputmaterial Grün war mit einem durchschnittlichen TM Gehalt von 22 % eingebracht worden, die Silage mit 38 %. Der Grüne Presskuchen war mit ca. 39 % TM entsprechend feuchter als der Silagepresskuchen mit durchschnittlich 51 %.

Die gefundene Trockenmasse im Saft im Verhältnis zur Trockenmasse des Ausgangsmaterials war bei Grünmasse und Grassilage mit 15,8 bzw. 15,5 % annähernd gleich. Die Relation TM Saft zu FM Input war aber für Grün nur 3,2 % und für Silage immerhin 5,6 %. Dies bedeutet, dass im Falle der Verarbeitung von Grünmasse ca. 75 % mehr Masse umgesetzt werden muss, um die selbe Menge Trockenmasse im Saft zu erhalten.

Alle Silagepressungen mit einem TM Gehalt des Ausgangsmaterials bis 42 % waren als problemlos einzustufen. Bei trockenerem Material bzw. Material mit hohen Rohfaserwerten wurde dieses Modell einer Schneckenpresse teilweise überbeansprucht. Im Rahmen des Grüne Bioraffinerie Projekts kann aber nun davon ausgegangen werden, dass Silage mit einem TM Gehalt von 30 bis 40 % problemlos abgepresst werden kann.

1.3.1 Proteinbilanzen

Proteine sollten sowohl aus frischer Grünlandbiomasse als auch aus Silage gewonnen werden. Zum Einsatz kam Rohmaterial von jeweils den oben beschriebenen Wiesen (Anhang B).

Die Ausbeute an Rohprotein aus Grünlandbiomasse betrug im Mittel 22,1 %, die für Silage 26,9 % (Abb. 27 und 28). Dies zeigt, dass durch die vorherrschende Proteolyse in der Silage trotz höherer Trockenmassegehalte höhere Rohproteinausbeuten zu erwarten sind.

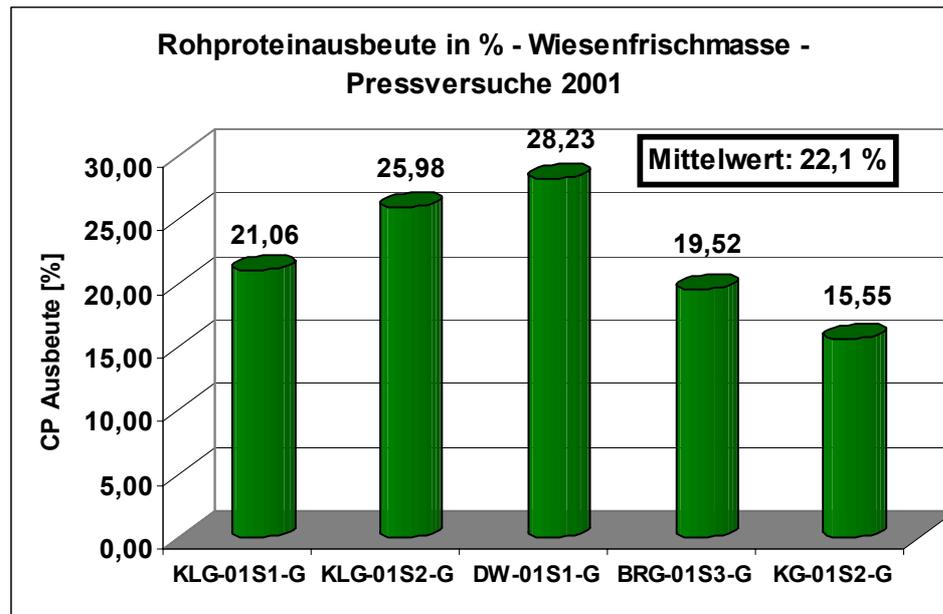


Abb. 27: Rohproteinausbeute (= CP-Ausbeute) in % der abgepressten Grünlandbiomasse – Pressversuche 2001

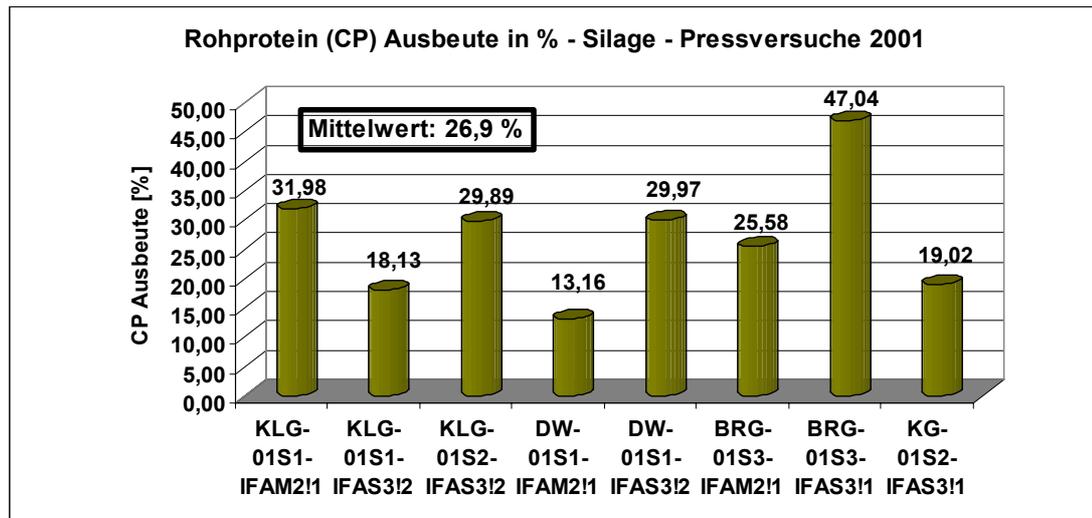


Abb. 28: Rohproteinausbeute (CP-Ausbeute) in % der abgepressten Silagen – Pressversuche 2001

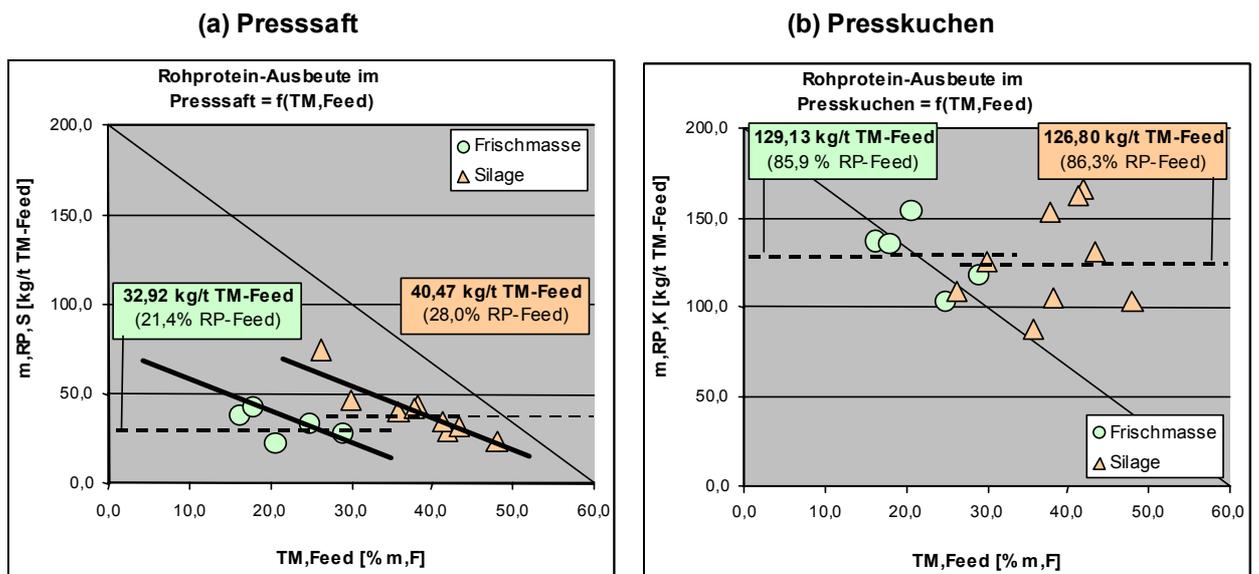


Abb. 29: Rohprotein-Ausbeuten in Presssaft und Presskuchen als Funktion von TM-Feed und Grasprobenart (in kg/t TS-Feed) (Wachter et al. 2002)

In Abhängigkeit der Trockenmasse des Input-Rohstoffs zeigt sich bezogen auf eine t TM ein sehr eindeutiges Bild.

Die durchschnittlichen Ausbeuten von Zucker und Rohasche liefern durchschnittlich die in Abb. 29 und Abb. 30 dargestellten Werte. Obwohl im Falle der Zucker sehr große Unterschiede zwischen den Analytikmethoden von Feststoff und Presssaft bestehen sind die Bilanzen nicht ungewöhnlich unausgeglichen da bereits gezeigt werden konnte, dass der wasserlösliche Zucker zum Großteil aus Glucose und Fructose besteht und diese Werte in beiden Fällen implizit bzw. explizit erhoben werden.

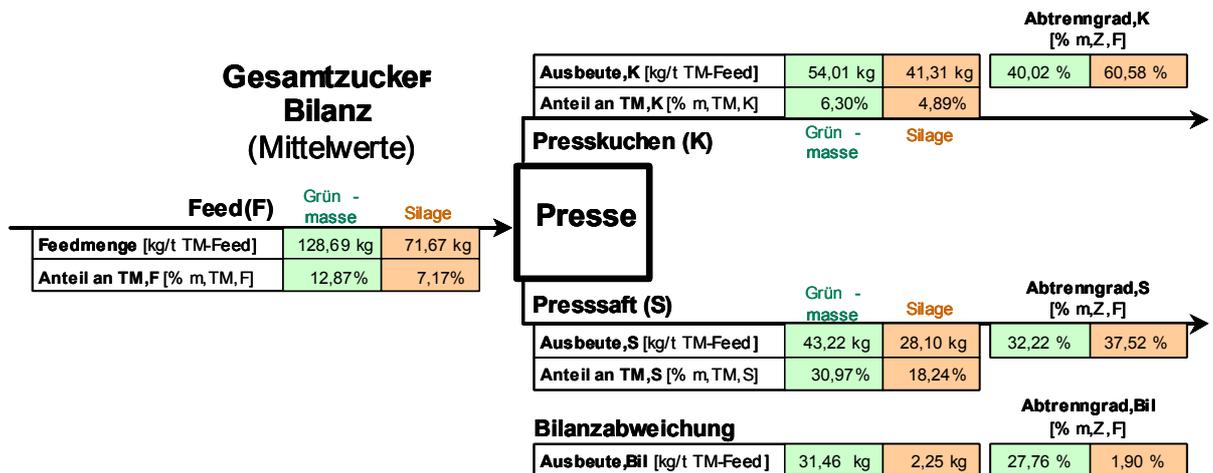


Abb. 30: Gesamtzuckerbilanz für Grünlandbiomasse und Silage auf Basis des arithmetischen Mittels (exkl. Ausreißer) mit Feed-Charakteristik, Ausbeute des Zuckers im Presskuchen und Ausbeute des Zuckers im Saft inkl. Darstellung der Bilanzabweichung durch Analytik aller drei Ströme – Pressversuche 2001 (Wachter et al. 2002)

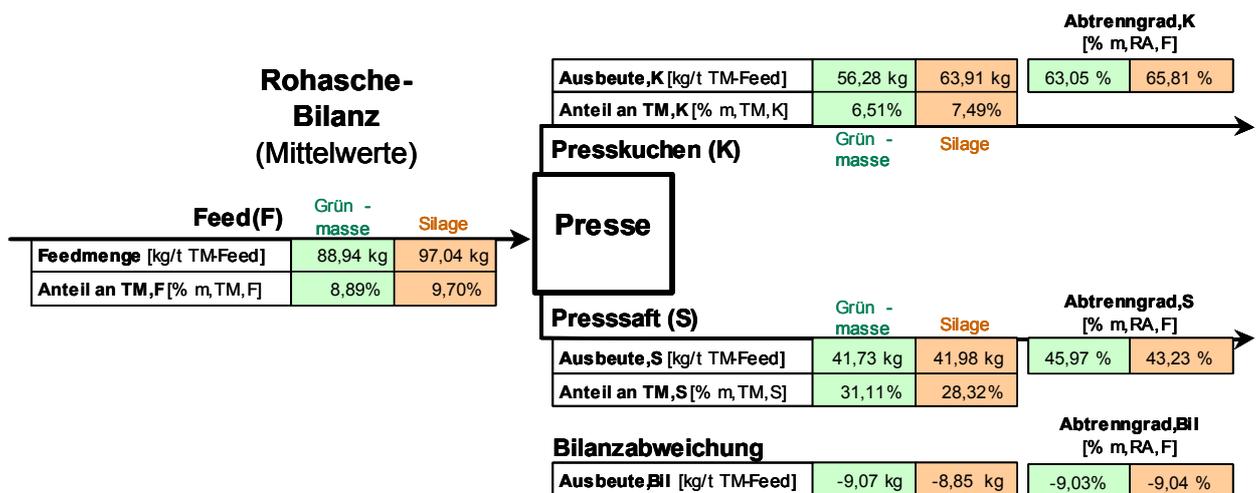


Abb. 31: Gesamtrohaschebilanz für Grünlandbiomasse und Silage auf Basis des arithmetischen Mittels (exkl. Ausreißer) mit Feed-Charakteristik, Ausbeute der Asche im Presskuchen und Ausbeute der Asche im Saft inkl. Darstellung der Bilanzabweichung durch Analytik aller drei Ströme – Pressversuche 2001 (Wachter et al. 2002)

2 Fraktionierung im Jahr 2002

Anhand der Ergebnisse, die durch die Versuchsreihe 2001 erreicht wurden, kann ein für die Bewertung der Wirtschaftlichkeit wichtiges Ablaufschema erstellt werden (Abb. 32). In diesem Bericht werden die Ergebnisse, die sich auf die Gewinnung der Proteine und Aminosäuren beziehen dargestellt. Die Erkenntnisse bezüglich der Abtrennung der Milchsäure werden im Rahmen eines anderen Projektes des „Fabrik der Zukunft“ Bündels untersucht.

Die Versuche 2001 wurden als Einfachpressung durchgeführt. Anhand dieser Ergebnisse wurde unter Abwägung der Wirtschaftlichkeit beschlossen die zukünftige Strategie auf Doppelpressung (Versuche 2002) zu erweitern. Dadurch könnte auf einen vorhergehenden Zellaufschluss (Kromus et al. 2002) verzichtet werden. Diese Erkenntnis ist speziell für die Fraktionierung von Silage relevant, da die Substanzen Milchsäure und hydrolysierte Proteine (siehe Anhang H) gut wasserlöslich sind und angenommen werden kann, dass deren Bindung im Zellkompartiment nicht (Milchsäure) oder nur mehr teilweise (Aminosäuren) gegeben ist. Die Auswertung der Versuchsreihe Mai/Juni 2002 zeigt, dass Optimierungsversuche gelungen sind.

Alternativ zu dem Schema, das in Abb. 32 gezeigt wird, kann eine weitere Feinzerkleinerung des Rohmaterials auch nach der Entnahme aus dem Silo erfolgen.

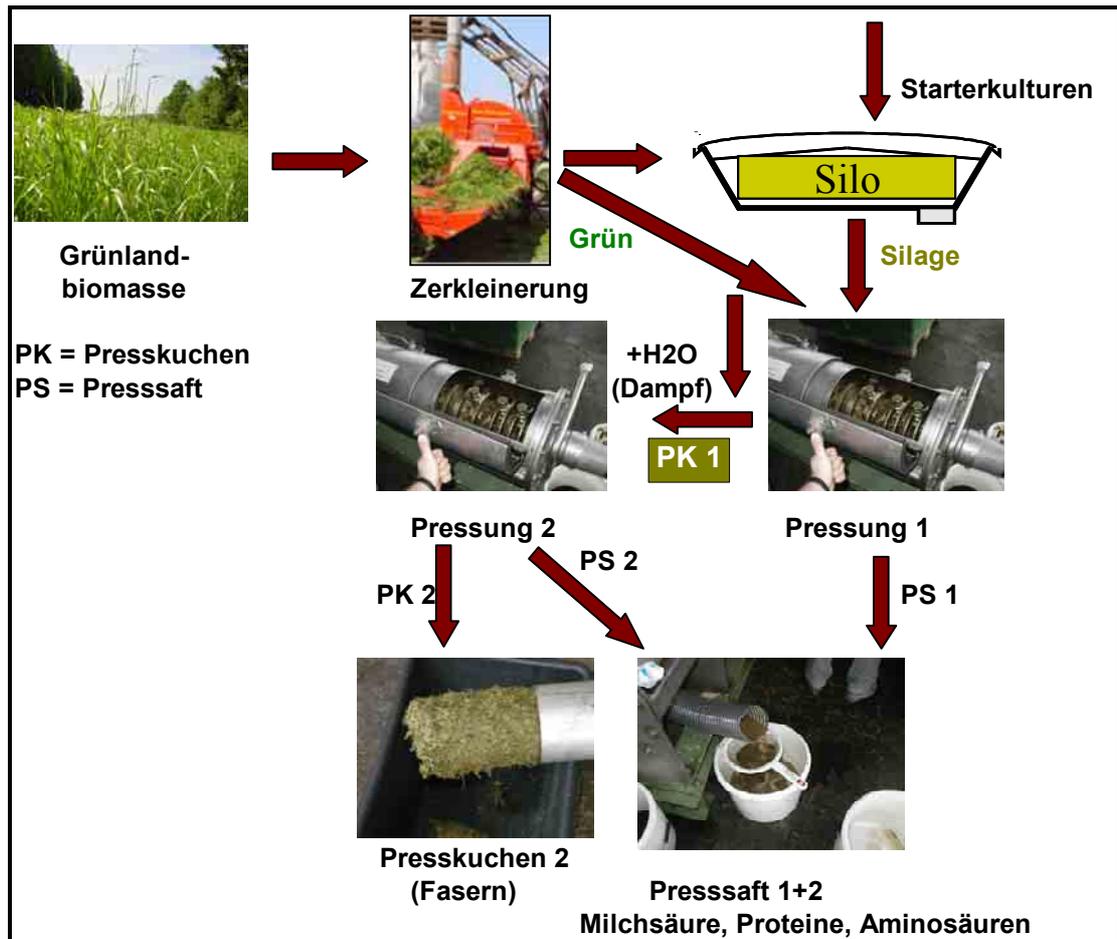


Abb. 32: Schema der Fraktionierung mit Doppelpressung

Im Projekt „Proteine aus Grassäften“ wurde mit der Presskampagne 2002 im wesentlichen drei Ziele verfolgt:

4. Signifikante Steigerung der Protein- bzw. Aminosäureausbeute vom Rohstoff in den Saft gegenüber 2001.
5. Versuche zur Doppelpressung mit teilweise befeuchten bzw. bedampfen des ersten Presskuchens mit dem Ziel die Ausbeute weiter zu steigern.
6. Herstellung von frischem Saft, der ohne Zwischenlagerung (Tiefkühlung) zur Weiterverarbeitung (Koagulation/Zentrifugation bzw. Ultrafiltration) gelangt.

2.1 Versuchsdurchführung Pressversuche 2002

Für die Pressversuche 2002 konnte von der Fa. Ponndorf eine robuste Schneckenpresse angemietet werden. Die Presse hat eine Durchsatzleistung in Abhängigkeit des Rohstoffs bis 500 kg/h Frischmasse (FM). Die Presse PP7 (siehe Abb. 33) verfügte allerdings noch nicht über einen hydraulisch einstellbaren Pressteller, um den Gegendruck zu optimieren, sondern lediglich über ein konisches Austragsrohr, das im Verlauf der Versuche durch die Werkstätte der Fa. LACTOPROT AG weiter verjüngt wurde.

Nachdem bereits in den Vorjahren festgestellt wurde, dass Siloballenpressen im Gegensatz zu Selbstfahrhäckseln nur eine unbefriedigende Zerkleinerung des Rohstoffes „Gras“ erlauben, wurden die Rohstoffe vor dem Pressen mit einem Standhäcksler zusätzlich zerkleinert. (In einer Full-scale Anlage könnte dies wahrscheinlich entfallen.)

Die Presse wurde manuell beschickt und je nach Versuchsanforderung (siehe Annex, Anhang C) entweder mit Stufe 4 (3,75 U/min. der Schneckenwelle) bzw. Stufe 8 (10,34 U/min. der Schneckenwelle) betrieben. Alle Massenströme wurden verwogen. Für die Auswertung der Massenbilanzen bzw. Errechnung der Abpressgrade (siehe Kromus et al. 2002) werden allerdings die Trockenmassewerte (TM) herangezogen. Die Wiegeergebnisse dienen lediglich zur Berechnung der Durchsatzleistung und zur Abweichungskontrolle.

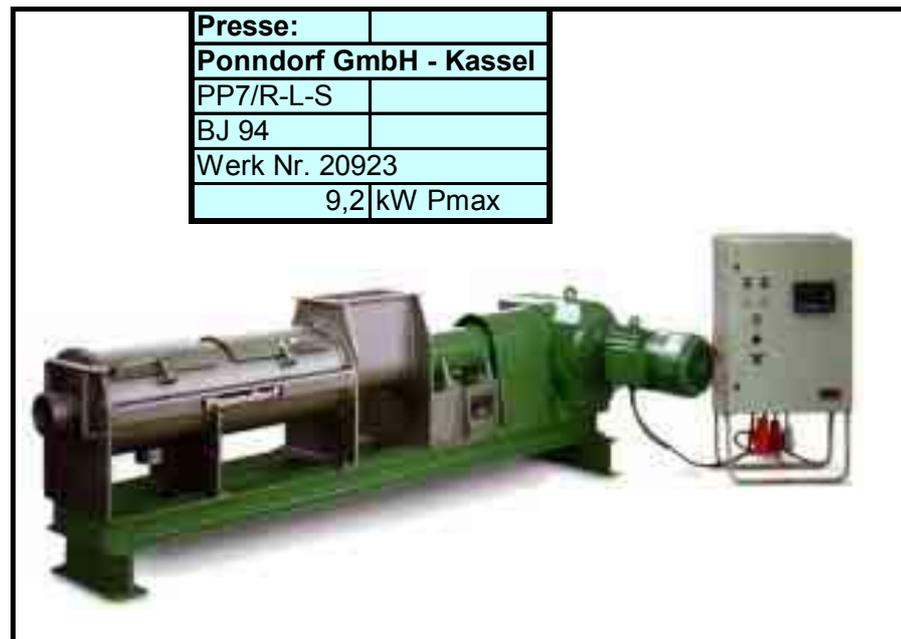


Abb. 33: Versuchspresse der Fa. Ponndorf (Kassel, D) – Pressversuche 2002 (Foto: Fa. Ponndorf)

Der Saft wurde in der Versuchsregie 2002 sofort weiterverarbeitet (siehe Anhang D). Der Presskuchen wurde auf einem mobilen Hordentrockner getrocknet und zwischengelagert. Generell waren die Pressversuche 2002 neben der Optimierung der Milchsäure- und Proteinausbeute auf die Erzeugung von ausreichenden Presskuchenmengen (Fasern) ausgerichtet.

2.2 Versuchsergebnisse der Pressungen 2002

Im Jahr 2002 wurden mit der Presse der Firma Ponndorf PP7 innerhalb von sechs Wochen 5200 kg Grünlandbiomasse und 4650 kg Silage abgepresst (siehe Abb. 34). Die durchschnittliche Trockenmasse betrug 20,6 % für die Grünlandbiomasse und 20,3 % für die Silage.

Die Silage wurde demnach im Jahr 2002 nur äußerst kurz angewelkt. Einerseits war für die Optimierung der Fraktionierung ein TM Wert unter 30 % erwünscht und andererseits ergab sich aufgrund einer Schlechtwetterperiode und die, aus finanziellen Gründen, kurz angesetzte Pressversuchsperiode sehr großer Zeitdruck.

Dennoch zeichnen sich alle Siloballen durch hervorragende Qualität aus (hohe Milchsäurewerte, keine Fehlgärung, hohe Proteingehalte, niedrige Zuckergehalte) (siehe Annex, Anhang C).



Abb. 34: Fraktionierung 2002 – gesamter Rohstoffinput in kg FM

Für die weiteren Versuche zur Proteingewinnung wurde allerdings nur ein kleinerer Teil der gewonnenen Presssäfte (Abb. 35) herangezogen.



**Abb. 35: Silagepresssaft der Pressversuche 2002 mit den Produkten
Milchsäure und Proteine (Aminosäuren) (Foto: Kornberg Institut)**

2.2.1 Pressleistung und Stromverbrauch in Abhängigkeit der Trockenmasse

Durch den Einsatz eines breiten Spektrums an Trockenmassegehalten der Rohstoffe konnte die Durchsatzleistung der Presse erhoben werden. Fig 36 zeigt Anhand einer Regressionsgeraden die Abhängigkeit der Durchsatzleistung bei Stufe 4 (3,75 U/min.) von dem Trockenmasseanteil des Inputmaterials Silage. Die höheren TM Anteile wurden durch Doppelpressung erreicht (siehe Abb. 32).

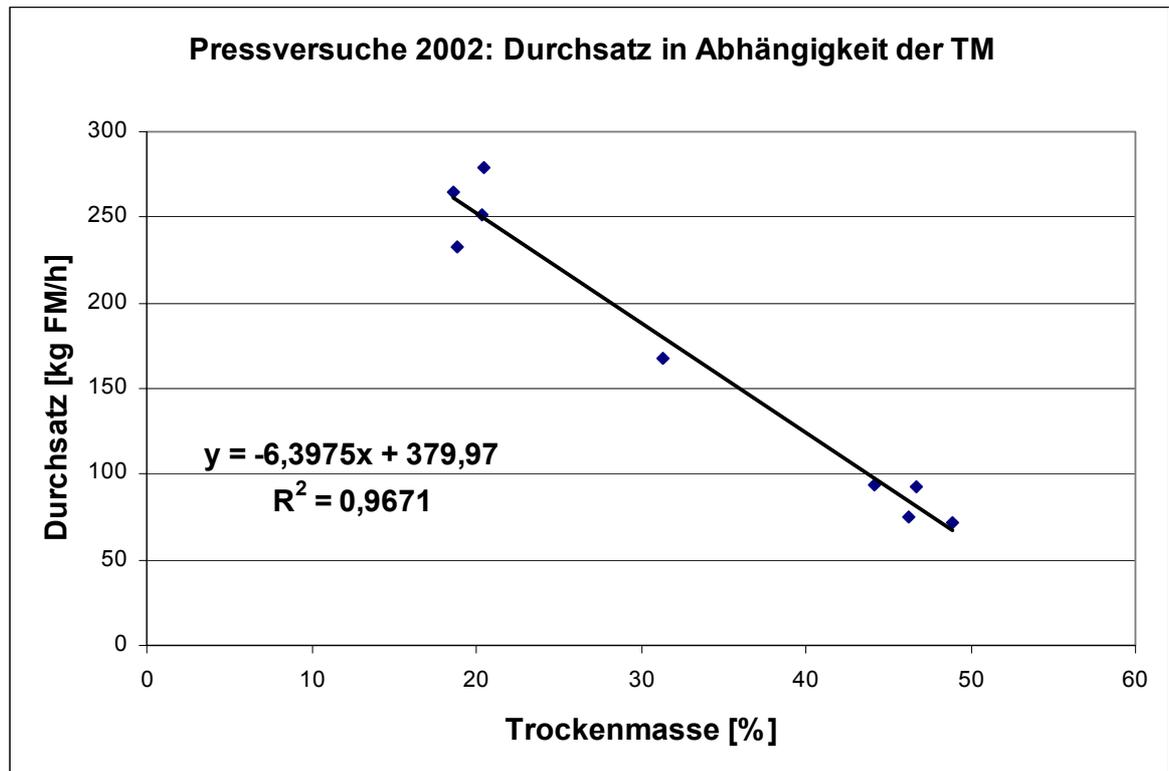


Abb. 36: Pressversuche 2002 mit der Presse PP7 – Fa. Ponndorf (D): Silagedurchsatz in Abhängigkeit der Trockenmasse (TM) bei Geschwindigkeitsstufe 4 (Ausreißer bereinigt)

Für die Auslegung einer Pilotanlagenpresse ist der Bereich zwischen 20 und 35 % TM relevant. D.h. für eine Pilotanlage mit ungefähr 500 bis 800 kg/h FM Durchsatz müsste eine Presse mit der 2,5 bis 3 fachen Leistung angeschafft werden. Als erste Alternative könnte hier eine Presse der Type PP20 der Fa. Ponndorf mit 22 kW Leistung und einstellbarem hydraulischem Pressteller (Hydraulikaggregat mit Pumpe 0,75 kW) angeschafft werden. Die Anschaffungskosten beliefen sich auf ca. € 85.000,- exkl. Transport und Installation.

Für die Durchsatzleistung für Grünlandbiomasse ergibt sich leider kein einheitliches Bild. Der Durchsatz liegt allerdings gegenüber den Silagen um ca. 40 % niedriger bei Stufe 4 und ca. gleich hoch bei Stufe 8. Dies könnte auf den Aufschluss des Pflanzenmaterials durch die Silierung zurückgeführt werden.

Der Stromverbrauch (kWh/t FM) in Abhängigkeit des Trockenmassegehaltes der Silage bietet analog ebenfalls ein sehr gutes Bestimmtheitsmaß für die Regressionsgerade (Abb. 37).

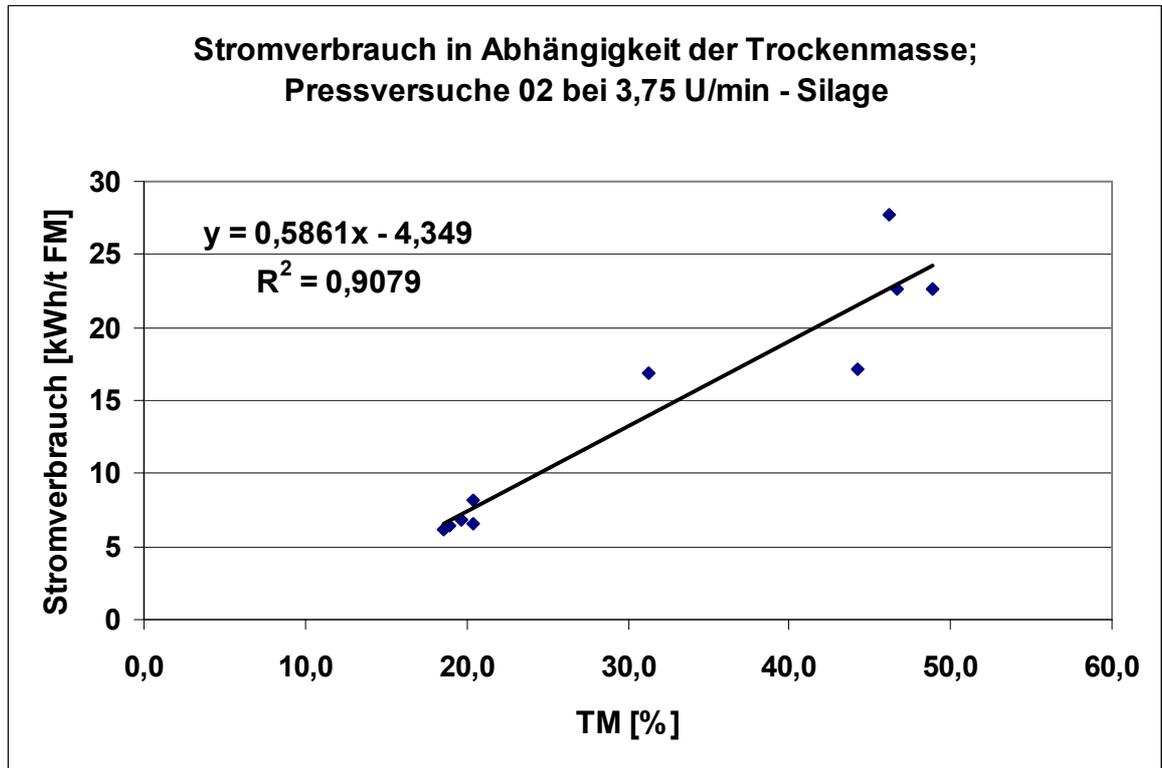


Abb. 37: Pressversuche 2002: Stromverbrauch in Abhängigkeit der Trockenmasse bei 3,75 U/min. Pressgeschwindigkeit – Silage

Nach Abb. 37 beträgt der Stromverbrauch bei 25 % TM ca. 10 kWh/t FM und bei 33 % TM ca. 15 kWh/t TM. Im Gegensatz zu früheren Annahmen (25 kWh/t FM) kann daher ein geringerer Wert für die Berechnung der Wirtschaftlichkeit bzw. Auslegung der Pilotanlage herangezogen werden (15 kWh/t FM).

Der Stromverbrauch für das Abpressen von frischer Grünmasse lag bei den Versuchen 2002 ca. 40 % als jener der Silage und ergab keinen Unterschied für den Betrieb bei Stufe 4 bzw. 8.

Weitere Details sind in Annex, Anhang C angeführt.

2.3 Rohstoffe für die Weiterverarbeitung – Pressversuche 2002

Für die Erstellung der Daten im Rahmen dieses Projekts wurden folgende Rohstoffe eingesetzt:

1. Bastardraygras, 1. Schnitt, BonSilage-Silage, Abpressdatum 27.05.02, Ballen Nr. 2 (dieser Silagesaft wurde für den Ultrafiltrationsversuch 2002 mit 1 kD herangezogen) – Doppelpressung ohne anfeuchten
 - a. BAL-Gumpenstein Nummern: B02/13; B02/12; B02/11
 - b. Saftprobennummern: 02/19; 02/23
2. Bastardraygras, 1. Schnitt, BonSilage-Silage, Abpressdatum 28.05.02, Ballen Nr. 3 – Doppelpressung mit anfeuchten
 - a. BAL-Gumpenstein Nummern: B02/16; B02/15; B02/14
 - b. Saftprobennummern: 02/24; 02/25
3. Klee gras, 1. Schnitt, BonSilage-Silage, Abpressdatum 31.05.02, Ballen Nr. 6 – Doppelpressung mit anfeuchten
 - a. BAL-Gumpenstein Nummern: B02/22; B02/21; B02/20
 - b. Saftprobennummern: 02/26; 02/27
4. Luzerne, 1. Schnitt, Grün (frisch), Abpressdatum 23.05.02 (dieser Grüne Saft wurde für den Ultrafiltrationsversuch 2002 mit 15 kD herangezogen) – Doppelpressung ohne anfeuchten bzw. bedampfen
 - a. BAL-Gumpenstein Nummern: B02/08; B02/07; B02/06
 - b. Saftprobennummern: 02/01; 02/02
5. Luzerne, 1. Schnitt, Grün (frisch), Abpressdatum 24.05.02 (dieser Grüne Saft wurde für den Koagulations-/Zentrifugationsversuch 2002 herangezogen) – Einfachpressung
 - a. BAL-Gumpenstein Nummern: B02/10; B02/09
 - b. Saftprobennummern: 02/06
6. Bastardraygras, 2. Schnitt, Grün (frisch), Abpressdatum 04.06.02 (dieser Grüne Saft wurde für den Ultrafiltrationsversuch 2002 mit 15 kD herangezogen) – Doppelpressung ohne anfeuchten bzw. bedampfen
 - a. BAL-Gumpenstein Nummern: B02/27; B02/26; B02/25
 - b. Saftprobennummern: 02/08; 02/12
7. Bastardraygras, 2. Schnitt, Grün (frisch), Abpressdatum 11.06.02 (dieser Grüne Saft wurde für den Koagulations-/Zentrifugationsversuch 2002 herangezogen) – Doppelpressung mit bedampfen
 - a. BAL-Gumpenstein Nummern: B02/43; B02/42; B02/41
 - b. Saftprobennummern: 02/13; 02/15
8. Klee gras, 2. Schnitt, Grün (frisch), Abpressdatum 13.06.02 – Doppelpressung mit bedampfen
 - a. BAL-Gumpenstein Nummern: B02/51; B02/49; B02/48
 - b. Saftprobennummern: 02/16; 02/17

2.4 Abpressgrad Pressversuche 2002

Es wurden in den Monaten Mai und Juni 2002 insgesamt 10 t Rohstoff verarbeitet. Für die oben angeführten acht Versuche wurden 3,3 t Rohstoff plus das Material für die Doppelpressungen verarbeitet. Der durchschnittliche Abpressgrad bei der frischen Grünlandbiomasse betrug 56,1 % (2001: 63 %), der Abpressgrad bei Grassilage 78,5 % (2001: 50 %). Der durchschnittliche Abpressgrad der zweiten Pressung (aus Presskuchen 1 teilw. befeuchtet bzw. bedampft) betrug 49,3 % bei Grünlandbiomasse und lediglich 36,0 % bei der Silage.

Das Inputmaterial Grün war mit einem durchschnittlichen TM Gehalt von 20,7 % eingebracht worden, die Silage mit 20,2 %. Der Grüne Presskuchen war mit ca. 34 % TM entsprechend feuchter als der Silagepresskuchen mit durchschnittlich 46 %.

Bei der Doppelpressung wurde die TM des zweiten Presskuchens Grün mit 48 % und bei Silage mit 51 % gemessen.

Die gefundene Trockenmasse im Saft im Verhältnis zur Trockenmasse des Ausgangsmaterials war bei Grünmasse mit 14,6 % (2001: 15,8 %) ähnlich dem Ergebnis des Jahres 2001, aber für Silage mit 28,0 % (2001: 15,5 % beträchtlich höher als im Vorjahr. Die Doppelpressung ergab für Grün 7,6 % und für die Silage nur 3,9 %. Dies bedeutet, dass Doppelpressung sehr ineffizient ist.

Die Relation TM Saft zu FM Input war aber für Grün nur 2,9 % (2001: 3,2 %) und für Silage immerhin 5,6 % (2001: 5,6 %). Dies bedeutet, dass im Falle der Verarbeitung von Silage trotz geringerem Trockenmassenanteil des Inputmaterials der Wert konstant gehalten werden konnte. Die Doppelpressung ergab für Grün 2,5 % und für Silage nur 1,5 %.

Der Massenstrom FM Saft zu FM Input war mit 47,5 % für Grün und 68,3 % für Silage sehr hoch. Besonders interessant ist, dass die Silagesaftfraktion zwei Drittel der Gesamtmasse ausmacht. Die Doppelpressung ergab für Grün 35,2 % und für Silage 23,4 %.

Die Detaildaten sind in Annex, Anhang C zu finden.

2.5 Proteinbilanzen Pressversuche 2002

Die Ausbeute des Rohproteins aus der Silage betrug im Mittel bei Einfachpressung 47,7 %. Dies entspricht einer **Steigerung von 77 %** gegenüber den Versuchen 2001. Durch die geänderte Versuchsdurchführung ist man den Ausbeuten der Verfahren VEPEX und PROXAN einen entscheidenden Schritt näher gekommen (vgl. Kromus et al. 2002). Die Werte der Fa. France Luzerne (vgl. Kromus et al. 2002) konnten wesentlich übertroffen werden (Abb. 38).

Die Doppelpressung sowohl mit anfeuchten des ersten Presskuchens auf ca. 35 bis 40 % TM als auch ohne anfeuchten des ersten Presskuchens ergibt lediglich eine Ausbeutesteigerung gegenüber der Einfachpressung der Silage von 9 % auf 51,8 % Rohproteinausbeute in den Saft. Diese verbesserte Ausbeute bedingt aber einen ca. 2,5 mal höheren Gesamtstromverbrauch (Abb. 39).

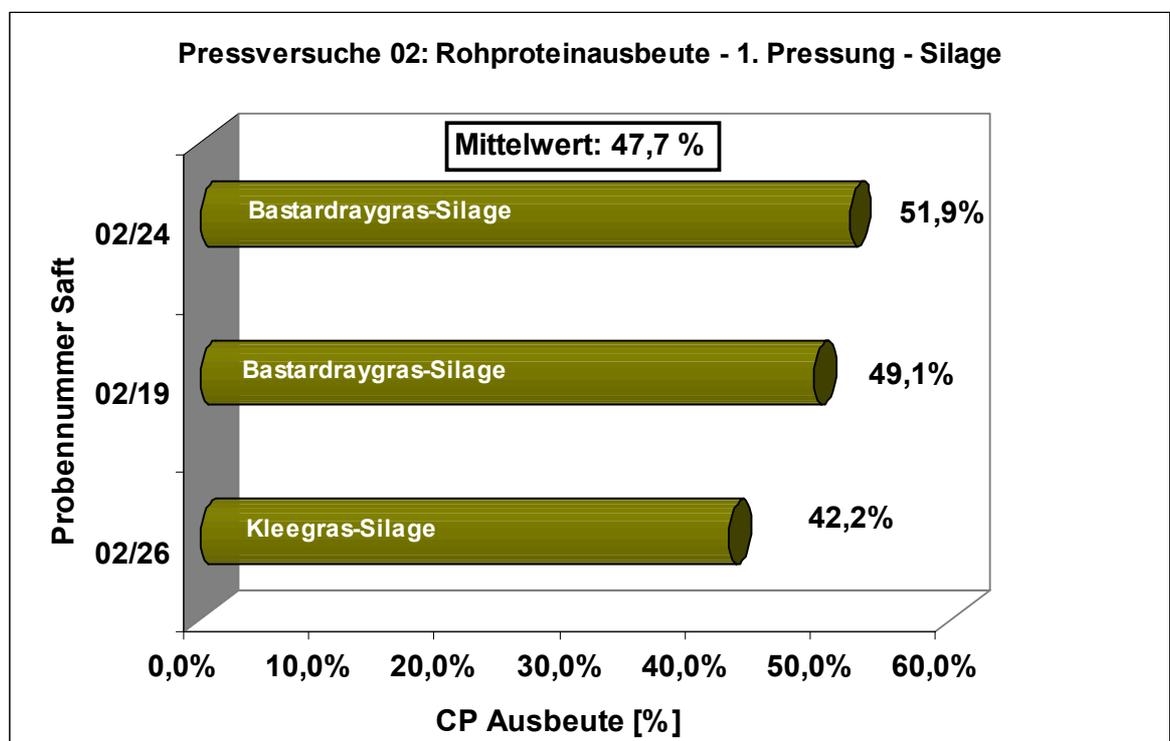


Abb. 38: Pressversuche 2002: Rohproteinausbeute (CP) – 1. Pressung – Silage

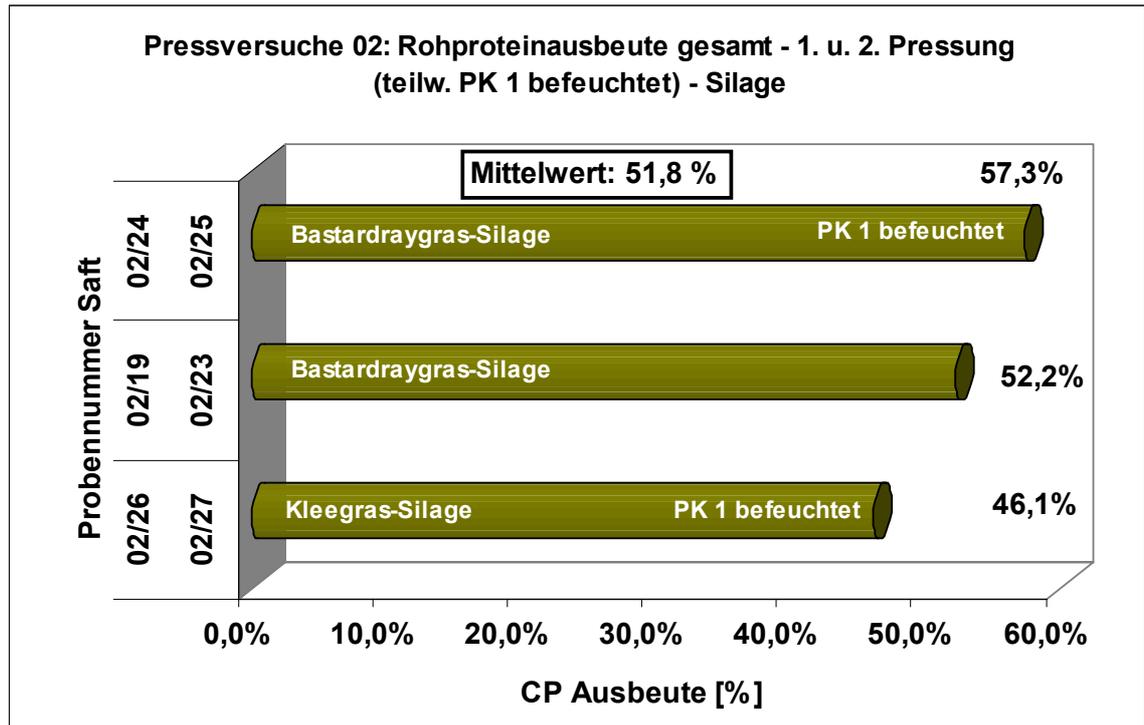


Abb. 39: Pressversuche 2002: Rohproteinausbeute gesamt – 1. u. 2. Pressung (teilw. befeuchtet) – Silage

Im Gegensatz dazu waren die Rohproteinausbeuten der Grünlandbiomasse enttäuschend. Mit durchschnittlich 18,6 % nach der ersten Pressung, lagen sie sogar unter den Ausbeuten des Jahres 2001 (22,1 %). Die Doppelpressung brachte eine durchschnittliche Steigerung um 38 % auf 25,8 %. Trotz beträchtliche größerer Ausbeute durch die Doppelpressung ist dieses Ergebnis ein weiterer Hinweis darauf, dass die Gewinnung von Proteinen ausschließlich aus Silage erfolgen sollte (Abb. 40 und Abb. 41).

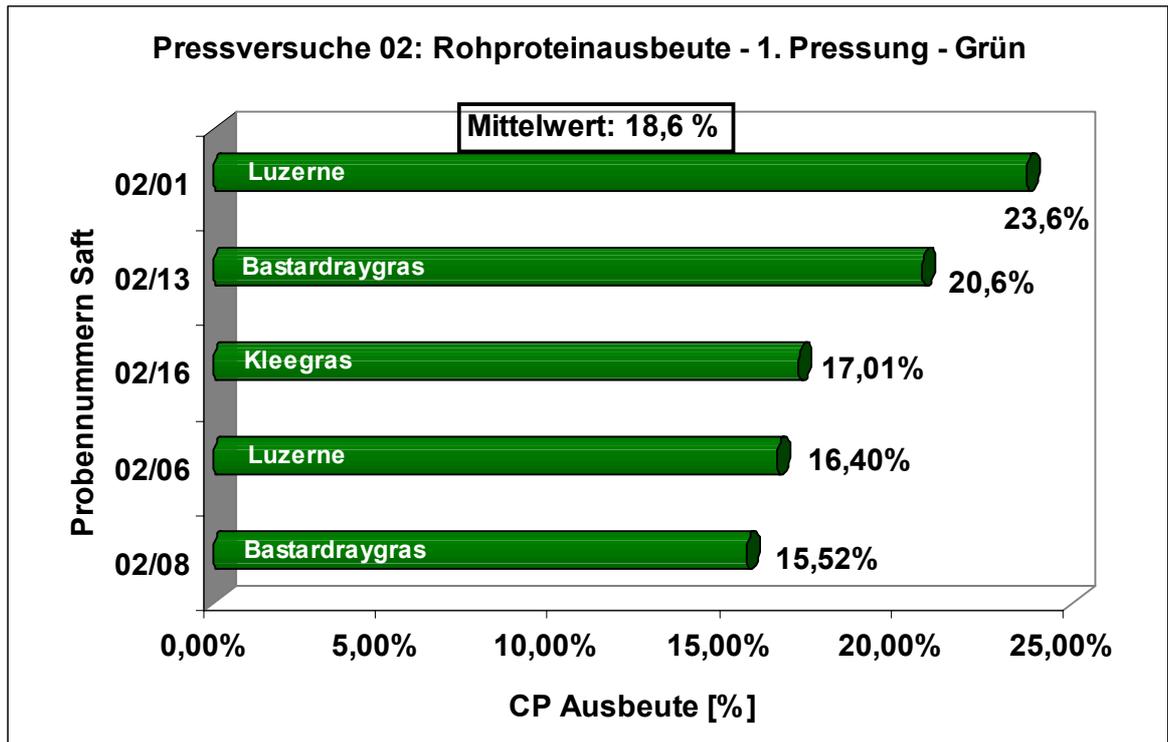


Abb. 40: Pressversuche 2002: Rohproteinausbeute (CP) – 1. Pressung – Grün (frisch)

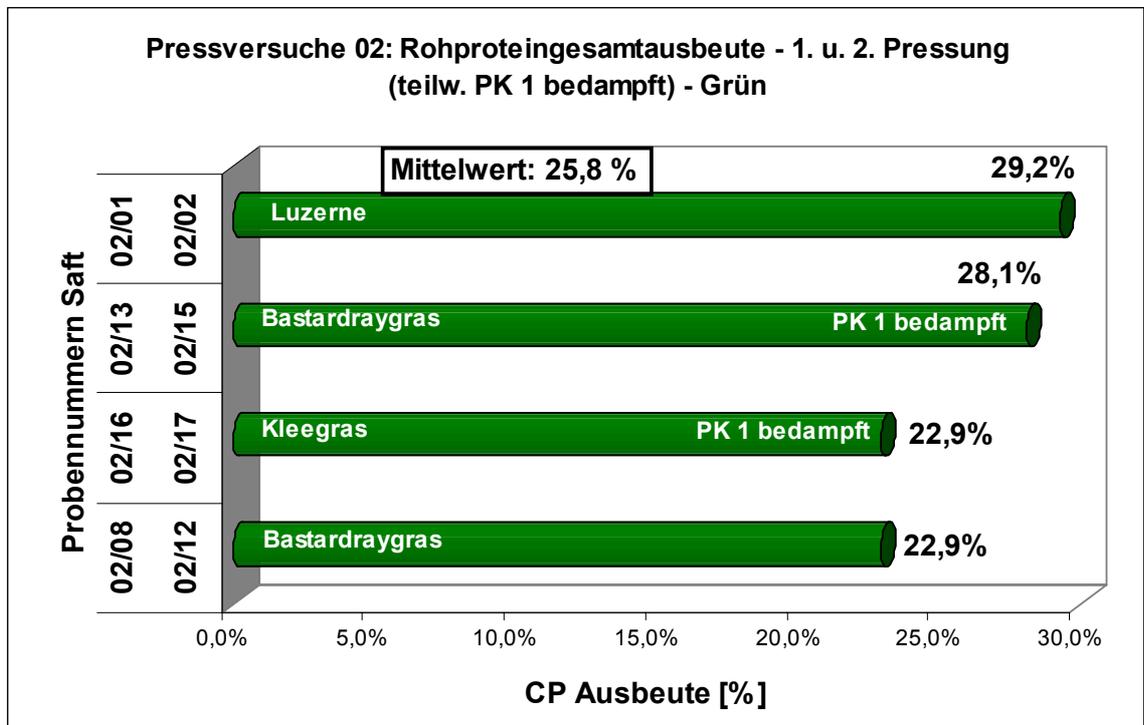


Abb. 41: Pressversuche 2002: Rohproteing Gesamtausbeute – 1. u. 2. Pressung (teilw. PK bedampft) – Grün

Die Auswertung der Daten zeigt auch, dass es zwischen den Rohstoffen keinen signifikanten Unterschied bei der Rohproteinausbeute gibt. Auch scheint das bedampfen des ersten Presskuchens keinen wesentlichen Einfluss zu haben.

2.6 Pressbilanzen für 1000 kg Trockenmasse Input

Zusammenfassend für Grünlandbiomasse und Grassilage werden für die Pressversuche 2002 die Pressbilanzen in Abb. 42 und 43 aufgestellt.

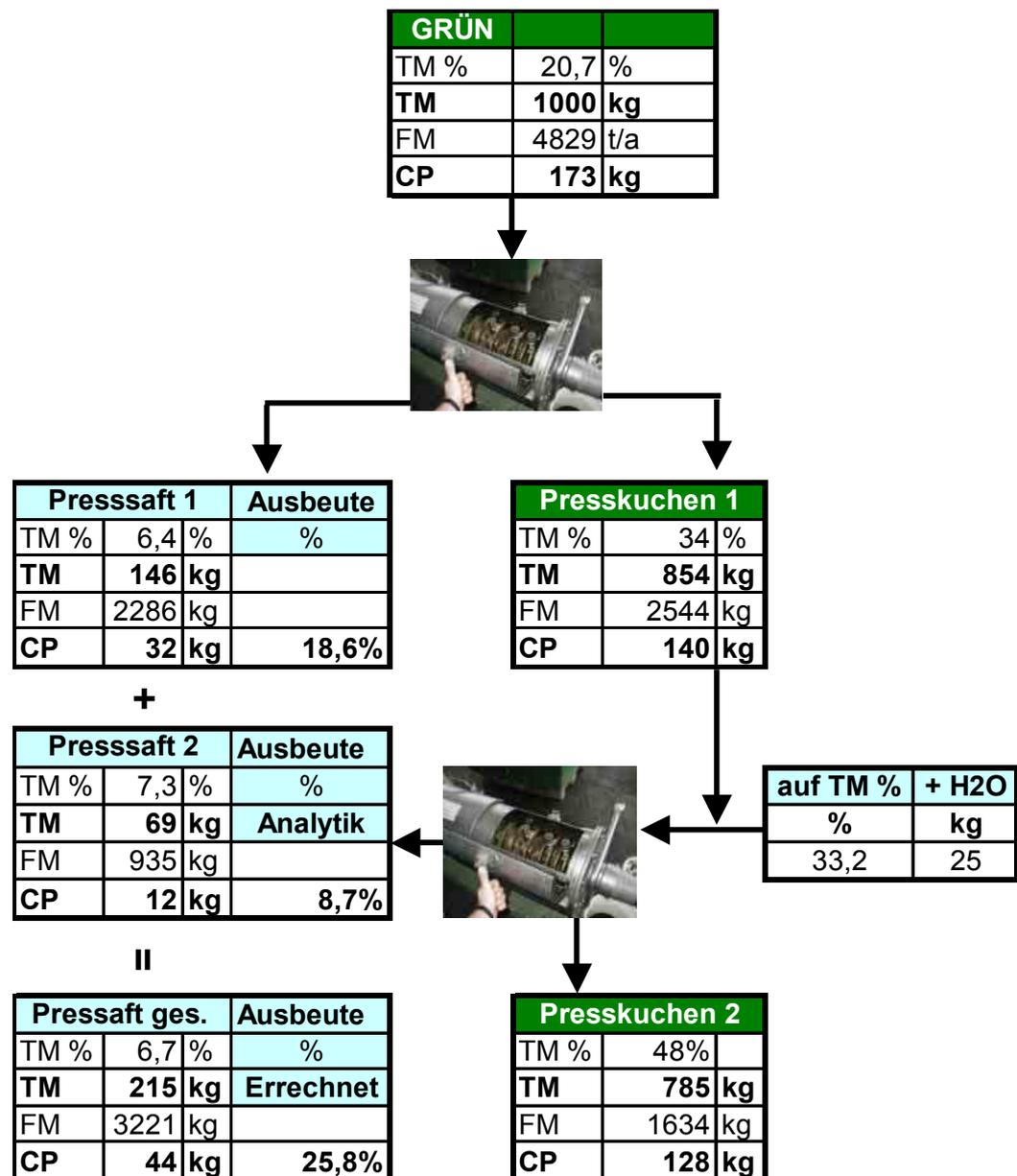


Abb. 42: Pressversuche 2002: Durchschnittliche Fraktionierungsbilanz der untersuchten Grünlandbiomasserohstoffe

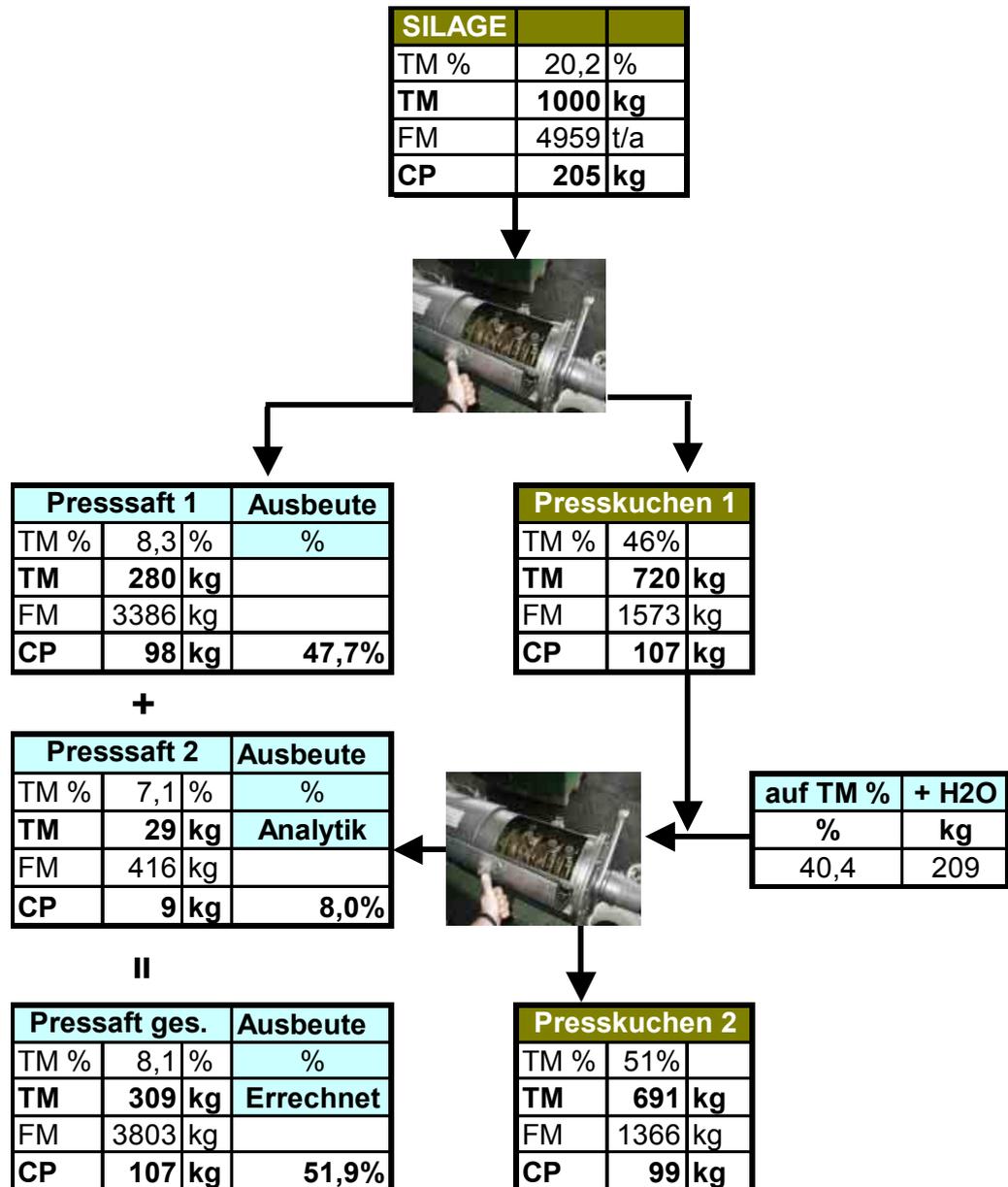


Abb. 43: Pressversuche 2002: Durchschnittliche Fraktionierungsbilanz der untersuchten Grassilagen

Abb. xy zeigt, dass durch die Doppelpressung von Grünlandbiomasse keine wesentlichen Ausbeutesteigerungen zu verzeichnen sind. Auch die Ergebnisse der Doppelpressung der Silagen lässt eine Doppelpressung unökonomisch erscheinen. Sowohl die Ausbeuten an Rohprotein (CP) als auch generell der Trockenmasse in den Saft sind bei der Silagefraktionierung bereits als sehr befriedigend anzusehen. Im Falle der Silagen sollte die Optimierung allerdings bei der ersten Pressung ansetzen (TM-Input, Zerkleinerung, Verweilzeit unter Druck).

Annex: Anhang C

Tab. 8 Analytikergebnisse des BAL-Gumpenstein – GBR-Silageversuche 2001 – TEIL 1

Wiese	Schnitt	G/S	Silage! Ballen Nr.	TM	XA	NH4-N	XP	CP	XF	XL	Zucker	MS	ES	BS	PS	P	K	Ca	Mg	pH	IFA Nr.PS		
				[g/kg FM]	[g/kg TM]																		
KLG01	1S	G		342,3	91,0	0,79	185,4	180,5	299,4	18,0	44,7	0,00	2,92	0,000	0,000	3,34	31,25	5,06	1,97	6,07	x		
KLG01	1S	S	M2!1	357,9	103,4	1,03	130,4	123,9	300,6	32,5	112,3	151,43	13,69	0,000	0,838	3,48	32,72	5,59	2,19	3,93	9/11		
KLG01	1S	S	S3!1	456,1	95,6	1,12	122,6	115,6	297,4	29,8	44,3	69,28	5,04	0,000	0,000	3,31	29,81	4,16	2,06	4,45	x		
KLG01	1S	S	S3!2	418,8	99,4	1,43	169,5	160,6	305,4	30,5	19,6	106,02	6,69	0,000	0,478	3,55	32,09	6,51	2,38	4,33	9/12		
KLG01	2S	G		179,6	90,4	0,67	167,9	163,7	305,8	18,4	160,9	0,00	3,34	0,000	0,000	3,89	29,51	5,05	2,52	6,20	9/1		
KLG01	2S	S	M2!1	380,9	105,8	1,86	86,5	74,9	297,4	32,4	45,2	0,00	217,92	0,000	0,000	3,13	31,35	6,56	2,73	4,12	9/14		
KLG01	2S	S	S3!2	414,3	102,3	1,88	128,1	116,4	294,9	33,8	62,0	79,40	8,45	0,000	0,000	3,59	30,14	5,24	2,72	4,25	9/9		
DW(B)01	1S	G		289,8	65,9	0,62	102,2	98,3	376,0	28,5	101,8	25,19	6,21	0,000	0,000	2,37	19,84	2,85	1,44	4,62	9/2		
DW(B)01	1S	G	0!1	494,9	68,4	1,33	147,4	139,1	307,4	34,8	86,5	50,72	7,48	0,404	0,000	2,35	20,08	4,45	2,42	4,50	x		
DW(B)01	1S	SG	0!2	383,1	88,0	1,59	136,4	126,4	325,7	30,8	44,9	63,96	10,70	0,000	0,000	2,35	23,58	6,22	3,39	4,24	x		
DW(B)01	1S	S	M2!1	480,3	79,1	1,25	185,0	177,2	328,0	32,6	91,0	61,62	7,70	0,000	0,000	2,73	21,18	5,96	4,29	4,26	9/10		
DW(B)01	1S	SG	M2!2	476,8	73,1	1,53	97,7	88,1	342,6	38,3	10,5	55,79	5,45	0,419	0,000	2,83	23,81	4,39	1,98	4,34	x		
DW(B)01	1S	S	S3!2	377,5	74,6	1,62	148,5	138,4	342,5	38,7	77,6	74,98	6,09	2,914	0,000	2,59	23,12	3,04	1,65	4,14	9/15		
BRG01	1S	G		166,0	91,7	0,54	136,0	132,6	198,0	18,9	318,7	0,00	0,00	1,808	0,000	3,87	34,10	5,23	2,02	6,50	x		
BRG01	3S	G		198,5	98,3	0,96	180,0	174,0	302,1	30,9	163,3	0,00	5,54	0,000	0,000	3,57	31,95	7,05	2,61	6,22	9/8		
BRG01	3S	S	M2!1	299,4	97,5	1,30	190,3	182,2	299,2	35,3	70,8	0,00	260,50	0,000	0,000	2,54	32,43	6,83	2,34	3,80	1/7		
BRG01	3S	S	S3!1	263,8	104,1	1,93	170,5	158,4	265,9	41,1	74,3	0,00	281,25	0,000	0,000	2,86	27,53	7,17	2,78	3,98	1/4		

Tab. 9 Analytikergenergebnisse des BAL-Gumpenstein – GBR-Silageversuche 2001 – TEIL 2

Wiese	Schnitt	G/S	Silage! Ballen Nr.	TM	XA	NH4-N	XP	CP	XF	XL	Zucker	MS	ES	BS	PS	P	K	Ca	Mg	pH	IFA Nr.PS		
				[g/kg FM]	[g/kg TM]																		
KG01	2S	G		179,1	101,2	0,78	148,6	143,7	366,1	26,8	88,8	0,00	428,36	0,000	0,000	3,37	33,82	4,71	2,41	6,21	9/3		
KG01	2S	S	S3!1	433,6	107,7	1,20	173,4	165,9	338,9	39,4	40,1	49,81	3,23	0,000	0,000	2,81	36,70	5,37	3,15	4,43	1/5		
KG01	2S	S	S3!1	534,6	85,5	1,08	147,5	140,7	356,6	47,1	36,8	44,89	2,43	0,000	0,000	2,33	27,66	5,51	2,58	4,37	1/5		
KG01	2S	S	M2!1	461,4	107,5	0,74	192,6	188,0	348,6	34,2	31,4	0,00	176,19	0,000	0,000	2,71	34,52	7,02	2,10	4,72	1/6		
KLG01	3S	G		187,1	95,1	1,07	123,9	117,2	338,3	23,9	95,1	0,00	9,09	0,000	0,000	3,30	30,33	5,83	2,80	6,01	x		

**Tab. 10 Legende zu den Analytikergebnissen des
 BAL-Gumpenstein – 2001**

Parameter	Beschreibung
KLG01	Kleegras und Jahr
DW(B)01	Dauerwiese Buchau und Jahr
BRG01	Bastardraygras und Jahr
G	Grün
S	Silage
Silage/Ballen	Silagestarterkultur und Siloballennummer
TM	Trockenmasse in g/kg Frischmasse (FM)
XA	Rohasche in g/kg TM
XP	Rohprotein in g/kg TM
CP	Rohprotein minus Ammonium Stickstoff (Crude Protein)
pH	pH Wert der Silage
XF	Rohfaser in g/kg TM
Zucker (Z)	Gesamtzucker in g/kg FM bzw. TM (= Wasserlösliche Kohlenhydrate)
MS	Milchsäure in g/kg FM bzw. TM
ES	Essigsäure in g/kg FM bzw. TM
BS	Buttersäure in g/kg FM bzw. TM
PS	Propionsäure in g/kg FM bzw. TM
NH4-N	Ammoniumstickstoff in g/kg FM bzw. TM
XL	Rohfett in g/kg TM
dOM	Verdaulichkeit der organischen Masse in %
NEL	Nettoenergie-Laktation in MJ/kg TM
P	Phosphor in g/kg FM bzw. TM (nur 2001)
K	Kalium in g/kg FM bzw. TM (nur 2001)
Ca	Calcium in g/kg FM bzw. TM (nur 2001)
Mg	Magnesium in g/kg FM bzw. TM (nur 2001)

**Tab. 11 Feststoffanalytik Jahr 2002 – BAL
Gumpenstein Teil 1 (Rohprotein)**

Codierung	BAL(B)	Saft	TM [g/kg]	NH4 [g/kg FM]	NH4 [g/kg TM]	RP [g/kg TM]	CP [g/kg TM]	pH
BRG-070502-1S-AW-G	B02/01		208,80	0,13	0,62	228,71	225,68	6,23
KLG-070502-1S-AW-G	B02/02		197,34	0,13	0,66	217,17	213,97	5,97
BRG-080801-220502-3S-IFAM2!2-PK2	B02/03		469,10	0,21	0,45	128,53	126,35	3,80
BRG-080801-220502-3S-IFAM2!2-PK1	B02/04		461,79	0,36	0,78	138,57	134,78	3,92
BRG-080801-220502-3S-IFAM2!2-HG	B02/05		312,83	0,37	1,18	175,76	170,01	3,81
LU-230502-1S-G-PK2	B02/06	02/02	352,54	0,10	0,28	186,74	185,36	5,47
LU-230502-1S-G-PK1	B02/07	02/01	287,97	0,09	0,31	174,54	173,02	5,60
LU-230502-1S-G-HG	B02/08		194,07	0,09	0,46	199,57	197,31	5,69
LU-240502-1S-G-PK1 (gepresst Stufe 8)	B02/09	02/06	286,35	0,10	0,35	204,94	203,24	5,65
LU-240502-1S-G-HG	B02/10		216,39	0,11	0,51	203,22	200,75	5,88
BRG-070502-270502-1S-BonS!2-PK2	B02/11	02/23	496,52	0,27	0,54	134,36	131,72	4,03
BRG-070502-270502-1S-BonS!2-PK1	B02/12	02/19	445,77	0,30	0,67	140,15	136,88	4,01
BRG-070502-270502-1S-BonS!2-HG	B02/13		204,20	0,44	2,15	214,06	203,58	3,96
BRG-070502-280502 -1S-BonS!3-PK2	B02/14	02/25	518,86	0,25	0,48	127,71	125,36	3,97
BRG-070502-280502 -1S-BonS!3-Pk1	B02/15	02/24	488,91	0,34	0,70	136,30	132,92	3,92
BRG-070502-280502 -1S-BonS!3-HG	B02/16		203,88	0,45	2,21	195,38	184,65	3,94
KLG-070502-290502-1S-BonS!3-PK1	B02/17		467,22	0,32	0,68	204,66	201,33	4,11
KLG-070502-290502-1S-BonS!3-PK2	B02/18		529,67	0,27	0,51	178,94	176,46	4,17
KLG-070502-290502-1S-BonS!3-HG	B02/19		188,74	0,53	2,81	222,76	209,11	4,17
KLG-070502-310502-1S-BonS!6-PK2	B02/20	02/27	507,58	0,25	0,49	186,18	183,79	4,17
KLG-070502-310502-1S-BonS!6-PK1	B02/21	02/26	441,90	0,30	0,68	184,16	180,86	4,10
KLG-070502-310502-1S-BonS!6-HG	B02/22		196,86	0,41	2,08	238,03	227,91	4,12
BRG-030602-2S-G-PK1	B02/23		356,69	0,10	0,28	165,17	163,81	5,57
BRG-030602-2S-G-HG	B02/24		174,96	0,12	0,69	178,07	174,74	4,43
BRG-040602-2S-G-PK2	B02/25	02/12	490,12	0,13	0,27	146,96	145,67	4,12
BRG-040602-2S-G-PK1	B02/26	02/08	356,42	0,13	0,36	134,22	132,45	4,12
BRG-040602-2S-G-HG	B02/27		212,24	0,15	0,71	159,51	156,07	5,07
KLG-050602-2S-G-PK1-B2	B02/28		278,41	0,13	0,47	209,74	207,47	4,45
KLG-050602-2S-G-HG-B2	B02/29		176,95	0,11	0,62	208,17	205,15	5,27
KLG-050602-S2-G-PK1	B02/30		306,58	0,14	0,46	174,60	172,38	4,49
KLG-050602-S2-G-HG	B02/31		172,75	0,11	0,64	174,20	171,11	5,54
Weizengras-060602-G-PK2	B02/32	IFA7/10	479,77	0,28	0,58	167,81	164,97	6,06
Weizengras-060602-G-PK1	B02/33		435,91	0,34	0,78	164,47	160,68	5,87
KLG-070502-070602-1S-BonS!1-PK2	B02/34		491,05	0,27	0,55	174,36	171,69	4,35
KLG-070502-070602-1S-BonS!1-PK1	B02/35		462,34	0,35	0,76	174,34	170,66	4,24
KLG-070502-070602-1S-BonS!1-HG	B02/36		186,06	0,54	2,90	232,20	218,09	4,23
KLG-070502-080602-1S-BonS!5-PK1	B02/37		401,09	0,47	1,17	195,13	189,43	4,07

Tab. 13 Pressversuche 02: Errechnung der Durchsatzleistung in Abhängigkeit des Trockenmassegehaltes - Silage

Silage	U/min	Zeit 1	Zeit 2	Zeit Diff [h]	Input [kg]	Durchsatz [kg/h]	TM Input [%]	Pressung
B02/36	3,75	14,5	17,0	2,5	662	265	18,6	1. Pressung
B02/19	3,75	10,0	12,5	2,5	582	233	18,9	1. Pressung
B02/16	3,75	13,3	16,3	3,0	754	251	20,4	1. Pressung
B02/13	3,75	14,0	16,0	2,0	559	280	20,4	1. Pressung
B02/05	3,75	11,5	12,8	1,3	209	167	31,3	1. Pressung
B02/21	3,75	14,8	15,8	1,0	94	94	44,2	2. Pressung
B02/35	3,75	18,8	21,0	2,3	168	75	46,2	2. Pressung
B02/17	3,75	15,0	16,0	1,0	93	93	46,7	2. Pressung
B02/15	3,75	16,5	17,8	1,3	89	71	48,9	2. Pressung

Tab. 14 Pressversuche 02: Errechnung der Durchsatzleistung in Abhängigkeit des Trockenmassegehaltes - Grün

Grün	U/min	Zeit 1	Zeit 2	Zeit Diff [h]	Input [kg]	Durchsatz [kg/h]	TM Input [%]	Pressung
B02/51	3,75	13,8	15,0	1,3	225	180	16,3	1. Pressung
B02/24	3,75	12,8	17,8	5,0	504	101	17,5	1. Pressung
B02/27	3,75	14,3	18,3	4,0	478	120	21,2	1. Pressung
kein B (LU-240502)	3,75	15,0	17,5	2,5	373	149	21,6	1. Pressung
B02/47	3,75	16,5	17,5	1,0	163	163	24,8	1. Pressung
B02/43	3,75	13,8	17,3	3,5	332	95	24,9	1. Pressung
B02/49	3,75	19,0	19,5	0,5	70	140	29,6	2. Pressung/Dampf
B02/26	3,75	18,5	20,3	1,8	100	57	35,6	2. Pressung
B02/42	3,75	18,5	19,3	0,8	68	91	38,9	2. Pressung/Dampf
Grün	U/min	Zeit 1	Zeit 2	Zeit Diff [h]	Input [kg]	Durchsatz [kg/h]	TM Input [%]	Pressung
kein B (KLG-130602)	10,34	16,3	17,8	1,5	458	305	16,3	1. Pressung
kein B (KLG-130602)	10,34	21,3	23,3	2,0	576	288	16,3	1. Pressung
B02/31	10,34	14,8	18,3	3,5	480	137	17,3	1. Pressung
B02/29	10,34	19,8	22,5	2,8	405	147	17,7	1. Pressung
B02/08	10,34	12,3	12,8	0,5	173	346	19,4	1. Pressung
kein B (LU-230502)	10,34	17,7	18,3	0,7	262	393	19,4	1. Pressung
B02/10	10,34	12,3	13,3	1,0	187	187	21,6	1. Pressung
kein B (KLG-120602-B1)	10,34	17,8	18,8	1,0	194	194	24,8	1. Pressung
B02/45	10,34	19,5	21,5	2,0	390	195	25,3	1. Pressung
B02/07	10,34	13,3	13,7	0,3	65	195	28,8	2. Pressung

Tab. 15 Pressversuche 02: Errechnung des Stromverbrauchs in Abhängigkeit des Trockenmassegehaltes - Grün

GRÜN 1				
BAL (B)	U/min	Durchsatz [kg/h]	TM Input [%]	kWh/t
B02/51	3,75	180	16,3	9
B02/24	3,75	101	17,5	13
B02/27	3,75	120	21,2	13
keine B	3,75	149	21,6	17
B02/47	3,75	163	24,8	11
B02/43	3,75	95	24,9	17
B02/49	3,75	140	29,6	12
B02/26	3,75	57	35,6	26
B02/42	3,75	91	38,9	23
GRÜN 2				
keine B	10,34	305	16,3	10
keine B	10,34	288	16,3	11
B02/31	10,34	137	17,3	18
B02/29	10,34	147	17,7	16
keine B	10,34	393	19,4	7
B02/08	10,34	346	19,4	8
B02/10	10,34	187	21,6	8
B02/07	10,34	195	28,8	16
B02/33	10,34	115	43,6	29

Tab. 16 Pressversuche 02: Errechnung des Stromverbrauchs in Abhängigkeit des Trockenmassegehaltes - Grün

SILAGE				
BAL (B)	U/min	Durchsatz [kg/h]	TM Input [%]	kWh/t
B02/36	3,75	265	18,6	6
B02/19	3,75	233	18,9	6
B02/22	3,75	338	19,7	6,87
B02/16	4,50	251	20,4	7
B02/13	3,75	280	20,4	8
B02/05	3,75	167	31,3	17
B02/21	3,75	94	44,2	17
B02/35	3,75	75	46,2	28
B02/17	3,75	93	46,7	23
B02/15	3,75	71	48,9	23

Tab. 17 Zusammenfassung der Fraktionierungsversuche 2002

BAL (B)	Saft	TM Fest [%]	TM PK1 angefeuchtet bzw. bedampft [%]	TM Saft [%]	Abpressgrad [%]	TMSaft zu TM Input [%]	TM Saft zu FM Input [%]	FM Saft zu FM Input [%]	CP-Ausbeute im Saft err. Anhand Input u. Saft-Werten	CP-Ausbeute im Saft err. anhand Feststoff	Mittel-CP-Ausbeute	CP-Gesamtausb.	Steigerung durch Doppelpress.
SILAGE													
B02/13		20,4											
B02/12	02/19	44,6		8,6	77,1	28,2	5,7	67,1	46,44%	51,70%	49,1%		
B02/11	02/23	49,7		9,0	20,5	2,5	1,1	12,5	6,13%	6,19%	6,2%	52,2%	6,4%
B02/16		20,4											
B02/15	02/24	48,9	39,0	8,2	80,8	28,3	5,8	70,1	55,43%	48,38%	51,9%		
B02/14	02/25	51,9		5,7	43,1	4,0	1,6	27,9	13,05%	9,51%	11,3%	57,3%	10,3%
B02/22		19,7											
B02/21	02/26	44,2	37,6	8,0	77,6	27,6	5,4	67,7	41,93%	42,52%	42,2%		
B02/20	02/27	50,8		6,5	44,5	5,2	1,9	29,7	9,62%	3,62%	6,6%	46,1%	9,1%
Mittel		20,2											
Mittel		45,9	40,4	8,3	78,5	28,0	5,6	68,3			47,7%		
Mittel		50,8		7,1	36,0	3,9	1,5	23,4			8,0%	51,8%	9%

Tab. 18 Zusammenfassung der Fraktionierungsversuche 2002

BAL (B)	Saft	TM Fest [%]	TM PK1 angefeuchtet bzw. bedampft [%]	TM Saft [%]	Abpress-grad [%]	TMSaft zu TM Input [%]	TM Saft zu FM Input [%]	FM Saft zu FM Input [%]	CP-Ausbeute im Saft err. Anhand Input u. Saft-Werten	CP-Ausbeute im Saft err. anhand Feststoff	Mittel-CP-Ausbeute	CP-Gesamtausb.	Steigerung durch Doppelpress.
GRÜN													
B02/51		16,3											
B02/49	02/16	33,9	29,6	5,1	69,2	19,1	3,1	61,0	17,01%	33,90%	kein MW		
B02/48	02/17	48,4		5,8	59,2	8,7	2,6	44,3	7,12%	-2,92%	kein MW	22,9%	34,7%
B02/43		24,9											
B02/42	02/13	44,9	38,9	6,5	64,7	13,5	3,4	52,0	22,51%	18,71%	20,6%		
B02/41	02/15	60,0		7,4	60,8	7,7	3,0	40,1	11,05%	7,89%	9,5%	28,1%	36,3%
B02/27		21,2											
B02/26	02/08	35,6		6,2	58,3	14,2	3,0	48,9	15,52%	27,20%	kein MW		
B02/25	02/12	49,0		8,5	46,9	7,8	2,8	33,0	8,79%	-1,38%	kein MW	22,9%	47,9%
B02/10		21,6											
B02/09	02/06	28,6		7,4	39,0	11,3	2,4	33,0	16,40%	10,22%	kein MW	keine Doppelpressung	
B02/08		19,4											
B02/07	02/01	28,8		6,8	49,4	15,1	2,4	42,8	21,72%	25,55%	23,6%		
B02/06	02/02	35,3		7,7	30,4	6,3	1,8	23,4	9,60%	-0,41%	kein MW	29,2%	23,7%
Mittel		20,7			56,1								
Mittel		34,4	33,2	6,4	56,1	14,6	2,9	47,5					
Mittel		48,2		7,3	49,3	7,6	2,5	35,2			8,75%		36%

Anhang D

Gewinnung von Proteinen aus Grünen bzw. Silage Säften

Jahre 2001 und 2002

1 Proteine aus Grünlandbiomasse und Silage (Blattproteine)

Proteine sind Makromoleküle, aufgebaut aus aneinandergelinkten Aminosäuren. Die zwanzig verschiedenen Aminosäuren bilden einen Code der eine enorm mächtige Anzahl von verschiedenen Proteinen ermöglicht. Bei einer kurzen Kette bis zu 10 Aminosäuren wird in diesem Bericht von Oligopeptiden gesprochen.

Bei einer Kettenlänge von 10 bis 100 Aminosäuren spricht man von Polypeptiden. Ab einer Kettenlänge von 100 Aminosäuren (rund 11kD) sind in diesem Bericht Proteine angesprochen.

Die Proteine um die es sich in diesem Projekt handelt sind Blattproteine (engl. Leaf Protein). Der Rohstoff Gras (Familie der Süßgräser, *Poaceae/ Gramineae*) und Klee (Untergruppe der Fam. der Schmetterlingsblütler, *Fabaceae*) besteht je nach Erntezeitpunkt zu einem großem Teil aus solchen Blättern.

Zur Beschreibung/Klassifikation der Proteine gibt es eine Vielzahl von Methoden. Sinnvoll für dieses Projekt ist die Einteilung in:

- Molmasse, (1 Kilo Dalton (kD) entspricht ein Oligopeptid mit 9 Aminosäuren)
- Chloroplastproteine und Cytoplasmproteine,
- Enzyme und Nichtenzyme,
- die Unterscheidung zwischen grünem (chlorophyllhaltigem) und weißem Proteinen,
- die Klassifizierung nach Extrahierbarkeit und
- die Einteilung in Fraktionen nach der Löslichkeit (z.B.: in Fraktionen die nach Hitzebehandlung nach 50°C und 85°C koagulieren und unlöslich sind).

Tab. 19 Blattproteine (Boulter und Parthier 1982, Nultsch 2001)

	Molmasse [Dalton]	Art	Grün/Weiß
Rubisco ¹	550.000	Enzym	Weiß
Grosse Untereinheit von Rubisco ¹	55.000	Enzym	Weiß
kleine Untereinheit von Rubisco ¹	14.000	Enzym	Weiß
ATPasen ²	59.000, 55.000...	Enzym	Weiß
P-700-chlorophyll proteins, PSII ¹	68.000	Enzym	Grün
P-680-chlorophyll proteins, PSI ²	~56.000	Enzym	Grün
LHC-II-Protein ²	28.000 - 25.000	Enzym	Grün
LHC-I-Protein ²	19.000 - 23.000	Enzym	Grün
Alpha und Beta Tubulin ²	~100.000	Strukturprotein	-
32.000 Mr-Membrane Protein ¹	32.000	-	-
Ribosomal Protein ²	-	-	Weiß
Actin ²	42.000	Strukturprotein	-
Proteasen		Enzym	Weiß
Phytasen		Enzym	Weiß
1...Boulter und Parthier 1982 2...Nultsch 2001			

Die meisten bisherigen Untersuchungen wurden mit Luzerne (Alfalfa; *Medicago sativa*) durchgeführt. Daneben gibt es auch Literaturwerte zu Raygras (damit sind meist *Lolium Perenne* und *Lolium Multiflorum* gemeint). Raygras gilt in diesem Projekt als Referenzgras und wenn möglich werden auf Werte dieser Art (Artengruppe) Bezug genommen.

Die Identifizierung und Quantifizierung der Proteine in den Fraktionen (Frischgras, Silagegras, Presssaft, Proteinprodukt) ist sehr aufwendig. Meist sind nur indirekte Bestimmungen möglich.

Eines der wichtigsten indirekten Bestimmungsmerkmale ist der Stickstoffgehalt. In Proteinen, bzw. in den Proteinbausteinen - den Aminosäuren, ist unverhältnismäßig viel Stickstoff eingebaut. Geht man davon aus, dass der Grossteil des Stickstoff einer Probe in Proteinen eingebaut ist, so lässt sich proportional zum Stickstoffgehalt eine ungefähre Proteinmasse bestimmen. In der Praxis wird der (organische) Stickstoff nach Kjeldhal bestimmt. Der ungefähre Proteingehalt ergibt sich aus Stickstoffmasse mal 6,25 und wird als Rohprotein (CP) bezeichnet. Für alle Berechnungen in diesem Projekt wurde der Wert aus der Kjeldahlmessung um den separat gemessenen Ammoniumgehalt bereinigt.

Zur Quantifizierung der Proteinanteile im Frischgras können die Proteine aus der Frischmasse extrahiert werden (Messman et. al. 1994). Der Rohproteingehalt des Ausgangsmaterials für die Zahlen in Tab. 20 beträgt bei Alfalfa 24,3% und 23,1% bei Raygras. Bei der Laborextraktion wird eine Stickstoff-Ausbeute von 82% (Alfalfa/Luzerne) und 91% (Raygras) erreicht (Messmann et al.1994).

Das Extrakt beinhaltet neben dem Proteinstickstoff nicht in Proteinen eingebundenen Stickstoff (Non-Protein-Nitrogen, NPN), der nach Abtrennung der Proteine aus dem Extrakt bestimmt wird. Multipliziert man diesen Stickstoffanteil ebenfalls mit 6,25 und zieht

diesen Massenanteil von der Rohproteinmenge des Extrakts ab so bekommt man den „True Protein“ genannten Anteil.

**Tab. 20 Aufteilung des Rohproteins in Luzernen
(Alfalfa) und Raygras (Messmann et al. 1994)**

	Rohprotein, % der Trockenmasse	Nicht-Protein- Stickstoff Anteil, NPN, Stickstoff*6,25, % der Trockenmasse	extrahierbares "True" Protein, % des Rohproteins*
Alfalfa	24,3	2,1	73
Raygras	23,1	2,2	72

*Rohprotein minus nicht extrahierbarer Anteil und minus NPN

In Raygras wurden 7 verschiedenen Proteine mit nennenswerten Massenanteilen identifiziert. Die Anteile der einzelnen Proteine sind:

- Rubisco, 42%
- 30kD-Fraktion, 13%
- 47kD-Fraktion, 10 %
- Andere, <7%

Alle Werte beziehen sich auf **Total Electrophoretically Identified Protein - TEIP** (Intensität über alle Elektrophoresebanden - das entspricht nach Ansicht der Autoren in etwa dem extrahierbaren „True Protein“.

In anderen Quellen (Makoni et al, 1993) werden folgende Fraktionen in erntefrischen Alfalfablättern beobachtet (Elektrophoresebanden):

- Rubsico, 560kD, Fraktion 1
- verschieden Proteine von 21 bis 48kD – Fraktion 2
- verschieden Proteine, Banden über 10kD, vereinzelt bis 260kD – Fraktion 2B
- Banden bei 15-18kD, 28-30kD, 60kD – Fraktion 3, Grüne Fraktion

2 Verwendete Methoden und Daten

Dieses Projekt basiert beinahe ausschließlich auf empirischen Untersuchungen. Zur Proteinabtrennung kamen primär 2 Methoden zur Anwendung:

8. Hitzekoagulation
9. Ultrafiltration

Die erzeugten Proteinkonzentrate wurden sprühgetrocknet oder gefriergetrocknet. Besonderes Augenmerk wurde allerdings auf die Sprühtrocknung gelegt, die auch großtechnisch sinnvoll wäre.

In einem Einzelversuch wurden der Versuchsaufbau variiert und die mit der Ultrafiltration verwandten Methoden Diafiltration (Spülen des Ultrafiltrationsretentats mit Wasser) und Mikrofiltration (Crossflowfiltration an einer Membran mit wesentlich höheren Cut-Off) angewendet.

Zusätzlich zu den oben genannten Methoden wurden verschiedene Standardmethoden der Chemie zur Produktaufbreitung und zur begleitenden Analytik angewendet:

- Gefriertrocknung des koagulierten Proteins nach Abtrennung vom Saft durch Zentrifugation
- Stickstoffbestimmung nach Kjeldhal
- Aschebestimmung
- Bestimmung von org. Säuren und monomeren Zuckern mittels HPLC und UV-Detektion.
- Bestimmung der Aminosäuren mittels HPLC und Fluoreszenzdetektion der derivatisierten Aminosäuren
- Bestimmung der Kationen
- Bestimmung der Kationen und Anionen mit Ionenchromatographie
- Löslichkeitsbestimmung von Proteinkonzentraten in pulveriger Form
- Mikrobielle Untersuchungen (Gesamtkeimzahl...)
- Bestimmung der Proteine nach Lowry und mit SDS-PAGE

Chronologisch sind die Versuchsreihen zu den Säften der Saison 2001 und Säften der Saison 2002 zu unterscheiden. Die ersteren Versuche wurden ausschließlich mit Säften, die nach der Pressung eingefroren und gelagert wurden. Für die Proteinabtrennungsversuche wurden diese in 20 Liter Kanistern gefrorenen Säfte über einen Zeitraum von 10 bis 15 Stunden aufgetaut.

Im Gegensatz dazu wurden die Säfte von 2002 direkt am Ort der Pressung in Hartberg auch weiterverarbeitet. Verfälschungen durch Änderung der Proteinkonfiguration beim Einfrier- oder Auftauprozess, bzw. Veränderung bei der Lagerung können hier ausgeschlossen werden. Die 2 Koagulations- und 2 Ultrafiltrationsversuche des Jahres 2002 mit Grünem Saft stellen den Abschluss der Proteinabtrennungsversuche dar. Alle Erfahrungen der vorhergehenden Versuche wurden berücksichtigt und flossen in die Wahl der Versuchsparameter und sonstiger handwerklichen und logistischer Abläufe ein.

2.1 Proteingewinnung durch Hitzeokoagulation und Zentrifugation

2.1.1 Theorie zur Hitzeokoagulation

Mit Koagulation wird die irreversible Verklumpung der Kolloidteilchen zu großen Aggregaten bezeichnet. Koagulation tritt ein, wenn sich die Teilchen so nahe kommen, dass sie auf der Potentialkurve in das wahre Minimum der potentiellen Energie bei kleinen Abständen kommen, wo die anziehenden van der Waals-Kräfte dominieren. (gegenüber der elektrostatische Abstoßung der elektrischen Doppelschicht der einzelnen Kolloidteilchen) (Atkins 1996).

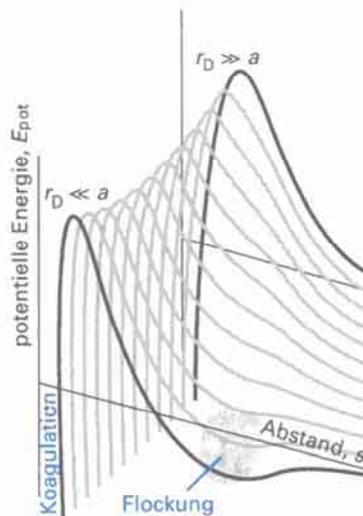


Abb. 44: Die potenzielle Energie der Wechselwirkung als Funktion des Abstands der Zentren zweier Teilchen sowie des Verhältnisses von Teilchengröße a zur Dicke r_D der elektrischen Doppelschicht. Die mit Koagulation und Flockung bezeichneten Bereiche sind die minimaler potentiellen Energie, in welchen die jeweiligen Prozesse eintreten. (Atkins 1996)

Ein Hitzeeintrag durch Dampfeinblasung ist die einfachste Methode zur Koagulation von Proteinen (Kolloidteilchen). Alternativ dazu wäre Koagulation durch Verringerung des pH-Werts auf ca. 4,0 möglich. Da das Endprodukt aber als Futtermittel mit natürlichem Charakter verkauft werden soll ist ein Eintrag von Chemikalien zu vermeiden.

Je nach Maximaltemperatur während der Koagulation koaguliert ein Anteil der löslichen Proteine. Die nun entstandenen größeren unlöslichen Teilchen können mittels eines Gravitationsgradienten in einer Dekanterzentrifuge leicht abgetrennt werden. Die für die Koagulation notwendige Zeitdauer beträgt 10 Sekunden (Ostrowski-Meissener 1983) bis 5 Minuten (Koch 1983).

Durch Variation der Prozessparameter (Temperatur und pH-Wert) können die Saftproteine fraktioniert werden. Man spricht von 2 Fraktionen.

Fraktion 2 (Grünes Protein; in anderen Quellen auch in Fraktion 2, 2B und 3 unterteilt, (siehe Telek und Graham 1983) koaguliert schon ab 50° C. Ab 80° C sind auch alle Anteile an Fraktion 1 (weißes Protein) koaguliert. Die Trenngrenze zwischen Fraktion 1 und Fraktion 2 verschiebt sich mit steigendem pH-Wert von 55°C (pH 5,3) auf über 63°C (pH 8,52) (Jones und Mangan 1976).

Die Firma France Luzerne wendet die Hitzeokoagulation zur Gewinnung eines Proteinkonzentrats aus Luzernepresssaft an.

Nach einer schonenden Kaltpressung wird der Presssaft zuerst auf 40°C erwärmt und dann per Dampfeinblasung kurz auf 85° erhitzt. Der koagulierte Saft wird in Dekanterzentrifugen in ein Proteinkonzentrat und einen entproteinisierten Saft aufgetrennt.

Das feuchte Konzentrat (42%-TM) wird in einem Wirbelschichtbettrockner schonend getrocknet und unter Stickstoffatmosphäre gelagert. Als Konservierungsmittel wird lediglich in geringer Menge ein Antioxidans (z.B. Ethoxyquin 150 ppm) eingesetzt (France Luzerne 2000).

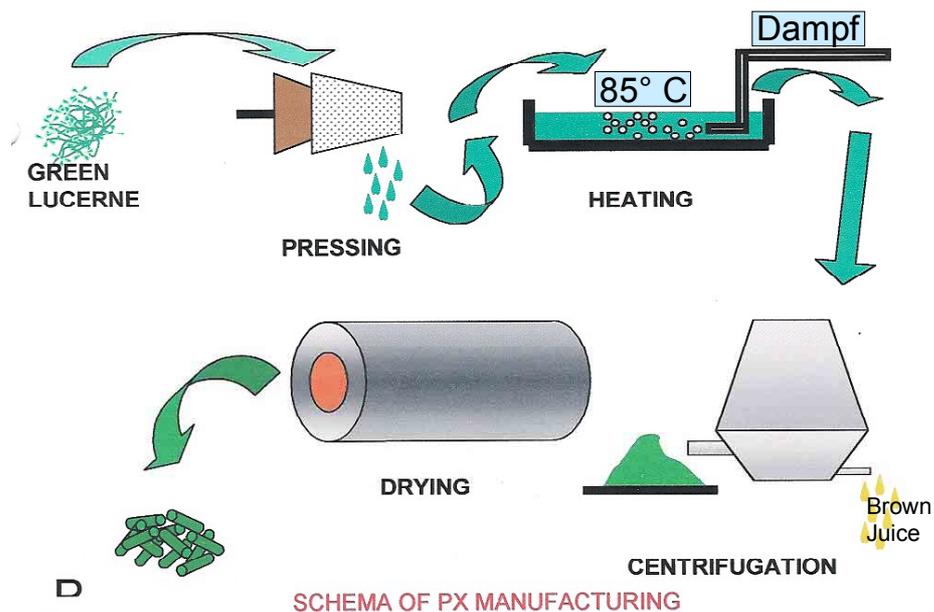


Abb. 45: Schema der Produktion von Super PX (France Luzerne 2000)

Ein Vergleich der gängigen bzw. historischen Technologien zur Abtrennung von Proteinen aus Grünem Saft erfolgte bereits ausführlich in Kromus et al. (2002).

2.1.2 Versuchsaufbau zur Proteingewinnung durch Hitzeokoagulation

Die Dampfeinblasungsversuche fanden ausnahmslos in Hartberg bei der Fa. LACTOPROT statt. Die darauffolgende Zentrifugation und Gefriertrocknung wurde mit einer Ausnahme am Institut für Biotechnologie an der TU-Graz durchgeführt. Es zeigte sich, dass nur mit einer Becherzentrifuge eine genaue Massenbilanz zur Berechnung der Proteinausbeute möglich ist. Der erste Versuch an der Universität für Bodenkultur in Wien zeigte, dass die Abtrennung von koagulierte Protein aus dem Saft zwar einfach mit kontinuierlich betriebenen Technikumsseparatoren bzw. Zentrifugen sehr gut funktioniert, aber eine exakte Bestimmung des abgetrennten Proteinkonzentrats nicht möglich ist.

Die Experimente wurden im 10 Liter Maßstab durchgeführt.

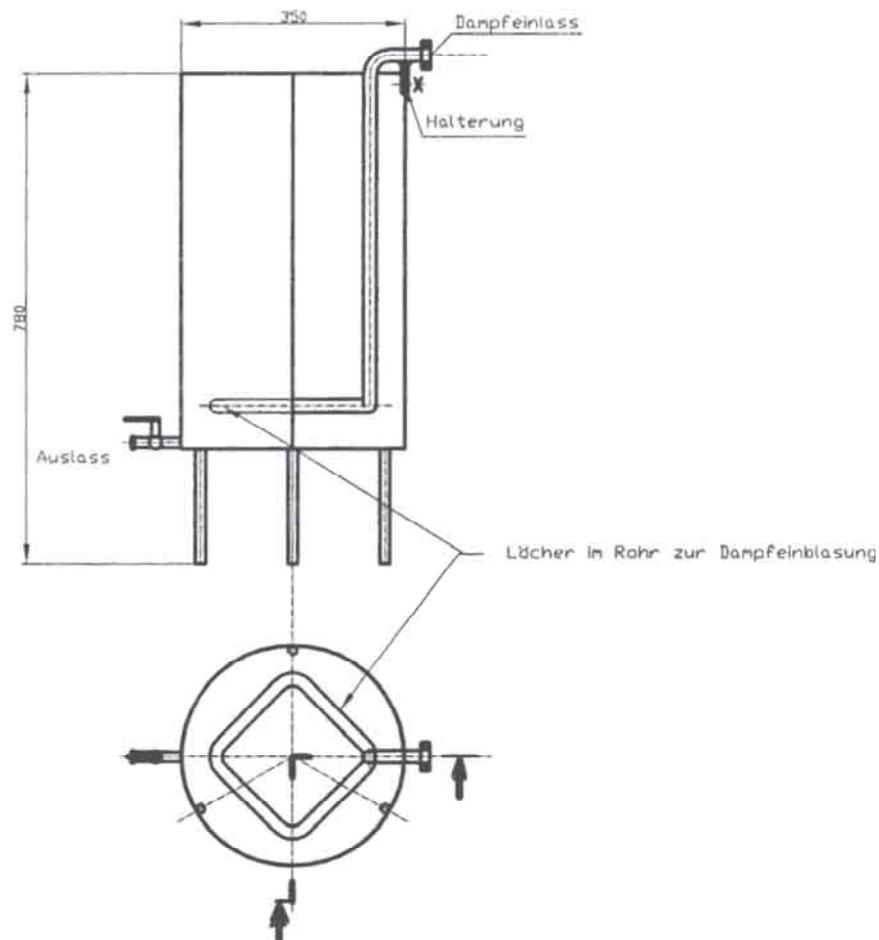


Abb. 46: Steaminjection Einheit: Eigenkonstruktion zur Hitzeokoagulation von Grassaftproteinen – mit Unterstützung der Fa. LACTOPROT AG

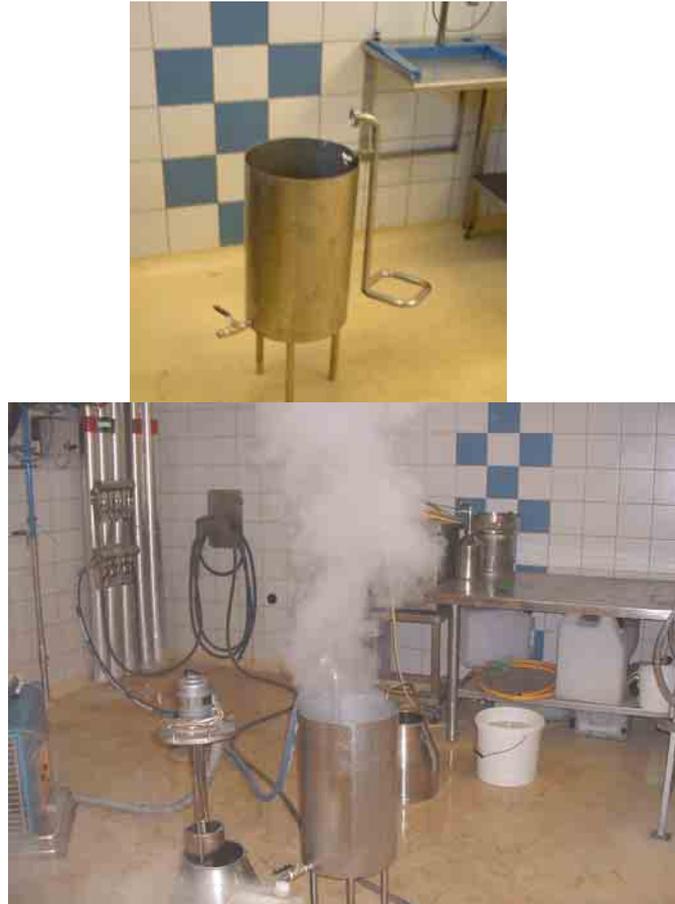


Abb. 47: Steaminjektion-Einheit – Sonderanfertigung bei der Fa. LACTOPROT AG in Hartberg

Die Versuche dienten zur Bestimmung der möglichen Proteinausbeute, die mit dieser Technologie erreichbar ist. Die dabei gewonnen Proteinkonzentrate (Leaf Protein Concentrates - LPCs) dienten als Vergleichsprodukte für:

- a. in der Literatur beschriebene LPC, die mit einem gleichwertigen Verfahren gewonnen wurden,
- b. Proteinkonzentrate die in diesem Projekt mit der Alternativtechnologie Ultrafiltration gewonnen wurden.

2.1.2.1 Versuchsablauf zur Hitzekoagulation im Jahr 2001

Dieser erste Versuch zur Proteinabtrennung mittels Hitzekoagulation wurde im September 2001 im Technikum des Instituts für Lebensmitteltechnologie an der Universität für Bodenkultur in Wien durchgeführt. Hauptziel dieses Versuches war die Abtrennung der Fraktion der leichtkoagulierbaren Proteine und damit Bereitstellung eines Rohstoffs zur Gewinnung einer gut löslichen Proteinfraktion.

Proteine koagulieren in Abhängigkeit von ihrer spezifischen Aminosäuresequenz bzw. räumlichen Struktur bei unterschiedlichen Temperaturen. In diesem ersten Dampfblasungsversuch wurde Grüner Saft mit Dampf auf 55°C erhitzt und das koagulierte Protein mit einem Separator (Westfalia Separator, LWA 205) bei 12.000 U/min. abgetrennt. Der teilentproteinierte Saft diente als Ausgangsrohstoff für die in Anhang D beschriebene Ultrafiltration zur Gewinnung einer „weißen“ Proteinfraktion.

Als **Rohstoff** wurde tiefgefrorener, bei –20°C, in 20 Liter Kanistern gelagerter, Saft (Klee gras 1.Schnitt, grüner Saft, 61,5 Liter – Probennummer 01/01) eingesetzt. Die Kanister wurden über Nacht in einem Wasserbad bei anfangs 35°C aufgetaut, und danach durch Schütteln homogenisiert.

In drei Durchgängen wurde ein rund 40 Liter fassender Edelstahlbehälter mit ca. 20 Litern Saft befüllt. Innerhalb von 30 Sekunden wurde der Saft mit Dampf auf 55°C erhitzt und nach weitem 30 Sekunden mit einem in der Milchwirtschaft gebräuchlichen Eintauchkühler auf 10°C gekühlt. Die Dampfbringung erfolgte mit einem einfachen Rohr, welches während der Dampfbringung per Hand geschwenkt wurde.

Der Saft wurde nach der Koagulation mit einem Westfaliaseparator, (LWA 205) bei 12.000 U/min.) und 10 Liter per Stunde Durchsatz abgetrennt. Das grüne Proteinkonzentrat sammelte sich in einer Kammer des Separators und es ist nicht möglich die Masse des Konzentrats auch nur annähernd zu bestimmen.

Proben des Überstands und des Konzentrats wurden für Ausbeuteberechnungen analysiert.

2.1.2.2 Versuchsablauf zur Hitzekoagulation im Jahr 2001

Die Dampfblasungsversuche mit Saft der Saison 2001 wurden im Zeitraum von September 2001 bis Jänner 2002 in Hartberg durchgeführt.

Als **Rohstoff** wurde tiefgefrorener, bei –20°C, in 20 Liter Kanistern gelagerter Saft eingesetzt. Der Kanister wird über Nacht in einem Wasserbad bei anfangs 35°C aufgetaut, und danach durch Schütteln homogenisiert.

Der Behälter der Steaminjection-Einheit (Abb. 47) wird mit rund 8 Liter Saft befüllt (Mindestmenge für den zur Kühlung eingesetzten Eintauchkühler) und gewogen. Die Dampfbringungseinheit mit Verteilerring der 2 cm über dem Boden positioniert ist (Abb. 47) wird mit Dampf vorgeheizt und an der Topfwand fixiert. Nun wird allmählich Dampf eingeblasen. Innerhalb von rund 40 Sekunden werden 90°C erreicht und die Dampfzufuhr abgedreht. Die Zeitdauer und Intensität der Dampfblasung ist ein Erfahrungswert als Kompromiss zwischen Gefahr des Überschäumens und maximaler Geschwindigkeit.

Der aufgeschäumte, heiße Saft wird nach 2 Minuten bei Temperaturen um 85° C direkt im Edelstahlbehälter der Steaminjection-Einheit gekühlt. Es kommt dabei ein handelsüblicher Eintauchmilchkühler zum Einsatz. Der Saft wird innerhalb von 10 Minuten auf 10° C gekühlt, die volle Steaminjection-Einheit wird zur Bestimmung der zugesetzten

Dampf/Wassermenge gewogen und beim Erreichen von 5°C wird er Saft direkt in die Zentrifugenbecher abgefüllt. Dabei wird der untere Auslass geöffnet und zuerst die ersten 2 Liter abgefüllt. Danach werden 3 bis 4 Liter als Reserve entnommen. Der weitere Saft wird bis auf einem Liter in Zentrifugenbecher abgefüllt. Der Rest mit eventuellem Bodensatz wird mit dem zuvor entnommenen „Reserve“-Saft allmählich gespült und ebenfalls abgefüllt. Die Differenz zwischen der Gesamtmenge des koaguliertem Safts und der in Zentrifugenbehälter abgefüllten Menge sollte nun eine Teilmenge des in Reserve gehaltenen Safts sein.

Die Zentrifugation und die Gefriertrocknung der koagulierten Säfte wurden im Technikum der TU-Graz unter Betreuung von R. Bona des Instituts für Biotechnologie durchgeführt. Es wurde eine Beckman-Becherzentrifuge eingesetzt. Die rund 900 ml fassenden Becher, deren Leergewicht vorher im trockenen Zustand genau bestimmt wurde wurden entsprechend ihres Bruttogewichts austariert und bei 3000 U/min. 10 Minuten lang zentrifugiert. Der bräunliche, klare Überstand wurde per Hand abdekantiert. Der viskose, tiefgrüne, feste Bodensatz wurde im Zentrifugenbehälter als Vorbereitung für die Gefriertrocknung eingefroren.



Abb. 48: Zentrifugiersuche des Jahres 2001 (TU-Graz): Foto a) Zentrifugenpellet im Zentrifugenbecher (Proteinkonzentrat); Foto b) Zentrifugenüberstand (Brown Juice)

Die Zentrifugenbecher mit dem gefrorenem Bodensatz werden ohne Deckel gefriergetrocknet. Es zeigte sich, dass zur Trocknung 2 Durchgänge im Lyophilisator notwendig sind und im zweiten Durchgang die Becheröffnung mit einem luftdurchlässigen Tuch abgedeckt werden muss um ein Austreten von Konzentratstaub zu verhindern. In einem Durchgang kann der Inhalt von 4 Bechern getrocknet werden.

Die Becher mit dem gefriergetrockneten Produkt werden nun gewogen. Das Produkt wird im Mörser zerstoßen und verrieben. Das entstandene Pulver wird abgepackt und bis zur weiteren Untersuchung (Trockenmassebestimmung und weitere Analytik) unter Luftabschluss bei -20°C gelagert.

2.1.2.3 *Versuchsablauf zur Hitzekoagulation im Jahr 2002*

Im Jahr 2002 wurde, aufbauend auf die Ergebnisse des Jahres 2001, versucht im größeren Maßstab zu arbeiten. Allerdings zeigte es sich, dass die Gefriertrocknung von einer großen Zentrifugenbehältermenge ein Flaschenhals der Verarbeitungsschiene ist. Aus diesem Grund war es schwierig 2 Versuche mit großen Mengen innerhalb eines Monats durchzuführen. Es kamen bis zu 17 Behälter mit jeweils rund 900 ml Fassungsvermögen zum Einsatz.

Im Gegensatz zu den Versuchen der Saison 2001 wurde 2002 nur frischer grüner Saft verwendet. Das soll gewährleisten, dass die Produkteigenschaften bzw. die Ausbeuten nicht durch Gefriervorgänge, Lagerungsveränderungen oder Veränderungen beim Auftauen verfälscht werden. Pressung und Dampfeinblasung fanden am selben Tag in Hartberg bei der Firma LactoProt statt. Der frisch gepresste Saft wurde sofort auf 4°C gekühlt und erst während der Steaminjection erwärmt.

Der weitere Versuchsablauf entspricht dem der Saison 2001.

2.2 Proteingewinnung durch Ultrafiltration

2.2.1 Theorie zur Ultrafiltration

Ultrafiltration ist ein druckgetriebenes Membranverfahren zur Trennung von niedermolekularen gelösten Stoffen und Makromolekülen. Dabei ist zur klaren Trennung ein deutlicher Größenunterschied zwischen den zu fraktionierenden Stoffen notwendig. Als typisches Beispiel für die Ultrafiltration ist die Auftrennung von Molke in Proteine (Konzentrat, Retenat) und Salze & Lactose (Permeat) zu nennen.

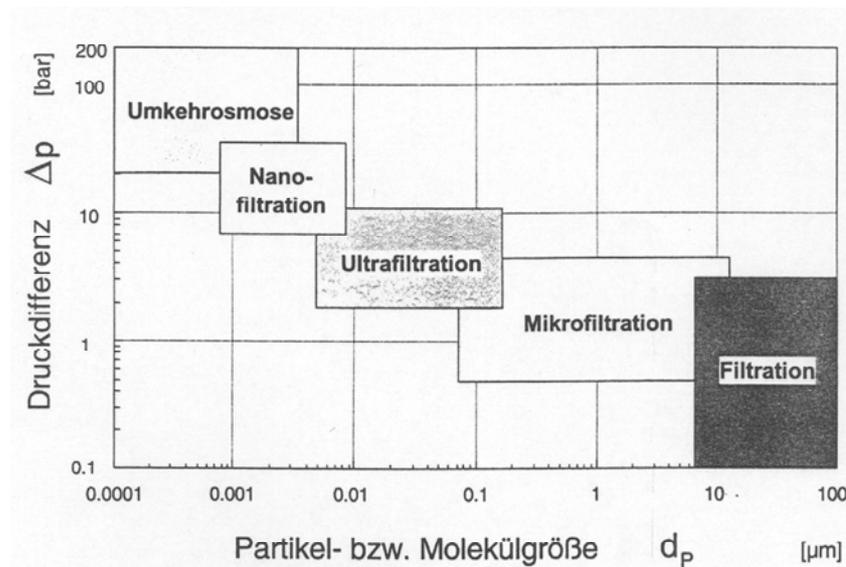


Abb. 49: Zuordnung der druckgetriebenen Membranverfahren (Rautenbach 1997)

Üblicherweise wird die Ultrafiltration als Querstromverfahren realisiert. Dabei wird die röhrenförmige Membran parallel zur Porenmembran durchströmt (Cross Flow).

Typisch für die Ultrafiltration ist die Ablagerung von Partikeln an der Membraninnenseite. Diese Deckschicht beeinflusst die Wirksamkeit und Effektivität des Verfahrens. Einerseits erzeugt diese Deckschicht eine sekundäre Trenngrenze, die vom ursprünglichen Cut Off stark abweichen kann und andererseits wird der Permeatflux verringert.

Rautenbach (1997) trifft bezüglich der Ultrafiltration folgende Aussage:

„Für eine sichere Anlagenauslegung bei der deckschichtbildenden Querstromfiltration - und diese umfasst insbesondere die Ultra- und Mikrofiltration kolloidaler Suspensionen – ist der Versuch unter Originalbedingungen, d.h. insbesondere mit dem Originalstoffsystem, unerlässlich.“

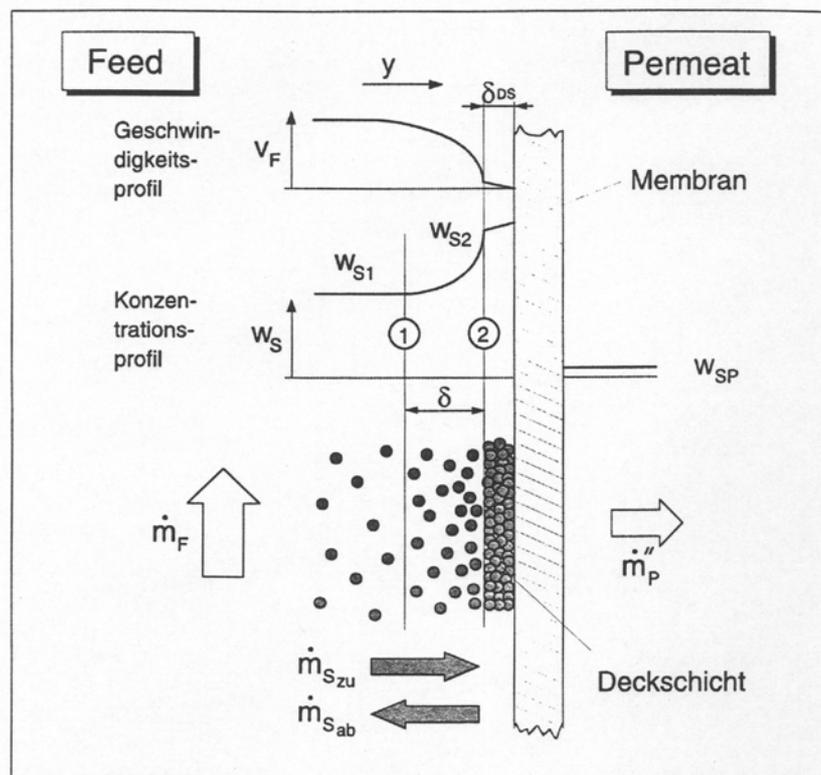


Abb. 50: Geschwindigkeits- und Konzentrationsprofil vor der Ultrafiltrationsmembran (Rautenbach 1997)

Die Höhe des Permeatfluxes (der Strom des entproteinierten Saftes) ist ausschlaggebend für die Dimension bzw. Investitionskosten der Anlage.

In der Vergangenheit (Ostrowsky-Meissner 1983) ist schon öfters versucht worden mittels Ultrafiltration Proteine aus einem Pflanzensaft aufzukonzentrieren. Positiv werden die funktionellen Eigenschaften wie Löslichkeit und Emulgierbarkeit von Ultrafiltrationsproteinprodukten erwähnt (Fuhrmeister 2001). Die Wirtschaftlichkeit hängt sehr von dem erzielbaren Permeatflux und der damit verbundenen Anlagengröße ab.

Zur Bestimmung von realistischen Parametern (Flux bei unterschiedlichen Druck und Überstromgeschwindigkeit) ist es daher unbedingt notwendig unter Bedingungen zu arbeiten, die jenen einer Produktionsanlage gleichen.

2.2.2 Versuchsaufbau zur Proteingewinnung durch Ultrafiltration

Für die Ultrafiltrationsversuche wurde eine Technikumsanlage des Instituts für Lebensmitteltechnologie und Biotechnologie der Universität für Bodenkultur angemietet. Wesentlich ist, dass die dabei eingesetzten Ultrafiltrationsmembrane identisch mit jenen in Großanlagen eingesetzt sind. Die dabei gewonnen Erkenntnisse lassen sich daher auf Großanlagen übertragen.

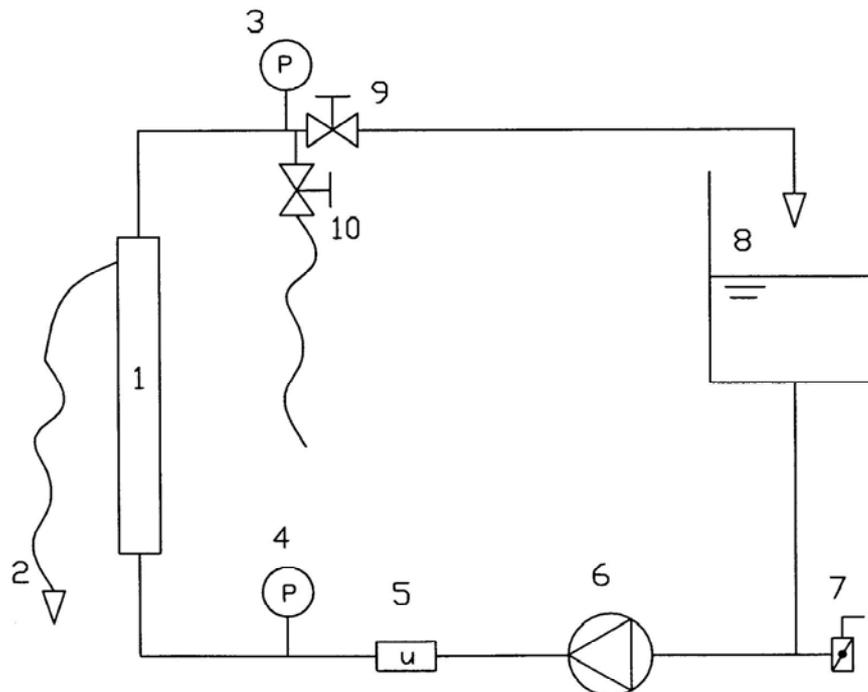


Abb. 51: Ultrafiltrationsanlage, UF Modul, 0,35 m²; 1 - UF-Modul, 2 - Permeatabfluss, 3 – Manometer Membranausgang, 4 –Manometer Membraneingang, 5 – Durchflusszähler, 6 – Drehzahlregelbare Pumpe, 7 – Entleerungsklappe, 8 – Behälter, 9 –Drosselventil, 10 – Probenentnahme

Die gemietete Ultrafiltrationsanlage besteht aus einer dreistufigen Kreiselpumpe angetrieben von einem drehzahlregelbaren 3 kW_{el} Motor. In den Pumpkreislauf können variabel verschiedene Ultrafiltrations- oder Mikrofiltrationsmembranmodule angeschlossen werden. In diesem Projekt wurden ausschließlich keramische Membrane der Firma TAMI (D/F) verwendet (Fig 52). Durch gleichzeitiges Regeln der Pumpendrehzahl und des Pumpstromes (Drossel 9) kann der Betriebspunkt zwischen 2 und 5 bar bzw. 1 bis 5 m/s eingestellt werden.

Für den Betrieb des Kreislaufs werden rund 6 Liter Flüssigkeit gebraucht. Ohne Zusatzbehälter fasst der Kreislauf 12 Liter. Die komplette Entleerung der Anlage ist nur schwer möglich. Im Normalfall (einfache Entleerung durch Öffnen der Klappe 7) verbleiben 1 bis 1,5 Liter Konzentrat im Kreislauf.



Abb. 52: Ultrafiltrationsanlage im Technikum der BOKU-Wien (Foto: Kornberg Institut)

Wesentlich zur Reproduzierbarkeit der Versuche ist die Reinigung der Membranmodule nach jedem Versuch bzw. jeder Versuchsreihe. Dazu wird die Membran mit 5 % Natronlauge bei 80°C 30 Minuten gespült. Danach wird mit Wasser gespült bis ein pH-Wert von 8 erreicht wird.

Zur Überprüfung des Reinigungsvorgangs wird während der gesamten Lebenszeit der Membran der Permeatflux von Wasser bei bestimmten Parametern protokolliert. Wird weniger als 50 % des ursprünglichen Wasserfluxes gemessen so ist eine zusätzliche Reinigung mit Säure (3 % Salpetersäure, 10 Minuten 50°C) erforderlich. Diese Reinigungsvorschriften wurden, wenn nicht anders beschrieben exakt eingehalten.

Die Ultrafiltration wird vorzugsweise bei 25° C durchgeführt. Da die Temperatur im Ultrafiltrationskreislauf aber nur schwer konstant zu halten ist und insbesondere bei höherer Viskosität (am Ende der Ultrafiltration) und bei höherer Überstromgeschwindigkeit steigt, schwankte die Temperatur von 20 bis 30° C. Der Einfluss der Temperatur auf den Flux wurde mit einem temperaturabhängigen Faktor k_t korrigiert.

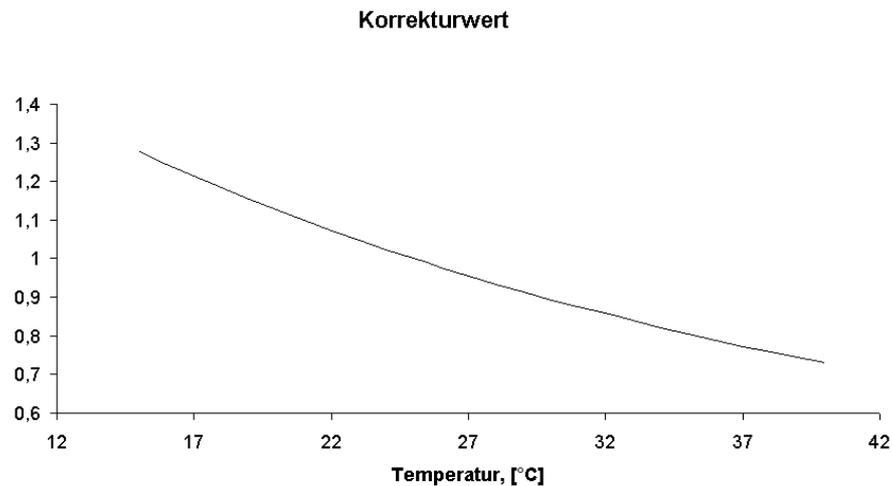


Abb. 53: Korrekturwert zur Berechnung des Einflusses der Temperatur auf den Permeatflux. (Tami 2001).

2.2.2.1 Versuchsdurchführung unter Variation des Eingangsdrucks

Diese Versuchsreihe wurde mit Grünem Saft von Klee gras 2.Schnitt 2001 (Probe 01/14, 01/15, 01/16) durchgeführt. Zwei Kanister mit je 19 Liter wurden von Juni bis September 2001 bei minus 20°C gelagert und am Vortag des Versuches im 30° C warmen Wasserbad aufgetaut.

Jeweils 38 Liter wurden auf 6 bis 8 Liter aufkonzentriert. Nach jedem Durchgang wurde Retentat und Permeat wieder zusammengeführt und als Feed für einen neuen Ultrafiltrationsdurchgang mit verändertem Eingangsdruck verwendet. Zwischen den einzelnen Durchläufen wurde nicht pausiert und weder mit Wasser noch mit Reinigungslösungen gespült.

Die Ultrafiltrationsdurchgänge im einzelnen werden in Tab. 21 angeführt.

Tab. 21 Ultrafiltrationsdurchgänge mit variiertem Eingangsdruck

Durchgang 1*	4 bar, 4 m/s
Durchgang 2	4 bar, 4 m/s
Durchgang 3	3 bar, 4 m/s
Durchgang 4	5 bar, 4 m/s

Durchgang 1 wurde wiederholt da dieser Durchgang mit einer vorher unbenutzten Membran durchgeführt wurde. Ein repräsentatives Fluxverhalten kann allerdings erst nach einer gewissen Einfahrzeit beobachtet werden.

Proben von Retentat (01/22, 01/23) und Permeat (01/21) des ersten und zweiten Durchgangs wurden analysiert und dienten zur Auswertung von Rückhaltung und Ausbeute.

2.2.2.2 Versuchsdurchführung unter Variation der Überstromgeschwindigkeit.

Diese Versuchsreihe wurde mit Grünem Saft von Knaulgras 2.Schnitt 2001 (Probe 01/37) durchgeführt. Zwei Kanister mit je 20 Liter wurden von Juni bis September 2001 bei minus 20°C gelagert und am Vortag des Versuches im 30°C warmen Wasserbad aufgetaut.

Jeweils 40 Liter wurden auf 6 bis 8 Liter aufkonzentriert. Nach jedem Durchgang wurde Retentat und Permeat wieder zusammengeführt und als Feed für eine neuen Ultrafiltrationsdurchgang mit veränderter Durchflussgeschwindigkeit (Überstromgeschwindigkeit) verwendet. Zwischen den einzelnen Durchgängen wurde nicht pausiert und weder mit Wasser noch mit Reinigungslösungen gespült. Die Ultrafiltrationsdurchgänge im einzelnen:

Tab. 22 Ultrafiltrationsdurchgänge mit variierter Überstromgeschwindigkeit

Durchgang 1*	4 bar, 4 m/s
Durchgang 2	4 bar, 5 m/s
Durchgang 3	4 bar, 3 m/s
Durchgang 4	4 bar, 2 m/s

2.2.2.3 Versuchsdurchführung unter Variation des Molecular Weight Cut Off's (MWCO)

Diese Versuchsreihe wurde mit Grünem Saft von Bastardraygras 3.Schnitt 2001 (Probe 01/29, 01/30) durchgeführt.

Für den ersten Durchgang (15 kD) wurden 39 Liter Saft verwendet. Für den zweiten Durchgang (50 kD) wurden 98 Liter verwendet. Für den dritten Versuch diente das Permeat des zweiten Versuchs als Ausgangsrohstoff.

Der eingesetzte Saft wurde nach der Pressung im August bei -20° C gelagert und am Vortag im 30° C Wasserbad aufgetaut. Im dritten Versuch wurde das Permeat des zweiten Versuchs einen Tag lang bei 8°C gelagert.

Die Versuchsreihe setzt sich aus 3 Durchgängen zusammen. Es wurde jeweils mit der oben beschriebenen Ultrafiltrationsanlage bei 4 bar und 4 m/s ultrafiltriert. Dabei kamen baugleiche Membrane mit unterschiedlichem Cut Off zum Einsatz. Im ersten Versuch wurde mit einem Cut Off von 15 kD gearbeitet, im zweiten mit 50 kD und im dritten mit 1 kD.

Tab. 23 Ultrafiltrationsdurchgänge mit variierter Überstromgeschwindigkeit

Durchgang 1*	4 bar, 4 m/s
Durchgang 2	4 bar, 4 m/s
Durchgang 3	4 bar, 4 m/s

Proben von Retentat (01/32, 01/35, 01/34) und Permeat (01/31, 01/33, 01/36) aller drei Durchgänge wurden analysiert und dienten zur Auswertung von Rückhaltung und Ausbeute. 6,3 Liter Retentat vom 2 Durchgang wurden zusammen mit Retentat aus einem anderen Versuch in dem Versuchssprühturm der Fa. LACTOPROT AG getrocknet. (siehe Anhang F)

2.2.2.4 Versuchsdurchführung unter Variation der Rohstoffe

Diese Versuchsreihe wurde mit Grünem Saft von Dauerwiese 1.Schnitt 2001 (Probe 01/08, 01/09, 01/10) durchgeführt. 2 Kanister mit je 21,5 Liter wurden von Mai bis September 2001 bei minus 20°C gelagert und am Vortag des Versuches im 30°C warmen Wasserbad aufgetaut.

Die 43 Liter Ausgangsmaterial wurden bei 4 bar Eingangsdruck und 3 m/s Überstromgeschwindigkeit auf 8 Liter aufkonzentriert.

Retentat- (01/13) und Permeatproben (01/12) wurden zur Berechnung der Rückhaltung und Proteinausbeute analysiert. 5,7 Liter Retentat wurden zusammen mit Retentat eines weiteren Versuches (Raygras, 50 kD) in einem Sprühturm getrocknet. Proben des gemischten Produkts (01/28) wurden mikrobiologisch untersucht.

2.2.2.5 Versuchsdurchführung mit Silage als Ausgangsstoff

Diese Versuchsreihe wurde mit Silagesaft der Klee graswiese 1. Schnitt, (Durchgang 1, Probe 01/38, 01/39, Durchgang 2, Probe 01/44, 01/45) durchgeführt. Je 2 Kanister mit je 21 Litern wurden von Mai bis September bzw. Oktober 2001 bei minus 20°C gelagert und am Vortag des Versuches im 30°C warmen Wasserbad aufgetaut.

Je 42 Liter Ausgangsmaterial wurden bei 4 (5) bar Eingangsdruck und 4 (3) m/s Überstromgeschwindigkeit auf 7 (12) Liter aufkonzentriert.

Tab. 24 Ultrafiltrationsdurchgänge mit variierter Überstromgeschwindigkeit

Durchgang 1*	4 bar, 4 m/s
Durchgang 2	5 bar, 3 m/s

Retentat- (01/40) und Permeatproben (01/41, 01/42, 01/43) wurden zur Berechnung der Rückhaltung und Proteinausbeute analysiert. Besondere Aufmerksamkeit wurde auf die Permeatkonzentration während des 2. Durchgangs gelegt. Hier wurden insgesamt 5 Permeatproben (01/46, 01/47, 01/48, 01/50, 01 /51) und 2 Retentatproben (01/49, 01/52) analysiert.

2.2.2.6 Versuchsdurchführung mit einem teil-entproteiniertem Grünem Saft als Ausgangsprodukt

Dieser Versuch wurde mit dem teil-entproteinierten Saft der Klee graswiese 1. Schnitt, durchgeführt. Insgesamt wurden 59 Liter Saft (01/03) verwendet

59 Liter Saft wurden auf 8 Liter bei 4 bar Eingangsdruck und 4 m/s aufkonzentriert. Als Membran wurde ein Keramikmodul mit einen MWCO von 15 kD eingesetzt

Retentat- (01/04) und Permeatproben (01/05, 01/06, 01/07) wurden zur Berechnung der Rückhaltung und Proteinausbeute analysiert.

2.2.2.7 Versuchsdurchführung mit Luzerne und Raygras 2002

Die Versuche in der Saison 2002 dienten primär Darstellung eines Referenzprozesses. Die in den vorhergehenden Versuchen bestimmten optimalen Prozessparameter (Druck, Überstromgeschwindigkeit) wurden in einer Versuchsanordnung wie sie in einer Pilotanlage gegeben wäre umgesetzt. Um tatsächlich pressfrischen Saft einsetzen zu können wurde die Technikumsanlage der BOKU nach Hartberg zur Fa. LactoProt transportiert.

Als Ausgangsrohstoff für diesen Referenzprozess wurde Presssaft von Bastardraygras 2. Schnitt 2002 (02/08) ausgesucht. Nach Erfahrungen des Vorjahres scheint dieser sortenreine Rohstoff am besten geeignet um repräsentative, nachvollziehbare Ergebnisse zu ermitteln.

Zum Vergleich wurde als zweite Rohstoffquelle Luzerne gewählt. Zu Luzerne und Presssaft aus Luzerne (02/01) gibt es Literaturangaben und ein vergleichbares Proteinprodukt welches am französischen Markt positioniert ist.

Um einen möglichen Pilotprozess zu simulieren wurden 2 Membranmodule in Serie geschaltet.

Die Eingangsdrücke der 2 Module waren 4,5 bzw. 3,6 bar. Die Überstromgeschwindigkeit betrug 3 m/s. Beide Module hatten einen NMWCO von 15 kD.

Die 63 Liter Raygrassaft wurden auf 9 Liter aufkonzentriert.

Die 69 Liter Luzernesaft wurden auf 11 Liter aufkonzentriert.

Bei beiden Versuchen wurde von einer weiteren Aufkonzentration abgesehen da eine sehr hohe Viskosität beobachtet wurde.

Retentat- (02/04) und Permeatproben (02/03) wurden zur Berechnung der Rückhaltung und Proteinausbeute analysiert. Beide Retentate wurden im Anschluss an die Ultrafiltration sprühgetrocknet. (siehe Anhang F)

2.2.2.8 Versuchsdurchführung mit Silagesaft 2002

Dieser Versuch wurde im Hinblick auf eine Nutzung des Silagesaft als Quelle für Milchsäure und Aminosäuren durchgeführt. Besonderes Augenmerk wurde dabei auf das Langzeitverhalten des Fluxes gelegt.

Als Ausgangsrohstoff diente Presssaft von Silagegras der Bastardraygraswiese 1.Schnitt (02/19).

108 Liter Silagesaft wurde auf 9,5 Liter aufkonzentriert. Es wurde eine keramische Membran mit 1 kD MWCO eingesetzt.

Retentat- (02/22) und Permeatproben (02/20, 02/21) wurden zur Berechnung der Rückhaltung und Proteinausbeute analysiert. Das Permeat wurde für weitere Versuche zur Milchsäure- und Aminosäuregewinnung unter sterilen Bedingungen eingefroren.

2.2.3 Diafiltration und Mikrofiltration

Nach Auswertung der ersten Ultrafiltrationsversuche zeigte sich, dass zwar eine gewisse Proteinmenge zurückgehalten wird, aber die maximale Proteinkonzentration 50 % nie überschreitet. Das könnte an der Rückhaltung von unbekanntem Substanzen bzw. an der Rückhaltung bekannter Substanzen durch andere Effekte als die Trennung auf Grund des Molekulargewichtes verursacht werden.

In diesem Einzelversuch wurde nach der oben beschriebenen Methode mit der beschriebenen Ultrafiltrationsanlage filtriert. Im Unterschied zu den Ultrafiltrationsversuchen wurde nach einem gewissen Konzentrationsfaktor nicht gestoppt sondern das Retentat im Ultrafiltrationskreislauf mit Wasser gespült. Die im Retentat auf Grund ihrer Größe rückgehaltenen Proteine bleiben auch bei ausdauernder Spülung (Wasser zu Retentat 1:3) im Retentat im Gegensatz dazu sollten, bisher auf Grund nicht genügender Aufkonzentrierung zurückgehaltene Substanzen (Asche, Zucker...), ausgespült werden.

Um ein zu erwartendes Bakterienwachstum zu verhindern wurde dieses Konzentrat mikrofiltriert (NMWCO 400 kD) um bereits vorhandene Mikroorganismen abzutrennen.

Diese Versuchsreihe wurde mit Grünem Saft von Bastardraygras 3.Schnitt 2001 (Probe 01/29, 01/30) durchgeführt.

Für die Ultrafiltration/Diafiltration wurden 41 Liter Saft verwendet.

Der eingesetzte Saft wurde nach der Pressung im August bei -20°C gelagert und am Vortag im 30°C Wasserbad aufgetaut.

Für die Mikrofiltration wurde das diafiltrierte Retentat (6 Liter) auf 12 Liter gestreckt.

Es wurde jeweils mit der oben beschriebenen Ultrafiltrationsanlage bei 4 bar und 3 m/s ultrafiltriert. Dabei kamen baugleiche Keramikmembrane mit einem MWCO von 50 kD zum Einsatz.

Es kam die selbe Versuchordnung wie bei der Ultrafiltration zum Einsatz. Bei einem Konzentrationsfaktor von 7 (5,85 Liter Retentat) wurde sieben mal mit jeweils 2 Liter bei 4 bar Eingangsdruck und 3 m/s Überströmgeschwindigkeit diafiltriert.

Es wurde eine organische Mikrofiltrationsmembran („Wickelmodul“) mit einem MWCO von 400 kD eingesetzt. Hier wurde nicht die oben beschriebene Ultrafiltrationsanlage benutzt, sondern eine etwas kleinere Universalanlage. Im Cross-Flow – Betrieb wurden 12 Liter zu 3 Liter aufkonzentriert.

Proben von Retentat und Permeat aller Durchgänge wurden gesammelt. Aus Budgetgründen wurden nur, die für eine erste grobe Aussage notwendigen Proben analysiert. (siehe Schlussfolgerungen)

3 Ergebnisse der Proteinabtrennung mit Hitze-koagulation/ Zentrifugation und Ultrafiltration

Primäres Zielprodukt ist ein Proteinkonzentrat mit einem Rohproteinanteil von ca. 50 %, verwendbar als Futtermittel in Konkurrenz zu Sojaprodukten und Tiermehl. Das Produkt sollte als Proteinquelle wertvoller als Sojaschrot (ca. 45 % Rohprotein) und von der Herkunft unbedenklicher als Sojaisolate (Verdacht auf genmanipulierte Ausgangsstoffe) und Tiermehl (BSE) sein. Als spezielle, wirtschaftlich interessante, Produktvariante wäre die Produktion eines Milchaustauschers zu sehen für welchen sich die Fa. LactoProt sehr interessiert. Anhand von Analytik und Versuchen wurde das Potenzial aufgezeigt. Die entsprechenden Technologien wurden beleuchtet und umfassende Daten für die Wirtschaftlichkeitsberechnungen werden hier erstellt.

Das Gras stammt von intensiv bewirtschafteten Flächen (Feldfutterbau), Sämereienwiesen und extensiv bewirtschafteten Dauerwiesen (2 bis 3 Schnitte).

Gras ist bekannt als proteinreiches Grundfutter (12 bis 20 % Rohprotein in der TM) für Rinder und dient vor allem in der Milchwirtschaft als wichtige Futterbasis. Bei einem möglichen Jahreshektarertrag von 7 bis 12 t TM/ha ist Gras ein wesentlich effizienterer Proteinproduzent als Soja (siehe Tab. 25).

**Tab. 25 Rohproteinträge verschiedener Pflanzen
(Kohler et al. 1983, eigene Daten)**

	Soja- Samen	Luzerne	GBR- Wiese
Ernteertrag [kg TM/ha]	2.750	10.125	9.350
Rohproteintrag [kg CP/ha]	1.056	2.025	1530

Wie in Tabelle 25 dargestellt produzieren Luzerne (Alfalfa) und Gras eine große Menge an Proteinen. Der Vorteil von Soja liegt aber darin, dass das Protein in den Samen (Bohnen) in hohen Konzentrationen vorhanden ist (~45 %). Bei der Betrachtung der Proteinausbeuten aus Grünlandbiomasse wird nun nicht mehr die Proteinausbeute des Produkts „Gras als Futter“ sondern die Ausbeute des Produkt „Proteinkonzentrat als Proteinquelle für Milchaustauscherfutter“ betrachtet.

Das Proteinkonzentrat wird aus dem Saft der gepressten Grünlandbiomasse durch Hitze-koagulation oder Ultrafiltration gewonnen. Die Ausbeute ist einerseits von der Pressung und andererseits von der Proteinabtrennung vom Saft abhängig.

In diesem Projekt wird zur Beurteilung der Trenntechnologie hauptsächlich der Schritt Proteinabtrennung aus dem Saft untersucht. **Beim Vergleich der Ausbeuten wird jeweils auf ein Kilogramm Trockenmasse im Saft Bezug genommen.**

3.1 Proteinausbeuten der Versuche zur Hitzeokoagulation/ Zentrifugation und Ultrafiltration von Grünen Säften

Tab. 26 Proteinausbeuten aus Grünem Saft,
Trenntechnologie Hitzeokoagulation und
Zentrifugation

	Kleegras 2.Schnitt, 2001	Dauerwiese 1.Schnitt, 2001	Luzerne 1.Schnitt 2002	Bastard- raygras 2.Schnitt 2002	Referenz: Fa. France Luzerne (F)
Koagulationstemperatur	90	90	90	85	85
Probennummern	01/14 01/15 01/16 01/27 01/26	01/09 01/11	02/06 (02/01) 02/07	02/13 (02/08) 02/14	
Saftmenge [kg]	18,97	13,24	13,47	15,50	10,00
Eingangstrockenmasse [kg]	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Rohprotein [g]	237,33	136,14	290,87	243,30	275,00
AA [g]	152,05	105,49	199,15	120,71	-
Konzentratmenge [kg]	0,20	0,12	0,42	0,27	0,31
Konzentrattrockenmasse [g]	183,44	113,80	377,02	237,95	275,00
Rohprotein [g]	93,62	36,28	151,21	110,12	143,00
AA [g]	96,55	39,27	145,45	113,26	-
Ausbeute in % d. TM	18 %	11 %	38 %	24 %	28 %
Ausbeute Rohprotein in %	39 %	27 %	52 %	45 %	52 %
Ausbeute Aminosäure	64 %	37 %	73 %	94 %	-
Rohprotein % der TM	51 %	32 %	40 %	46 %	52 %

Tab. xy zeigt, dass durch Hitzeokoagulation und anschließende Zentrifugation bei Luzerne ähnliche Proteinausbeuten aus dem Saft (nicht aus dem ursprünglichen Rohstoff) erreicht werden konnten, wie dies der Fall bei dem Referenzprodukt der Fa. FRANCE LUZERNE ist. Diese Proteinausbeute ist vergleichbar mit dem gefundenen Lowry-Protein (Anhang E). Die Werte in Tabelle xy zeigen aber auch sehr deutlich, dass doch ein großer Unterschied zwischen den Rohstoffen Luzerne und übriger Grünlandbiomasse besteht. Es muss daher angenommen werden, dass ein Proteinkonzentrat nur aus Luzerne wirtschaftlich gewonnen werden kann. Diese Ergebnisse decken sich mit den Erkenntnissen der Ultrafiltrationsversuche.

Bei der verwendeten Standardmethode zur Quantifizierung der Aminosäuren (Hydrolyse mit HCl und OPA-Derivatisierung) werden nur 16 der 20 proteinogenen Aminosäuren gemessen. Prolin, Methionin, Cystein und Tryptophan werden nicht erfasst. Um die Aminosäurenmasse mit dem Rohproteinwert zu vergleichen wurde die Gesamtmasse der 20 proteinogenen Aminosäuren an Hand der gemessenen 16 Aminosäuren interpoliert. Als Berechnungsgrundlage dient das Hauptprotein in grünem Blattmaterial – Rubisco. Der Anteil der 16 Aminosäuren von Rubisco wurde an Hand der Aminosäuresequenz (NCBI 2003, Ogihara et. al 2002) berechnet und mit der Summe aller 20 proteinogenen Aminosäuren in der Gesamtsequenz in Verhältnis gesetzt. Mit dem sich daraus ergebende Faktor 1,1311 lässt sich die Gesamtaminosäurenmenge ausgehend von den gemessenen 16 durch Multiplikation hochrechnen.

**Tab. 27 Proteinausbeuten aus Grünem Saft,
Trenntechnologie Ultrafiltration MWCO 15
kD**

Feed	Kleegras 2.Schnitt 01	Dauerwiese 1.Schnitt 01	Bastard- raygras 3.Schnitt 01	Luzerne 1.Schnitt 02	Bastard- raygras 2.Schnitt 02
Cut Off [kD]	15	15	15	15	15
Probennummern	01/14 01/15 01/16 01/21 01/22	01/10 01/12 01/13	01/30 01/31 01/32	02/01 02/03 02/04 02/05	02/08 02/09 02/10 (02/11)
Saftmenge [kg]	18,97	13,50	12,71	14,60	16,21
Eingangstroeknenmasse [kg]	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Rohprotein [g]	237,33	122,94	223,28	283,97	170,34
AA [g]	152,05	103,27	182,62	199,15	120,71
Konzentratmenge [kg]	3,22	2,59	2,51	2,27	2,28
Konzentratstroeknenmasse [g]	332,60	484,16	352,35	329,13	355,55
Rohprotein [g]	128,89	80,42	117,28	150,81	101,17
AA [g]	120,15	75,98	116,90	136,66	92,12
Ausbeute in % d. TM	33%	48%	35%	33%	36%
Ausbeute Rohprotein in %	54%	65%	53%	53%	59%
Ausbeute Aminosäure in %	79%	74%	64%	69%	76%
CP in % der TM	39 %	17 %	33 %	46 %	28 %
UF-Faktor	5,89	5,22	5,06	6,43	7,11

Wenn man die Ergebnisse vergleicht erkennt man, dass beide Technologien ein ähnliches Ergebnis ergeben. Die Ursache liegt an der Trenneigenschaft der Proteine. Hitzeoagulation und Ultrafiltration von Proteinen funktioniert nur, wenn das Rohprotein (Summe der organischen Stickstoffverbindungen) als makromolekulares Protein vorliegt. Bei Grünem Grassaft liegt rund ein Drittel des Rohproteins als makromolekulares Protein vor. Beide Trenntechnologien trennen nur diesen Anteil ab.

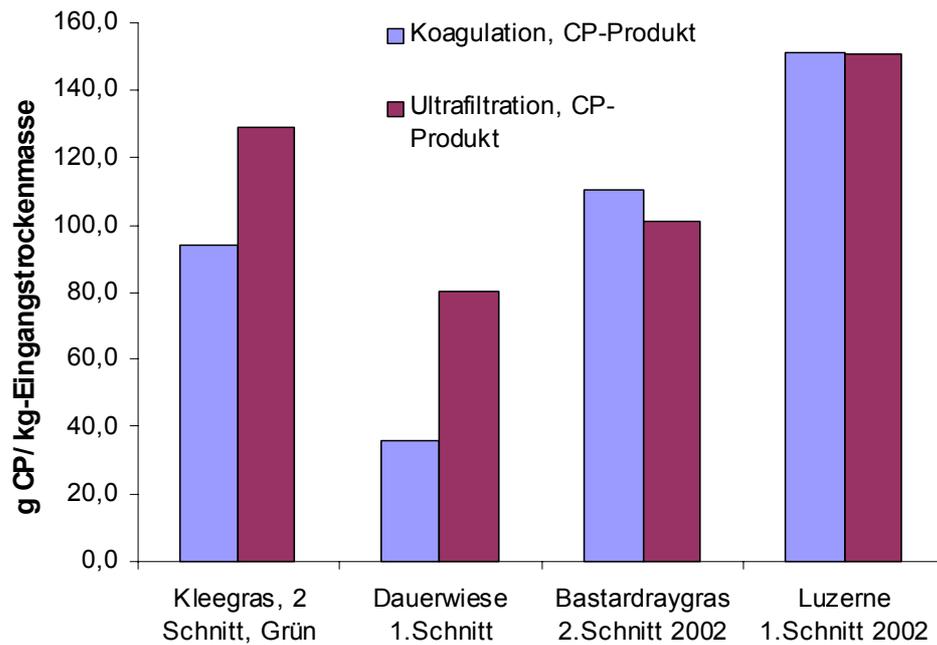


Abb. 54: Direkter Vergleich der Proteingewinnung aus Grünem Saft durch Ultrafiltration und Hitze-koagulation/Zentrifugation

Die Abweichung bei der Dauerwiese, 1. Schnitt konnte nicht näher verifiziert werden, und gilt als Ausreißer.

3.2 Proteinausbeuten der Versuche zur Ultrafiltration von Silage-Säften

Tab. 28 Protein und Aminosäureausbeuten durch Ultrafiltration von Silagesäften

	Bastardraygras 1.Schnitt 02	Klee gras 1.Schnitt 01	Klee gras 1.Schnitt 01
Cut Off [kD]	1	15	1
Probennummern	02/19, 02/20, 02/21, 02/22	01/38, 01/43, 01/40	01/44, 01/45, 01/46, 01/52,
Saftmenge [kg]	11,67	5,22	6,56
Eingangstroeknenmasse [kg]	1	1	1
Rohprotein [g]	336	220	221
AA [g]	292	165	144
Konzentratmenge [kg]	1,03	0,87	2,09
Konzentratstroeknenmasse [g]	156	209	405
Rohprotein [g]	49	46	88
AA, [g]	40	31	84
Ausbeute TM	16 %	21 %	41 %
Ausbeute Rohprotein	14 %	21 %	40 %
Ausbeute Aminosäure	14 %	19 %	58 %
CP in der TM	31 %	22 %	22 %
UF-Faktor	11,29	6,01	3,13

3.3 Vergleich der Proteinausbeuten und der Proteinmessungen nach Lowry

Jener Anteil am Rohprotein (CP) der mit beiden Trenntechnologien abtrennbar ist lässt sich durch die Proteinbestimmung nach Lowry quantifizieren.

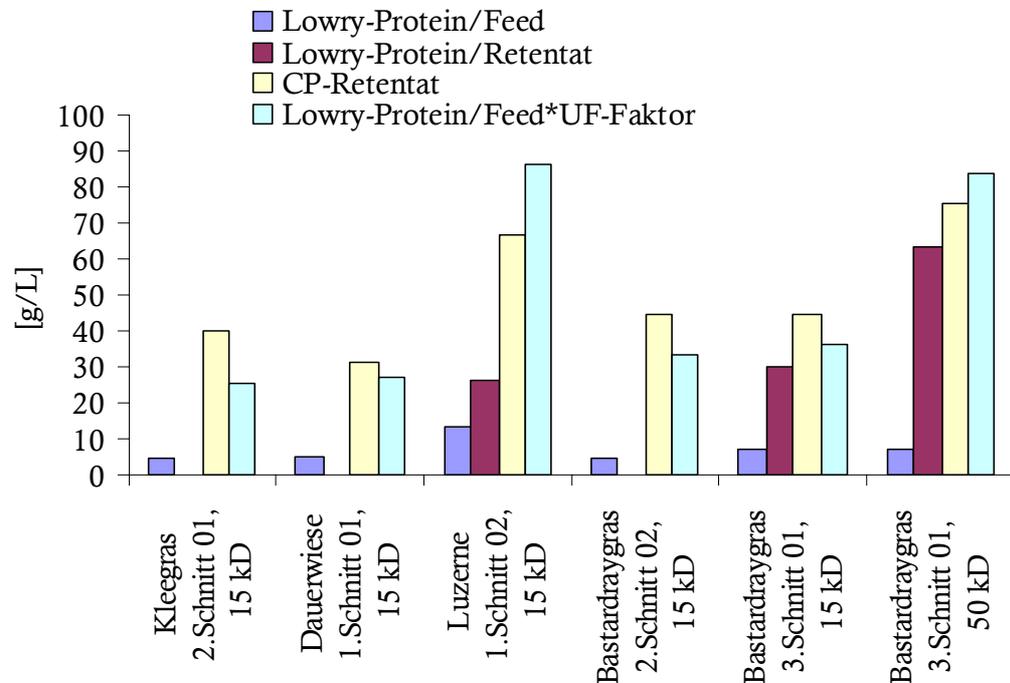


Abb. 55: Vergleich der theoretischen Proteinausbeute (dargestellt als Lowry Protein im Feed mal UF Faktor) mit tatsächlicher Proteinausbeute (CP) (Rohprotein im Retentat)

Im obigen Balkendiagramm sind pro Ultrafiltrationsdurchgang jeweils der Gehalt an abtrennbarem Protein (Lowry-Protein), die gemessene Lowryproteinmenge im Retentat, die Rohproteinmenge im Retentat und die theoretische Ausbeute, wenn das gesamte Lowry-Protein abgetrennt wird dargestellt.

Ein Grund für die Differenz zwischen Lowryprotein im Retentat und der theoretischen Ausbeute ist der enzymatische Proteinabbau im frischem Grünen Saft. Besonders bei Luzerne scheint dieser Effekt sehr stark ausgeprägt zu sein. Das Verhältnis zwischen Rohprotein und theoretischer Ausbeute kann sich zu Gunsten des gemessenen Rohproteinanteils verschieben, da bei der Ultrafiltration immer eine Restmenge der ursprünglichen Ausgangslösung im Retentat verbleibt. Hinzu kommt eine eventuelle Rückhaltung von anderen Stickstoffverbindungen die nicht mit der Methode nach Lowry erfasst werden.

Zu beachten ist auch eine eventuelle Ungenauigkeit der Lowry-Messung im Feed, die sich bei der theoretischen Ausbeute entsprechend des Ultrafiltrationsfaktors (UF-Faktor) vervielfacht.

An den beiden Durchgängen mit Bastardraygras 3.Schnitt 2001 (01/29, 01/30) lassen sich diese Effekte gut kommentieren. Beim Durchgang mit der 15 kD Membran wurde nur Faktor 5 aufkonzentriert. Der Anteil der unfiltrierten Ausgangslösung ist hoch und der Proteinabbau während der Ultrafiltration ist auf Grund der kürzeren Dauer gering. Beim Durchgang mit 50 kD wurde mit Faktor 12 aufkonzentriert. Der Anteil der Ausgangslösung im Retentat ist damit geringer. Die Differenz zwischen gemessener Rohproteinmenge und theoretischer Ausbeute (Lowry-Protein mal UF-Faktor) ist hier zu Gunsten der theoretischen Ausbeute verschoben. Hier könnte es also einen stärkeren Proteinabbau gegeben haben. Der stärkste Proteinabbau ist bei Luzerne zu beobachten gewesen. Diese Tatsache stimmt mit der Beobachtung eines bei hoher Konzentration wieder steigenden Fluxes (siehe Anhang D, Kapitel 3.5.2) überein.

3.4 Detailergebnisse repräsentativer Ultrafiltrationsversuche des Jahres 2001

3.4.1 Ultrafiltration von Grünem Saft, Bastardraygras mit 50 kD Membran

Die Versuchsmethodik wurde ausführlich in Anhang D, Kapitel 2.2 beschrieben.

Probennummern:

- Ausgangssaft (Feed): 01/30 und 01/29
- Permeat: 01/33
- Retentat: 01/34

In diesem Durchgang wurde Grüner Saft aus gepresstem Bastardraygras (01/29, 01/30) bei einem MWCO von 50 kD ultrafiltriert.

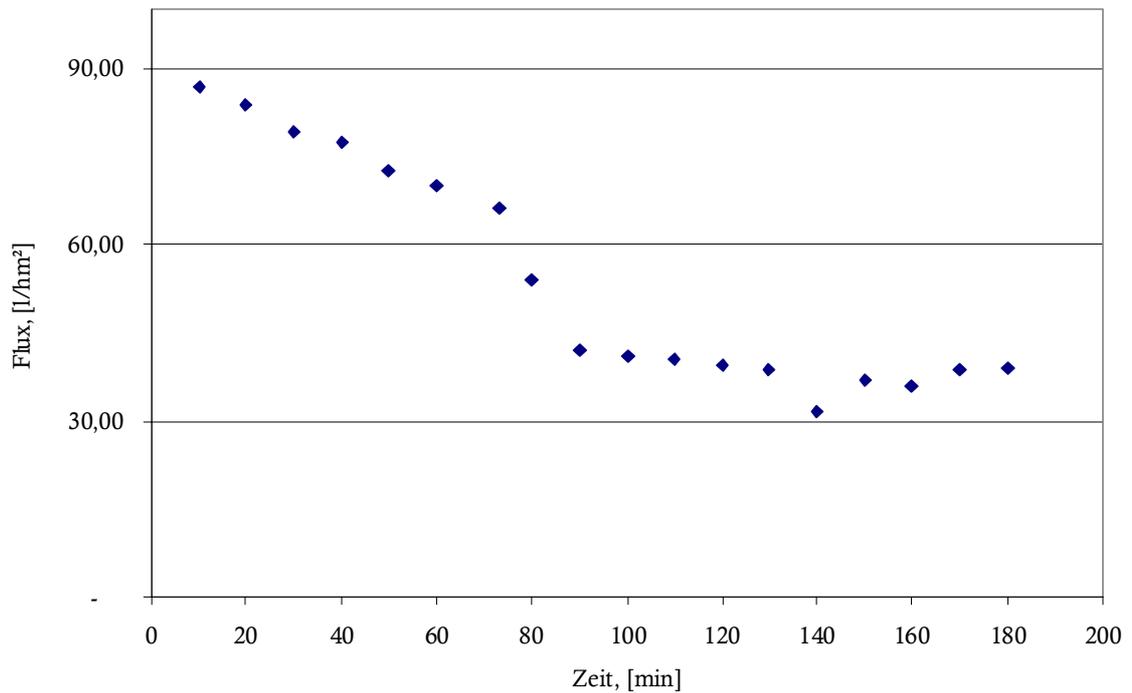


Abb. 56: Permeatfluxverlauf Feed 01/30, Konzentrationsfaktor 11,78

In diesem Versuch wurde überprüft, ob man mit einem höheren Cut-Off (50 statt 15 kD) einen höheren Flux bei gleicher Proteinausbeute erzielen kann.

Ingesamt wurden 98 kg Saft zu 8,3 kg Retentat (Konzentrat) aufkonzentriert.

Der Fluxverlauf zeigt einen raschen Abfall und dann einen weiteren langsamen Abfall des Permeatfluxes. Bestimmend für diese Phänomene ist die Bildung eines Belags (Deckschicht) an den Innenseiten der Membrankanäle. Diese Schicht bildet sich innerhalb von wenigen Minuten aus und führt zum raschen Abfall des Permeatfluxes. Mit Dauer der Ultrafiltration und steigender Konzentration im Retentat kommt es zu einem weiteren mittelfristigen Abfall.

Des weiteren ist ein langfristiges Sinken des Fluxes im Dauerbetriebes zu erwarten.

Es zeigt sich, dass auch bei dieser höheren Ausschlussgrenze die Deckschicht bestimmend ist. Die eigentliche Ausschlussgrenze wird dadurch wahrscheinlich auf weit unter 15 kD verschoben. Das heißt auch bei 50 kD ist die gleiche Proteinausbeute zu erzielen, wie dies mit der 15 kD Membran der Fall ist. Dies wird durch den Vergleich der Rohprotein- und Lowryproteinwerte der Durchgänge mit Bastardraygras (Anhang D, Kapitel 3.5.1) bestätigt.

Der Flux ist bei 50 kD zwar anfangs höher, es ist aber zu erwarten, dass im Dauerbetrieb der Flux bei beiden Ausschlussgrenzen um die 20 bis 25 L/hm² liegt.

Die ideale Veränderung im Proteingehalt und Trockenmassegehalt wäre eine 1178 % Steigerung an Protein und eine Steigerung der Trockenmasse, die nur vom aufkonzentrierten Protein stammt (341 %- Trockenmassenzugewinn). Die Trockenmasse im Konzentrat stieg von den ursprünglichen 79 g/L um 248 % auf 195 g/L. Der Rohproteingehalt stieg von 18 g/L um 431 % auf 76 g/L.

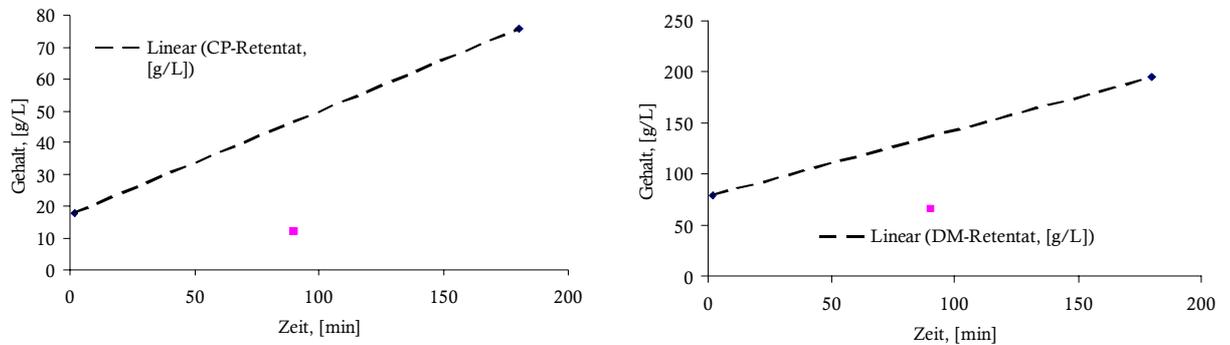


Abb. 57: Zunahme der Trockenmasse (Drymatter, DM) und Rohprotein (Crude Protein, CP); Versuch mit 01/30 Feed und 50 kD

Die Erklärung für die aufkonzentrierte Proteinmenge liefert die Lowry-Protein Messung. Nur jener Teil, der als Rohprotein gemessenen Stickstoffverbindungen, die als Polyaminosäuren (Peptide) über 1,2 kD (Povoden 2002) im Rohsaft vorliegen werden mit dieser Proteinmessmethode erfasst. Gleichzeitig ist das aber auch die Bedingung für die Aufkonzentration während der Ultrafiltration. Die Proteinmenge nach Lowry stieg von 7,1 g/L (41 % d. Rohproteins) auf 63,5 g/L (894 %). Das kommt den Idealwerten schon sehr nahe.

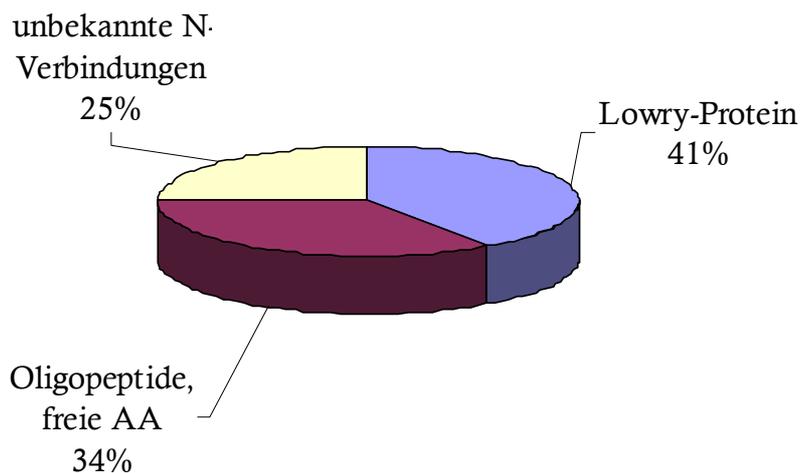


Abb. 58: Zusammensetzung des Rohproteins im Rohsaft, Probe 01/30

Neben dem Massenzugewinn im Retentat durch aufkonzentriertes Lowry-Protein kommt es zu einem zusätzlichen Massenzugewinn im Retentat dessen Ursprung nicht exakt geklärt werden konnte. Die Beobachtung der Aschenzusammensetzung zeigt, dass kleine Moleküle (Asche besteht hauptsächlich aus anorganischen Ionen wie Kalium und Chlorid) kaum rückgehalten werden. Der Gehalt an monomeren Zuckern und organischen Säuren steigt ebenfalls kaum an. Eine Untersuchung von Ultrafiltrationsretentat von Grünem Saft hinsichtlich des Fasergehalts brachte ebenfalls kein positives Ergebnis.

Möglicherweise werden während der Ultrafiltration Oligosaccheride aufkonzentriert. In der wissenschaftlichen Literatur (Pollak und Cairns 1991; Pavis et al. 2001), aber auch aus Alltagswissen von Pferdezüchtern (Pferdekrankheit - Pferderehe) und Herstellern von Siliermitteln ist bekannt, dass Gras reich an Polyfructose des Levan-Typs und des gemischten Typs (Graminan-Fructan) ist. Es wurde in diesem Projekt versucht diese Überlegungen durch Analytikergebnisse zu verifizieren. Dies ist aber mit den zur Verfügung stehenden Methoden nicht gelungen und die Entwicklung von Spezialmethoden hätte den Rahmen des Projekts gesprengt.

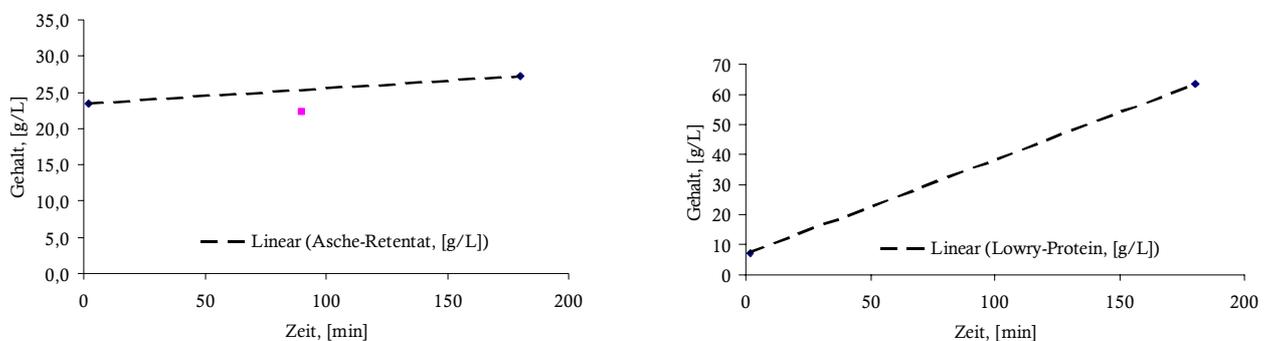


Abb. 59: Veränderung des Aschegehalts und der gemessenen Proteinmasse nach Lowry während der Ultrafiltration ; Feed 01/30 mit 50 kD Membran

Zusammenfassend lässt sich das Ergebnis folgendermaßen ausdrücken:

- Es lässt sich nur ein Teil (das Lowry-Protein, 41 %) des im Rohsaft vorhandenen Rohproteins (CP) aufkonzentrieren
- In diesem Versuch beträgt die Rohproteinausbeute 38 %.
- Neben Protein werden weitere Substanzen aufkonzentriert, sodass der Rohproteinanteil im Konzentrat 50 Prozent nie überschreitet.
- Flux und Proteinausbeute sowie Gehalt an unbekanntem Begleitstoffen ist bei unterschiedlichen Ausschlussgrenzen (15, 50 kD) identisch und wird hauptsächlich durch die Deckschicht bestimmt.
- Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass die Vorbereitung (monatelange Lagerung bei -20°C) des eingesetzten Safts einen Einfluss auf die Proteinabtrennung hat. Es ist daher unbedingt notwendig einen Ultrafiltrationsversuch mit frischem Grünem Saft, möglichst nahe an realen Produktionsbedingungen (2 Module in Serie bei den in obigen Versuchen ermittelten optimalen Betriebsparametern) durchzuführen. Dieser Versuch wurde im Jahr 2002 durchgeführt.

3.4.2 Ultrafiltration von Silagesaft aus Kleegrassilage mit einem MWCO von 15 kD

Der Versuchsaufbau wurde in Anhang D, Kapitel 2.2 ausführlich dargestellt.

Folgende Saftproben wurden eingesetzt:

- Ausgangssaft (Feed): 01/39; 01/38
- Permeat am Beginn des Versuchs: 01/43
- Permeat am Ende des Versuchs: 01/42
- Permeat gesamt (Durchschnittsprobe): 01/41
- Retentat: 01/40

In diesem Versuch wurde Silagesaft aus gepresster Kleegrassilage, 1. Schnitt, siliert mit Milchsäurebakterien (IFAS3) bei einem Molecular Weight Cut Off (MWCO) von 15 kD ultrafiltriert.

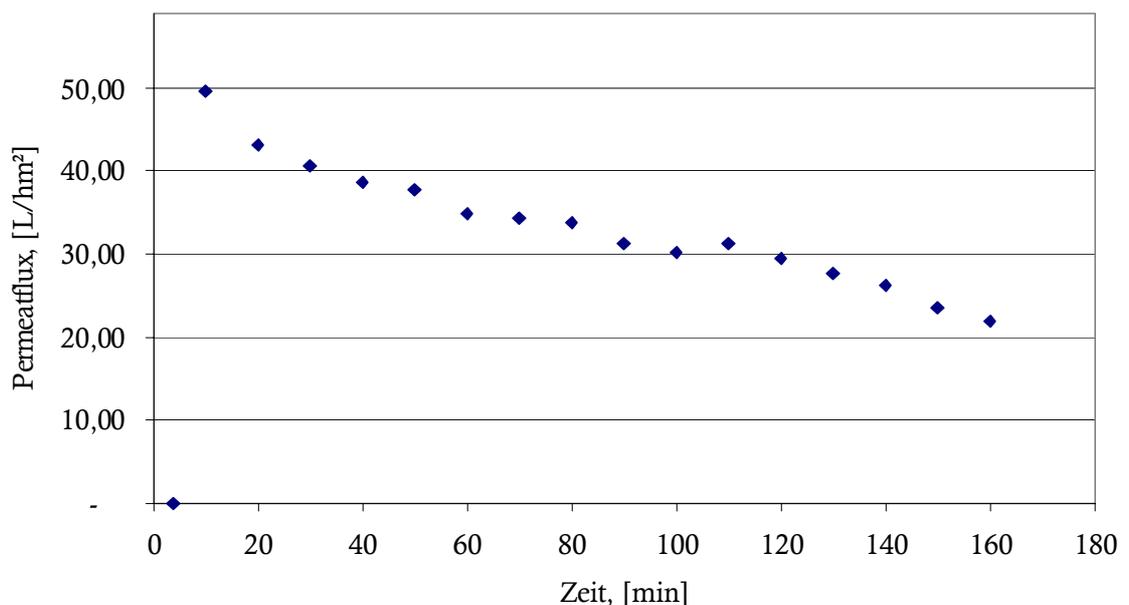


Abb. 60: Permeatfluxverlauf des Silagesaftversuchs, Feed 01/39 bzw. 01/38, Membran 15 kD

In diesem Versuch wurde untersucht, ob mittels Ultrafiltration ein Proteinkonzentrat aus Silagesaft gewonnen werden könnte.

Insgesamt wurden 41 kg Saft auf 7 kg aufkonzentriert (Faktor 6).

Der Fluxverlauf zeigt den typischen raschen Abfall auf rund 30 L/hm² in den ersten 60 Minuten. Danach kommt es zu einem weiteren Absinken des Fluxes bis knapp über 20 L/hm².

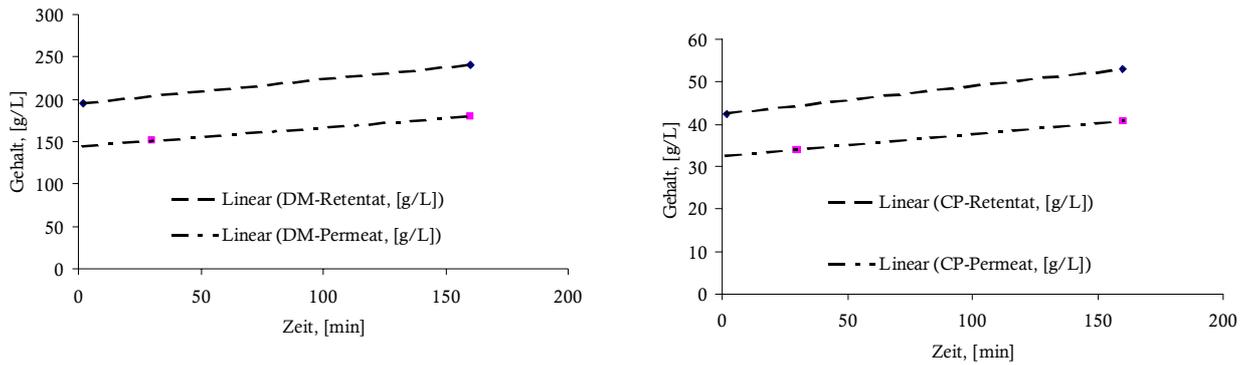


Abb. 61: Veränderung der Trockenmasse und des Rohproteingehalts - Silagesaftversuch; Feed 01/39 bzw. 01/38, Membran 15 kD

Wie in Fig 61 erkennbar, kommt es nur zu einer geringen Erhöhung der Trockenmasse im Retentat. Betrachtet man die einzelnen Komponenten isoliert, so erkennt man, dass es zu einer geringen Aufkonzentration von allen Komponenten kommt. Es kann keine bevorzugte Komponente die den Hauptanteil an dem Massenzugewinn im Retentat hat identifiziert werden.

Da auch in Silagesaft noch ein Restanteil an Peptiden vorhanden ist, ist zu vermuten, dass diese zwar zu einem unbekanntem Teil aufkonzentriert werden, aber keinen wesentlichen Beitrag zum Massenzugewinn im Retentat liefern.

Vielmehr ist die Differenz zwischen Retentat und Permeat über den Ultrafiltrationslauf nahezu konstant, was dafür spricht, dass die Rückhaltung nicht selektiv sondern allgemeiner Art ist und als „Widerstand“ der Membran interpretiert werden kann.

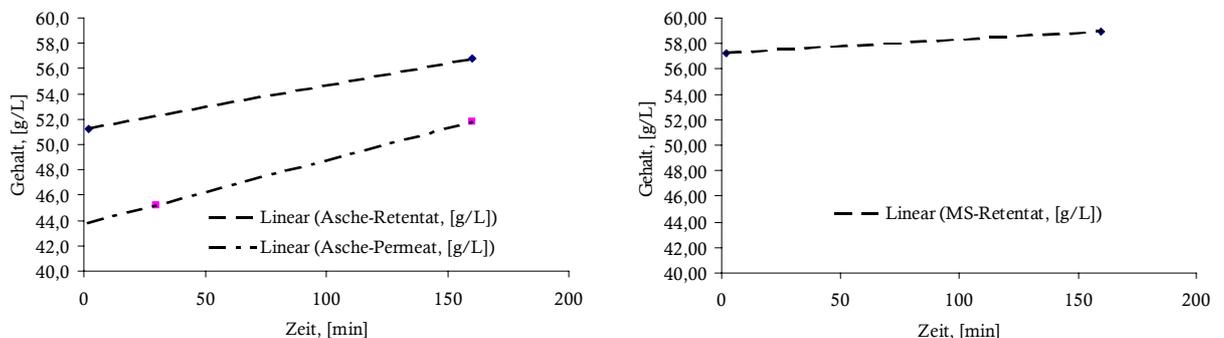


Abb. 62: Veränderung des Aschen- und Milchsäuregehalts – Silagesaftversuch; Feed 01/39 bzw. 01/38, Membran 15 kD

Zusammenfassend lassen sich die Erkenntnisse dieses Durchgangs folgendermaßen ausdrücken:

- Es gibt keine selektive Rückhaltung einer beobachteten Komponente. Die Gewinnung eines Proteinkonzentrates aus Silage durch Ultrafiltration mit einer Molekülmassen Ausschlussgrenze von 15 kD ist nicht möglich.
- Auch Silagesaft mit einem hohen Trockenmasseanteil von 240 g/L (Retentat) lässt sich ultrafiltrieren.
- Für genauere Aussagen ob und in welchem Ausmaß Peptide rückgehalten werden sind weitere Untersuchungen notwendig. Es wurden daher auch ein Ultrafiltrationsversuche bei einer Ausschlussgrenze von 1 kD mit einer größeren Anzahl von Proben untersucht (siehe Anhang D, Kapitel 3.4.3)

3.4.3 Ultrafiltration von Silagesaft aus Kleegrassilage mit einem MWCO von 1 kD

Der Versuchsaufbau wurde in Anhang D Kapitel 2.2 ausführlich dargestellt.

Folgende Saftproben wurden eingesetzt:

- Ausgangssaft (Feed): 01/44; 01/45
- Permeat: 01/46, 01/47, 01/48, 01/50, 01/51
- Retentat: 01/49, 01/52

In diesem Versuch wurde Silagesaft aus gepresstem Klee gras-erster Schnitt, siliert mit Milchsäurebakterien (IFAM2) bei einem MWCO von 1 kD ultrafiltriert.

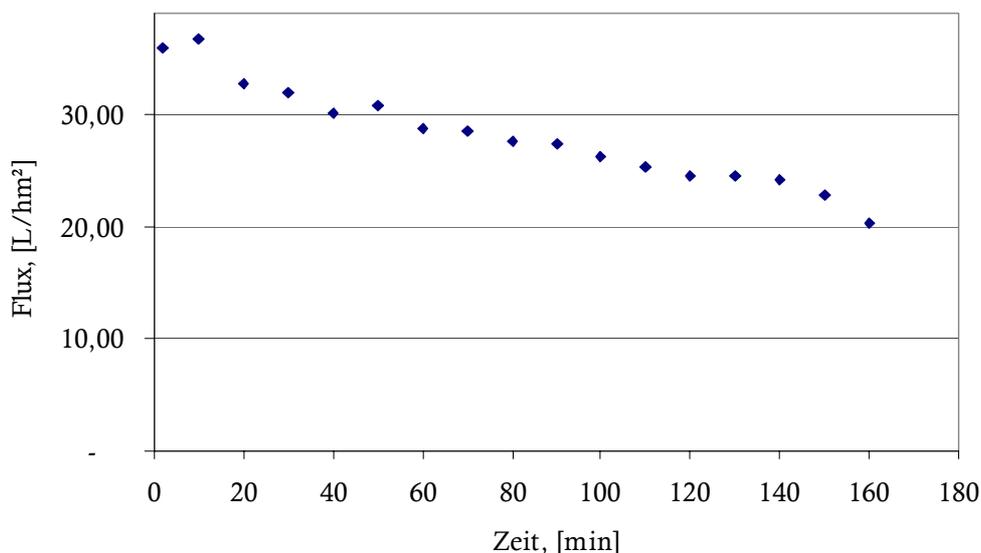


Abb. 63: Permeatfluxverlauf des Silagesaftversuchs, Feed 01/44 bzw. 01/45, Membran 1 kD

In diesem Ultrafiltrationsdurchgang wurde untersucht, ob durch den kleiner gewählten Cut-Off von 1 kD eine selektive Rückhaltung von einzelnen Komponenten (insbesondere Peptide, Oligopeptide) erreicht werden kann.

Insgesamt wurden 42 Liter Silagesaft zu 13 Liter Retentat aufkonzentriert (Faktor 3).

Der Silagesaft hat eine Trockenmasse von 155 g/L. Die gemessene Lowry-Proteinkonzentration beträgt 4 g/L. Die Grenze für die Erfassung von Proteinen bzw. Peptiden durch die Lowry-Methode beträgt rund 1,2 kD, was ungefähr der Ausschlussgrenze der Membran entspricht. Ungefähr hier deshalb weil es sich um eine nominelle Angabe des Membranherstellers handelt und insbesondere in diesem Größenbereich kann es abhängig von der Molekülstruktur zu Abweichungen kommen. Bei den angesprochenen kettenförmigen (Oligo)-Peptiden ist eher eine Verschiebung der Ausschlussgrenze nach oben bis zu 2 kD zu vermuten.

Der Fluxverlauf zeigt einen ähnlichen Verlauf wie bei dem Versuch mit 15 kD. Insgesamt ist der Flux aber etwas geringer, was auf die allgemein geringere (Wasser)-Durchlässigkeit der feineren Membran zurückzuführen ist. Der Fluxabfall am Ende des Durchgangs müsste genauer untersucht werden. Der Trockenmasseanteil im Retentat am Ende des Durchgangs betrug 193 g/L - also wesentlich weniger als im Durchgang bei 15 kD (240 g/L).

Die Rückhaltung der Gesamttrockenmasse und der einzelnen Komponenten wurde anhand von 3 Retentatproben und 5 Permeatproben untersucht.

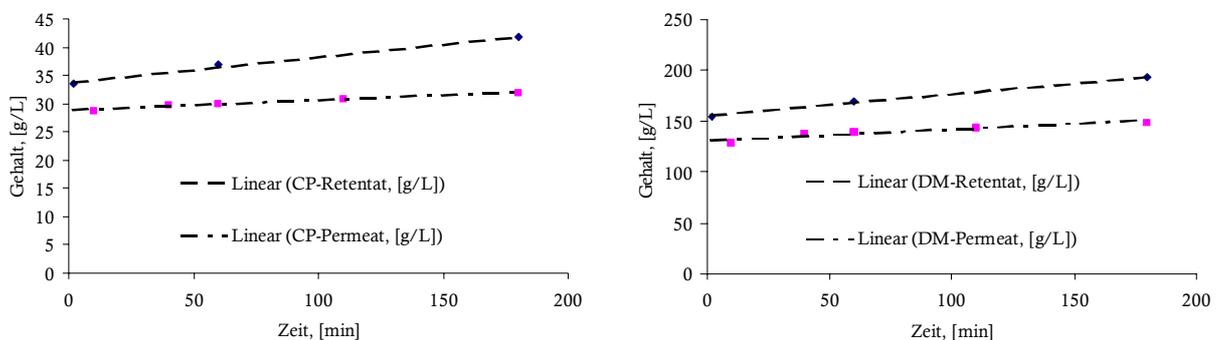


Abb. 64: Veränderung im Trockenmasse- und Rohproteingehalt – Silageversuch, Feed 01/44 bzw. 01/45, Membran 1 kD

Die Differenz zwischen Trockenmasse im Retentat und Permeat steigt während des Durchgangs von 26 auf 44 g/L. Die rückgehaltene Rohproteinmasse steigert sich von 5 g/L auf 10 g/L. Unter Berücksichtigung der allgemeinen nicht selektiven Rückhaltung der 1 kD Membran ist dieser Wert sehr niedrig. Die Lowry-Messung ergab einen Proteingehalt von 4 g/L im Ausgangssaft (Nach diesen Werten ist für diesen Fall eine Bestätigung der Annahme, dass das gesamte Lowry-Protein bei der Ultrafiltration von Silagesaft rückgehalten wird, nicht möglich).

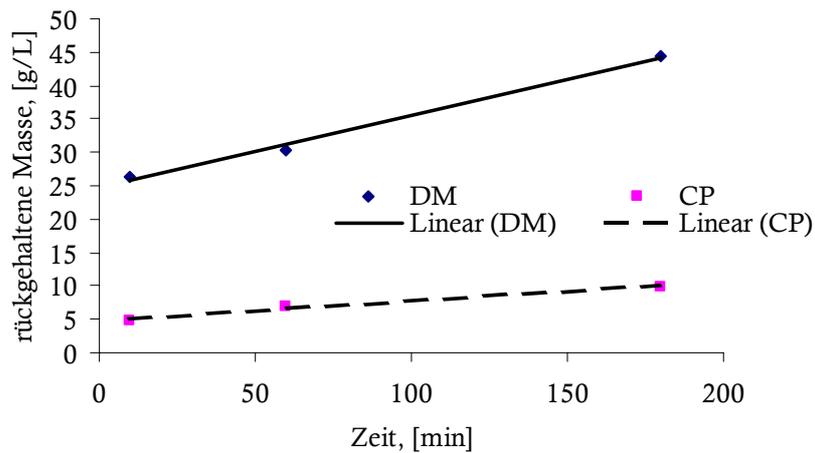


Abb. 65: Vergleich der rückgehaltenen Trocken- und Proteinmassen (dargestellt sind Massendifferenzen) – Silageversuch, Feed 01/44 bzw. 01/45, Membran 1 kD

Die Beobachtung der Rückhaltung von Milchsäure und Asche zeigt eine geringe Erhöhung während des Ultrafiltrationslaufs. Das wird durch den nicht selektiven Widerstand der feinen Membran erklärt.

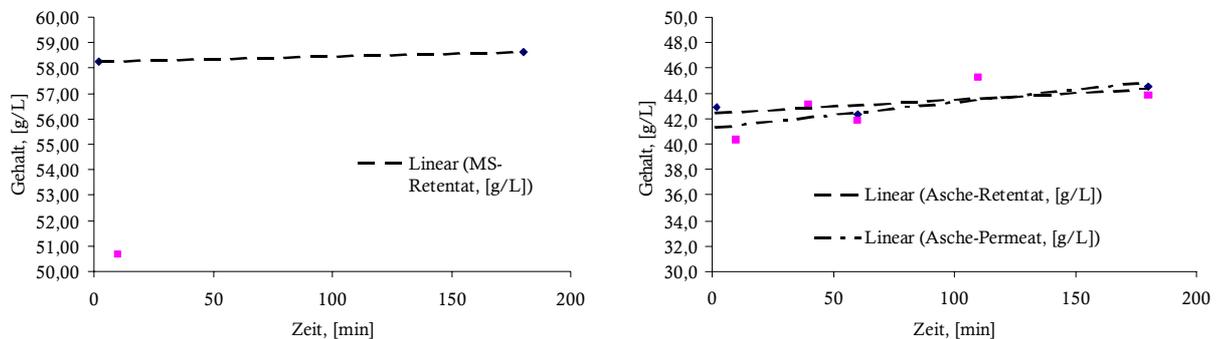


Abb. 66: Veränderung in Asche- und Milchsäuregehalts - Silageversuch, Feed 01/44 bzw. 01/45, Membran 1 kD

Zusammenfassend lassen sich die Erkenntnisse dieses Durchgangs folgendermaßen ausdrücken:

- Auch bei einer nominellen Ausschlussgrenze von 1 kD gibt keine selektive Rückhaltung einer beobachteten Komponente. Die Gewinnung eines Proteinkonzentrates aus Silage durch Ultrafiltration mit einer Molekülmassen Ausschlussgrenze von 1 kD ist nicht möglich.
- Für genauere Aussagen über den Flux bei längerem Betrieb sind weitere Versuche notwendig und wurden durchgeführt (siehe Anhang D, Kapitel 3.5.3).

3.5 **Detailergebnisse der Ultrafiltrationsversuche unter produktionsnahen Bedingungen des Jahres 2002**

3.5.1 **Ultrafiltration von Grünem Saft aus Bastardraygras, MWCO 15kD**

Der Versuchsaufbau wurde in Anhang D, Kapitel 2.2 ausführlich dargestellt.

Folgende Saftproben wurden eingesetzt:

- Ausgangssaft (Feed): 02/08
- Permeat: 02/09
- Retentat: 02/10

In diesem Durchgang wurde Grüner Saft aus gepresstem Bastardraygras (02/08) bei einem MWCO von 15 kD ultrafiltriert.

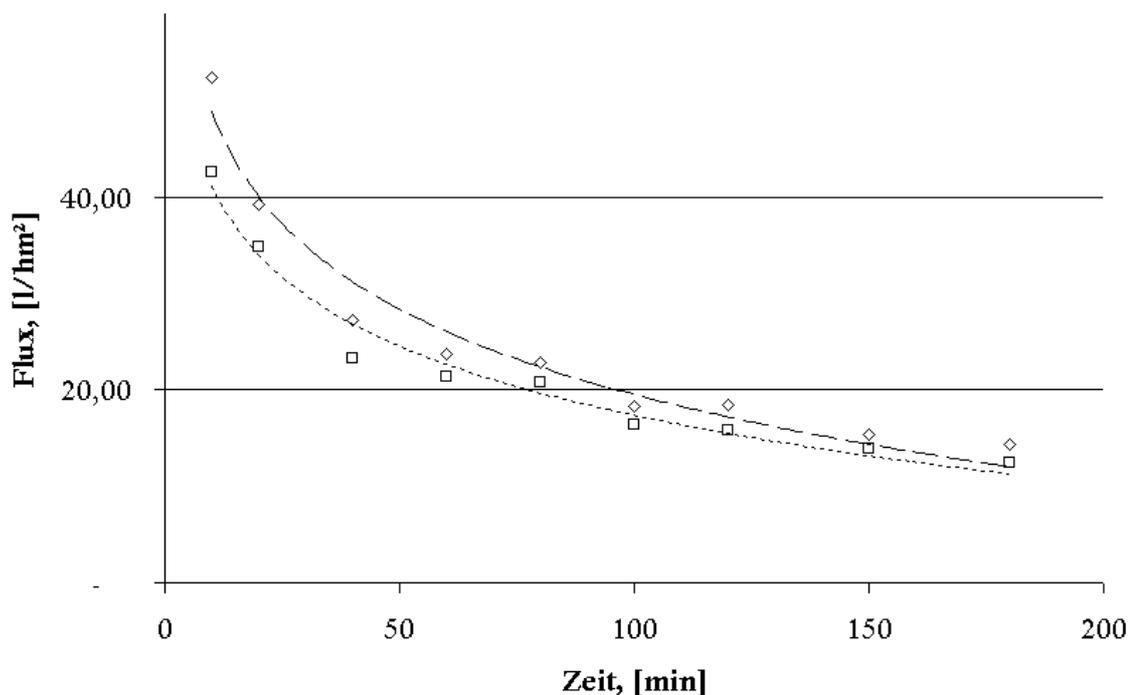


Abb. 67: Permeatfluxverlauf; obere Kurve für das erste Modul von 2 in Serie geschalteten Ultrafiltrationsmodulen – Grüner Saft, Feed 02/08, Membran 15 kD

In diesem Versuch ging es um die Erzeugung eines Proteinkonzentrats aus dem Saft des Referenzgrases (Bastardraygras) mit besonderem Augenmerk auf die Frischverarbeitung. Des weiteren wurde versucht einem möglichen Produktionsbetrieb möglichst nahe zu kommen (Pilotanlagenversuch). Es wurden 2 Module in Serie geschaltet. Die Betriebsparameter wie Druck und Überströmgeschwindigkeit ergaben sich aus den Versuchen zu den Ultrafiltrationsparametern (Anhang D, Kapitel 3.4).

Der Fluxverlauf zeigt nach dem anfänglichen schon bekannten Abfall einen mit zunehmender Ultrafiltrationszeit und zunehmender Konzentration im Retentat fallenden Permeatflux. Während des Durchgangs wurde die Konsistenz des Retentat ständig beobachtet. Ab Minute 180 schien das Retentat maximal eingedickt zu sein, was nach der

bisherigen Erfahrung auf einen Trockenmassegehalt von über 200 g/L hindeutete (siehe Anhang D, Kapitel 3.4). Der Versuch wurde daher bei einem UF-Faktor 7,1 abgebrochen.

Insgesamt wurde 63 kg Saft ultrafiltriert. Das Verhältnis Gesamtmenge zu Retentatmenge betrug 7,1 (UF-Faktor). Der Trockenmassegehalt erhöhte sich um 253 % von 62 auf 156 g/L. Der Rohproteingehalt stieg um 391% von 11 g/L auf 41 g/L.

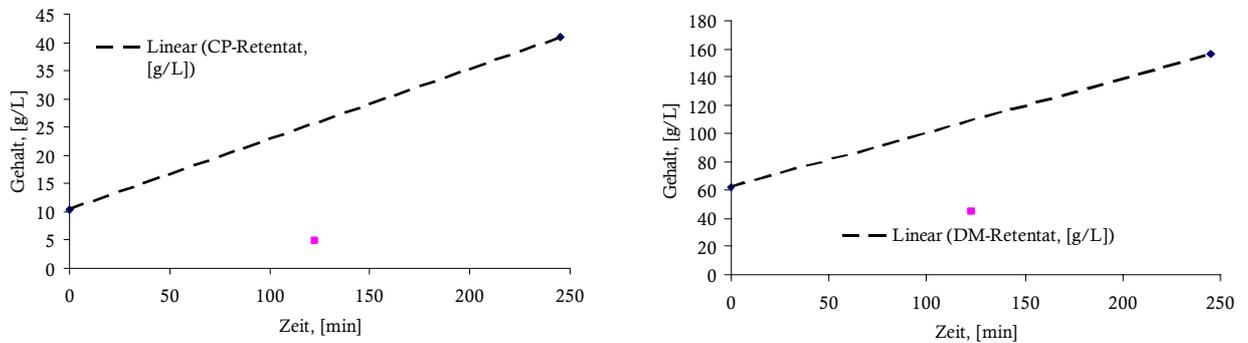


Abb. 68: Verlauf des Trockenmassegehalts und des Rohproteingehalts – Grüner Saft, Feed 02/08, Membran 15 kD

Wie auch in den vorhergehenden Durchgängen kam es wieder zu einer guten Abtrennung zwischen Asche und makromolekularen Peptiden bzw. Proteinen.

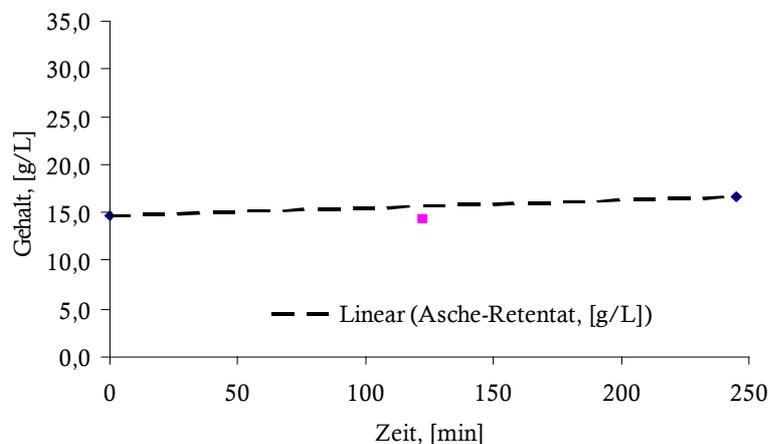


Abb. 69: Verlauf des Aschegehalts – Grüner Saft, Feed 02/08, Membran 15 kD

Der Rohproteinanteil der Retentatmasse ist allerdings mit 26,31 % niedrig. Im Vergleich zu der Rohproteinmassenanteil an der Trockenmasse im ursprünglichen Saft (17,0 %) ist das eine ungenügende Konzentrierung. Vergleicht man diese Werte mit dem Saft aus Bastardraygras 3. Schnitt 2001 (22,3 %, 01/29, 01/30) so erkennt man, dass hier ein Saft mit unterdurchschnittlichem Proteingehalt zur Verfügung stand.

3.5.2 Ultrafiltration von Grünem Saft aus Luzerne, MWCO 15kD

Der Versuchsaufbau wurde in Anhang D, Kapitel 2.2 ausführlich dargestellt.

Folgende Saftproben wurden eingesetzt:

- Ausgangssaft (Feed): 02/01
- Permeat: 02/03
- Retentat: 02/04

In diesem Durchgang wurde Grüner Saft aus gepresster Luzerne (02/08) bei einem MWCO von 15 kD ultrafiltriert.

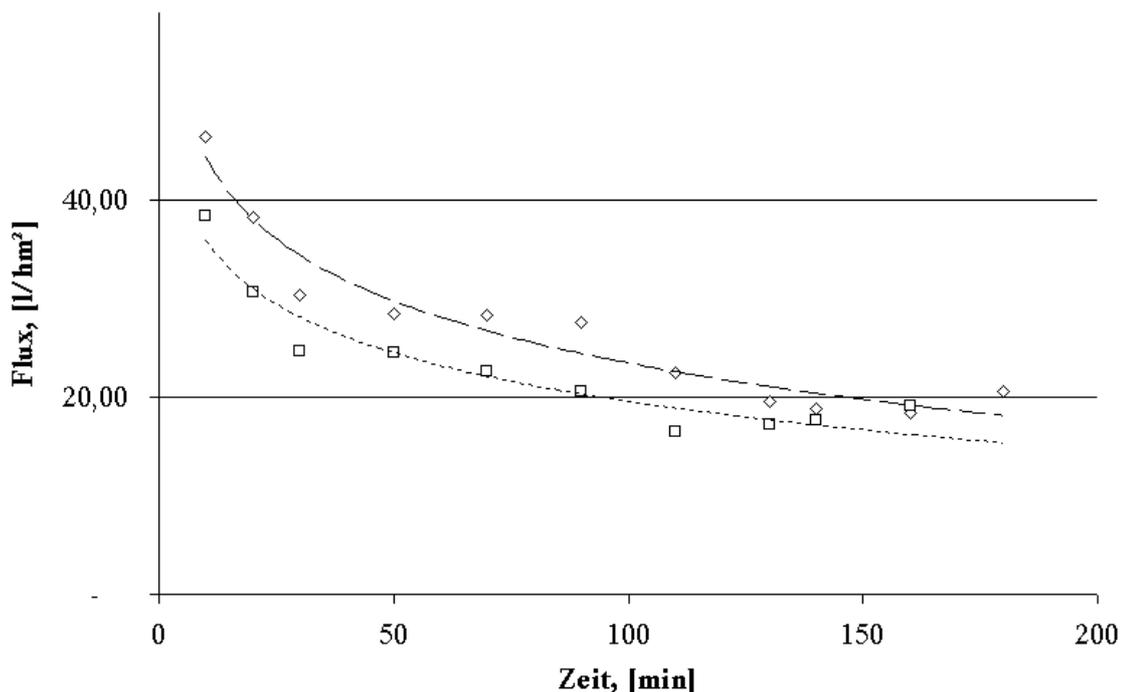


Abb. 70: Permeatfluxverlauf; obere Kurve für das erste Modul von 2 in Serie geschalteten Ultrafiltrationsmodulen – Grüner Saft Luzerne Feed 02/01, Membran 15 kD

Der Fluxverlauf zeigt den charakteristischen Abfall am Anfang. Nach 30 Minuten bleibt er relativ konstant, um dann nach 90 Minuten wieder sprunghaft abzufallen. Nach 120 Minuten steigt der Flux wieder leicht an was auf einen außerordentlichen Vorfall hindeutet. Es könnte sich hier um einen enzymatischen Proteinabbau handeln. Luzerne ist bekannt dafür besonders starke proteolytische Aktivität aufzuweisen (Messman et al 1994). Nach einer hohen Konzentration bis Minute 90 könnte der enzymatische Abbau einen Grossteil der Proteine zu Peptiden und Oligopeptiden abgebaut haben was zu einer Fluxerhöhung führen könnte. Der geringe Lowry-Wert bestätigt das (siehe Proteinausbeute in Anhang D, Kapitel 3.2)

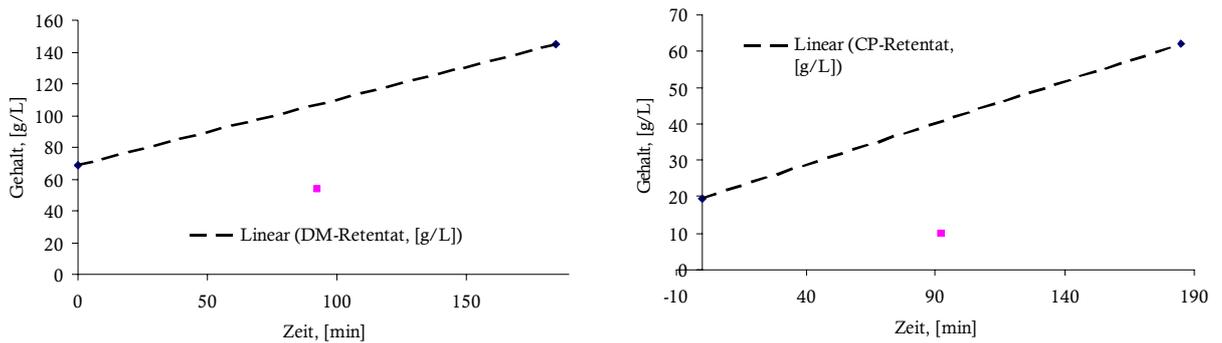


Abb. 71: Verlauf des Trockenmasse- und Rohproteingehalts – Grüner Saft Luzerne Feed 02/01, Membran 15 kD

Insgesamt wurde 69 kg Saft ultrafiltriert. Das Verhältnis Gesamtmenge zu Retentatmenge betrug 6,4 (UF-Faktor). Der Trockenmassegehalt erhöhte sich um 211 % von 68 auf 145 g/L. Der Rohproteingehalt stieg um 320 % von 19 g/L auf 62 g/L.

Im Gegensatz zum obigen Versuch (Bastardraygras 2002) trägt hier die zurückgehaltene Proteinmasse einen höheren Beitrag zum Trockenmassezugewinn im Retentat. Der Rohproteinanteil im Retentat/Konzentrat beträgt 43 % im Vergleich zu 26 % bei Bastardraygras 2002.

Dies lässt sich eindeutig auf den höheren Lowry-Proteingehalt von 13,4 g/L (68,9 % des Rohproteins) zurückführen. Die Annahme, dass ein hoher Fructananteil in Bastardraygras zum Missverhältnis zwischen aufkonzentrierter Proteinmasse und aufkonzentrierten sonstigen unbekanntem Substanzen führt, wird damit relativiert, da Luzerne frei von Fructan ist (Andersen und Kiel 2000).

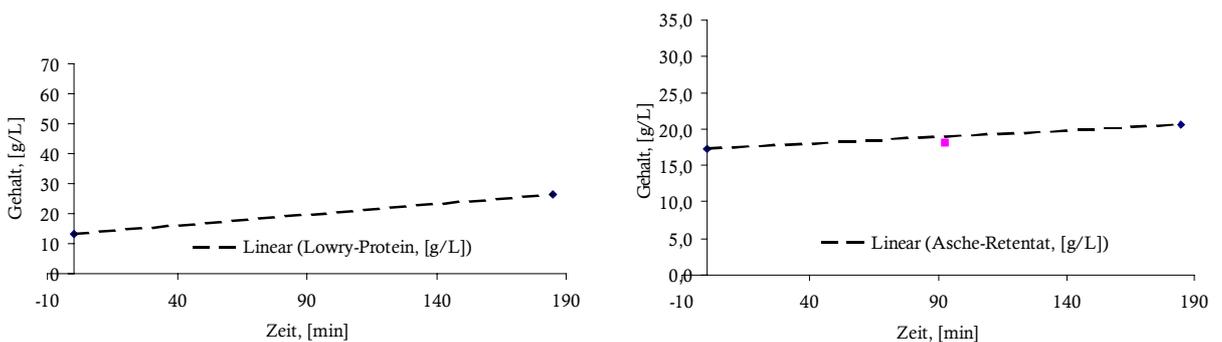


Abb. 72: Verlauf des Lowry-Proteins und Aschegehalts – Grüner Saft Luzerne Feed 02/01, Membran 15 kD

Die Rückhaltung von Asche ist, wie in obiger Darstellung ersichtlich, nahezu Null.

Insgesamt lassen sich die Erkenntnisse der zwei Ultrafiltrationsversuche 2002 folgendermaßen zusammenfassen:

- Die Serienschaltung von 2 Modulen bei einer Überstromgeschwindigkeit von 3 m/s liefert ein gleichmäßiges Fluxverhalten über die gesamte Strecke.
- Der Flux sinkt im realen Betrieb bei hoher Aufkonzentrierung unter 20 L/hm²
- Der Proteinabbau während der Ultrafiltration bei 30 °C spielt eine beachtliche Rolle.
- Im Vergleich zur Technik Hitzekoagulation/Zentrifugation werden nahezu identische Ausbeuten erreicht.

3.5.3 Ultrafiltration von Silagesaft aus Bastardraygrassilage mit einem MWCO von 1 kD

Der Versuchsaufbau wurde in Anhang D, Kapitel 2.2 ausführlich dargestellt.

Folgende Saftproben wurden eingesetzt:

- Ausgangssaft (Feed): 02/19
- Permeat: 02/20; 02/21
- Retentat: 02/22

In diesem Durchgang wurde Grüner Saft aus gepresster Bastardraygrassilage, siliert mit BonSilage der Firma Lactosan, (02/19) bei einem MWCO von 1 kD ultrafiltriert.

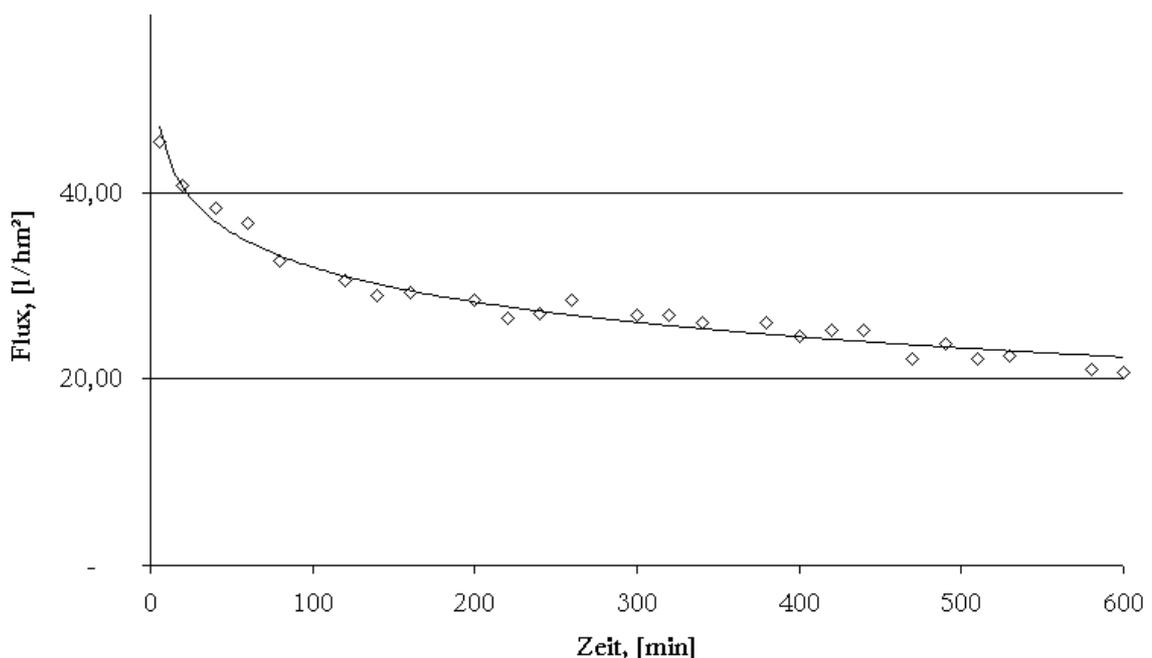


Abb. 73: Permeatfluxverlauf während der Ultrafiltration von Silagesaft Feed 02/19, Membran 1 kD

Dieser Durchgang sollte zeigen, wie das Fluxverhalten während eines Dauerbetriebes und bei hohen Konzentrationsfaktoren ist.

Der eingesetzte Saft hat im Gegensatz zu den Silagesäften von 2001 eine niedrigere Trockenmasse. Es wurden insgesamt 108 Liter bis zu einem Ultrafiltrationsfaktor von 11,3 aufkonzentriert.

Der Fluxverlauf zeigt nach dem typischen Anfangsabfall einen lehrbuchmäßigen, langsamen weiteren Abfall der durch die erhöhte Konzentration im Retentat und durch die Einsatzdauer der Membran bedingt ist. Nach 600 Minuten bzw. UF-Faktor 11,3 herrscht noch immer ein akzeptabler Flux von über 20 L/hm².

Der Trockenmassegehalt erhöhte sich um 176 % von 86 auf 151 g/L. Der Rohproteingehalt stieg um 163 % von 29 g/L auf 47 g/L.

Bezüglich der Aufkonzentration von eventuellen Proteinen/Peptiden lässt sich folgende kurze Rechnung aufstellen: Von den 47 g/L Rohprotein im Endretentat stammen 29 g/L von dem nichtfiltrierten Anteil der Ausgangslösung. Das macht einen Zugewinn von 18 g/L. Dividiert man diese 18 g/L durch den UF-Faktor, so bekommt man 1,6 g/L, die pro Liter Ausgangslösung aufkonzentriert werden.

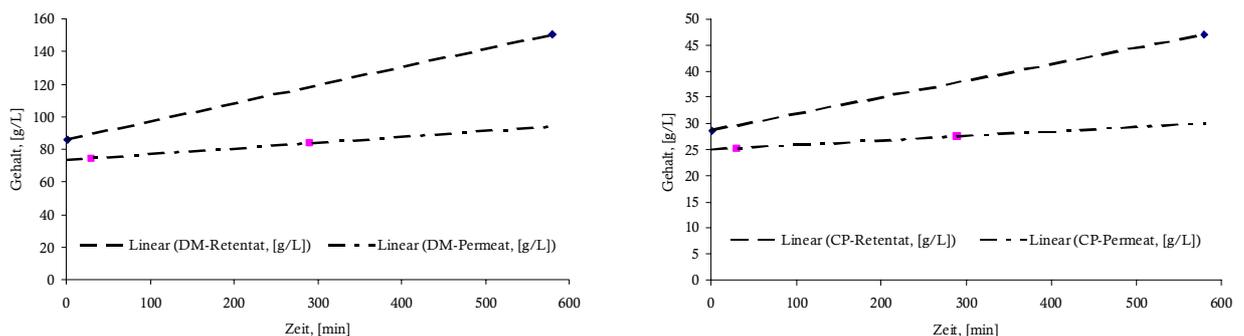


Abb. 74: Rohprotein- und Trockenmassegehalt während der Ultrafiltration von Silagesaft Feed 02/19, Membran 1 kD

Besondere Bedeutung bei der Ultrafiltration von Silagesaft hat die Rückhaltung von Milchsäure da sie ein zusätzliches Produkt darstellt und im Permeat wiedergefunden werden soll. Wie in vorhergehenden Versuchen gezeigt, ist nur eine geringe bis gar keine Rückhaltung zu erwarten. Die Werte zu diesem Versuch werden nur aus Vollständigkeitsgründen angeführt, da sie sich widersprechen. Wahrscheinlich ist ein Milchsäuregehalt der Ausgangslösung von rund 30 g/L der sich während der Ultrafiltration um 0 bis 30 % erhöht (entsprechend den Aschewerten). Das Permeat sollte dementsprechend einen Gehalt von rund 28 g/L haben. Der Milchsäurewert des Gesamtpermeats spielt im Parallelprojekt der Grünen Bioraffinerie (Milchsäure aus Grassilage) eine Rolle und wird im Rahmen dieses Projekts auch nochmals überprüft werden.

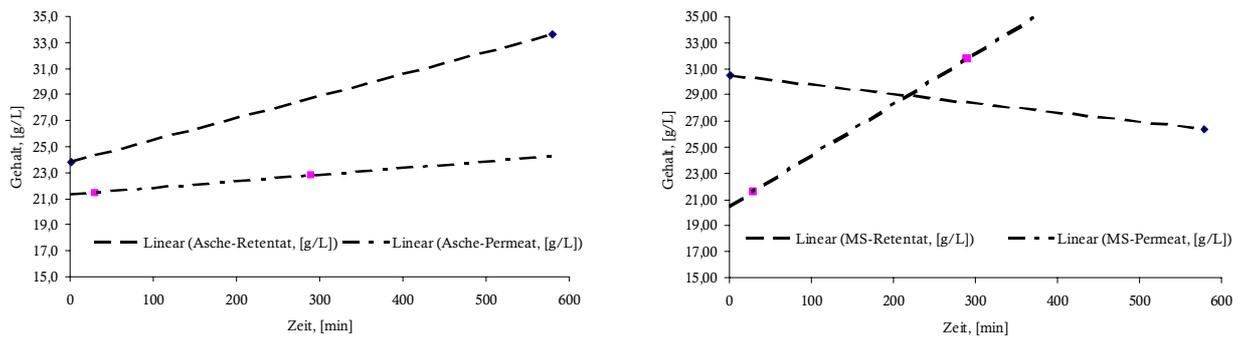


Abb. 75: Milchsäure und Aschengehalt während der Ultrafiltration von Silagesaft Feed 02/19, Membran 1 kD

Zusammenfassung der Erkenntnisse des Durchgangs:

- Die Ultrafiltration von Silagesaft ist bis zu hohen Konzentrationsfaktoren (> 11) möglich
- Es kommt zu keiner selektiven Abtrennung von Proteinen oder Peptiden.
- Der durchschnittliche Flux für einen realen Betrieb liegt bei 20 bis 25 L/hm²

Anhang E

Analyse des Proteinabbaus in Grassäften in Abhängigkeit von Temperatur und Zeit hinsichtlich einer optimalen Proteinausbeute (Diplomarbeit von Günter Povoden)

1 Proteinabbau in Pflanzen

Der Proteinabbau in Pflanzen kann entweder so erfolgen, dass Aminosäuren am Ende der Proteinkette abgespalten werden (mit Hilfe von Exopeptidasen, auch Carboxypeptidasen genannt), oder dass das Protein in der Mitte gespalten wird (mit Hilfe von Endopeptidasen).

Der Reaktionsmechanismus mit Carboxypeptidasen sieht folgendermaßen aus (Abb. 76):

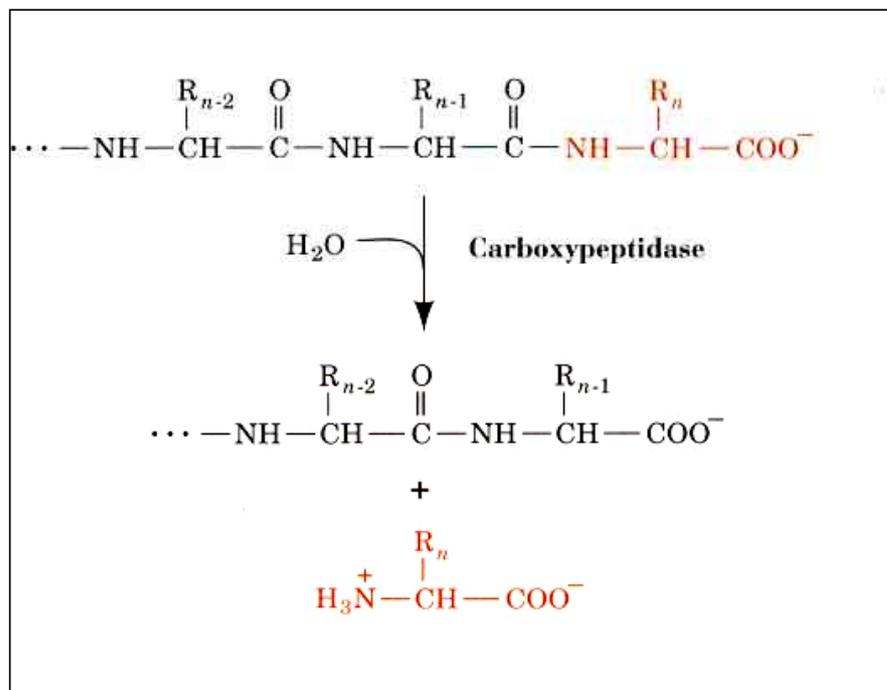


Abb. 76: Proteinabbau mittels Carboxypeptidase (Voet und Voet 1994)

Als Produkt entstehen hier die freien Aminosäuren. Im Rahmen der Probenvorbereitung für die Proteinbestimmung nach Lowry wird mit TCA gefällt, wodurch die freien Aminosäuren nicht mehr erfasst werden. Der Proteingehalt müsste dadurch geringer als bei der Vergleichsprobe sein. Da bei den Versuchen der Lowry-Proteingehalt, im Vergleich zu dem Protein, wie es am SDS-PAGE Gel zu sehen war, viel weniger abnahm, liegt die Vermutung nahe, dass hauptsächlich Endopeptidasen am Abbau beteiligt sind, was auch in der Literatur bestätigt wird (Nsereko und Rooke 2000).

Der Reaktionsmechanismus des Abbaus mittels Endopeptidasen ist am Beispiel von Trypsin in Abb. 77 dargestellt.

Trypsin greift am Carboxy-Ende von Lysin oder Arginin im Protein an, vorausgesetzt, es befindet sich kein Prolin am anderen Ende der Carboxy-Gruppe.

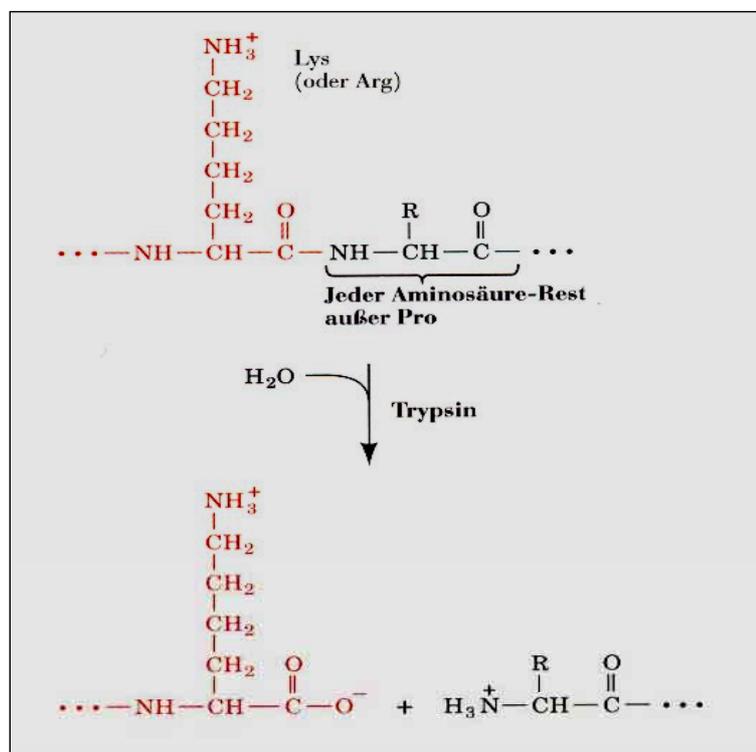


Abb. 77: Proteinabbau mittels Endopeptidase (Voet und Voet 1994)

2 Analytische Methoden

Da die Standardmethode zur Bestimmung des für ein Futtermittel relevanten Proteinanteils nur auf Quantifizierung des organischen Stickstoffs beruht, kann diese Methode (Kjeldahl-Test) keine ausreichenden Aussagen treffen.

Gesucht war jener Anteil am organischen Stickstoff der in Form von in Polypeptiden eingebauten Aminosäuren als „echtes“ Protein im Saft vorhanden ist. Ebenfalls von großer Bedeutung ist die Lagerfähigkeit der Proteine in unterschiedlichen Temperaturbereichen unter Variation der Lagerdauer.

Mit der Prämisse einer einfachen Analytik, die den Proteinabbau in Grassäften möglichst gut verfolgbar macht, wurden folgende zwei Methoden in Kombination angewendet, nämlich die Lowry-Methode (Lowry et al. 1951) und SDS-PAGE.

Bei beiden Methoden wurde eine identische Probenvorbereitung durchgeführt, besonders erwähnenswert dabei ist die Fällung der Proteine mit TCA (Trichloressigsäure). Die Fällung bewirkt einerseits eine Reinigung der Proteine von Matrixbestandteilen, andererseits werden damit wirklich nur mehr Proteine bzw. Peptide > ca. 1200 Dalton (Nsereko et al. 2000) erfasst. Die Vorteile dieser Kombination sind wie folgt:

- Auf dem Gel der SDS-PAGE sind Proteine in definierten Banden zwischen 14 und 100 kD zu sehen und deren Abbau kann direkt ermittelt werden, indem man die unterschiedlich behandelten Proben nebeneinander laufen lässt. Der Abbau ist sofort einerseits mit freiem Auge sichtbar, das komplette Verschwinden von Banden bedarf keiner weiteren Auswertung mehr, andererseits besteht die Möglichkeit, mittels Scanner den Abbau bezüglich der Referenzprobe (= Nullprobe ohne Temperatur/Zeitbehandlung) zu quantifizieren.
- Die SDS-PAGE erlaubt durch Auftragen der Wanderungsstrecke der Proteine gegen den log der Molmassen-Standards, die ebenfalls auf dem Gel mitlaufen, die Proteingrößen in den Säften abzuschätzen.
- Mit der vergleichenden Lowry-Analyse, die ja auch Proteine erfasst, die auf dem Gel nicht mehr zu sehen sind (Proteine < 14 kD und > 1200 D), sieht man, ob die Proteine gleich in die freien Aminosäuren abgebaut werden, was sich durch wesentlich niedrigere Messwerte bemerkbar machen würde, oder ob durch Endopeptidasen die Proteine eher in der Mitte gespalten und in Peptide abgebaut werden. In diesem Fall würden sich die Lowry-Messwerte nur unwesentlich bis gar nicht in Bezug auf die Frischprobe ändern. Auch ein mögliches Bakterienwachstum ist während der Probenlagerung bei den entsprechenden Zeit/Temperatur Parametern zu beachten. Der Hauptgrund der Lowry-Analyse liegt jedoch darin, die einzelnen frischen Proben hinsichtlich ihres Proteingehaltes untereinander zu vergleichen, um diejenigen Silage- und Frischgräser mit dem größten Proteingehalt zu identifizieren. Auch in der Literatur (Peterson 1977), (Peterson 1979) wird die Lowry-Methode zur Quantifizierung von Blattprotein angewendet. Sie ist eine Standardmethode, um den Proteingehalt von Proben festzustellen, die man in weiterer Folge einer SDS-PAGE unterziehen möchte (Daum 2002). Der Proteingehalt bestimmt die Menge der Einwaage, um jene Konzentration auf dem Gel zu erreichen, die gerade noch scharfe Banden liefert (etwa 10 µg Protein). Zuviel Protein führt zu Bandenverbreiterung und zu wenig würde die etwas heikle, aber empfindlichere Silberfärbung des Geles nötig machen. Aus eigener Erfahrung ist diese Art der Gelfärbung bei Grassäften durch den starken Untergrund nicht zu empfehlen.

2.1 Proteinbestimmung nach Lowry

Das mit TCA gefällte und wieder aufgelöste Protein wird bei standardisierten Bedingungen in einem Photometer mit Licht der Wellenlänge 546 Nanometer durchleuchtet. Die Extinktion/Absorption ist ein Maß für die Proteinmasse. Die Werte werden mit der Kalibrationskurve, erstellt mit Rinderserum Albumin (BSA), verglichen.

Kalibrationskurve Lowry

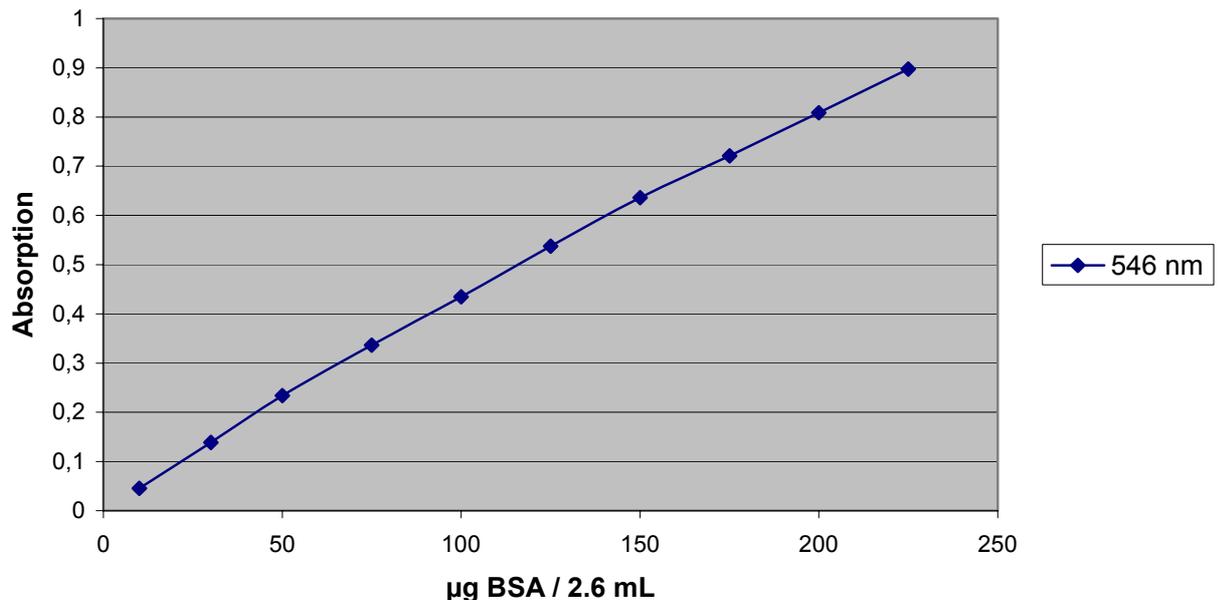


Abb. 78: Kalibrationskurve SDS-Page, Elektrophertische Trennung der Proteine

2.2 SDS-Page, Elektrophertische Trennung der Proteine

Parallel zur Lowry-Analyse wurden die Proben mittels SDS-PAGE analysiert. Gewählt wurde die Methode nach Laemmli (Laemmli 1970).

Bei der SDS Gel-Elektrophorese werden die Proteine nach ihrer Größe aufgetrennt. Das SDS bewirkt, dass alle Proteine eine einheitliche Ladung bekommen, da sonst auch die Ladung bestimmt, wie weit die Proteine auf dem Gel wandern. Das Gel besteht im oberen Teil aus dem Sammel-Gel, bei dem die Proben sozusagen fokussiert werden, die eigentliche Trennung passiert dann im darunter anschließenden Trenn-Gel. Nach Beendigung der Elektrophorese wird das Gel in einer Färbelösung mit Coomassie blue gefärbt. Beim anschließenden Entfärben bleibt die Farbe lediglich an den Proteinen haften und erzeugt so definierte sichtbare Banden, die umso dicker sind, je mehr Protein vorhanden ist.

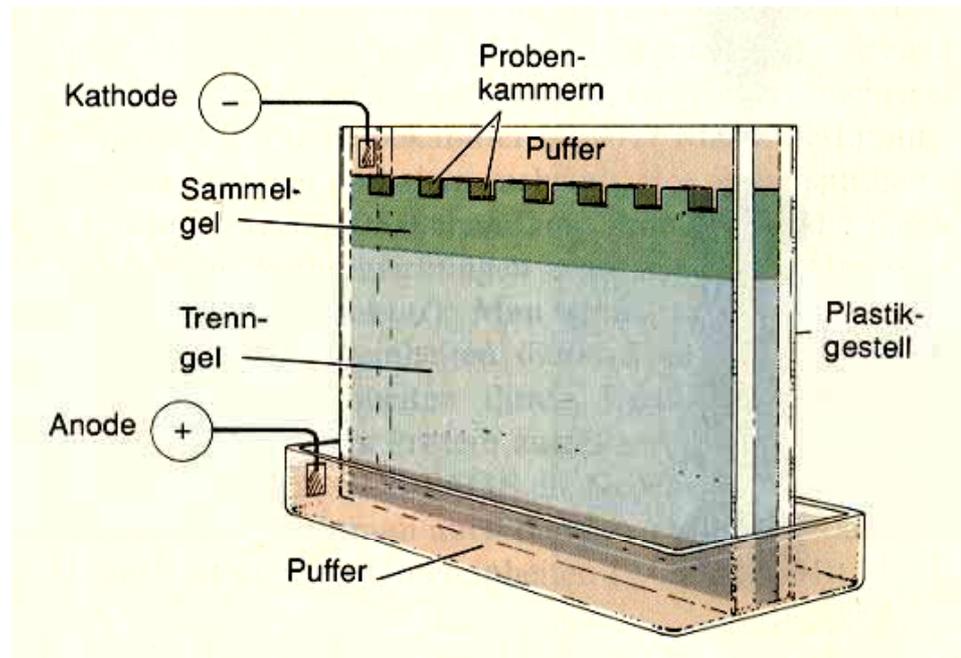


Abb. 79: Versuchsaufbau der SDS-PAGE

3 Zusammenfassung der Ergebnisse

3.1 Gesamtproteingehalt in Grassäften nach Lowry

Tab. 29 zeigt einige wichtige Ergebnisse bezüglich der Analysen des Proteingehalts, inklusive den Vergleich zur Trockenmasse und zum Aminosäuregehalt nach der Totalhydrolyse.

**Tab. 29 Zusammenfassung der Gesamtprotein –
Analysen nach der Lowry Methode
(Povoden 2002)**

Bezeichnung des Grassafts	Lowry- Protein [g/L]	TM [g/kg]	Protein in d. TM [%]
01/14 (KLG-01S2)	4,3	51,4	7,6
01/08 (DW-01S1)	5,2	70,0	6,8
01/54 (DW-01S1-IFAM2-1)	4,8	202,5	2,2
01/01 (KLG-01S1)	6,75		
01/57 (KLG-01S2-IFAM2-1)	5,9	157,9	3,4
01/37 (KG-01S2)	2,2	44,2	4,5
01/29 (BRG-01S3)	7,1	78,7	8,2
01/44 (KLG-01S1-IFAM2-1)	4	151,4	2,4
01/56 (KLG-01S2-IFAS3-2)	3	177,7	1,5
01/55 (DW-01S1-IFAS3-2)	3	150,6	1,8
01/63 (BRG-01S3-IFAS3-1)	2,1	115,7	1,7
01/64 (BRG-01S3-IFAM2-1)	2,8	119,6	2,1
01/59 (KG-01S2-IFAS3-1)	4	176,2	2,1
02/01 (Luzerne)	13,4		
01/32 (BRG Ret cut off 15)	30	140,3	19,4
01/34 (BRG Ret cut off 50)	63,5	195,1	29,6

3.1.1 Lowry Protein in Grünen Säften

Der Proteingehalt in Frischgrassaften ist in folgender Grafik (Abb. 20) dargestellt.

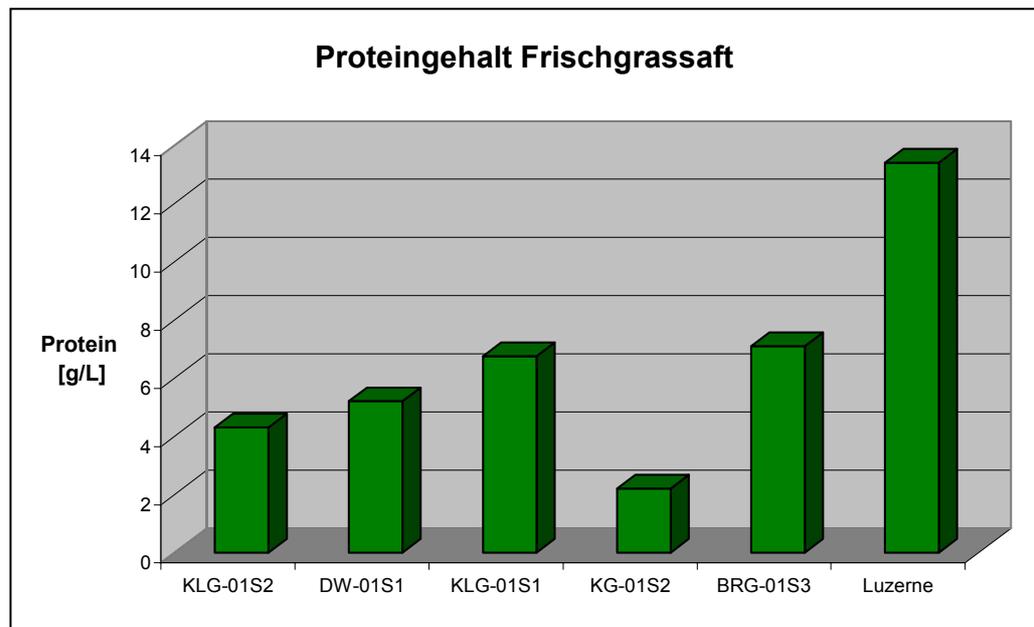


Abb. 80: Lowry-Protein Gehalt im Frischgrassaft (Povoden 2002)

Deutlich zu sehen ist der vergleichsweise hohe Proteingehalt im Luzerne-Saft, der etwa 13.4 g/L beträgt. Der Proteingehalt im BRG-Saft ist mit 7.1 g/L etwa halb so groß.

Knautgras hat mit 2.2 g/L den niedrigsten Proteingehalt der Frischgras-Proben. Interessant ist, dass im KLG-Saft des 1. Schnitts mit 6.75 g/L bedeutend mehr Protein enthalten ist als beim 2. Schnitt (4.3 g/L).

Um die Proben untereinander vergleichbarer zu machen, ist es sinnvoll, den Proteingehalt auf die Trockenmasse umzurechnen. Das Ergebnis zeigt folgende Grafik (Abb. 81):

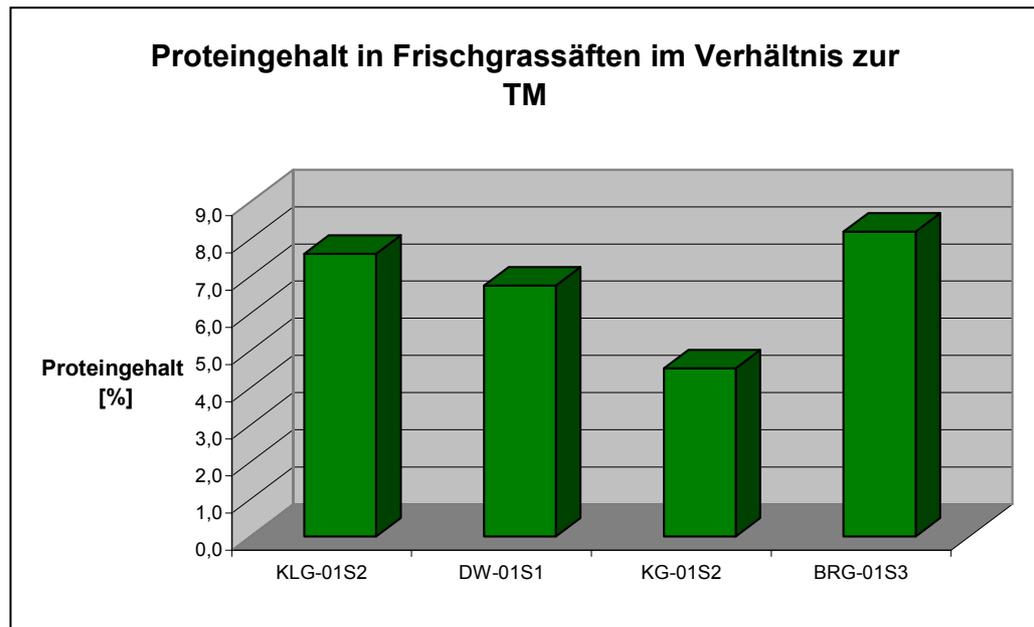


Abb. 81: Lowryprotein in Grünen Säften im Verhältnis zur Trockenmasse (Povoden 2002)

3.1.2 Lowry-Proteingehalt der Grünsaft-Retentate aus der Ultrafiltration

Die Ultrafiltration wurde mit unterschiedlichem MWCO durchgeführt, nämlich einmal mit 15 kD, und einmal mit einem MWCO von 50 kD. Abb. 82 zeigt deutlich die Anreicherung an Protein.

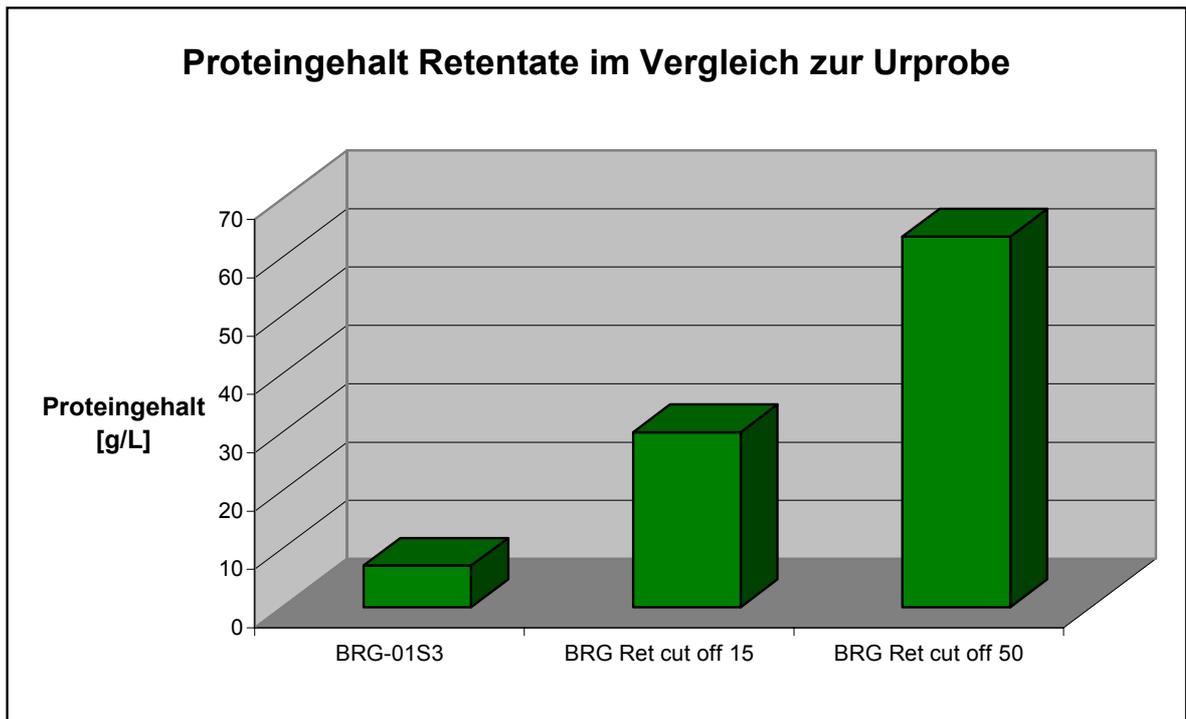


Abb. 82: Lowry-Proteingehalt der Retentate nach Ultrafiltrationen mit verschiedenem Molecular Weight Cut Off (MWCO) (Povoden 2002)

Interessant ist vor allem, dass der Anreicherungsfaktor der Ultrafiltration fast identisch ist mit der Zunahme an Lowry-Protein. Das Retentat mit einem MWCO von 15 kD enthielt 30 g Protein/L entsprechend etwa einem Faktor 4, das Retentat mit MWCO 50 kD enthielt mit 63.5 g Protein/L etwa 9 mal soviel Protein wie die Urprobe. Das ist insofern eine wertvolle Information, da bei der Lowry-Messung alle Proteine > 1200 Da erfasst werden, und somit scheint klar, dass bei der Ultrafiltration ebenfalls Proteine > 1200 Da angereichert werden.

3.1.3 Lowry-Proteingehalt des Silagesaftes

Im Durchschnitt sind in den meisten Silagesäften geringere Proteinmengen als im grünen Saft zu finden. Folgende Grafik (Abb. 83) zeigt den unterschiedlichen Proteingehalt in den Silagesäften.

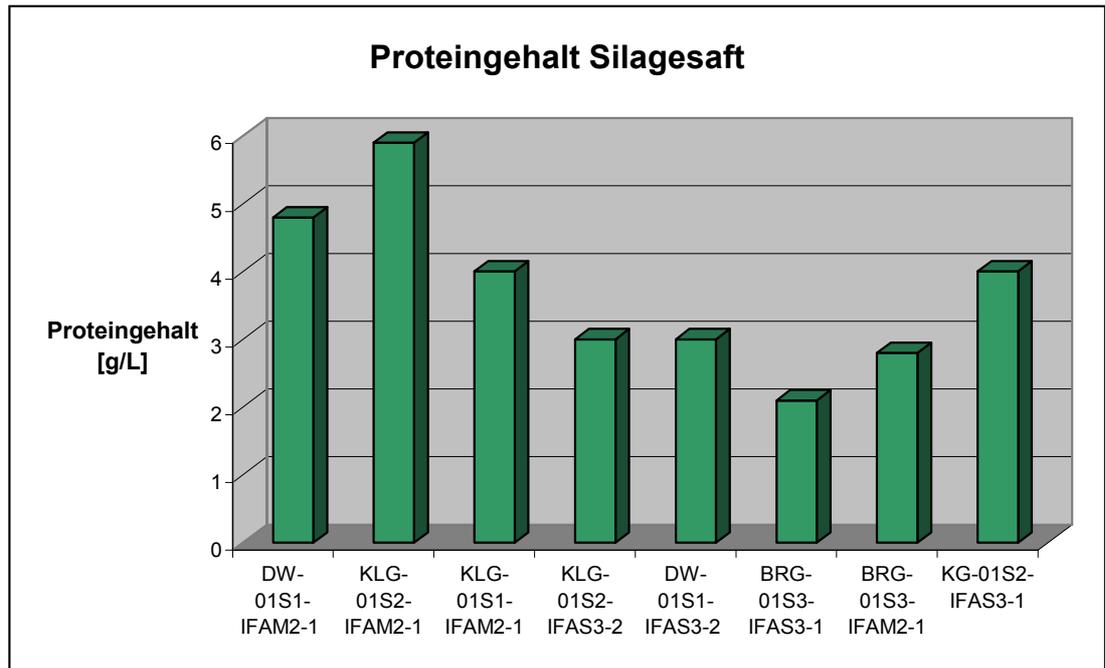


Abb. 83: Lowry-Proteingehalt in Silagesäften (Povoden 2002)

Die Werte reichen von 2.1 bis 5.9 g Protein pro Liter Grassaft.

Dass bezogen auf die Trockenmasse wesentlich weniger Lowry-Protein enthalten ist als bei Frischgras, zeigt die Grafik (Abb. 84), die den Lowry-Proteingehalt auf die Trockenmasse bezieht.

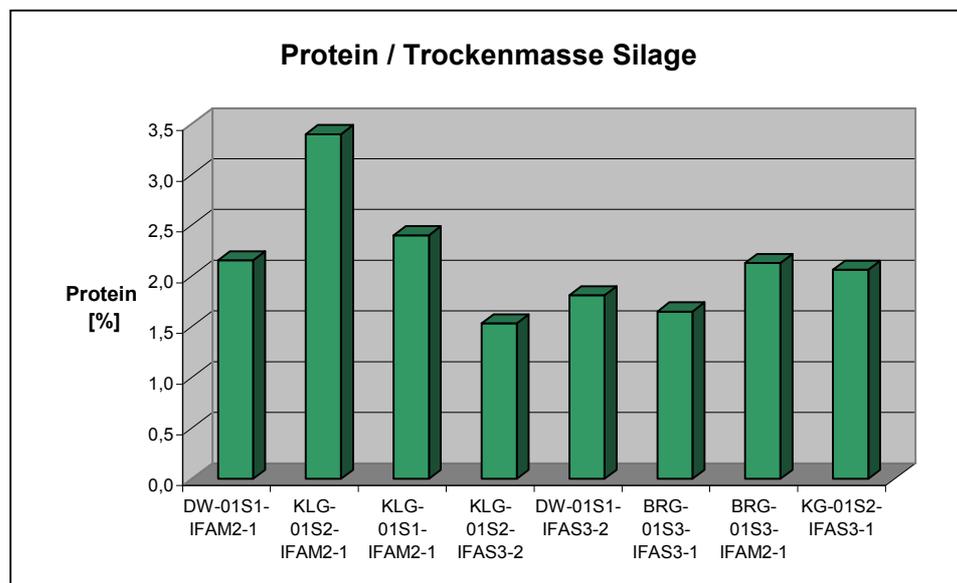


Abb. 84: Lowry-Proteingehalt Silagesäfte im Verhältnis zur Trockenmasse (Povoden 2002)

Wie in Abb. 84 zu sehen ist, macht der Proteingehalt je nach Grasart und Starterkultur, nur 1.5% – 3.4% der Trockenmasse aus. Das entspricht nur etwa einem Viertel bis maximal der Hälfte des Proteingehalts im Frischgrassaft. Die Proteine sind demnach zumindest in diesem Ausmaß abgebaut. Wie die Versuche mit Hilfe der SDS-PAGE zeigen werden, sind jedoch praktisch keine großen Proteine > 14 kD mehr vorhanden. Bei den erfassten Proteinen handelt es sich also größtenteils um Peptide bzw. kleine Proteine.

3.2 Bestimmung des Proteinabbaus mittels SDS-PAGE

Die Durchführung erfolgte wie im Anhang E, Kapitel 2.2 beschrieben.

Als Referenz für den Proteinabbau dienten die Presssäfte folgender Frischgras-Proben, die unmittelbar nach dem Auftauen (Lagerung bei -30°C) vermessen wurden:

- | | |
|---------------------|----------------------------------|
| 1. 01/29 (BRG-01S3) | Bastard Raygras, 3. Schnitt 2001 |
| 2. 01/14 (KLG-01S2) | Kleegras, 2. Schnitt 2001 |
| 3. 01/08 (DW-01S1) | Dauerwiese, 1. Schnitt 2001 |

Zusätzlich liefen bei einigen Versuchen die Retentate der ultrafiltrierten Proben von Bastardraygras mit, um zu sehen, welche Proteine sich bei dieser Methode der Aufkonzentrierung anreichern, und wie groß der Proteinabbau während der Ultrafiltration ist.

3.2.1 SDS-PAGE Referenzproben, Gel 1

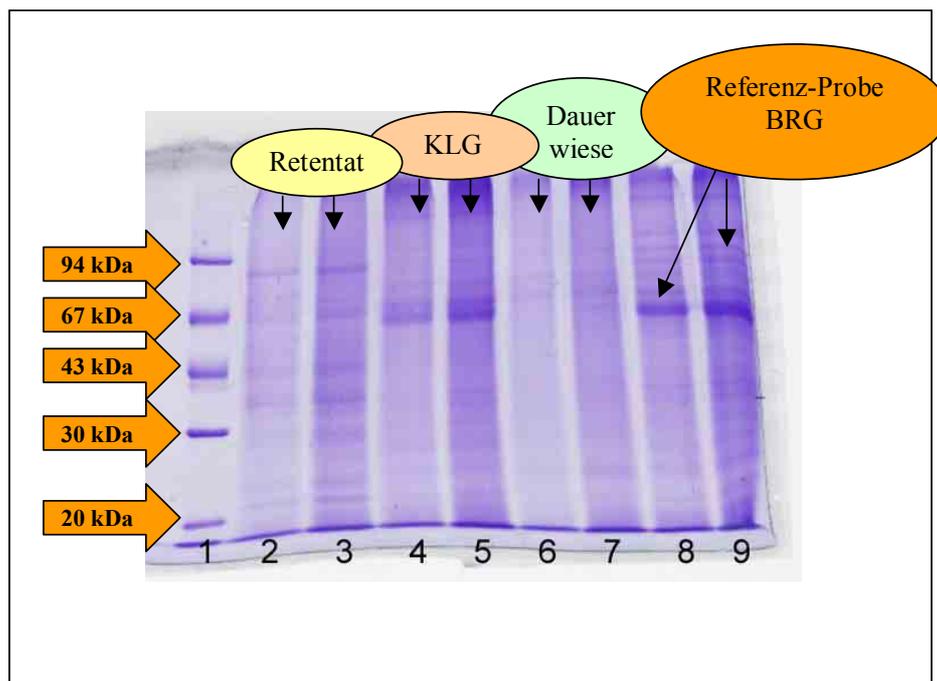


Abb. 85: SDS-PAGE frischer Proben (DW, KLG, BRG), Gel 1. (Povoden 2002)

Welche Mengen und welche Proben auf die einzelnen Lanes aufgetragen wurden, beschreibt Tabelle 30.

Tab. 30 Lane-Beschickung von Gel 1, Referenzproben (Povoden 2002)

LANES	Beschreibung der aufgetragenen Proben
1	STD Standardproteingemisch, 94, 67, 43, 30, 20, 14 kDa. 8 µL aufgetragen
2	RET 10 Retentat/Koagulat, aus 1:10 verdünnter Probe, 10 µL aufgetragen
3	RET 25 Retentat/Koagulat, aus 1:10 verdünnter Probe, 25 µL aufgetragen
4	KLG 25 Klee gras-Saft, aus 1:10 verdünnter Probe, 25 µL aufgetragen
5	KLG 50 Klee gras-Saft, aus 1:10 verdünnter Probe, 50 µL aufgetragen
6	DW 25 Dauerwiese-Saft, aus 1:10 verdünnter Probe, 25 µL aufgetragen
7	DW 50 Dauerwiese-Saft, aus 1:10 verdünnter Probe, 50 µL aufgetragen
8	BRG 25 Bastard Ray gras-Saft, aus 1:10 verdünnter Probe, 25 µL aufgetragen
9	BRG 50 Bastard Ray gras-Saft, aus 1:10 verdünnter Probe, 50 µL aufgetragen

Die Frischgrasproben von BRG- und KLG-Saft zeigen sehr definierte Proteinbanden mit einer eindeutigen Hauptbande bei 54 kD (man beachte besonders *Lane 4, 5, 8 und 9!*) in Abb. 85. Dieser Hauptbande gilt das besondere Augenmerk in den weiteren Untersuchungen.

Die Proben mit den Retentaten (*Lane 2 und 3*) zeigen deutlich, dass hier fast das gesamte RUBISCO zu kleineren, am Gel nicht mehr zu sehenden Proteinen (< 14 kD), Peptiden oder freien Aminosäuren abgebaut wurde, und nur diese angereichert werden konnten. Statt des RUBISCO reichern sich zwar einige andere Proteine (87, 67, 44 und 36 kD) an, allerdings in sehr bescheidenem Ausmaß.

Die extrem schwachen Banden der Proben aus dem Saft der Dauerwiese (*Lane 6 und 7*) zeigen, dass hier kaum noch Protein vorhanden ist. Aus diesem Grund konzentrierten sich die weiteren Versuche hauptsächlich auf den Proteinabbau im BRG- und KLG-Saft.

3.2.2 Zum Vergleich: Proteingehalt in Luzernen, Gel 6

Obwohl Luzerne-Gras im Rahmen der Grünen Bioraffinerie nicht primär als Rohstoff vorgesehen ist, wurde der Saft trotzdem zu Vergleichszwecken analysiert.

Der Proteingehalt im frisch gepressten Luzerne-Saft ist etwa doppelt so hoch (13.4 g Protein/L Saft) wie im BRG-Saft. Das bestätigen einerseits die Lowry-Messungen und andererseits die Scanner-Auswertung des Gels der SDS-PAGE. Sehr schön ist die Rubisco-Bande bei 54 kD zu sehen (Abb. 86):

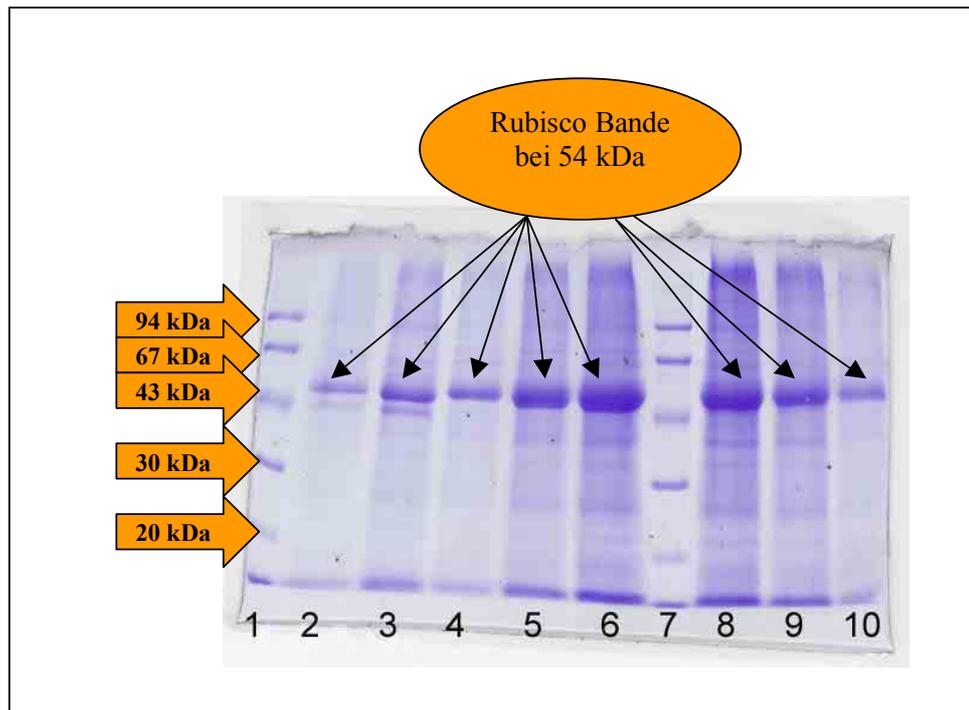


Abb. 86: SDS-PAGE Luzerne-Saft, Gel 6 (Povoden 2002)

Auf *Lane 1 und 7* ist der Standard aufgetragen, die anderen Lanes zeigen Proben in unterschiedlichen Konzentrationen (5 bis 50 μ L aufgetragen).

3.2.3 Zusammenfassung der Untersuchungen bezüglich des Proteinabbaus von Proteinen in Grassäften mittels SDS-PAGE

Aus den gewonnenen Daten lässt sich folgendes Diagramm erstellen:

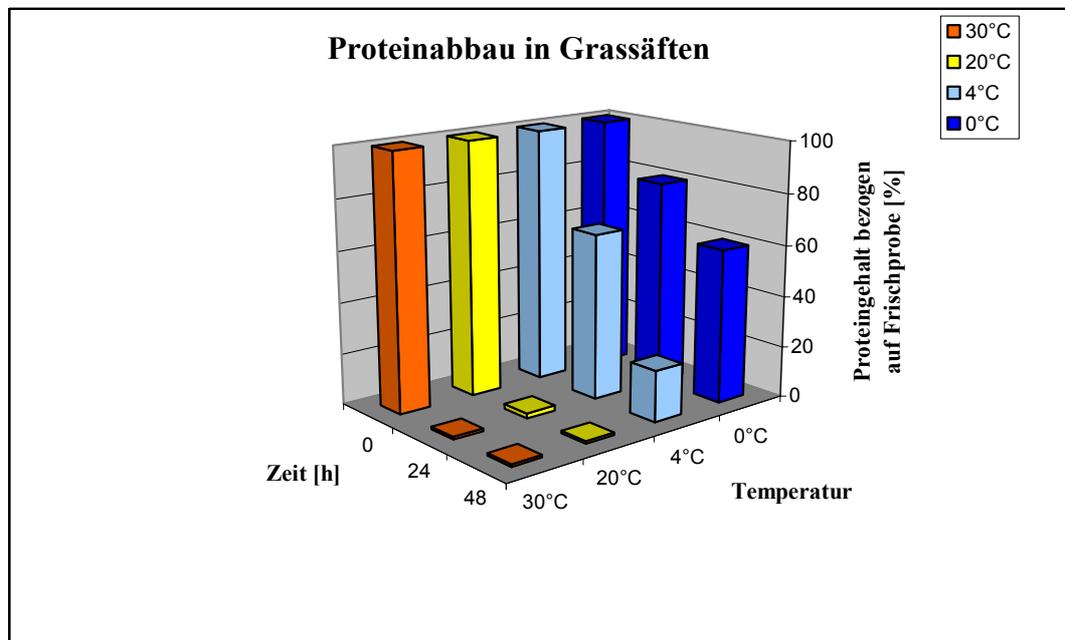


Abb. 87: Zusammenfassung – Proteinabbau in Grassäften mittels SDS-Page nach den Parametern Zeit und Temperatur (Povoden 2002)

Demnach kann man bei Grassäften von einem Erhalt von etwa 80% der Proteine innerhalb von 24 Stunden ausgehen, wenn man eine Lagerungstemperatur von 0°C einhält. Bei einer Kühlung auf –20°C kam es zu keinem Abbau der Proteine. Bei Raumtemperatur (20°C) wurde im gleichen Zeitraum fast das gesamte Protein abgebaut, im Kühlschrank (4°C) blieben noch 65% der Proteine erhalten, wie in Abb. 87 deutlich zu sehen ist.

3.2.4 Proteinabbau bei Silage-Saft, Gel 5

In den zur Verfügung stehenden Proben von Silage-Säften konnten mittels SDS-PAGE nur Spuren von Proteinen nachgewiesen werden. Am folgenden Gel sind die Silage-Proben auf *Lane 6 und 7* aufgetragen. Auf *Lane 8* direkt daneben als Vergleich eine frische Probe von BRG-Saft. Ebenfalls zum Vergleich sind frische Retentat-Proben aufgetragen, die während der Ultrafiltration schon einige Zeit bei Temperaturen zwischen 10 und 20°C verbracht hatten.

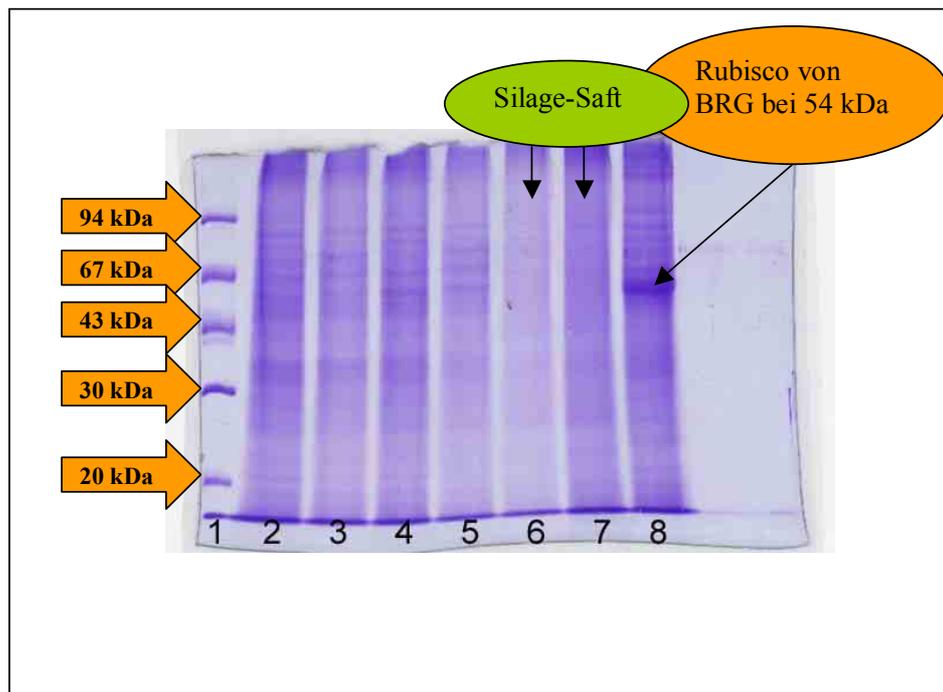


Abb. 88: SDS-PAGE Silagesaft, Gel 5 (Povoden 2002)

3.3 Zusammenfassung der Ergebnisse in Hinblick auf optimale Lager- und Prozessbedingungen

Die Lager- und Prozessbedingungen für eine optimale Proteinausbeute lassen sich wie folgt zusammenfassen.

Lagerbedingungen:

- Lagerung länger als 24 Stunden: -20°C
- Lagerung weniger als 24 Stunden: Auch 0°C möglich, innerhalb 24 Stunden Abbau von 20%

Prozessbedingungen:

- Hitzekoagulation ist uneingeschränkt möglich, allerdings findet dabei Denaturierung statt. Die weiteren Verarbeitungsschritte sind nur unter Kühlung (0°C – 4°C) durchzuführen.
- Wenn RUBISCO in nativer Form als Produkt gewünscht wird, oder lösliche Proteine gewonnen werden sollen, bietet sich als schonende Methode die Ultrafiltration an. Diese ist keinesfalls bei Raumtemperatur durchzuführen, es muss unbedingt gekühlt werden (je nach Dauer auf 0 – 4°C). Auch die weiteren Verarbeitungsschritte wie Zentrifugieren sind ebenfalls unter Kühlung durchzuführen.

Die grundsätzliche Frage, ob eine zentrale oder dezentrale Presse (beim Bauern bzw. Klein,-oder Mittelbetrieb) sinnvoll ist, kann man auf Grund der Ergebnisse der Versuche wie folgt beantworten: Aufgrund der Notwendigkeit, unmittelbar nach dem Pressen die Proteine unter Kühlung abzutrennen und die Verarbeitung bis zu einem stabilen Produkt (eventuell nach Sprühtrocknung) durchzuziehen, ist eher ein zentraler Großbetrieb dafür geeignet.

Was die Prozessbedingungen für Silage betrifft, sollte man hier weg von den Proteinen eine andere Technologie in Richtung Peptide/Aminosäuren einschlagen, was zur Zeit Gegenstand von Forschungen ist. Mangels Proteinen in Silagesäften konnte zwar kein diesbezüglicher Abbau festgestellt werden, jedoch war bei den entsprechenden Temperaturbehandlungen gut zu sehen, dass auch die Haltbarkeit der Silagesäfte Grenzen hat. Bei 30°C beispielsweise war schon nach 24 Stunden eine merkliche Gasentwicklung festzustellen, die Probe entwickelte unangenehmen Geruch und zeigte Zersetzungserscheinungen. Aus diesem Grund empfiehlt sich auch hier bei einer Zwischenlagerung zumindest Kühlschrank-Temperatur (4°C), bei der diese Effekte nicht auftraten.

3.4 Zusammenfassung – Vergleich der Ergebnisse mit Literaturdaten

Der Abbau von Proteinen in Grassäften ist in der Literatur nicht dokumentiert, da sämtliche Autoren immer von frischem, bzw. siliertem Gras ausgingen und nicht von Presssäften. Der Abbau der Proteine wurde generell mittels Extraktion und anschließender Analyse festgestellt. Dabei gab es widersprüchliche Ergebnisse. R. Fairbairn et al. (1988) berichten davon, dass nach 2 Tagen Silierzeit kein RUBISCO in Alfalfa-Proben mehr zu finden war, da es in kleinere Peptide abgebaut worden war. Natürlich ist zu berücksichtigen, dass der Abbau in Presssäften wesentlich schneller vor sich geht als in den intakten Pflanzen, da im Saft die Proteasen sehr rasch an die Proteine gelangen. Daher deckt sich dieses Ergebnis mit den Resultaten der hier vorliegenden Arbeit, wo man sehen konnte, dass auf dem Gel die Proteine bei 20°C innerhalb von 24 Stunden beinahe (noch 2% übrig), und nach 48 Stunden komplett verschwunden waren, jedoch mit der Methode nach Lowry immer noch zu einem großen

Teil nachgewiesen werden konnten. Auch M. A. Messman et al. (1994) dokumentieren, dass nur etwa 10% des RUBISCO nach 110 Tagen Silierzeit zu finden war.

Zum genau gegenteiligen Ergebnis kommen hingegen D. R. Davies et al. (1998) : Nach 90 (!) Tagen Silierung von Perennial Raygras waren noch 51% des RUBISCO vorhanden. Interessanterweise wurde jedoch in allen Fällen gleich siliert, nämlich mit vorherigem Trocknen auf einen Trockenmassegehalt von etwa 30 – 40%.

Durch die aufwendigen und umfassenden Arbeiten im Rahmen dieses Projekts konnten nun Referenzwerte erstellt werden. Es kann nun für die Weiterentwicklung der Grünen Bioraffinerie von verlässlichen Werten ausgegangen werden. Diese Werte zeigen allerdings für die Silage keine ausreichend abtrennbaren Proteinmengen. D.h. auch die Untersuchungen von G. Povoden (2002) führen zu dem Ergebnis, dass in Zukunft an der Abtrennung der freien Aminosäuren gearbeitet werden sollte.

Alle weiteren Details zu diesen Arbeiten sind der Diplomarbeit von G. Povoden (2002) zu entnehmen.

Anhang F

Weiterverarbeitung der Proteinkonzentrate zu Produkten für Milchaustauscher Futtermittel

1 Haltbarmachung durch Trocknung

1.1 Sprühtrocknung

Die Sprühtrocknung ist eine schonende Trocknung und liefert ein feinpulvriges Produkt. Diese typischen Eigenschaften sind bestens dazu geeignet ein lösliches Proteinkonzentratpulver zu erzeugen. Bei dem verwendeten Sprühtrockner handelt es sich um einen Turm in Pilotanlagengröße, der für Versuche und für die Produktion von Kleinmengen eingesetzt wird. Laut der jahrzehntelangen Erfahrung der Sprühturmexperten der Firma LactoProt ist dieser Turm bestens geeignet, um die großtechnische Eignung zur Versprühung neuer, unbekannter Stoffe zu erproben.



Abb. 89: Versuchssprühturm der Fa. LactoProt – Hartberg (Foto: Kornberg Institut)

1.1.1 Sprühtrocknungsversuch im Februar 2002

Es wurden 12,04 kg Saft (Retentat (01/13, 01/34) aus Saft der Dauerwiese 1.Schnitt und Bastardraygraswiese 3.Schnitt) mit einer durchschnittlichen Trockenmasse von 19 % versprüht. Das Retentat wurde zwischen Ultrafiltration und Sprühtrocknung 30 bzw. vier Stunden bei 4°C gelagert. Insgesamt wurde 2,18 kg Pulver (01/28) gewonnen.

Sprühparameter:

Einlasstemperatur:	158-160°C
Auslasstemperatur :	88-90°C
Dauer:	2 h

1.1.2 Sprühtrocknungsversuch Mai (Luzerne) und Juni (Raygras) 2002

Im Gegensatz zum ersten Sprühversuch wurde das eingesetzte Ultrafiltrationsretentat noch in der Nacht des Presstages verarbeitet (nach der Ultrafiltration) und sprühgetrocknet. Das gewonnene Pulver kann als Frischeprodukt bezeichnet werden.

Die Sprühparameter entsprachen jenen des ersten Versuchs.

In allen drei Durchgängen kam ausschließlich Grassaffretentat ohne chemische od. biologische Zusätze zum Einsatz. Die Sprühversuche waren nach einer Einstellungsphase als problemlos einzustufen. Es bildete sich ein feines Pulver, das als Produkt „abpackfertig“ ist (Abb. 90).

Eingesetzte Retentate 2002:

- Retentat aus Saft von gepresstem grünem Bastardraygras 2002 (02/10) – Produkt (02/11)
- Retentat aus Saft von gepresster grüner Luzerne 2002 (02/04) – Produkt (02/05)

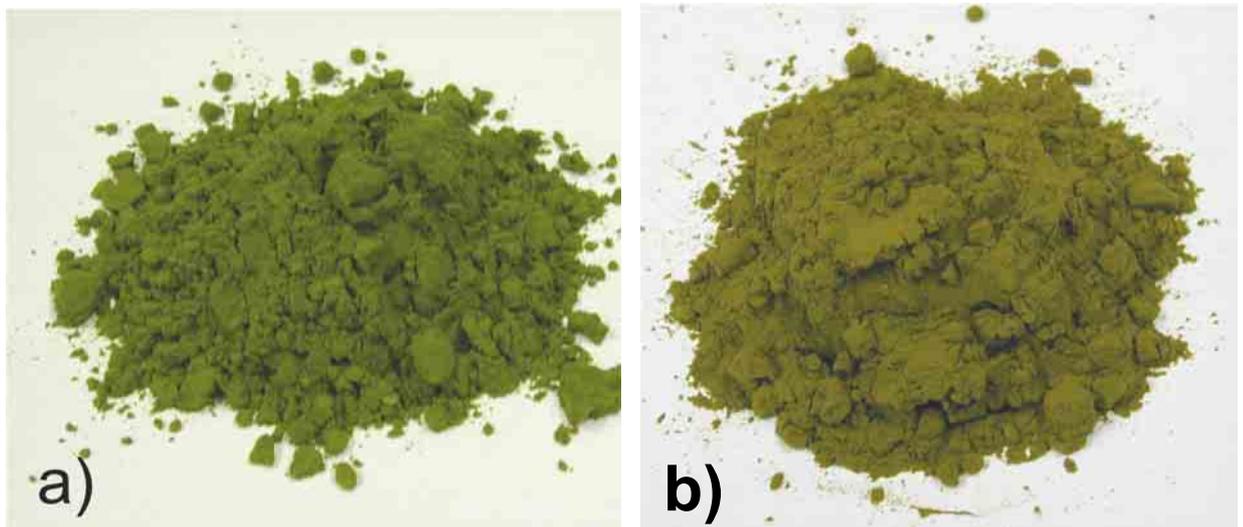


Abb. 90: Proteinkonzentrat aus Grünen Säften (Ultrafiltration) – sprühgetrocknet („abpackfertig“) – a) Luzerne (02/05); b) Bastardraygras (02/11) (Foto: Kornberg Institut)

1.2 Gefriertrocknung

Die Produkte, die durch Koagulation und Zentrifugation gewonnen wurden, wurden gefriergetrocknet, da nicht genügend Menge für den Sprühtrockner erzeugt werden konnte.

Es zeigte sich, dass zur Trocknung 2 Durchgänge im Lyophilisator notwendig sind und im zweiten Durchgang die Becheröffnung mit einem luftdurchlässigen Tuch abgedeckt werden muss um ein Austreten von Konzentratstaub zu verhindern. In einem Durchgang kann der Inhalt von 4 Bechern getrocknet werden.

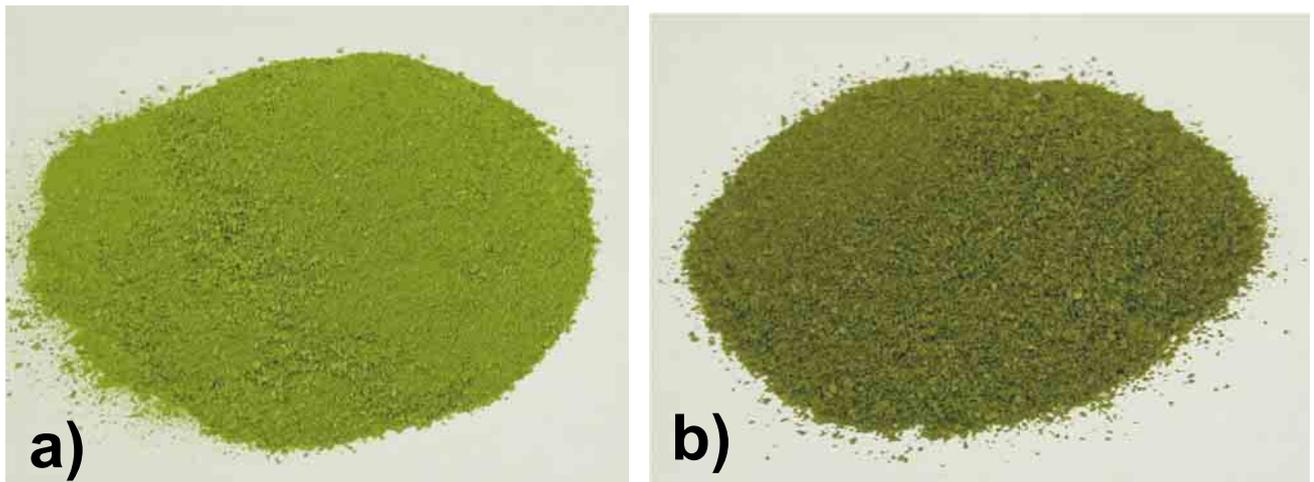


Abb. 91: Lyophilisiertes Proteinkonzentrat aus Grassäften (Hitzeokoagulation/Zentrifugation) – a) Luzerne (02/07); b) Bastardraygras (02/14) (Fotos: Kornberg Institut)

Die Beispiele in Abb. 91 zeigen, dass durch die Gefriertrocknung lediglich ein relativ grobkörniges Produkt gewonnen werden kann. Dieses Produkt müsste vor dem Verkauf einer Mahlung unterzogen werden.

2 Löslichkeit getrockneter Proteinkonzentrate aus Grassäften

Neben der Zusammensetzung und Hygiene eines Proteinproduktes ist der physikalische Parameter „Löslichkeit“ sicherlich der wichtigste Qualitätsfaktor. Milchaustauscherfutter Pulver müssen nach dem anrühren durch den Landwirten mit warmem Wasser (ca. 35° C) eine stabile (ca. ein bis zwei Stunden) Suspension ergeben. Nur so kann eine optimale Aufnahme durch Kälber erreicht werden und die Akzeptanz für ein derartiges Produkt geschaffen werden.

Als Methode wurde der ADPI Standard (American Dairy Products Institute Bulletin) 916- Revised gewählt. Diese Methode stellt den weltweiten Standard für die Bewertung von Milch- und Molkepulvern dar. Die Löslichkeit von Milchpulvern ist ebenfalls ein sehr wichtiger Faktor, da wenig lösliche Pulver Probleme bei der Weiterverarbeitung auslösen können. Die wesentlichen Einflussfaktoren für die Löslichkeit von Milchpulvern sind der Gehalt an Milchsäure und die Trocknungsbedingungen.

Die Löslichkeit wird dadurch gemessen, dass das entsprechende Pulver in Wasser aufgelöst wird und nach einer Rastzeit von 15 Minuten wird die Lösung zentrifugiert. Nach

der Zentrifugation wird das Sediment im Zentrifugationsröhrchen als Löslichkeitsindex gemessen (in ml).

Nachdem in Milchaustauschfutter immer auch eine gewisse Menge Magermilchpulver bzw. Molkenpulver enthalten ist wurde dieser Standard für die Proteinkonzentrate aus Grassäften angewandt. Die Löslichkeit wurde mit gängigen Milchaustauscherfuttern der Fa. LactoProt verglichen.

Hier werden die Ergebnisse sowohl für hitzeokoagulierte Produkte als auch für ultrafiltrierte Produkte des Jahres 2002 dargestellt.

Tab. 31 Löslichkeitsindex ausgewählter Proteinkonzentrate aus grünen Grassäften im Vergleich zu Handelsprodukten

Produkt	Verarbeitungsart	Löslichkeitsindex [ml]
Bastardraygras (02/14)	koaguliert/gefriergetrocknet	30
Bastardraygras (02/11)	ultrafiltriert/sprühgetrocknet	13
Luzerne (02/07)	koaguliert/gefriergetrocknet	18
Luzerne (02/05)	ultrafiltriert/sprühgetrocknet	9
Taumil 16/0	fertiger Milchaustauscher	3,5
Taumil 18/50	fertiger Milchaustauscher	3,0
Mirimi SFR 17	fertiger Milchaustauscher	2,5
Mirimi GVA 40	fertiger Milchaustauscher	3,0

Der Vergleich der Löslichkeitsindizes zeigt sehr deutlich den Unterschied zwischen hitzeokoaguliertem und ultrafiltriertem Proteinkonzentrat. Wenn man annimmt, dass die Gefrier Trocknung das schonendere Verfahren ist so ist eindeutig festzustellen, dass durch die Ultrafiltration das Produkt geschont wird und die Löslichkeit wesentlich besser erhalten bleibt als bei der Hitzeokoagulation.

Die Unterschiede zu den handelsüblichen Milchaustauscherprodukten könnte daran liegen, dass durch die Mischung der Zutaten (z.B. Molkepulver, Pflanzenfett und Sojaprotein) eine gegenüber dem reinen Proteinkonzentrat bessere Löslichkeit entsteht.

Die Weiterentwicklung vom Proteinkonzentrat in ein fertiges Milchaustauschfutter kann allerdings erst dann erfolgen, wenn Fütterungsversuche durchgeführt werden können. Dazu bedarf es allerdings bereits einer Pilotanlage und dem prinzipiellen Nachweis der Wirtschaftlichkeit. Es kann aber davon ausgegangen werden, dass die Löslichkeit durch die Auswahl der weiteren Zutaten zumindest für ein ultrafiltriertes Proteinkonzentrat entsprechend angepasst werden kann.

3 Mikrobiologische Aspekte eines Proteinkonzentrats aus Grassäften

Nachdem Futtermittel heute zum Teil strengere Auflagen erfüllen müssen als Lebensmittel und der Bereich „Fütterung von Jungtieren (Kälbern)“ kritisch ist, da das Immunsystem der Tierbabys noch nicht optimal ausgeprägt ist spielen die Hygieneaspekte eine entscheidende Rolle.

Hier ergeben sich im Bereich Hitzekoagulation bei 85 bis 90° C weniger Probleme. Allerdings könnte sich bei der Ultrafiltration ein Konflikt zwischen Keimfreiheit und Löslichkeit ergeben.

Im Rahmen dieses Projekts wurde exemplarisch eine Probe aus der Ultrafiltration näher untersucht, um eine Basis für theoretische Überlegungen und die Planung einer Pilotanlage zu erhalten. Als Probe wurde das sprühgetrocknete Produkt aus der Mischung Dauerwiese und Bastardraygras herangezogen (01/28).

Eine Untersuchung dieser sprühgetrockneten nicht pasteurisierten Probe auf relevante Keime bzw. Pilze im analytischen und mikrobiologischen Labor der Firma LactoProt in Pasching bei Linz ergab folgende, die in Abb. 92 dargestellten Ergebnisse.

METHODE:		
Aerobe mesophile Gesamtkeime:		ÖNORM N 2504
Enterobacteriaceae:		§ 35 LMGB 05.00-5: 1990
Coliforme:		PA 09E011
Hefen und Schimmel:		IMV 94 B: 1990
Sulfidreduzierende Clostridien:		PA 09E050
BEURTEILUNG DER PROBE:		
	Gesamtkeimzahl (GKZ)	>30.000.000/g
	Enterobacteriaceae	>10 und <100/g
	Coliforme	>10 und <100/g
	Hefen und Schimmel	90/g
	Sulfidreduzierende Clostridien	40/g

Abb. 92: Ergebnis der mikrobiellen Untersuchung der sprühgetrockneten Produktprobe (01/28) (Fa. LACTOPROT AG)

Bei dieser Probe sind einige ungünstige Bedingungen zu berücksichtigen. Der Saft wurde vor der Lagerung in einem Gefrierhaus einen Tag bei 4 bis 0°C gelagert. Während der Auftauprozedur (bis zu 15 Stunden) kann es ebenfalls zu mikrobiellem Wachstum kommen. Weiters kam es zwischen Ultrafiltration und Sprühtrocknung zu weiteren Verzögerungen durch Transport.

Dennoch müsste für eine weitere Produktentwicklung eine Methode zur Entkeimung des Produkts gefunden werden, die durch Ultrafiltration gewonnenen Vorteile (Löslichkeit) nicht wieder zunichte macht.

Insgesamt ist allerdings klar, dass in Problem mit dem mikrobiellen Wachstum durch die durchschnittliche Verweilzeit in der Ultrafiltrationsanlage existiert. Sollwerte für die obigen Kennzahlen bei pasteurisierten Produkten sind laut Frau DI Friedl (LactoProt Pasching):

GKZ	>50.000/g
Enterobacteriaceae	<10/g
Coliforme	<10/g
Hefen	<50g
Schimmel	„weniger“
Sulfidreduzierende Clostridien	<10/g

3.1 Mikrofiltration zur Entfernung pathogener Keime

Als produktschonender Lösungsansatz wurde untersucht, inwieweit Mikrofiltration eine Abtrennung der Keime ermöglichen könnte. In einem Ultrafiltrationsversuch mit grünem Presssaft aus Bastardraygras 3.Schnitt (01/30) wurde 5 Liter Proteinkonzentrat aus 36 Litern Proteolyse gewonnen. Um ein zu erwartendes Bakterienwachstum zu verhindern wurde dieses Konzentrat mikrofiltriert (MWCO 400 kD) um Mikroorganismen abzutrennen.

Eine Untersuchung der Fraktionen mittels Trockenmasse- und Kjeldahlanalytik zeigte, dass der Versuch fehlschlug, da bei der Mikrofiltration neben den eventuellen Mikroorganismen auch die gesamte Proteinfraction als Retentat abgetrennt wurde. Das Permeat der Mikrofiltration entsprach dem der Ultrafiltration.

Mikrofiltration scheint daher nicht geeignet um Mikroorganismen von Proteinen abzutrennen.

3.2 Weitere Möglichkeiten zur Entfernung von Mikroorganismen

Mit der steigenden Verwendung von funktionalen (bioaktiven) pflanzlichen Substanzen steigt auch der Bedarf an Verfahren zur produktschonenden Entkeimung von Lebens- und Futtermitteln. Eine Methode der Wahl könnte die Pascalisierung sein, wo eben nicht, wie bei der Pasteurisation oder Sterilisation mit Dampf gearbeitet wird, sondern Keime lediglich mit Druck zerstört werden.

Als weitere Möglichkeit werden immer häufiger Anlagen errichtet, die eine Entkeimung mittels UV-Strahlen ermöglichen (z.B. Trinkwasseraufbereitung und aseptische Verpackung).

Im Rahmen dieses Projekts konnten allerdings keine derartigen praktischen Versuche durchgeführt werden. Diese sollten allerdings vor der Errichtung einer Pilotanlage unbedingt erfolgen.

4 Eignung von Proteinkonzentraten aus Grassäften für Milchaustauscher aufgrund ihrer Zusammensetzung

Ein wesentliches Ergebnis des Projektes ist die Tatsache, dass aus Silagesäften mit den vorgeschlagenen Methoden kein Proteinprodukt zu gewinnen ist. Allerdings konnten im Laufe des Projekts durch Optimierung der gesamten Produktionskette Proteinkonzentrate aus grünen Säften hergestellt werden, die dem Referenzprodukt der Fa. France Luzerne entsprechen (Tab. 32).

Tab. 32 Proteinkonzentrate aus Grassäften, die im Laufe des Projekts erzeugt wurden

Probennummer	Ausgangsrohstoff	Abtrennung	Trocknung	Rohprotein i.d.TM, [%]	Zucker/org. Säuren i.d.TM, [%]	Asche i.d.TM, [%]
01/13	Dauerwiese 1.Schnitt	Ultrafiltration, 15 kD, Faktor 5,2	keine	16,6	21,8	9,8
01/34	Bastardraygras 3.Schnitt	Ultrafiltration, 50 kD, Faktor 11,8	keine	38,8	22,4	14,0
01/32	Bastardraygras 3.Schnitt	Ultrafiltration, 15 kD, Faktor 5,1	keine	33,3	32,4	17,6
01/11	Dauerwiese 1.Schnitt	Koagulation, Zentrifuge	Gefriertrocknung	31,9	8,2	12,8
01/28	Bastardraygras 3.Schnitt/ Dauerwiese 1.Schnitt	Ultrafiltration, 15 kD, Faktor 5,15	Sprühtrocknung	27,8	22,4	11,9
01/22	Kleegras 2.Schnitt	Ultrafiltration, 15 kD, Faktor 4,9	keine	38,8	22,5	17,3
01/26	Kleegras 2.Schnitt	Koagulation, Zentrifuge	Gefriertrocknung	51,0	10,2	11,6
02/14	Bastardraygras 2. Schnitt	Koagulation, Zentrifuge	Gefriertrocknung	46,3	-	13,2
02/11	Bastardraygras 2. Schnitt	Ultrafiltration, 15 kD, Faktor 7,1	Sprühtrocknung	27,6	-	10,7
02/07	Luzerne 1. Schnitt	Koagulation, Zentrifuge	Gefriertrocknung	40,1	-	15,6
02/05	Luzerne 1. Schnitt	Ultrafiltration, 15 kD, Faktor 6,4	Sprühtrocknung	46,1	12,3	13,0

Von besonderer Bedeutung für den Einsatz der Proteinkonzentrate im Futtermittelbereich ist das Aminosäurespektrum.

Proteine bestehen aus 20 verschiedenen L-Aminosäuren, die über Peptidbindungen miteinander verknüpft sind. Proteine werden im Körper in ihre Bestandteile, die Aminosäuren, zerlegt. Diese dienen als Ausgangsstoffe für die eigene Zellsubstanz (eigene Enzyme, Strukturproteine, Transportproteine, Immunoproteine etc.). Einige der Aminosäuren können vom Körper nicht selbst aufgebaut werden und müssen diesem mit der Nahrung zugeführt werden (essentielle Aminosäuren).

Die essentiellen Aminosäuren sind Valin, Leucin, Isoleucin, Phenylalanin, Tryptophan, Methionin, Threonin, Histidin, Lysin und (Arginin).

Die biologische Wertigkeit eines Proteins (g gebildetes Körperprotein pro 100 g Nahrungsprotein) wird durch den absoluten Gehalt an essentiellen Aminosäuren bestimmt, aber auch durch das Mengenverhältnis der essentiellen Aminosäuren zueinander und zu den nicht essentiellen Aminosäuren, sowie durch Faktoren wie Verdaulichkeit und Verfügbarkeit.

Zur Bestimmung der biologischen Wertigkeit gibt es mehrere in vivo und in vitro Methoden (Belitz 2001).

Die "Biologische Wertigkeit- BW" beruht auf dem Prinzip des Ersatzes von körpereigenem Protein nach einer proteinfreien Diät einer Testperson. Die Ermittlung des "Net Protein Utilization – NPU“ beruht auf dem selben Prinzip und erfolgt im Tierversuch. Der für ein Futtermittel wohl am aussagekräftigste Index ist die "Protein Efficiency Ratio - PER". Die PER errechnet sich aus dem Verhältnis Gewichtszunahme eines Versuchstieres zu verfügbares Protein.

Tab. 33 Biologische Wertigkeit einiger Nahrungsproteine nach verschiedenen Methoden (Belitz 2001)

Protein aus	BW	NPU	PER	limitierende AA
Hühnerei	94	93	3,9	
Kuhmilch	84	81	3,1	Met
Fisch	76	80	3,5	Thr
Rindfleisch	74	67	2,3	Met
Kartoffeln	73	60	2,6	Met
Sojabohnen	73	61	2,3	Met
Reis	64	57	2,2	Lys, Trp
Bohnen	58	38	1,5	Met
Weizenmehl-weiß	52	57	0,6	Lys, Thr

Da alle Proteine aus den gleichen proteinogenen Aminosäuren zusammengesetzt sind, liegt die Ursache für die Qualitätsunterschiede in der prozentualen Zusammensetzung der einzelnen Aminosäuren. Aus diesem Grund ist neben der Angabe des Proteingehalts die Aminosäurezusammensetzung für die Beurteilung von großer Bedeutung. Die in geringster Konzentration vorliegende essentielle Aminosäure - auch die limitierende Aminosäure genannt - bestimmt den Wert des gesamten Proteins. Die im Futtermittel am

häufigsten auftretenden limitierenden Aminosäuren sind Methionin, L-Lysin, L-Threonin, und L-Tryptophan (in der Reihe ihrer Wichtigkeit). Durch Zugabe dieser Aminosäuren kann das Defizit ausgeglichen und die gesamte Wertigkeit der des Proteins verbessert werden (Supplementierung).

Es wurden von allen relevanten Proben die Proteine hydrolysiert und die Aminosäuren gemessen. Da es sich aber um sehr aufwendige Analytik handelt wurden generell nur 16 Aminosäuren bestimmt. Nur von ausgewählten Proben konnten aufgrund des finanziellen Aufwandes auch die restlichen proteinogenen Aminosäuren bestimmt werden (Abb. 93 und 94; Tab. 34). Aus den gewonnenen Daten kann sehr gut extrapoliert werden. Die Menge der Aminosäuren entspricht in etwa dem Rohprotein. Im Gegensatz zum Ausgangssaft, wo nur ca. 50 bis 70 % des gemessenen Rohproteins auch Aminosäuren sind, wird dieses Verhältnis bei dem Konzentrierungsvorgang auf ca. 100 % verschoben. D.h. diese Ergebnisse sind wiederum kongruent mit den Lowry Messungen (vgl. Povoden 2002).

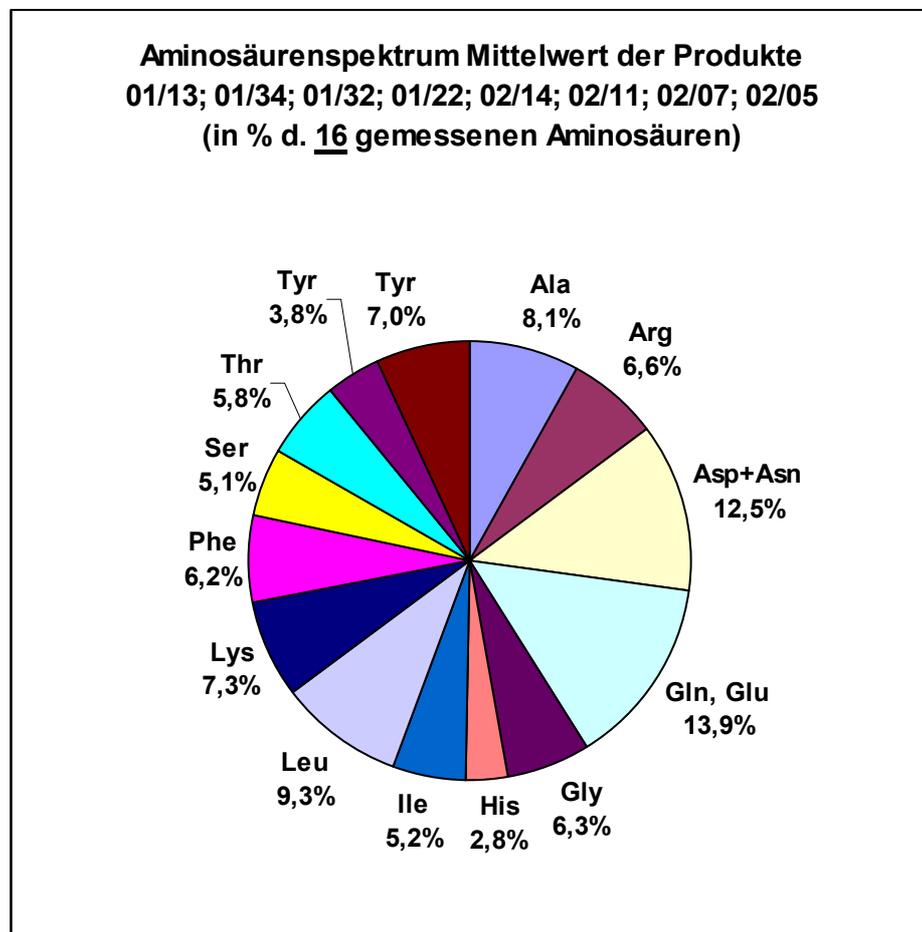


Abb. 93: Aminosäurespektrum Mittelwert der Produkte 01/13; 01/34; 01/22; 02/14; 02/11; 02/07; 02/05 (in % d. 16 gemessenen Aminosäuren)

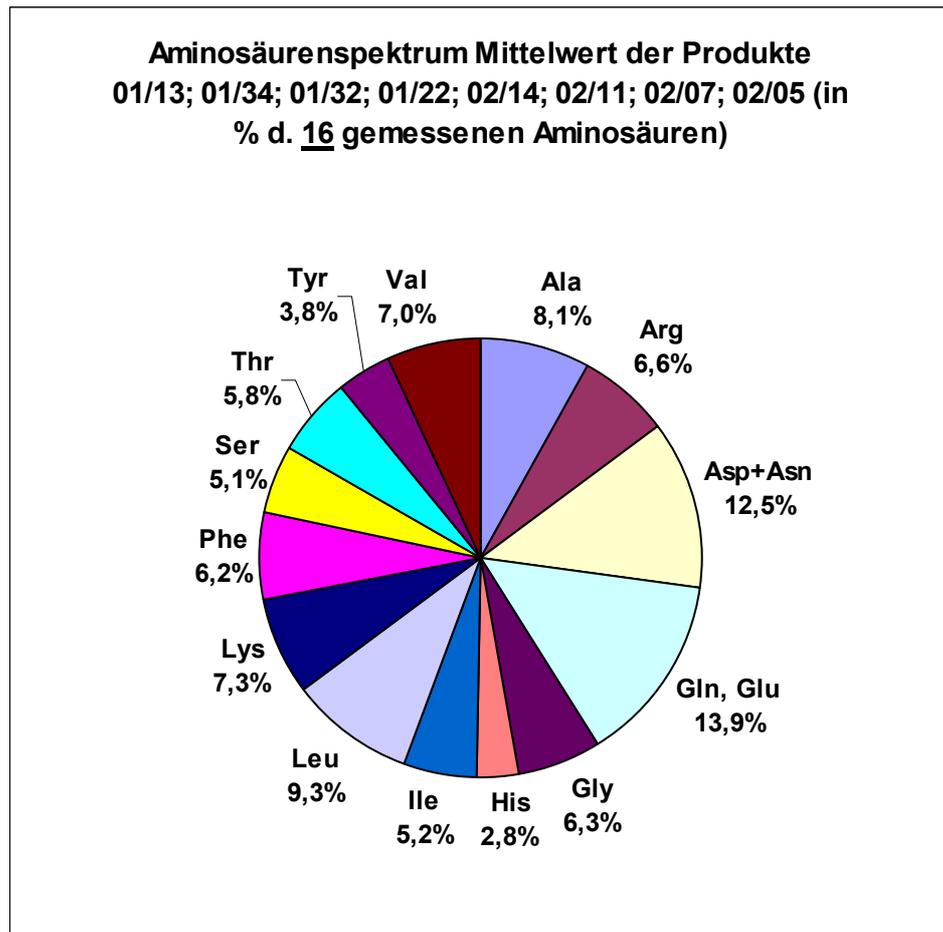


Abb. 94: Aminosäurespektrum Mittelwert der Produkte 01/11; 01/28; 01/26
(in % d. 16 gemessenen Aminosäuren)

Tab. 34 Aminosäurenspektrum der Proteinkonzentrate aus grünem Grassaft

Nr. (Jahr, Nummer)	Summe 16 AA hydr., [g/L]	Summe 20 AA hydr., wenn gem. [g/L]	Ala	Arg	Asp+Asn	Cys	Gln, Glu	Gly	His	Ile	Leu	Lys	Met	Phe	Pro	Ser	Thr	Trp	Tyr	Val	
01/13	26,0	-	8,7%	5,9%	12,2%	-	13,7%	7,0%	2,9%	5,2%	9,2%	7,0%	-	6,1%	-	5,6%	6,2%	-	2,9%	7,1%	
01/34	66,7	-	8,5%	6,7%	11,9%	-	13,4%	7,0%	3,2%	5,2%	9,1%	7,2%	-	6,2%	-	5,3%	6,0%	-	3,4%	7,1%	
01/32	41,1	-	9,1%	6,3%	12,3%	-	14,0%	6,9%	2,8%	5,0%	8,8%	7,4%	-	5,9%	-	5,3%	6,0%	-	3,1%	7,0%	
01/22	29,1	-	8,8%	5,8%	12,2%	-	13,7%	6,6%	2,8%	5,2%	9,5%	6,9%	-	6,1%	-	5,2%	6,1%	-	4,1%	7,0%	
02/14	376,1	-	7,5%	7,4%	11,2%	-	14,2%	5,8%	2,7%	5,3%	9,7%	7,6%	-	6,6%	-	4,8%	5,6%	-	4,4%	7,0%	
02/11	195,0	-	8,2%	6,7%	12,0%	-	15,2%	6,1%	2,5%	5,2%	9,3%	7,3%	-	6,1%	-	4,9%	5,6%	-	3,8%	7,2%	
02/07	303,4	-	6,8%	7,0%	14,7%	-	13,4%	5,3%	2,7%	5,4%	9,6%	7,3%	-	6,2%	-	4,9%	5,5%	-	4,5%	6,6%	
02/05	326,4	-	7,0%	6,9%	13,7%	-	13,4%	5,6%	2,9%	5,3%	9,6%	7,4%	-	6,4%	-	4,9%	5,6%	-	4,5%	6,8%	
Mittel 1			8,1%	6,6%	12,5%		13,9%	6,3%	2,8%	5,2%	9,3%	7,3%		6,2%		5,1%	5,8%		3,8%	7,0%	
Standardabw.			0,008	0,005	0,011		0,006	0,007	0,002	0,001	0,003	0,002		0,002		0,003	0,003		0,006	0,002	
01/11	-316,1	6,9%	6,3%	10,4%	1,0%	12,9%	5,7%	2,7%	4,9%	8,8%	6,3%	2,3%	5,7%	4,7%	4,8%	5,2%	1,8%	3,3%	6,3%		
01/28	-245,9	7,6%	5,7%	10,9%	1,6%	12,0%	6,1%	2,6%	4,8%	8,2%	6,1%	2,1%	5,5%	5,5%	4,8%	5,4%	1,9%	2,9%	6,5%		
01/26	-490,8	6,7%	6,7%	9,9%	1,1%	12,0%	5,7%	2,6%	5,0%	8,8%	6,7%	2,6%	5,8%	4,9%	4,2%	5,0%	2,2%	3,6%	6,6%		
Mittel 2			7,1%	6,2%	10,4%		1,2%	12,3%	5,8%	2,6%	4,9%	8,6%	6,3%	2,3%	5,7%	5,0%	4,6%	5,2%	2,0%	3,2%	6,4%
Standardabw.			0,005	0,005	0,005	0,003	0,005	0,002	0,001	0,001	0,004	0,003	0,003	0,002	0,004	0,004	0,002	0,002	0,004	0,001	

Blattprotein ist besonders reich an den essentiellen Aminosäuren Leu, Ile, Val, Thr und Trp und könnte einen ähnlichen Effekt wie Kartoffeleiweiß erzielen.

Viele sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe, die charakteristisch für Leguminosensamen (z.B. Sojabohne) sind, sind bei Blattproteinkonzentraten nicht bekannt.

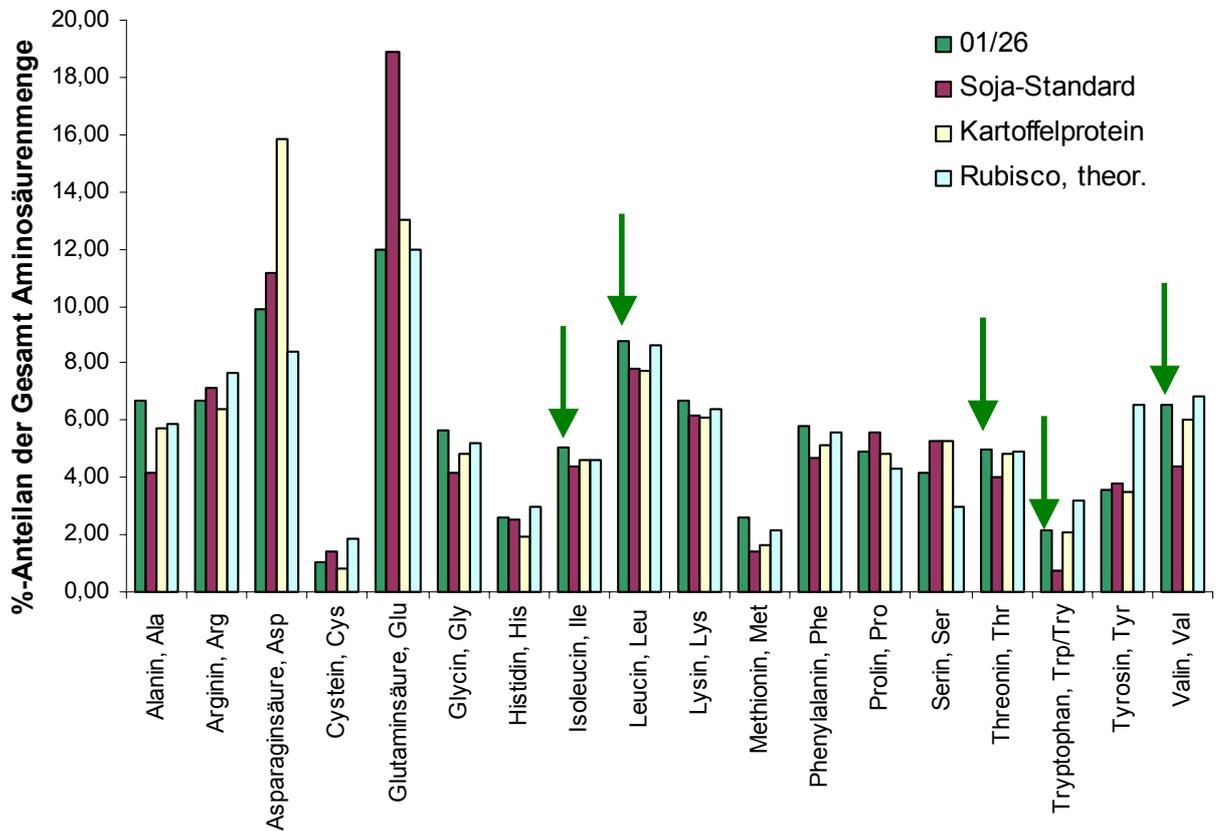


Abb. 95: Aminosäureprofil eines Blattproteinkonzentrats 01/26 im Vergleich zu Soja und Kartoffelprotein und dem Spektrum von Rubisco

Proteinkonzentrate aus grünem Grassaft sind allerdings reich an Asche und vor allem an monomeren Zuckern, wie Fructose. D.h. für das Kalb unverdauliche Zucker könnten Probleme (Durchfall, siehe oben) erzeugen. Auf jeden Fall sind Fütterungsversuche notwendig, für die allerdings die Produkte im Pilotanlagenmaßstab erzeugt werden müssten.

Der Einsatz von Blattproteinkonzentraten auf Basis der dargestellten Konzentrate als zusätzliche Protein (Aminosäuren)- quelle ist auf Grund des speziellen Aminosäureprofils sinnvoll. Verglichen mit Sojaproteinen kann mit einer höheren biologischen Wertigkeit des Milchaustauscherfutters gerechnet werden. Eindeutige Aussagen, insbesondere zur Verträglichkeit der monomeren Zucker, sind erst nach Fütterungsversuchen zuverlässig zu tätigen.

4.1 Exkurs: Aminosäurenprofil in Silagesäften

Die Ergebnisse des Projekts führen zwar zu dem Ergebnis, dass aus Silagesaft kein Proteinkonzentrat mit den vorgeschlagenen Technologien gewonnen werden kann, allerdings zeigen die Säfte ein wertvolles Aminosäurenprofil, wobei die meisten Aminosäuren als freie Aminosäuren vorliegen (vgl. Anhang H). Gezeigt werden hier Säfte aus den optimalsten Silagen der Jahre 2001 und 2002 (Abb. 97 und Tab. 35).

Im Gegensatz zum Grünen Presssaft zeigt der Silagesaft, dass das gemessene Rohprotein annähernd deckungsgleich mit den gemessenen Aminosäuren ist (ca. 90 %) (Abb. 96). Als freie Aminosäuren wurden in Saft 01/63 (Bastardraygras, 3. Schnitt, Jahr 2001) 76 % der gesamten (hydrolysierten) Aminosäuren gemessen.

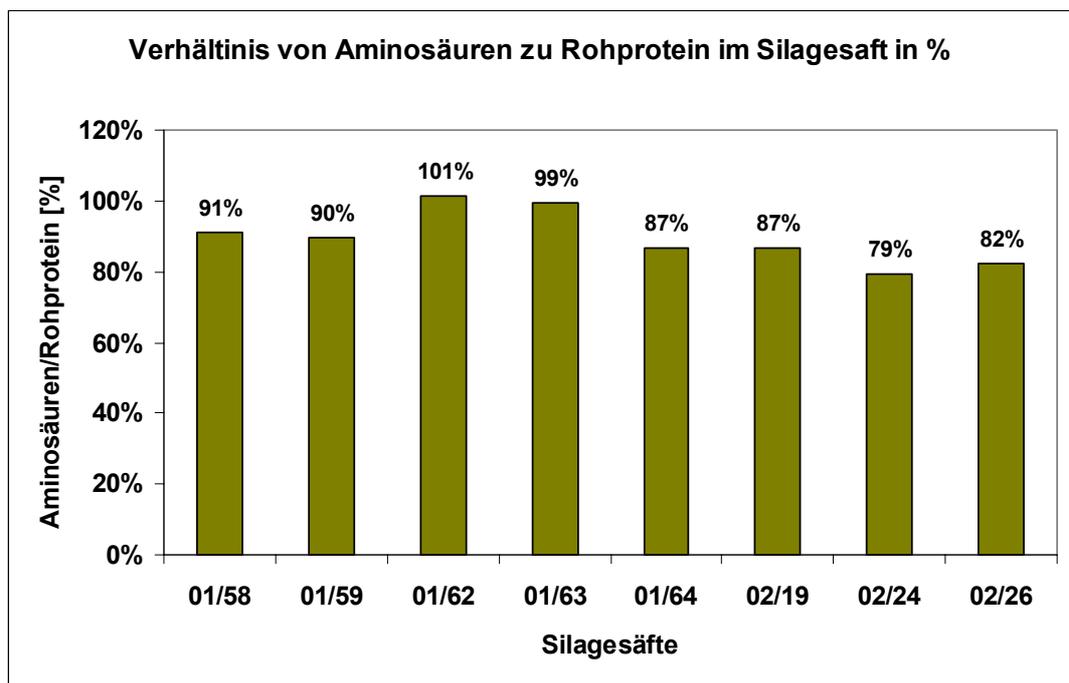


Abb. 96: Verhältnis von Aminosäuren zu Rohprotein gemessen in den Silagesäften 01/58; 01/59; 01/62; 01/63; 01/64; 02/19; 02/24; 02/26

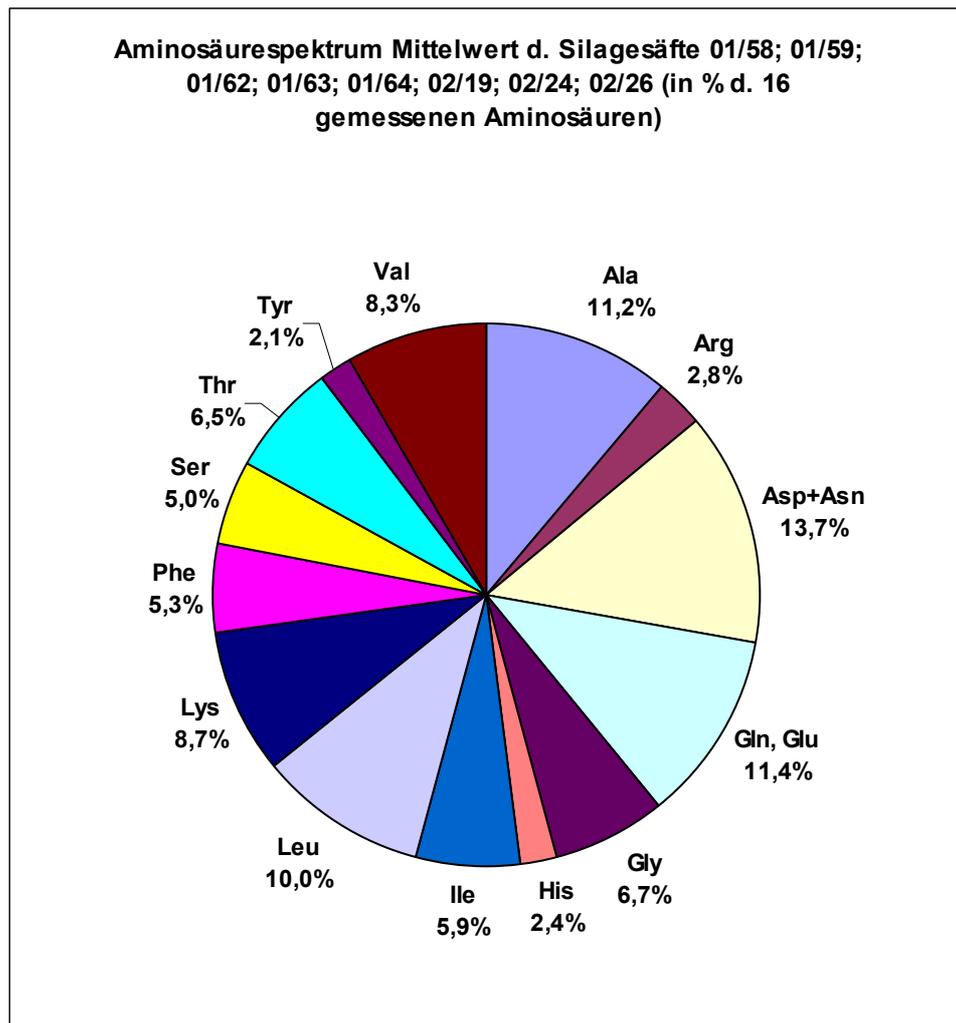


Abb. 97: Aminosäurespektrum in % der 16 gemessenen Aminosäuren als Mittelwert ausgewählter Silagepresssäfte der Jahre 2001 und 2002 (01/58; 01/59; 01/62; 01/63; 01/64; 02/19; 02/24; 02/26)

Tab. 35 Aminosäurespektrum ausgewählter Silagepresssäfte der Jahre 2001 und 2002

Nr. (Jahr, Nummer)	Summe 16 AA hydr., [g/L]	Ala	Arg	Asp+Asn	Cys	Gln, Glu	Gly	His	Ile	Leu	Lys	Met	Phe	Pro	Ser	Thr	Trp	Tyr	Val
01/58	38,1	10,7%	3,0%	13,4%	-	11,3%	6,9%	2,2%	5,8%	9,8%	9,4%	-	4,8%	-	5,0%	6,7%	-	2,7%	8,4%
01/59	38,5	10,7%	3,0%	13,3%	-	11,1%	7,0%	2,2%	5,8%	9,7%	9,6%	-	4,8%	-	5,0%	6,7%	-	2,7%	8,4%
01/62	29,8	10,8%	4,9%	12,3%	-	11,0%	7,0%	2,5%	5,8%	9,8%	8,7%	-	5,2%	-	5,1%	6,1%	-	2,7%	8,1%
01/63	30,5	11,2%	3,0%	12,6%	-	10,9%	7,1%	2,5%	5,8%	10,0%	9,2%	-	5,5%	-	4,7%	6,3%	-	3,0%	8,1%
01/64	22,6	11,2%	4,8%	13,0%	-	11,2%	6,6%	1,9%	5,5%	9,4%	9,0%	-	4,6%	-	5,4%	6,6%	-	2,5%	8,2%
02/19	22,1	11,9%	1,4%	13,7%	-	11,8%	6,4%	2,5%	6,2%	10,5%	8,6%	-	5,8%	-	5,2%	6,6%	-	1,1%	8,3%
02/24	20,9	11,4%	1,2%	14,7%	-	11,7%	6,4%	2,5%	6,1%	10,6%	8,8%	-	6,0%	-	4,7%	6,4%	-	1,0%	8,5%
02/26	20,1	11,4%	0,9%	17,0%	-	11,9%	6,2%	2,5%	6,4%	10,7%	6,4%	-	5,6%	-	5,2%	6,4%	-	0,8%	8,5%
Mittelwert		11,2%	2,8%	13,7%	-	11,4%	6,7%	2,4%	5,9%	10,0%	8,7%	-	5,3%	-	5,0%	6,5%	-	2,1%	8,3%
Standardabw.		0,004	0,015	0,015	-	0,004	0,003	0,002	0,003	0,005	0,010	-	0,005	-	0,002	0,002	-	0,009	0,002

Das Aminosäurespektrum der grünen Proteinkonzentrate und des Silagesaftes weisen sehr große Ähnlichkeit auf. Dies bedeutet, dass im wesentlichen jene Proteine, die aus dem grünen Saft abgetrennt werden nun hydrolysiert im Silagesaft vorliegen. Es werden demnach durch die Silierung keine „untypischen“ Proteine freigesetzt (siehe auch Anhang H).

Anhang G

Technische Auslegung einer Ultrafiltrationsanlage für eine Grüne Bioraffinerie

Wie die Versuche zeigen könnte die Gewinnung eines Futtermittel Proteinproduktes aus Grünen Säften mittels Ultrafiltration durchgeführt werden. In diesem Kapitel werden daher die Auslegungsparameter festgelegt, die dann Basis der wirtschaftlichen Bewertung sein werden.

1 Druck, Überströmgeschwindigkeit und Rückhaltung

1.1 Druck als Auslegungsparameter einer Ultrafiltrationsanlage

Tab. 36 zeigt die unterschiedlichen Drücke, die in den Experimenten zur Anlagenauslegung angewandt wurden.

Tab. 36 Druckparameter zur Auslegung einer Ultrafiltrationsanlage zur Gewinnung von Proteinen aus grünen Gras-Säften

	p_{Ein} , [bar]	p_{Aus} , [bar]	p_{TM} , [bar]	Δp , [bar]
1	4,00	2,38	3,19	1,62
2	4,08	2,28	3,18	1,80
3	3,01	1,49	2,25	1,52
4	4,99	3,18	4,09	1,81

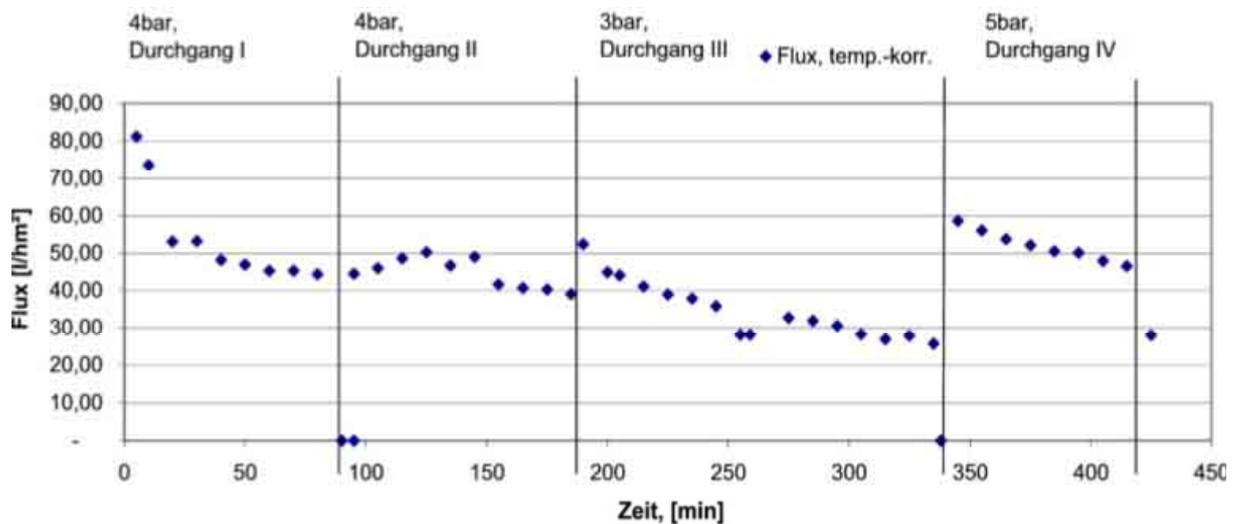


Abb. 98: Fluxverlauf bei Variation des Eingangsdrucks (beim letztem Messpunkt bei Minute 425 sank der Flux auf Grund des zu geringen Kreislaufvolumens)

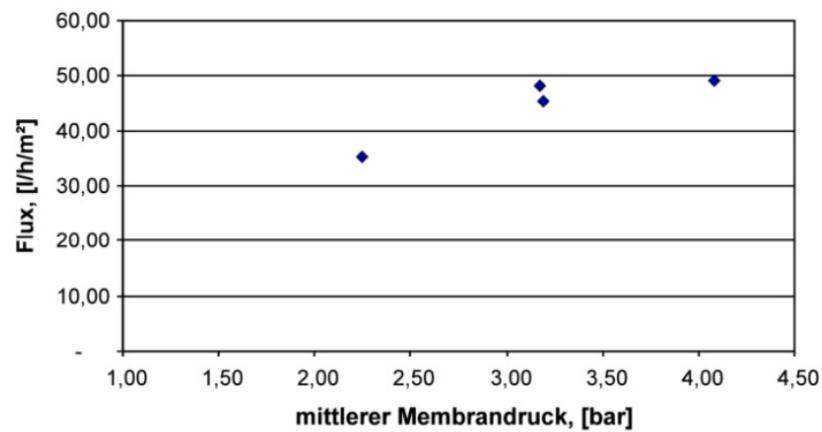


Abb. 99: Der Flux bei einem Konzentrationsfaktor von 3 abhängig vom mittleren Membrandruck

1.2 Überströmgeschwindigkeit

Per Pumpen- und Drosselventilregelung wurde der Eingangsdruck auf 4 bar konstant gehalten und die Überströmgeschwindigkeit variiert. Dabei ist zu beachten, dass der mittlere Membrandruck nicht konstant ist. Zwischen den einzelnen Durchgängen wurde die Membran nicht gereinigt.

Tab. 37 Druck- und Geschwindigkeitsverhältnisse gemessen zur Auslegung einer Anlage für die Abtrennung eines Proteinprodukts aus grünen Gras-Säften (u...Überströmgeschwindigkeit)

	p_{Ein} , [bar]	p_{Aus} , [bar]	p_{MT} , [bar]	Δp , [bar]	u , [m/s]
1	4,00	2,43	3,22	1,57	4,14
2	4,00	1,84	2,92	2,16	5,02
3	4,00	3,16	3,58	0,84	2,82
4	4,05	3,63	3,84	0,42	1,92

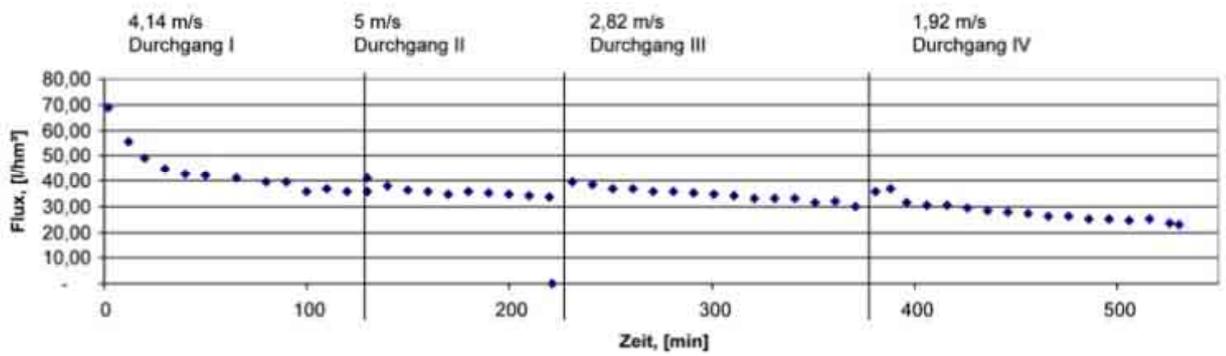


Abb. 100: Fluxverlauf in Abhängigkeit der Überstromgeschwindigkeit

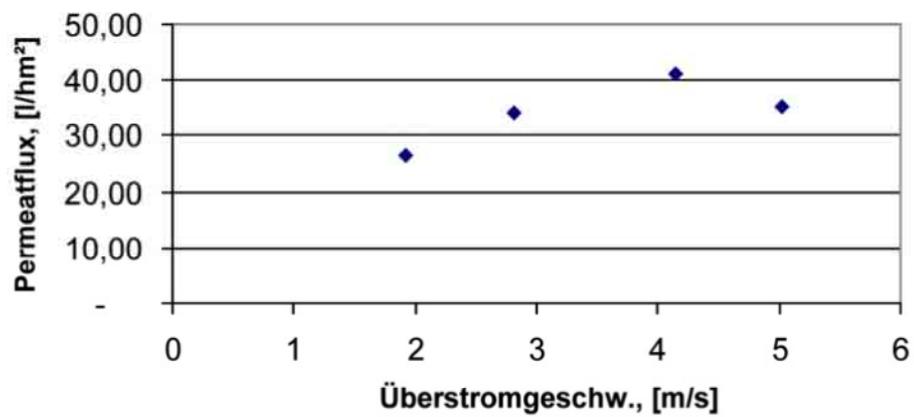


Abb. 101: Permeatflux in Abhängigkeit der Überstromgeschwindigkeit

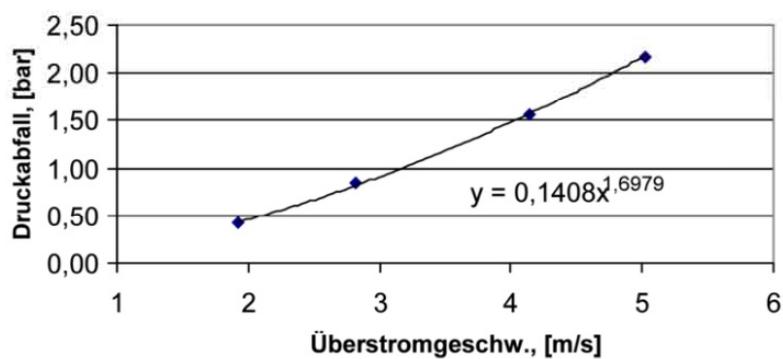


Abb. 102: Druckabfall in Abhängigkeit der Überstromgeschwindigkeit

1.3 Rückhaltung bei verschiedenen MWCO

Es wurde jeweils ein Durchgang mit einer 50 kD Membran und einer 15 kD Membran gefahren. Das Permeat des ersten Durchgangs wurde für einen dritten Durchgang mit einer 1 kD Membran verwendet.

Tab. 38 Rückhaltung der einzelnen Fraktionen in Abhängigkeit des MWCO. Der Bilanzfehler gibt an, wie groß die Differenz zwischen der Masse des Stoffes X in Feed minus den Massen des Stoffes X in Permeat und Retentat bezogen auf den Feedanteil ist.

	50 kD	15 kD
Rückhaltung Trockenmasse	15,8%	16,2%
Rückhaltung Rohprotein	37,7%	33,6%
Rückhaltung Aminosäuren	42,5%	44,1%
Rückhaltung Rest	9,5%	11,2%
Bilanzfehler Trockenmasse	-1,9%	2,5%
Bilanzfehler Rohprotein	-6,4%	5,8%
Bilanzfehler Aminosäuren	-2,9%	8,9%

Berechnet aus Ausgangssaft Bastardraygras 3.S. 2001 (01/29, 01/30) und den Permeaten (01/33, 01/31).

Tab. 39 Rückhaltung an der 1 kD Membran. Als Feed wird das Permeat aus dem 50 kD Durchgang eingesetzt.

	1kD
Rückhaltung TM	9,1%
Rückhaltung CP	-0,5%
Rückhaltung AA	12,4%
Rückhaltung Rest	11,0%
Bilanzfehler TS	-5,2%
Bilanzfehler CP	5,7%
Bilanzfehler AA	-6,5%

Berechnet aus Ausgangssaft Permeat 50 kD (01/33) und Permeat (01/36).

Die Fehler in der Massenbilanz ist kein Beweis für einen Fehler im Versuchsablauf. Auf Grund mehrerer Falschmessungen können sich Fehler in der Massenbilanz (Bilanzfehler) ausgleichen oder verstärken.

2 Auslegung einer Ultrafiltrationsanlage für eine Grüne Bioraffinerie

Ausgehend von der Erkenntnis, dass der als Lowry Protein gemessene Proteingehalt des Safts die abtrennbare Proteinmenge darstellt wurde folgender Zusammenhang entdeckt:

Nur Luzerne hat eine entsprechende Menge an Lowry Protein (ca. 69 % des Rohproteins), die eine Abtrennung sinnvoll macht (vgl. Anhang D und Anhang E).

2.1 Variante 1 : Saft laut Versuch (Probennummer 02/01)

An Hand des UF-Versuchs mit Luzerne (Anhang D, Kapitel 3.5.2) wurde eine tatsächliche Abtrennung von 70 % des Lowry Proteins gemessen. Das Projektteam ist zwar überzeugt, dass bei Optimierung (Kühlung, pH-Wert Anhebung) der Proteinabbau vermindert und die Ausbeute gesteigert werden kann, aber für die Wirtschaftlichkeitsberechnung geht das Team von 70 % aus. Alle weiteren Parameter wurden auf Basis des Versuches ermittelt.

Es wird allerdings von einem gekühlten Saft (< 10° C) ausgegangen. Die Anlage besteht aus zwei Pufferspeichern für Feed mit je 30 m³ Fassungsvermögen und einem Zwischenspeicher für „halbfertiges“ Retentat mit 5 m³. Es werden mit einer Pumpe zwei parallel liegende Kreisläufe beschickt. Die wirtschaftlichste Anordnung sind insgesamt vier Module mit je 99 Membranen. Jede Membran hat eine Filterfläche von 0,35 m². Feed und UF-Kreislauf sind miteinander über eine Dosierpumpe und eine Rückführung vom UF-Kreislauf zum Puffertank bzw. Zwischenspeicher verbunden. Es werden aufgrund des komplexen Rohstoffs keramische Membrane eingesetzt.

**Tab. 40 Auslegungsparameter einer UF-Anlage zu
Abtrennung von Proteinen aus Luzernesaft
– Variante 1 – Saft laut Versuch (02/01)**

Parameter	Wert	Einheit
Permeatflux (Flux)	25	L/h*m ²
Luzernesaftmenge	9884	m ³ /a
TM Luzernesaft	6,85	%
TM-Saft/TM-Luzerne Input	0,151	1
CP in d. TM des Saftes	28,4	%
Lowry Protein i. % d. TM Saft	19,6	%
UF Faktor	8	1
Ausbeute CP in Produkt	54,7	%
CP i.d. TM des Produkts	48,9	%
TM Retentat (vor Trocknung)	17,42	%
Anzahl der Membrane	396	1
Filterfläche gesamt	138,6	m ²
Permeatflux	3465	m ³ /h
Pumpstrom	141,9	l/s
Tagesproduktion	16	h/d
Tage pro Jahr	156	d/a
Stunden pro Jahr	2496	h/a
TM Produkt	89	%
Produkt pro Jahr	242	t/a

Die Produktmenge von 242 t/a entspricht in etwa jener Menge an Proteinkonzentrat, die in Futtermittel der Fa. LACTOPROT AG Eingang finden.

2.1.1 Fraktionierung der Luzerne (B02/08)

Dieser Abpressversuch des Jahres 2002 wurde als Doppelpressung ausgeführt. Die Pressbilanz zeigt eine Ausbeuteerhöhung durch Doppelpressung von nur 23,7 Prozent. Der Stromverbrauch steigt dabei allerdings von ca. 10 kWh/t FM auf 16 kWh/t FM. Durch den Ankauf einer größeren Presse würden auch die Investitionskosten wesentlich steigen. Daher wird für dieses Modell auf Doppelpressung verzichtet.

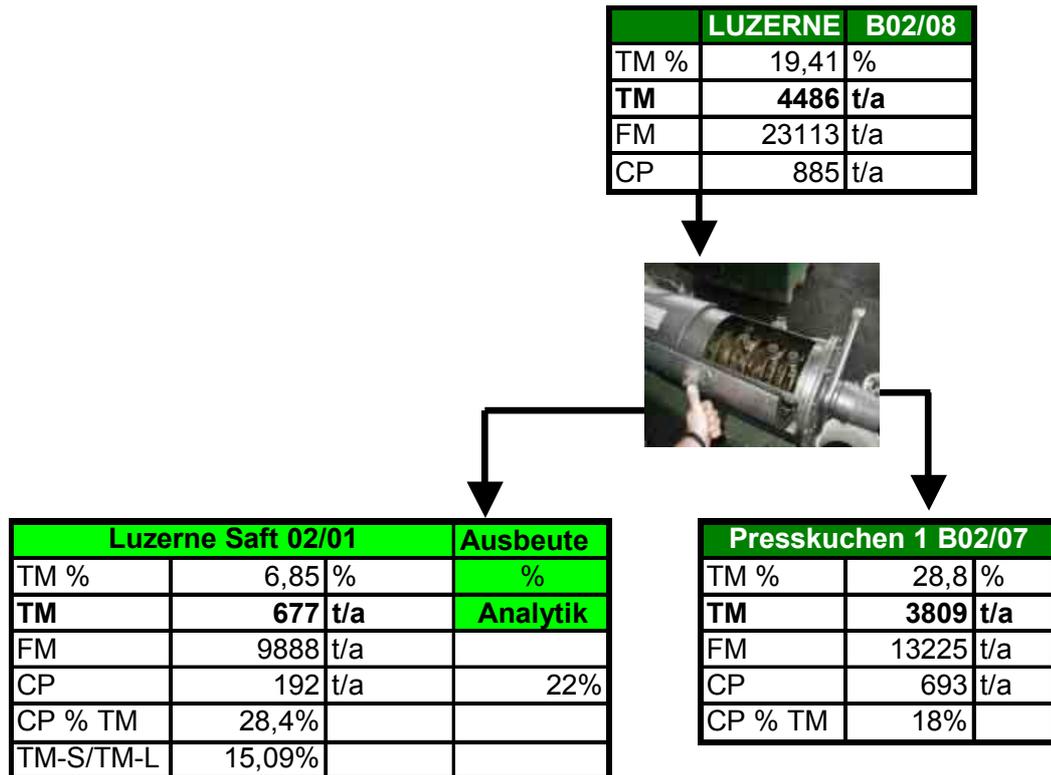


Abb. 103: Einfachpressung von Luzerne – Pressbilanz (Luzerne Probe B02/08; Saftprobe 01/02) – Bilanzerstellung aus Input und Saft

Die technischen Spezifikationen und Kosten der Presse bzw. Fraktionierung wurden bereits ausführlich in Kromus et al. (2002) diskutiert. Aufgrund der Erkenntnisse dieses Projekts wird der Stromverbrauch von 25 auf 10 kWh/t FM reduziert. Es wird angenommen, dass vor dem Pressen eine weitere Feinzerkleinerung stattfindet. Der Strombedarf für diese Zerkleinerung wird mit 70 % der Pressung angenommen (7 kWh/t FM).

Zusätzlich wird der Strombedarf für diverse Förderschnecken bzw. -bänder einbezogen.

2.1.2 Bilanz der Ultrafiltration Fall 1 (ohne Herstellung von Biogas) (Luzerne Saft 02/01)

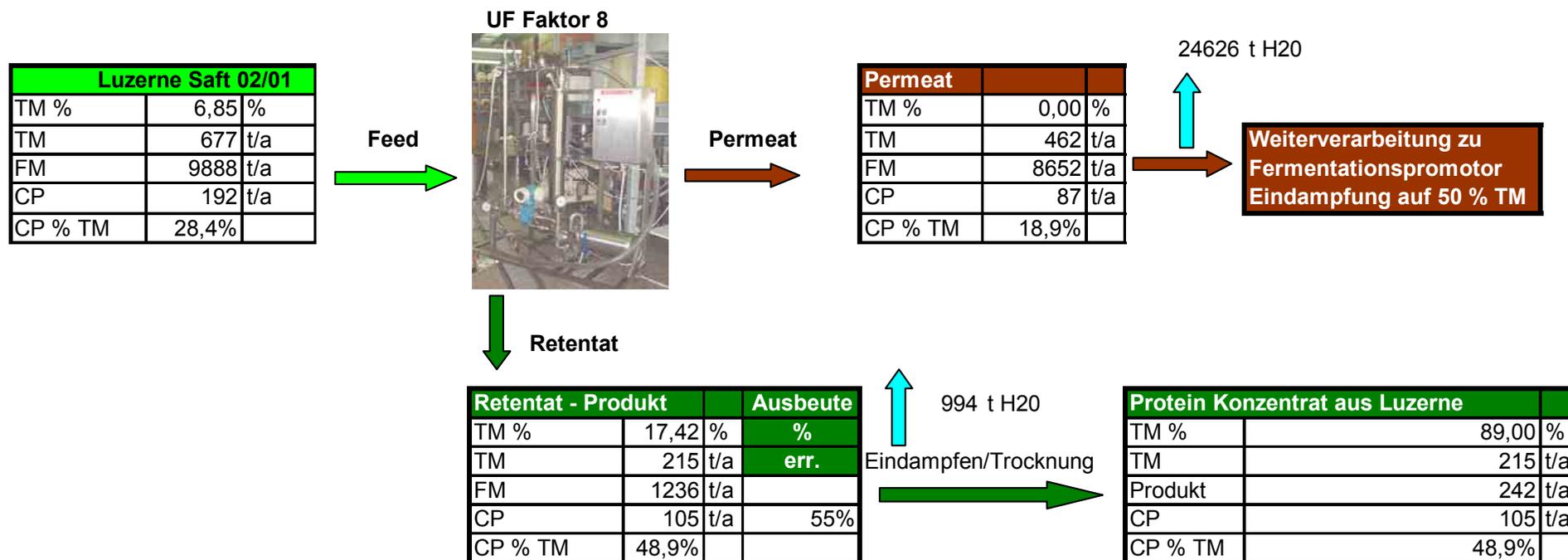


Abb. 104: Bilanz der Ultrafiltration von Luzernesaft (02/01)

Der errechnete Stromverbrauch für die Ultrafiltrationsanlage beträgt 81258 kWh pro Jahr. Durchschnittlich müssen 20 % der Membrane jährlich ausgewechselt werden.

Es wird angenommen, dass das Produkt zunächst bei der Fa. LACTOPROT AG auf 40 % eingedampft wird, um danach auf 89 % TM sprühgetrocknet zu werden. Das Permeat wird lediglich auf 50 % eingedampft und als Fermentationspromotor (Ersatz für Corn Steep Liquor) verkauft (vgl. Kromus et al. 2002).

Der Energiebedarf der Eindampfanlage wird im Gegensatz zu Kromus et al. (2002) auf 100 kWh/t Wasser festgelegt, da die Anlage der Fa. LACTOPROT noch nicht den modernsten Standards entspricht. Der Wärmebedarf für die Trocknung von 40 % auf 89 % TM des Produkts wird mit dem üblichen Wert von 1 kWh/kg Wasser angesetzt.

2.1.3 Referenzprozess: Hitzekoagulation und Zentrifugation

Für die Auslegung des Referenzprozesses Hitzekoagulation/Zentrifugation werden die Daten eines Vorprojekts herangezogen (Kromus et al. 2002). Allerdings wird auch hier der Energiebedarf für das Eindampfen angehoben. Es kommen gebrauchte, aber generalüberholte Zentrifugen zum Einsatz.

Die Massenbilanz entspricht mit leichten Abweichungen jener der Ultrafiltration.

Zusätzlich wird, um einen Vergleich mit einer bestehenden Anlage zu erhalten, der Prozess der Fa. FRANCE LUZERNE dargestellt. Es ist aber davon auszugehen, dass die höhere Produktausbeute lediglich auf die verbesserte Fraktionierung zurückzuführen ist.

2.2 Variante 2: Saft laut Angaben der Fa. FRANCE LUZERNE

Die Firma FRANCE LUZERNE gibt an (France Luzerne 2000), dass durch veränderte Presstechnik ein Trockenmassegehalt im Saft von 10 % erreicht werden kann. Dies führt zu einer Proteinausbeute vom Rohstoff in den Saft von 37 %.

Die Firma FRANCE LUZERNE betreibt allerdings wesentlich größere Anlagen. Daher wird ein Modell aufgestellt, dass um den Faktor 3 größer ist, als in Variante 1 beschrieben. Für das Up-scaling werden Richtangebote von Firmen bzw. übliche Degressionskurven eingesetzt. Diese wurden ausführlich in Kromus et al. (2002) beschrieben.

Es wird angenommen, dass ca. 10.000 t TM Luzerne in einer derartigen Anlage verarbeitet werden können. Aus dem Produkt wird in unserem Modell allerdings kein Grünmehl erzeugt, sondern Biogas (Fall 3, Anhang I).

Auch diese optimierte Variante wird in der Modellierung der Wirtschaftlichkeit dargestellt (Fall 3, Anhang I).

Anhang H

Aminosäuren aus Silagesäften als wirtschaftliche Alternative zu Futtermittelproteinkonzentraten

1 Aminosäuren und Aminosäurengemische

In diesem Kapitel werden die Möglichkeiten betrachtet aus Silage bzw. Silagesäften Aminosäuren bzw. Aminosäurengemische zu gewinnen. Es werden bisherige Arbeiten zur Bestimmung des Anteils der freien Aminosäuren und Möglichkeiten zur Trennung/Aufreinigung besprochen. Außerdem wird ein Überblick über den Stand der Technik zur Gewinnung einzelner Aminosäuren gegeben.

Die bisherigen Untersuchungen zeigten, dass bei der Gewinnung eines Proteinkonzentrates nur ein Bruchteil des Rohproteins (CP) im Gras als Produkt (Proteinkonzentrat) gewonnen werden kann. Bei der Pressung von grünem Gras wandert nur ein geringer Anteil des Stickstoffs in den Saft und bei der Proteinabtrennung aus Grünem Saft oder Silagesaft wird wieder nur ein mehr oder weniger großer Anteil als Produkt gewonnen. Insbesondere aus Silagesaft kann man keine Proteine abtrennen, da diese zu einem Großteil zu kleinen Oligopeptiden bzw. freien Aminosäuren abgebaut sind. Der Proteinabbau in Silage ist bekannt (Povoden 2002), doch was nicht klar war, ist inwieweit dieser Abbau geht. In diversen Versuchen im Rahmen dieses Projekts wurde versucht mit einer besonders feinporigen Membran (1 kD) doch einen großen Teil der Peptide aus Silagesaft abzutrennen. Dabei zeigt sich, dass auch bei einer solch kleinen Größenausschlussgrenze kaum Rückhaltung von Peptiden vorhanden ist.

Aufwendige Analysen der freien Aminosäuren zeigten, dass ein Grossteil der Proteine tatsächlich bis zu den einzelnen Bausteinen, den Aminosäuren hydrolysiert wurde.

Betrachtet man freie Aminosäurengemische als Produkt, so gibt es zur Zeit zwei technische Verfahren die angewandt werden, um aus Proteinkonzentraten ein Gemisch freier Aminosäuren zu gewinnen:

1. Hydrolyse von Protein oder proteinreichen Rohstoffen mit starker Mineralsäure bei hohen Temperaturen und Drücken. Dabei werden bei Einsatz von Salzsäure 1,5 bis 3 mol Salzsäure pro mol Stickstoff benötigt. Z.B. 1000 g Maiskleber werden mit 2000 ml 6 n HCl 5 Stunden bei 120°C in einem Rührwerkautoklaven hydrolysiert. (Steinmetzer 1991)
2. Enzymatische Hydrolyse von Proteinkonzentraten.

Im ersteren Verfahren werden nahezu alle Proteine bis zu den einzelnen Aminosäuren abgebaut. Asparagin und Glutamin werden zu Asparaginsäure und Glutaminsäure umgewandelt. Tryptophan und Methionin werden vollständig zerstört. Dieses Verfahren wird zur Gewinnung von Würzsoßen und zur Gewinnung einzelner Aminosäuren angewendet. Die Auswahl des Rohstoffs richtet sich nach diesen 2 Gesichtspunkten.

Die enzymatische Hydrolyse wird vor allem als Teilhydrolyse angewendet. Ein mögliches Ziel kann die Gewinnung eines Produkts mit spezieller Löslichkeit sein. Eine vollständige Hydrolyse ist mittels Enzymen nur schwer zu erreichen und unwirtschaftlich.

Im Vergleich zu diesen Verfahren wird bei der Silierung mit geringen Mitteln (Starterkulturen, Zeit, Fahrsilo) eine große Wirkung erzielt. Ohne Chemikalieneinsatz und ohne aufwendige technische Apparaturen wird ein Großteil des im Gras reichlich vorhandenen Proteins hydrolysiert. Es kommt dabei zu keiner Umwandlung von Glutamin zu Glutaminsäure und auch Tryptophan wird nicht vollständig abgebaut.

Nach 4 Wochen kann das Silagegras gepresst werden. Im Gegensatz zum Grünem Gras gelangt nun mehr Stickstoff (Rohprotein) in den Presssaft, was durch den Abbau der in Membranen und Zellkompartments fixierten Proteine erklärbar ist. Der abgepresste Saft enthält nun rund die Hälfte des Rohproteins aus dem Gras, rund 65 % bis 95 % davon sind freie Aminosäuren. Der Saft – ein Gemisch aus Milchsäure, Aminosäuren, Zuckern und Salzen ist ein mit geringen Kosten und Umwelteinwirkungen behafteter Rohstoff für Aminosäuren und Milchsäure.

Folgende Produktkategorien zur spezifischen Nutzung der freien Aminosäuren aus dem Silagesaft sind denkbar:

1. Ein Proteinhydrolysat bestehend aus allen oder einem Grossteil der 20 proteinogenen Aminosäuren für den Lebensmittel- oder Spezialfutterbereich. Rohproteingehalt über 80 %. Z.B.: Ein Hydrolysat als Bestandteil von Würzsoßen.
2. Einzelne Aminosäuren in unterschiedlichen Qualitäten für den Kosmetik, Lebensmittel und Pharmabereich.
3. Fraktionen mit einer Hauptaminosäure oder einer Hauptgruppe von Aminosäuren als Zwischenprodukt. Z.B.: Eine Serin reiche Fraktion für die enzymatische Synthese von Tryptophan. Verzweigt-kettige (Branched Chain) Aminosäuren (Valin, Leucin, Isoleucin) als Basis für Aufbaupräparate im Gesundheits- und Sportbereich.

Der weltweite Aminosäurenmarkt ist geprägt von den fermentativ hergestellten Aminosäuren L-Glutaminsäure (Food), L-Lysin (Food und Feed), Threonin (Food) und der synthetisch herstellbaren Aminosäure DL-Methionin (Food).

Tab. 41 Weltmarkt für Aminosäuren die als Futtermitteladditive verwendet werden (Anjinomoto 2002)

Marktpreis bei Abnahme von Futtermittelaminosäuren im Tonnenbereich				
	Marktvolumen [t/a]	[\$/kg]		
		2002	2003	2004
L-Lysin	850.000	1,60	1,50	1,50
L-Threonin	70.000	2,70	2,70	2,70
L-Tryptophan	3.000	27,00	25,00	25,00

Zusätzlich zu diesem klassischen Food- und Feedmarkt existiert ein Markt für reine Aminosäuren, Aminosäuregemische und Aminosäurenderivate in der Pharmaindustrie und im Kosmetik- und im Feinchemikalienbereich. Dem Pharmaziebereich werden hier auch jene Produkte zugeordnet, die als Gesundheits- oder Aufbaupräparate (BCAA – Branched Chain Amino Acids - Valin, Isoleucin und Leucin) im Spezialhandel ohne Rezept erhältlich sind.

Dieser Markt wird von einigen wenigen Firmen bedient, die diese einzelnen Aminosäuren auf 4 verschiedenen Wegen (Anhang H, Kapitel 2) in reiner Form herstellen.

2 Gewinnung einzelner Aminosäuren

Stand der Technik zur Gewinnung reiner Aminosäuren sind derzeit vier unterschiedliche Verfahren:

1. chem. Synthese
2. Fermentation
3. enzymatische Synthese
4. Extraktion aus einem Aminosäurengemisch (Hydrolysat)

Tab. 42 Zusammenstellung der Aminosäuren nach Produktionsmengen, Verwendung und Produktionsart. (Leuchtenberger 1996)

	Product Volume	Production	Use
ALA	100 to 1000 t/a	enzymatic catalyse-from Asp	Pharma
ASN	100 to 1000 t/a	extraction	
GLN	100 to 1000 t/a	extraction fermentation	Pharma
HIS	100 to 1000 t/a	extraction fermentation	Pharma
ILE	100 to 1000 t/a	extraction fermentation	Pharma
LEU	100 to 1000 t/a	extraction fermentation	Pharma
MET (L)	100 to 1000 t/a	enzymatic catalyse	Pharma
PRO	100 to 1000 t/a	extraction fermentation	Pharma
SER	100 to 1000 t/a	extraction (fermentation) enzymatic catalyse-from Gly, with Methanol	
TYR	100 to 1000 t/a	extraction	
VAL	100 to 1000 t/a	fermentation enzymatic catalyse	Pharma
ARG	1000 to 8000 t/a	extraction fermentation	Pharma
CYS	1000 to 8000 t/a	extraction-cystin!!	Food
TRP	1000 to 8000 t/a	fermentation	Feed
ASP	8000 to 100000t/a	enzymatic catalyse	Food
GLY	8000 to 100000t/a	chem. Synthesis	
PHE	8000 to 100000t/a	fermentation	Food
THR	8000 to 100000t/a	fermentation	Feed
GLU	100000 to 800000 t/a	fermentation	Food
LYS	100000 to 800000 t/a	fermentation	Feed
MET (DL)	100000 to 800000 t/a	chem. Synthesis	Feed

2.1 Chemische Synthese

Die chemische Synthese ist ein Standardverfahren, jedoch ist es schwer ein Aminosäureprodukt in reiner L-Form zu synthetisieren. Glycin als einfachste Aminosäure ist nicht chiral und damit einfach zu synthetisieren. Methionin kann von Organismen in der D- und in der L-Form verarbeitet werden und ist somit als synthetisierbares Racemat im Futtermittelmarkt einsetzbar. Beide Aminosäuren werden ausschließlich über den Weg der chemischen Synthese produziert.

2.2 Fermentation

Es gibt Forschungen zur Fermentation aller 20 proteinogenen Aminosäuren. Im Fall von Glutamat, Lysin und Threonin haben sich Fermentationsprozesse etabliert, die es ermöglichen Aminosäuren zu äußerst günstigen Herstellungskosten zu produzieren.

Um eine Aminosäure auf fermentativem Weg ökonomisch herstellen zu können sind nach Meinung des Autors folgende Umstände hilfreich:

- Grosse Absatzmengen (>10.000 t/a)
- Billiger Fermentationsrohstoff (Glucose)
- Hohe Produktausbeuten pro kg Fermentationsmedium
- Gute Abtrenneigenschaften (z.B. geringe Löslichkeit von Threonin, spezielle ausgezeichnete Ladungseigenschaften der basischen Aminosäure Lysin)

Die erforderlichen großen Absatzmengen sind derzeit nur im klassischem Feed- und Foodmarkt zu erreichen. Als Fermentationsrohstoff dient meist Glucose allerdings werden bei der Fermentation von einzelnen Aminosäuren wie z.B. Isoleucin zusätzliche Ausgangsmaterialien (alpha-Hydroxybuttersäure) benötigt.

Bei L-Isoleucin trifft trotz jahrzehntelanger Forschung keiner der oben genannten Umstände zu, trotzdem wird diese essentielle, verzweigtkettige Aminosäure fermentativ hergestellt. Eines der Hauptprobleme ist dabei die Trennung zwischen Isoleucin und dem Beiprodukt Valin. Beide sind Aminosäuren mit fast identischen physikalischen und chemischen Eigenschaften. Im Fall von Isoleucin führt das zu extrem hohen Preisen – ein kg L-Isoleucin in Pharmaqualität hat einen Marktpreis von mindestens 50 \$ (Schärtges 1993) und gilt als teuerste Aminosäure.

Ein weiteres Beispiel für Schwierigkeiten bei der Fermentation ist L-Alanin, da die meisten Mikroorganismen Alanin nicht in einer reinen enantiomeren Form generieren.

2.3 Enzymatische Synthese

Diese Methode zur Gewinnung von Aminosäuren in reiner chiraler Form (D oder L) gewinnt immer mehr an Bedeutung da von synthetisch herstellbaren Stoffen ausgegangen werden kann. Vor allem die Gewinnung von Asparaginsäure aus Fumarsäure wird in großem Maßstab betrieben. Aspartat wird zur Produktion des Süßstoffs Aspartam benötigt. Darüber hinaus ist L-Aspartat der Ausgangsstoff zur enzymatischen Synthese von L-Alanin.

Weitere Anwendungen sind die Produktion von L-Serin aus Formaldehyd und Glycin, L-Methionin aus D,L-Methionin, Tryptophan aus Serin und Indol. (Rozzel und Wagner 1992, Amino 2002)

2.4 Extraktion aus Proteinhydrolysaten und Melasse

Die Extraktion von Aminosäuren aus Hydrolysaten erfolgt in mehreren Schritten. Als Ausgangsrohstoff dienen oft Keratin aus Hühnerfedern oder Schweine-Gelatine.

Diese Proteinrohstoffe werden unter Einsatz von konzentrierter Salzsäure und Wärme (bis 120°C) über mehrere Stunden hydrolysiert. Das Gemisch aus freien Aminosäuren und Oligopeptiden wird nach einfacher Filtration und Entfärbung an Ionenauschersäulen getrennt. Hier kommen extrem große Mengen an Chemikalien (vor allem HCl) zum Einsatz (Dorfner 1991). Die Endreinigung erfolgt durch Kristallisation.

Besondere Aufmerksamkeit ist der Gewinnung von Aminosäuren aus Melasse zu zollen, da hier ähnliche Voraussetzungen wie bei Silagesaft herrschen. Bei der Gewinnung von Aminosäuren aus Melasse wird der Ionenausschlusschromatographieprozess (Elektrolytvorlaufverfahren) zur Gewinnung von Saccharose und deren Monomere genutzt, um eine zusätzliche Aminosäurefraktion zu gewinnen. Die deutsche Firma Amino beschäftigt sich mit der Verwertung von Nichtzuckerstoffen in der Melasse und hat in jahrzehntelanger Forschung verschiedene Patente zur Gewinnung von Aminosäuren entwickelt. Ausgehend von der Ionenausschlusschromatographie werden verschiedene Fraktionen mit unterschiedlicher Aminosäurezusammensetzung gewonnen, die als Ausgangsprodukt für reine Aminosäuren dienen. Neben einzelnen Aminosäuren werden auch Aminosäuregemische (Aminosäureextrakte in Lebensmittelqualität) und Fraktionen mit einer Hauptaminosäure gewonnen. So wird in der Ionenausschlusschromatographie eine Fraktion mit hohem Serin Anteil aufgereinigt und als Ausgangsrohstoff für die enzymatische Synthese der besonders wertvollen Aminosäure L-Tryptophan verwendet. Der Vorteil dabei ist, dass hier kein hochreines Serin und auch kein optisch reines Serin verwendet werden kann (Steinmetzer 1991).

Beiden Prozessen (Hydrolyse und Extraktion aus Melasse) ist gemeinsam, dass durch die extremen Bedingung (Hitze, Säure) bestimmte Aminosäuren (Tryptophan, Methionin, etc.) abgebaut werden. Insbesondere wird bei den Zuckerproduktionsprozessen nicht Rücksicht auf eine spätere Aminosäuregewinnung genommen und es kommt zur Bildung von unerwünschten D-Aminosäuren die ein Hindernis für den Einsatz von Aminosäuren als Pharmarohstoff darstellen. Allgemein gilt die Extraktion steht in starker Konkurrenz zur enzymatischen und fermentativen Synthese.

3 Grassilagesaft als Quelle von Aminosäuren

Im Laufe der Arbeiten zur Gewinnung von Futtermittelproteinen aus Grassilagesäften hat sich gezeigt, dass nur ein sehr geringer Teil der Grasproteine noch als „echte“ Proteine vorliegt. Dieser vermeintliche Nachteil kann auch positiv gesehen werden. Durch den mikrobiellen und enzymatischen Abbau von sonst unlöslichen bzw. fest mit Zellfragmenten verbundenen Proteinen wird der Anteil der abpressbaren Aminosäuren erhöht. So können Rohproteinausbeuten von über 50 % erreicht werden.

3.1 Vorteile von Silagesaft gegenüber Melasse und Hydrolysaten

Im Vergleich zur klassischen Methode zur Gewinnung eines Hydrolysats läuft der Hydrolysevorgang bei der Silierung ohne zusätzlichen Energie und Chemikalienaufwand ab. Durch die schonenden Bedingungen bei der **Silagehydrolyse** werden säureempfindliche Aminosäuren wie Tryptophan und Methionin nicht oder nur gering abgebaut und weitere Aminosäuren (Glutamin, Asparagin) werden nicht zu sauren Aminosäuren (Glutaminsäure, Asparaginsäure) umgewandelt.

Alle Aminosäuren liegen in der L-Form vor. Im Gegensatz zu Melasse ist das gesamte proteinogene Aminosäurenspektrum vertreten. Die guten Siliereigenschaften sind wesentliches Kennzeichen von Gras. Vor allem die große Menge an leicht verfügbarem Zucker für die Milchsäureproduktion ist zur Stabilisierung der Silage notwendig. Gras mit hohem Proteinanteil und viel frei verfügbaren monomeren Zuckern bzw. dem Oligozucker Fructan ist ein idealer Rohstoff für diesen einfache handzuhabenden, aber doch komplexen Prozess.

Die Performance dieses Prozesses ist vergleichbar mit dem Stand der Technik bei der enzymatischen Hydrolyse (Adler-Niessen 1986). Der Silagesaft hat einen pH-Wert von 3.5 bis 4,5, der hauptsächlich von der Milchsäure stammt. Beim Down-Stream-Processing bis zu einem reinen Aminosäurehydrolysat hat Silagesaft den Vorteil der erhöhten Wertschöpfung durch die Nutzung von Aminosäuren einerseits und Milchsäure andererseits. Die Aufreinigung des einen Produkts kann gleichzeitig die Aufreinigung des anderen Produkts sein. In ersten Versuchen wurde in Eigenleistung untersucht, ob sich die Elektrodialyse als ein Verfahren mit „doppeltem“ Nutzen einsetzen lässt. Denkbar ist aber auch, dass in einem Schritt bei der Ionenausschlusschromatographie eine aufgereinigte Milchsäurefraktion und eine, oder mehrere verwertbare Aminosäurefraktion(en) gewonnen werden können.

3.2 Mögliche technische Umsetzung

Wesentlich zur Trennung der Aminosäuren von Salzen, organischen Säuren und neutralen organischen Substanzen ist ihre außerordentliche Ladungskonfiguration. Aminosäuren in Lösung liegen bei pH 7 als dipolare Ionen (oder Zwitterionen) und nicht als ungeladene Moleküle vor. Im dipolaren Zustand ist die Aminogruppe protoniert ($-\text{NH}_3^+$) und die Carboxylgruppe dissoziiert ($-\text{COO}^-$). Der Dissoziationsgrad einer Aminosäure ändert sich mit dem pH-Wert; so liegt in saurer Lösung (pH 1) die Carboxylgruppe nicht ionisiert ($-\text{COOH}$) und die Aminogruppe protoniert ($-\text{NH}_3^+$) vor. Abhängig von der Seitenkette der Aminosäuren teilt man die Aminosäuren in drei Gruppen ein. Saure Aminosäuren mit einer zusätzlichen Carboxylgruppe in der Seitenkette sind bei pH 6 in Summe einfach negativ geladen. Basische Aminosäuren mit einer zusätzlichen Aminogruppe in der Seitenkette sind bei pH 6 in Summe positiv geladen. 15 der 20 proteinogenen Aminosäuren haben eine ungeladene Seitenkette und liegen bei pH 6 als „neutrale“ Zwitterionen vor.

In Abb. 105 ist der Gehalt der neutralen Zwitterionen bei unterschiedlichen pH-Wert dargestellt.

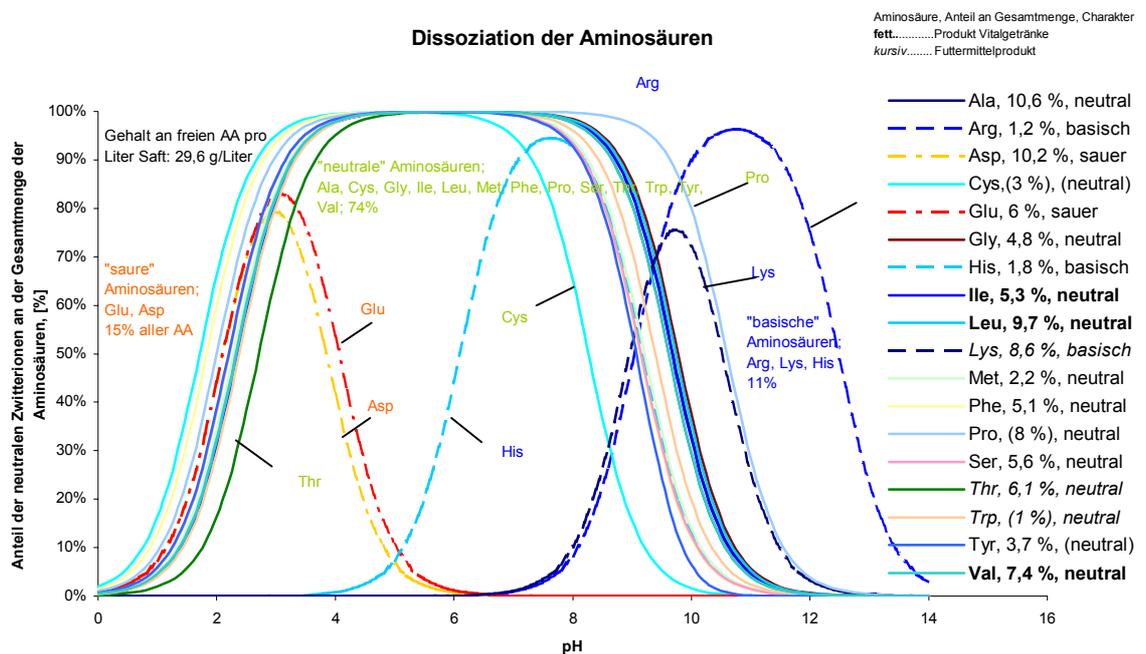


Abb. 105: Dissoziationsverhalten von Aminosäuren, Anteil der neutralen Zwitterionen bezogen auf 100 % des Gesamtanteils einer Aminosäure. Im Diagramm sind die 20 Kurven von einzeln in Wasser gelösten Aminosäuren dargestellt

Die spezielle Ladungskonfiguration ermöglicht die Trennung von Aminosäuren und anderer Substanzen an Hand ihrer Ladung. Je nach pH-Wert können sie als Ionen von neutralen Substanzen oder als neutrale Zwitterionen von ionischen Substanzen getrennt werden. Problematisch dabei sind die Aminosäuren mit geladener Seitenkette. Nur bei extremen pH-Werten sind alle Aminosäuren von der selben Ionenart (siehe Abb. 105; z.B. bei pH 1 sind alle Aminosäuren Kationen).

Bei pH 1 bis 2 ist es möglich alle Aminosäuren und anorganischen Ionen an einer Kationentauschersäule in der H⁺-Form zu adsorbieren. Problematisch ist dabei ein hoher Kationengehalt in der Lösung wie bei Silagesaft. Vom Standpunkt der ökologischen Nachhaltigkeit wären hier enorme Mengen an, mit hohen ökologischen Kosten behafteter, Salzsäure zur Einstellung des pH-Werts und zur Regenerierung der Kationentauschersäule notwendig.

Alternativ dazu ist eine Trennung an mit Kationen gesättigten Ionentauschersäulen möglich. Die sogenannte Ionenausschlusschromatographie (Ion Exclusion) oder Elektrolytvorlaufverfahren wird ein Elektrolyt von einem Nichtelegrolyten oder ein schwacher Elektrolyt von einem starkem Elektrolyten getrennt. Ein Ionenaustausch im eigentlichen Sinne findet dabei nicht statt, der Austauscher wirkt lediglich als Adsorbens. Ein Elektrolyt AY vermag in einen mit A beladenen Ionentauscher kaum einzudringen, er wird gemäß dem Donnan-Gleichgewicht weitgehend von der Austauscherphase ausgeschlossen. Ein gleichzeitig anwesender Nichtelegrolyt wird dagegen wie von einem gewöhnlichen Adsorbens etwa entsprechend einer Langmuir- oder Freundlichschen Adsorbtiionsisotherme aufgenommen. Bei nicht zu hohen Konzentrationen adsorbiert der

Austauscher also den Nichtelektrolyten in viel höheren Maße als den Elektrolyten (Helfferich 1959).

Nach diesen Verfahren wird in der Zuckerindustrie (Dorfner 1991) Melasse entzuckert. Dabei kommt es nicht nur zu einer Auftrennung in Elektrolyt und Nichtelektrolyt sondern auch zu einer Auftrennung zwischen Zucker, Betain und neutralen Aminosäuren (Seidelmann 1997, Paananen 1997). Besonders hervorzuheben ist hier, dass Aminosäuren extrem spät eluieren. Obwohl sie von der Molekülgröße den monomeren Zuckern ähneln eluieren sie deutlich später als Fructose oder Glucose und auch Betain.

Die Amino GmbH in Frelstedt (D) ist eine der wenigen Firmen die neben einer Zuckerfraktion und einer Salzfraktion weitere Fraktion bei der chromatographischen Molassetrennung gewinnen. In modernen Molasseentzuckerungsanlagen werden meist Verfahren verwendet, die nur eine Zuckerfraktion und eine Abfallfraktion zulassen. Dieses System lässt sich um eine Fraktion (Betain) erweitern. Das wird zur Zeit in der Agrar-Zuckerfabrik in Tulln gemacht. Eine nochmalige Erweiterung auf vier Produktströme verkompliziert den Prozess zu sehr und dem Autor ist keine Anlage dieser Art bekannt. In Frelstedt wird noch mit einer älteren Chromatographieanlage gearbeitet, die ein Ausschleusen mehrerer Eluationsfraktionen zulässt.

Bei der Aufreinigung von Aminosäuren aus einer Fermentationsbrühe (Trennung Aminosäure und Salz bzw. Säure) wird hauptsächlich einen Kationenauschprozess eingesetzt (Anjinomoto 2002). Es gibt allerdings auch alternative Verfahren nach dem Ionenausschluss Prinzip (Inkyu Leea et al. 2001). Der Ausgangsrohstoff wird dabei auf den isoelektrischen Punkt der Aminosäure eingestellt. Die Aminosäure eluiert als Nichtelektrolyt nach den Salzen.

Nach einem ähnlichen Prinzip arbeitet ein Verfahren zur Entsalzung von Aminosäurehydrolysaten (Eisenbraun 1962).

Klassisch werden Aminosäuren bei niedrigem pH an Kationentauschersäulen adsorbiert und unter Verwendung einer Gradientenelution mit Natriumacetat bei unterschiedlichen Temperaturen eluiert. (Moore und Stein 1954). Großtechnisch ist diese Methode nicht wirtschaftlich.

Derzeit eingesetzte Technik zur Trennung von Aminosäuren setzt sich aus Ionenaustauscherprozessen und Kristallisationsprozessen zusammen wobei der pH-Wert ständig variiert wird (Dorfner 1991).

Im Zusammenhang mit der großen Salzfracht (hauptsächlich KCl) und dem Milchsäuregehalt des Silagesaft scheint eine elektrodialytische Trennung vor einem Chromatographieschritt sinnvoll. Danach könnte in einem Chromatographieschritt eine Aminosäurenfraktion gewonnen werden. Gedacht wurde dabei an Ionenausschlusschromatographie an Kationentauschersäulen zur Trennung der Salze, Zucker, organischen Reste und Aminosäuren. Der pH-Wert sollte dabei in Nähe des isoelektrischen Punkts der neutralen Aminosäuren liegen (pH 6). Diese Verfahrenskette ist in Abb. 106 dargestellt.

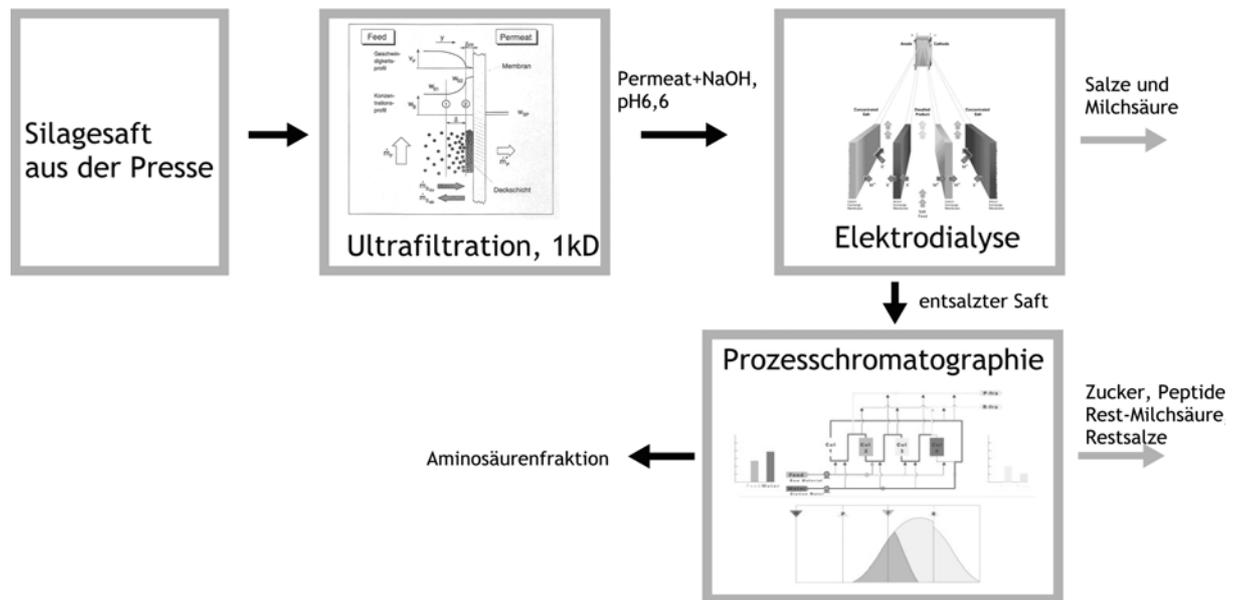


Abb. 106: Mögliche Verfahrenskette zur Gewinnung einer aufgereinigten Aminosäurefraktion.

Im Rahmen der weiterführenden Forschung wurden in Eigenleistung mehrere Vorversuche zur Realisierung dieser Schritte durchgeführt.

3.3 Aminosäurenanalytik

3.3.1 Methoden und Daten

Folgende Methoden zur Bestimmung des Anteils der freien Aminosäuren in einem Silagesaft wurden angewendet:

- Ultrafiltration bei unterschiedlichen Cut Off
- Aminosäuren HPLC mit und ohne vorhergehenden Hydrolyse

3.3.1.1 Ultrafiltration

Für die Untersuchungen zur Gewinnung von Aminosäuren und Milchsäure (siehe Fabrik der Zukunft Projekt „Gewinnung von Milchsäure aus Silagesäften“) aus Silage wurde Silagesaft mit unterschiedlicher Vorgeschichte (Klee gras und Bastardray gras, 01/38. 01/63) vermischt und unter den selben Umständen wie in Versuch Anhang D (1 kD Cut Off) ultrafiltriert.

Zusammensetzung des ursprünglichen Saftes:

- 20,44 kg von Klee gras 1.Schnitt 2001 (01/38, 01/39)
- 41,8 kg von Bastardray gras 3.Schnitt 2001 (01/63)

Das Permeat (55,5 Liter, 01a/1) wurde bei -30°C bis zur weiteren Verwendung gelagert.

3.3.1.2 Aminosäurenanalytik – frei und gesamt

Die Aminosäurenanalytik des Silagesafts und der Elektrodialysefraktionen wurde am Institut für Chemie der Univ. für Bodenkultur, Wien durchgeführt. Zur Quantifizierung der freien Aminosäuren und der Gesamtmenge der Aminosäuren wurde unterschiedliche Probenvorbereitungen gewählt.

Um die freien Aminosäuren zu messen wurde Silagesaft zentrifugiert, der Überstand wurde für die HPLC-Bestimmung verwendet.

Um die Gesamtaminosäuren zu messen werden 100 μL Probe in einem Pyrex Reaktionsröhrchen mit Schraubverschluss pipetiert. Die Pipettenspitze wird mit 100 μL dest. Wasser nachgespült. Im Speed Vac Konzentrator wird die Probe bis zur Trockenheit eingengt und anschließend in 1 ml HCl, $c=6,0\text{ mol/L}$, die 0,1 Phenol und Thioglycolsäure enthält aufgenommen. Unter Stickstoffatmosphäre wird die Probe 20 Stunden bei 115°C hydrolysiert. Nach der Hydrolyse werden 600 nmol NVa (interner Standard) zugesetzt. Ein aliquoter Teil von 10 bis 20 μL wird in ein Röhrchen pipetiert und im Speed Vac Konzentrator getrocknet (einmal mit MeOH trocken). Nach dem Trocknen wird die Probe in 100 μL dest. Wassers aufgenommen und zentrifugiert. Der Überstand wird für die HPLC verwendet.

3.3.2 Untersuchungen zu freien Aminosäuren in Ultrafiltrationspermeat

Der Gehalt an Aminosäuren in Silagesaft wurde schon an anderer Stelle besprochen. An dieser Stelle geht es um den Gehalt an freien Aminosäuren, gemessen im Ultrafiltrationspermeat von Silagesaft.

Der Aminosäuregehalt vor und nach einer Hydrolyse wird gemessen und verglichen. Das Verhältnis einer freien Aminosäure zum Gesamtgehalt dieser Aminosäure ist aus Tabelle 43 erkennbar.

Am Beispiel Glycin (Gly) sieht man, dass bei SJP02 1,30 g/L ohne Hydrolyse gemessen wurde und 1,53 g/L nach der Hydrolyse gemessen wurde. Das bedeutet einen Anteil an freiem Glycin von 85 % bezogen auf den Gesamtglycinegehalt.

Diese Verhältnis schwankt von 66 % (Val bei Bastardraygras 1.Schnitt 2002, 02/20) bis 100 % (Ala bei SJP02, 01a/1).

UF-Permeat-Anf., Bastardraygras 1.Schnitt
2002, Silage

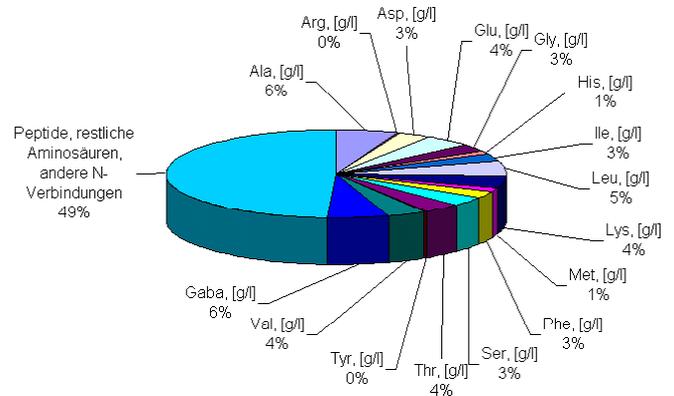
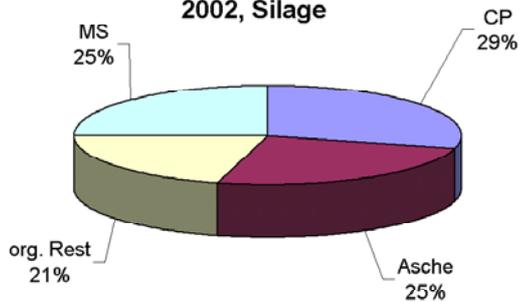


Abb. 107: Zusammensetzung des Ultrafiltrationspermeats von Bastardraygras 1.Schnitt 2002, Silage (02/20) und Anteil einer Auswahl freier Aminosäuren am Rohprotein

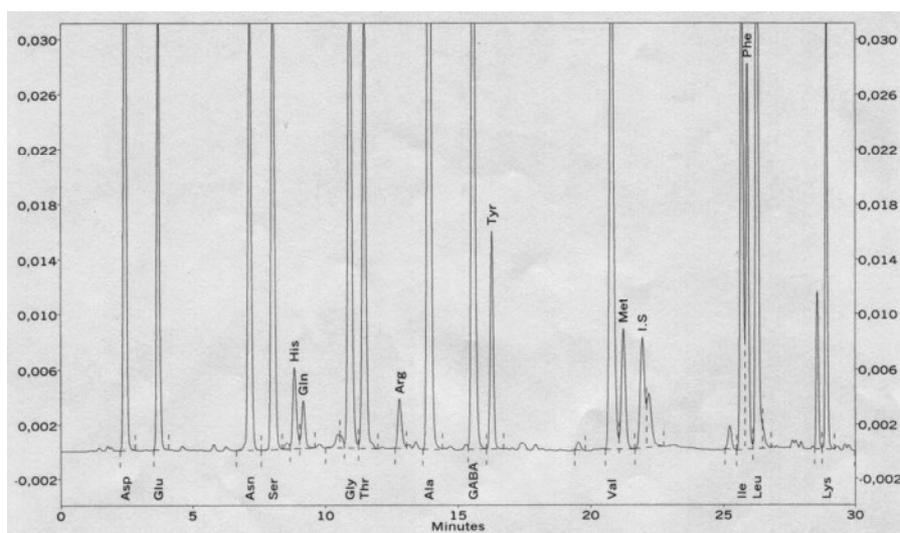


Abb. 108: Aminosäuren HPLC von Silagesaft (01/63), ohne Hydrolyse

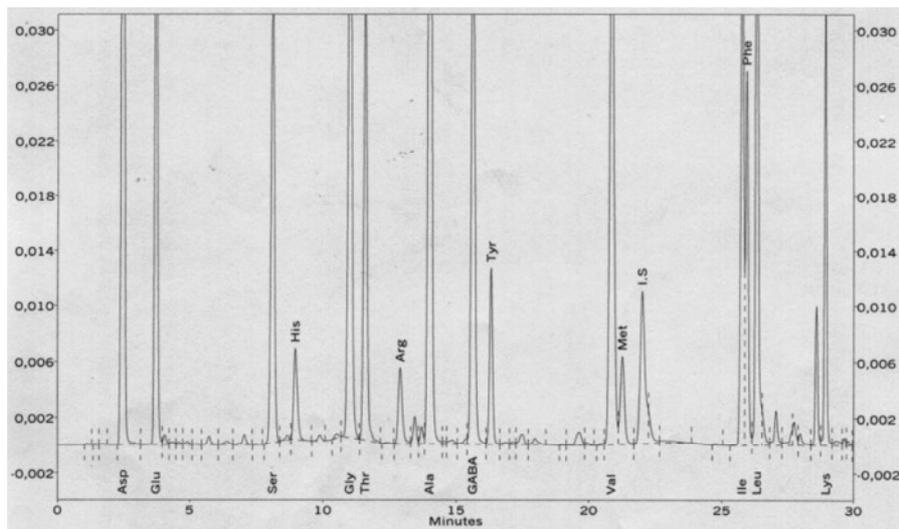


Abb. 109: Aminosäuren HPLC von Silagesaft (01/63), mit Hydrolyse

Tab. 43 Gehalt an freien Aminosäuren und Gesamtaminosäuregehalt

		SJP02, 01a/01	SJP02, 01a/01	Bastardraygras 2002, 02/20	Bastardraygras 2002, 02/20
		frei	hydr.	frei	hydr.
	DM, [g/l]	127,5	127,5	74,43	74,43
	CP, [g/l]	38,08	38,08	25,17	25,17
1	Ala, [g/l]	2,95	2,87	1,50	1,97
2	Arg, [g/l]	0,26	0,39	0,07	0,20
3	Asn, [g/l]				
4	Asp, [g/l]	2,60	4,29	0,76	2,35
5	Cys, [g/l]	0,00	0,00		
6	Glu, [g/l]	1,73	2,72	1,13	1,90
7	Gln, [g/l]				
8	Gly, [g/l]	1,30	1,52	0,65	1,07
9	His, [g/l]	0,56	0,60	0,29	0,43
10	Ile, [g/l]	1,49	1,54	0,68	1,05
11	Leu, [g/l]	2,66	2,59	1,37	1,79
12	Lys, [g/l]	2,23	2,29	1,09	1,46
13	Met, [g/l]	(0,58)		(0,33)	
14	Phe, [g/l]	1,37	1,41	0,74	0,96
15	Pro, [g/l]				
16	Ser, [g/l]	1,45	1,27	0,80	0,85
17	Thr, [g/l]	1,68	1,60	0,90	1,09
18	Trp, [g/l]	0,00	0,00		
19	Tyr, [g/l]	0,95	0,76	0,09	0,15
20	Val, [g/l]	1,99	2,13	0,93	1,41
	Gaba, [g/l]	2,76	2,29	1,45	1,68
	Summe 14 bzw. 16 AA, [g/l]	23,22	26,00	11,01	16,67
	S14/CP, [%]	61%	68%	44%	66%
	S14/DM, [%]	18%	20%	15%	22%

Wie in Tabelle 43 dargestellt unterscheidet sich der Aminosäuregehalt vor und nach der Hydrolyse nur gering. Des weiteren erkennt man gut die Transformation von Glutamin und Asparagin zu deren Säuren, erkennbar durch den überdurchschnittlichen Gehalt im Vergleich zur Probe ohne Hydrolyse.

Anhang I

Wirtschaftliche Bewertung der Gewinnung eines Proteinkonzentrats aus Luzernesaft

1 Ausgangslage und Daten zur Berechnung

Die Ergebnisse dieses Projekts zeigen sehr deutlich, dass die Herstellung eines Proteinkonzentrats aufgrund der höheren Ausbeute ausschließlich aus Luzerne basieren sollte. In diesem Kapitel wird daher untersucht, inwieweit ein derartiges Produkt unter heutigen Rahmenbedingungen wirtschaftlich produziert werden könnte. Es wird angenommen, dass eine derartige Anlage zentral auf dem Standort der Fa. LACTOPROT AG in Hartberg (Stmk.) errichtet werden würde.

Zur Durchführung der Bewertung werden folgende Modelle aufgestellt:

Variante 1:

Fall 1. Produktion der Produkte Proteinkonzentrat, Fermentationspromotor und Grünmehl (getrockneter Luzernepresskuchen), wobei das Proteinkonzentrat alternativ mittels Ultrafiltration bzw. Koagulation hergestellt wird.

Fall 2. Produktion der Produkte Proteinkonzentrat, Fermentationspromotor und Biogas (seit Jan. 2003 existieren attraktive Einspeisetarife für Ökostrom)

Variante 2:

Fall 3. Produktion eines Proteinkonzentrats nach dem Modell von FRANCE LUZERNE (ca. 10.000 t TM pro Jahr und 10 % TM im Saft), allerdings gelangt der Presskuchen in eine Biogasanlage. Die Ultrafiltration ist ca. um einen Faktor 3 größer.

Für die Darstellung der Grünmehlproduktion und der Biogasanlage dienen die Daten aus Kromus et al. (2002) bzw. Kromus (2002)..

1.1 Erlöse durch ein Proteinkonzentrat und der Restströme

Kurz vor dem Start dieses Projekts war die BSE Krise auf ihrem Höhepunkt und es wurde angenommen, dass pflanzliche Proteine, die auch garantiert GMO-frei angeboten werden können einen „Premium“ Preis erzielen würden. Inzwischen ist die Aufregung um BSE abgeklungen und es wird weiterhin, außer für Wiederkäuer, Fischmehl in großem Umfang eingesetzt. Niemand kann allerdings garantieren, dass nicht illegale „Blends“ aus Fischmehl und Tiermehl in Europa im Umlauf sind.

Es scheint auch Faktum zu sein, dass ca. 60 % des in Österreich eingesetzten Soja als Eiweißquelle zumindest Spuren einer gentechnischen Veränderung aufweisen. Inzwischen hat sich aber, offenbar auch aufgrund des herrschenden Preisdrucks, ein gewisser Gewöhnungseffekt breit gemacht. Nach Auskunft der Fa. BIOMIN AG kann jedoch immer noch ein Mehrpreis für GMO-freies Protein von 10% lukriert werden. Diese Produkte lassen sich aber in der durchschnittlichen landwirtschaftlichen Produktion wirtschaftlich nicht unterbringen. Diese Produkte finden lediglich z.B. in der Markenfleischproduktion Eingang.

In Milchaustauschern der Fa. LACTOPROT AG wurde bis zur Auslagerung der Produktion von Österreich nach Deutschland ein Sojaproteinprodukt mit ca. 71,4 % Rohprotein eingesetzt. Der Preis dafür betrug ca. 0,95 €/kg Produkt.

Nach Auskunft der Firmen LACTOPROT AG und BIOMIN AG richtet sich der Proteinpreis im wesentlichen nach dem Rohproteingehalt. D.h. pro Prozentpunkt Rohprotein in der Trockenmasse kosten Proteinprodukte 0,0013 €. Dieser Preis ist unabhängig davon, ob das Produkt für die Kälberaufzucht, Schweinemast oder sonstige Anwendungen eingesetzt wird.

Aufgrund eines vorliegenden Angebots der Firma FRANCE LUZERNE ist bekannt, dass ein Produkt aus Luzerne mit 50 bis 52 % Rohprotein i. d. TM ca. 0,70 €/kg frei Werk Frankreich kostet.

Für das Proteinkonzentrat einer Luzerne Bioraffinerie mit 48,9 % Rohprotein i. d. TM ergibt sich somit ein planbarer Erlös von 0,65 €/kg plus 10% Prämie für GMO-frei ergibt 0,72 €/kg. Es muss angemerkt werden, dass dieser Preis nicht elastisch ist. Wenn sich nicht große ökologische Umstrukturierungen in der Landwirtschaftspolitik ergeben, kann angenommen, dass der angegebene Erlös pro kg praktisch keinen Schwankungen unterworfen ist. Auch eine zusätzliche Prämie für Nachhaltigkeit bzw. österreichische Herkunft muss derzeit ausgeschlossen werden. Für die Berechnungen der unterschiedlichen Fälle wird der Proteinerlös demnach mit 0,70 €/kg frei Werk LACTOPROT AG Hartberg festgeschrieben.

In Kromus et al. (2002) wurde untersucht inwieweit sich UF-Permeat bzw. Zentrifugenüberstand zur Promotion von Submersfermentationen eignen. Es wurde festgestellt, dass die Eigenschaften dieser Ströme jenen des bisher eingesetzten Corn Steep Liquor (CSL) ähnlich sind. Nachdem der Weltmarktpreis für CSL 0,25 €/kg Trockenmasse beträgt, kann davon ausgegangen werden, dass der flüssige Reststrom zum gleichen Preis verkauft werden kann.

Der Presskuchen kann alternativ als Grünmehl verkauft oder zu Biogas verarbeitet werden, da weitere Anwendungen noch in der wirtschaftsbezogenen Grundlagenforschung stecken. Im Falle des Grünmehls aus Luzerne liegt der Marktpreis stabil bei 0,153 €/kg TM (vgl. Kromus et al. 2002).

Im Falle der Verwertung der Restströme in einer Biogasanlage wird angenommen, dass diese den Wärmeüberschuss generell um 0,025 €/kWh verkaufen kann. Im Gegenzug dazu kann für die Trocknung die Eigenwärme um 0,025 €/kWh bezogen werden. Für den ersten Fall (Grünmehlerzeugung) werden die Wärmekosten mit 0,044 €/kWh kalkuliert. Der Verkaufserlös für den Biogasüberschussstrom wird für Fall 1 und Fall 2 mit 0,125 €/kWh festgelegt (500 bis 1000 kW Leistung) und für Fall 3 mit 0,103 €/kWh (über 1 MW) (EVA 2003), wobei der Eigenverbrauch der Bioraffinerie mit nur 0,073 €/kWh bewertet wird.

1.2 Methodik und Daten

Für die Modellierung der einzelnen Fälle wird in diesem Projekt die Discounted Cash Flow (DCF) Methode gewählt (Kirschner 2003). Im letzten Planungsjahr, dem „Normaljahr“, wird aus dem Cashflow eine ewige Rente berechnet. Dieser Wert stellt den Residualwert dar.

1.3 Investitionskosten

1.3.1 Fraktionierung (Zerkleinerung, Presse) Fall 1 und Fall 2

Die Fraktionierungskosten unterscheiden sich zu Kromus et al. (2002) durch verminderte Investitionen für die Zerkleinerung, da kein eigentlicher Zellaufschluss, sondern lediglich ein Feinhäcksler angeschafft werden soll. (Basispreis 100.000 € statt 169.000 €).

Tab. 44 Investitionskosten einer Fraktionierungsanlage zur Abtrennung Luzernesaft aus Luzerne; Fall 1 und Fall 2

Fraktionierung	
Investition	310.197 €
Engineering	46.530 €
Baulichkeiten	50.000 €
Summe	406.726 €

1.3.2 Fraktionierung (Zerkleinerung, Presse) Fall 3

In Fall 3 werden 11.500 t TM Rohstoff eingesetzt (ca. Faktor drei zu Fall 1 und Fall 2)
Die Fraktionierungskosten unterscheiden sich zu Kromus et al. (2002) durch verminderte Investitionen für die Zerkleinerung, da kein eigentlicher Zellaufschluss, sondern lediglich ein Feinhäcksler angeschafft werden soll. (Basispreis 100.000 € statt 169.000 €).

Tab. 45 Investitionskosten einer Fraktionierungsanlage zur Abtrennung Luzernesaft aus Luzerne; Fall 3

Fraktionierung	
Investition	612.883 €
Engineering	91.932 €
Baulichkeiten	50.000 €
Summe	754.816 €

Es wird generell auf 10 Jahre abgeschrieben.

1.3.3 Ultrafiltrationsanlage Fall 1 und Fall 2

Die Auslegungsparameter wurden in Anhang G dargestellt. Daraus folgend ergeben sich folgende Investitionskosten für Fall 1 und Fall 2

Tab. 46 Investitionskosten einer Ultrafiltrationsanlage zur Abtrennung von Proteinen aus Luzernesaft; Fall 1 und Fall 2

Investitionen				
Anz.	Beschreibung	Kosten/E	Gesamt	Abschreibung [a]
65	Pufferspeicherkapazität, 1 m ³	145 €	9.448 €	10
1	Pumpe, 142 l/s, 2 bar		20.000 €	10
1	Pumpe, 15 l/s, 3 bar		4.000 €	10
140	Anfangsmembrane, 1 m ²	880 €	123.200 €	-
4	Druckgehäuse für 99 Membrane	7.500 €	30.000 €	10
	Kühlung		15.000 €	
	Entkeimung		50.000 €	
1	Engineering		60.000 €	10
1	M&R		80.000 €	10
1	Verrohrungen, Ventile, Errichtung		80.000 €	10
Summe			471.648 €	

Die Daten entstammen primär dem Erfahrungsschatz der am Projekt beteiligten Experten.

1.3.4 Ultrafiltrationsanlage Fall 3

Die Auslegungsparameter wurden in Anhang G dargestellt. Die Ultrafiltrationsanlage für Fall 3 ist um den Faktor drei größer.

Tab. 47 Investitionskosten einer Ultrafiltrationsanlage zur Abtrennung von Proteinen aus Luzernesaft; Fall 3

Investitionen				
Anz.	Beschreibung	Kosten/E	Gesamt	Abschreibung [a]
95	Pufferspeicherkapazität, 1 m ³	145 €	13.808 €	10
3	Pumpe, 142 l/s, 2 bar		60.000 €	10
1	Pumpe, 45 l/s, 3 bar		10.000 €	10
140	Anfangsmembrane, 1 m ²	880 €	369.600 €	-
4	Druckgehäuse für 99 Membrane	7.500 €	90.000 €	10
	Kühlung		30.000 €	
	Entkeimung		100.000 €	
1	Engineering		90.000 €	10
1	M&R		160.000 €	10
1	Verrohrungen, Ventile, Errichtung		160.000 €	10
Summe			1.083.408 €	

1.3.5 Koagulation und Zentrifugation Fall 1 und Fall 2

Die Daten wurden ausgiebig in Kromus et al. (2002) und Kromus (2002) diskutiert.

Kleinere Adaptierungen, wie die direkte Zuordnung von Investitionsgemeinkosten wurden vorgenommen. Als Basis wird eine gebrauchte, generalüberholte Dekanterzentrifuge herangezogen.

Tab. 48 Investitionskosten einer Hitze koagulation und Zentrifugation zur Abtrennung von Proteinen aus Luzernesaft; Fall 1 und Fall 2

Koagulation/Zentrifugation	
Investition	60.000 €
Baulichkeiten	30.000 €
Engineering	20.000 €
Summe	110.000 €

1.3.6 Koagulation und Zentrifugation Fall 3

Die Daten wurden ausgiebig in Kromus et al. (2002) und Kromus (2002) diskutiert. Kleinere Adaptierungen, wie die direkte Zuordnung von Investitionsgemeinkosten wurden vorgenommen. Als Basis wird eine gebrauchte, generalüberholte Dekanterzentrifuge herangezogen.

Tab. 49 Investitionskosten einer Hitze koagulation und Zentrifugation zur Abtrennung von Proteinen aus Luzernesaft; Fall 3

Koagulation/Zentrifugation	
Investition	117.500 €
Baulichkeiten	30.000 €
Engineering	20.000 €
Summe	167.500 €

1.3.7 Fermentationspromotor Fall 1 und Fall 2

Nachdem das UF Permeat bzw. der Überstand aus der Zentrifugation lediglich eingedampft und verpackt wird, fallen keine Investitionskosten an.

Allerdings wird ein Wert für Engineering und bauliche Maßnahmen (z.B. Lagerung) festgelegt.

Tab. 50 Investitionskosten einer für die Herstellung eines Fermentationspromotors aus den flüssigen Rückständen der Proteinabtrennung; Fall 1 und Fall 2

Fermentationspromotor	
Investition	0 €
Engineering	7.500 €
Baulichkeiten	20.000 €
Summe	27.500 €

1.3.8 Fermentationspromotor Fall 3

Nachdem das UF Permeat bzw. der Überstand aus der Zentrifugation lediglich eingedampft und verpackt wird, fallen keine Investitionskosten an.

Allerdings wird ein Wert für Engineering und bauliche Maßnahmen (z.B. Lagerung) festgelegt.

Tab. 51 Investitionskosten einer für die Herstellung eines Fermentationspromotors aus den flüssigen Rückständen der Proteinabtrennung; Fall 3

Fermentationspromotor	
Investition	0 €
Engineering	15.000 €
Baulichkeiten	30.000 €
Summe	45.000 €

1.3.9 Grünmehlherstellung Fall 1

Aus dem Presskuchen der Luzerne wird Grünmehl (Futtermittel) hergestellt. Dazu ist es notwendig eine gebrauchte Trocknungsanlage und eine Trockenmühle anzuschaffen, die am Standort Hartberg installiert wird. Es wird von Gebrauchtpreisen auf dem Maschinenmarkt ausgegangen (Kromus 2002).

Tab. 52 Investitionskosten einer für die Herstellung von Grünmehl aus den festen Rückständen (Presskuchen) der Proteinabtrennung; Fall 1

Grünmehl	
Investition gebr.	163.835 €
Engineering	24.575 €
Baulichkeiten	30.000 €
Summe	218.410 €

1.3.10 Biogasanlage Fall 2

Die Investitionskosten von Biogasanlagen wurden bereits sehr ausführlich in Kromus et al. (2002) diskutiert. Die Darstellung bezieht sich auf die Beschickung mit allen festen Reststoffen (Luzernepresskuchen) aus der Proteinabtrennung und mit Grassilage in den Wintermonaten.

Tab. 53 Investitionskosten einer für die Herstellung Biogas aus den festen Rückständen der Proteinabtrennung; Fall 1 und Fall 2

Biogas	
Investition	1.833.629 €
Engineering	
Baulichkeiten	
Summe	1.833.629 €

Es wird angenommen, dass in Jahr acht das BHKW generalüberholt werden muss. Die Kosten werden mit ca. 360.000 € angesetzt.

1.3.11 Biogasanlage Fall 3

Die Investitionskosten von Biogasanlagen wurden bereits sehr ausführlich in Kromus et al. (2002) diskutiert. Die Darstellung bezieht sich auf die Beschickung mit allen festen Reststoffen (Luzernepresskuchen) aus der Proteinabtrennung und mit Grassilage in den Wintermonaten.

Tab. 54 Investitionskosten einer für die Herstellung Biogas aus den festen Rückständen der Proteinabtrennung; Fall 1 und Fall 3

Biogas	
Investition	2.844.096 €
Engineering Baulichkeiten	
Summe	2.844.096 €

Es wird angenommen, dass in Jahr acht das BHKW generalüberholt werden muss. Die Kosten werden mit ca. 910.000 € angesetzt.

1.4 Personalkosten

Bezüglich der Personalkosten kann angenommen werden, dass das Personal der Fa. LactoProt die Anlage mitbetreuen kann. D. h. zusätzliches Personal muss höchstens zu Spitzenzeiten anderer Produktionseinheiten eingestellt werden.

1.4.1 Fall 1

Tab. 55 Personalkosten für eine Proteinkonzentratproduktion aus Luzernesaft auf dem Standort der Fa. LactoProt; Fall 1 (Eigen Darstellung)

Personen	Art	€/h	h/a	Betrag
1	je Schicht Presse	21,00 €	3432	72.072 €
0,5	je Schicht Proteine	21,00 €	1716	36.036 €
0,25	je Schicht CSL	21,00 €	858	18.018 €
0,5	je Schicht Fasern	21,00 €	1716	36.036 €
0	h pro Tag Biogas	21,00 €	0	0 €
ZS 1	Direkte Personalkosten			162.162 €
0,33	Betriebsleiter+Verkauf+Marketing+F+E-Koord.	50,00 €	561	28.050 €
0,25	Verwaltung	35,00 €	425	14.875 €
0,25	Lager+Annahme+Verpackung+Versand	21,00 €	425	8.925 €
0,5	Betreuung Eindampfen und Trocknung	21,00 €	850	17.850 €
0,25	Labor	28,00 €	425	11.900 €
ZS 2	Personalgemeinkosten			81.600 €
	Gesamtsumme Personal GRÜN			243.762 €

1.4.2 Fall 2

Tab. 56 Personalkosten für eine Proteinkonzentratproduktion aus Luzernesaft auf dem Standort der Fa. LactoProt; Fall 2 (Eigen Darstellung)

Personen	Art	€/h	h/a	Betrag
1	je Schicht Presse	21,00 €	3432	72.072 €
0,5	je Schicht Proteine	21,00 €	1716	36.036 €
0,25	je Schicht CSL	21,00 €	858	18.018 €
0	je Schicht Fasern	21,00 €	0	0 €
4	h pro Tag Biogas	21,00 €	624	13.104 €
ZS 1	Modul-spezifische Personalkosten			139.230 €
0,33	Betriebsleiter+Verkauf+Marketing+F+E-Koord.	50,00 €	561	28.050 €
0,25	Verwaltung	35,00 €	425	14.875 €
0,25	Lager+Annahme+Verpackung+Versand	21,00 €	425	8.925 €
0,5	Betreuung Eindampfen und Trocknen	21,00 €	850	17.850 €
0,25	Labor	28,00 €	425	11.900 €
ZS 2	Globale Personalkosten			81.600 €
	Gesamtsumme Personal GRÜN			220.830 €

1.4.3 Fall 3

Im Gegensatz zu Fall 2 wird ein Arbeiter zusätzlich kalkuliert.

Tab. 57 Personalkosten für eine Proteinkonzentratproduktion aus Luzernesaft auf dem Standort der Fa. LactoProt; Fall 2 (Eigen Darstellung)

Personen	Art	€/h	h/a	Betrag
1,5	je Schicht Presse	21,00 €	4680	98.280 €
1,5	je Schicht Proteine	21,00 €	4680	98.280 €
0,5	je Schicht CSL	21,00 €	1560	32.760 €
0	je Schicht Fasern	21,00 €	0	0 €
4	h pro Tag Biogas	21,00 €	624	13.104 €
ZS 1	Modul-spezifische Personalkosten			242.424 €
0,33	Betriebsleiter+Verkauf+Marketing+F+E-Koord.	50,00 €	561	28.050 €
0,25	Verwaltung	35,00 €	425	14.875 €
0,25	Lager+Annahme+Verpackung+Versand	21,00 €	425	8.925 €
0,5	Betreuung UF+Steuerung	21,00 €	850	17.850 €
0,25	Labor	28,00 €	425	11.900 €
ZS 2	Globale Personalkosten			81.600 €
	Gesamtsumme Personal GRÜN			324.024 €

2 Discounted Cash Flow (DCF)

Der Discounted Cash Flow gilt wohl inzwischen neben dem Net Present Value (NPV) als das Standardverfahren zur Unterstützung von Investitions- bzw. Deinvestitionsentscheidungen. Basis des DCF sind Barwerte von Plan-Cashflows.

Als Zinssatz für die Errechnung der Barwerte wird der WACC (Weighted Average Cost of Capital) herangezogen.

Die Berechnung der Wirtschaftlichkeit erfolgt durch die Annahme eines Kuppelproduktsystems.

2.1 WACC (Weighted Average Cost of Capital)

Der Anteil des Eigenkapitals wird mit 55 % festgelegt. Der Anteil des Fremdkapitals beträgt somit 45 %.

Es wird angenommen, dass es keine nicht rückzahlbaren Förderungen gibt.

Tab. 58 Darstellung des WACC anhand von Annahmen

WACC	6,27%
Zinssatz risikofreier Anlagen	4,25%
Marktrendite (Annahme)	6,50%
beta-Faktor (Vol.) (Annahme)	1,5
Risikoprämie	3,38%
Eigenkapitalkosten	7,63%
Fremdkapitalzinsen (Annahme)	7,00%
Zinsen nach Steuern	4,62%

Nachdem es derzeit aufgrund der Situation auf den Kapitalmärkten äußerst schwierig ist vernünftige Werte für die Berechnung des WACC zu erhalten, basiert die Berechnung in Tab. 58 im wesentlichen auf Annahmen bzw. Beispielen in der Literatur (Kirschner 2003).

2.2 Rohstoffkosten

Die Rohstoffkosten wurden ausführlich mit K. Buchgraber (BAL-GUMPENSTEIN) diskutiert und die Ergebnisse in Kromus (2002) dargestellt. Die Transportkosten wurden für die Verarbeitung von Luzerne adaptiert. Es erfolgt nun die getrennte Darstellung der Annahmen. Es wird angenommen, dass die frische Luzerne mit einem landwirtschaftlichen Ladewagen zu einer Umladestelle gefahren wird, wo der Rohstoff auf einen herkömmlichen LKW umgeladen wird. Die Kosten für den Ladewagen stammen von der BAL-Gumpenstein. Für den LKW werden 0,11 € pro tkm angenommen. Die Grassilage für den Winterbetrieb der Biogasanlage wird direkt vom Silo auf einen Standard-LKW verladen.

Folgende Rohstoffmengen werden umgesetzt:

- Fall 1: 4486 t TM Luzerne mit 19,4 % TM
- Fall 2: 4486 t TM Luzerne mit 19,4 % TM und 3808 t TM Grassilage mit 32 % TM
- Fall 3: 11525 t TM Luzerne mit 19,4 % TM und 8560 t TM Grassilage mit 32 % TM

Tab. 59 Rohstoffkosten von Luzerne zur Verarbeitung in Proteinkonzentrat und Nebenprodukte Fall 1

Rohstoffe			
Erlöse			0 €
Rohstoffe-Grün 19,4 % TM	100%		-141.144 €
Transport (LW-Ladewagen)	10km		-36.744 €
Transport LKW Grün	20km		-50.841 €
Rohstoffkosten			-228.729 €

Tab. 60 Rohstoffkosten von Luzerne zur Verarbeitung in Proteinkonzentrat und Nebenprodukte inkl. Biogas Fall 2

Rohstoffe			
Erlöse			0 €
Rohstoffe-Grün 19,4 % TM	100%		-141.144 €
Transport (LW-Ladewagen)	10km		-36.744 €
Transport LKW Grün	20km		-50.841 €
Zwischensumme Luzernekosten			-228.729 €
Rohstoffe Winter Silage (f. Biogas)	32 % TM	100%	-288.529 €
Transport LKW Silage	20km		-26.183 €
Zwischensumme Silagekosten			-314.712 €
Rohstoffkosten			-543.441 €

Tab. 61 Rohstoffkosten von Luzerne zur Verarbeitung in Proteinkonzentrat und Nebenprodukte inkl. Biogas Fall 3

Rohstoffe			
Erlöse			0,00 €
Rohstoffe-Grün 19,4 % TM	100%		-362.657 €
Transport (LW-Ladewagen)	15km		-141.617 €
Transport LKW Grün	40km		-261.262 €
Zwischensumme Luzernekosten			-765.535 €
Rohstoffe Winter Silage (f. Biogas)	32 % TM	100%	-648.502 €
Transport LKW Silage	40km		-117.699 €
Zwischensumme Silagekosten			-766.201 €
Rohstoffkosten			-1.531.736 €

2.3 EBIT der Kuppelproduktion

Für jedes Produkt wird ein „Teil-EBIT“ (EBIT = Earnings Before Interest and Taxes) des Kostenträgers errechnet. Auch wenn in dieser Begriff in diesem Fall nicht direkt der EBIT Definition entspricht, ist das Projektteam der Meinung, dass dadurch die Übersichtlichkeit und Nachvollziehbarkeit erhöht wird. Eigentlich sind die Produkte als Kostenträger anzusehen.

Die Summe der definierten „Teil-EBITs“ ergibt den Gesamt-EBIT für die DCF Berechnung. Hier wird lediglich die Zusammenfassung aus der Kostenträgerrechnung dargestellt.

2.3.1 EBIT Fraktionierung Fall 1 und Fall 2

Tab. 62 EBIT der Fraktionierung (Kosten inkl. Abschreibung) zur Gewinnung von Proteinen aus Luzerne Fall 1 und Fall 2

Fraktionierung			
Erlöse			0 €
Personal direkt	21,00 €	pro h	-72.072 €
Strom			-29.574 €
Miete	3,00 €	pro m ²	-7.200 €
Sonstige BK			-1.500 €
Instandhaltung	1,50%	d. Invest.	-6.101 €
Versicherung	1,50%	d. Invest.	-6.101 €
Abschreibung	10a		-40.673 €
EBIT - Fraktionierung			-163.220 €

2.3.2 EBIT Fraktionierung Fall 3

Tab. 63 EBIT der Fraktionierung (Kosten inkl. Abschreibung) zur Gewinnung von Proteinen aus Luzerne Fall 3

Fraktionierung			
Erlöse			0 €
Personal direkt	21,00 €	pro h	-98.280 €
Strom			-80.127 €
Miete	3,00 €	pro m ²	-7.200 €
Sonstige BK			-1.500 €
Instandhaltung	1,50%	d. Invest.	-11.322 €
Versicherung	1,50%	d. Invest.	-11.322 €
Abschreibung	10a		-75.482 €
EBIT - Fraktionierung			-285.233 €

2.3.3 EBIT Ultrafiltration Fall 1

Tab. 64 EBIT der Ultrafiltration (Kosten inkl. Abschreibung) zur Gewinnung von Proteinen aus Luzerne Fall 1

Proteinabtrennung Ultrafiltration			
Erlöse			169.280 €
Personal direkt	21,00 €	pro h	-26.208 €
Personal GK	50%		-40.800 €
Membrane			-24.640 €
Strom			-5.905 €
Wärme (Eindampfen/Trocknung)			-18.568 €
Kühlung - Annahme			-3.000 €
Entkeimung (Strom/Dampf) - Annahme			-10.000 €
Miete	3,00 €	pro m ²	-3.600 €
Sonstige BK inkl. Verpackung			-3.000 €
Instandhaltung	0,50%	d. Invest.	-2.358 €
Versicherung	1,50%	d. Invest.	-7.075 €
Abschreibung	10a		-34.845 €
EBIT - UF			-10.719 €

2.3.4 EBIT Ultrafiltration Fall 2

Tab. 65 EBIT der Ultrafiltration (Kosten inkl. Abschreibung) zur Gewinnung von Proteinen aus Luzerne Fall 2

Proteinabtrennung Ultrafiltration			
Erlöse			169.280 €
Personal direkt	21,00 €	pro h	-26.208 €
Personal GK	75%		-61.200 €
Membrane			-24.640 €
Strom			-5.905 €
Wärme (Eindampfen/Trocknung)			-10.831 €
Kühlung - Annahme			-3.000 €
Entkeimung (Strom/Dampf) - Annahme			-10.000 €
Miete	3,00 €	pro m ²	-3.600 €
Sonstige BK			-3.000 €
Instandhaltung	0,50%	d. Invest.	-2.358 €
Versicherung	1,50%	d. Invest.	-7.075 €
Abschreibung	10a		-34.845 €
EBIT - UF			-23.382 €

2.3.5 EBIT Ultrafiltration Fall 3

Tab. 66 EBIT der Ultrafiltration (Kosten inkl. Abschreibung) zur Gewinnung von Proteinen aus Luzerne Fall 3

Proteinabtrennung Ultrafiltration			
Erlöse			741.373 €
Personal direkt	21,00 €	pro h	-78.624 €
Personal GK	75%		-61.200 €
Membrane			-73.920 €
Strom			-17.716 €
Wärme (Eindampfen/Trocknung)			-43.101 €
Kühlung - Annahme			-3.000 €
Entkeimung (Strom/Dampf) - Annahme			-10.000 €
Miete	3,00 €	pro m ²	-3.600 €
Sonstige BK			-3.000 €
Instandhaltung	0,50%	d. Invest.	-5.417 €
Versicherung	1,50%	d. Invest.	-16.251 €
Abschreibung	10a		-71.381 €
EBIT - UF			354.163 €

2.3.6 EBIT Koagulation und Zentrifugation Fall 1

Tab. 67 EBIT der Koagulation und Zentrifugation
(Kosten inkl. Abschreibung) zur Gewinnung
von Proteinen aus Luzerne Fall 1

Proteinabtrennung Koag./Zentrifugation			
Erlöse			160.870 €
Personal direkt	21,00 €	pro h	-36.036 €
Personal GK	50%		-40.800 €
Strom			-12.823 €
Wärme (Trocknung)			-21.831 €
Dampf			-17.028 €
Miete	3,00 €	pro m ²	-3.600 €
Sonstige BK inkl. Verpackung			-3.000 €
Instandhaltung	1,50%	d. Invest.	-1.650 €
Versicherung	1,50%	d. Invest.	-1.650 €
Abschreibung	10a		-11.000 €
EBIT - Koag.			11.452 €

2.3.7 EBIT Koagulation und Zentrifugation Fall 2

Tab. 68 EBIT der Koagulation und Zentrifugation
(Kosten inkl. Abschreibung) zur Gewinnung
von Proteinen aus Luzerne Fall 2

Proteinabtrennung Koag./Zentrifuge			
Erlöse			160.870 €
Personal direkt	21,00 €	pro h	-36.036 €
Personal GK	75,00%		-61.200 €
Strom			-12.823 €
Wärme (Trocknung)			-12.735 €
Dampf			-17.028 €
Miete	3,00 €	pro m ²	-3.600 €
Sonstige BK			-3.000 €
Instandhaltung	1,50%	d. Invest.	-1.650 €
Versicherung	1,50%	d. Invest.	-1.650 €
Abschreibung	10a		-11.000 €
EBIT - Koag.			149 €

2.3.8 EBIT Koagulation und Zentrifugation Fall 3

**Tab. 69 EBIT der Koagulation und Zentrifugation
(Kosten inkl. Abschreibung) zur Gewinnung
von Proteinen aus Luzerne Fall 3**

Proteinabtrennung Koag./Zentrifuge			
Erlöse			704.541 €
Personal direkt	21,00 €	pro h	-98.280 €
Personal GK	75%		-61.200 €
Strom			-49.806 €
Wärme (Trocknung)			-55.773 €
Dampf			-51.085 €
Miete	3,00 €	pro m ²	-3.600 €
Sonstige BK			-3.000 €
Instandhaltung	1,50%	d. Invest.	-2.513 €
Versicherung	1,50%	d. Invest.	-2.513 €
Abschreibung	10a		-16.750 €
EBIT - Koag.			360.022 €

2.3.9 EBIT Fermentationspromotor Fall 1

**Tab. 70 EBIT der Herstellung eines
Fermentationspromotors aus dem
Überstand der Koagulation und
Zentrifugation (Kosten inkl. Abschreibung)
Fall 1**

Fermentationspromotor (50 % TM)			
Erlöse			118.133 €
Personal direkt	21,00 €	pro h	-18.018 €
Personal GK	25%		-20.400 €
Strom			-1.500 €
Wärme (Eindampfen)			-35.793 €
Miete	3,00 €	pro m ²	-3.600 €
Sonstige BK			-1.000 €
Instandhaltung	2,50%	d. Invest.	-688 €
Versicherung	1,50%	d. Invest.	-413 €
Abschreibung	10a		-2.750 €
EBIT - Fermentationspromotor			33.972 €

Die Ströme aus Koag./Zentrifugation und Ultrafiltration unterscheiden sich nur geringfügig. Als EBIT für den Fermentationspromotor aus dem Ultrafiltrationspermeat erhält man demnach € 33.408,--

2.3.10 EBIT Fermentationspromotor Fall 2

Das EBIT des Fermentationspromotors unterscheidet sich im Fall 2 (ähnlich wie bei der Proteinabtrennung) nur durch die geringeren Kosten für das Eindampfen.

Der EBIT im Falle der Koagulation beträgt € 48.885,-- jener im Falle der Ultrafiltration € 47.443,--

2.3.11 EBIT Fermentationspromotor Fall 3

Tab. 71 EBIT der Herstellung eines Fermentationspromotors aus dem Überstand der Koagulation und Zentrifugation (Kosten inkl. Abschreibung) Fall 3

Fermentationspromotor (50 % TM)			
Erlöse			517.369 €
Personal direkt	21,00 €	pro h	-32.760 €
Personal GK	25%		-20.400 €
Strom			-1.500 €
Wärme (Eindampfen)			-56.758 €
Miete	3,00 €	pro m ²	-3.600 €
Sonstige BK			-1.000 €
Instandhaltung	2,50%	d. Invest.	-1.125 €
Versicherung	1,50%	d. Invest.	-675 €
Abschreibung	10a		-4.500 €
EBIT - Fermentationspromotor			395.051 €

Für die Gewinnung des Fermentationspromotors aus dem Ultrafiltrationspermeat ergibt sich ein EBIT von € 384.396,--

2.3.12 EBIT Grünmehlerzeugung Fall 1

Tab. 72 EBIT der Herstellung von Grünmehl aus dem Presskuchen (Kosten inkl. Abschreibung) Fall 1

Grünmehl			
Erlöse			582.695 €
Personal direkt	21,00 €	pro h	-36.036 €
Personal GK	25%		-20.400 €
Strom			-1.500 €
Wärme (Trocknung)			-392.154 €
Miete	3,00 €	pro m ²	-9.000 €
Sonstige BK			-1.000 €
Instandhaltung	2,50%	d. Invest.	-5.460 €
Versicherung	1,50%	d. Invest.	-3.276 €
Abschreibung	10a		-21.841 €
EBIT - Grünmehl			92.028 €

2.3.13 EBIT Biogaserzeugung Fall 2

Tab. 73 EBIT der Herstellung von Biogas aus dem Presskuchen (Kosten inkl. Abschreibung) Fall 2

Biogas			
Erlöse			931.272 €
Personal direkt	21,00 €	pro h	-27.216 €
Miete	1,50 €	pro m ²	-36.000 €
Sonstige BK			-1.000 €
Instandhaltung	4,00%	d. Invest.	-73.345 €
Versicherung	1,50%	d. Invest.	-27.504 €
Abschreibung	10a		-183.363 €
EBIT - Biogas			582.844 €

2.3.14 EBIT Biogaszeugung Fall 3

Tab. 74 EBIT der Herstellung von Biogas aus dem Presskuchen (Kosten inkl. Abschreibung)
 Fall 3

Biogas			
Erlöse			1.818.560 €
Personal direkt	21,00 €	pro h	-27.216 €
Strom			-1.500 €
Miete	1,50 €	pro m ²	-90.000 €
Sonstige BK			-1.000 €
Instandhaltung	4,00%	d. Invest.	-113.764 €
Versicherung	1,50%	d. Invest.	-42.661 €
Abschreibung	10a		-284.410 €
EBIT - Biogas			1.258.009 €

2.4 DCF Berechnung aus dem Gesamt-EBIT der Kuppelproduktion

Aus den jeweils wirtschaftlichsten Gesamt-EBITs wird der Discounted Cash Flow berechnet. Es zeigt sich, dass im Fall 1 und Fall 2 die Koagulation gegenüber der Ultrafiltration wirtschaftlich vorteilhafter ist. Bei Fall 3 beträgt der Unterschied allerdings lediglich 1,7 % zugunsten der Koagulation/Zentrifugation. Daher könnte die Ultrafiltration zur Qualitätsverbesserung des Produkts eingesetzt werden.

2.4.1 Wirtschaftlichster DCF Fall 1

Tab. 75 Wirtschaftlichster DCF Fall 1 – Proteinkonzentrat aus Luzerne Tabelle Teil 1

			0 2003	1 2004	2 2005	3 2006	4 2007	5 2008	6 2009	7 2010
EBIT-gesamt geplant			-254.496 €	-254.496 €	-254.496 €	-254.496 €	-254.496 €	-254.496 €	-254.496 €	-254.496 €
EBIT-aus Zusatzinvest										20.000 €
EBIT-neu			-254.496 €	-254.496 €	-254.496 €	-254.496 €	-254.496 €	-254.496 €	-254.496 €	-234.496 €
Steuern		34%	0 €	0 €	0 €	0 €	0 €	0 €	0 €	0 €
NOPAT(BI)			-254.496 €	-254.496 €	-254.496 €	-254.496 €	-254.496 €	-254.496 €	-254.496 €	-234.496 €
+ Abschreibungen		10%	76.264 €	76.264 €	76.264 €	76.264 €	76.264 €	76.264 €	89.189 €	89.189 €
Operativer CF (OCF)			-178.233 €	-178.233 €	-178.233 €	-178.233 €	-178.233 €	-178.233 €	-165.307 €	-145.307 €
+/- Erh./Senkung Working Cap.										
Lfd. Invest./Umsatz [%]									15%	
-/+ Invest/Deinvest			-762.636 €						-129.255 €	
Free Cash Flow (FCF)			-940.869 €	-178.233 €	-178.233 €	-178.233 €	-178.233 €	-178.233 €	-294.562 €	-145.307 €
+ Darlehen		45%	343.186 €							
- Tilgung	Jahre:	8	-42.898 €	-42.898 €	-42.898 €	-42.898 €	-42.898 €	-42.898 €	-42.898 €	-42.898 €
+ Förd. d. Invest. (nicht rückzahlbar)		0%	0 €							
Cash Flow aus Finanzierung (CFF)			-640.581 €	-221.131 €	-221.131 €	-221.131 €	-221.131 €	-221.131 €	-337.460 €	-188.206 €
Abzinsungsfaktor (WACC)		6,27%	1,00	0,94	0,88	0,82	0,77	0,72	0,68	0,64
Residualwert = Ewige Rente d. Normaljahres										
Discounted Cashflow (DCF)			-640.581 €	-207.260 €	-194.259 €	-182.074 €	-170.653 €	-159.948 €	-228.780 €	-119.590 €
Cumulated DCF				-847.841 €	-1.042.100 €	-1.224.174 €	-1.394.827 €	-1.554.775 €	-1.783.555 €	-1.903.145 €
Summe DCF-Barwerte			-3.774.945 €							
Anteil Residualwert am Unternehmenswert			42,8%							
Break Even (Jahr)										

Tab. 76 Wirtschaftlichster DCF Fall 1 – Proteinkonzentrat aus Luzerne Tabelle Teil 2

			8 2011	9 2012	10 2013	Normaljahr 11 2014
EBIT-gesamt geplant			-254.496 €	-254.496 €	-178.233 €	-178.233 €
EBIT-aus Zusatzinvest			20.000 €	30.000 €	30.000 €	20.000 €
EBIT-neu			-234.496 €	-224.496 €	-148.233 €	-158.233 €
Steuern		34%	0 €	0 €	0 €	0 €
NOPAT(BI)			-234.496 €	-224.496 €	-148.233 €	-158.233 €
+ Abschreibungen		10%	89.189 €	91.774 €	18.096 €	19.819 €
Operativer CF (OCF)			-145.307 €	-132.722 €	-130.137 €	-138.414 €
+/- Erh./Senkung Working Cap.						
Lfd. Invest./Umsatz [%]				3%	3%	5%
-/+ Invest/Deinvest				-25.851 €	-25.851 €	-43.085 €
Free Cash Flow (FCF)			-145.307 €	-158.573 €	-155.988 €	-181.499 €
+ Darlehen		45%				
- Tilgung	Jahre:	8	0 €	0 €	0 €	0 €
+ Förd. d. Invest. (nicht rückzahlbar)		0%				
Cash Flow aus Finanzierung (CFF)			-145.307 €	-158.573 €	-155.988 €	-181.499 €
Abzinsungsfaktor (WACC)		6,27%	0,60	0,56	0,52	0,56
Residualwert = Ewige Rente d. Normaljahres						-2.893.447 €
Discounted Cashflow (DCF)			-86.540 €	-88.516 €	-81.611 €	-1.615.133 €
Cumulated DCF			-1.989.684 €	-2.078.201 €	-2.159.812 €	-3.774.945 €
Summe DCF-Barwerte						
Anteil Residualwert am Unternehmenswert						
Break Even (Jahr)						NIE

2.4.2 Wirtschaftlichster DCF Fall 2

Tab. 77 Wirtschaftlichster DCF Fall 2 – Proteinkonzentrat aus Luzerne Tabelle Teil 1

			0 2003	1 2004	2 2005	3 2006	4 2007	5 2008	6 2009	7 2010
EBIT-gesamt geplant			-74.783 €	-74.783 €	-74.783 €	-74.783 €	-74.783 €	-74.783 €	-74.783 €	-74.783 €
EBIT-aus Zusatzinvest										
EBIT-neu			-74.783 €	-74.783 €	-74.783 €	-74.783 €	-74.783 €	-74.783 €	-74.783 €	-74.783 €
Steuern		34%	0 €	0 €	0 €	0 €	0 €	0 €	0 €	0 €
NOPAT(BI)			-74.783 €	-74.783 €	-74.783 €	-74.783 €	-74.783 €	-74.783 €	-74.783 €	-74.783 €
+ Abschreibungen		10%	237.785 €	237.785 €	237.785 €	237.785 €	237.785 €	237.785 €	237.785 €	237.785 €
Operativer CF (OCF)			163.002 €							
+/- Erh./Senkung Working Cap.										
Lfd. Invest./Umsatz [%]										
-/+ Invest/Deinvest			-2.377.855 €							
Free Cash Flow (FCF)			-2.214.853 €	163.002 €	163.002 €	163.002 €	163.002 €	163.002 €	163.002 €	163.002 €
+ Darlehen		45%	1.070.035 €							
- Tilgung	Jahre:	8	-133.754 €	-133.754 €	-133.754 €	-133.754 €	-133.754 €	-133.754 €	-133.754 €	-133.754 €
+ Förd. d. Invest. (nicht rückzahlbar)		0%	0 €							
Cash Flow aus Finanzierung (CFF)			-1.278.573 €	29.248 €	29.248 €	29.248 €	29.248 €	29.248 €	29.248 €	29.248 €
Abzinsungsfaktor (WACC)		6,27%	1,00	0,94	0,88	0,82	0,77	0,72	0,68	0,64
Residualwert = Ewige Rente d. Normaljahres										
Discounted Cashflow (DCF)			-1.278.573 €	27.413 €	25.693 €	24.082 €	22.571 €	21.155 €	19.828 €	18.585 €
Cumulated DCF				-1.251.159 €	-1.225.466 €	-1.201.384 €	-1.178.813 €	-1.157.658 €	-1.137.829 €	-1.119.245 €
Summe DCF-Barwerte			-777.800 €							
Anteil Residualwert am Unternehmenswert			-36,8%							
Break Even (Jahre)										

Tab. 78 Wirtschaftlichster DCF Fall 2 – Proteinkonzentrat aus Luzerne Tabelle Teil 2

			8 2011	9 2012	10 2013	Normaljahr 11 2014
EBIT-gesamt geplant			-74.783 €	-74.783 €	100.218 €	100.218 €
EBIT-aus Zusatzinvest				20.000 €	30.000 €	20.000 €
EBIT-neu			-74.783 €	-54.783 €	130.218 €	120.218 €
Steuern		34%	0 €	0 €	-44.274 €	-40.874 €
NOPAT(BI)			-74.783 €	-54.783 €	85.944 €	79.344 €
+ Abschreibungen		10%	274.094 €	277.725 €	43.570 €	49.621 €
Operativer CF (OCF)			199.310 €	222.941 €	129.514 €	128.965 €
+/- Erh./Senkung Working Cap.						
Lfd. Invest./Umsatz [%]			30%	3%	3%	8%
-/+ Invest/Deinvest			-363.082 €	-36.308 €	-36.308 €	-96.822 €
Free Cash Flow (FCF)			-163.772 €	186.633 €	93.206 €	32.143 €
+ Darlehen		45%				
- Tilgung	Jahre:	8	0 €	0 €	0 €	0 €
+ Förd. d. Invest. (nicht rückzahlbar)		0%				
Cash Flow aus Finanzierung (CFF)			-163.772 €	186.633 €	93.206 €	32.143 €
Abzinsungsfaktor (WACC)		6,27%	0,60	0,56	0,52	0,56
Residualwert = Ewige Rente d. Normaljahres						512.425 €
Discounted Cashflow (DCF)			-97.536 €	104.179 €	48.764 €	286.038 €
Cumulated DCF			-1.216.781 €	-1.112.602 €	-1.063.838 €	-777.800 €
Summe DCF-Barwerte						
Anteil Residualwert am Unternehmenswert						
Break Even (Jahre)						NIE

2.4.3 Wirtschaftlichster DCF Fall 3

Tab. 79 Wirtschaftlichster DCF Fall 3 – Proteinkonzentrat aus Luzerne Tabelle Teil 1

			0 2003	1 2004	2 2005	3 2006	4 2007	5 2008	6 2009	7 2010
EBIT-gesamt geplant			98.057 €	196.114 €	196.114 €	196.114 €	196.114 €	196.114 €	196.114 €	196.114 €
EBIT-aus Zusatzinvest										
EBIT-neu			98.057 €	196.114 €	196.114 €	196.114 €	196.114 €	196.114 €	196.114 €	196.114 €
Steuern		34%	-33.339 €	-66.679 €	-66.679 €	-66.679 €	-66.679 €	-66.679 €	-66.679 €	-66.679 €
NOPAT(BI)			64.717 €	129.435 €	129.435 €	129.435 €	129.435 €	129.435 €	129.435 €	129.435 €
+ Abschreibungen		10%	381.141 €	381.141 €	381.141 €	381.141 €	381.141 €	381.141 €	381.141 €	381.141 €
Operativer CF (OCF)			445.859 €	510.576 €	510.576 €	510.576 €	510.576 €	510.576 €	510.576 €	510.576 €
+/- Erh./Senkung Working Cap.										
Lfd. Invest./Umsatz [%]										
-/+ Invest/Deinvest			-3.811.412 €							
Free Cash Flow (FCF)			-3.365.553 €	510.576 €	510.576 €	510.576 €	510.576 €	510.576 €	510.576 €	510.576 €
+ Darlehen		45%	1.715.135 €							
- Tilgung	Jahre:	8	-214.392 €	-214.392 €	-214.392 €	-214.392 €	-214.392 €	-214.392 €	-214.392 €	-214.392 €
+ Förd. d. Invest. (nicht rückzahlbar)		0%	0 €							
Cash Flow aus Finanzierung (CFF)			-1.864.810 €	296.184 €	296.184 €	296.184 €	296.184 €	296.184 €	296.184 €	296.184 €
Abzinsungsfaktor (WACC)		6,27%	1,00	0,94	0,88	0,82	0,77	0,72	0,68	0,64
Residualwert = Ewige Rente d. Normaljahres										
Discounted Cashflow (DCF)			-1.864.810 €	277.605 €	260.192 €	243.871 €	228.573 €	214.235 €	200.797 €	188.201 €
Cumulated DCF				-1.587.204 €	-1.327.013 €	-1.083.142 €	-854.569 €	-640.333 €	-439.536 €	-251.335 €
Summe DCF-Barwerte			1.814.606 €							
Anteil Residualwert am Unternehmenswert			96,0%							
Break Even (Jahre)										

Tab. 80 Wirtschaftlichster DCF Fall 3 – Proteinkonzentrat aus Luzerne Tabelle Teil 2

			8 2011	9 2012	10 2013	Normaljahr 11 2014
EBIT-gesamt geplant			196.114 €	196.114 €	577.255 €	432.941 €
EBIT-aus Zusatzinvest					28.863 €	43.294 €
EBIT-neu			196.114 €	196.114 €	606.117 €	476.235 €
Steuern		34%	-66.679 €	-66.679 €	-206.080 €	-161.920 €
NOPAT(BI)			129.435 €	129.435 €	400.038 €	314.315 €
+ Abschreibungen		10%	472.355 €	481.477 €	109.457 €	124.659 €
Operativer CF (OCF)			601.790 €	610.912 €	509.494 €	438.974 €
+/- Erh./Senkung Working Cap.						
Lfd. Invest./Umsatz [%]			30%	3%	3%	8%
-/+ Invest/Deinvest			-912.141 €	-91.214 €	-91.214 €	-243.238 €
Free Cash Flow (FCF)			-310.351 €	519.698 €	418.280 €	195.737 €
+ Darlehen		45%				
- Tilgung	Jahre:	8	0 €	0 €	0 €	0 €
+ Förd. d. Invest. (nicht rückzahlbar)		0%				
Cash Flow aus Finanzierung (CFF)			-310.351 €	519.698 €	418.280 €	195.737 €
Abzinsungsfaktor (WACC)		6,27%	0,60	0,56	0,52	0,56
Residualwert = Ewige Rente d. Normaljahres						3.120.432 €
Discounted Cashflow (DCF)			-184.833 €	290.097 €	218.840 €	1.741.837 €
Cumulated DCF			-436.168 €	-146.071 €	72.769 €	1.814.606 €
Summe DCF-Barwerte						
Anteil Residualwert am Unternehmenswert						
Break Even (Jahre)					9,7	

Für Fall 3 kann der Shareholder Value berechnet werden (Tab. 81).

Tab. 81 Shareholder Value Fall 3 – Proteinkonzentrat aus Luzerne

Shareholder Value	
CFF (2003)	-1.864.810 €
+ DCF weitere Jahre	3.679.416 €
+ Residualwert	1.741.837 €
+ Marktwert nicht betriebsnotwendiger Mittel	-
Unternehmenswert	3.556.444 €
- Marktwert des Fremdkapitals	-
Wert des Eigenkapitals	3.556.444 €

Im Gegensatz zu Fall 1 und Fall 2 wurde angenommen, dass erst im zweiten Jahr der volle EBIT zu erreichen ist. Für das erste Jahr wird der EBIT auf 50 gesetzt.

Abb. 110 und Abb. 111 zeigen den Verlauf des Discounted Cash Flows bzw. des Cumulated DCF.

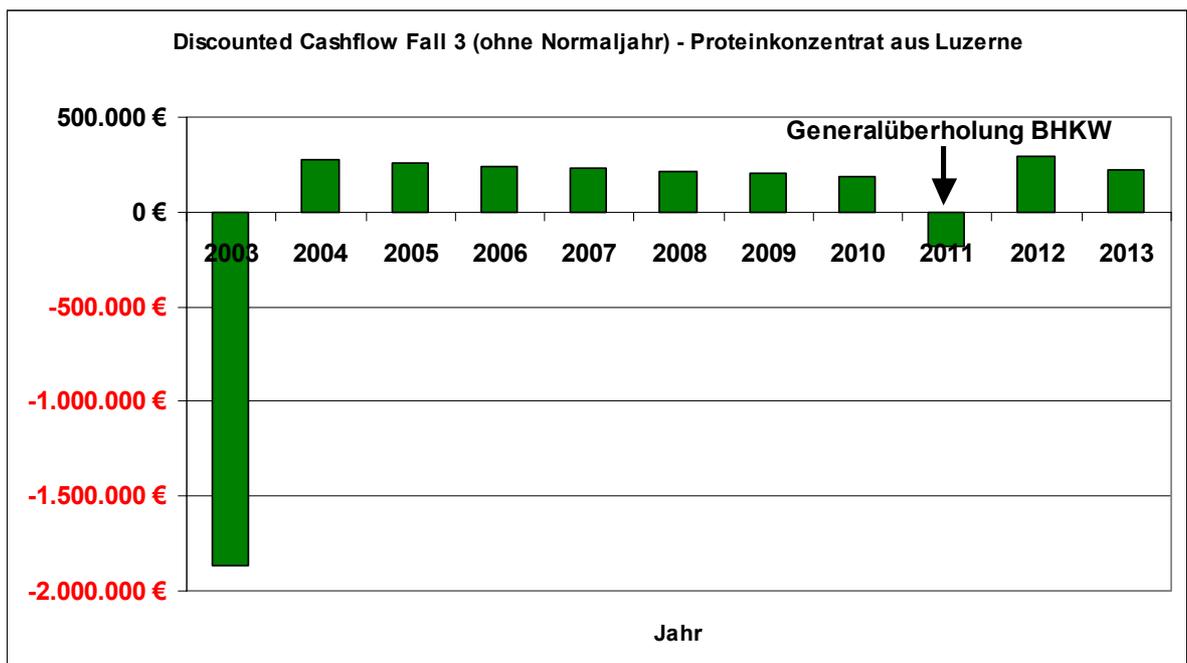


Abb. 110: Discounted Cashflow Fall 3 (ohne Normaljahr) – Proteinkonzentrat aus Luzerne

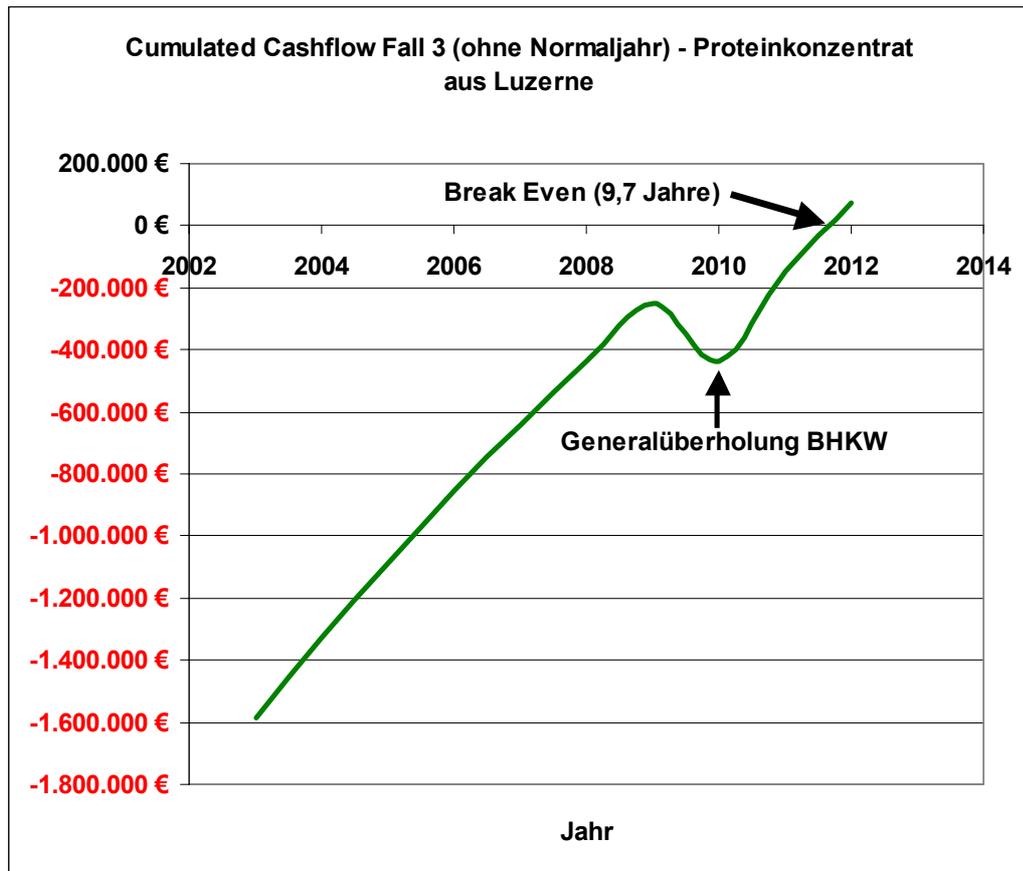


Abb. 111: Cumulated Discounted Cashflow Fall 3 (ohne Normaljahr) – Proteinkonzentrat aus Luzerne

3 Interpretation der Ergebnisse

Abgesehen von der Tatsache, dass durch den Wegfall der kombinierten Verarbeitung von frischer Luzerne und Grassilage für die Proteinherstellung Kampagnenbetrieb notwendig ist, zeigen die Modelle lediglich durch Ausnutzung der „Economy of Scale“ einen positiven Unternehmenswert (Fall 3).

Die Zeitachse der Planung von 11 Jahren ist als sehr lange einzustufen, deckt sich aber mit Ansätzen der Branche.

Fall 1 und Fall 2 sind eindeutig als unwirtschaftlich einzustufen. Es gibt kein Szenario, selbst bei sehr positiven, aber realistischen, Annahmen, die für eine Investition sprechen würden.

Bei Ausnutzung der „Economy of Scale“ mit Investitions- und Personalkostendegression, aber bei etwas höheren Rohstoffkosten durch den größeren Logistikaufwand, ergibt sich ein Break Even der Anlage nach 9,7 Jahren.

Generell werden keine Erlöselastizitäten einbezogen, da die Erlösstruktur sehr genau recherchiert und für nicht veränderbar befunden wurde (Biogas Einspeistarif auf 13 Jahre festgelegt). Einzige Möglichkeit für eine verbesserte Erlösstruktur ergäbe sich für den Bereich Wärme. Allerdings wäre aus heutiger Sicht die Planung mit höheren Wärmeerlösen aus der Biogasanlage unseriös.

Die Kostenstruktur der Rohstoffe ist als sehr hoch einzuschätzen. Sie wurde aber sehr aufwendig erhoben und mit vielen Experten diskutiert. Die Rohstoffkosten sind demnach so angesetzt, dass die Landwirte damit auskommen können. Niedrigere Rohstoffpreise würde die Problematik und die soziale Schere der Landwirtschaft negativ beeinflussen. Durch die EU Erweiterung wird es aber voraussichtlich zu einer Verringerung dieser Kosten kommen. Wird den österreichischen Bauern dann nicht durch Förderungen geholfen, muss man bezweifeln, dass die soziale Nachhaltigkeit in der Landwirtschaft weiterhin gegeben ist. Nachdem es sich bei der Grünen Bioraffinerie allerdings um ein gesamtheitlich nachhaltiges Projekt handeln soll, wird in allen Modellen der Rohstoffpreis konstant hoch gehalten.

Trotz einem Break Even nach 9,7 Jahren und der nachhaltigen Wirtschaftlichkeit im Fall 3 kann aus folgenden Gründen derzeit keine Investitionsempfehlung abgegeben werden:

1. In Fall 3 wurde eine Steigerung der Proteinproduktausbeute von 35 % bis 40 % gegenüber Fall 1 und 2 angenommen. Diese ist durchaus realistisch, da eine diesbezügliche Referenzanlage in Frankreich existiert, dennoch existiert doch ein hohes Risiko, da man über die Schwankungen der Rohstoffqualitäten bei Luzernen noch zu wenig weiß. Hier müsste zunächst der Betrieb einer Pilotanlage über zumindest zwei Saisonen vorangestellt werden. Die Investition in diese Pilotanlage kann die Gesamtinvestitionskosten aber beträchtlich erhöhen.
2. Trotz verbesserter Produkteigenschaften (Löslichkeit) durch die Verwendung einer modernen Ultrafiltrationsanlage mit Keramikmembranen handelt es sich bei dieser Anlage um keine echte Innovation. Das Modell widerspricht dem Ansatz der Grünen Bioraffinerie sowohl im Rohstoffmix als auch im Bereich des Produktstammbaums. Alle Produkte sind althergebrachte Produkte ohne wesentlichen Zusatznutzen. Dies wirkt sich natürlich auf die Erlösstruktur und auf die als negativ zu bewertende Abhängigkeit vom Weltmarkt aus.

3. Die Grüne Bioraffinerie hat daher die Nutzung von Silage als Prämissen gewählt. Diese Prämissen wurden aufgestellt, um Kampagnenbetrieb zu vermeiden und um die Logistikkosten gering zu halten. Diese Luzerne Anlage müsste im Kampagnenbetrieb mit enormem Logistikaufwand (außer Biogas) betrieben werden. Es müssten 60.000 t FM „Just in Time“, nämlich erntefrisch, aus der kleinräumigen österr. Landwirtschaft zur Verarbeitungsanlage gebracht werden. Die Luzerne dürften voraussichtlich maximal drei Stunden in einem Pufferlager verbringen. Dieser Parameter wäre als nicht nachhaltig anzusehen. Außerdem ist die Fokussierung auf nur einen Rohstoff als wirtschaftlich riskant anzusehen (Ernteaussfälle), denn die Erfahrung mit großflächigem Luzerneanbau ist in Österreich gering, auch wenn die Luzerne als Leguminose eine ökologisch sinnvolle Alternative zu Mais ist.
4. Nachdem in einer derartigen Anlage nur durch die Biogasanlage auch die Kulturlandschaft (z.B. Streuobstwiesensilage im Winterbetrieb) gepflegt werden kann ist von der Luzerneanlage diesbezüglich kein Beitrag zu erwarten. Die Größe der Biogasanlage ist mit ca. 19.000 t TM pro Jahr als „sehr groß“ zu bewerten. Es konnte im Rahmen dieses Projekts nicht geklärt werden inwieweit sich eine Rückführung der Biogasgülle auf die Felder logistisch organisieren ließe.
5. Der ursprüngliche Plan der Dezentralisierung der Fraktionierung und der Biogasproduktion könnte eine Entlastung im Logistikaufwand bringen. Nur lässt sich dann die Investitions- und Personalkostendegression nur noch bedingt realisieren. D.h. die Wirtschaftlichkeit einer derartigen dezentralen oder semi-dezentralen Anlage (vgl. Kromus et al. 2002) ist dann nicht mehr gegeben.

Aufgrund der Betrachtungen in Punkt 1 bis 4 muss daher betont werden, dass der Ansatz der Grünen Bioraffinerie Österreich aufgrund der Projektergebnisse nun voll auf die alleinige Verarbeitung von Silage konzentriert ist. Nur im Falle der Nutzung von Spezialprodukten aus der Luzerne oder Rotklee (z.B. Saponine, Lutein, Isoflavone, etc.) würde die Einbeziehung von grüner Frischmasse wieder Sinn machen.

Sollten sich die Rahmenbedingungen in Europa durch die Ökologisierung der Landwirtschaft und die Entwicklung eines nachhaltigen Wirtschaftssystems ändern, dann könnten durch eine verbesserte Erlösstruktur dezentrale ökologisch arbeitende Luzerne Anlagen innerhalb eines Jahres errichtet werden.

Die zukünftige Fokussierung auf Silage kann daher wie folgt begründet werden:

1. Silage bietet durch natürliche und ökologische Vorgänge freie Aminosäuren, die mittels hoch innovativer Technologien gemeinsam mit Milchsäure abgetrennt werden können. Die Technologien benötigen allerdings eine verlängerte Entwicklungsphase gegenüber den in diesem Projekt untersuchten, sind aber dafür als einzigartig (Technologievorsprung) anzusehen.
2. Kein anderer Rohstoff, außer Grünlandsilage, bietet diesen Vorteil. Jegliche andere Proteine, die derzeit im Einsatz sind, müssen aufwendig chemisch hydrolysiert werden.
3. Die Ausbeute an Aminosäuren beträgt ca. 40 bis 50 % des Rohproteins im Grassilagerohstoff. Ca. 65 % davon können aus dem Saft als hochwertiges Produkt gewonnen werden. Dies bedeutet auf Basis des Rohproteins zumindest eine Steigerung der Ausbeute um 50 bis 60 %, selbst im Vergleich mit FRANCE LUZERNE.

4. Das mögliche Produktspektrum in Kombination mit der Milchsäuregewinnung (siehe Projekt „Milchsäure aus Grassilage“) ist riesig und reicht von Futtermittel über Lebensmittel bis zu Kosmetik und Pharma.
5. Durch die breiten Einsatzmöglichkeiten sind der Produktentwicklungsphantasie keine Grenzen gesetzt. Ein großes Wertschöpfungspotenzial durch Sekundär- und Tertiärprodukte kann prognostiziert werden (z.B. „Functional Food“).
6. Die Technologien können voraussichtlich so flexibel gestaltet werden, dass sie auch die Grundlage für die Abtrennung von Spezialstoffen bieten (Stichwort: „Low volume – High Price“).

Grundsätzliche Betrachtungen zur Wirtschaftlichkeit der Abtrennung von Aminosäuren aus Silagesäften sind in Anhang J zu finden.

Anhang J

Wirtschaftliche Bewertung der Gewinnung von Aminosäuren aus Grassilage

1 Grundsätzliche ökonomische Überlegungen zur Gewinnung von Aminosäuren aus Grassilage

Ein Einsatzgebiet für einzelne Aminosäuren wäre die Pharmazie. Proteinhydrolysate könnten je nach Qualitätsstandard auch in der Futtermittelindustrie und der Lebensmittelindustrie (Spezialernährung im Gesundheits- und Sportbereich) eingesetzt werden. Da Silagesaft bis zu 35 % der Trockenmasse aus Aminosäuren besteht scheint dieser Weg sinnvoll. Der Silagesaft steht dabei allerdings in Konkurrenz zu anderen Rohstoffen wie Melasse (Amino 2002) und Soja. Für Silagesaft spricht das breite Spektrum der Aminosäuren, der hohe Gehalt an Aminosäuren im Silagesaft und die Tatsache, dass ein Grossteil der Aminosäuren als freie Aminosäuren vorliegt.

Die Extraktion von Aminosäuren aus natürlichen hydrolysierten Proteinen steht in Konkurrenz zur fermentativen Herstellung von Aminosäuren. Lysin als wichtigste und im Futtermittelbereich am häufigsten eingesetzte Aminosäure wird in großem Maßstab fermentativ, meist mit gentechnisch modifizierten Stämmen, hergestellt und kostet am freien Markt rund 1,50 bis 2,50 (derzeit) € pro kg (Lysinhydrochlorid 60 bis 80 % - Futterqualität). Dieser niedrige Weltmarktpreis scheint für die Erzeugung von ausschließlich Lysin aus Grassilagen nicht hoch genug zu sein. Allerdings könnte durch die Extraktion eines Aminosäurengemisches oder einzelner Aminosäuren eine höhere Wertschöpfung erreicht werden.

Das Aminosäurenprofil der Silagesäfte wurde bereits in Anhang F, Kapitel 4.1 dargestellt. Abb. 112 zeigt das TM Profil eines Bastardraygrassilagesafts der 1. Pressung des Jahres 2002 (Probe 02/19).

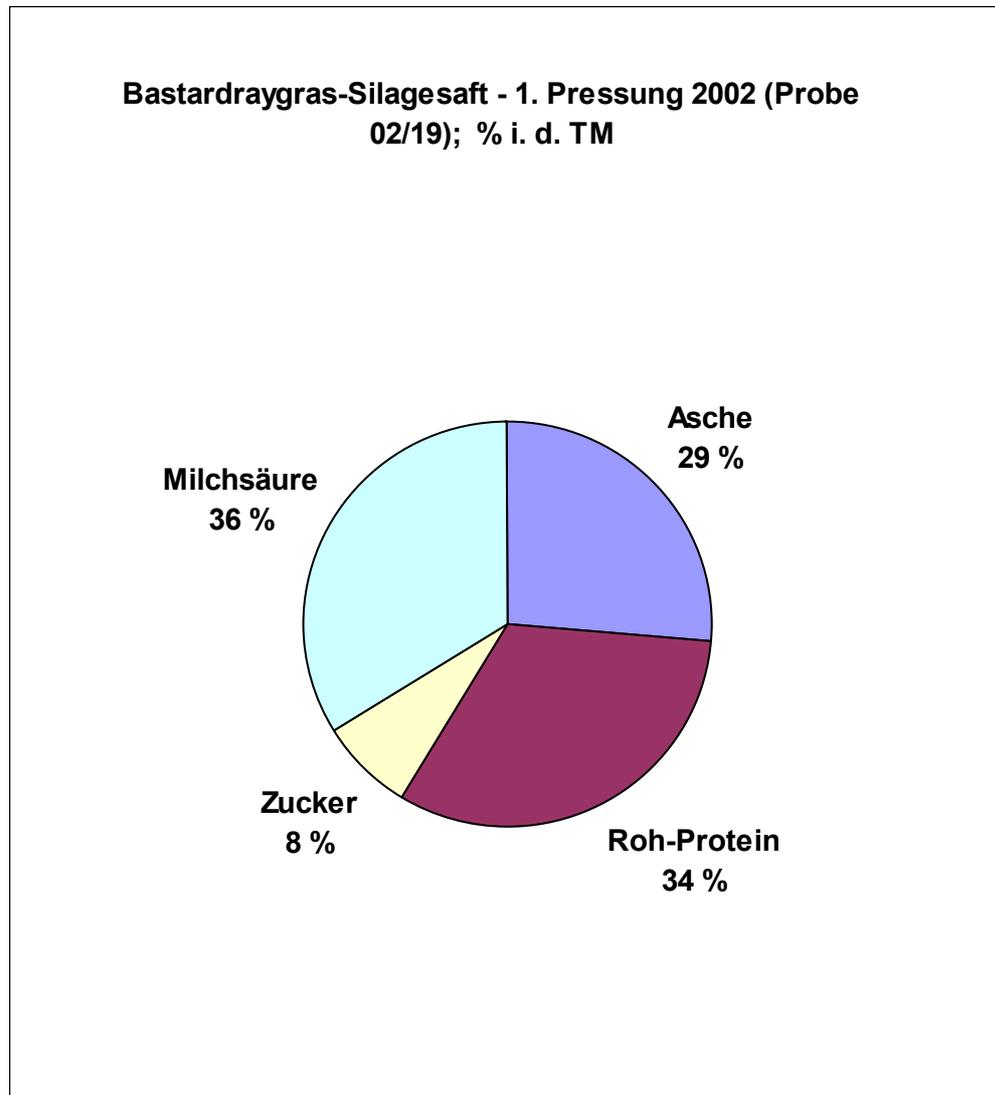


Abb. 112: Zusammensetzung der Trockenmasse eines Bastardraygras Silagesaftes der 1. Pressung 2002 (Probe 02/19) [% i. d. TM]

Ca. 90 % des Rohproteins sind Aminosäuren. Vergleicht man diese Werte mit Melasse sieht man sofort die Attraktivität dieses einzigartigen Rohstoffs. Während für Zucker maximal 0,65 €/kg zu erzielen ist (inkl. Marktverzerrung durch massive Subventionen) so erzielt man für die Aminosäuren zumindest den Lysinpreis von 1,50 bis 2,50 €/kg Aminosäurenprodukt.

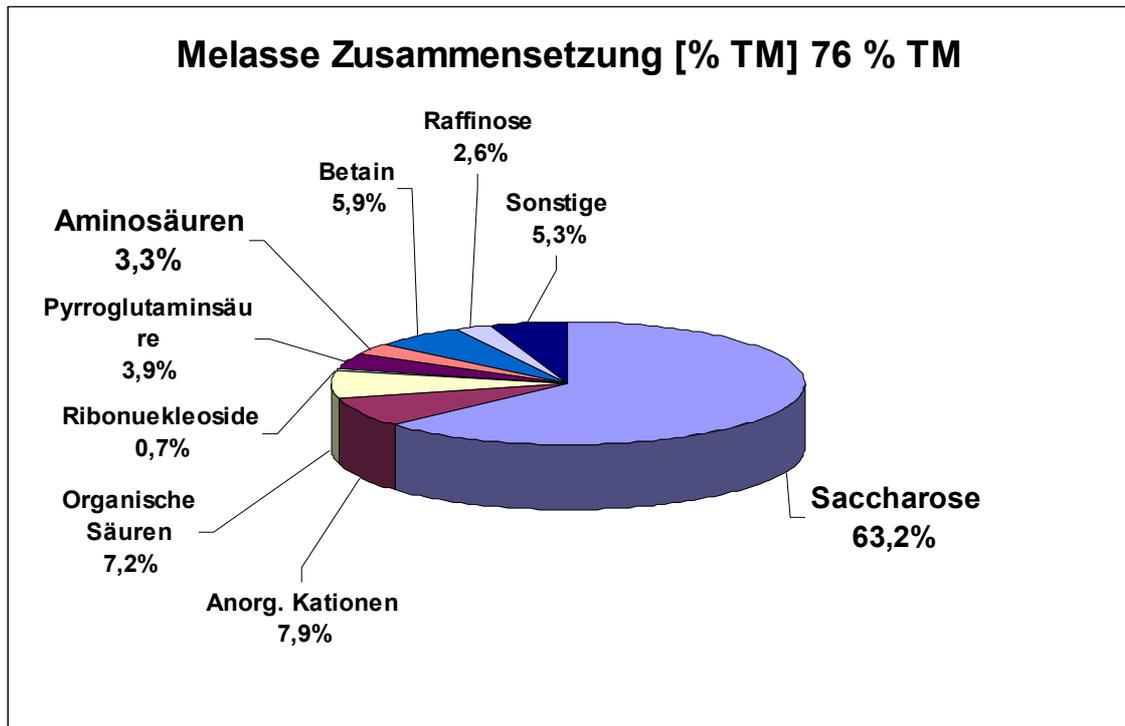


Abb. 113: Zusammensetzung der Trockenmasse von Melasse [% i. d. TM]
(AMINO 2002)

Für einige Aminosäuren konnten im Rahmen dieses Projekts Preise erhoben werden. Die Preiserhebung gestaltet sich in einem sehr unübersichtlichen Markt schwierig, daher wurde zunächst ein Richtpreisangebot für Aminosäuren in Pharmaqualität der Fa. DEGUSSA AG angefordert. Setzt man die Werte der freien Aminosäuren des UF-Permeats 02/20 ein, das als eher unterdurchschnittlich zu bewerten ist, ergibt sich für die Aminosäuren ein Durchschnittswert von 19,80 €/kg Aminosäuren (Tab. 82). Dieser Wert ist allerdings unter der Einschränkung zu sehen, dass nicht für alle Aminosäuren Messwerte vorliegen und, dass für Aminosäuren mit unbekanntem Marktpreis lediglich ein extrem niedriger Wert (vgl. Lysin) von 1,50 €/kg angesetzt wurde.

Tab. 82 Durchschnittswert des Aminosäurenmixes des Silagesaftpermeats 02/20 anhand von Richtpreisen der Fa. DEGUSSA AG bzw. eigenen Annahmen - Pharmaqualität

Amino Acid	g/kg AA (02/20)	%	Preise	Quelle	%*Preis
Ala	131,9	13,2%	29,65 €	Degussa	3,91 €
Arg	6,4	0,6%	37,10 €	Degussa	0,24 €
Asp+Asn	67,2	6,7%	1,50 €	Annahme	0,10 €
Cys	-	-	1,50 €	Annahme	-
Gln, Glu	99,2	9,9%	37,10 €	Degussa	3,68 €
Gly	57,3	5,7%	12,35 €	Degussa	0,71 €
His	25,6	2,6%	1,50 €	Annahme	0,04 €
Ile	59,5	6,0%	71,00 €	Degussa	4,23 €
Leu	121,2	12,1%	28,00 €	Annahme	3,39 €
Lys	96,0	9,6%	1,50 €	Annahme	0,14 €
(Met)	29,6	3,0%	1,50 €	Annahme	0,04 €
Phe	65,5	6,5%	1,50 €	Annahme	0,10 €
Pro	-	-	32,65 €	Degussa	-
Ser	70,6	7,1%	1,50 €	Annahme	0,11 €
Thr	79,7	8,0%	1,50 €	Annahme	0,12 €
Trp	-	-	1,50 €	Annahme	-
Tyr	8,1	0,8%	1,50 €	Annahme	0,01 €
Val	82,2	8,2%	36,00 €	Degussa	2,96 €
Summe	1000,0	100%	-	-	19,78 €

Selbst im Falle, dass nur die Hälfte des angenommenen Wertes am Markt tatsächlich erzielt werden könnte (ca. 10 €/kg) wäre der Unterschied zu einem Proteinprodukt aus Luzernesaft (ca. 1,40 €/kg Rohprotein) enorm. Einschränkend ist anzumerken, dass die Gewinnung von Pharmaqualität technologisch aufwendig ist. In Folgeprojekten sollte daher untersucht werden, inwieweit das "Wert zu Aufwand" – Verhältnis optimiert werden kann (z.B. Food Grade oder Kosmetikindustrie).

2 Kostenstruktur der Silagesaferzeugung und Aminosäurengewinnung anhand der Versuchsergebnisse 2002

Eine Grüne Bioraffinerie basierend auf der Verarbeitung von Grassilage kann aus folgenden Gründen problemlos eine positiv kritische Größe von ca. 10.000 t TM bis 20.000 t TM erreichen:

1. Die Erstverarbeitung der Grünlandbiomasse erfolgt in Silos direkt am Bauernhof.
2. Diese Silos dienen als Zwischenlager und bieten über das Jahr verteilt kontinuierliche Rohstoffmengen. Die Anlage muss daher nicht im Kampagnenbetrieb gefahren werden.
3. Der Rohstoff hat einen höheren Trockenmasseanteil (ca. 25 bis 35 % TM) und durch die Verdichtung im Silo eine höhere Transportdichte. Dies führt zu wesentlich geringeren Logistikkosten.
4. Dadurch, dass die Anlage 12 und nicht 6 Monate ausgelastet ist, ist eine 10.000 t TM Anlage von der Größenordnung der Fixkosten äquivalent einer ca. 5.000 t TM Anlage basierend auf Grünlandbiomasse. D.h. eine 10.000 t TM Silage Bioraffinerie ist als „klein“ einzustufen.

Unter Einbeziehung des Mittelwertes der Proben 02/19; 02/24 und 02/26 kann pro Tonne Trockenmasse aus Grassilage durchschnittlich 97,50 kg Rohprotein gewonnen werden. Dieser Mittelwert ergibt sich durch Einfachpressung und ohne vorherige Feinzerkleinerung. Die Silage wird allerdings vor der Abpressung auf ca. 20 bis 22 % TM angefeuchtet. Dieser Wert entspricht einer durchschnittlichen Rohproteinausbeute aus dem Silagerohstoff von 47,7 %.

Die bisherigen Erfahrungen, ohne Optimierung, zeigen eine mögliche Aminosäureausbeute auf Basis des Rohproteingehaltes im Saft von 65 %. D.h. es könnten pro Tonne Trockenmasse ca. 63 kg Aminosäuren gewonnen werden.

Hochgerechnet auf Fall 3 der Bewertung der Luzerneverarbeitung (Anhang I) bedeutet dies im Falle der Verarbeitung von 11.525 t TM (32 % TM) Silage eine Menge von 726 t Aminosäuren pro Jahr.

Die Rohstoffkosten für die Silage belaufen sich genau wie in Fall 3 (Anhang I) auf 89,50 €/t TM inkl. Transport (40 km bei 0,11 €/tkm). Das ergibt eine Summe von 1.030.000 € oder 1,42 €/kg Aminosäuren.

Die Kosten (EBIT Fraktionierung) für die Fraktionierung belaufen sich in Analogie zu Fall 3, allerdings ohne Feinzerkleinerung und 52 Wochen pro Jahr Betrieb auf ca. 300.000 €.

Dies sind weitere 0,41 € pro kg Aminosäuren. Allerdings ist klar, dass mindestens 50 % der Kosten von den übrigen Produkten (Milchsäure, Fasern, Biogas, etc.) getragen werden müssen. Dies bedeutet dann Basiskosten pro kg Aminosäuren (ohne Zinsen vor Steuern) von ca. 0,92 €/kg.

Die Ergebnisse zeigen, dass genügend Spielraum existiert, um gegenüber der Proteingewinnung aus Luzerne, aufwendigere Abtrennungstechnologie zu installieren. Allerdings ist festzustellen, dass eine Futtermittelvariante (ca. 2,00 €/kg Gemisch) die geringste Wertschöpfung erbringen würde. Die Strategie muss daher in Richtung höherwertiger Spezialgemische oder Einzelaminosäuren für Food, Kosmetik oder Pharma führen.

Anhang K Tabellen zu den Analytikergebnissen - Säfte

**Tab. 83 Übersicht über die durchgeführten Analysen
– Teil 1 (grüne Säfte 2001)**

Nr. (Jahr, Nummer)	Wiese, Schnitt	Verarbeitung G...Grün, S...Silage mit Bakterienstamm z.B. IFAS3 oder BonS PS...Presssaft (Il...2. Pressung) mit Datum Sl...Steam Injection (L/P...Liquid/Pellet nach Zentrifugation), UF...Ultrafiltration (Perm/Ret...Permeat, Retentat), 015...15 kD Cut Off	Dry Matter, DM	Asche	Kjeldhal Stickstoff, TKN	Ammonium	Aminosäuren, hydr.	AA, Cys, Pro, Met	AA, Trp	AA, GABA	Aminosäuren, ohne Hydr.	Zucker, org. Säuren	Ionen	Lowry	Elektrophorese
			x	x	x	x	x	-	-	-	-	x	-	x	-
01/01	Kleegras 1.Schnitt	G-PS	x	x	x	x	x	-	-	-	-	x	-	x	-
01/02	Kleegras 1.Schnitt	G-PS-SI-P	x	x	x	x	x	-	-	-	-	x	-	-	-
01/03	Kleegras 1.Schnitt	G-PS-SI-L	x	x	x	x	x	-	-	-	-	x	x	-	-
01/04	Kleegras 1.Schnitt	G-PS-SI-L-UF-Ret015	x	x	x	x	x	-	-	-	-	-	-	-	-
01/05	Kleegras 1.Schnitt	G-PS-SI-L-UF-Perm015	x	x	x	x	x	-	-	-	-	x	-	-	-
01/06	Kleegras 1.Schnitt	G-PS-SI-L-UF-Perm015	x	x	x	x	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/07	Kleegras 1.Schnitt	G-PS-SI-L-UF-Perm015	x	x	x	x	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/08	Dauerwiese 1.Schnitt	G-PS	x	x	x	x	x	x	-	-	-	x	x	x	x
01/09	Dauerwiese 1.Schnitt	G-PS	x	x	x	x	x	-	-	-	-	x	-	(x)	(x)
01/10	Dauerwiese 1.Schnitt	G-PS	x	x	x	x	-	-	-	-	-	-	-	(x)	(x)
01/11	Dauerwiese 1.Schnitt	G-PS-SI-P	x	x	x	x	x	x	x	-	-	-	-	-	-
01/12	Dauerwiese 1.Schnitt	G-PS-UF-Perm015	x	x	x	x	x	-	-	x	-	x	-	-	-
01/13	Dauerwiese 1.Schnitt	G-PS-UF-Ret015	x	x	x	x	x	-	-	x	-	-	-	-	-
01/14	Kleegras 2.Schnitt	G-PS	x	x	x	x	x	-	-	-	-	x	x	x	x
01/15	Kleegras 2.Schnitt	G-PS	x	-	x	-	-	x	x	-	-	-	-	(x)	(x)
01/16	Kleegras 2.Schnitt	G-PS	x	x	x	x	x	-	-	-	-	x	-	(x)	(x)
01/17	Kleegras 2.Schnitt	G-PS-UF-Ret015	x	x	x	x	x	-	-	-	-	x	-	-	-
01/18	Kleegras 2.Schnitt	G-PS-UF-Perm015	x	x	x	x	x	-	-	-	-	x	-	-	-
01/19	Kleegras 2.Schnitt	G-PS-UF-Perm015	x	x	x	x	x	-	-	-	-	x	-	-	-
01/20	Kleegras 2.Schnitt	G-PS-UF-Perm015	x	x	x	x	x	-	-	-	-	x	-	-	-
01/21	Kleegras 2.Schnitt	G-PS-UF-Perm015	x	x	x	x	x	-	-	-	x	x	-	-	-
01/22	Kleegras 2.Schnitt	G-PS-UF-Ret015	x	x	x	x	x	x	-	-	-	x	-	-	-
01/23	Kleegras 2.Schnitt	G-PS-UF-Ret015	x	-	x	-	-	x	x	-	-	-	-	-	-
01/24	Kleegras 2.Schnitt	G-PS-UF-Perm015	x	-	x	-	-	-	-	-	-	-	x	-	-
01/25	Kleegras 2.Schnitt	G-PS-UF-Ret015	x	-	x	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/26	Kleegras 2.Schnitt	G-PS-SI-P	x	x	x	x	x	x	-	-	-	x	-	-	-
01/27	Kleegras 2.Schnitt	G-PS-SI-L	x	x	x	x	x	-	-	-	-	x	-	-	-
01/28	Gemisch	G-PS-UF-Ret015/050, sprühgetr.	x	x	x	x	x	x	x	-	-	x	-	-	-
01/29	Bastardraygras 3.Schnitt	G-PS	x	x	x	x	x	x	-	-	-	x	x	x	x
01/30	Bastardraygras 3.Schnitt	G-PS	x	x	x	x	-	-	-	-	-	-	-	(x)	(x)
01/31	Bastardraygras 3.Schnitt	G-PS-UF-Perm015	x	x	x	x	x	-	-	x	x	x	-	-	-
01/32	Bastardraygras 3.Schnitt	G-PS-UF-Ret015	x	x	x	x	x	-	-	x	-	x	-	x	x
01/33	Bastardraygras 3.Schnitt	G-PS-UF-Perm050	x	x	x	x	x	-	-	x	x	x	-	-	-
01/34	Bastardraygras 3.Schnitt	G-PS-UF-Ret050	x	x	x	x	x	-	-	x	-	x	-	x	x
01/35	Bastardraygras 3.Schnitt	G-PS-UF-Perm050-UF-Ret001	x	x	x	x	x	-	-	x	-	x	-	-	-
01/36	Bastardraygras 3.Schnitt	G-PS-UF-Perm050-UF-Perm001	x	x	x	x	x	-	-	x	-	x	-	-	-
01/37	Knaulgras 2.Schnitt	G-PS	x	x	x	x	x	x	-	-	-	x	x	x	x

**Tab. 84 Übersicht über die durchgeführten Analysen
– Teil 2 (Silageäfte 2001)**

Nr. (Jahr, Nummer)	Wiese, Schnitt	Verarbeitung G...Grün, S...Silage mit Bakterienstamm z.B. IFAS3 oder BonS PS...Presssaft (Il...2. Pressung) mit Datum SI...Steam Injection (L/P...Liquid/Pellet nach Zentrifugation), UF...Ultrafiltration (Perm/Ret...Permeat, Retentat), 015...15 kD Cut Off	Dry	Asche	Kjeldhal	Ammonium	Aminosäuren, hydr.	AA, Cys, Pro, Met	AA, Trp	AA, GABA	Aminosäuren, ohne Hydr.	Zucker, org. Säuren	Ionen	Lowry	Elektrophorese
			Matter, DM	Stickstoff, TKN	Stickstoff	Stickstoff	Stickstoff	Stickstoff	Stickstoff	Stickstoff	Stickstoff	Stickstoff	Stickstoff	Stickstoff	Stickstoff
01/38	Kleegras 1.Schnitt	SIFAS3-PS	x	x	x	x	x	x	x	-	-	x	x	-	-
01/39	Kleegras 1.Schnitt	SIFAS3-PS	x	-	x	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/40	Kleegras 1.Schnitt	SIFAS3-PS-UF-Ret015	x	x	x	x	x	x	x	-	-	x	-	-	-
01/41	Kleegras 1.Schnitt	SIFAS3-PS-UF-Perm015	x	x	x	x	x	-	-	-	x	x	x	-	-
01/42	Kleegras 1.Schnitt	SIFAS3-PS-UF-Perm015	x	x	x	x	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/43	Kleegras 1.Schnitt	SIFAS3-PS-UF-Perm015	x	x	x	x	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/44	Kleegras 1.Schnitt	SIFAM2-PS	x	x	x	x	x	-	-	-	-	x	-	x	-
01/45	Kleegras 1.Schnitt	SIFAM2-PS	x	x	x	x	-	-	-	-	-	-	-	(x)	-
01/46	Kleegras 1.Schnitt	SIFAM2-PS-UF-Perm001	x	x	x	x	x	-	-	-	-	x	-	-	-
01/47	Kleegras 1.Schnitt	SIFAM2-PS-UF-Perm001	x	x	x	x	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/48	Kleegras 1.Schnitt	SIFAM2-PS-UF-Perm001	x	x	x	x	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/49	Kleegras 1.Schnitt	SIFAM2-PS-UF-Ret001	x	x	x	x	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/50	Kleegras 1.Schnitt	SIFAM2-PS-UF-Perm001	x	x	x	x	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/51	Kleegras 1.Schnitt	SIFAM2-PS-UF-Perm001	x	x	x	x	x	-	-	-	-	x	x	-	-
01/52	Kleegras 1.Schnitt	SIFAM2-PS-UF-Ret001	x	x	x	x	x	-	-	-	-	x	-	-	-
01/53	Kleegras 1.Schnitt	SIFAM2-PS-Bodensatz	x	x	x	x	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/54	Dauerwiese 1.Schnitt	SIFAM2-PS	x	x	x	x	x	-	-	-	-	x	-	x	-
01/55	Dauerwiese 1.Schnitt	SIFAS3-PS	x	x	x	x	x	-	-	-	-	x	-	x	-
01/56	Kleegras 2.Schnitt	SIFAS3-PS	x	x	x	x	x	-	-	-	-	x	-	x	x
01/57	Kleegras 2.Schnitt	SIFAM2-PS	x	x	x	x	x	-	-	-	-	x	x	x	-
01/58	Knaulgras 2.Schnitt	SIFAS3-PS	x	x	x	x	x	-	-	-	-	x	-	(x)	-
01/59	Knaulgras 2.Schnitt	SIFAS3-PS	x	x	x	x	x	-	-	-	-	x	x	x	-
01/60	Knaulgras 2.Schnitt	SIFAS3-PS-SI-L	x	x	x	x	x	-	-	-	-	x	-	-	-
01/61	Knaulgras 2.Schnitt	SIFAS3-PS-SI-P	x	x	x	x	x	-	-	-	-	x	-	-	-
01/62	Knaulgras 2.Schnitt	SIFAM2-PS	x	x	x	x	x	-	-	-	-	x	-	-	-
01/63	Bastardraygras 3.Schnitt	SIFAS3-PS	x	x	x	x	x	-	-	-	-	x	x	x	-
01/64	Bastardraygras 3.Schnitt	SIFAM2-PS	x	x	x	x	x	-	-	-	-	x	-	x	-
01a/1	SJP02		x	-	x	x	x	-	-	-	x	(x)	(x)	-	-
01a/2	SJP02 ED-Conc after ED1, pH1,8		-	-	-	(x)	-	-	-	-	x	-	(x)	-	-
01a/3	SJP02 ED-Dil after ED1, pH1,8		-	-	-	(x)	-	-	-	-	x	-	(x)	-	-
01a/4	SJP02 ED-Concentrate after ED1, pH6,6		-	-	-	(x)	-	-	-	-	x	-	(x)	-	-
01a/5	SJP02 ED-Diluate after ED1, pH6,6		-	-	-	(x)	-	-	-	-	x	-	(x)	-	-

**Tab. 85 Übersicht über die durchgeführten Analysen
(alle Säfte 2002)**

Nr. (Jahr, Nummer)	Wiese, Schnitt	Verarbeitung G...Grün, S...Silage mit Bakterienstamm z.B. IFAS3 oder BonS PS...Presssaft (Il...2. Pressung) mit Datum SI...Steam Injection (L/P...Liquid/Pellet nach Zentrifugation), UF...Ultrafiltration (Perm/Ret...Permeat, Retentat), 015...15 kD Cut Off	Dry	Asche	Kjeldhal	Ammonium	Aminosäuren, hydr.	AA, Cys, Pro, Met	AA, Trp	AA, GABA	Aminosäuren, ohne Hydr.	Zucker, org. Säuren	Ionen	Lowry	Elektrophorese
			Matter, DM		Stickstoff, TKN										
02/01	Luzerne 1.Schnitt	G-PS2305	x	x	x	x	x	-	-	x	-	x	-	x	x
02/02	Luzerne 1.Schnitt	G-PSII2305	x	x	x	x	-	-	-	-	-	x	-	-	-
02/03	Luzerne 1.Schnitt	G-PS2305-UF-Perm015	x	x	x	x	-	-	-	-	-	x	-	-	-
02/04	Luzerne 1.Schnitt	G-PS2305-UF-Ret015	x	x	x	x	-	-	-	-	-	x	-	x	-
02/05	Luzerne 1.Schnitt	G-PS2305-UF-Ret015, sprühgetr.	x	x	x	x	x	-	-	x	-	x	-	-	-
02/06	Luzerne 1.Schnitt	G-PS2405	x	x	x	x	-	-	-	-	-	x	-	-	-
02/07	Luzerne 1.Schnitt	G-PS2405-SI-Pellet	x	x	x	x	x	-	-	x	-	-	-	-	-
02/08	Bastardraygras 2.Schnitt	G-PS0406	x	x	x	x	x	-	-	x	-	x	-	x	-
02/09	Bastardraygras 2.Schnitt	G-PS0406-UF-Perm015	x	x	x	x	-	-	-	-	-	x	-	-	-
02/10	Bastardraygras 2.Schnitt	G-PS0406-UF-Ret015	x	x	x	x	-	-	-	-	-	x	-	-	-
02/11	Bastardraygras 2.Schnitt	G-PS0406-UF-Ret01, sprühgetr.	x	x	x	x	-	-	-	x	-	-	-	-	-
02/12	Bastardraygras 2.Schnitt	G-PSII0406	x	x	x	x	-	-	-	-	-	x	-	-	-
02/13	Bastardraygras 2.Schnitt	G-PS1106	x	x	x	x	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/14	Bastardraygras 2.Schnitt	G-PS1106-SI-Pellet	x	x	x	x	x	-	-	x	-	-	-	-	-
02/15	Bastardraygras 2.Schnitt	G-PSII1106, bedampft	x	x	x	x	-	-	-	-	-	x	-	-	-
02/16	Kleegras 2.Schnitt	G-PS1306	x	x	x	x	x	-	-	x	-	x	-	-	-
02/17	Kleegras 2.Schnitt	G-PSII1306, bedampft	x	x	x	x	-	-	-	-	-	x	-	-	-
02/18	Bastardraygras 3.Schnitt 01	SIFAM2-PSII2205	x	x	x	x	-	-	-	-	-	x	-	-	-
02/19	Bastardraygras 1.Schnitt	SBonS-PS2705	x	x	x	x	x	-	-	x	-	x	-	-	-
02/20	Bastardraygras 1.Schnitt	SBonS-PS2705-UF-Perm001	x	x	x	x	x	-	-	x	x	x	-	-	-
02/21	Bastardraygras 1.Schnitt	SBonS-PS2705-UF-Perm001	x	x	x	x	x	-	-	x	-	x	-	-	-
02/22	Bastardraygras 1.Schnitt	SBonS-PS2705-UF-Ret001	x	x	x	x	x	-	-	x	-	x	-	-	-
02/23	Bastardraygras 1.Schnitt	SBonS-PSII2705	x	x	x	x	-	-	-	-	-	x	-	-	-
02/24	Bastardraygras 1.Schnitt	SBonS-PS2805	x	x	x	x	x	-	-	x	-	x	-	-	-
02/25	Bastardraygras 1.Schnitt	SBonS-PSII2806	x	x	x	x	x	-	-	x	-	x	-	-	-
02/26	Kleegras 1.Schnitt-	SBonS-PS3105	x	x	x	x	x	-	-	x	-	x	-	-	-
02/27	Kleegras 1.Schnitt-	SBonS-PSII3105	x	x	x	x	x	-	-	x	-	x	-	-	-

Tab. 86 Grundanalytik, Teil 1

Nr. (Jahr, Nummer)	Drymatter, [g/L]	Asche, [g/L]	Rohprotein, [g/L]	Zucker u. org Säuren, [g/L]
01/01	58,80	30,70	10,42	26,69
01/02	285,77	21,64	56,72	20,71
01/03	44,99	17,33	5,58	23,45
01/04	86,71	15,13	14,11	12,10
01/05	41,08	13,74	5,50	26,04
01/06	39,88	13,47	5,14	-
01/07	41,16	13,46	4,50	-
01/08	70,78	15,14	18,98	20,15
01/09	75,52	14,82	10,28	33,13
01/10	74,10	14,61	9,11	-
01/11	923,01	117,89	294,25	88,41
01/12	50,03	13,17	2,88	35,20
01/13	187,15	18,26	31,08	44,14
01/14	51,41	14,87	12,50	19,54
01/15	56,95		14,28	-
01/16	49,77	14,34	12,43	20,11
01/17	60,72	15,21	7,13	29,69
01/18	34,20	12,61	6,32	19,61
01/19	35,46	13,59	6,50	20,05
01/20	36,10	13,50	6,40	19,85
01/21	35,12	14,98	6,20	19,17
01/22	103,20	17,83	39,99	23,21
01/23	102,16		39,99	-
01/24	37,65		6,37	-
01/25	102,85		39,71	-
01/26	932,52	108,32	475,91	94,91
01/27	36,90	13,45	6,15	17,11
01/28	894,66	106,74	248,41	200,49
01/29	78,12	23,04	18,30	40,02
01/30	78,66	23,41	17,56	-
01/31	65,90	22,81	11,67	39,99
01/32	140,30	24,72	46,70	46,40
01/33	66,18	22,21	12,00	37,11
01/34	195,14	27,22	75,77	44,54
01/35	87,99	23,58	16,75	41,71
01/36	60,19	20,68	11,02	36,18
01/37	44,19	19,73	8,58	13,37

Tab. 87 Grundanalytik, Teil 2

Nr. (Jahr, Nummer)	Drymatter, [g/L]	Asche, [g/L]	Rohprotein, [g/L]	Zucker u. org Säuren, [g/L]
01/38	191,68	51,24	42,09	149,62
01/39	198,77		42,62	-
01/40	240,52	56,77	53,05	140,17
01/41	184,93	52,18	38,58	140,16
01/42	180,25	51,80	40,81	-
01/43	151,27	45,20	34,03	-
01/44	157,85	43,55	33,65	116,40
01/45	151,81	42,25	33,41	-
01/46	128,54	40,39	28,70	104,39
01/47	138,27	43,14	29,63	-
01/48	139,11	41,87	30,03	-
01/49	169,50	42,37	36,90	-
01/50	144,04	45,32	30,78	-
01/51	149,16	43,84	31,86	102,38
01/52	193,48	44,53	41,77	120,76
01/53	168,09	48,20	31,02	-
01/54	202,53	46,08	43,49	144,72
01/55	150,64	34,70	35,94	108,28
01/56	177,69	52,05	53,95	89,39
01/57	151,35	45,90	52,45	88,96
01/58	174,14	61,24	47,27	77,98
01/59	176,15	69,45	48,53	73,56
01/60	145,60	51,96	52,89	65,62
01/61	847,54	199,05	276,25	205,61
01/62	121,55	52,95	33,23	59,85
01/63	115,68	31,66	34,80	54,09
01/64	119,60	74,34	29,50	47,73
01a/1	-	-	-	-
01a/2	-	-	-	-
01a/3	-	-	-	-
01a/4	-	-	-	-
01a/5	-	-	-	-

Tab. 88 Grundanalytik, Teil 3

Nr. (Jahr, Nummer)	Drymatter, [g/L]	Asche, [g/L]	Rohprotein, [g/L]	Zucker u. org Säuren, [g/L]
02/01	68,47	17,32	19,44	15,45
02/02	77,09	20,14	21,46	24,19
02/03	53,39	18,17	9,88	13,15
02/04	144,90	20,69	62,23	16,25
02/05	889,35	130,39	409,59	109,16
02/06	74,25	18,35	21,60	17,58
02/07	889,75	156,40	356,84	-
02/08	61,68	14,65	10,51	29,42
02/09	44,84	14,29	4,89	26,92
02/10	156,02	16,60	41,05	45,11
02/11	851,38	106,55	234,88	-
02/12	84,55	22,88	14,61	47,12
02/13	64,53	12,27	15,70	-
02/14	893,74	132,45	413,63	-
02/15	74,40	15,94	13,96	37,77
02/16	51,10	12,55	7,45	19,32
02/17	57,89	14,59	7,97	23,11
02/18	84,39	22,73	26,56	46,74
02/19	85,72	23,84	28,78	49,51
02/20	74,43	21,43	25,17	39,49
02/21	83,55	22,77	27,52	50,81
02/22	150,71	33,66	46,97	46,20
02/23	89,85	21,34	33,26	39,54
02/24	82,28	22,10	29,77	37,19
02/25	56,67	15,24	20,95	31,49
02/26	80,13	21,80	27,78	38,27
02/27	65,25	18,59	22,23	25,55

Tab. 89 Zusammenfassung Stickstoffanalytik, Teil 1

Nr. (Jahr, Nummer)	TKN, [g/L]	Ammonium-N, [g/L]	Lowry-Protein, [g/L]	Summe 16 AA hydr, [g/L]	Summe 14 AA frei, [g/L]
01/01	1,86	0,19	6,75	8,11	-
01/02	9,20	0,13	-	102,51	-
01/03	1,06	0,17	-	4,23	-
01/04	2,59	0,33	-	10,42	-
01/05	1,02	0,14	-	3,15	-
01/06	0,97	0,14	-	-	-
01/07	0,88	0,15	-	12,04	-
01/08	3,19	0,15	5,20	12,04	-
01/09	1,79	0,14	-	7,04	-
01/10	1,60	0,14	-	-	-
01/11	50,31	3,23	-	284,84	-
01/12	0,96	0,50	-	2,99	-
01/13	5,32	0,34	-	25,96	-
01/14	2,13	0,13	4,30	5,90	-
01/15	2,29	-	-	-	-
01/16	2,12	0,13	-	8,46	-
01/17	1,67	0,53	-	5,94	-
01/18	1,14	0,12	-	3,20	-
01/19	1,15	0,11	-	3,23	-
01/20	1,13	0,11	-	3,43	-
01/21	1,09	0,10	-	2,88	1,36
01/22	6,93	0,53	-	29,10	-
01/23	6,53	-	-	-	-
01/24	1,15	-	-	-	-
01/25	6,48	-	-	-	-
01/26	80,67	4,52	-	438,08	-
01/27	1,07	0,09	-	3,36	-
01/28	42,58	2,83	-	218,76	-
01/29	3,12	0,19	7,10	9,93	-
01/30	3,01	0,20	-	-	-
01/31	2,02	0,15	-	7,10	-
01/32	7,92	0,44	30,00	41,15	-
01/33	2,07	0,15	-	7,30	2,79
01/34	12,77	0,65	63,50	66,67	-
01/35	2,88	0,20	-	10,96	-
01/36	1,90	0,14	-	6,39	-
01/37	1,50	0,12	2,20	4,14	-

Tab. 90 Zusammenfassung Stickstoffanalytik, Teil 2

Nr. (Jahr, Nummer)	TKN, [g/L]	Ammonium-N, [g/L]	Lowry-Protein, [g/L]	Summe 16 AA hydr, [g/L]	Summe 14 AA frei, [g/L]
01/38	7,73	1,00	-	23,02	-
01/39	7,82	-	-	-	-
01/40	9,70	1,21	-	29,11	-
01/41	7,22	1,05	-	32,28	27,87
01/42	7,51	0,98	-	-	-
01/43	6,32	0,88	-	-	-
01/44	6,01	0,62	4,00	19,41	-
01/45	5,95	0,60	-	-	-
01/46	5,14	0,55	-	14,18	-
01/47	5,32	0,58	-	-	-
01/48	5,39	0,59	-	-	-
01/49	6,57	0,67	-	-	-
01/50	5,53	0,60	-	-	-
01/51	5,69	0,59	-	22,98	-
01/52	7,42	0,73	-	35,56	-
01/53	5,55	0,58	-	-	-
01/54	7,75	0,79	4,20	20,71	-
01/55	6,57	0,82	3,00	18,05	-
01/56	9,86	1,23	-	24,74	-
01/57	9,46	1,07	5,90	25,13	-
01/58	8,45	0,88	3,00	38,11	-
01/59	8,63	0,87	4,00	38,51	-
01/60	9,20	0,74	-	31,95	-
01/61	48,84	4,64	-	193,14	-
01/62	5,85	0,53	-	29,75	-
01/63	6,30	0,73	2,10	30,52	23,25
01/64	5,19	0,46	2,80	22,56	-
01a/1	-	-	-	26,00	23,22
01a/2	-	-	-	-	1,71
01a/3	-	-	-	-	15,59
01a/4	-	-	-	-	0,98
01a/5	-	-	-	-	17,65

Tab. 91 Zusammenfassung Stickstoffanalytik, Teil 3

Nr. (Jahr, Nummer)	TKN, [g/L]	Ammonium-N, [g/L]	Lowry-Protein, [g/L]	Summe 16 AA hydr, [g/L]	Summe 14 AA frei, [g/L]
02/01	3,38	0,27	13,40	12,05	-
02/02	3,72	0,28	-	-	-
02/03	1,77	0,19	-	-	-
02/04	10,75	0,79	26,25	-	-
02/05	66,00	0,47	-	326,44	-
02/06	3,76	0,30	-	-	-
02/07	61,31	4,21	-	303,43	-
02/08	1,80	0,12	4,70	6,58	-
02/09	0,84	0,06	-	-	-
02/10	7,21	0,64	-	-	-
02/11	39,81	2,23	-	194,99	-
02/12	2,49	0,15	-	-	-
02/13	2,70	0,18	-	-	-
02/14	70,12	3,94	-	376,05	-
02/15	2,42	0,18	-	-	-
02/16	1,28	0,08	-	5,46	-
02/17	1,38	0,10	-	-	-
02/18	4,65	0,40	-	-	-
02/19	5,18	0,58	-	22,11	-
02/20	4,56	0,53	-	16,67	11,01
02/21	4,98	0,58	-	19,91	-
02/22	8,31	0,80	-	34,09	-
02/23	5,92	0,59	-	-	-
02/24	5,37	0,60	-	20,90	-
02/25	3,80	0,44	-	13,48	-
02/26	5,08	0,63	-	20,15	-
02/27	4,09	0,53	-	16,11	-

Tab. 92 Annorganische Analytik, Teil 1

Nr. (Jahr, Nummer)	Asche, [g/L]	Ammonium-N, [g/L]	PO ₄ , [g/L]	K, [g/L]	Ca, [g/L]	Mg, [g/L]	Na, [mg/L]
01/01	30,70	0,19	-	-	-	-	-
01/02	21,64	0,13	-	-	-	-	-
01/03	17,33	0,17	1,15	4,84	0,55	0,23	0,04
01/04	15,13	0,33	-	-	-	-	-
01/05	13,74	0,14	-	-	-	-	-
01/06	13,47	0,14	-	-	-	-	-
01/07	13,46	0,15	-	-	-	-	-
01/08	15,14	0,15	1,53	5,50	0,55	0,32	0,05
01/09	14,82	0,14	-	-	-	-	-
01/10	14,61	0,14	-	-	-	-	-
01/11	117,89	3,23	-	-	-	-	-
01/12	13,17	0,50	-	-	-	-	-
01/13	18,26	0,34	-	-	-	-	-
01/14	14,87	0,13	1,62	5,62	0,58	0,33	0,05
01/15	-	-	-	-	-	-	-
01/16	14,34	0,13	-	-	-	-	-
01/17	15,21	0,53	-	-	-	-	-
01/18	12,61	0,12	-	-	-	-	-
01/19	13,59	0,11	-	-	-	-	-
01/20	13,50	0,11	-	-	-	-	-
01/21	14,98	0,10	-	-	-	-	-
01/22	17,83	0,53	-	-	-	-	-
01/23	-	-	-	-	-	-	-
01/24	-	-	1,39	5,00	0,48	0,28	0,05
01/25	-	-	-	-	-	-	-
01/26	108,32	4,52	-	-	-	-	-
01/27	13,45	0,09	-	-	-	-	-
01/28	106,74	2,83	-	-	-	-	-
01/29	23,04	0,19	1,68	8,50	1,33	0,52	0,21
01/30	23,41	0,20	-	-	-	-	-
01/31	22,81	0,15	-	-	-	-	-
01/32	24,72	0,44	-	-	-	-	-
01/33	22,21	0,15	-	-	-	-	-
01/34	27,22	0,65	-	-	-	-	-
01/35	23,58	0,20	-	-	-	-	-
01/36	20,68	0,14	-	-	-	-	-
01/37	19,73	0,12	1,48	7,70	0,51	0,39	0,13

Tab. 93 Annorganische Analytik, Teil 2

Nr. (Jahr, Nummer)	Asche, [g/L]	Ammonium-N, [g/L]	PO ₄ , [g/L]	K, [g/L]	Ca, [g/L]	Mg, [g/L]	Na, [mg/L]
01/38	51,24	1,00	6,87	21,40	2,45	1,04	0,21
01/39	-	-	-	-	-	-	-
01/40	56,77	1,21	-	-	-	-	-
01/41	52,18	1,05	6,38	18,59	2,30	0,85	0,22
01/42	51,80	0,98	-	-	-	-	-
01/43	45,20	0,88	-	-	-	-	-
01/44	43,55	0,62	-	-	-	-	-
01/45	42,25	0,60	-	-	-	-	-
01/46	40,39	0,55	-	-	-	-	-
01/47	43,14	0,58	-	-	-	-	-
01/48	41,87	0,59	-	-	-	-	-
01/49	42,37	0,67	-	-	-	-	-
01/50	45,32	0,60	-	-	-	-	-
01/51	43,84	0,59	5,55	16,70	1,66	0,68	0,19
01/52	44,53	0,73	-	-	-	-	-
01/53	48,20	0,58	-	-	-	-	-
01/54	46,08	0,79	-	-	-	-	-
01/55	34,70	0,82	-	-	-	-	-
01/56	52,05	1,23	-	-	-	-	-
01/57	45,90	1,07	6,47	17,32	1,96	1,11	0,20
01/58	61,24	0,88	-	-	-	-	-
01/59	69,45	0,87	7,20	25,28	1,41	1,45	0,30
01/60	51,96	0,74	-	-	-	-	-
01/61	199,05	4,64	-	-	-	-	-
01/62	52,95	0,53	-	-	-	-	-
01/63	31,66	0,73	3,43	11,60	0,19	0,71	0,25
01/64	74,34	0,46	-	-	-	-	-
01a/1	-	-	-	-	-	-	-
01a/2	-	-	-	-	-	-	-
01a/3	-	-	-	-	-	-	-
01a/4	-	-	-	-	-	-	-
01a/5	-	-	-	-	-	-	-

Tab. 94 Annorganische Analytik, Teil 3

Nr. (Jahr, Nummer)	Asche, [g/L]	Ammonium-N, [g/L]	PO4, [g/L]	K, [g/L]	Ca, [g/L]	Mg, [g/L]	Na, [mg/L]
02/01	17,32	0,27	-	-	-	-	-
02/02	20,14	0,28	-	-	-	-	-
02/03	18,17	0,19	-	-	-	-	-
02/04	20,69	0,79	-	-	-	-	-
02/05	130,39	0,47	-	-	-	-	-
02/06	18,35	0,30	-	-	-	-	-
02/07	156,40	4,21	-	-	-	-	-
02/08	14,65	0,12	-	-	-	-	-
02/09	14,29	0,06	-	-	-	-	-
02/10	16,60	0,64	-	-	-	-	-
02/11	106,55	2,23	-	-	-	-	-
02/12	22,88	0,15	-	-	-	-	-
02/13	12,27	0,18	-	-	-	-	-
02/14	132,45	3,94	-	-	-	-	-
02/15	15,94	0,18	-	-	-	-	-
02/16	12,55	0,08	-	-	-	-	-
02/17	14,59	0,10	-	-	-	-	-
02/18	22,73	0,40	-	-	-	-	-
02/19	23,84	0,58	-	-	-	-	-
02/20	21,43	0,53	-	-	-	-	-
02/21	22,77	0,58	-	-	-	-	-
02/22	33,66	0,80	-	-	-	-	-
02/23	21,34	0,59	-	-	-	-	-
02/24	22,10	0,60	-	-	-	-	-
02/25	15,24	0,44	-	-	-	-	-
02/26	21,80	0,63	-	-	-	-	-
02/27	18,59	0,53	-	-	-	-	-

Tab. 95 Analytik, freie Aminosäuren, Teil 1

Nr. (Jahr, Nummer)	Summe 14 AA frei, [g/L]	Ala, [g/L]	Arg, [g/L]	Asx, [g/L]	Cys, [g/L]	Glx, [g/L]	Gly, [g/L]	His, [g/L]	Ile, [g/L]	Leu, [g/L]	Lys, [g/L]	Met, [g/L]	Phe, [g/L]	Pro, [g/L]	Ser, [g/L]	Thr, [g/L]	Trp, [g/L]	Tyr, [g/L]	Val, [g/L]
01/01	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/03	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/04	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/05	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/06	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/07	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/08	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/09	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/21	1,36	0,42	0,08	0,12	-	0,04	0,03	0,00	0,05	0,11	0,10	(0,03)	0,07	-	0,12	0,10	-	0,06	0,09
01/22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/23	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/26	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/27	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/28	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/29	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/31	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/32	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/33	2,79	0,73	0,20	0,21	-	0,08	0,06	0,00	0,12	0,22	0,25	(0,05)	0,14	-	0,25	0,21	-	0,11	0,21
01/34	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/35	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/36	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/37	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tab. 96 Analytik, freie Aminosäuren, Teil 2

Nr. (Jahr, Nummer)	Summe 14 AA frei, [g/L]	Ala, [g/L]	Arg, [g/L]	Asx, [g/L]	Cys, [g/L]	Glx, [g/L]	Gly, [g/L]	His, [g/L]	Ile, [g/L]	Leu, [g/L]	Lys, [g/L]	Met, [g/L]	Phe, [g/L]	Pro, [g/L]	Ser, [g/L]	Thr, [g/L]	Trp, [g/L]	Tyr, [g/L]	Val, [g/L]	Gaba, [g/L]	
01/38	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/39	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/40	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/41	27,9	3,23	0,50	4,11	-	1,53	1,47	0,60	1,76	2,97	2,62	(0,67)	1,49	-	2,04	2,00	-	1,11	2,45	-	
01/42	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/43	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/44	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/45	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/46	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/47	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/48	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/49	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/51	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/52	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/53	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/54	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/55	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/56	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/57	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/58	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/59	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/60	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/61	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/62	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/63	23,3	3,04	0,20	2,09	-	1,94	1,38	0,45	1,41	2,78	2,45	(0,65)	1,51	-	1,34	1,64	-	1,08	1,94	-	
01/64	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01a/1	23,2	2,95	0,26	2,60	-	1,73	1,30	0,56	1,49	2,66	2,23	(0,58)	1,37	-	1,45	1,68	-	0,95	1,99	2,76	
01a/2	1,71	0,35	0,04	0,13	-	0,09	0,24	0,06	0,06	0,11	0,25	(0,03)	0,04	-	0,13	0,09	-	0,02	0,11	0,49	
01a/3	15,6	1,70	0,10	1,96	-	1,30	0,47	0,28	1,10	1,99	1,30	(0,42)	1,03	-	0,94	1,23	-	0,73	1,47	1,01	
01a/4	0,98	0,08	0,02	0,39	-	0,15	0,00	0,02	0,02	0,04	0,14	(0,01)	0,02	-	0,06	0,00	-	0,01	0,03	0,05	
01a/5	17,6	2,37	0,16	1,61	-	1,25	0,92	0,33	1,25	2,20	1,53	(0,48)	1,11	-	1,15	1,36	-	0,76	1,66	2,13	

Tab. 97 Analytik, freie Aminosäuren, Teil 3

Nr. (Jahr, Nummer)	Summe 14 AA frei, [g/L]	Ala, [g/L]	Arg, [g/L]	Asx, [g/L]	Cys, [g/L]	Glx, [g/L]	Gly, [g/L]	His, [g/L]	Ile, [g/L]	Leu, [g/L]	Lys, [g/L]	Met, [g/L]	Phe, [g/L]	Pro, [g/L]	Ser, [g/L]	Thr, [g/L]	Trp, [g/L]	Tyr, [g/L]	Val, [g/L]	Gaba, [g/L]
02/01	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/03	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/04	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/05	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/06	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/07	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/08	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/09	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/20	11,0	1,50	0,07	0,76	-	1,13	0,65	0,29	0,68	1,37	1,09	(0,34)	0,74	-	0,80	0,90	-	0,09	0,93	1,45
02/21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/23	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/26	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/27	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tab. 98 Analytik, Aminosäuren nach Hydrolyse der Proteine, Teil 1

Nr. (Jahr, Nummer)	Summe 16 AA hydr. [g/L]	Ala. [g/L]	Arg. [g/L]	Asx. [g/L]	Cys. [g/L]	Glx. [g/L]	Gly. [g/L]	Hls. [g/L]	Ile. [g/L]	Leu. [g/L]	Lys. [g/L]	Met. [g/L]	Phe. [g/L]	Pro. [g/L]	Ser. [g/L]	Thr. [g/L]	Trp. [g/L]	Tyr. [g/L]	Val. [g/L]	Gaba. [g/L]
01/01	8,11	0,78	0,40	1,78	-	1,05	0,43	0,18	0,38	0,62	0,55	-	0,39	-	0,40	0,42	-	0,17	0,55	-
01/02	102,51	7,40	8,10	11,2	-	13,0	7,08	3,10	6,02	10,6	6,68	-	7,20	-	5,00	5,56	-	4,26	7,30	-
01/03	4,23	0,48	0,14	1,24	-	0,52	0,20	0,07	0,17	0,25	0,23	-	0,15	-	0,21	0,22	-	0,06	0,28	-
01/04	10,42	0,97	0,44	2,01	-	1,45	0,63	0,19	0,47	0,79	0,67	-	0,48	-	0,62	0,67	-	0,35	0,70	-
01/05	3,15	0,39	0,08	1,06	-	0,39	0,12	0,04	0,12	0,18	0,13	-	0,09	-	0,16	0,16	-	0,06	0,17	-
01/06	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/07	12,04	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/08	12,04	1,22	0,73	1,53	0,20	1,71	0,75	0,28	0,59	1,08	0,80	0,30	0,69	0,67	0,60	0,73	0,24	0,51	0,81	-
01/09	7,04	0,79	0,37	0,94	-	0,95	0,48	0,16	0,35	0,59	0,50	-	0,37	-	0,41	0,44	-	0,17	0,54	-
01/10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/11	284,84	21,9	19,8	32,7	3,2	40,8	18,1	8,5	15,5	27,7	19,8	7,4	18,2	14,9	15,1	16,4	5,7	10,5	20,0	2,4
01/12	2,99	0,48	0,11	0,46	-	0,41	0,19	0,06	0,12	0,20	0,19	-	0,12	-	0,19	0,19	-	0,07	0,21	0,70
01/13	25,96	2,26	1,54	3,16	-	3,57	1,82	0,76	1,35	2,40	1,82	-	1,59	-	1,46	1,61	-	0,76	1,86	0,89
01/14	5,90	0,66	0,36	0,78	-	0,91	0,35	0,13	0,28	0,51	0,39	-	0,32	-	0,32	0,36	-	0,23	0,29	-
01/15	-	-	-	-	0,13	-	-	-	-	-	-	0,19	-	0,53	-	-	0,09	-	-	-
01/16	8,46	0,96	0,47	1,21	-	1,25	0,50	0,18	0,40	0,69	0,58	-	0,43	-	0,44	0,50	-	0,29	0,57	-
01/17	5,94	0,65	0,31	0,79	-	0,94	0,36	0,12	0,27	0,48	0,40	-	0,30	-	0,34	0,37	-	0,20	0,39	-
01/18	3,20	0,53	0,13	0,50	-	0,50	0,16	0,04	0,12	0,22	0,20	-	0,12	-	0,18	0,20	-	0,09	0,19	-
01/19	3,23	0,55	0,08	0,51	-	0,51	0,18	0,05	0,14	0,24	0,13	-	0,13	-	0,19	0,22	-	0,08	0,22	-
01/20	3,43	0,56	0,14	0,50	-	0,49	0,16	0,04	0,13	0,36	0,20	-	0,13	-	0,19	0,21	-	0,10	0,20	-
01/21	2,88	0,52	0,10	0,47	-	0,48	0,15	0,03	0,11	0,20	0,10	-	0,10	-	0,16	0,19	-	0,09	0,18	-
01/22	29,10	2,55	1,70	3,56	-	3,98	1,92	0,82	1,52	2,76	2,01	-	1,79	-	1,51	1,77	-	1,19	2,04	-
01/23	-	-	-	-	0,49	-	-	-	-	-	-	0,85	-	1,80	-	-	0,72	-	-	-
01/24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/26	438,08	33,0	33,0	48,7	5,2	58,7	27,9	12,7	24,7	43,1	32,9	12,8	28,5	24,2	20,6	24,6	10,6	17,6	32,2	-
01/27	3,36	0,53	0,13	0,59	-	0,60	0,17	0,04	0,12	0,20	0,20	-	0,11	-	0,19	0,19	-	0,05	0,22	-
01/28	218,76	18,7	14,0	26,8	4,0	29,5	15,0	6,4	11,8	20,1	14,9	5,1	13,4	13,4	11,9	13,4	4,6	7,0	15,9	5,28
01/29	9,93	1,18	0,54	1,19	0,18	1,63	0,58	0,19	0,43	0,78	0,71	0,20	0,49	1,26	0,58	0,64	0,05	0,33	0,65	-
01/30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/31	7,10	1,10	0,35	0,90	-	1,30	0,37	0,13	0,28	0,44	0,53	-	0,25	-	0,43	0,44	-	0,11	0,47	1,08
01/32	41,15	3,73	2,58	5,07	-	5,78	2,85	1,15	2,07	3,60	3,05	-	2,43	-	2,20	2,47	-	1,29	2,89	1,29
01/33	7,30	1,11	0,36	0,96	-	1,33	0,40	0,13	0,28	0,45	0,51	-	0,27	-	0,45	0,45	-	0,11	0,49	1,08
01/34	66,67	5,64	4,45	7,93	-	8,94	4,65	2,10	3,48	6,04	4,82	-	4,12	-	3,54	4,00	-	2,26	4,71	1,38
01/35	10,96	1,38	0,47	1,55	-	2,04	0,72	0,21	0,45	0,70	0,76	-	0,42	-	0,64	0,68	-	0,26	0,70	1,13
01/36	6,39	1,01	0,33	0,81	-	1,15	0,33	0,11	0,24	0,40	0,45	-	0,24	-	0,40	0,40	-	0,09	0,43	0,97
01/37	4,14	0,50	0,20	0,59	0,07	0,69	0,24	0,06	0,19	0,33	0,23	0,07	0,20	0,28	0,23	0,26	0,01	0,15	0,27	-

Tab. 99 Analytik, Aminosäuren nach Hydrolyse der Proteine, Teil 2

Nr. (Jahr, Nummer)	Summe 16 AA hydr. [g/L]	Ala. [g/L]	Arg. [g/L]	Asx. [g/L]	Cys. [g/L]	Glx. [g/L]	Gly. [g/L]	His. [g/L]	Ile. [g/L]	Leu. [g/L]	Lys. [g/L]	Met. [g/L]	Phe. [g/L]	Pro. [g/L]	Ser. [g/L]	Thr. [g/L]	Trp. [g/L]	Tyr. [g/L]	Val. [g/L]	Gaba. [g/L]	
01/38	23,02	2,31	0,47	5,00	0,20	2,12	1,25	0,56	1,31	2,06	1,72	0,51	1,07	3,93	1,20	1,44	0,21	0,67	1,85	-	
01/39	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/40	29,11	2,96	0,78	5,68	0,38	3,03	1,61	0,75	1,59	2,51	2,17	0,72	1,40	4,96	1,55	1,94	0,39	0,94	2,21	-	
01/41	32,28	3,21	0,62	7,29	-	2,90	1,69	0,98	1,86	2,77	2,29	-	1,44	-	1,78	1,91	-	0,92	2,62	-	
01/42	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/43	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/44	19,41	2,00	0,66	3,25	-	2,13	1,12	0,48	1,12	1,82	1,48	-	0,96	-	0,98	1,24	-	0,62	1,57	-	
01/45	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/46	14,18	2,11	0,43	3,01	-	0,53	0,99	0,15	0,93	1,60	0,95	-	0,77	-	0,15	0,64	-	0,58	1,34	-	
01/47	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/48	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/49	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/51	22,98	2,28	0,74	3,91	-	2,43	1,38	0,64	1,39	2,16	1,81	-	1,12	-	1,19	1,44	-	0,54	1,95	-	
01/52	35,56	3,65	1,37	5,53	-	4,18	2,15	1,04	2,09	3,21	2,76	-	1,74	-	1,86	2,22	-	0,93	2,82	-	
01/53	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/54	20,71	2,27	0,75	2,74	-	2,08	1,34	0,49	1,19	2,03	1,96	-	0,98	-	1,09	1,42	-	0,66	1,71	-	
01/55	18,05	2,03	0,33	2,39	-	1,95	1,20	0,42	1,10	1,86	1,71	-	0,88	-	0,86	1,23	-	0,58	1,53	-	
01/56	24,74	2,75	0,30	3,50	-	3,00	1,51	0,64	1,49	2,40	2,02	-	1,18	-	1,38	1,72	-	0,79	2,08	-	
01/57	25,13	2,76	0,74	3,54	-	2,98	1,51	0,57	1,46	2,39	1,98	-	1,20	-	1,41	1,75	-	0,80	2,05	-	
01/58	38,11	4,07	1,14	5,12	-	4,29	2,63	0,83	2,20	3,72	3,59	-	1,84	-	1,89	2,57	-	1,02	3,21	-	
01/59	38,51	4,12	1,14	5,11	-	4,29	2,69	0,84	2,23	3,75	3,72	-	1,83	-	1,92	2,59	-	1,05	3,24	-	
01/60	31,95	3,43	0,96	4,31	-	3,59	2,19	0,69	1,85	3,13	3,01	-	1,52	-	1,58	2,15	-	0,85	2,70	-	
01/61	193,14	19,4	8,5	25,6	-	25,5	12,6	4,5	10,6	17,8	16,4	-	10,6	-	9,3	11,9	-	5,9	14,5	-	
01/62	29,75	3,22	1,46	3,66	-	3,28	2,09	0,75	1,71	2,90	2,59	-	1,54	-	1,50	1,83	-	0,81	2,41	-	
01/63	30,52	3,42	0,91	3,86	-	3,33	2,16	0,76	1,78	3,04	2,80	-	1,69	-	1,44	1,92	-	0,93	2,49	-	
01/64	22,56	2,53	1,09	2,93	-	2,52	1,50	0,44	1,25	2,12	2,03	-	1,03	-	1,22	1,49	-	0,56	1,86	-	
01a/1	26,00	2,87	0,39	4,29	-	2,72	1,52	0,60	1,54	2,59	2,29	-	1,41	-	1,27	1,60	-	0,76	2,13	2,29	
01a/2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01a/3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01a/4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01a/5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tab. 100 Analytik, Aminosäuren nach Hydrolyse der Proteine, Teil 3

Nr. (Jahr, Nummer)	Summe 16 AA hydr. [g/L]	Ala. [g/L]	Arg. [g/L]	Asx. [g/L]	Cys. [g/L]	Glx. [g/L]	Gly. [g/L]	His. [g/L]	Ile. [g/L]	Leu. [g/L]	Lys. [g/L]	Met. [g/L]	Phe. [g/L]	Pro. [g/L]	Ser. [g/L]	Thr. [g/L]	Trp. [g/L]	Tyr. [g/L]	Val. [g/L]	Gaba. [g/L]
02/01	12,05	0,89	0,62	2,83	-	1,61	0,53	0,23	0,56	0,96	0,83	-	0,61	-	0,65	0,63	-	0,39	0,72	0,54
02/02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/03	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/04	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/05	326,44	23,0	22,7	44,8	-	43,7	18,3	9,4	17,2	31,2	24,0	-	21,0	-	16,1	18,4	-	14,6	22,0	4,12
02/06	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/07	303,43	20,6	21,3	44,5	-	40,6	16,2	8,3	16,4	29,1	22,2	-	19,0	-	14,7	16,7	-	13,7	20,1	3,76
02/08	6,58	0,73	0,36	0,84	-	1,09	0,36	0,14	0,31	0,55	0,49	-	0,33	-	0,35	0,38	-	0,22	0,44	0,71
02/09	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/11	194,99	16,0	13,0	23,3	-	29,7	11,8	4,9	10,2	18,1	14,1	-	11,9	-	9,5	10,9	-	7,4	14,0	4,1
02/12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/14	376,05	28,3	27,9	42,0	-	53,5	21,7	10,2	20,1	36,3	28,7	-	24,9	-	18,2	21,0	-	16,7	26,5	2,29
02/15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/16	5,46	0,64	0,31	0,74	-	0,78	0,30	0,11	0,27	0,47	0,39	-	0,29	-	0,28	0,31	-	0,21	0,37	0,40
02/17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/19	22,11	2,62	0,31	3,03	-	2,60	1,42	0,56	1,37	2,32	1,90	-	1,28	-	1,16	1,47	-	0,24	1,85	2,11
02/20	16,67	1,97	0,20	2,35	-	1,90	1,07	0,43	1,05	1,79	1,46	-	0,96	-	0,85	1,09	-	0,15	1,41	1,68
02/21	19,91	2,47	0,22	2,64	-	2,31	1,22	0,51	1,30	2,16	1,73	-	1,16	-	1,01	1,30	-	0,18	1,71	1,99
02/22	34,09	4,62	0,97	3,69	-	4,77	2,07	0,75	2,01	3,22	3,12	-	1,79	-	1,75	2,10	-	0,66	2,58	1,87
02/23	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/24	20,90	2,39	0,26	3,06	-	2,44	1,33	0,53	1,28	2,22	1,84	-	1,25	-	0,98	1,34	-	0,21	1,77	2,00
02/25	13,48	1,50	0,17	2,02	-	1,56	0,88	0,34	0,84	1,44	1,14	-	0,83	-	0,64	0,88	-	0,15	1,12	1,33
02/26	20,15	2,29	0,19	3,42	-	2,40	1,24	0,50	1,29	2,15	1,29	-	1,14	-	1,04	1,30	-	0,17	1,72	1,71
02/27	16,11	1,89	0,16	2,75	-	1,86	0,99	0,38	1,01	1,71	0,99	-	0,97	-	0,85	1,05	-	0,15	1,35	1,42

Tab. 101 Analytik, Zucker und organische Säuren, Teil 1

Nr. (Jahr, Nummer)	Zucker u. org Säuren, [g/L]	Lactose, [g/L]	Citrat, [g/L]	Glucose, [g/L]	Xylose, [g/L]	Fructose, [g/L]	Mannitol, [g/L]	Arabinose, [g/L]	Succinat, [g/L]	Milchsäure, [g/L]	Glycerol, [g/L]	Essigsäure, [g/L]	Acetaldehyd, [g/L]	Propionsäure, [g/L]	Ethanol, [g/L]	2-Propanol, [g/L]	Buttersäure, [g/L]	iso-Buttersäure, [g/L]	1,3-Propandiol, [g/L]	1-Propanol, [g/L]	iso-Valeriansäure, [g/L]	Valerianic Acid, [g/L]	Ameisensäure, [g/L]	1,2-Propandiol, [g/L]	Maltose, [g/L]
01/01	26,7	1,1	0,0	13	0,0	11,2	0,0	0,0	0,1	0,1	0,1	0,0	0,1	0,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
01/02	20,7	1,4	0,3	9,1	0,0	8,1	0,0	0,3	0,1	0,0	0,5	0,0	0,1	0,0	0,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
01/03	23,4	1,0	0,6	11,3	0,0	9,7	0,0	0,2	0,1	0,1	0,1	0,0	0,1	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
01/04	12,1	0,0	0,0	5,0	0,0	7,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
01/05	26,0	1,1	0,7	11,8	0,0	11,0	0,0	0,5	0,2	0,2	0,2	0,2	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
01/06	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/07	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/08	20,1	1,1	0,9	7,6	0,8	6,8	0,0	0,6	0,2	1,7	0,0	0,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
01/09	33,1	2,1	1,1	9,7	0,6	15,3	0,0	1,0	0,1	0,0	0,4	0,0	1,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,6	0,0
01/10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/11	88,4	0,0	2,9	30,5	0,0	41,5	0,0	0,0	0,0	0,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	7,1	6,1
01/12	35,2	2,6	1,5	10,1	1,0	16,4	0,0	1,3	0,4	0,0	0,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,3	0,0
01/13	44,1	0,0	1,0	10,1	0,0	27,9	0,0	1,2	0,0	0,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	2,4
01/14	19,5	1,2	0,9	7,7	0,8	7,4	0,0	0,5	0,2	0,3	0,3	0,1	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
01/15	0,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/16	20,1	1,3	0,8	7,7	0,8	7,3	0,0	0,6	0,2	0,0	0,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,9	0,0
01/17	29,7	1,7	1,4	9,5	0,7	14,3	0,0	1,0	0,3	0,4	0,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
01/18	19,6	1,2	0,9	7,6	0,8	7,5	0,0	0,6	0,2	0,0	0,4	0,2	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
01/19	20,1	1,1	0,9	6,1	0,8	6,0	0,0	0,5	0,4	3,0	0,0	0,7	0,0	0,0	0,6	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
01/20	19,9	1,2	0,9	7,6	0,8	7,3	0,0	0,6	0,2	0,7	0,0	0,3	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
01/21	19,2	0,9	0,8	7,0	0,8	6,0	0,0	0,5	0,3	1,9	0,0	0,6	0,2	0,1	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
01/22	23,2	1,0	0,7	0,5	0,4	8,6	0,0	0,4	0,1	8,4	0,0	1,5	0,0	0,0	1,6	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
01/23	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/26	94,9	6,2	4,2	37,0	4,0	34,6	0,0	2,8	1,1	0,0	1,8	0,2	0,0	0,0	0,0	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,0	0,0
01/27	17,1	1,1	0,7	6,7	0,7	6,3	0,0	0,5	0,2	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,7	0,0
01/28	200,5	8,5	3,0	56,0	0,0	114,5	0,0	7,3	0,0	2,2	2,8	0,0	6,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
01/29	40,0	1,4	1,1	16,7	1,0	17,5	0,0	0,9	0,2	0,0	0,7	0,1	0,3	0,2	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
01/30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/31	40,0	1,6	0,9	16,8	0,0	18,0	0,0	1,0	0,2	0,0	0,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,8	0,0
01/32	46,4	1,5	0,7	18,2	0,0	23,1	0,0	1,1	0,1	0,0	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	0,0
01/33	37,1	1,4	0,8	15,5	0,0	16,6	0,0	0,9	0,1	0,0	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	0,0
01/34	44,5	1,3	0,4	18,2	0,0	22,6	0,0	0,0	0,1	0,2	0,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,8	0,0
01/35	41,7	1,3	0,6	17,5	0,0	19,5	0,0	0,7	0,1	0,3	0,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,8	0,0
01/36	36,2	1,3	0,6	15,3	0,0	16,6	0,0	0,7	0,1	0,2	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,8	0,0
01/37	13,4	1,3	0,4	3,4	0,4	5,7	0,0	0,9	0,1	1,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

Tab. 102 Analytik, Zucker und organische Säuren, Teil 2

Nr. (Jahr, Nummer)	Zucker u. org Säuren, [g/L]	Lactose, [g/L]	Citrat, [g/L]	Glucose, [g/L]	Xylose, [g/L]	Fructose, [g/L]	Mannitol, [g/L]	Arabinose, [g/L]	Succinat, [g/L]	Milchsäure, [g/L]	Glycerol, [g/L]	Essigsäure, [g/L]	Acetaldehyd, [g/L]	Propionsäure, [g/L]	Ethanol, [g/L]	2-Propanol, [g/L]	Buttersäure, [g/L]	iso-Buttersäure, [g/L]	1,3-Propanol, [g/L]	1-Propanol, [g/L]	Iso-Valeriansäure, [g/L]	Valerianic Acid, [g/L]	Ameisensäure, [g/L]	1,2-Propanol, [g/L]	Maltose, [g/L]
01/38	149,6	5,38	2,3	32,5	0,0	39,2	0,0	3,1	2,0	57,3	0,0	3,0	0,0	0,8	3,4	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
01/39	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/40	140,2	4,13	0,9	33,7	0,0	40,2	2,3	0,0	0,0	58,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
01/41	140,2	5,23	2,2	30,1	0,0	36,3	0,0	2,9	2,0	52,3	0,0	3,1	1,3	0,9	3,1	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
01/42	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/43	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/44	116,4	5,06	1,3	13,1	0,0	24,9	0,0	3,5	7,0	58,3	3,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
01/45	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/46	104,4	5,02	0,7	12,2	0,0	22,6	0,0	2,2	3,8	50,7	0,0	3,6	0,0	0,0	1,8	0,0	0,0	0,0	1,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
01/47	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/48	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/49	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/51	102,4	0,92	0,0	12,4	0,0	26,6	0,0	0,0	0,0	62,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
01/52	120,8	5,86	0,9	14,6	0,0	26,3	0,0	2,6	4,4	58,6	0,0	3,8	0,0	0,0	1,8	0,0	0,0	0,0	1,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
01/53	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/54	144,7	5,93	1,9	11,9	0,0	29,9	25,2	0,0	2,7	54,9	0,0	6,3	1,4	0,0	3,2	0,9	0,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
01/55	108,3	4,74	1,0	5,1	0,0	21,1	13,1	3,1	2,5	46,0	0,0	3,9	1,1	0,0	4,2	0,8	1,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
01/56	89,4	5,61	1,3	8,4	0,0	7,1	6,6	3,2	3,2	44,9	0,0	5,2	0,8	0,0	2,1	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
01/57	89,0	5,01	0,7	6,2	3,3	0,0	4,7	2,3	3,3	53,5	0,0	5,5	1,1	0,0	2,3	0,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
01/58	78,0	6,52	0,8	7,6	5,8	0,0	0,0	2,9	4,8	44,1	0,0	2,5	1,0	0,0	0,5	0,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,7	0,0
01/59	73,6	5,59	0,2	6,9	5,0	4,8	0,0	1,9	2,4	41,2	0,0	0,0	2,5	0,8	0,0	0,0	0,0	0,7	0,8	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
01/60	65,6	5,60	0,7	6,3	4,8	0,0	0,0	2,4	4,1	37,0	0,0	2,1	0,9	0,0	0,9	0,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
01/61	205,6	18,0	2,2	20,5	15,4	0,0	0,0	7,5	12,9	122	0,0	4,8	1,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
01/62	59,9	2,97	0,1	8,0	0,0	5,0	0,0	1,6	0,9	37,7	0,0	0,0	1,5	0,0	0,0	0,0	0,1	1,1	0,6	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
01/63	54,1	2,78	0,2	5,3	0,0	5,0	0,0	1,8	1,4	33,4	0,0	0,0	1,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,9	1,0	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
01/64	47,7	4,04	0,5	7,2	0,0	5,9	0,0	1,5	1,5	24,6	0,0	0,0	1,4	0,0	0,0	0,0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
01a/1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01a/2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01a/3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01a/4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01a/5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tab. 103 Analytik, Zucker und organische Säuren, Teil 3

Nr. (Jahr, Nummer)	Zucker u. org Säuren, [g/L]	Lactose, [g/L]	Citrat, [g/L]	Glucose, [g/L]	Xylose, [g/L]	Fructose, [g/L]	Mannitol, [g/L]	Arabinose, [g/L]	Succinat, [g/L]	Milchsäure, [g/L]	Glycerol, [g/L]	Essigsäure, [g/L]	Acetaldehyd, [g/L]	Propionsäure, [g/L]	Ethanol, [g/L]	2-Propanol, [g/L]	Buttersäure, [g/L]	iso-Buttersäure, [g/L]	1,3-Propanediol, [g/L]	1-Propanol, [g/L]	Iso-Valeriansäure, [g/L]	Valerianic Acid, [g/L]	Ameisensäure, [g/L]	1,2-Propanediol, [g/L]	Maltose, [g/L]
02/01	15,4	0,7	0,6	7,4	0,0	0,0	6,3	0,1	0,2	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
02/02	24,2	1,6	1,0	10,5	0,0	0,0	9,9	0,3	0,4	0,0	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
02/03	13,2	1,5	0,9	9,4	0,0	0,0	0,0	0,1	0,3	0,4	0,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
02/04	16,2	0,0	0,8	7,6	0,0	0,0	5,7	0,5	0,3	0,7	0,3	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
02/05	109,2	7,7	5,6	47,3	0,0	0,0	40,9	0,9	1,4	1,3	3,3	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,6
02/06	17,6	0,7	0,7	8,5	0,0	0,0	7,1	0,0	0,2	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
02/07	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/08	29,4	1,0	0,6	14,1	0,2	12,4	0,0	0,5	0,1	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
02/09	26,9	2,2	0,6	12,5	0,2	10,7	0,0	0,5	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
02/10	45,1	1,5	0,7	11,8	0,0	23,7	0,0	1,0	2,3	3,2	0,0	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
02/11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/12	47,1	2,6	0,7	18,8	0,0	18,2	0,0	0,6	1,8	2,9	0,0	0,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,6
02/13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/14	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
02/15	37,8	0,0	1,0	16,1	0,8	14,2	0,0	0,4	0,1	0,0	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	4,4
02/16	19,3	0,9	0,8	9,1	0,0	7,4	0,0	0,4	0,2	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
02/17	23,1	2,8	0,9	6,1	0,0	7,3	0,0	0,5	0,4	2,5	0,0	2,0	0,0	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0
02/18	46,7	2,1	0,1	5,5	0,0	3,8	0,0	1,6	1,0	29,2	0,0	1,5	0,0	0,0	1,0	0,7	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1
02/19	49,5	2,3	0,1	2,5	0,0	3,3	4,5	0,9	1,4	30,5	0,0	2,2	0,0	0,0	1,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
02/20	39,5	2,2	0,0	2,2	0,0	3,0	4,0	0,8	1,3	21,6	0,0	2,1	0,0	0,2	1,4	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
02/21	50,8	2,4	0,0	2,0	0,0	2,9	4,5	0,8	1,4	31,8	0,0	2,3	0,0	0,3	1,6	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
02/22	46,2	2,4	0,0	2,7	0,0	2,5	4,3	1,0	1,4	26,4	0,0	2,3	0,0	0,3	1,6	0,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5
02/23	39,5	0,0	0,0	2,6	0,0	3,1	3,2	0,6	0,0	27,2	0,0	2,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
02/24	37,2	2,3	0,0	1,7	0,0	2,3	4,2	0,8	1,6	20,5	0,0	2,2	0,0	0,3	1,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
02/25	31,5	1,6	0,0	1,1	0,0	1,3	2,7	0,4	1,1	20,8	0,0	1,7	0,0	0,0	0,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
02/26	38,3	2,2	0,0	2,5	0,8	0,0	0,0	0,4	1,3	27,9	0,0	3,0	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
02/27	25,6	1,8	0,0	2,2	0,8	0,0	0,0	0,5	1,1	15,3	0,0	2,7	0,0	0,1	0,0	0,5	0,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0