

Biobasierte Herstellung des biologisch abbaubaren Bio-Kunststoffes Polybuttersäure

Projekt: Biopolymere

Laufzeit: 01.01.2017 bis 01.01.2018

Gesamtkosten: 40.000,00 €

Fördersumme: 40.000,00 €

Projektleiter:

Prof. Dr. Stephanie Stute

Fakultät Verfahrenstechnik

Technische Hochschule Nürnberg

Georg Simon Ohm

Kunststoff, auch Plastik genannt, ist in allen Lebens- und Industriebereichen vorzufinden. Häufig, wie im Falle von Verpackungen, werden für die Herstellung wertvolle Ressourcen wie Erdöl und Energie für den nur einmaligen, kurzzeitigen Gebrauch des Kunststoffs verbraucht, und die Entsorgung kann zusätzlich zu Umweltbelastungen führen. Aktuell sammelt sich Plastik in den Weltmeeren zu schwimmenden Inseln an und bei der Zersetzung entsteht Mikroplastik, welches sich in der Nahrungskette anreichert. Trotz dieser ökologischen Folgen ist ein völliger Verzicht auf Kunststoffe kaum vorstellbar.

Doch es gibt Alternativen, sogenannte Biokunststoffe, welche biobasiert herstellbar oder/und biologisch abbaubar sind. Polybuttersäure (Polyhydroxybutyrat, kurz PHB) erfüllt beide Eigenschaften. PHB ist ein nahezu farbloser Polyester mit ähnlichen technischen Eigenschaften wie Polypropylen und Polyethylen und gilt als vielversprechender Ersatz für petrochemische Polymere. PHB wird derzeit mittels Bakterien im Zulauf-beziehungsweise FedBatch-Verfahren hergestellt. Aufgrund der zwischen den einzelnen Produktionsläufen anfallenden Rüstzeiten ist die Jahresproduktivität jedoch eher gering, was sich negativ auf die Herstellungskosten auswirkt und so den Einsatz von PHB als Massenkunststoff behindert. Durch die Entwicklung eines kontinuierlich betriebenen Verfahrens kann die Produktivität gesteigert und die Herstellungskosten gesenkt werden. Ziel des Projekts „Biobasierte Herstellung des biologisch abbaubaren Bio-Kunststoffes Polybuttersäure“ ist daher die Auslegung und Umsetzung eines kontinuierlichen und damit wirtschaftlicheren Herstellungsverfahrens für PHB unter Nutzung von industriellen Restströmen.

Ziele

Zur Steigerung der Wirtschaftlichkeit und der Produktqualität sollen daher vorrangig zwei Maßnahmen untersucht werden:

- Entwicklung eines kontinuierlichen Verfahrens, das eine deutlich höhere Jahresproduktivität ermöglicht.
- Verwertung von verfügbaren und kostengünstigen Rohglycerin, das z.B. bei Seifen- oder Biodieselherstellung anfällt.

Projektverlauf und Ergebnisse

Das Forschungsprojekt gliederte sich in drei Arbeitspakete:

- Quantifizierung der Ausgangsstoffe und des gebildeten PHB
- Ermittlung von kinetischen Parametern zu Wachstum und Produktbildung hinsichtlich der Auslegung eines kontinuierlichen Verfahrens
- Implementierung des kontinuierlichen Prozesses

Die Untersuchungen zum Nachweis des gebildeten PHB sowie die Quantifizierung des verwendeten Substrates Rohglycerin fand im ersten Arbeitspaket statt. Eine möglichst unkomplizierte Färbemethode mit dem Fluoreszenzfarbstoff Nilrot sollte schnell und einfach eine erste Einschätzung des gebildeten PHB ermöglichen, musste jedoch aufgrund mangelnder Reproduzierbarkeit verworfen werden. Um dennoch Aussagen über die Produktion von PHB zu treffen, erfolgte eine Anpassung einer gravimetrischen Methode des Kooperationspartners Fritzmeier Umwelttechnik. Hierbei wurden die während der Fermentation entnommenen Proben zunächst mit vollentsalztem Wasser (VE-Wasser) gewaschen. Eine Hälfte der Probe diente zur Bestimmung der Biotrockenmasse. Mit der anderen Hälfte der Probe erfolgte ein mehrstündiger Aufschluss mittels Natriumhypochlorid-Lösung. Nach Waschen mit VE-Wasser und Ethanol sowie einem anschließendem Trocknungsschritt, wurde der Trockenrückstand gewogen, womit die Menge an PHB pro Gramm Biotrockenmasse berechnet werden konnte. Für die Bestimmung der Glycerinkonzentration der Rohglycerin-Chargen aus der Biodieselherstellung der Firma Tecosol sowie der Quantifizierung des Glycerins während der Fermentation wurde ein enzymatischer Test (Fa. Roche) herangezogen und für die Verwendung modifiziert. Der Test basiert auf der enzymatischen Umsetzung von Glycerin und der photometrischen Messung des dabei gebildeten Nicotinamidadenindinukleotids in reduzierter Form (NADH) bei 340 Nanometer. Eine mögliche Inhibition der enzymatischen Umsetzung aufgrund von Begleitstoffen im Rohglycerin konnte für einen Konzentrationsbereich von 0 Gramm pro Liter bis 20 Gramm pro Liter ausgeschlossen werden. Für die Auslegung eines kontinuierlichen Prozesses sind Daten zur maximalen erreichbaren Endbiomassekonzentration, der maximalen möglichen Wachstumsrate sowie der Substratverbrauchsrate und der Verbrauchsrate hinsichtlich der Ammonium- und Sauerstoffkonzentration notwendig. Im zweiten Arbeitspaket wurden diese für verschiedene Bedingungen

(Glycerinkonzentration, Temperatur, pH-Wert) in Batch-Ansätzen in Schüttelkolbenversuchen ermittelt. Maximale Wachstumsraten wurden bei einer Rohglycerinkonzentration von 20 Gramm pro Liter erzielt. Bei höheren Rohglycerinkonzentrationen konnte eine Substratüberschussinhibierung des Wachstums festgestellt werden. Eine Versuchsreihe zum Einfluss der Temperatur und des pH-Wertes ermittelte ein Optimum bei 36 °C und einen pH-Wert von 7.

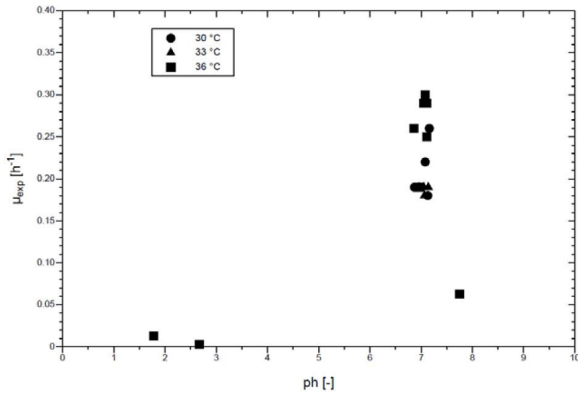


Abbildung 1: Abhängigkeit der Wachstumsrate vom initialen pH-Wert der Schüttelkolben-Kulturen.

Anhand der in den Vorversuchen gewonnenen Erkenntnisse konnte im dritten Arbeitspaket die Umsetzung einer kontinuierlichen Prozessfahrweise in zwei hintereinander geschalteten Bioreaktoren ausgelegt und durchgeführt werden. Zunächst wurden verschiedene Batch-Fermentationen in 2,5-Liter-Bioreaktoren mit Rohglycerinkonzentrationen von 15 Gramm pro Liter, 30 Gramm pro Liter und 60 Gramm pro Liter durchgeführt und ausgewertet, um die in den Schüttelkolbenversuchen ermittelten kinetischen Parameter zu bestätigen. Bei Rohglycerinkonzentrationen höher als 30 Gramm pro Liter wurde ebenfalls ein negativer Einfluss auf die Wachstumsrate in der exponentiellen Phase festgestellt, weshalb nachfolgend auch für die Kultivierung im Bioreaktor Glycerinkonzentrationen im Bereich von 15 Gramm pro Liter bis 30 Gramm pro Liter verwendet wurden. Das Wachstum der Bakterienzellen kommt in den Batch-Versuchen im Bioreaktor nach maximal 30 Stunden zum Erliegen. Zu diesem Zeitpunkt sind sowohl Glycerin als auch Ammonium erschöpft, was ein Indiz für eine gut gewählte Menge des Ammoniums im Nährmedium ist.

Basierend auf den Batch-Daten im Bioreaktor wurde die Auslegung eines kontinuierlichen Prozesses umgesetzt. Der kontinuierliche Betrieb der ersten Stufe, in dem drei unterschiedliche Durchflussrate untersucht wurden, konnte über 500 Stunden ohne Kontamination oder Washout aufrechterhalten werden. Mit den gewählten Parametern kann nun die Fermentationsbrühe mit hoher Zelldichte und geringer Ammoniumkonzentration kontinuierlich in die nachfolgende Stufe, in der die PHB-Einlagerung stattfindet, übergeleitet werden. Die Etablierung der ersten Reaktorstufe für das Wachstum der Zellen wurde damit erfolgreich abgeschlossen.

Im nächsten Schritt wurde ein zweiter Bioreaktor nachgeschaltet, in dem durch eine zusätzliche kontinuierliche Rohglycerin-

zufuhr die PHB-Einlagerung verstärkt werden sollte. Die geringe Restkonzentration von Ammonium im Auslauf aus der ersten Reaktorstufe und den dadurch im zweiten Reaktor auftretenden Stickstoffmangel in Kombination mit einem Überschuss an Glycerin, verstärkte die PHB-Einlagerung der Mikroorganismen deutlich, so dass die Zellen PHB-Mengen bis zu 70 % ihrer Gesamtbiomasse einlagerten.

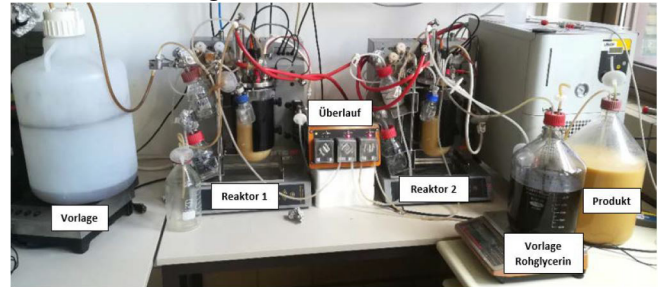


Abbildung 2: Aufbau der 2-Stufen-Reaktorkaskade

Der kontinuierliche Betrieb der zwei Reaktorstufen konnte mehrmals erfolgreich angefahren und für mehrere Tage aufrechterhalten werden. Allerdings führten zahlreiche technische Schwierigkeiten und Defekte zum Überlaufen einzelner Stufen und zum Abbruch des kontinuierlichen Betriebs. Die aufgetretenen technischen Schwierigkeiten konnten nach und nach behoben werden. Allerdings blieb aufgrund des Zeitverlustes kaum Möglichkeit, um wie geplant die PHB-Einlagerung in Abhängigkeit der Sauerstoffkonzentration im zweiten Reaktor zu untersuchen. Zusammenfassend betrachtet, konnte im Rahmen des beantragten Projektes ein kontinuierliches Verfahren zur Herstellung von PHB unter Nutzung von Rohglycerin etabliert werden. Hierfür wurden zwei Bioreaktoren in Reihe geschaltet und die Auslegung zunächst theoretisch mittels ermittelter kinetischer Parameter ausgearbeitet. In Versuchen mit verschiedenen Verdünnungsraten konnte PHB in einer maximalen Produktivität von 1,54 Gramm PHB pro Liter in der Stunde erzielt werden, was ein ausgezeichneter Startpunkt für weitere Optimierungsuntersuchungen ist.

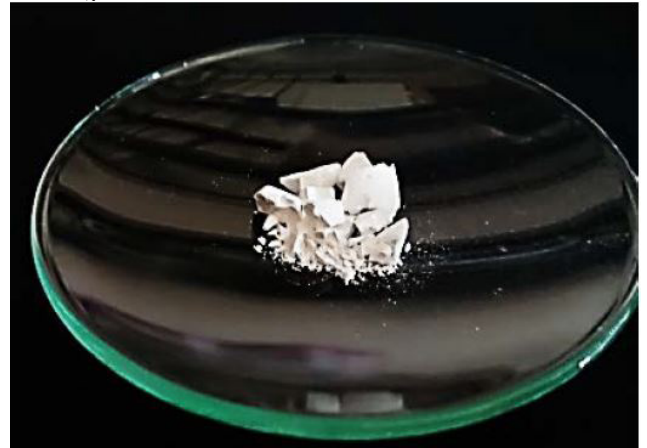


Abbildung 3: PHB-Pulver extrahiert aus 50 mL Probe mit 20 g/L Biotrockenmasse mit 70% PHB-Gehalt

Projektleiter
Prof. Dr. Stephanie Stute
Telefon: 0911/ 5880 - 1160
E-Mail: stephanie.stute@th-nuernberg.de

Fakultät
Betriebswirtschaft
Technische Hochschule Nürnberg
Georg Simon Ohm

www.th-nuernberg.de

Fördergeber



STAEDTLER
STIFTUNG