

# Schlussbericht

## zum Vorhaben

Thema:

**Biobasierte Herstellung von Intermediaten für Polyurethane – Phase III  
(Bio4PURDemo)**

Zuwendungsempfänger:

**Covestro Deutschland AG**

Förderkennzeichen:

**2221NR073X**

Laufzeit:

**01.03.2022 bis 28.02.2025**

Monat der Erstellung:

**05/2025**

Veröffentlicht am:

**10.02.2026**

Gefördert durch:



Bundesministerium  
für Ernährung  
und Landwirtschaft

aufgrund eines Beschlusses  
des Deutschen Bundestages

Das diesem Bericht zugrundeliegende Vorhaben wurde aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages mit Mitteln des Bundesministeriums für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL) über die Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e.V. (FNR) als Projektträger des BMEL für das Förderprogramm Nachwachsende Rohstoffe unterstützt. Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt bei der Autorenschaft.



# Inhaltsverzeichnis

<b>I.</b>	<b>Kurzbericht .....</b>	<b>1</b>
1.	Aufgabenstellung .....	1
2.	Planung und Ablauf des Vorhabens .....	2
3.	Resümee der wesentlichen Ergebnisse .....	4
	a) Arbeitspakete und Meilensteine .....	4
	b) Zusammenfassung .....	5
<b>II.</b>	<b>Ausführliche Darstellung der Ergebnisse .....</b>	<b>6</b>
1.	Erzielte Ergebnisse .....	6
	Arbeitspaket AP 1.1: Metabolic Engineering.....	6
	Arbeitspaket AP 1.2: Aminobenzoat-Resistenz .....	7
	Arbeitspaket AP 1.3: Omics und Modellierung .....	7
	Arbeitspaket AP 2.1: Conceptual Design & Engineering .....	8
	Arbeitspaket AP 2.2: Fermentation & Zellabtrennung.....	8
	Arbeitspaket AP 2.3: Kristallisation & Filtration .....	9
	Arbeitspaket AP 2.4: AB Konversion.....	10
	Arbeitspaket AP 2.5: AB Rückgewinnung .....	11
	Arbeitspaket AP 2.6: Destillation .....	11
	Arbeitspaket AP 2.7: Ökonomische Bewertung .....	11
	Arbeitspaket AP 2.8: Ökologische Bewertung .....	12
	Arbeitspaket AP 2.9: Verwertung von Abfallströmen .....	12
	Arbeitspaket AP 3.1: MDI-Synthesetests .....	13
	Arbeitspaket AP 3.2: PUR-Synthesetests .....	15
	Arbeitspaket AP 3.3: Alternative Anilin-Verwertung.....	17
2.	Verwertung.....	18
	a) Erfindungen/Schutzrechtsanmeldungen.....	18
	b) Wirtschaftliche Erfolgsaussichten nach Projektende.....	18
	c) Wissenschaftliche und/oder technische Erfolgsaussichten nach Projektende.....	18
	d) Wissenschaftliche und wirtschaftliche Anschlussfähigkeit .....	18
3.	Erkenntnisse von Dritten .....	18
4.	Veröffentlichungen .....	19



# I. Kurzbericht

## 1. Aufgabenstellung

Für die Covestro Deutschland AG (Covestro) ist Anilin der wichtigste Rohstoff zur Herstellung des Produkts Methylendiphenylendiisocyanat und seiner Oligomere bzw. Homologe (nachfolgend summarisch: MDI), welches ein wesentlicher Ausgangsstoff für Polyurethane ist. Diese Polymere werden beispielsweise für die Herstellung von Schäumen, z.B. in energiesparenden Dämmstoffen und Matratzen, verwendet. Derzeit stellt Covestro für die Produktion von MDI über 1.000.000 t petrobasiertes Anilin pro Jahr her (Abbildung 1A). Dieses Anilin produziert Covestro in eigenen Anlagen und zählt mit einem Anteil von circa 20 % an der Weltjahresproduktion zu den führenden Herstellern. Langfristiges Ziel von Covestro ist die Entwicklung einer kostengünstigen und ökologisch vorteilhaften Synthese von Anilin aus nachwachsenden Rohstoffen bzw. Biomasse. Das so hergestellte biobasierte Anilin soll als „Drop-in“-Chemikalie, d.h. mit identischer Spezifikation zu Petro-Anilin, in die nachgeschalteten Produktionsanlagen für Polyurethane einfließen. Bisher ist für Anilin keine direkte biobasierte Synthese bis zum industrierelevanten Maßstab entwickelt worden.

Im von Covestro vorgeschlagenen Prozess können als Rohstoffquelle verschiedene nachwachsende Rohstoffe eingesetzt werden. Mögliche nachwachsende Rohstoffe sind (1) Zucker enthaltende Pflanzen wie Zuckerrüben und Zuckerrohr, (2) Stärke enthaltende Pflanzen wie Mais, Weizen und Roggen, aber auch (3) Lignocellulose aus Stroh, Holz oder Bagasse. Der verfolgte Prozess umfasst zwei katalytische Schritte (Abbildung 1B): (1) Konversion von Zucker zu Aminobenzoesäure (AB) mit Hilfe eines gentechnisch veränderten Mikroorganismus; (2) chemokatalytische Konversion zu Anilin.

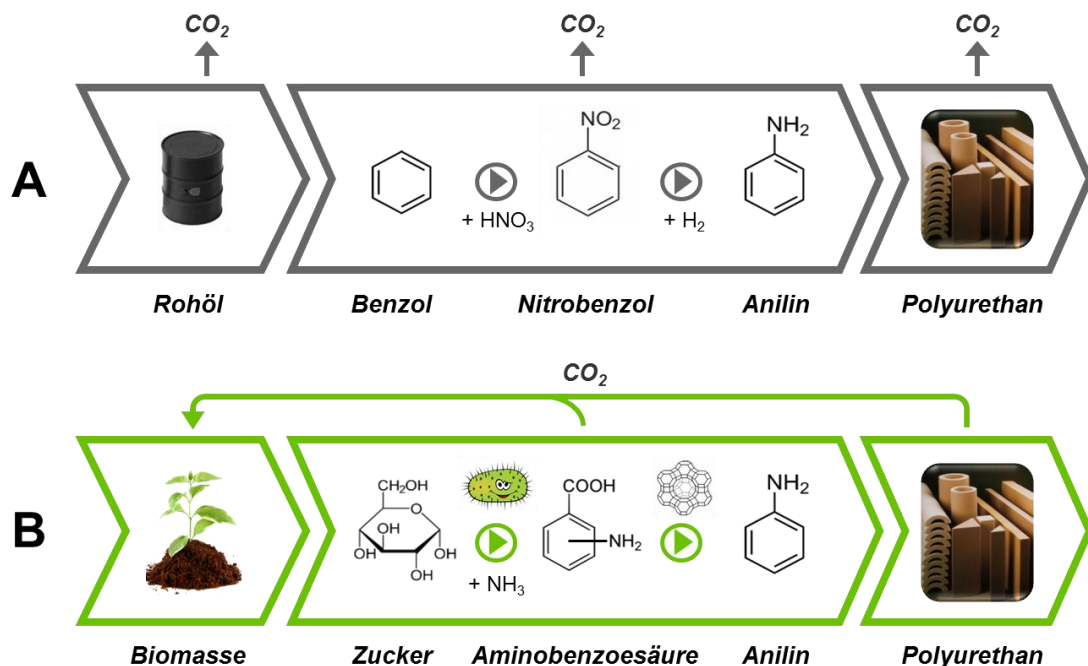


Abbildung 1: A) Petrobasierte Produktion aus Rohöl B) Biobasierte Produktion aus Biomasse

Zur Erreichung des Gesamtziels wurden folgende Arbeitsfelder mit entsprechenden Teilaufgaben definiert:

### 1) Arbeitsfeld 1 Mikrobiologische Entwicklung:

- Analyse und kontinuierliche Optimierung des Mikroorganismus zur effizienten Produktion von AB im kommerziellen Maßstab.

### 2) Arbeitsfeld 2 Prozessentwicklung:

- Steigerung der Verfahrenseffizienz zur Herstellung von Anilin im industriellen Maßstab.
- Nachweis der Skalierbarkeit des Verfahrenskonzeptes im Miniplant- und Demoplant-Maßstab (Fermentation/Kristallisation).
- Kontinuierliche Nachhaltigkeitsbewertung durch parallele und ganzheitliche ökonomische und ökologische Bewertung.

### 3) Arbeitsfeld 3 Testung biobasiertes Anilin:

- Testung des biobasierten Anilins für die MDI- und Polyurethan-Produktion sowie in mindestens einer weiteren Anwendung.

## 2. Planung und Ablauf des Vorhabens

Das Projekt Bio4PURDemo knüpfte inhaltlich und zeitlich nahtlos an das ebenfalls vom Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft geförderte Projekt Bio4PURPro (FKZ: 22109918) an. Dabei setzte sich Bio4PURDemo Projekt in allen Arbeitsfeldern neue ambitionierte Ziele, die u.a. in Form von Meilensteinen beschrieben wurden. Insgesamt wurde Wert auf die Übertragung des Prozesses in größere Maßstäbe und die Optimierung der einzelnen Reaktions- und Aufarbeitungsschritte gelegt. Eine zeitliche Übersicht der beiden Abbildung 2 dargestellt.

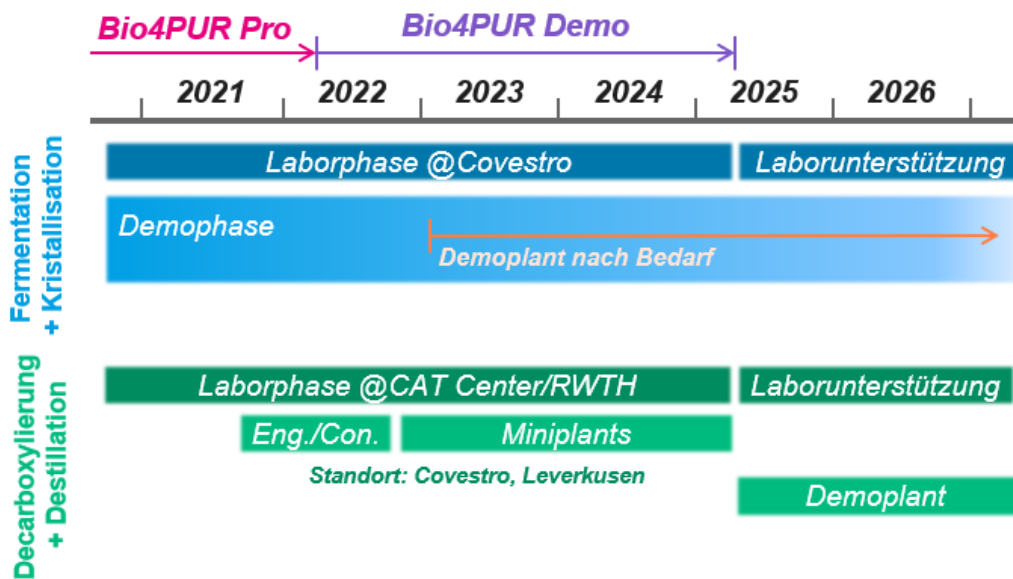


Abbildung 2: Projektphase und Zeithorizont zur Herstellung von Bioanilin

Zur Erfüllung der genannten Ziele band Covestro im Rahmen des Projekts Bio4PURDemo die folgenden Partner aus dem akademischen bzw. industriellen Bereich über Unteraufträge ein (siehe Abbildung 3).

Das **Institut für Bioverfahrenstechnik (IBVT)** der Universität Stuttgart, geleitet von Prof. Ralf Takors, hat als Hauptaufgabe die Weiterentwicklung der mikrobiellen Produktionsstämme via Metabolic Engineering und die Fermentations-Charakterisierung. Prof. Takors ist für das Projekt bereits lange als Berater tätig und unterstützt ebenso als Ansprechpartner bei der CellTune Technologies die Metabolom-Analysen im Rahmen des Projektes.

Bei **CellTune Technologies (CTT)**, einem Start-up der Universität Stuttgart und Bestandteil der TTI (Technologie Transfer Initiative) GmbH, wurde eine äußerst sensitive und effiziente HPLC-Triple Quadrupol-MS-Methode zur Analyse von über 40 Metaboliten entwickelt. Im Rahmen des Projektes sollte CTT die Metabolite der mittels Metabolic Engineering generierten mikrobiellen Stämme analysieren und gemeinsam mit den Kollegen von COV im AP 1.3 interpretieren.

Das **CAT Catalytic Center der RWTH Aachen (CAT)** weist eine langjährige Erfahrung bei der Entwicklung von chemischen Reaktionsprozessen (homogene sowie heterogene Katalyse) und deren technische/industrielle Nutzung auf. Die Projektaufgabe des CAT war die fortlaufende Optimierung der thermochemischen Konversion von AB in Rohanilin. Für diese Aufgabe steht am CAT bereits ein für diese Fragestellung spezifisch ausgelegter Rohrreaktor mit Peripherie zur Verfügung.

**Covestro** war der Treiber für das Förderprojekt und ist insbesondere an der wirtschaftlichen Verwertung der Projektergebnisse interessiert. Covestro verfügt über Expertise in der chemischen Katalyse, Polymersynthese, Prozessentwicklung und Skalierung sowie in ökonomischen und ökologischen Evaluierungen. Covestro übernahm die Koordination des Projektes und die ganzheitliche Prozessentwicklung einschließlich Up- und Downstream-Prozessentwicklung sowie die Testung des erzeugten biobasierten Anilins in Polyurethananwendungen.

1. Mikrobiologische Entwicklung	2. Prozessentwicklung	3. Anilin-Testung
1.1 Metabolic Engineering (COV, IBVT)	2.1 Conceptual Design & Engineering (COV)	3.1 MDI-Synthesetests (COV)
1.2 AB-Resistenz (COV)	2.2 Fermentation & Zellabtrennung (COV, IBVT)	3.2 PUR-Synthesetests (COV)
1.3 Omics und Modellierung (COV, CTT)	2.3 Kristallisation & Filtration (COV)	3.3 Alternative Anilin-Verwertung (COV)
	2.4 AB Umwandlung (CAT, COV)	
	2.5 AB Rückgewinnung (COV)	
	2.6 Destillation (COV)	
	2.7 Ökonomische Bewertung (COV)	
	2.8 Ökologische Bewertung (COV)	
	2.9 Verwertung von Abfallströmen (COV, AWP)	

Abbildung 3: Organigramm mit Arbeitsfeldern, Arbeitspaketen und verantwortlichen Partnern zu Projektbeginn

Zu Beginn des Projektes wurden folgenden Meilensteinen festgelegt, um den Fortschritt des Vorhabens zu beurteilen. Neben diesen Werten wurden auch ambitionierte jährliche Zielwerte für Titer in g<sub>AB</sub>/L, Ausbeute in g<sub>AB</sub>/g<sub>Glucose</sub> und Fermentationszeit in Stunden definiert.

**Meilenstein 1 (31.12.2022):**

- Scale-up und Weiterentwicklung des Fermentations- und Kristallisationsprozesses im Demo-Maßstab mit dem aktuellen mikrobiologischen Stamm, Produktion von biobasiertem AB im >1000-kg-Maßstab
- Abgeschlossene Installation der Decarboxylierungs- und Destillationsanlage im Pilot-Maßstab

**Meilenstein 2 (31.12.2023):**

- Regelmäßiger Betrieb der Decarboxylierungs- und Destillationsanlage im Pilot-Maßstab. Produktion von biobasiertem Anilin im >100-kg-Maßstab

**Meilenstein 3 (28.02.2025):**

- Einsatz und Optimierung der Nutzung alternativer Rohstoffquellen (Co-Verwertung von Acetat zur Ermöglichung von Gasfermentationen basierend auf CO<sub>2</sub>)
- Hoher definierter Ausbeutewert für Decarboxylierung im Pilot-Maßstab
- Verifizierung der Qualität des im Pilot-Maßstab hergestellten Anilins in klassischen Anwendungsfeldern
- Testung des biobasierten Anilins in mindestens einem Anwendungsfeld außerhalb von Covestro (z.B. Pigmente oder Kunstfasern)

### 3. Resümee der wesentlichen Ergebnisse

#### a) Arbeitspakete und Meilensteine

Arbeitspakete (AP) (lt. Planung im Antrag)	Bearbeitungszeitraum (lt. Balkenplan im Antrag)	Zielerreichung
AP 1.1 Metabolic Engineering	03/2022 bis 02/2025	Titer und Ausbeuten für mikrobielle Aminobenzoat-Produktion wurden erneut signifikant gesteigert. Voraussetzungen für Erreichung der Ziele geschaffen. Einsatz und Optimierung der Nutzung alternativer Rohstoffquellen im Labor-Maßstab erfolgreich getestet.
AP 1.2 Aminobenzoat-Resistenz	03/2022 bis 06/2024	Hohe Toleranz für Aminobenzoat.
AP 1.3 Omics und Modellierung	07/2022 bis 06/2024	Ziel erreicht. Arbeitspaket unterstützte kontinuierlich die Entwicklung des mikrobiellen Produktionsstamms und ermöglichte verbessertes Verständnis über Stoffwechsel-Zusammenhänge/Optimierungsansätze.
AP 2.1 Conceptual Design & Engineering	03/2022 bis 02/2025	Ziele erreicht: AP 2.1 begleitet durch Prozessmodellierung alle AP im Arbeitsfeld 2 und unterstützte Konzeptionierung einer Demonstrations-Anlage.
AP 2.2 Fermentation & Zellabtrennung	03/2022 bis 02/2025	Ziele erreicht: Fermentation und Zellabtrennung in den industriellen Maßstab übertragen. Weitere Optimierung der Kultivierungsparameter erfolgt und verbessertes Prozesskonzept getestet.
AP 2.3 Kristallisation & Filtration	03/2022 bis 09/2024	Ziele erreicht: Übertragung der Kristallisation in den industriellen Maßstab mit hoher Reinheit und Ausbeute und in und kontinuierliche Fahrweise. Verbessertes Prozesskonzept getestet.
AP 2.4 AB Umwandlung	03/2022 bis 02/2025	Ziele erreicht: AB-Konversion im kontinuierlichen Maßstab mit hoher Ausbeute erfolgt. Regelmäßiger Betrieb der Decarboxylierungs-Anlage und Produktion von >100 kg biobasiertem Anilin.
AP 2.5 AB Rückgewinnung	10/2022 bis 02/2025	Ziele teilweise erreicht: Extraktion als führendes Verfahren zur Rückführung von AB ausgewählt. Pilotierung bei COV im Jahr 2025 geplant.
AP 2.6 Destillation	10/2022 bis 02/2025	Ziele erreicht: Destillations-Pilotanlage erfolgreich in Betrieb. Mehrere 100 kg destilliertes biobasiertes Anilin produziert. Reinheitsanforderungen an Anilin in AP 3.1 bestätigt.
AP 2.7 Ökonomische Bewertung	10/2022 bis 02/2025	Ziel erreicht: Die ökonomische Evaluierung des Prozesses im Vergleich zum konventionellen Verfahren aus Benzol aktualisiert.
AP 2.8 Ökologische Bewertung	10/2022 bis 02/2025	Ziel erreicht: Ökologische Bewertung des Prozesskonzeptes und aller Varianten erfolgt.
AP 2.9 Verwertung von Abfallströmen	03/2022 bis 02/2025	Ziele erreicht: Analyse von Hauptkomponenten des Prozesses erfolgt. Analyse von Restströmen erfolgt und Spezifikationsgrenzen definiert.
AP 3.1 MDI-Synthesetests	04/2023 bis 09/2024	Ziel erreicht: Testung des biobasierten Anilins in mehreren MDI-Anwendungsfeldern erfolgreich durchgeführt.
AP 3.2 PUR-Synthesetests	10/2023 bis 02/2025	Ziele erreicht: erfolgreiche Testung des hergestellten MDIs aus Arbeitspaket 3.1 auf Eignung zur Synthese von Polyurethanen. Verifizierung in weiterem klassischen Anwendungsfeld (Appliance Hartschaums).
AP3.3 Alternative Anilin-Verwertung	04/2023 bis 02/2025	Ziel erreicht: Tests zur Eignung von biobasiertem Anilin im Bereich Kunststoffasern erfolgreich abgeschlossen.

## **b) Zusammenfassung**

Die katalytischen Schritte zur Umsetzung von nachwachsenden, biobasierten Rohstoffen zu Anilin wurden erheblich optimiert. Im Bereich der mikrobiologischen Stammentwicklung, dem ersten Umsetzungsschritt, konnten die relevanten Performance-Kenngrößen (z.B. Titer und Ausbeute) deutlich verbessert werden. Auch im Bereich der Gesamtprozessentwicklung wurden wesentliche Fortschritte für die industrielle Nutzbarkeit des Verfahrens gemacht. So konnten die ersten Schritte des Prozesses bereits mehrmals in den industriellen Maßstab übertragen und das Zwischenprodukt AB im Tonnen-Maßstab produziert werden. Das aus diesen Kampagnen gewonnene Material wurde in den nachfolgenden Umsetzungs- und Aufarbeitungsschritten im Maßstab von mehreren Tonnen zu spezifikationsgerechtem biobasiertem Anilin weiterverarbeitet. Auf Basis der gewonnenen Erkenntnisse wurde der Gesamtprozess für größere Produktions-Maßstäbe ausgelegt. Das hergestellte Anilin wurde im Rahmen des Projektes zu MDI, und anschließend in verschiedenen Anwendungsfeldern getestet. Die erhaltenen Muster zeigten keine signifikanten Abweichungen im Vergleich zum petro-basierten Vergleichsmustern auf. Außerdem konnte das hergestellte bio-basierte Anilin erfolgreich für die Herstellung bestimmter Fasern getestet werden.

## II. Ausführliche Darstellung der Ergebnisse

### 1. Erzielte Ergebnisse

#### Arbeitspaket AP 1.1: Metabolic Engineering

Im Rahmen des Arbeitsfelds Mikrobiologische Entwicklung muss ein mikrobieller Stamm entwickelt werden, der mittels seines Stoffwechsels industrielle Zuckerlösungen und Stickstoffquellen mit hoher Effizienz in Aminobenzoat (AB) umsetzt. Das bedeutet, der Stamm muss eine hohe Konzentration von Aminobenzoat (Titer in g/l) erreichen bei einer gleichzeitig hohen Produktausbeute (in  $g_{AB}/g_{Glucose}$ ). Darüber hinaus muss der Stamm das fermentative Zwischenprodukt Aminobenzoat in hohen Konzentrationen tolerieren (Resistenz), da andernfalls kein Wachstum möglich ist. Mit Hilfe von genetischen Modifikationen und begleitet durch umfassende Metaboliten-/Metabolom-Analysen und Modellierung des Zellstoffwechsels wurde der eingesetzte mikrobiologische Stamm weiter optimiert.

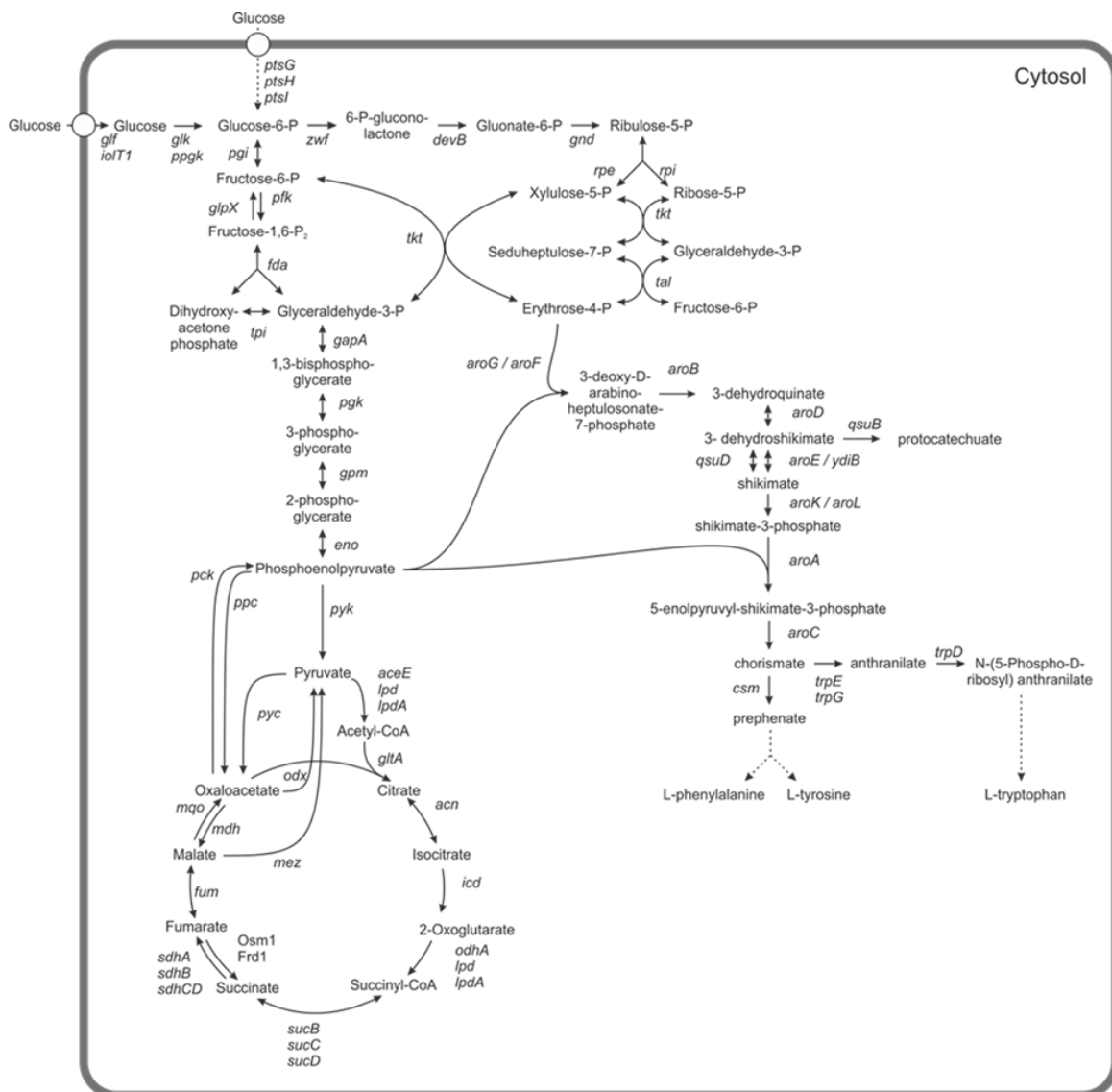


Abbildung 4: Schematische Darstellung der wichtigsten Biosynthesewege zum Aminobenzoat (AB) in *Corynebacterium glutamicum* bestehend aus dem Zentralstoffwechsel, der Aromaten-Biosynthese (Shikimatweg) und dem L-Tryptophan-Biosyntheseweg. Aminobenzoat (anthranilate) ist ein Intermediat des L-Tryptophan-Biosynthesewegs.

Nachdem im vorangegangenen Bio4PUR-Projekt der Fokus der Stammentwicklung auf dem Shikimatweg und die Aminobenzoatbiosynthese gerichtet und im Verlauf von Bio4PURPro insbesondere die Glucoseaufnahme und die Stoffwechselwege zur Bereitstellung der Vorläufermoleküle des Shikimatwegs verstärkt worden waren, wurde in Bio4PURDemo die Produktivität der Stämme durch kontinuierliche Optimierung weiter erhöht. Zudem wurde die Verwertung von Xylose, einem wesentlichen Bestandteil von Second Generation (2G)-Zuckerlösungen, weiter verbessert. Auch die Eignung von Acetat als zusätzliches Substrat zur Produktion von

Aminobenzoat wurde untersucht. Der Einsatz von alternativen Kohlenstoffquellen kann einen zusätzlichen positiven Einfluss auf die Nachhaltigkeit des Verfahrens bewirken.

### **Arbeitspaket AP 1.2: Aminobenzoat-Resistenz**

Damit ein Produktionsstamm hohe Aminobenzoat-Konzentrationen bei gleichzeitig hoher Ausbeute und Produktivität erreichen kann, muss er eine entsprechend hohe Toleranz gegenüber dem Molekül aufweisen. Im Rahmen des voran gegangenen Bio4PUR-Projekts wurde die Toleranz des bakteriellen Ausgangsstamms gegenüber AB durch gerichtete Laborevolution signifikant gesteigert, sodass der evolvierte Stamm auch bei hohen Konzentrationen von AB noch Wachstum aufwies. Innerhalb des vorangegangenen Bio4PURPro-Projekts konnten durch kontinuierliche Weiterentwicklung neue Stämme generiert werden, die sukzessiv höhere AB-Titer im Überstand erreichten.

Zum Ende des Bio4PURPro-Projekts wurde jedoch deutlich, dass die erreichten höheren Konzentrationen von AB einen negativen Einfluss auf die Produktivität besitzen. Dies wurde auch durch Spike-In-Experimente untermauert, bei denen zu Beginn der Fermentation externes Aminobenzoat hinzugegeben wurde. Dies hatte einen deutlich negativen Effekt auf die Glukoseverbrauchsrate und Produktivität. Es wurde deutlich, dass die Toleranz des Produktionsstamms noch einmal verbessert werden muss, um die final angestrebten Konzentrationen erreichen zu können.

Um eine Grundlage für zukünftige Verbesserungen der Toleranz zu schaffen, wurden im Bio4PURPro- Projekt Versuche mit dem Ziel durchgeführt, die inhibitorische Wirkung des Aminobenzoats besser zu verstehen. Beispielsweise wurde untersucht, ob diese vornehmlich auf die hohe Osmolalität der Fermentationsbrühe zurückzuführen ist. Dies scheint nicht der Fall, da die Zugabe von Natriumchlorid bis zu vergleichbaren Osmolalitäten geringeren Einfluss als die Zugabe von Aminobenzoat hatte. Der Mechanismus scheint dementsprechend spezifischer zu sein.

Da beobachtet wurde, dass sich im Verlauf von Fermentationen spontan ein N-Glucosid des Aminobenzoats bildet, wurde auch die Toxizität dieses Glucosids im Vergleich zum freien Aminobenzoat untersucht. Es wurde festgestellt, dass das Glucosid weniger inhibierend auf die Zellen wirkt. Es konnte anschließend gezeigt werden, dass der Anteil des Aminobenzoats, das als Glucosid vorliegt, durch die Einstellung verschiedener Prozessparameter beeinflusst werden kann.

Im Rahmen des Bio4PURDemo-Projekts wurden auch die Mutationen weiter untersucht, die zur erhöhten Toleranz des Stamms beitragen. Dazu wurden weitere Genomanalysen des Ausgangsstamms und des evolvierten Stamms durchgeführt. Es wurde damit begonnen den Einfluss einzelner Mutationen auf die Toleranz zu untersuchen. Zudem wurde damit begonnen die metabolische Last (*metabolic burden*) des Produktionsstamms zu reduzieren. In diesem Zusammenhang wurden nicht-essenzielle Gen-Cluster identifiziert, die aus den Genomen unserer Produzentenstämme entfernt werden können.

### **Arbeitspaket AP 1.3: Omics und Modellierung**

Das Arbeitspaket OMICS und Modellierung unterstützte kontinuierlich die Stammentwicklung mit einem genomweiten stöchiometrischen Stoffwechselmodell und detaillierten Charakterisierungen ausgewählter Stämme mittels der Genom-, Transkriptom- und Metabolom-Analyse.

Ein kontinuierlich weiterentwickeltes genomweites Netzwerkmodell des Zellstoffwechsels erlaubte dabei die computergestützte (in silico) Vorhersage von vorteilhaften genetischen Modifikationen für die Stammoptimierung. Diese Modifikationen werden in die Zelle eingebracht und durch Charakterisierungsversuche im Rahmen des Metabolic Engineering überprüft.

Die Genomsequenzierung und -analyse wurde genutzt, um die Korrektheit durchgeführter genetischer Modifikationen zu bestätigen und spontane, ungewollte Mutationen auszuschließen.

Die Transkriptom-Analyse wurde dazu genutzt geeignete Promotoren für die Expression von verschiedenen Zielgenen zu identifizieren, die Verstärkung der Expressionen von Zielgenen zu bestätigen und Ursachen für beobachtete Dynamiken in Kultivierungsverläufen zu untersuchen. Sie lieferte entscheidende Hinweise auf noch bestehende Regulationsmechanismen, die es aufzuheben galt.

Die qualitative und quantitative Bestimmung von intra- und extrazellulären Metaboliten wurde unterstützend für das Metabolic Engineering durchgeführt. Sie erlaubte es, die entscheidenden Reaktionen zu identifizieren, die in dem entsprechenden Stamm eine Limitation darstellten und zur Akkumulation von Nebenprodukten führten.

## **Arbeitspaket AP 2.1: Conceptual Design & Engineering**

In den Jahren 2022 und 2023 wurden die Aspen-Plus-Modelle für die Decarboxylierung und für die Produktaufarbeitung aktualisiert. Zusätzlich wurde eine Aktualisierung des Aspen-Modells für den AB-Rückgewinnungsprozess durch Extraktion bereitgestellt. Zur Bereitstellung von Massenbilanzen für das neue Prozesskonzept wurde ein Excel-Modell entwickelt sowie ein thermodynamisches Modell für den Kristallisationsschritt unter Verwendung von unterschiedlichen Säuren in der Kristallisation. Die Migration aller Aspen-Plus-Prozessmodelle zu einem einheitlichen AVEVA Process Simulation-Modell wurde im Jahr 2023 abgeschlossen. Im Allgemeinen wurden diese Modelle zur Unterstützung der anderen Arbeitspakete verwendet und zur Bewertung und zum Vergleich verschiedener Prozesskonzepte durch Bereitstellung aktualisierter Prozessausbeuten und zur Identifizierung kritischer Verbesserungspunkte sowie zur Durchführung von Sensitivitätsstudien genutzt. Im Jahr 2024 wurde ein allgemeines Update der Prozessmodelle für zwei Prozessvarianten durchgeführt.

Zur Unterstützung des Entwicklungs-Projekts zur Planung einer Demonstrationsanlage wurde eine Masse- und Energiebilanz für unterschiedliche Prozessvarianten erstellt. Darüber hinaus wurde gemeinsam mit der Verfahrenstechnik ein Prozessmodell erstellt, das eine Berechnung der Versorgungsbilanz für Dampf, Kondensat, Kühlwasser und Kaltwasser im Demonstrations-Maßstab ermöglicht. Dieses Prozessmodell wurde in das bestehende Simulationsmodell für den Demonstrationsmaßstab integriert. Für die Bewertung der zeitabhängigen Schritte während des späteren Betriebs der Anlage wurde ein zusätzliches Modell zur Simulation von parallel ablaufenden Prozessabschnitten, basierend auf dem Software-Tool INOSIM (INOSIM GmbH, Deutschland), entwickelt.

## **Arbeitspaket AP 2.2: Fermentation & Zellabtrennung**

Im Rahmen des Arbeitspaketes 2.2 zur Entwicklung der Fermentation- und Zellabtrennung wurden die folgenden Themenfelder bearbeitet:

Ein großer Meilenstein des Projekt-Teams im Jahr 2023 war die Produktion von AB während einer zweiten Scale-up-Kampagne bei einem externen Partner. Während dieser Kampagne wurde eine Gesamtmenge von insgesamt über 4 Tonnen Material produziert. Hinsichtlich der Ausbeute wurden die Meilensteine erreicht. Nach Abschluss der Fermentation wurden die Fermenter entleert und die Biomasse über Separatoren abgetrennt. Die konzentrierte, biomassehaltige Phase wurde in einem Waschschrift mit Wasser versetzt. Über eine Filtration wurde die wässrige Phase inkl. gelösten Salzes des AB anschließend filtriert und die geklärte Fermentationsbrühe einem Kristallisator zugeführt. In einem Rührkessel wurde das AB aus beiden Fermentationen in Batch-Ansätzen kristallisiert, die Kristalle über eine Zentrifuge von der Mutterlauge abgetrennt und anschließend getrocknet.

Zusätzlich wurde das Recycling von Zellmasse im Laborreaktormaßstab getestet. Falls die Zellen nach einem Fermentationslauf aktiv bleiben, könnte die Wiederverwendung der Zellen zu einer Verbesserung von Titer, Ausbeute und Produktivität beitragen. Dieses Konzept wurde mit einem aktuellen Produktionsstamm getestet. Während die volumetrische Produktivität durch das Zellrecycling erhöht wird, war die endgültige metabolische Ausbeute der Fermentationen während der ersten Versuche ähnlich.

Die Aktivitäten im Arbeitspaket Fermentation und Zellabtrennung im Jahr 2024 konzentrierten sich auf die Optimierung verschiedener Aspekte während der Fermentation. Die Reduzierung komplexer Medienbestandteile, die als Nährstoffe zur Fermentation zugegeben werden, war eine der wesentlichen Aufgaben. Da komplexe Medienbestandteile wie Maisquellwasser oder Hefeextrakt einen hohen Anteil an Feststoffpartikeln enthalten, wird die Produktaufarbeitung durch diese Komponenten erschwert (z.B. durch Verstopfung von Filtern oder erhöhte Filtrationszeiten) oder führt zu höheren Kosten für die Trennung durch Filtration. Darüber hinaus kann die Qualität von Maisquellwasser und Hefeextrakt von Charge zu Charge variieren. Diese Schwankungen können zu Abweichungen in der Produktivität und Produktqualität zwischen verschiedenen Chargen führen. Zusätzlich kann Maisquellwasser inhibitorische Verbindungen und Nebenprodukte aus der Maisverarbeitung enthalten, die das mikrobielle Wachstum und die Gesamtleistung und Ausbeute der Prozessschritte beeinträchtigen können. Schließlich kann die kontinuierliche Versorgung mit hochwertigem Maisquellwasser für eine großtechnische Produktionskampagne in Zukunft nicht garantiert werden.

Durch den Verzicht auf komplexe Inhaltsstoffe wie Maisquellwasser und Hefeextrakt in den Vorkultur-Fermentern wurde festgestellt, dass das Zellwachstum und die Produktivität auch ohne die Zugabe von komplexen Medienbestandteilen in den Vorkultur-Fermentationen zufriedenstellend sind. Infolgedessen werden diese Komponenten nicht benötigt und wurden daher als Nährstoffe aus diesen Kultivierungsschritten entfernt.

Abhängig von den zukünftigen Zuckerpreisen und potenziellen Standorten zur Produktion von biobasiertem Anilin könnten andere Zucker neben Glukose, wie beispielsweise Saccharose, eine wettbewerbsfähige Alternative zur Glucose als wesentliche C-Quelle darstellen. Um Saccharose als eine potenzielle alternative C-Quelle zu bewerten und zu testen, wurde die Leistung für einen der aktuellen Produktionsstämme unter

ausschließlicher Verwendung von Saccharose als C-Quelle getestet. Trotz der Tatsache, dass die Produktbildungsrate leicht reduziert und die Produktausbeute deutlich reduziert war, konnte gezeigt werden, dass die Verwendung von Saccharose im Vergleich zu Glucose prinzipiell möglich ist. Die Anwendung von Saccharose als C-Quelle in einer großtechnischen Produktionsanlage würde allerdings die vorherige Optimierung der Aufnahmerate und Produktausbeute voraussetzen.

Zur Überwachung der Aufnahme und des Verbrauchs von Medienbestandteilen sowie der Produktbildung während der Fermentation wurde die qualitative und quantitative RAMAN-Analyse im Labormaßstab getestet. Es wurde festgestellt, dass Glucose als C-Quelle während der Fermentation sowie die Produktbildung mittels einer RAMAN-Sonde überwacht werden können. Beide Signale zeigten deutliche und klare Peaks, was diese Technik zu einem attraktiven und vielversprechenden Werkzeug für die zukünftige Kontrolle der Prozessbedingungen in der Fermentation macht.

### **Bewertung der notwendigen Anpassung zur Verwendung einer Kohlenstoffquelle aus zweiter Generation**

Während der Projektlaufzeit wurde die Nutzung von Kohlenstoffquellen der zweiten Generation für biobasiertes Anilin weiterentwickelt. Substrate der zweiten Generation zeichnen sich durch ihre komplexe Zusammensetzung aus, die neben Glukose auch C5-Zucker (Xylose und Arabinose) sowie organische Säuren (Milch-, Ameisen- und Essigsäure) umfasst. Diese Substrate enthalten zudem Salze, die während ihres Herstellungsprozesses eingebracht werden.

Diese Salze bleiben während der Fermentation bestehen, da sie entweder nicht oder nur teilweise abgebaut werden, was zu steigenden Salzkonzentrationen im Fermenter führt. Der daraus resultierende erhöhte osmotische Druck beeinträchtigt die bakterielle Produktivität und folglich die Raum-Zeit-Ausbeute des Fermentationsprozesses. Im Rahmen des Projektes zeigte sich in Fermentationsversuchen aber auch, dass die Nebenkomponenten der betrachteten Zuckerlösungen reduziert wurden und sich damit der Einsatz für die Produktion von biobasiertem Anilin vorteilhafter darstellt.

### **Bestimmung der produzierten Wärmemenge und weiterer kritischer Scale-up Größen für den AB-Produktionsprozess (COV, IBVT)**

Ein maßstabsreduziertes System, das einen Rührkessel (STR) und einen Rohrreaktor (PFR) kombiniert, wurde entwickelt, um pH-Heterogenitäten abzubilden, die typischerweise in industriellen Bioprozessen beobachtet werden. Dieses System wurde im Rahmen des Projekts zur Untersuchung der physiologischen Reaktionen und Anpassungsmechanismen von *Corynebacterium glutamicum*-Produktionsstämmen unter schwankenden pH-Bedingungen genutzt und es konnten Änderungen im Energiestoffwechsel der Bakterien identifiziert werden.

Zur Ergänzung dieser physiologischen Erkenntnisse wurde ein modifizierter Bioreaktor als Wärmeübertragungssystem konzipiert, der die direkte Quantifizierung der während Wachstum und Produktion freigesetzten metabolischen Wärme ermöglicht. Die resultierenden Daten unterstützen nicht nur das bessere Verständnis des zellulären Stoffwechsels, sondern ermöglichen auch eine genaue Abschätzung des Kühlbedarfs in großtechnischen Produktionsanlagen.

### **Arbeitspaket AP 2.3: Kristallisation & Filtration**

Kristallisationen von AB aus der Fermentationsbrühe wurden im Jahr 2023 in einem automatisierten Versuchsaufbau unter Verwendung einer Standard-Methode mit schneller Säuredosierung bis zum Erreichen des Übersättigungspunktes für Batch-Kristallisationen durchgeführt.

Im Jahr 2024 umfassten die Aufgaben im Arbeitspaket Kristallisation und Filtration den erfolgreichen Transfer vom Batch-Betrieb zu einer kontinuierlichen zweistufigen Kristallisation im Labormaßstab. Der neu entwickelte zweistufige kontinuierliche Kristallisationsaufbau wurde auch verwendet, um die Fähigkeit zur Aufrechterhaltung von Steady-State-Bedingungen zu evaluieren, Keimbildung und Kristallwachstum zu überwachen und die Prozessrobustheit beim kontinuierlichen Betrieb zu bewerten. Während der kontinuierlichen Kristallisationsversuche wurden Ausbeutewerte im Bereich des theoretischen Maximums erzielt.

Um den kontinuierlichen Kristallisation-Schritt im geplanten Demonstrations-Maßstab auslegen zu können, wurde ein externer Partner beauftragt, um basierend auf den Prozessdaten aus Kristallisationen im Labormaßstab einen geeigneten großskaligen Kristallisationsaufbau zu entwickeln. Experimentelle Ergebnisse und Details des vorgeschlagenen Designs wurden mit dem Partner diskutiert und stellen die Grundlage für weitere Planungen dar.

Ergebnisse aus Decarboxylierungs-Versuchen im Labor und Pilotierungs-Maßstab zeigen, dass die Reinheit der AB-Kristalle einen entscheidenden Einfluss auf die Reaktion zur Decarboxylierung hat. Zur Optimierung

der Kristallreinheit wurden mehrere Versuche durchgeführt, um zu untersuchen, ob Verunreinigungen durch zusätzliches Waschen oder nachfolgende Reinigungsschritte, entfernt werden können.

Die Verdampfung von Wasser vor der Kristallisation kann genutzt werden, um die Gesamtausbeutewerte während der Kristallisation zu erhöhen und den Aufwand für die Verarbeitung der Mutterlauge während der nachfolgenden Extraktion und Abwasserbehandlung zu reduzieren. Um Decarboxylierung und Anilinbildung während der Verdampfung zu vermeiden, wurde ein Niedrigtemperatur-Verdampfungsschritt getestet. Die Ergebnisse belegen, dass der Verdampfungsschritt so durchgeführt werden kann, ohne dass signifikante Mengen an Anilin gebildet werden.

#### **Arbeitspaket AP 2.4: AB Konversion**

Im Förderzeitraum wurden verschiedene Aspekte hinsichtlich der Decarboxylierung von AB zu Anilin im Labormaßstab untersucht. Grundlegende Laborforschung wurde am CAT Catalytic Center an der RWTH Aachen durchgeführt, um den Decarboxylierungsschritt zu optimieren und Möglichkeiten zur weiteren Prozessoptimierung zu evaluieren. In diesem Zusammenhang wurde das zuvor optimierte Konzept für die katalytische Decarboxylierung von AB zu Anilin erfolgreich auf den kontinuierlichen Betrieb übertragen.

Als weiterer Punkt wurde das Feststoff-Dosierkonzept für den nächsten Scale-up-Schritt untersucht. Ein Konzept inklusive Design der Apparate für die kontinuierliche Dosierung von AB wurde entwickelt, sodass es in einen großen Maßstab übertragbar ist.

Aktivitäten im Arbeitspaket AB-Umwandlung im Jahr 2024 konzentrierten sich auf die Umwandlung von AB zu Anilin. Auf der Suche nach einem bevorzugten Katalysator für die Skalierung der Decarboxylierung zu Anilin wurden unterschiedliche Katalysatoren am CAT Catalytic Center in aufeinanderfolgenden Zyklen Langzeit-Versuchen getestet. Dazu wurde eine kontinuierliche Reaktionsführung unter Verwendung verschiedener Durchsatzraten erprobt.

Mit dem Ziel, die Präzision eines von Covestro entwickelten reaktionskinetischen Modells zu verbessern, wurde die Reaktion der thermischen und katalytischen Decarboxylierung in Batch-Reaktoren bei verschiedenen Temperaturen untersucht. Der Einfluss von unterschiedlichen Nebenkomponenten auf die Kinetik der Decarboxylierung wurde evaluiert, wobei sich zeigte, dass einige Nebenkomponenten im AB einen deutlichen Einfluss auf Parameter wie die Reaktionsgeschwindigkeit und die Bildung von Nebenprodukten haben.

Die Scale-up-Aktivitäten in Bezug auf die Decarboxylierung im Pilotmaßstab konzentrierten sich im Jahr 2023 auf die Inbetriebnahme der Pilotanlage. Nach einer mehrjährigen Planungs- und Bauphase wurde die mechanische Fertigstellung und anschließende Inbetriebnahme durchgeführt. Die Kampagnen-Laufzeit der Pilotierungsanlage war während der ersten Kampagne zunächst begrenzt, da die Feststoffbildung intensiver war als ursprünglich erwartet, was zu einer Verstopfung der Filter und anschließender Abschaltung aufgrund von übermäßigem Druckverlust führte. Im folgenden Reinigungszyklus traten zusätzliche Probleme mit der Feststoffbildung auf, sodass auch der entsprechende Filter durch einen größeren Filter ersetzt werden musste. Die weiteren Aktivitäten in der Pilotanlage konzentrierten sich hauptsächlich auf das Sammeln von Betriebserfahrung. Es wurden im Laufe der Projektzeit mehr als eine Tonne an biobasiertem Anilin in der Pilotanlage hergestellt, und das Betriebsfenster wurde genauer charakterisiert. Insbesondere wurden Erkenntnisse zum An- und Abfahren, zum Reinigen und zum Korrosionsverhalten gewonnen.



Abbildung 5: Ansichten der Decarboxylierungs-Pilotanlage in Leverkusen

### **Arbeitspaket AP 2.5: AB Rückgewinnung**

Die Entfernung von verbleibendem AB aus der wässrigen Mutterlauge nach der Kristallisation wurde im Arbeitspaket Rückgewinnung von AB weiterentwickelt und verbessert. Die Rückgewinnung von AB aus der Mutterlauge ist erforderlich, um die Gesamtprozessausbeute zu erhöhen und die organische Belastung im Abwasser zu reduzieren. Als eine Option für die Rückgewinnung kann die Extraktion mit einem organischen Lösungsmittel, gefolgt von einer Rückextraktion, verwendet werden. Dieser Extraktionsschritt wurde mit Mutterlauge unterschiedlicher Zusammensetzung getestet und optimiert.

Auf Basis dieser Versuchsergebnisse wurden Extraktions- und Rückextraktions-Kolonnen ausgelegt, die im Rahmen einer Demonstrationsanlage zum Einsatz kommen könnten. Der Betrieb von Extraktionskolonnen unterhalb der Auslegungskapazität kann jedoch zu schlechter Extraktionsleistung führen. Daher wurden auch alternative industrielle Konzepte wie eine Mischer-Abscheider-Batterie (MSB) für variable und geringere Durchsatzanforderungen betrachtet.

### **Arbeitspaket AP 2.6: Destillation**

Die Aktivitäten in diesem AP konzentrierten sich zu Projektbeginn auf die Fertigstellung und Inbetriebnahme der kontinuierlichen Destillations-Pilotanlage. Nach erfolgreicher Durchführung der Kalteinbetriebnahme begann die Heißinbetriebnahme. Diese wurde aber durch einen Pumpenausfall unterbrochen, was zu einer Verschiebung der ersten kontinuierlichen Schichtversuche in das Jahr 2024 führte.

Im Februar 2024 wurde die Pilotanlage während einer zweiwöchigen Destillation vollständig in Betrieb genommen. In weiteren Kampagnen wurden die Betriebsparameter angepasst, um einen robusteren Betrieb zu gewährleisten. Mithilfe der Anlage konnte gezeigt werden, dass das Gesamtdestillationskonzept zur Aufreinigung von biobasiertem Anilin funktioniert. Das primäre Ziel der Anilinkolonne ist es, die spezifizierte Anilinreinheit zu erreichen. Ergebnisse aus vorherigen Laborversuchen im Batch-Betrieb haben bereits gezeigt, dass keine hochsiedenden Komponenten zu erwarten sind. Dies wurde während der kontinuierlichen Destillationskampagnen bestätigt. Die Reinheit des destillierten Anilins lag im ersten Lauf bereits innerhalb der zulässigen petrochemischen Spezifikation zur Herstellung von MDA bzw. MDI und wurde in allen Kampagnen erreicht.

### **Arbeitspaket AP 2.7: Ökonomische Bewertung**

Die Aktivitäten im Arbeitspaket Ökonomische Bewertung konzentrierten sich auf den Vergleich aktueller Prozessvarianten zur Herstellung von biobasiertem Anilin. Die Kosten für unterschiedliche Prozessoptionen wurden hinsichtlich der wichtigsten Rohstoffpreise und Anlagenkosten aktualisiert. Für Investitionskosten (CapEx) wurden die einzelnen Kosten für die wesentlichen Apparate berücksichtigt und eine faktorbasierte Methode zur Kostenschätzung verwendet.

Die Betriebskosten werden hauptsächlich durch den Verbrauch von Zuckerlösung bestimmt, der von den zuvor beschriebenen Annahmen für Ausbeute, Produktivität und Titer abhängt. Andere Rohstoffe wie Ammoniak, Natronlauge und Salzsäure sowie Energie-, Umwelt- und Abschreibungskosten sind ebenfalls wichtige Beiträge zu den geschätzten Gesamtkosten. Auch weitere Fixkosten, wie z.B. Personalkosten, wurden für beide Prozessvarianten (konventionell und biobasiert) in der Berechnung berücksichtigt, auch wenn diese einen geringeren Einfluss auf das Ergebnis haben.

### Arbeitspaket AP 2.8: Ökologische Bewertung

Eine ökologische Bewertung wurde basierend auf einer Lebenszyklusanalyse kontinuierlich aktualisiert. Ein Ausblick auf das Jahr 2032 zeigte exemplarisch, dass der Cradle-to-Gate-Fußabdruck von MDI auf Basis bi-zirkulärer Rohstoffe oder biobasierter Feedstocks der zweiten Generation das niedrigste Global Warming Potential einschließlich biogenem Kohlenstoff aufweisen wird. Insbesondere der Prozess für biobasiertes Anilin profitiert von erneuerbaren Energien, und weiteres Reduktionspotenzial kann erschlossen werden, wenn CO<sub>2</sub> aus der Decarboxylierung für die CO-Produktion verwendet wird.

### Arbeitspaket AP 2.9: Verwertung von Abfallströmen

Die Abwasserbehandlungskosten einschließlich des Einflusses des gesamten organischen Kohlenstoffs (TOC) wurden 2023 intensiv untersucht. Die Möglichkeit zur Verwertung der Zellmasse für die Produktion von Biogas wurden erstmals durch Laborstudien evaluiert.

Aus biotechnologischen Prozessen resultieren häufig Reststoffströme, die mit einer hohen organischen Belastung (C- und N-Last) aus den Fermentationsnebenkomponenten und ungenutzten Ausgangsmaterialien verbunden sind. Auch die aus der Fermentationsstufe des Prozesses für biobasiertes Anilin gewonnene Biomasse stellt aufgrund der Menge, des Salz-, Stickstoff- und Feststoffgehalts eine Herausforderung bei der Entsorgung dar. Daher mussten Behandlungsansätze entwickelt werden, um diese komplexen Abfallströme zu behandeln.

#### Spezifikationen der Restströme

Die Ausarbeitung von Spezifikationen wurde als Kernelement für die Auswahl des Prozessweges für die Abwasserbehandlung im Prozess für biobasiertes Anilin identifiziert. Die laufenden Entwicklungen und Optimierungen der vorgelagerten Prozesse erforderten eine Neuerstellung der Spezifikationen unter Berücksichtigung eines breiteren Spektrums von Komponenten. Ziel war es, auf dieser Basis Behandlungs- und Kostenaspekte vorhersagen zu können. Ausgehend von Analysen des Abwassers (insbesondere Stickstoff und organische Stoffe) aus Fermentationskampagnen und der nachfolgenden Aufbereitung, Simulationsmodellen (hauptsächlich für anorganische und Salzkonzentrationen) sowie Zukunftserwartungen wurde ein konservatives und ein optimiertes Szenario mit Spezifikationen für den Prozess erstellt (siehe Tabelle 1).

Tabelle 1: Abwasserspezifikationen

	Optimiertes Szenario	Konservatives Szenario
Komponenten	Konzentrationen (g/L)	
Gesamter organischer Kohlenstoff (TOC)	<1.8	4
Ammonium-Stickstoff (NH <sub>4</sub> -N)	<0.3	0.5
Gesamt-Stickstoff	<0.4	0.9
Gesamte Kohlenhydrate	nicht teilbar, da vertraulich (n.t.)	n.t.
Gelöste Gesamtfeststoffe (TDS)	n.t.	n.t.

Analog dazu wurde eine Biomassespezifikation erstellt, die in Tabelle 2 aufgeführt ist. Die Biomasse weist bedingt durch die limitierte Anzahl analytischer Resultate sowie die Heterogenität der organischen und partikulären Fraktionen erhöhte Unsicherheitsfaktoren auf. Das definierte konservative Szenario ist in Tabelle 2 dargestellt. Ein optimiertes Szenario ist noch in Bearbeitung.

Tabelle 2: Biomassspezifikation

	Konservatives Szenario
Komponenten	Konzentrationen (g/L)
Gesamt-CSB	266
Gelöster CSB	40
Ammonium-Stickstoff (NH <sub>4</sub> -N)	0,2
Gesamt-Stickstoff	n.t.
Gesamte suspendierte Feststoffe (TSS)	n.t.

#### Abwasserbehandlung: Design und Rückgewinnung

Die aktualisierten Parameter aus Tabelle 1 zeigen eine signifikante Reduzierung des Stickstoffgehalts und anderer organischer Verbindungen im Vergleich zu älteren Daten. Zuvor war eine klassische aerobe Behandlung für Bio-Anilin-Abwasser für die organische Belastung (hauptsächlich C und N) ausgelegt worden. Das Design wurde für beide Szenarien (optimiert und konservativ) durch Massenbilanzberechnungen neu bewertet und damit die Kostenprojektionen verfeinert. Die Hauptkostentreiber für die Abwasserbehandlung sind Volumenstrom, Kohlenstoff- und Stickstoffbelastungen. Durch die geringeren Stickstofffrachten konnte die Behandlung um eine Nitrifikations-Denitrifikationslinie reduziert werden. Dieser Ansatz einer Stickstoffelimination würde jedoch die Verwertung desselben nicht unterstützen. Daher wurden zusätzliche Stickstoffrückgewinnungsoptionen wie Membrankontaktor-Technologie und Ammoniak-Strippping in Betracht gezogen, die insbesondere zusammen mit einer Organika-Verwertung (anaerobe Methanerzeugung) vorteilhaft sind. Letztere wurde in einem parallel gestarteten F&E-Projekt (Cornerstone) bearbeitet. Anhand der Massenbilanz wurden die verschiedenen Prozessrouten für das Abwasser, einschließlich Energie- und Salzurückgewinnung, bewertet.

#### Biomasseverwertung

Die während der Fermentation anfallende Biomasse weist aufgrund ihres hohen Feststoff-, Organik-, Stickstoff- und Salzgehalts spezifische Herausforderungen auf, die sie von konventionellen Fermentationsrückständen differenzieren und die direkten Entsorgungsoptionen limitieren.

Die anaerobe Vergärung wurde als primärer Behandlungsansatz identifiziert, gefolgt von der Restschlammbehandlung mittels thermischer Verwertung oder Düngemittelapplikation. Basierend auf dem organischen Biomassegehalt und definierten Annahmen wurde eine theoretische Massenbilanz für das anaerobe Potenzial entwickelt. Im Jahr 2023 wurden Laborfermentationsversuche unter Verwendung von Pilotversuchsmaterialien und gemäß VDI 4630-Richtlinien durchgeführt. Während diese Versuche die generelle Biodegradabilität und anaerobe Durchführbarkeit verifizierten, erfordern kritische Parameter wie Ammoniak-Inhibition, Feststoffkonzentration und Salzgehalt weitere Validierung. Langzeituntersuchungen mit ausreichender Probenmenge sind für präzise Methanertrag-Prognosen sowie Design- und Kostenkalkulation essenziell.

Das Post-Digestions-Schlammmanagement erfordert die Berücksichtigung von Feststoffreduktionsraten (typischerweise 30-35 % gemäß Applied Guide to Water and Effluent Treatment Plant Design). Der finale Entsorgungspfad der digerierten Biomasse – ob thermische Verwertung oder Düngemittelnutzung – ist abhängig von den Endnutzeranforderungen bezüglich Feststoffgehalt und Nährstofflimits, was potenziell Entwässerung und Nährstoffaddition erforderlich macht.

Die regulatorische Evaluierung (einschließlich Düngemittelverordnung 2019, RAL-GZ 245 und Bundesgütegemeinschaft Kompost) offenbart Herausforderungen hinsichtlich der Auswirkungen hoher organischer Säuren und niedriger Feststoffkonzentrationen. Diese Regularien, die eher genereller als spezifischer Natur für organische säurereiche Materialien sind, verdeutlichen die Notwendigkeit umfassender Produktprüfungen – aktuell limitiert durch die begrenzte Biomasseverfügbarkeit.

Außerhalb des Projektes wurde ein Patent angemeldet, welches die anaerobe Biogasproduktion aus der Biomasse und dem Abwasser und dessen Konversion zu Synthesegas, bestehend aus Kohlenmonoxid und optional Wasserstoff, mittels Reformierung beschreibt. Dies dient der zukünftigen Nutzung als Grundbaustein für chemische Synthesewege wie die zu Isocyanaten, um einen höheren Wertstoffnutzen aus dem Abfall zu generieren und Kohlendioxidemissionen zu reduzieren.

#### **Arbeitspaket AP 3.1: MDI-Synthesetests**

Die erfolgreiche Verwertung des biobasierten Anilins für die MDI-Herstellung und die Polyurethan-Wertschöpfungsketten erforderte umfassende Qualitätsanalysen, insbesondere hinsichtlich der

Produktspezifikationen und möglicher Störsubstanzen. Ein wichtiger Durchbruch gelang im Bio4PURDemo-Projekt: Erstmals wurde biobasiertes Anilin aus dem Pilot-Maßstab in spezifikationsgerechtes MDA/MDI umgesetzt. Die Testung des biobasierten MDI in Anwendungstests wurde im Rahmen der AP 3.2 durchgeführt.

Die Weiterverarbeitung des biobasierten Anilins erfolgte über MDA zu MDI. Bei der MDA-Synthese verbindet Formaldehyd zwei biobasierte Anilin-Moleküle. Dieses Brückenatom reduziert den biobasierten Kohlenstoffanteil im Endprodukt aktuell noch. In den entstehenden höheren Oligomeren fällt der biobasierte Kohlenstoffanteil entsprechend niedriger aus.

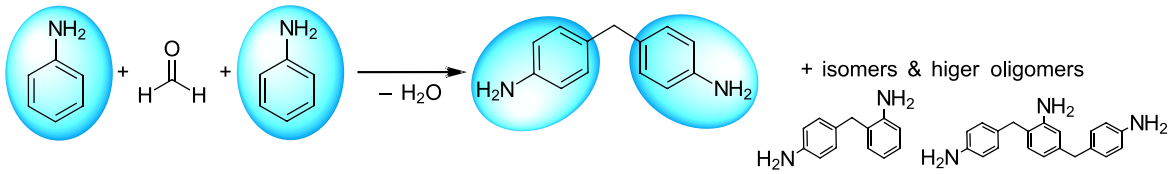


Abbildung 6: Synthese von bio-MDA aus bio-Anilin und petro-basiertem Formaldehyd

Die Phosgenierung des MDA führt zu MDI - einem Standardprodukt mit breiter Anwendung in der Auto- und Bauindustrie. Der biobasierte Kohlenstoffanteil im Endprodukt wird durch zwei zusätzliche petrobasierte Kohlenstoffatome aus dem Phosgen reduziert. Die Entstehung höherer Oligomere während der MDA-Synthese ist dabei für die Polymer-MDI-Bildung charakteristisch.

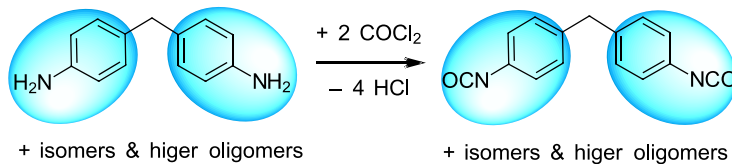


Abbildung 7: Synthese von MDI durch Flüssigphasen-Phosgenierung von Bio-MDA

Der biobasierte Kohlenstoffanteil variiert je nach MDI-Typ: Im monomeren MDI (Destillationsprodukt) sind maximal 80 % der Kohlenstoffatome biobasiert (12 von 15 Atomen), während Polymer-MDI (die höheren Homologen des Monomer-MDI) einen maximalen Bioanteil von 76 % erreicht. Diese Limitierung ergibt sich aus den petrobasierten Komponenten in den nachgelagerten Syntheseschritten. Eine weitere Steigerung des biobasierten Kohlenstoffanteils wäre durch den Einsatz biobasierter Varianten von Formaldehyd und Phosgen möglich.

Das biobasierte Anilin erwies sich in der Polymer-MDI-Synthese als gleichwertig zum petrobasierten Anilin. Vergleichsversuche verschiedener MDI-Typen zeigten identische Eigenschaften in allen relevanten Parametern: Farbe, Viskosität, Isocyanat- und Chlorgehalt sowie die Verteilung der Kern-MDI-Typen (2-, 3- und 4-Kern).

Die in den vergangenen Jahren hergestellten Proben erfüllten vollständig die Spezifikationen des Verkaufsprodukts Desmodur 44V20L von Covestro und dienten der internen Musterproduktion.

Im Jahr 2022 wurden im Labormaßstab mehrere kg biobasiertes Anilin mit 100 % Bio-C-Gehalt hergestellt. Teile dieses Materials sind in der Folge zu ca. 450 g eines MDI-Verkaufsproduktes mit ca. 80 % Bio-C-Gehalt umgesetzt wurde. In unseren Anwendungstechniklaboratorien wurde ein anderer Teil des Produktes zu einem sogenannten Metal-Panel-Hartschaum für die Isolation von Gebäuden umgesetzt (s. auch WP 3.2). Wir erhielten einen Schaum mit ca. 67 % Bio-C-Gehalt. Die für den Schaum verwendete kommerzielle Polyolformulierung enthielt dabei weitere Komponenten mit biogenem Kohlenstoff und Recyclingmaterialien.

In 2024 wurde erstmals eine Polymer-MDI-Musterherstellung ähnlich dem Verkaufsprodukt Desmodur 44V20L hergestellt. Hierfür wurde biobasiertes Anilin aus der Pilotanlage verwendet. Auch dieses Muster erfüllte die Spezifikation und wurde zur Herstellung eines Appliance-Hartschaums genutzt, wie er beispielsweise zur Isolation von Kühl- und Heizgeräten eingesetzt wird.

### Arbeitspaket AP 3.2: PUR-Synthesetests

Im Rahmen des AP3.2 wurde die Synthese von Polyurethanen aus Bio-Anilin-basiertem MDI untersucht. Bereits in den vorherigen Projekten wurde von der Herstellung von Polyurethanschäumen berichtet.

Im Jahr 2022 wurde eine weitere Charge von polymerem MDI basierend auf Bioanilin hergestellt. In diesem Fall wurde, wie oben beschrieben, ein polymeres MDI nach der Spezifikation des Verkaufsproduktes Desmodur 44V70L produziert, das in PUR/PIR-Hartschaumanwendungen standardmäßig eingesetzt wird. Das polymere MDI-Produkt weist im Unterschied zu den früheren Synthesen hauptsächlich eine höhere Funktionalität und Viskosität auf, um im dadurch hergestellten PUR/PIR-Hartschaum bei sehr geringen Rohdichten von ca. 40kg/m<sup>3</sup> noch ausreichend hohe Festigkeiten zu erreichen. Mit einem polymerem MDI nach der Spezifikation des Verkaufsprodukts Desmodur 44V20L würden die resultierenden Schäume bei diesen äußerst geringen Rohdichten zu geringen Festigkeiten aufweisen, um diese in Bau-Isolationsanwendungen einzusetzen.

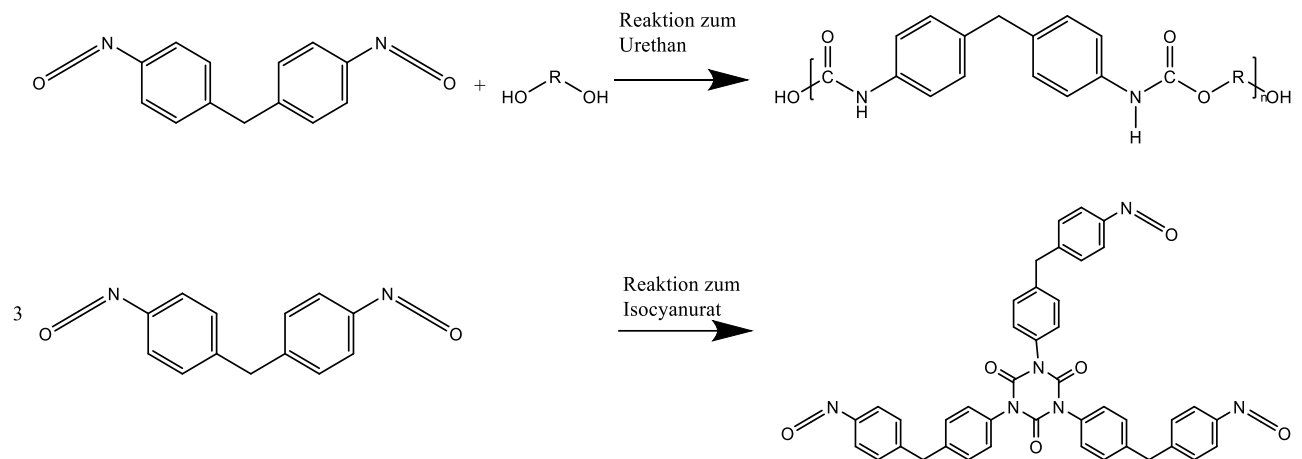


Abbildung 8: Konkurrierende Reaktionen bei der Herstellung von Polyurethan-(PUR)-Polyisocyanurat-(PIR)-Schäumen.

PUR/PIR-Hartschäume weisen zwei Aushärtemechanismen auf (Abbildung 8). Das Isocyanat wird mit einem sehr hohen Überschuss zu den eingesetzten OH-Gruppen des Polyols eingesetzt. Zum einen reagieren ein Teil der Isocyanat-Gruppen des eingesetzten Polymer-MDI stöchiometrisch mit den OH-Gruppen der eingesetzten Polyesterpolyole (Polyurethan-PUR-Reaktion), zum anderen sorgt ein speziell ausgewählter Katalysator dafür, dass die überschüssigen NCO-Gruppen zu Isocyanurat-Gruppen (Polyisocyanurat-PIR-Reaktion) abreagieren und dadurch einen sehr hohen Vernetzungsgrad des entstehenden Hartschaumes aus Polyurethan (PUR) und –Polyisocyanurat (PIR) erzeugen. Dieser hohe Vernetzungsgrad führt zusammen mit dem schon hochfunktionell ausgewählten Polymer-MDI Desmodur 44V70L zu einer hohen Härte und Festigkeit der Hartschäume, die gleichzeitig eine sehr geringe Rohdichte von ca. 40kg/m<sup>3</sup> aufweisen.



Abbildung 9: PUR/PIR-Hartschaum mit lackierten Stahlblech-Deckschichten; hergestellt mit Polymer-MDI aus bio-basiertem Anilin

Die Hochleistungs-PUR/PIR-Hartschäume (Abbildung 9), die aus dem Bioanilin-basierten Polymer-MDI hergestellt wurden, weisen die gleichen Zellstrukturen und Rohdichten auf wie solche auf Petroanilin-Basis (s. Abbildung 10).



Abbildung 10: links PUR/PIR-Hartschaum (grün eingefärbt; 40 kg/m<sup>3</sup>) aus biobasiertem MDI, rechts die gleiche Rezeptur mit petrobasiertem MDI

Tabelle 3: Vergleich der PUR/PIR-Hartschaum Herstellung (40 kg/m<sup>3</sup>) mittels einem petro-basierten Polymer-MDI Desmodur 44V20L und einem im Labor hergestellten auf Bio-Anilin basierendem Polymer-MDI mit analoger Spezifikation

		MP02923L-01 (petro MDI)	MP02923L-02 (bio-basiertes MDI)
<b>Bio-C Gehalt gemessen (C14)</b>	%	-/-	tbd <sup>1</sup>
<b>Polyoltemperatur</b>	°C	25	25
<b>Isocyanattemperatur</b>	°C	30	30
<b>Formtemperatur</b>	°C	60	60
<b>Mischzeit</b>	s	7	7
<b>Startzeit</b>	s	14	16
<b>Abbindezeit</b>	s	40	44
<b>Klebfreizeit</b>	s	51	57
<b>Haftung nach 5 min</b>		2+	2+
<b>Haftung nach 24h</b>		2+	2+
<b>Bodenstörungen</b>		keine	keine

Im Jahr 2024 wurde aus Bioanilin, erstmals hergestellt in der Pilotanlage bei Covestro in Leverkusen, ein Polymer-MDI-Labormuster ähnlich dem Produkt Desmodur 44V20L hergestellt. Das Polymer-MDI wurde zur Fertigung eines sogenannten Appliance-Hartschaums mit der einer Standard-Polyol-Formulierung verwendet. Diese Schäume werden z.B. in Kühlschränken und Warmwasserbereitern zur Isolation eingesetzt. Es handelt sich um einen reinen Polyurethan-Hartschaum ohne Isocyanurat-Anteil, so dass hier deutlich geringere Mengen MDI eingesetzt werden. Die Schäume weisen ebenfalls eine hohe mechanische Festigkeit auf, müssen aber während des Lebenszyklus deutlich weniger mechanisch belastbar sein als z.B. die oben erwähnten Metal-Panel-PUR-PIR-Hartschäume. Die Herstellung gelang ohne Probleme, und die Reaktivitätseigenschaften der Formulierung waren vergleichbar mit dem Verkaufsprodukt Desmodur 44V20L.



TI-3927		
Thema:		
<b>Formulierung</b>	PT-Nr.:	<b>1</b>
	pbw	
30HK70	pbw	100,00
Desmorapid 726B		0,50
<b>KONTROLLE</b>		
Summe Polyolabmischung		100,00
Wasser %		0
<b>Rezepturen</b>		
<b>1</b>		
Formulierung	pbw	100
Reactint grün	pbw	0,50
Cyclopentan	pbw	13
	pbw	
MDI- WRS 2127	pbw	147
<b>Rezeptureigenschaften</b>		
<b>1</b>		
Treibmittel im Gemisch	%	4,99%
<b>LABOR</b>		
<b>Freischaum</b>		
<b>1</b>		
Rührerdrehzahl	U/min	1000
Rührzeit	s	6
Startzeit	s	9
Abbindezeit	s	60

Abbildung 11: Appliance-Hartschaum auf Basis von biobasiertem Anilin aus dem Pilot-Maßstab

### Arbeitspaket AP 3.3: Alternative Anilin-Verwertung

Das Arbeitspaket evaluierte die Einsatzmöglichkeiten von biobasiertem Anilin für weitere chemische Folgeprodukte. Konventionelles, petrobasiertes Anilin wird in verschiedensten Anwendungen wie z.B. Farben, Lacken, Kunstfasern, Kautschuk und Pharmazeutika eingesetzt. Die Eignung des in Arbeitsfeld 2 hergestellten biobasierten Anilins wurde bei einem Partner auf die Verwendbarkeit zur Herstellung von Fasern getestet. Die Tests bestätigten, dass das in Arbeitsfeld 2 produzierte biobasierte Anilin die erforderlichen Reinheitskriterien voll erfüllt. Die Synthese der Zielverbindungen verlief erfolgreich und ohne detektierbare unerwünschte Nebenkomponenten. Das Material kann somit direkt, ohne zusätzliche Reinigungsschritte, für die Herstellung der betrachteten Faser eingesetzt werden.

Eine Evaluierung für weitere Anwendungsgebiete ist in Planung.

## 2. Verwertung

### a) Erfindungen/Schutzrechtsanmeldungen

Covestro reichte während der Projektlaufzeit sechs neue Patentanmeldungen ein. Die Anmeldungen betreffen die Themen:

Amtliches Aktenzeichen	Stichwort
EP23156866.8	Glykierte AB zur Toxizitätsreduzierung
EP22166914.6	Reaktivdestillation in der Decarboxylierung
EP22182138.2	Rückgewinnung von oAB durch Komplexbildung
EP23217860.8	Zwischenkristallisation
EP23217859.0	Kristallisation mit Ameisensäure
EP24219540.2	Amidspaltung nach Decarboxylierung

### b) Wirtschaftliche Erfolgsaussichten nach Projektende

Das biobasierte Anilin-Verfahren bietet zwei wesentliche kommerzielle Vorteile: die Erfüllung der steigenden Marktnachfrage nach nachhaltigen Produkten und stabilere Produktionskosten durch Rohstoffdiversifizierung.

Covestro verfolgt parallel verschiedene Nachhaltigkeitsansätze: 2021 wurde erstmals CO<sub>2</sub>-reduziertes Benzol aus Pflanzenresten eingesetzt. Diese Alternative basiert auf Massenbilanzierung ("Mass-Balanced") nach dem ISCC-Standard. Im Gegensatz dazu ermöglicht das hier entwickelte Verfahren eine segregierte, skalierbare Produktion, deren biobasierter Anteil mittels <sup>14</sup>C-Methode eindeutig nachweisbar ist. Die Wirtschaftlichkeit aller Verfahren wird maßgeblich von der künftigen Rohstoffpreisentwicklung und von deren Nachfrage bzw. Regulatorik bestimmt. Covestro beobachtet diese Entwicklungen weiter.

### c) Wissenschaftliche und/oder technische Erfolgsaussichten nach Projektende

Die Verwertung von Aminobenzoat beziehungsweise Aminobenzoesäure als neuer, biobasierter Rohstoff für verschiedene Anwendungen wurde in Versuchen bei Covestro und Partnern erfolgreich gezeigt. Die vielversprechenden Ergebnisse werden weiter betrachtet, und es ist durchaus denkbar, dass hierdurch neue biobasierte Produkte entstehen.

Covestro hat sich an mehreren Initiativen im Zusammenhang zum Scale-Up von biotechnologischen Prozessen in Deutschland engagiert. Das Projekt hat auf die spezifischen Branchen-Bedarfe anhand der eigenen Erfahrungen aufmerksam gemacht und auf die Lücke zwischen Labor und Produktion in bestimmten Bereichen der biobasierten Industrie hingewiesen. Nichtsdestotrotz sieht Covestro gute Möglichkeiten, den Prozess in den nächstgrößeren Maßstab zu übertragen.

### d) Wissenschaftliche und wirtschaftliche Anschlussfähigkeit

Die in den drei Arbeitsfeldern größtenteils erreichten Ziele motivierten Covestro, die Prozessentwicklung für biobasiertes Anilin fortzusetzen. Covestro wird weiter das marktseitige Interesse beobachten. Es ist das Ziel, den Prozess zu skalieren, um die Grundlagen für eine wirtschaftliche und ökologische Produktionsanlage für biobasiertes Anilin zu schaffen. Bei entsprechender Wirtschaftlichkeit des Verfahrens ist langfristig eine Produktionsanlage mit einer Kapazität von >100.000 t/a vorgesehen.

## 3. Erkenntnisse von Dritten

Es sind keine neuen Ergebnisse Dritter bekannt geworden, die für das katalytische Konzept oder Prozesskonzept oder die Verwertungsmöglichkeiten relevant sind.

#### 4. Veröffentlichungen

Es wurden insgesamt sechs neue Schutzrechtsanmeldungen von Covestro im Rahmen des Projektzeitraums beim Europäischen Patentamt eingereicht, deren Veröffentlichung teilweise noch aussteht.

Covestro berichtete während folgender Konferenzen und Anlässen in Form eines Vortrages über das Projekt Bio4PURDemo / biobasiertes Anilin:

- ProcessNet & DECHEMA-BioTechNet Annual Conference, 13th ESBES Symposium, Aachen, 15. September 2022
- Rotary Club, Leverkusen, 21. März 2023
- 8. Doktorandentag NRW, Neuss, 25. Oktober 2023
- Renewable Materials Conference, Bonn, 11. Juni 2024
- PURForum, Nachhaltigkeit in der PUR-Verarbeitung, KUZ, Leipzig, 6. Juni 2024
- 5. Bioökonomiekongress Baden-Württemberg, Fellbach 19. September 2024

Am 13. Februar 2024 fand die Einweihungsfeier der Pilotanlage für biobasiertes Anilin in Leverkusen statt. Die Anlage wurde im Beisein von Vertretern aus Politik, Wissenschaft und Industrie ihrer Bestimmung übergeben. Neben einer Panel-Diskussion, an der unter anderem die nordrheinwestfälische Vize-Ministerpräsidentin und Umweltministerin Mona Neubauer teilnahm, fanden Führungen durch die Pilotanlage für Besucher und Presse statt. Das Medienecho war umfangreich mit diversen Veröffentlichungen in regionalen sowie überregionalen Zeitungen, Fachmagazinen und Fernsehsendungen.

Im Förderungszeitraum nahmen die Projektpartner der Universität Stuttgart und RWTH Aachen an nationalen und internationalen Tagungen teil und berichteten in Form von Vorträgen und Postern über ihre Arbeiten im Rahmen des Bio4PURDemo-Projektes.