

GEFÖRDERT VOM



Bundesministerium
für Bildung
und Forschung

REMSGOLD Chemie GmbH & Co. KG

EcoWashCycle - „Nachhaltige Produktion von waschaktiven
Inhaltsstoffen durch biologische Konversion von
Müllereireststoffen“

Verantwortliche Autoren:

Dr. Anne Waidelich

Marius Schraml

Förderkennzeichen:

031B0829A

„Das diesem Bericht zugrundeliegende Vorhaben wurde mit Mitteln des Bundesministeriums für Bildung und Forschung unter dem Förderkennzeichen 031B0829A gefördert. Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt bei den Autoren. „

Kurzzusammenfassung

Ökologisch zertifizierte Wasch- und Reinigungsmittel müssen strenge Standards einhalten die jeglichen Einsatz von petrochemischen Substanzen oder gentechnisch veränderten Materialien verbieten und fordern einen möglichst hohen Einsatz von bio-Rohstoffen. Insbesondere die Verwendung von Palm- und Kokosöl, deren Gewinnung mit der Regenwaldabholzung und damit einhergehender Verlust von Biodiversität assoziiert wird, soll in der nächsten Produktgeneration eliminiert werden. Im Vergleich zu konventionellen Wasch- und Reinigungsmitteln ist die Waschleistung von ökologisch zertifizierten Produkten niedriger, da bestimmte Additive, besonders in Waschmitteln (Farbübertragungsinhibitoren, Vergrauungsinhibitoren, waschaktive Enzyme) durch ihren petrochemischen Ursprung oder ihre Gewinnung durch gentechnisch veränderte Materialien nicht verwendet werden dürfen.

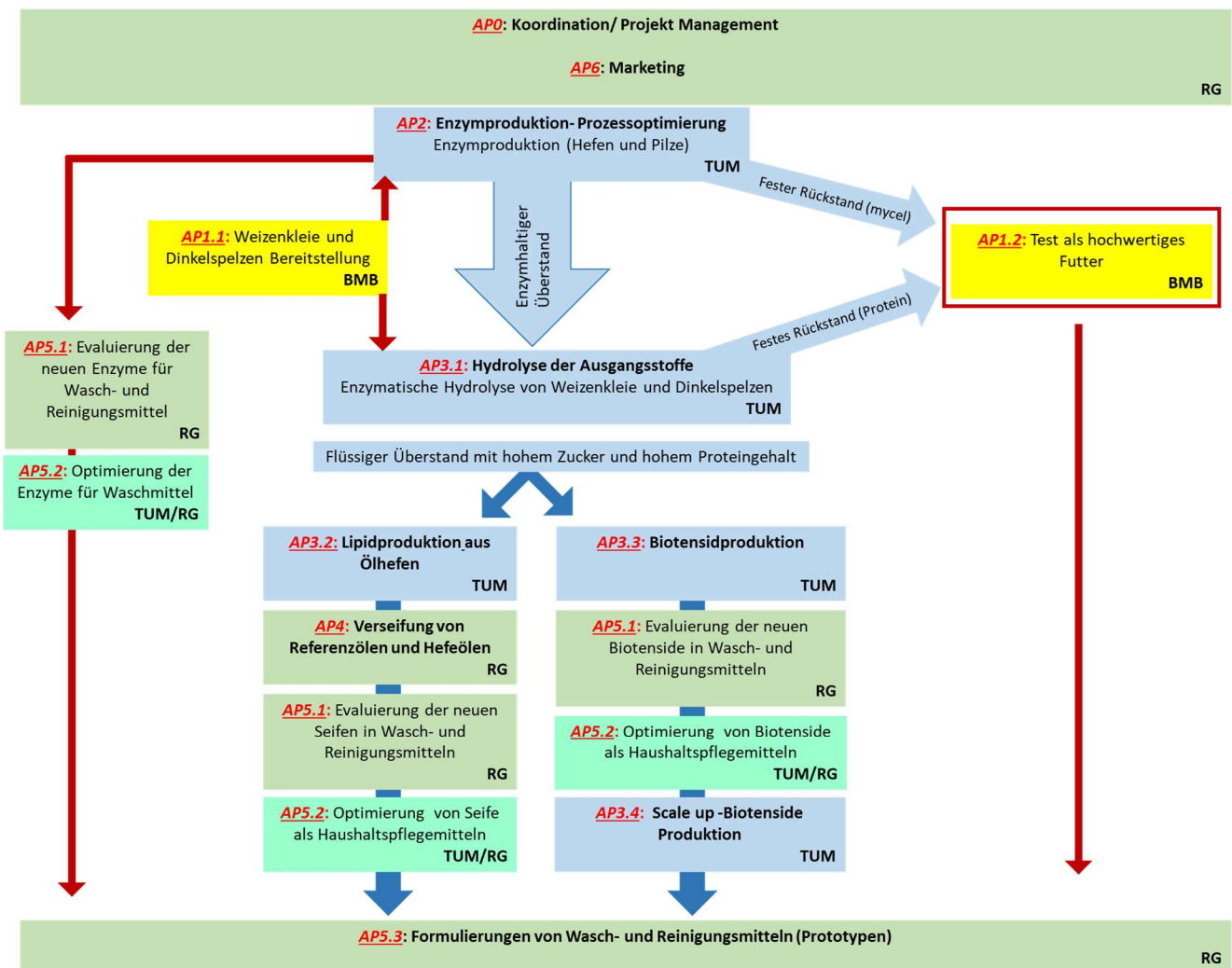


Abbildung 1: Geplanter Ablauf des Projektes EcoWashCycle.

EcoWashCycle hatte die Aufgabenstellung, eine innovative, abfallfreie Bioraffinerie zur Umsetzung von Mühlennebenprodukten zu Enzymen, Seifen und Tensiden als maßgeschneiderte Inhaltsstoffe für ökologisch zertifizierbare Wasch- und Reinigungsmittel zu entwickeln, der geplante Ablauf ist in Abbildung 1 dargestellt. Durch die Generierung eines hochwertigen Produktspektrums aus Mühlennebenprodukten sollte der ökologische Wert von öko-zertifizierten Wasch- und Reinigungsmittelformulierungen durch die Abschaffung von tropischen Ölen als Rohstoff erhöhen. Die Standards von ökologisch zertifizierten Wasch- und Reinigungsmitteln verbieten die Nutzung von Enzymen, Seifen oder Tensiden die mit gentechnisch veränderten Materialien hergestellt wurden. Diese regulatorische Vorgabe stellt ein signifikantes und grundlegendes Risiko dar, da natürliche mikrobiologische Stämme oft Nebenprodukte produzieren und die Produktivität sehr niedrig sein kann. Um diese technologischen und auch ökonomischen Risiken abzumildern müssen alle Zwischenprodukte und Endprodukte sinnvoll genutzt werden und außerdem die in Frage kommenden Bakterienstämme gescreent und selektiert werden und durch geeignete Prozessoptimierung die Ausbeute erhöht werden. Daher war geplant, zunächst alle grundlegenden biotechnologischen Prozesse im Labormaßstab zu erarbeiten und die optimierten Prozesse dann in einem Scale-up in einen technischen Maßstab zu überführen, um die entsprechenden ökonomischen und ökoeffizienten Daten zu ermitteln. Ziel war die Herstellung erster Prototyp-Waschmittel im technischen Maßstab die bereits zur Produktzertifizierung genutzt werden können.

Die Lipidproduktion aus Ölhefen des Projektpartners TUM-WSSB war im kleinen Maßstab erfolgreich. Die erhaltenen Hefeöle wurden bei Remsgold verseift. Als Vorbereitung wurden verschiedene Referenzöle zunächst im Labormaßstab erfolgreich verseift. Mit Kokosfett wurde ein Scale-up bis zur Herstellung von 800 kg Seife erfolgreich durchgeführt. Bei entsprechender Verfügbarkeit kann auch ein Scale-up der Hefeölverseifung erfolgen. Die Ausbeuten und die Qualität der Seifen sind gut und relativ konstant.

Die Ergebnisse zur Evaluierung der Hefeölseife in Wasch- und Reinigungsmittelrezepturen sind sehr gut und zeigen, dass Hefeölseife prinzipiell in Wasch- und Reinigungsmittel eingearbeitet werden kann.

Bei den Mustern TUM_6, TUM_7 und TUM_8 konnten deutliche Amylasenaktivitäten nachgewiesen werden, die allerdings in der Gegenwart von Waschmittel deutlich absinken. Hier wäre eine Stabilisierung des Enzyms zur Verwendung in Wasch- und Reinigungsmitteln notwendig.

Inhalt

I.	Durchgeführte Arbeiten	5
(1)	AP 0: Koordination und Projektmanagement	5
(2)	AP 5: Verseifung von Referenz- und Hefeölen	6
	Ergebnisse.....	6
	Versuche Firma YSTRAL.....	10
	Auswertung	11
	Glycerintest	12
(3)	AP 6.1 Evaluierung der neuen Seifen, Tenside, Proteine und Enzyme durch Vergleiche mit Referenzmaterialien	17
	Evaluierung der Waschleistung der Enzymmuster.....	17
	Ergebnisse TUM_4, TUM_5 und TUM_6.....	19
	Ergebnisse TUM_7 und TUM_8.....	21
	Zusammenfassung.....	23
II.	Die wichtigsten Positionen des zahlenmäßigen Nachweises	24
III.	Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Projektarbeiten	24
IV.	Voraussichtlicher Nutzen, insbesondere die Verwertbarkeit des Ergebnisses.....	25
V.	Während der Durchführung des Vorhabens bekannt gewordener Fortschritt auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen	27
VI.	Erfolgte oder geplante Veröffentlichungen des Ergebnisses.....	27

I. Durchgeführte Arbeiten

(1) AP 0: Koordination und Projektmanagement

Remsgold als Koordinator organisiert die Termine der Projekttreffen, Vorlagen für Präsentationen, erstellt die Agenda und die Protokolle.

Die Projekttreffen sollten planmäßig halbjährlich im Wechsel in Stuttgart und München stattfinden. Aufgrund der Einschränkungen durch die Corona Pandemie fanden allerdings die Projekttreffen Nr. 2, 3 und 4 virtuell statt. Projekttreffen 5 fand bei der TUM statt, Projekttreffen 6 beim Bayerischen Müllerbund. Projekttreffen 7 fand krankheitsbedingt virtuell statt.

(2) AP 5: Verseifung von Referenz- und Hefeölen

Einleitung

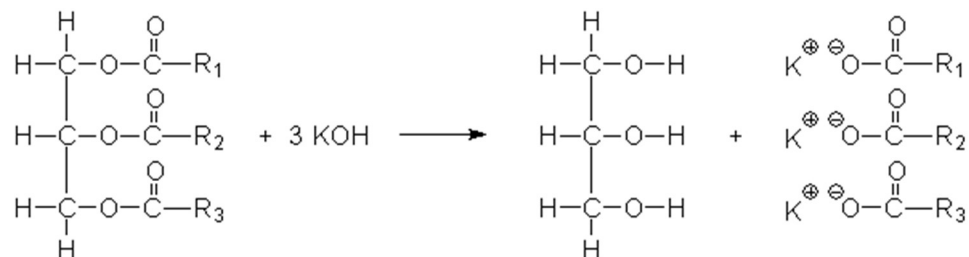
Ziel ist es, mit Hilfe der Projektpartner aus Abfallprodukten Hefeöl zu erzeugen und daraus Hefeölseife im großtechnischen Maßstab zu gewinnen. Dadurch könnte auf Palmöl bzw. Kokosfett aus den Tropen verzichtet werden.

Zu Beginn werden Versuche mit verfügbaren Ölen durchgeführt (bspw. Sonnenblumenöl, Rapsöl, Kokosfett, Olivenöl), um erste Erfahrungen zu sammeln und den Prozess der Verseifung zu verstehen bzw. zu kontrollieren.

Sobald größere Mengen von Hefeöl verfügbar sind, wird dieses auf Grundlage der gewonnenen Erfahrungen versucht zu verseifen.

Grundsätzlicher Reaktionsablauf

Die Verseifung ist die Esterhydrolyse von Triglyceriden mithilfe von Natron oder Kalilauge (bei Zugabe von Natronlauge entsteht Kernseife, bei Zugabe von Kalilauge entsteht Schmierseife). Es entsteht Glycerin und die entsprechenden Alkalisalze der Fettsäuren.



Ergebnisse

Scale-up Kokosseife

Die verschiedenen Öle wurden im Labormaßstab bereits erfolgreich verseift, so dass nun das erste Scale-up mit Kokosöl durchgeführt werden konnte. Kokosöl wurde ausgewählt, weil es die besten Wasch- und Reinigungsleistungen aufweist und bei Remsgold kommerziell verfügbare Kokosseifen als Referenzen vorhanden sind. Ziel des Scale-ups ist die Überprüfung der Reaktionsparameter die im Labormaßstab ermittelt wurden, die Durchführbarkeit und mögliche Anpassungen in der Reaktionsdurchführung aufgrund veränderter Eigenschaften, z.B. schnellerer Temperaturanstieg o.ä. Auch die Ausbeute und die Reinigungseigenschaften werden überprüft und evaluiert, ob es Unterschiede gibt die auf die Ansatzgröße zurückzuführen sind. Durch ein erfolgreiches Scale-up kann die industrielle Herstellung der (Hefeöl-) Seifen vorbereitet werden. Da bei RG momentan ca. 60 t Seife

aus Bio-Rohstoffen und ca. 80 t Seife aus konventionellen Rohstoffen verarbeitet werden, ist eine Herstellung von mindestens 1 t eine sinnvolle Größe, um die Herstellung der Seife aus Bio-Rohstoffen in der eigenen Produktion umzusetzen. Bei entsprechender Verfügbarkeit soll die Seifenherstellung nach Projektende dann direkt mit den Hefeölen starten, wenn das Scale-up für die Hefeölverseifung ebenfalls erfolgreich durchgeführt wurde.



Abbildung 2: Versuchsaufbau für die Verseifung im Labormaßstab von < 2kg, mit Rührer und pH Meter.

Die bisherigen Laborversuche wurden in einem Maßstab von <2kg durchgeführt. Der Versuchsaufbau ist in Abbildung 2 dargestellt. In den meisten Fällen wurde 400g Fett vorgelegt und die restlichen Substanzen entsprechend zugegeben, so dass ca. 1600 g 30%ige Seifenlösung erhalten wurde.

Im nächsten Schritt wurde auf einen 4kg Maßstab vergrößert (ca. 1 kg Kokosfett als Vorlage). Dieser Sprung verlief problemlos. Dann wurde auf 10 kg (ca. 2,5 kg Kokosfett als Vorlage) und in direkter Folge auf 25 kg (ca. 5 kg Kokosfett als Vorlage) vergrößert. Hier gab es zu Beginn Schwierigkeiten mit einer vollständigen Umsetzung. Der Verdacht der mangelnden Kühlung bzw. stärkeren Hitzeentwicklung konnte sich nicht bestätigen. Auch die kontinuierliche Zugabe von Kaliumhydroxid hatte keinen positiven Einfluss auf die Reaktion. Nach erneuter Bestimmung der Verseifungszahl und einem Unterschuss an Kaliumhydroxid bei der Reaktion konnte auch in diesem Maßstab eine fast vollständige Verseifung erzielt werden. Der Versuchsaufbau für die Verseifung von 1-5 kg Kokosfett ist in Abbildung 3 dargestellt.



Abbildung 3: Versuchsaufbau für Verseifung von 1-5 kg Kokosfett zur Herstellung von 4-25 kg 30%ige Seifenlösung.

Daraufhin wurde die Ansatzgröße auf 100 kg vergrößert. Es wurden 4 Ansätze mit jeweils 24 kg Kokosfett durchgeführt. Der Versuchsaufbau ist in Abbildung 4. Alle vier Ansätze haben problemlos durchreagiert und gute Ausbeuten erzielt, ca. 92,5%.

Der nächste Skalierungsschritt war die Herstellung von ca. 1000 kg Seife. Als Ansatzgröße wurde die Verseifung von 200 kg Kokosfett gewählt, so dass ca. 800 kg 30%ige Seifenlösung hergestellt werden können. Die Verseifung verlief gut und erreichte eine Ausbeute von ca. **90,5%**. Der Versuch wurde in der Produktion durchgeführt, der Aufbau ist in Abbildung 5 gezeigt.

Dieser Schritt ist essenziell, da die Herstellung von ca. 1000 kg Seife einer realistischen Ansatzgröße entspricht, sollte zukünftig bei RG selbst (Hefeöl-) Seife hergestellt werden. Mit einer Verseifung von 1000 kg pro Woche könnte bereits der Jahresbedarf an ökologisch-zertifizierter Seife gedeckt werden.



Abbildung 4: Versuchsaufbau zur Verseifung von 24 kg Kokosfett zur Herstellung von 100 kg Kokosfettseife.



Abbildung 5: Versuchsaufbau in der Produktion zur Herstellung von 800 kg Kokosfettseife. Oben: Außenansicht des Behälters. Unten: Sicht in den Rührbehälter.

Versuche Firma YSTRAL

Um die Herstellung von Hefeölseife in der Produktion bei einem aktuellen Bedarf von ca. 60-140t/ Jahr zu gewährleisten wird je nach Auslastung der Produktion möglicherweise eine neue Anlage benötigt. Durch eine neue Anlage könnten auch größere Verseifungsansätze gefahren werden und die Herstellung der Seifen wäre unabhängig von der restlichen Produktionsplanung. Außerdem wäre es möglich, die Anlage direkt auf den Verseifungsprozess anzupassen, mit passenden Rührwerken/ Leistungen und somit auch den Verseifungsprozess zu optimieren.

Bei der Firma YSTRAL konnten wir eine passende Anlage für Versuchszwecke im Technikum mieten und Versuche durchführen. Zusätzlich wurde versucht mit der Anlage die Menge an Ethanol zu reduzieren. Die Anlage fasst 250 Liter und eine Conti-TDS-3 mit 30kW, welche die Lösung kontinuierlich im Kreislauf pumpt. Eine schematische Darstellung der Arbeitsweise ist in Abbildung 6 gezeigt. Der Versuchsaufbau ist in Abbildung 7 dargestellt. Unterstützt wird die Durchmischung mit einem 7,5kW Leitstrahlmischer.



Abbildung 6: Schematische Darstellung der Funktionsweise der Conti-TDS Anlage der Fa. Ystral.

Übertragung der Versuche auf die YSTRAL Anlage

Zuerst wurde ein Versuch wie bereits bei Remsgold in der Produktion durchgeführt auf die YSTRAL Anlage übertragen und durchgeführt. Die Verseifungsreaktion lief aufgrund der viel stärkeren Durchmischung der Anlage sehr heftig und schnell ab. Die Ausbeute betrug 96,6%.

- Reduzierung Ethanolgehalt

In weiteren Versuchen wurde der Ethanolgehalt reduziert.

„Warme“ Verseifung mit Ethanol

Bei diesem Versuch wurde die benötigte Menge an Wasser vorgelegt und durch die Scherkräfte der Anlage auf 70°C erwärmt, danach wurden die restlichen Rohstoffe zugegeben. Die Reaktion startete langsam und benötigte sehr viel Zeit bis die Seife durchreagiert ist.

Die Ausbeute betrug 93,3%.

Diese Art der Verseifung ist möglich, benötigt aber einen sehr hohen Energieeintrag seitens der Anlage.



Abbildung 7: Versuchsaufbau bei der Fa. Ystral mit einer Conti-TDS-3 zur Reduzierung des Ethanolgehaltes.

Verseifung ohne Ethanol

In diesem Versuch wurde die Hälfte der benötigten Menge Wasser vorgelegt und mit dem Fett gemischt. Danach wurde die Kalilauge zugegeben. Durch die Scherkräfte der Anlage wurde der Ansatz erhitzt. Die Reaktion startet aufgrund der höheren Konzentration der Lösung deutlich schneller. Die Verseifung lief gut durch und konnte mit dem restlichen Wasser auch ohne einen starken Viskositätsanstieg verdünnt werden.

Die Ausbeute betrug 92,3%.

Diese Art der Verseifung könnte, nach weiteren Optimierungen, auch in der Produktion realisiert werden, benötigt aber ebenso einen relativ hohen Energieeintrag.

Auswertung

Bestimmung der Verseifungszahl

Die Verseifungszahl gibt an, welche Menge an KOH (in mg) benötigt wird, um 1g Fett/Öl vollständig zu verseifen

Sie wird in Anlehnung an DIN EN ISO 3657 bestimmt.

1,5g des zu untersuchenden Fettes/Öls wird in einen 250 ml Erlenmeyerkolben eingewogen und mit 25ml ethanolischer Kaliumhydroxidlösung (0,5mol/l) versetzt und unter Rückfluss und Zuhilfenahme von Siedesteinen für eine Stunde gekocht. Die noch heiße Lösung wird mit 0,5ml Phenolphthalein-Lösung versetzt und gegen eine Salzsäure-Maßlösung (0,5mol/l) bis zum Farbumschlag titriert.

Zusätzlich wird auf gleicherweise eine Blindprobe titriert.

Berechnung: $VZ = \frac{(V_0 - V_1) \cdot c \cdot 56,1}{m}$

VZ=Verseifungszahl

V_0 =Volumen Blindprobe

V_1 =Volumen Probe

c= genaue Konzentration Salzsäure-Maßlösung

m=Einwaage

Verseifungszahl über die Zeit:

Verseifungszahl Kokosfett:	05/20	241,0
	07/20	249,6
	10/20	256,4
neues Kokosfett (02/21)	02/21	251,6
	04/21	255,0
	09/21	262,3
Verseifungszahl Hefeöl:	07/20	195,3
	10/20	195,8
neues Hefeöl (04/21)	04/21	187,6
	09/21	191,5

Glycerintest

Aufarbeitung der Proben

Von der Seife wird 1,0g in einen 200ml Erlenmeyerkolben eingewogen und mit 50ml Salzsäure (0,1mol/l) versetzt. Die Lösung wird bis zum Kochen erhitzt. Die heiße Lösung wird in einen

Scheidetrichter überführt. Die wässrige Phase wird in einen 100ml Maßkolben überführt. Die Ölphase wird erneut im Erlenmeyerkolben mit 30ml Salzsäure (0,1mol/l) aufgeköcht und anschließend wird wieder die wässrige Phase in den 100ml Maßkolben überführt.

Nach Abkühlen auf Raumtemperatur den Maßkolben auffüllen und für mindestens 15 Minuten in den Kühlschrank stellen.

Die kalte Lösung wird durch ein Whatmann GF/A Glasfilter filtriert. Von der filtrierten Lösung werden 25ml mit 2ml Tris/HCl (2mol/l) Puffer versetzt. Danach wird mit Natronlauge (1mol/l) der pH-Wert auf ca. 7,4 eingestellt. Die Lösung wird in einen 50ml Maßkolben überführt und aufgefüllt.

Von dieser aufgearbeiteten Lösung wird im Test, je nach Konzentration zwischen 0,1 – 1,0 ml verwendet.

Bestimmung Glyceringehalt

Die Bestimmung der Glycerinkonzentration erfolgt mithilfe des Testkits „*Megazyme Glycerol*“ und dem UV/VIS Jenway 7205.

Gemessen wird bei einer Wellenlänge von 340nm mit Quarzglasküvetten.

Nach einem Nullabgleich mit destilliertem Wasser erfolgt die Messung von zwei Blindproben-Durchgängen.

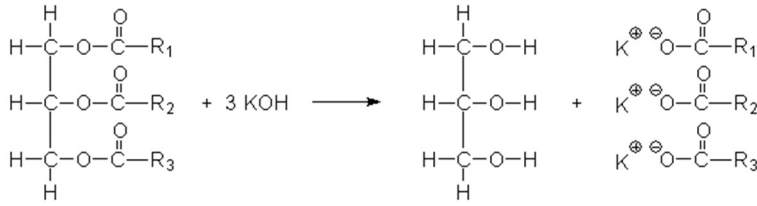
Die Küvette wird mit 2ml destilliertem Wasser befüllt. Danach wird vom Puffer 0,2ml, von Lösung 2 (NADH/ATP/PEP) 0,1ml und von Lösung 3 (PK/L-LDH) 0,02ml zugegeben. Die Lösung wird homogenisiert. Nach einer Wartezeit von 4 Minuten werden von Lösung 4 (GK) 0,02ml zugegeben. Daraufhin wird die Messung gestartet. Diese läuft 10 Minuten. Bis dahin soll ein konstanter Wert erreicht werden.

Bei der Messung der Proben werden je nach Konzentration zwischen 0,1 und 1ml Probe in die Küvette gegeben und mit destilliertem Wasser auf 2ml aufgefüllt. Danach erfolgt die Messung wie bei den Blindproben beschrieben.

Zusätzlich wird noch ein Glycerinstandard (Lösung 5) gemessen. Hier werden 0,1ml des Standards zur Messung verwendet. Die Konzentration beträgt 0,2g/l Glycerin.

Die Auswertung erfolgt am PC mit dem Programm/Datei „*MegaKalc*“

Berechnung der maximalen Ausbeute



$3 \times 56,11 \text{ g/mol KOH} \Rightarrow 92,09 \text{ g/mol Glycerin}$

$168,33 \Rightarrow 92,09$

Bei 24kg Fett mit der VZ 250 werden theoretisch 6kg KOH benötigt.

$6 \times 92,09 / 168,33 = 3,282 \text{ kg Glycerin maximal auf } 100 \text{ kg Seife}$

$\Rightarrow 3,282 \text{ g} / 100 \text{ g Seife} \Rightarrow 100\% \text{ Ausbeute}$

Dieser Wert wird mit dem gemessenen Wert ins Verhältnis gesetzt und daraus die prozentuale Ausbeute berechnet.

Zur Orientierung wird bei der Auswertung auch der Glycerinstandard berücksichtigt.

Bestimmung der kritischen Mizellbildungskonzentration (CMC)

Die Bestimmung der CMC erfolgt mit dem Tensiometer DCAT von der Firma dataphysics mithilfe einer Wilhelmy Platte. Das Gerät ist in Abbildung 8 gezeigt.



Abbildung 8: (links) Tensiometer DCAT von der Fa. dataphysics zur Bestimmung der Grenzflächenspannung. (rechts) Nahaufnahme der Wilhelmy Platte beim Eintauchen.

Hierzu wird von der zu untersuchenden Lösung eine Verdünnungsreihe erstellt. Von dieser Verdünnungsreihe wird die Oberflächenspannung mithilfe einer Wilhelmy Platte (Platin-Iridium nach DIN 53914) bestimmt.

Die Platte taucht mit einer Geschwindigkeit von 1mm/sec bis zu einem Gewichtsschwellenwert von 8mg und bis zu 3mm tief in die Prüflösung ein. Danach bewegt sich die Platte aus der Lösung und zeichnet dabei die benötigte Kraft in mN/m auf. Die Lösungen wurden gegen Luft gemessen.

Die CMC gibt an, ab welcher Konzentration die Oberflächenspannung konstant bleibt. Die Ermittlung anhand der Messwerte ist in Abbildung 9 aufgezeigt.

- 4.3.1 CMC der unterschiedlichen Seifentypen

Kokosfettseife 30% ca.0,18g/l

Hefeölseife 30% ca.0,06g/l

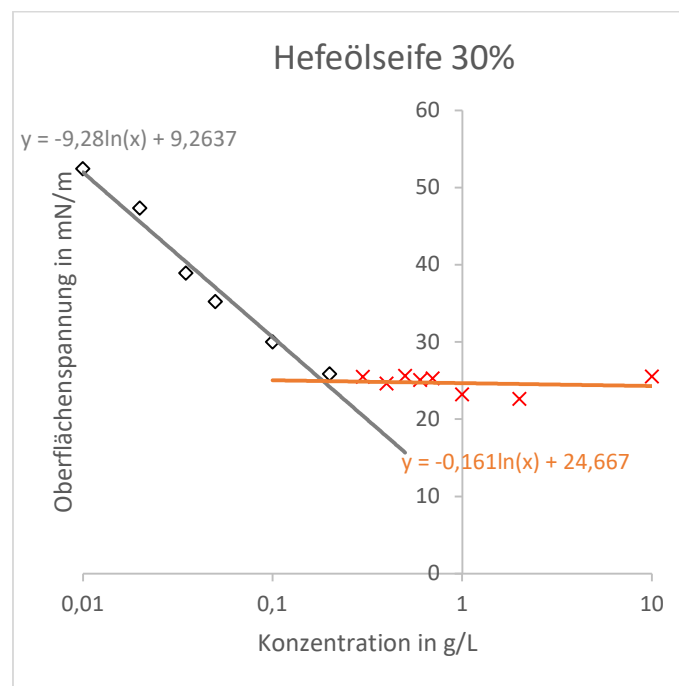


Abbildung 9: Auftragung der erhaltenen Messwerte und Bestimmung des CMC (Schnittpunkt der extrapolierten Geraden).

Eine niedrige CMC bedeutet eine größere Effizienz der Substanz, da sie bereits in geringerer Konzentration die Grenzflächenspannung reduzieren kann. Da das Hefeöl größere Kettenlängen aufweist als Kokosfett, sind die Werte plausibel. Der hydrophobe Teil der Hefeölseife ist langkettiger als der hydrophobe Teil der Kokosseife und kann daher die Oberflächenspannung stärker reduzieren. Jedoch lassen sich die Ergebnisse der Oberflächenspannung nicht direkt auf die Reinigungsleistung übertragen, sie geben nur Hinweise auf die Oberflächen- bzw. Grenzflächenaktivität der Substanz.

Diese Werte können immer wieder von verschiedenen Chargen bestimmt werden zur Qualitätskontrolle.

Außerdem kann auf eine konzentrationsabhängige Oberflächenspannung gemessen werden.

- Hefeölseife 1g/l 23,2 mN/m
- Kokosfettseife 1g/l 24,6 mN/m

Auch hier zeigt sich die etwas größere Effizienz der Hefeölseife (erniedrigt die Oberflächenspannung stärker als die Kokosfettseife).

(3) AP 6.1 Evaluierung der neuen Seifen, Tenside, Proteine und Enzyme durch Vergleiche mit Referenzmaterialien

In AP 6 kam es aufgrund von Verzögerung der vorrausgehenden Arbeiten der TUM wegen der Corona Pandemie auch bei Remsgold zu Verzögerungen. Somit wurden in 2021 ausschließlich die Seifen evaluiert, da noch keine anderen neuen Rohstoffe (Enzyme, Proteine oder Tenside) vorhanden waren. 2022 kamen dann die Enzymmuster zur Evaluierung.

Evaluierung der Waschleistung der Enzymmuster

In Tabelle 1 sind die erhaltenen Enzymmuster aufgelistet.

Tabelle 1: Auflistung der erhaltenen Enzymmuster.

08.03.2022	TUM_1	500 ml
	TUM_2	500 ml
15.07.2022	TUM_3	500 ml
21.06.2023	TUM_4	500 ml
	TUM_5	500 ml
	TUM_6	500 ml
04.09.2023	TUM_7	Ca. 14x 0,5 g
20.10.2023	TUM_8	2x 40 ml

Einleitung

Zur Überprüfung der Eignung der Enzymmuster muss zunächst ihre Waschleistung bestimmt werden. Die Waschleistung in Wasser sowie mit verschiedenen typischen Waschmittel-Inhaltsstoffen gibt Hinweise darauf, wie sich die Enzymmuster in einer echten Waschmittelformulierung verhalten werden. Mögliche Inhibierungen durch bestimmte Inhaltsstoffe können entdeckt werden, und die prinzipielle Aktivität gegenüber den Anschmutzungen, die meist nicht dem natürlichen Substrat der Enzyme entsprechen, kann ermittelt werden. Auch der Einfluss der Temperatur und der mechanischen Einwirkung wird untersucht.

Durchführung

Die Enzymmuster werden im Rotawash auf ihre Waschleistung hin untersucht. Der Rotawash hat 8 Behälter die normalerweise mit ca. 250 mL Wasser o.ä. gefüllt werden können. Folgende Parameter können dabei eingestellt werden:

- Rotation pro Minute (meistens 40 rpm)
- Temperatur
- Waschdauer
- Wassermenge (normalerweise 250 mL Wasser)
- Art und Menge des zu prüfenden Additivs
- Anzahl der Kugeln im Waschbehälter
- Anschmutzung Größe und Art (meistens 5x5 cm)

Folgende Anschmutzungen werden verwendet:

- 116 Blut/Milch/Tusche
- 160 Chocolate Cream
- 161 Reisstärke
- 163 Porridge
- 164 Gras
- 165 Pudding
- 180 Pektin
- C-03 Schokoladenmilch mit Ruß
- C-S-46C Bratfett, eingebrannt mit Ruß
- C-S-05S Mayonnaise mit Ruß
- C-S-26 Maisstärke, Farbstoff

- Jersey mit 4 Farben, vorgepillt

Durch die Verwendung verschiedener Anschmutzungen soll sichergestellt werden, dass unterschiedliche Enzymaktivitäten überprüft werden können und auch Unterschiede in der Aktivität gegenüber verschiedenen Substraten untersucht werden können.

Bei der Untersuchung der Fleckentfernung konnte bei den Mustern TUM_1, TUM_2 und TUM_3 keine nennenswerte Aktivität festgestellt werden.

Ergebnisse TUM_4, TUM_5 und TUM_6

Die Muster TUM_4, TUM_5 und TUM_6 werden auf ihre Waschleistung hin überprüft. Dazu werden die Muster bei 30°C im Baumwollprogramm mit verschiedenen Anschmutzungen gewaschen. Abbildung 10 zeigt die Ergebnisse nach dem Waschen mit Wasser und den drei Enzymmustern der TUM. Bei jeweils 10g eingesetztem Enzympulver ist bei keinem der drei Enzympulver eine Waschleistung erkennbar. Möglicherweise ist die Dosierung zu niedrig oder die Waschdauer zu kurz.

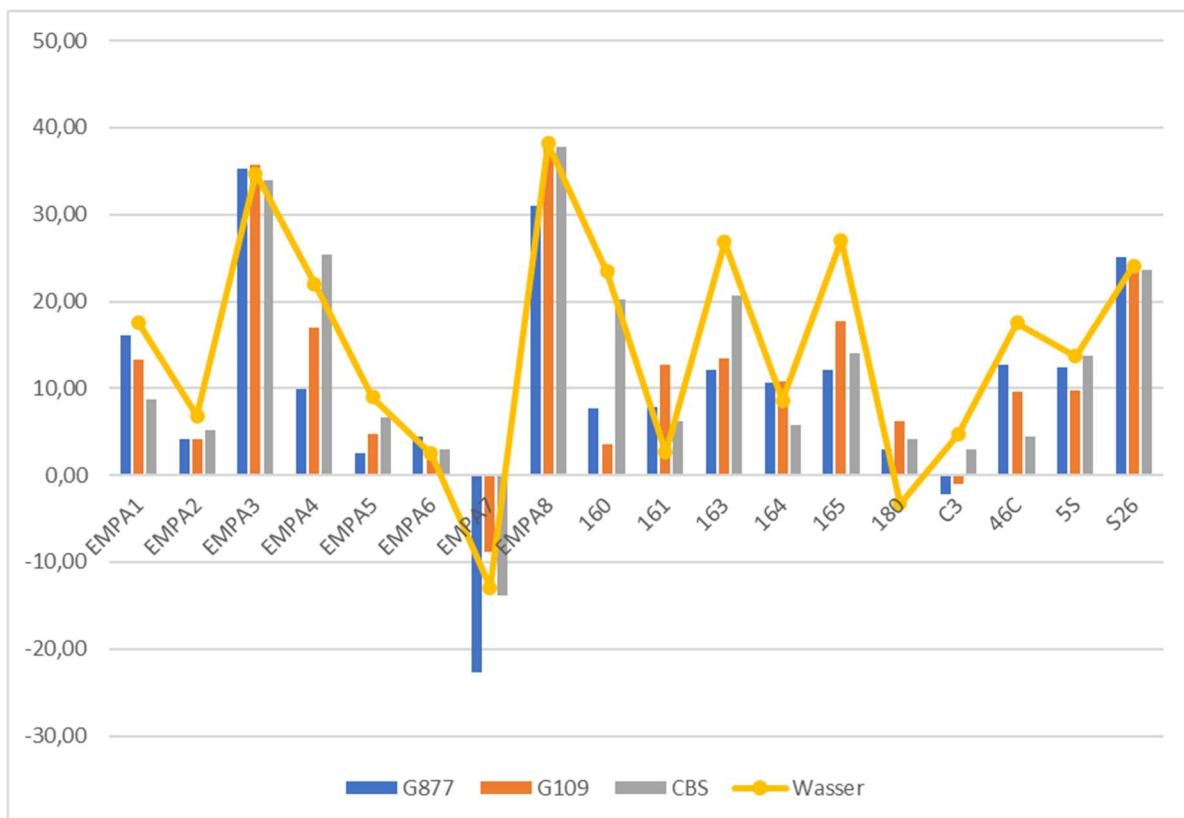


Abbildung 10: Stain Removal (SR) Werte in % für EMPA und andere enzymrelevante Anschmutzungen. Im Vergleich zu Wasser ist keine Waschleistung der Enzymkonzentrate zu erkennen.

In Abbildung 11 sind Fotos der Anschmutzungen nach dem Waschen mit Wasser (oben) und mit G877 (unten) zu sehen. Bei keiner der Anschmutzungen ist ein Unterschied zu dem Ergebnis mit Wasser zu

erkennen. Bei den zwei weiteren TUM Mustern sind die Ergebnisse entsprechend Abbildung 10 ähnlich- es ist kein Effekt der Enzymmuster zu beobachten.

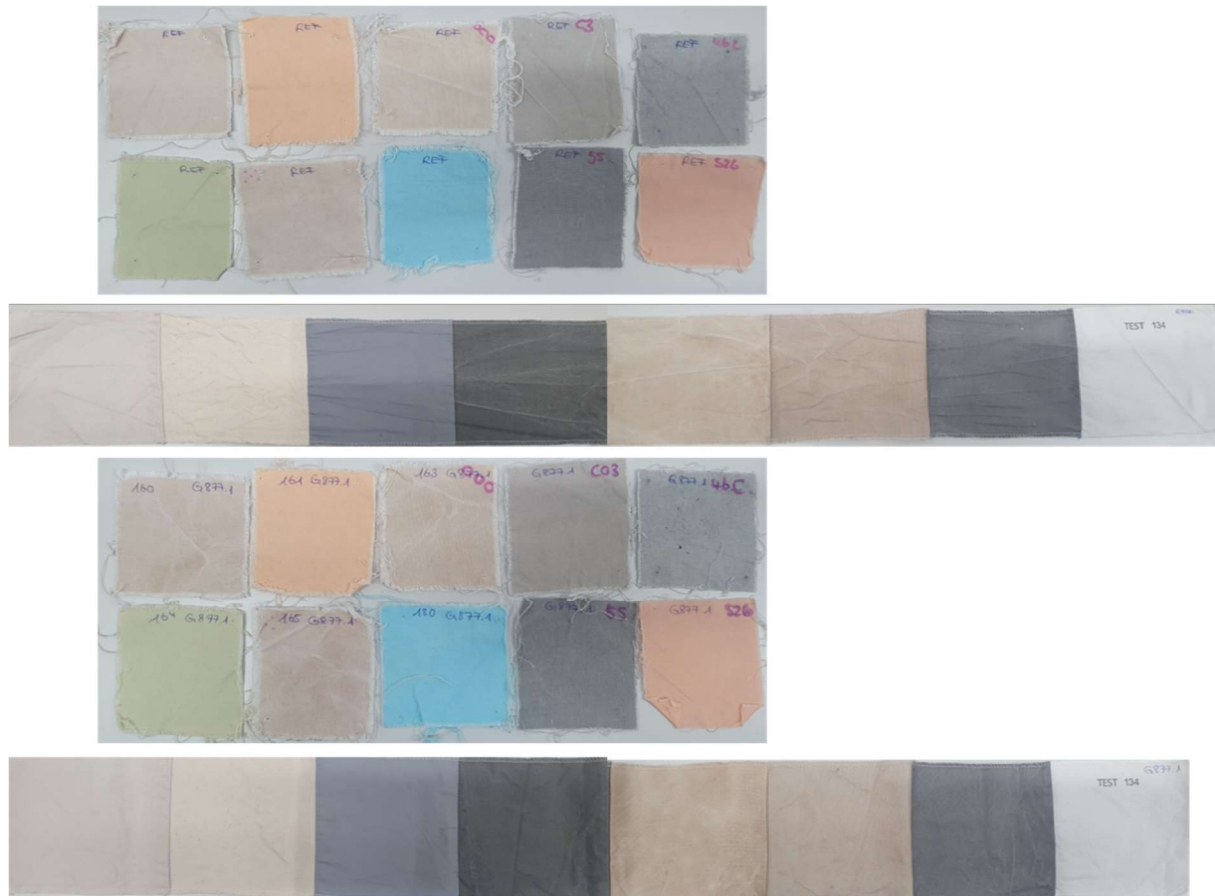


Abbildung 11: Waschstreifen nach dem Waschen mit Wasser (oben) und nach dem Waschen mit G877 (unten). Zu sehen sind insbesondere enzymrelevante Anschmutzungen, allerdings ist kaum eine Waschleistung erkennbar. Gewaschen wurde bei 30°C mit 10g Enzymkonzentrat.

Da möglicherweise die Waschdauer zu kurz war oder die Konzentration des Enzymmusters zu gering, wurden im nächsten Experiment die Anschmutzungen direkt in das Enzymkonzentrat gegeben, ohne Verdünnung. Das Becherglas mit dem Enzymkonzentrat und den darin eingeweichten Anschmutzungen (160, 161, 163, 164, 165, 180, C3, C46, S5 und S26) wurde 24 h bei 35°C warm gestellt ohne Rühren. Als Vergleich wurden dieselben Anschmutzungen auch in reines Wasser eingelegt. Abbildung 12 zeigt ein Bild zur Veranschaulichung des Versuchsaufbaus und die Ergebnisse der Waschleistung. Die Muster TUM_4 und TUM_5 konnten bei diesem Versuch nicht mehr eingesetzt werden da die Muster nicht ausreichend mikrobiologisch stabil waren. Bei Betrachtung der Waschleistung ist insbesondere die Amylasenaktivität zu beobachten. Die Waschleistung von CBS bei Anschmutzung 161 (Reisstärke) steigt von ca. 0% auf 70% an. Die Waschleistung von CBS bei Anschmutzung S26 (Maisstärke) steigt von 15% auf 90% an. Stärke ist eine typische Anschmutzung die von Amylasen entfernt werden kann, daher ist insbesondere eine starke Amylasenaktivität zu sehen. Bei allen anderen Anschmutzungen zeigt CBS eine ähnliche Waschleistung wie Wasser. Im Vergleich

zum Experiment in der Waschmaschine war bei diesem Experiment offensichtlich sowohl die „Waschdauer“ und auch die Konzentration ausreichend.

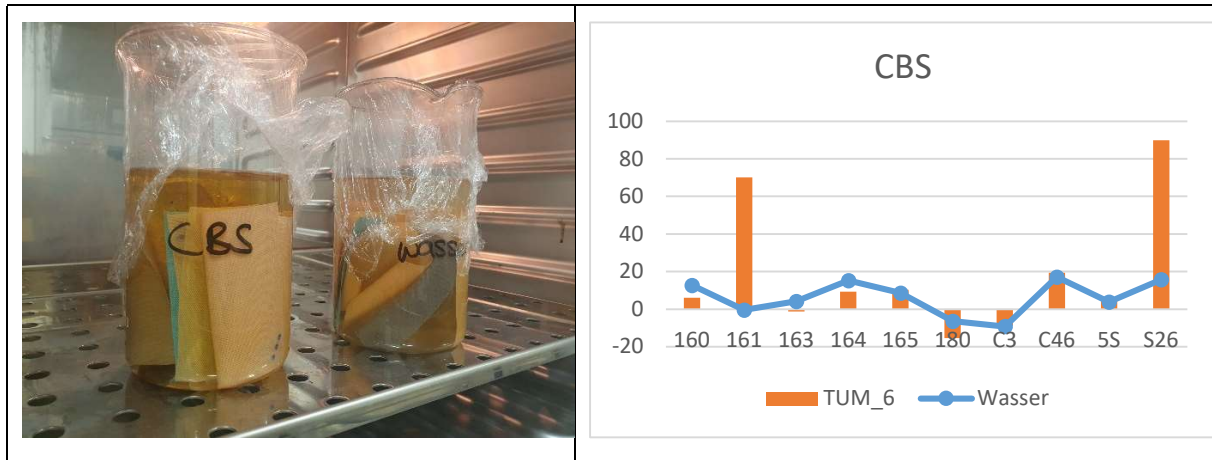


Abbildung 12: 10 enzymrelevante Anschmutzungen werden in Enzymkonzentrat CBS und in Wasser bei 35°C für 24h eingelegt.

Ergebnisse TUM_7 und TUM_8

Eine gefriergetrocknete Co-Kultur von *A. Niger* und *T.Reesei* (TUM_7) wurde mit einer Konzentration von 5 g/L auf ihre Waschleistung gegen 10 Anschmutzungen getestet. Dazu wurden die 10 Stoffe für 24h bei 35°C in 100 ml der 5g/L Enzymlösung eingeweicht. Anschließend wurden die Stoffe ausgewaschen, getrocknet und mit dem Datacolor 500 vermessen. Insbesondere die Anschmutzungen Reisstärke (161) und Maisstärke (S26) konnten sehr gut entfernt werden von dem Enzymmuster TUM_7. Das spricht für hohe Amylasenaktivitäten. Auch bei den Anschmutzungen Schokoladencreme (160) und Pudding (165) ist eine Verbesserung zur Waschleistung von Wasser erkennbar. Hier ist die Waschleistung vermutlich ebenfalls auf die Amylasenaktivität zurückzuführen, möglicherweise aber auch auf Cellulasen- oder Mannanasenaktivitäten. Die Ergebnisse sind in Abbildung 13 zu sehen, zusammen mit den Ergebnissen der Enzymmuster TUM_6 und TUM_8 im Vergleich. Die Amylasenaktivitäten von TUM_6 (ohne Verdünnung) und TUM_7 in einer Konzentration von 5 g/L sind bei den beiden Stärkeanschmutzungen 161 und S26 gleichwertig in der Waschleistung mit ca. 70% für 161 und über 80% SR (Stain Removal) für S26.

Stamm G877 (TUM_8) wurde vom WSSB als in Glycerin aufkonzentriertes, wasserfreies viskoses Gel geliefert. Zunächst wurde hiermit der Versuch wiederholt, in dem die Anschmutzungen in Wasser für 24h bei 35°C eingelegt wurden. Da dieses Mal ein konzentriertes Muster vorlag, wurde es in einer Konzentration von 20 g/l in Wasser gelöst und anschließend die Anschmutzungen hinzugefügt. Nach 24h bei 35°C wurden die Stoffe ausgewaschen, getrocknet und im Datacolor 500 gemessen. In Abbildung 13 sind die Ergebnisse aufgetragen. Bei der Reisstärke ist nur ein Anstieg der Waschleistung von 0% auf 35% zu sehen, bei der Maisstärke relativ ähnlich zu TUM_6 und TUM_7 ein Anstieg von

17% auf 89%. Jedoch sind zusätzlich noch bei den Anschmutzungen 160 (Schokoladencreme) und 165 (Pudding) Verbesserungen in der Waschleistung zu erkennen, ähnlich zu den Ergebnissen von TUM_7. Bei der Anschmutzung 160 steigt die Waschleistung von 10% auf 25% an, bei der Anschmutzung 165 steigt die Waschleistung ebenso von 10% auf 25% an. Der Anstieg der Waschleistungen bei den Anschmutzungen 160 und 165 kann entweder ebenso auf die Amylasenaktivität hinweisen, oder auch auf Cellulasen- bzw. Mannanasenaktivitäten.

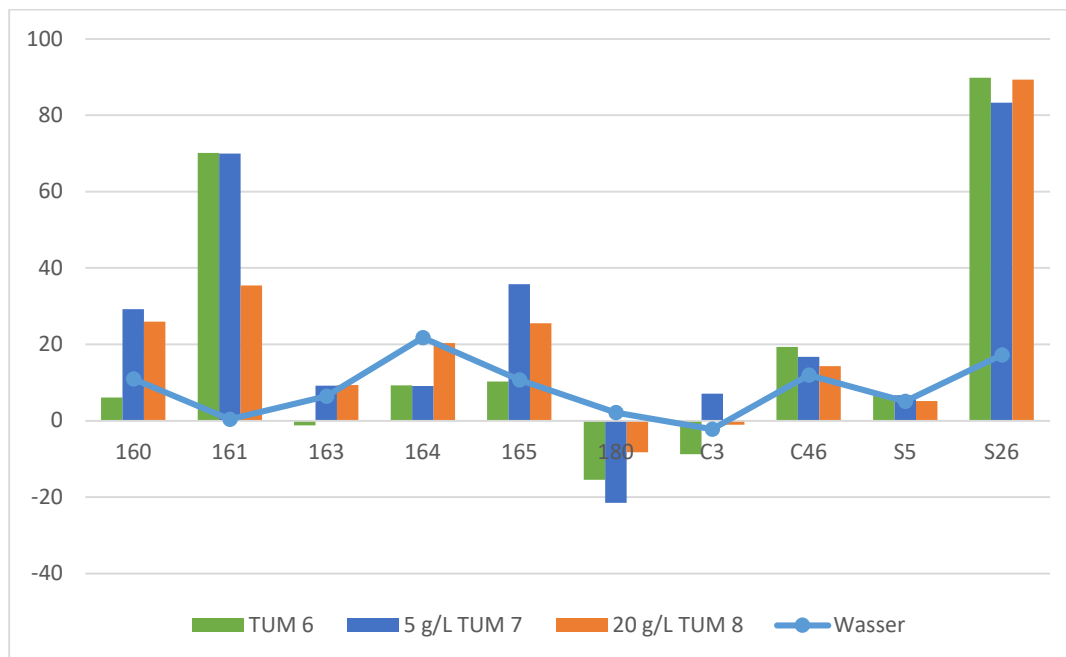


Abbildung 13: Waschergebnisse für TUM_6, TUM_7 und TUM_8 im Vergleich zu reinem Wasser beim Einlegen in Wasser bei 35°C für 24h.

Als nächstes wurden die Enzymmuster TUM_7 (c= 5 g/L) und TUM_8 (c= 20 g/L) bei derselben Temperatur (T=35°C) für 3h bei 40 rpm im Rotawash gewaschen. Es wurde die Enzymaktivität gegenüber den Anschmutzungen Reisstärke 161 und Maisstärke S26 getestet. Die Waschleistung ist bei 3h Waschdauer geringer als beim Einlegen der Stoffe für 24h. Bei der Reisstärke steigt die Waschleistung von TUM_7 im Vergleich zu Wasser von 1 auf 46% an, bei TUM_8 nur auf 11% an und bei der Maisstärke bei TUM_7 von 17 auf 53% und bei TUM_8 auf 41% (vgl. 24h: mehr als 80%). Trotzdem ist die Waschleistung noch deutlich erkennbar, und 3h eine realistische Waschdauer zumindest für eco- Programme in der Waschmaschine.

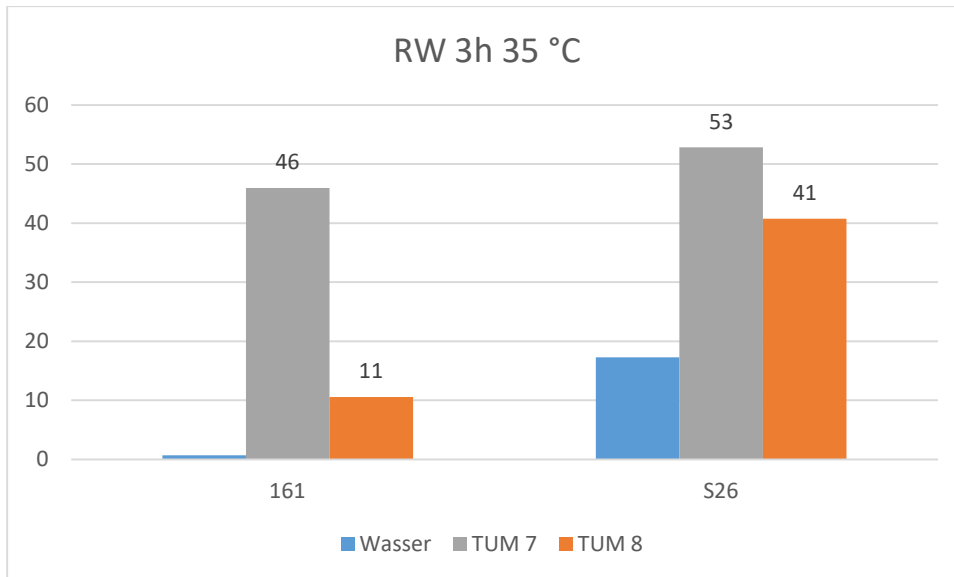


Abbildung 14: Ergebnisse der Waschleistung von TUM_7 ($c=5\text{ g/L}$) und TUM_8 (20 g/L) gegenüber den Anschmutzungen 161 und S26 nach 3h Waschen im Rotawash.

Zusammenfassung

Die Verseifung von verschiedenen Ölen inklusive Hefeölen war im Labormaßstab erfolgreich. Mit Kokosfett wurde ein Scale-up bis zur Herstellung von 800 kg erfolgreich durchgeführt. Bei entsprechender Verfügbarkeit kann auch ein Scale-up der Hefeölverseifung erfolgen. Die Ausbeuten und die Qualität der Seifen sind gut und relativ konstant.

Bei den Mustern TUM_6, TUM_7 und TUM_8 konnten deutliche Amylasenaktivitäten nachgewiesen werden, die allerdings in der Gegenwart von Waschmittel deutlich absinken. Hier wäre eine Stabilisierung des Enzyms zur Verwendung in Wasch- und Reinigungsmitteln notwendig.

II. Die wichtigsten Positionen des zahlenmäßigen Nachweises

	Gesamtkosten in Euro
Material	19.332
Personalkosten	373.192
Reisekosten	341
vorhabenbezogene Abschreibungen	9.114
Sonstige unmittelbaren Vorhabenkosten	610
Gesamtkosten	402.588
Eigenanteil	164.213
Bundesanteil	238.375

III. Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Projektarbeiten

Die durchgeführten Arbeiten waren notwendig, um das Projekt erfolgreich zu bearbeiten können. Die Verseifungsreaktion wurde bei Remsgold anhand von Referenzölen erfolgreich optimiert, um die wichtigsten Parameter zu definieren. Durch die entsprechenden Vorarbeiten konnte somit eine erfolgreiche Verseifung des Hefeöls durchgeführt werden, bei den Mengen die von der TUM erhalten wurden. Auch ein weiteres Scale up der Hefeöl Verseifung wird als sehr realistisch eingestuft.

Bei den Formulierungsarbeiten mit der im Projekt hergestellten Hefeölseifen waren umfangreiche Stabilitäts- und Formulierungsarbeiten notwendig, um sicherzustellen, dass die Produkte mit Hefeölseife prinzipiell realisierbar sind.

Die von der TUM hergestellten Enzymkonzentrate wurden sorgfältig auf jegliche Art der Aktivität untersucht. Je nach Enzymaktivität wurden hier Versuche zur Fleckentfernung oder zum Vermindern des Pilling-Effektes durchgeführt.

IV. Voraussichtlicher Nutzen, insbesondere die Verwertbarkeit des Ergebnisses

Der Biomarkt ist in Deutschland nach wie vor ein wachsender Markt¹ und mit ihm der ökologisch zertifizierte Wasch- und Reinigungsmittelmarkt. Die ökologisch zertifizierten Produkte zeigen gegenüber den konventionellen Reinigungsmitteln kontinuierliches Wachstum und bestätigen damit die Strategie, nachhaltige Produkte ständig weiterzuentwickeln und neue Rohstoffe für diese Produkte gezielt zu suchen und zu erforschen, auch auf wirtschaftlicher Ebene.

Es war geplant, mit Abschluss des Projektes für jede Produktgruppe eine wirksame Formulierung mit den neuen biobasierten Inhaltsstoffen hergestellt zu haben. Da von 4 neuen Inhaltsstoffen nur zwei während der Projektlaufzeit von der TUM-WSSB realisiert wurden, konnten nicht alle geplanten Prototypen entwickelt werden.

Jedoch konnte mit der Hefeölseife sehr erfolgreich ein neues Produkt formuliert werden. Probleme in der Stabilität konnten gelöst werden, und in der Waschleistung sind keine Einbußen zu verzeichnen. Der Verseifungsprozess selbst ist soweit prozesstechnisch kontrollierbar dass auch größere Mengen von Hefeöl voraussichtlich gut verseift werden können. Momentan steht Remsgold im engen Austausch mit dem Start-up GST- Global Sustainable Transformation, das unter anderem die Technologie zur Hefeölherstellung beherrscht. In Zusammenarbeit mit GST wird derzeit versucht, einen Weg zur wirtschaftlichen Herstellung von Hefeöl zu generieren. Bis zur finalen Hefeöl-Verfügbarkeit wird hier mindestens mit 2 Jahren gerechnet.

Die Enzyme aus dem EcoWashCycle Prozess sind insbesondere bei den Cellulasen- und Amylasenaktivitäten sehr positiv bewertet worden während des Projektes. Zur Herstellung eines Prototyps müssten die Enzyme noch stabilisiert werden, da sie in der aktuellen Form im Waschmittel denaturieren und keine Enzymaktivität mehr aufweisen. Diese Arbeiten sollen in einem Folgeprojekt adressiert werden, so dass eine wirksame Enzymformulierung für Pulver-Waschmittel entwickelt werden kann. Anschließend muss auch hier der Weg zu einer industriellen Produktion der Enzyme

¹ <https://www.oekolandbau.de/handel/marktinformationen/bio-markt-waechst-im-jahr-2023-durch-hoehere-preise/>

gefunden werden. Hier wird mit einer Fertigstellung der Entwicklung von 3 Jahren, mit anschließenden 2 Jahren zur finalen Verfügbarkeit/ Herstellung der Enzyme im industriellen Maßstab gerechnet.

Nach Abschluss dieser Arbeiten müssen die gesetzlichen Vorschriften (REACH Anmeldung etc.) und die Feinabstimmung der Rezepturen durchgeführt werden (ca. 1 Jahr).

Die ursprüngliche Planung, mit einer Präsentation der Produkte 5 Jahre nach Projektende zu rechnen, ist daher nach wie vor plausibel. Diese Planung spiegelt sich in der Umsatzentwicklung wider, die nach 5 Jahren ein Umsatzplus von insgesamt 800.000 Euro aufweist (s. Tabelle 4.1). Ebenso sollte sich der Erfolg der neuen Produktserie auch in der Personalentwicklung nach 5 Jahren nach Projektende mit einem Mitarbeiterplus von 4 Mitarbeitern zeigen (s. Tabelle 4.2).

Da die Wirtschaftslage insgesamt angespannt ist, wurde die Umsatz- und Mitarbeiterzahlen den aktuellen Planzahlen angepasst und reduziert.

Tabelle 4.1: Umsatzentwicklung bei Remsgold mit und ohne EcoWashCycle

	Jahr	Umsatzentwicklung geplant in €	Umsatzentwicklung mit EcoWashCycle in €	Steigerung in €
aktuell	2024	18.600.000	18.600.000	+0
+1 Jahre nach Projektende	2025	19.500.000	19.500.000	+0
+2 Jahre nach Projektende	2026	20.500.000	20.500.000	+0
+3 Jahre nach Projektende	2027	21.700.000	21.700.000	+0
+4 Jahre nach Projektende	2028	22.800.000	23.100.000	+300.000
+5 Jahre nach Projektende	2029	23.900.000	23.600.000	+500.000

Tabelle 4.2: Personalentwicklung bei Remsgold mit und ohne EcoWashCycle

	Jahr	Personalentwicklung geplant	Personalentwicklung mit EcoWashCycle	Steigerung
aktuell	2024	90	90	+0
+1 Jahr nach Projektende	2025	90	90	+0

+2 Jahre nach Projektende	2026	90	90	+0
+3 Jahre nach Projektende	2027	91	92	+1
+4 Jahre nach Projektende	2028	91	93	+1
+5 Jahre nach Projektende	2029	91	95	+2

V. Während der Durchführung des Vorhabens bekannt gewordener Fortschritt auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen

Das Start-up Colipi ² hat ein Gebrauchsmuster für Hefeölseife aus ihrem Hefeöl angemeldet. Das Verfahren zur Herstellung des Hefeöls ist allerdings unterschiedlich zu dem Herstellungsverfahren von GST und daher nicht relevant für die weitere Vorgehensweise.

VI. Erfolgte oder geplante Veröffentlichungen des Ergebnisses

Momentan sind keine Schutzrechtsanmeldungen erfolgt oder geplant. Veröffentlichungen von seitens Remsgold sind nicht geplant.

² <https://colipi.com/>