

GEFÖRDERT VOM



Bundesministerium
für Bildung
und Forschung

Zuwendungsempfänger:

Fraunhofer Institut für Grenzflächen- und Bioverfahrenstechnik IGB, Institutsteil Straubing
Bio-, Elektro- und Chemokatalyse BioCat
Schulgasse 11 a
94315 Straubing

Titel der Förderung:

BiofoYL – Biobasierte und biologisch abbaubare Folien aus Biomasse einer Ölhefe

Verantwortliche Autoren:

Vanessa Wegat

Förderkennzeichen:

IBÖ08 - 031B1201

„Das diesem Bericht zugrundeliegende Vorhaben wurde mit Mitteln des Bundesministeriums für Bildung und Forschung unter dem Förderkennzeichen 031B1201 gefördert. Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt bei der Autorin/beim Autor.“

Sachbericht zum Verwendungsnachweis – Teil I

31.03.2023

ZE: Fraunhofer Institut für Grenzflächen- und Bioverfahrenstechnik IGB Bio-, Elektro- und Chemokatalyse BioCat Schulgasse 11 a 94315 Straubing	FKZ: IBÖ08 - 031B1201
---	-------------------------------------

Vorhabenbezeichnung:
BiofoYL - Biobasierte und biologisch abbaubare Folien aus Biomasse einer Ölhefe

Laufzeit des Vorhabens:
01.10.2021 – 30.09.2022

Berichtszeitraum:
01.10.2021 – 30.09.2022

Unterschrift des Projektleiters des Zuwendungsempfängers

Straubing, den 31.03.2023

Vanessa Wegat

1. Ursprüngliche Aufgabenstellung sowie den wissenschaftlichen und technischen Stand, an den angeknüpft wurde

Das Projekt BiofoYL beschäftigte sich im Rahmen des Ideenwettbewerbs „Neue Produkte für die Bioökonomie“ (IBÖ08) seit Oktober 2021 bis zum Projektende im September 2022 mit der Herstellung von biobasierten und biologisch abbaubaren Folien aus Biomasse einer Ölhefe. Die Plastikherstellung aus Erdöl und die Verschmutzung, die in unserem Ökosystem durch Missbrauch und falsche Entsorgung von Gegenständen aus synthetischen, nicht biologisch abbaubaren Polymeren entsteht, haben weitreichende Folgen für Mensch und Natur. Die einzige sinnvolle Alternative ist daher die Entwicklung und Verwendung von biologisch abbaubaren Polymeren. Im Projekt BiofoYL sollte ein innovatives Verpackungsmaterial erforscht werden, bestehend aus dem industriellen Reststoff Glycerin und der Biotrockenmasse einer Ölhefe. Der Vorteil der Verwendung von mikrobieller Biomasse ist, dass es sich um eine vollständig erneuerbare Quelle für Polymere handelt, deren Produktion jedoch nicht von der Verfügbarkeit fruchtbarer Landflächen abhängt und keinen erhöhten Nutzungsdruck auf land- und forstwirtschaftliche erzeugte Rohstoffe ausübt. Bisher gibt es nur wenige Untersuchungen, die sich mit der Nutzung der Hefebiomasse zur Herstellung biologisch abbaubarer Materialien beschäftigen. Es konnte bereits gezeigt werden, dass Folien aus der Biomasse der Bäckerhefe *Saccharomyces cerevisiae* hergestellt werden können. Verglichen mit *S. cerevisiae* wurde bei der hier verwendeten Hefe jedoch ein höherer Polysaccharidgehalt und insbesondere ein höherer Chitin-Gehalt festgestellt, welcher die mechanischen Eigenschaften der Biofolie verbessern kann. Eine weitere wichtige Anforderung an Verpackungsmaterialien ist die Reduzierung des Wasseraustausches zwischen dem zu schützenden Lebensmittel und seiner Umgebung, insbesondere um das Austrocknen von feuchten Verpackungsgütern zu verringern. Biopolymere aus der Agrarwirtschaft oder auch die derzeit verwendeten mikrobiellen Quellen interagieren typischerweise stark mit Wasser, und die aus ihnen gefertigten Folien bilden schwächere Wasserdampfbarrieren als im Fall von synthetischen Polymeren. Hier liefert die Verwendung der Biomasse einer Ölhefe einen weiteren maßgeblichen Vorteil: Als ölbildende Hefe ist der Lipidgehalt des Zytoplasmas deutlich höher (je nach Stamm zwischen 20 und 30 % der Trockenmasse) als bei anderen Mikroorganismen.

2. Ablauf des Vorhabens

Im Rahmen der Sondierungsphase wurde zunächst eine ausführliche Literatur- und Patentrecherche durchgeführt. Zu Beginn der Sondierungsphase wurden außerdem verschiedene Biodiesel-Hersteller kontaktiert, welche das für das Wachstum der Hefe benötigte Rohglycerin zur Verfügung stellen sollen. Insgesamt wurden vier Arten von Rohglycerin unterschiedlicher Qualität und ein Reinglycerin als Referenz getestet. Zunächst wurden zwei verschiedene Hefe-Stämme im Mineralsalzmedium mit den verschiedenen Glycerin-Chargen als Substraten kultiviert. Beide Stämme können auf allen verwendeten Glycerin-Chargen wachsen. Für die Herstellung des ersten Folien-Prototyps wurde dann der Stamm mit der höchsten Biomasseausbeute ausgewählt. Als Substrat wurde ein 82 % reines Rohglycerin von einem Biodieselhersteller aus Deutschland genutzt. Die Produktion von BiofoYL im Labormaßstab wurde zunächst mittels Hochdruckhomogenisierung, thermischer Behandlung bei 90 °C und einer zweiten Homogenisierung durchgeführt. Aufgrund von fehlender Homogenität, wurde das Protokoll optimiert. Des Weiteren wurden Versuche bezüglich unterschiedlicher Glycingehalte (0 %, 5 %, 10 % und 20 %) durchgeführt und die Folien hinsichtlich ihrer Mechanik, Stabilität und Bioabbaubarkeit geprüft. Außerdem wurden die Barriereigenschaften der Folien vom Fraunhofer IVV geprüft, welches auch als Kooperationspartner für die Machbarkeitsphase gewonnen werden konnte. Zudem wurden ein Folienhersteller und ein Rohglycerinlieferant für eine Kooperation bei der Umsetzung der Produktidee im Rahmen der Machbarkeitsphase gewonnen. Durch Gesprächsrunden mit diesen Partnern wurde

ein zielorientiertes Vorgehen für die Machbarkeitsphase erarbeitet und ein Entwicklungsplan für die Durchführung der Machbarkeitsphase erstellt.

3. Wesentliche Ergebnisse sowie ggf. die Zusammenarbeit mit anderen Forschungseinrichtungen

Arbeitspaket	Ziele	Ergebnis
AP1	Literaturkenntnisse und Patentfreiheit	Die Analyse der Patentsituation im Bereich der werkstofforientierten Anwendungen von Hefen und Pilzen hat gezeigt, dass dieses Feld ein großes Potenzial birgt und zukünftig ein bedeutender Wachstumssektor ist. Die bisher gefundenen Patente stehen der Entwicklung von BiofoYL nicht im Wege.
AP2	Etablierung eines Partnernetzwerkes/ Identifizierung eines Rohstofflieferanten	Zu Beginn der Sondierungsphase wurden verschiedene Biodiesel-Hersteller kontaktiert, welche das nötige Rohglycerin zur Verfügung stellen sollen. Insgesamt wurden vier Muster unterschiedlicher Qualität für das Vorhaben getestet. Als Rohstofflieferant wurde ein Lieferant aus Deutschland identifiziert, welche auch bereits die Lieferung für die Machbarkeitsphase zugesichert hat.
AP3	Identifizierung eines geeigneten Hefestamms und Optimierung der Wachstumsbedingungen	Es wurden zwei Stämme auf vier Rohglycerin-Chargen kultiviert. Beide Stämme konnten auf allen Rohglycerinen wachsen, jedoch zeigte ein Stamm eine deutlich höhere Biomasseausbeute und ist für das Vorhaben deswegen am geeignetsten. Dabei handelt es sich zudem um keinen genetisch veränderten Organismus (GVO).
AP4	Herstellung von BiofoYL im Labormaßstab	Es wurde ein erster Prototyp im Labormaßstab hergestellt. Das Protokoll wurde hinsichtlich der Homogenität der Folie optimiert und es wurden mehrere Folien mit unterschiedlichen Glyceringehalten hergestellt.
AP5	Testen der Folien hinsichtlich Stabilität und Mechanik	Zur Charakterisierung und Qualifizierung der Biofolie und daraus hergestellter Formteile wurden mechanische Tests hinsichtlich ihrer Festigkeit und Dehnung sowie Barrieretests (Fraunhofer IVV) durchgeführt. Für BiofoYL konnte ein höherer Widerstand im Vergleich zu Folien auf Basis von <i>S. cerevisiae</i> gemessen werden. Außerdem war der Zusatz von 10 % Glycerin am besten (höchstes E-Modul). Die gemessene O ₂ -Barriere ist vergleichbar zu PLA, die H ₂ O-Barriere hingegen noch ausbaufähig. Die Folien sind bis etwa 120 °C hitzestabil, außerdem konnten Presslinge aus den Folien hergestellt werden.
AP6	Nachweis der Bioabbaubarkeit	Erste Kompostierungstests (Foliendicke 0,2 mm) liefen erfolgreich und zeigten eine biologische Abbauarbeit von etwa 35 Tagen.
AP7	Erarbeitung eines Entwicklungsplans für die Machbarkeitsstudie	Für eine erfolgreiche Umsetzung der Machbarkeitsphase wurden zwei Partner identifiziert: Zum einen Folienhersteller, welcher auch als Wirtschaftsexperte fungiert zum anderen das Fraunhofer IVV, welches das Know-how und die nötigen Geräte zur Untersuchung und Verbesserung der Barriereigenschaften besitzt. Durch Gesprächsrunden mit diesen Partnern wurde das Vorgehen für die Machbarkeitsphase erarbeitet und ein Entwicklungsplan für die Durchführung der Machbarkeitsphase erstellt.

Zusammenarbeit mit potentiellen Partnern für die Machbarkeitsphase:

In der Sondierungsphase wurden die Ergebnisse vorrangig am Fraunhofer IGB, Standort Straubing generiert. Die Barrieretests wurden vom Fraunhofer IVV in Freising durchgeführt. Gegen Ende der Sondierungsphase wurde das Konsortium mit einem Folienhersteller und dem IVV gebildet und die Strategie für die Machbarkeitsphase entwickelt.

Sachbericht zum Verwendungsnachweis – Teil II

31.03.2023

ZE:

Fraunhofer Institut für Grenzflächen- und Bioverfahrenstechnik IGB
Bio-, Elektro- und Chemokatalyse BioCat
Schulgasse 11 a
94315 Straubing

FKZ:

IBÖ08 - 031B1201

Vorhabenbezeichnung:

BiofoYL - Biobasierte und biologisch abbaubare Folien aus Biomasse einer Ölhefe

Laufzeit des Vorhabens:

01.10.2021 – 30.09.2022

Berichtszeitraum:

01.10.2021 – 30.09.2022

Unterschrift des Projektleiters des Zuwendungsempfängers

Straubing, den 31.03.2023

Vanessa Wegat

Ausführliche Darstellung der durchgeführten Arbeiten im Vergleich zur ursprünglichen Vorhabenbeschreibung

Planung des Vorhabens

Das Projekt BiofoYL beschäftigte sich im Rahmen des Ideenwettbewerbs „Neue Produkte für die Bioökonomie“ (IBÖ08) seit Oktober 2021 bis zum Projektende im September 2022 mit der Herstellung von biobasierten und biologisch abbaubaren Folien aus Biomasse einer Hefe. Im Projekt BiofoYL sollte ein innovatives Verpackungsmaterial erforscht werden, bestehend aus dem industriellen Reststoff Glycerin und der Biotrockenmasse einer Ölhefe. Es war geplant im Rahmen der Sondierungsphase eine biobasierte und biologisch abbaubare Folie aus Hefe-Biotrockenmasse herzustellen. Die Hefe sollte dafür zunächst auf Rohglycerin, einem Nebenstrom der Biodieselindustrie, kultiviert werden. Dafür wurden verschiedenste Rohstofflieferanten recherchiert und verschiedene Arten an Rohglycerin für den Einsatz als Kohlenstoffquelle in der Fermentation gescreent. Außerdem sollte ein geeigneter Hefestamm für das Vorhaben identifiziert werden. Als Benchmark-Experiment war die Produktion der BiofoYL-Folie im Labormaßstab geplant. Ziel war es, eine homogene und reproduzierbare Folie mit möglichst einfachen Verfahren zu erhalten. Zudem sollten geeignete Partner identifiziert werden, mit denen ein zielorientiertes Vorgehen für die Machbarkeitsphase erarbeitet und ein Entwicklungsplan für die Durchführung der Machbarkeitsphase erstellt werden sollte.

Die Arbeitsplanung der Sondierungsphase war in sieben Arbeitspakete unterteilt:

- **AP1: Patentrecherche zu hefebasierten Folien**
Ziel: Ausführliche Literaturrecherche und Analyse der Patentsituation im Bereich der werkstofforientierten Anwendungen von Hefen und Pilzen um einen Überblick über aktuelle Materialien und Produkte am Markt zu erhalten.
- **AP2: Etablierung eines Partnernetzwerkes für die Machbarkeitsphase**
Ziel: Identifikation von geeigneten Partnern, z.B. Rohglycerin-Lieferanten für die Machbarkeitsphase.
- **AP3: Wachstumstests auf verschiedenen Glycerin-Quellen**
Ziel: Identifizierung eines geeigneten Hefestamms sowie einer geeigneten Rohglycerin-Quelle und Optimierung der Wachstumsbedingungen.
- **AP4: Herstellung von BiofoYL im Labormaßstab**
Ziel: Herstellung eines ersten Prototyps im Labormaßstab und Optimierung des Herstellungsprotokolls.
- **AP5: Initiale Testung der Folie hinsichtlich Stabilität und Mechanik**
Ziel: Charakterisierung und Qualifizierung der Biofolie und daraus hergestellter Formteile mittels mechanischer Tests.
- **AP6: Nachweis der Bioabbaubarkeit von BiofoYL**
Ziel: Durchführung von Kompostierungstests zur Überprüfung der biologischen Abbaubarkeit der Folie.
- **AP7: Erstellung des Konsortiums für die Machbarkeitsstudie und Reporting**
Ziel: Evaluierung der Projektidee und Identifikation von Lücken im erforderlichen Knowhow. Bildung eines Konsortiums und Entwicklung eines Konzepts für die Machbarkeitsphase.

Wissenschaftlicher Stand zu Beginn des Projektes

Biologisch abbaubare Polymere wie Polyvinylalkohole (PVOH) und Polybutylenadipat-terephthalat (PBAT) wurden bereits seit dem 20. Jahrhundert entwickelt und kommerzialisiert. Eine zentrale Herausforderung für die Polymerindustrie, nämlich der verringerte Einsatz fossiler Ressourcen zur Reduktion der globalen Erwärmung, lässt sich damit jedoch nicht lösen. Eine nachhaltige Lösung besteht darin, nachwachsende Rohstoffe wie pflanzliche Biomasse oder Mikroorganismen als Rohstoffe für die Polymerherstellung zu verwenden. Diese, oft als „biobasierte Polymere“ bezeichnet, bieten das Potenzial, den Verbrauch fossiler Ressourcen deutlich zu reduzieren. Biologisch abbaubare Kunststoffe hingegen sind Polymere, die unter bestimmten Bedingungen zerfallen und beim Zerfall nur Kohlendioxid und Wasser freisetzen. Biobasierte Kunststoffe müssen nicht unbedingt biologisch abbaubar sein. Umgekehrt sind biologisch abbaubare Kunststoffe nicht zwingend biobasiert, sondern können auch fossilen Ursprungs sein (wie z.B. PVOH, PBAT).

Die derzeit am Markt etablierten biobasierten Kunststoffe nutzen nachwachsende Rohstoffe wie Mais, Weizen, Kartoffeln, Zuckerrohr, Zuckerrüben, Bambus oder Holz als Ausgangsmaterial. Der Vorteil der Verwendung mikrobieller Biomasse besteht darin, dass es sich um eine vollständig erneuerbare Polymerquelle handelt, die nicht direkt von den klimatischen Bedingungen abhängt oder zur Rodung von Wäldern beiträgt. Insbesondere Hefebiomasse ist eine kostengünstige und gut verfügbare Quelle für Biopolymere mit vielversprechenden Eigenschaften für die Entwicklung biologisch abbaubarer Materialien [1]. Bei diesen Folien handelt es sich um vielseitig anwendbare Membranen, die lediglich den Zusatz von biobasierten Weichmachern erfordern, um ihre Integrität und mechanischen Eigenschaften an den jeweiligen Anwendungszweck anzupassen. Aktuelle F&E-Bemühungen zielen auf die Nutzung der Biomasse der Bäckerhefe *S. cerevisiae* und Glycerin als Weichmacher ab. Es konnte gezeigt werden, dass Glycerin die Integrität, Flexibilität und mechanischen Eigenschaften der Folien verbessert, indem es auf molekularer Ebene als Abstandhalter und mechanischer Mediator zwischen den Biopolymerketten fungiert [2]. Ein entscheidender Nachteil von *S. cerevisiae* ist, dass der Wildtyp meist auf Glucose kultiviert wird und somit von einem nahrungsmittelrelevanten Rohstoff abhängt. Im Gegensatz dazu kann die genutzte Ölhefe Glycerin als alleinige Kohlenstoffquelle zum Wachstum nutzen. Dafür muss das Glycerin nicht rein sein; so kann beispielsweise das bei der Biodieselproduktion aus Fetten und Ölen als Reststoff anfallende Glycerin als Substrat für die Kultivierung genutzt werden. Prozesse, die auf der Fermentation durch die genutzte Ölhefe basieren, haben außerdem den GRAS-Status ("generally recognized as safe"), welcher von der Food and Drug Administration vergeben wird. Für die Herstellung von BiofoYL sind vor allem die Proteine aus dem Zytoplasma der Hefe und die Polymere der Zellwand (Mannan, Glucan und Chitin) relevant. Verglichen mit *S. cerevisiae* wurde bei der genutzten Hefe generell ein höherer Polysaccharidgehalt und insbesondere ein signifikant höherer Chitin-Gehalt festgestellt, welcher die mechanischen Eigenschaften der Biofolie noch verbessern kann. Eine weitere wichtige Anforderung an Verpackungsmaterialien ist die Reduzierung des Wasseraustausches zwischen dem zu schützenden Lebensmittel und seiner Umgebung, insbesondere um das Austrocknen von feuchten Verpackungsgütern zu verringern. Biopolymere aus der Agrarwirtschaft oder auch die derzeit verwendeten mikrobiellen Quellen interagieren typischerweise stark mit Wasser, und die aus ihnen gefertigten Folien bilden schwächere Wasserdampfbarrieren als im Fall von synthetischen Polymeren. Hier liefert die Verwendung der Biomasse einer Hefe einen weiteren maßgeblichen Vorteil: Als ölbildende Hefe ist der Lipidgehalt des Zytoplasmas deutlich höher (je nach Stamm zwischen 20 und 30 % der Trockenmasse) als bei anderen Mikroorganismen.

Durchführung und wissenschaftlich-technische Ergebnisse des Vorhabens

Zu Beginn des Projekts wurde eine umfassende Literatur- und Patentrecherche durchgeführt. Diese ergab, dass es verschiedene Bemühungen zur Herstellung von Folien aus Biomasse gibt. In Konkurrenz zum BiofoYL-Ansatz stehen vor allem Verfahren, die auf der Nutzung von agro-industrieller, das heißt pflanzlicher oder mikrobieller Trockenmasse basieren. Die bisher

gefundenen Patente stehen der Entwicklung von jedoch BiofoYL nicht im Wege. Vor diesem Hintergrund wird eine Erfindungsmeldung hinsichtlich des BiofoYL-Ansatzes zur Herstellung von Folien aus Hefe-Biomasse angestrebt, welche sich bereits in der Vorbereitung befindet.

Im Rahmen der Sondierungsphase sollte ein geeigneter Hefestamm sowie ein für die Fermentation benötigtes Rohglycerin identifiziert werden. In der Sondierungsphase wurden daher verschiedene Biodiesel-Hersteller kontaktiert, welche das nötige Rohglycerin zur Verfügung stellen sollen. Insgesamt wurden vier Arten von Rohglycerin unterschiedlicher Qualität und ein Reinglycerin als Referenz getestet. Tabelle 1 gibt Herkunft und Qualität der getesteten Chargen wieder.

Tabelle 1. Übersicht der verwendeten Glycerinquellen.

	Herkunft	Reinheit	Andere Bestandteile
1	Carl Roth	≥ 99 %	Wasser, Halogenverbindungen
2	Biodieselhersteller, Brasilien	~ 90 %	MONG ¹ , Aschesubstanzen
3	Biodieselhersteller, Deutschland	~ 82 %	5 % MONG ¹ , Wasser, Salze
4	Biodieselhersteller, Deutschland	~ 70 %	15 % MONG ¹ , Wasser, Aschesubstanzen
5	Biodieselhersteller, Deutschland	~ 52 %	40 % MONG ¹ , 10 % Methanol

¹ MONG (Matter Organic Non-Glycerol) ist definiert als die Menge an organischen Rückständen und berechnet sich aus der abgezogenen Summe der Anteile von Glycerin, Asche und Wasser an der Gesamtmasse. Die Angabe erfolgt in Prozent.

Zunächst wurden zwei verschiedene Hefe Stämme (Stamm 1 & Stamm 2) im Mineralsalzmedium mit den oben genannten Glycerin-Chargen als Substraten kultiviert. Abbildung 1 zeigt, dass Stamm 1 alle getesteten Glycerin-Chargen für das Wachstum nutzen kann. Die Rohglycerine wurden dafür nicht extra aufbereitet, sondern direkt verwendet.

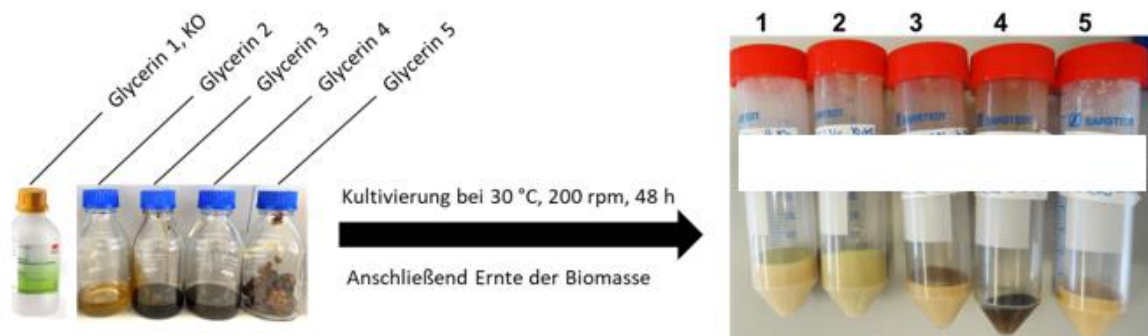


Abbildung 1: Biofeuchtmasse von Hefe-Stamm 1 gewonnen aus vier verschiedenen Arten Rohglycerin (Glycerin 2 - 4) und Reinglycerin (Glycerin 1) als Kontrolle (KO). Im linken Teil der Abbildung sind die jeweiligen Glycerin-Chargen abgebildet, welche für Kultivierung verwendet wurden, im rechten Teil wird die geerntete Biomasse gezeigt.

Zudem wurde die Biomassebildung über die Zeit mit beiden Stämmen im Mineralsalzmedium und den jeweiligen Glycerin-Chargen über 48 h in einem parallelisierten Mikrobioreaktor (Biolector®, Beckman Coulter GmbH) aufgenommen (Abbildung 2). Auch der zweite Stamm kann alle verwendeten Glycerinquellen nutzen, er erreicht jedoch geringere Biomasse-Ausbeuten als Stamm 1.

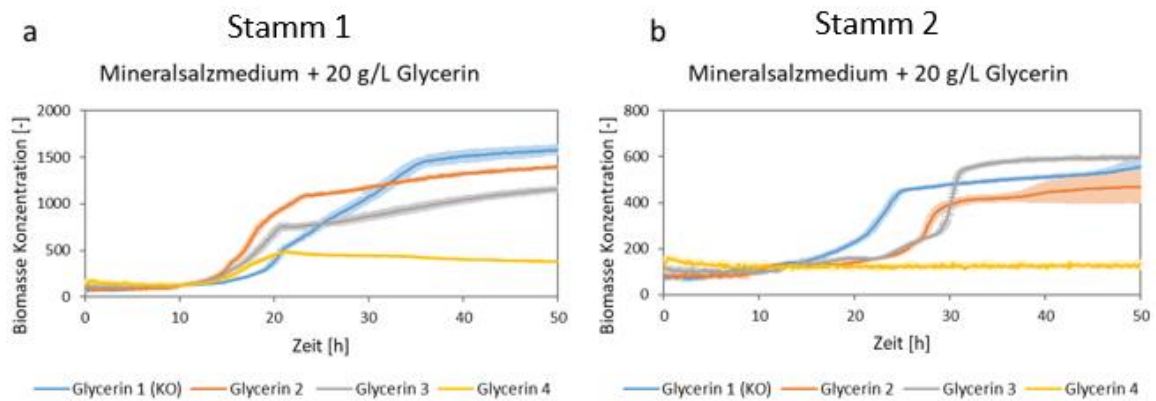
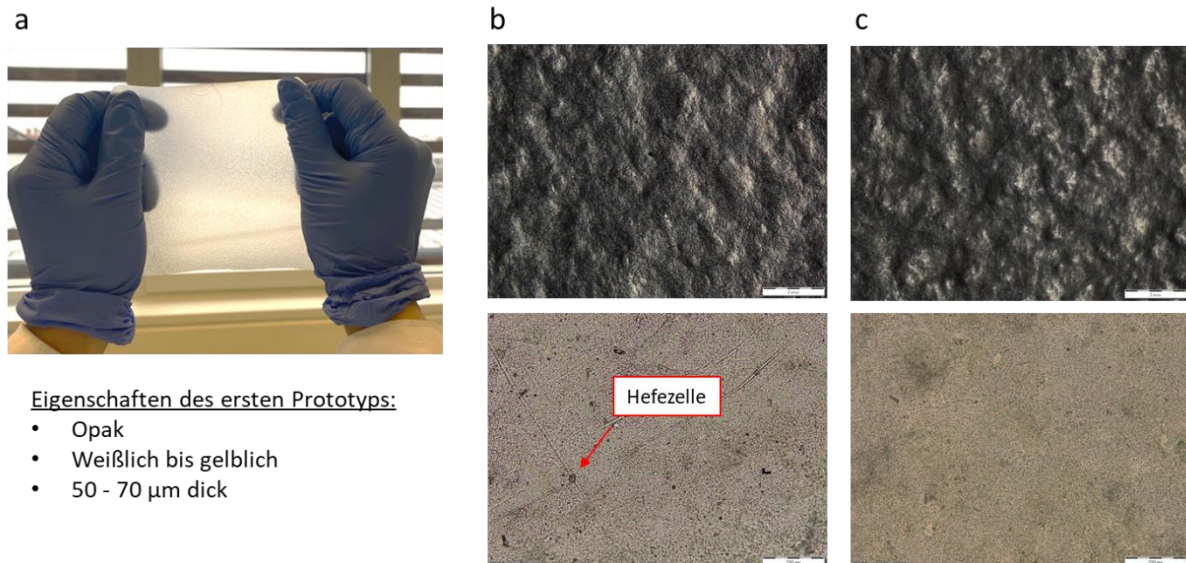


Abbildung 2: Wachstum von Hefe-Stamm 1 (a) und Stamm 2 (b) in Minimalmedium supplementiert mit 20 g/L reinem Glycerin (blau) oder den Glycerin-Chargen aus Tabelle 2 (orange, grau, gelb, siehe Legende). Das Experiment wurde in jeweils drei biologischen Replikaten durchgeführt, die Fehlerbalken der visualisierten Daten stellen die Standardabweichung dar.

Die Verwertung von Glycerin 4 ist mit beiden Stämmen unzureichend und färbt die Biomasse bräunlich (siehe auch Abbildung 1, Biomasse 4). Vermutlich enthält dieser Einsatzstoff für die Zellen toxische Substanzen, die Identitäten dieser konnte jedoch bisher nicht geklärt werden. Der Einsatz von Glycerin 5 resultiert in starker Schaumbildung, wodurch eine verlässliche Messung der optischen Dichte (entspricht der Biomasse Konzentration, Daten nicht gezeigt) nicht möglich war. Beide Stämme konnten Glycerin 5 aber trotz des hohen Gehaltes von anderen organischen Substanzen (40 %) und Methanol (10 %) in dieser Glycerin-Charge (vgl. Tabelle 1) als Wachstumsquelle nutzen (siehe auch Abbildung 1, Biomasse 5). Je nach Stamm und Glycerin-Charge konnte unter den hier getesteten Bedingungen in einem Zeitfenster zwischen 24 h und 36 h die maximale Biomassekonzentration erreicht werden.

Ein wichtiger Meilenstein der Sondierungsphase war die Produktion von BiofoYL im Labormaßstab. Bereits mit einfachen Protokollen (Hochdruckhomogenisierung, thermische Behandlung bei 90 °C, zweite Homogenisierung) konnte aus der Biomasse von Stamm 1 und 10 % Glycerin (Gewichtsvolumen, bezogen auf die Trockenmasse) ein erster Prototyp hergestellt werden (Abbildung 3a). Eine Herausforderung war jedoch die fehlende Homogenität der Folie. Inhomogene Folien weisen unterschiedliche Dicken auf, was zu Fehlern bei den Prüfversuchen (Dynamische Differenzkalorimetrie, Zugversuche) führen kann. Daher wurde zuerst eine Optimierung hinsichtlich der Homogenität vorgenommen. Im initialen Protokoll wurde die Biomasse mittels einer French Press bei 125 MPa aufgeschlossen. Die lichtmikroskopischen Aufnahmen (Abbildung 3b) verdeutlichen die unebene Struktur der Folie und zeigen, dass einzelne Hefezellen noch nicht aufgeschlossen sind. Der Homogenisierungsschritt wurde dann angepasst und für jeweils 5 min in einer Ultraschall Sonotrode durchgeführt, mit vorheriger Enzym-Behandlung für 1 h, bei 37 °C (Abbildung 3c). Die Optimierung des Biomasseaufschlusses war insofern erfolgreich, als dass diese Versuche gleichmäßigere Folien ergaben und keine intakten Hefezellen mehr beinhalteten.



Eigenschaften des ersten Prototyps:

- Opak
- Weißlich bis gelblich
- 50 - 70 μm dick

Abbildung 3: Herstellung eines ersten BiofYL-Prototyps. (a) Folie hat eine weißlich-gelbliche Farbe, ist opak und zwischen 50 – 70 μm dick. Lichtmikroskopische Aufnahmen zeigen die Struktur der Folie hergestellt mittels Aufschlusses der Biomasse über die French-Press (b) oder Aufschluss der Biomasse mittels Sonotrode und einer vorherigen Enzym-Behandlung (c).

Des Weiteren wurden Versuche bezüglich unterschiedlicher Glyceringehalte der Folien durchgeführt. Von den bislang getesteten Glyceringehalten (0 %, 5 %, 10 % und 20 %) wurde mit 10 % Glyceringehalt das beste Ergebnis erzielt (Abbildung 4a). Zudem wurden Presslinge aus geschichteten Folien hergestellt (Abbildung 4b). Hiermit wurde geprüft, ob sich die einzelnen Folien zu einem fest verbundenen Werkstück verarbeiten lassen und sich somit für den Prozess des Pressens eignen. Hierfür wurden mehrere Lagen der Folie entsprechend der Pressform zugeschnitten und geschichtet. Die Presslinge wurden bei einer Temperatur von 120 °C und einer Zeit von 80 Sekunden mit abschließender Kühlung hergestellt.

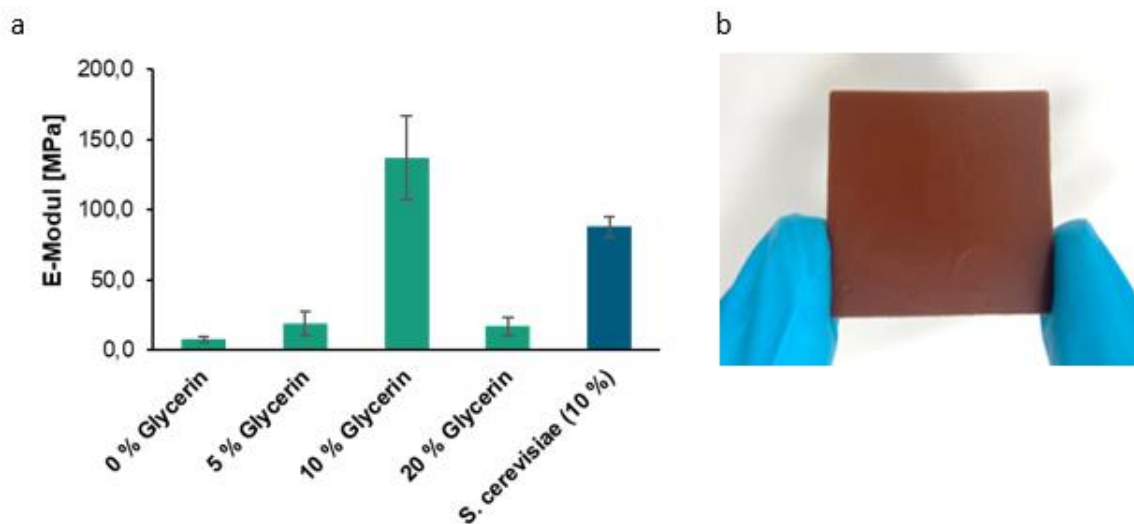


Abbildung 4: Ergebnisse der einachsigen Zugversuche und Herstellung eines Presslings. (a) Das Elastizitätsmodul (E-Modul) wurden aus Spannungs-Dehnungs-Kurven berechnet und mit dem von *S. cerevisiae* (entnommen aus Delagdo et al.[3]) verglichen. (b) Herstellung eines Presslings via beheizter Hydraulikpresse aus geschichteten Folien.

Zusätzlich wurde der Einfluss des pH-Wert auf die mechanischen Eigenschaften der Folie getestet. Das beste Ergebnis wurde bei einem pH von 10 erzielt (Tabelle 2), jedoch war der Effekt nur marginal und höhere pH-Werte führten zu einer bräunlichen Verfärbung der Folie.

Tabelle 2. Effekt des pH-Werts auf die Bruchdehnung ϵ_B [%] der Folie. Angegeben sind der Mittelwert und die Standardabweichung von fünf unabhängigen Proben.

Probe	Bruchdehnung ϵ_B [%]
pH 6	8 ± 3
pH 8	9 ± 1
pH 10	13 ± 1
pH 12	12 ± 2

Eine weitere wichtige Anforderung an Verpackungsmaterialien ist der Schutz des zu verpackenden Produkts. Gerade in der Lebensmittelindustrie ist die Reduzierung des Wasseraustausches zwischen dem zu schützenden Lebensmittel und seiner Umgebung unerlässlich. Hierbei ist insbesondere die Verhinderung des Austrocknens des Packgutes ein wichtiges Ziel, für das geeignete Verpackungsmaterialien benötigt werden. Zu diesem Zweck führte das Fraunhofer IVV, das auch als Konsortialpartner für die Machbarkeitsphase gewonnen werden konnte, Charakterisierungen hinsichtlich der Barriereigenschaften der Hefefolien durch (Tabellen 3 und 4).

Tabelle 3. Normierte Sauerstoffdurchlässigkeit von BiofoYL Folienmustern bei 23 °C / 50 % r.F. in [cm³ 100 µm/(m² d bar)]. Durchgeführt vom Fraunhofer IVV.

Muster	Probe 1	Probe 2
BiofoYL 10% Glycerin	36,0	40,6

Tabelle 4. Normierte Wasserdampfdurchlässigkeit von BiofoYL Folienmustern bei 23 °C / 85 % r.F. in [g 100µm/(m² d)]. Durchgeführt vom Fraunhofer IVV.

Muster	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Mittelwert
BiofoYL 10% Glycerin	1411	1465	1639	1095	1409 ± 227

Die gemessenen Muster zeigten dabei moderate Barriereigenschaften, wobei die gemessene Sauerstoffdurchlässigkeit von BiofoYL vergleichbar zu PLA ist.

Abschließend wurden Kompostierungstest bezüglich der Bioabbaubarkeit von BiofoYL durchgeführt. Prinzipiell ist es möglich, dass ein Endprodukt, welches nur aus umweltfreundlichen Ausgangsstoffen besteht trotzdem schädlich für die Umwelt ist. Es ist daher notwendig, bei jedem neuen Produkt die Wechselwirkung mit der Umwelt, die bei der Herstellung des Materials verwendeten Bedingungen, die in der Materialformulierung enthaltenen Zusatzstoffe und die Verwendung und Entsorgung des Materials durch den Verbraucher zu bewerten. Hierfür wurden erste Experimente zur Abbaubarkeit im heimischen Kompost durchgeführt (Abbildung 5). Je nach den Bedingungen und der Dicke des Materials dauerte die Kompostierung etwa 4 - 8 Wochen.



Abbildung 5: Kompostierungstest von BiofoYL (Dicke 0,15 mm) über einen Zeitraum von 5 Wochen im heimischen Kompost.

Zusammenfassend konnte in der Sondierungsphase des Projekts BiofoYL eine biobasierte und biobasierte Folie auf Basis von Hefebiomasse und Glycerin hergestellt werden. Die Biomasse konnte mittels Kultivierung auf Rohglycerin bereitgestellt werden. Das Gießen der Folien im Labormaßstab war mit einfachen Protokollen möglich. Durch Optimierung des Verfahrens wurde die Homogenität der Folie verbessert. Erste Charakterisierungen der Folien haben gezeigt, dass die BiofoYL-Folien vielversprechende Eigenschaften aufzeigen, jedoch auch noch Entwicklungspotential vorhanden ist. In Absprache mit den Partnern wurde für die Machbarkeitsphase die Evaluierung des Materials sowohl als Beschichtung als auch als Granulat geplant.

Wichtigste Positionen des zahlenmäßigen Nachweises

Der zahlenmäßige Verwendungsnachweis geht gesondert zu. Die Position 0838 (Reisekosten) wurden verwendet für eine Reise zur Evaluierung der Projektidee in Berlin.

Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Projektarbeiten

Die geleisteten Arbeiten innerhalb Sondierungsphase waren notwendig, um die Projektidee zu evaluieren. So konnte gezeigt werden, dass aus der Biomasse einer Ölhefe und Glycerin Folien und Formkörper hergestellt werden können. Die Herstellung eines ersten Prototyps im Labormaßstab lief dabei vielversprechend. Das für die Fermentation nötige Rohglycerin wurde von einem Lieferanten bezogen, welcher auch schon seine Zusage für die Machbarkeitsphase zugesichert hat. In Gesprächen mit weiteren Partnern wurde ein Konzept für die Machbarkeitsphase erarbeitet. Die für die Machbarkeitsphase gewonnenen Wirtschaftsexperten liefern dabei den Input für potentielle Anwendungen und das nötige Wissen zur Marktsituation und unterstützen bei der Skalierung und Charakterisierung der BiofoYL-Verpackungsmaterialien.

Die geleisteten Arbeiten waren angemessen, um die Machbarkeitsphase vorzubereiten und ein überzeugendes Konzept für die weitere Entwicklung der BiofoYL-Materialien zu erarbeiten.

Voraussichtliche Nutzen, insbesondere die Verwertbarkeit des Ergebnisses - auch konkrete Planungen für die nähere Zukunft - im Sinne des fortgeschriebenen Verwertungsplans

Die Herstellung von wirtschaftlich relevanten Produkten aus nachwachsenden Rohstoffen mithilfe von Mikroorganismen wird als ein bedeutender Schlüssel auf dem Weg in eine nachhaltige Kreislaufwirtschaft angesehen [4]. In diesem Sinne ermöglicht BiofoYL die Herstellung einer biobasierten und biologisch abbaubaren Folie mit vielfältigen Einsatzbereichen. Durch die Nutzung von Rest- und Abfallstoffen wie Glycerin, werden diese nicht nur in den Stoffkreislauf rückgeführt, sondern auch noch wertveredelt (Upcycling). Des Weiteren ist die Herstellung von BiofoYL ressourcenschonend und hat keinen negativen Einfluss auf die Biodiversität durch vermehrte Flächennutzung.

Eine ausführliche Patentrecherche hat ergeben, dass es seit den letzten Jahren einen Anstieg bei Patenten gibt, die sich auf die Nutzung von Pilzen im Materialbereich beziehen. Dies spiegelt auch die Aktualität der hier vorgestellten Idee wider. Nach derzeitigem Wissensstand gibt es aber keine bestehenden Patente, welche die hier beschriebene Hefe für filmgebendes Material nutzen. Der Ansatz von BiofoYL wurde daher als gut patentierbar eingeschätzt und eine entsprechende Erfindungsmeldung ist bereits in Bearbeitung. Anschließend wird die Erfindungsmeldung dann im Rahmen der Machbarkeitsphase einem Patentanwalt zur Ausarbeitung einer Patentschrift übergeben.

Auf wissenschaftlicher Ebene ermöglichen die gewonnenen Ergebnisse dem Fraunhofer IGB, die Fachkompetenz auf dem Gebiet der Fermentation von Hefen weiter auszubauen und neue Kompetenzen im Bereich biobasierter Kunststoffe zu erwerben. Die Nutzung der Biomasse der einer Ölhefe als Verpackungsmaterial ist neuartig und von wissenschaftlichem Interesse und kann daher nach Sicherung der IP in entsprechenden Fachzeitschriften veröffentlicht werden. Des Weiteren wurde die Folie auf der Kunststoffmesse K 2022 im Rahmen des Messestandes der Fraunhofer Gesellschaft ausgestellt und somit einer breiten Öffentlichkeit zugänglich gemacht. Aus den positiven Rückmeldungen der Messebesucher resultierten bereits konstruktive Gespräche, wie zum Beispiel mit einem Automobilzulieferer, welcher großes Interesse an den Folien und Beschichtungen zeigt.

Im Rahmen der Sondierungsphase liefen zwei HiWi-Tätigkeiten auf diesem Projekt. Auch für die Machbarkeitsphase sind Abschlussarbeiten und HiWi-Tätigkeiten geplant. Durch die Mitarbeit von Studierenden in Projekten wie BiofoYL wird die Ausbildung des wissenschaftlichen Nachwuchses am Fraunhofer IGB gefördert, sowie langfristig die Attraktivität des Standorts für Studierende gesteigert.

Neben dem Schutz des generierten geistigen Eigentums ist eine Lizenzierung der BiofoYL Idee geplant. Dabei geht es auch darum, den Bekanntheitsgrad von BiofoYL zu steigern und das Projekt auf Fachtagungen und Messen gut zu repräsentieren, um so die Sichtbarkeit und damit das Interesse potenzieller Kunden weiter zu erhöhen. Vor allem Hersteller in der Verpackungsbranche und im Lebensmittelbereich könnten von der hochgradig zukunftsorientierten Idee profitieren. Das bereits erlangte Fachwissen soll sowohl in der Machbarkeitsphase als auch in anderen Projekte entsprechend des Geschäftsmodells der Fraunhofer-Gesellschaft verwertet werden. In möglichen Folgeprojekten könnte eine Übertragung des Ansatzes auf andere Substrate oder Mikroorganismen überprüft werden und somit die Produktpalette erweitert werden.

Während der Durchführung des Vorhabens dem Zuwendungsempfänger bekannt gewordenen Fortschritt auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen

Während der Durchführung der Sondierungsphase sind keine Veröffentlichungen bekannt geworden, weder in der Fachliteratur noch auf Patentebene, die für das Projekt relevant wären.

Erfolgte oder geplante Veröffentlichungen der Ergebnisse nach Nr. 5 der NKBF

Während der Projektlaufzeit sind keine Veröffentlichungen erfolgt. Jedoch wurde gegen Ende des Projekts mit der Einreichung einer internen Erfindungsmeldung begonnen. Des Weiteren ist im Rahmen der Machbarkeitsphase die Einreichung eines Verfahrens- und Erzeugnispatents geplant.

Literatur

1. Cottet, C., et al., *Biobased Materials from Microbial Biomass and Its Derivatives*. Materials, 2020. **13**(6): p. 1263.
2. Delgado, J.F., et al., *Hydration and water vapour transport properties in yeast biomass based films: A study of plasticizer content and thickness effects*. European Polymer Journal, 2018. **99**: p. 9-17.
3. Delgado, J.F., et al., *Impact of the film-forming dispersion pH on the properties of yeast biomass films*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2021. **101**(13): p. 5636-5644.
4. Forschung, B.f.B.u. *Nationale Forschungsstrategie BioÖkonomie 2030*. 13.02.2021]; Available from: https://www.bmbf.de/upload_filestore/pub/Nationale_Forschungsstrategie_Biooekonomie_2030.pdf.