

Gefördert durch:



**RWTH Aachen University - Lehrstuhl für Biotechnologie, Institut für
Angewandte Mikrobiologie und Institut für Textiltechnik**

**Bio4MatPro BoostLab6-3: EnzyDegTex - Biologische Transformation des
Textilrecyclings: Enzymatischer, selektiver Abbau von Alttextilien**

**Ricarda Wissel, Stefan Schonauer, Henning Löcken,
Ann-Sophie Mizza, Hendrik Ballerstedt**

Förderkennzeichen: 031B1161

„Das diesem Bericht zugrundeliegende Vorhaben wurde mit Mitteln des Bundesministeriums für Forschung, Technologie und Raumfahrt unter dem Förderkennzeichen 031B1161 gefördert. Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt bei der Autorin/beim Autor.“

TEIL I – Schlussbericht - Kurzbericht

Das Projekt EnzyDegTex wurde im Rahmen des Kompetenzzentrums zur Biologischen Transformation von Materialwissenschaft und Produktionstechnik (Bio4MatPro) durchgeführt. Der Auf- und Ausbau von Kreislaufwirtschaften spielt in Zukunft eine zentrale Rolle für die Versorgungssicherheit des Rheinischen Reviers, Deutschlands und Europas. Textilabfälle weisen dabei ein sehr hohes, bisher fast komplett ungenutztes Potential auf, da ihre Entsorgung aktuell in der Regel linear und nicht zirkulär stattfindet. Mit bisher etablierten Recyclingverfahren ist es nicht möglich weitverbreitete Textilien, insbesondere Mischtextilien z.B. in Form von Polyester-Baumwolle-Mischungen, nachhaltig stofflich zu recyceln. In der Regel werden diese Textilien durch sogenanntes „Downcycling“ zu Produkten niedriger Qualität, z.B. Malervliese oder Dämmmaterialien, verarbeitet. Eine weitere Kreislaufführung dieser Produkte findet aktuell nicht in größerem Maßstab statt.

Das zentrale Ziel des Projekts EnzyDegTex war die Entwicklung biotechnologischer Verfahren für das Recycling von Textilien und die Bereitstellung von Grundstoffen aus textilen Abfällen für die chemische, die Kunststoff- sowie die Textilindustrie. Damit adressierte das Projekt eine zentrale technologische Lücke im Übergang von einer linearen zu einer zirkulären Textilwirtschaft und leistete einen wesentlichen Beitrag zu den förderpolitischen Zielen des Programms Bio4MatPro sowie der Strukturwandel- und Bioökonomiestrategien des Rheinischen Reviers. Das Konsortium bestand mit dem Lehrstuhl für Biotechnologie, dem Institut für Angewandte Mikrobiologie und dem Institut für Textiltechnik aus drei unterschiedlichen Instituten der RWTH Aachen University.

Im Rahmen von iterativen Schritten zwischen den beteiligten Instituten wurden wertvolle Erkenntnisse gewonnen über den selektiven enzymatischen Abbau von Polyester-basierten Textilien sowie die anschließende Nutzung der freigesetzten Monomere. Diese dienten als Substrat für die mikrobielle Synthese des Biopolymers Polyhydroxybuttersäure (PHB), welches schließlich wieder zur Entwicklung neuer Garne und Textilien eingesetzt wurde. Die entsprechenden Prozessschritte wurden im Rahmen des Projekts EnzyDegTex entwickelt und somit der Nachweis zur Umsetzbarkeit dieser Prozesskette bis hin zu einem textilen Demonstrator erbracht. Die durchgeführten Arbeiten und wesentlichen Ergebnisse der verschiedenen Arbeitspakete sind im Folgenden zusammengefasst.

Im Rahmen von Arbeitspaket 1 wurden geeignete textile Abfälle sowie ökonomisch und technologisch einsetzbare Enzyme identifiziert. Diese umfassende Untersuchung legte die Grundlage für die weiteren Entwicklungsarbeiten. Da sich in den Versuchsreihen herausgestellt hat, dass der enzymatische Abbau von Fasern und Textilien aus Polyethylenterephthalat (PET) zwar stattfindet, aber aufgrund der hohen Kristallinität nur geringe Monomermengen freigesetzt werden, wurde zusätzlich eine Vorbehandlung zur Amorphisierung entwickelt. Darüber hinaus wurde die Kompatibilität der Enzyme mit typischen, in Textilien vorkommenden Zusatzstoffen untersucht. Während beispielsweise beim für Chemiefasern üblichen Mattierungsmittel Titandioxid kein Einfluss auf die enzymatische Aktivität beobachtet wurde, schienen hohe Konzentrationen bestimmter Farbstoffe die enzymatische Aktivität zu reduzieren. In Arbeitspaket 2 wurde erfolgreich eine Protein-Engineering-Kampagne zur Entwicklung von aktiveren Enzymvarianten durchgeführt, sowie ein Prozess für den enzymatischen Abbau von PET entwickelt und bis zu einem Reaktionsvolumen von 10 L hochskaliert. Darüber hinaus wurde die enzymatische Entfärbung untersucht und nachgewiesen, dass der Farbstoff Indigo Carmine mittels Enzymen abgebaut werden kann. In Arbeitspaket 3 lag der Fokus auf der Nutzung der durch die enzymatische Hydrolyse freigesetzten Monomere als Feedstock für die mikrobielle Synthese des Biopolymers PHB. Es wurde erfolgreich eine Mischkultur realisiert, die auf unterschiedlichen textilen Monomeren

wachsen kann, sowie ein Prozess mit einem neuen Mikrobenstamm zur effizienten PHB-Produktion entwickelt. Dieser setzt hocheffizient die Monomere um, da er ein nativer PHB-Produzent ist und 80 % seines Trockenzellgewichtes an PHB anreichert. Das übergeordnete Ziel von Arbeitspaket 4 war die Herstellung eines spinnbaren Granulats aus dem biotechnologisch hergestellten Produkt. Da PHB in Reinform nicht zum Schmelzspinnen von Filamentgarnen geeignet ist, wurden Blends in unterschiedlichen Zusammensetzungen mit dem Biopolymer Polymilchsäure (PLA) als Lösungsansatz zur Verbesserung der Spinnbarkeit entwickelt. Die PLA/PHB-Blends wurden anschließend im Rahmen von Arbeitspaket 5 erfolgreich zu Filamentgarnen versponnen. Die Blend- und Spinnprozessentwicklung mit dem im Rahmen des Projekts produzierten PHB wurde im Labormaßstab realisiert, wobei eine erfolgreiche Filamentbildung erzielt werden konnte. Bei geringen Düsenlochdurchmessern trat jedoch vereinzelt ein Verstopfen der Kapillare auf, was einen Hinweis auf verbliebene Feststoffpartikel im PHB-Material darstellt. Für eine zuverlässige und reproduzierbare Verarbeitung ist daher eine weitergehende Aufreinigung des PHB erforderlich. Die Prozessentwicklungen im Pilotmaßstab wurden mit einem vergleichbaren kommerziellen PHB durchgeführt. Es wird davon ausgegangen, dass die Ergebnisse bei vergleichbaren Polymereigenschaften auf das PHB auf Basis von textilen Monomeren übertragbar sind. Hierbei wurden Multifilamentgarne mit einem maximalen PHB-Anteil von bis zu 45 % entwickelt. Die hergestellten Filamentgarne wurden im Rahmen von Arbeitspaket 6 erfolgreich im Strickprozess eingesetzt und ein Demonstrator in Form eines Pullovers entwickelt. In Arbeitspaket 7 wurde basierend auf den Labordaten ein erster Business Case für die Anwendung des biotechnologischen Recyclings im Bereich der Textilabfallwirtschaft erstellt. Dazu wurde zunächst die benötigte Prozesskette definiert und anschließend ein Business Model Canvas durchgeführt.

Insgesamt wurde durch das Projekt EnzyDegTex ein wichtiger Beitrag zur Entwicklung und Etablierung bioökonomischer Innovationen im Rheinischen Revier geleistet. Der Ansatz ermöglicht die Substitution fossiler Rohstoffe durch Biopolymere und trägt damit unmittelbar zur Ressourcenwende bei unter gleichzeitiger Reduzierung von Verbrennung, Export und Deponierung von Textilabfällen. Damit werden Treibhausgasemissionen sowie Mikroplastikeinträge in die Umwelt nachhaltig vermieden. Der wertvolle interdisziplinäre Austausch zwischen den Projektpartnern führte zudem dazu, dass das Wissen um das Potential des biotechnologischen Textilrecyclings innerhalb der Biotechnologie-, Recycling- und Textilbranche weiterverbreitet und gefestigt wurde.

TEIL II – Schlussbericht – Eingehende Darstellung

1. Wichtigste Positionen des zahlenmäßigen Nachweises

Innerhalb der Projektlaufzeit von 3,5 Jahren fielen Personalkosten für wissenschaftliche Mitarbeiter, Doktoranden (65 %), Mechaniker, Laboranten und studentische Hilfskräfte an, die die Entwicklungsarbeiten an den drei beteiligten Instituten der RWTH Aachen University (Lehrstuhl für Biotechnologie (Biotec), Institut für Angewandte Mikrobiologie (iAMB) und Institut für Textiltechnik (ITA)) durchführten. Verbrauchsmittel und Fremdleistungen (z.B. Polymeranalytik) wurden nach Bedarf verausgabt. Reisekosten entstanden hauptsächlich für Reisen zur Teilnahme der Projektmitarbeiter an Projektmeetings inkl. der Bio4MatPro-Jahresversammlung sowie Messen und Konferenzen zur Präsentation von Projektergebnissen. Zudem wurden Investitionen zur Beschaffung eines Bioreaktors und eines Messrechners für die bestehende Flachstrickmaschine getätigt, die weiterhin für wissenschaftliche Projektarbeiten genutzt werden sollen.

2. Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Projektarbeiten

Die durchgeführten Arbeiten sowie die dafür aufgewandten Ressourcen waren notwendig und angemessen, um die im Arbeitsplan formulierten Aufgaben erfolgreich zu bearbeiten und die Projektziele zu erreichen. Darüber hinaus mussten keine zusätzlichen Ressourcen zur Durchführung des Vorhabens aufgewandt werden. Die durchgeführten Arbeiten waren notwendig, um die enzymatische Hydrolyse von Polyethylenterephthalat (PET) aus Textilien sowie die mikrobielle Synthese von Polyhydroxybuttersäure (PHB) in den 10 L-Maßstab zu übertragen und systematisch zu bewerten. Der vorgesehene Unterauftragnehmer wurde für das Upscaling nicht eingesetzt und die Versuche im 10 L-Maßstab wurden vom Zuwendungsempfänger selbst durchgeführt. Darüber hinaus wurde das textiltechnische Potential von PHB auf Basis textiler Monomere evaluiert. Umfang und Tiefe der Arbeiten sind im Hinblick auf die Projektziele und die verfügbaren Ressourcen als angemessen einzustufen. Die Zuwendung wurde wirtschaftlich und sparsam verwendet. Es wurden ausschließlich Ausgaben getätigt, die zur Erreichung der Zielsetzung des Vorhabens notwendig waren. Die Komplexität der Entwicklung eines biotechnologischen Textilrecyclings war nur durch die interdisziplinäre Zusammenarbeit der drei Forschungsstellen möglich.

3. Voraussichtlicher Nutzen, insbesondere Verwertbarkeit des Ergebnisses

Die Entwicklungen im EnzyDegTex-Projekt haben gezeigt, dass die enzymatische Hydrolyse von PET aus Textilien durchgeführt werden kann, wenn das PET entsprechend vorbehandelt wird und der enzymatische Abbau von organischen textilen Additiven möglich ist. Darüber hinaus können die resultierenden Monomere als Substrat für die mikrobielle Synthese des Biopolymers PHB verwendet und dieses wiederum zur Herstellung neuer Garne und Textilien eingesetzt werden. Damit wird die Nutzung textiler Abfallströme für das biotechnologische Recycling grundsätzlich bestätigt und zugleich der Nachweis für eine mögliche Kreislaufführung erbracht. Der Ansatz ermöglicht die Substitution fossiler Rohstoffe durch Biopolymere und trägt damit unmittelbar zur Ressourcenwende bei gleichzeitiger Reduzierung von Verbrennung, Export und Deponierung von Textilabfällen. Damit werden Treibhausgasemissionen sowie Mikroplastikeinträge in die Umwelt nachhaltig vermieden.

Die erzielten Ergebnisse schaffen die Grundlage für eine nachfolgende industrielle Umsetzung sowie für Ausgründungen und die Ansiedlung neuer Unternehmen. Damit leistet das Projekt einen wichtigen Beitrag zur Stärkung des Innovationsökosystems und zur langfristigen Sicherung des Forschungs- und Industriestandorts. Die Ergebnisse und die bei der Projektbearbeitung gewonnenen Methoden und Erkenntnisse bieten der RWTH Aachen University im Bereich der Forschung und Qualifizierung die Möglichkeit weitere Projektideen zu generieren und die Ergebnisse im Rahmen von Vorlesungen, Schulungen und Weiterbildungen zu verwerten.

Das biotechnologische Recycling soll zukünftig im Rahmen weiterer Forschungsprojekte oder industrieller Auftragsforschung weiterentwickelt und beispielsweise hinsichtlich weiterer Fasermaterialien (Rein-/Mischfasern) sowie anderer in Textilien eingesetzter Additive und Farbstoffe adaptiert werden. Dabei ist es wichtig die passenden, selektiv arbeitenden Enzyme auf die adressierten textilen Abfälle abzustimmen. Besonderes Augenmerk liegt zusätzlich darauf, ob bestimmte textile Zuschlagstoffe die enzymatische Aktivität oder das Wachstum der Mikroorganismen hemmen. Für den industriellen Einsatz von PHB/PLA-Blends in

Textilien sollen darüber hinaus weitere anwendungsspezifische, textile Verarbeitungsschritte erforscht werden, wie z.B. Texturieren oder Färben.

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

Das enzymatische Recycling von PET ist derzeit ein sehr aktuelles und viel diskutiertes Thema. Bislang konzentrieren sich enzymatische Polymer-Abbau-Studien jedoch vor allem auf PET aus Flaschen oder Folien und nicht auf PET aus Textilien, da Textilien sehr komplexe Substrate sind, die unterschiedliche, teils unbekannte Polymere und Additive enthalten. Thematische Überschneidungen mit anderen Gruppen wurden während der Projektlaufzeit nicht bekannt.

5. Erfolgte oder geplante Veröffentlichungen des Ergebnisses nach Nr. 5 der NKBF/NABF

- Wissel, R.; Schonauer, S.; Löcken, H.; Gries, T.:
Enzymatic degradation of used textiles for biological textile recycling
Artikel im bioplastics MAGAZINE (Ausgabe [05/22] Vol. 17)
- Wissel, R.; Steffens, D.; Mizza, A.-S.; Ji, Y.; Ballerstedt, H.; Schonauer, S.; Löcken, H.; Debicki, L.; Schwaneberg, U.; Blank, L.; Gries, T.:
BL6-3 EnzyDegTex - Biologische Transformation des Textilrecyclings für eine zirkuläre Bioökonomie
Poster + Präsentation auf der Bio4MatPro-Jahresversammlung 2022, Aachen, 05.-06.10.2022
- Wissel, R.; Steffens, D.; Mizza, A.-S.; Ji, Y.; Ballerstedt, H.; Schonauer, S.; Löcken, H.; Debicki, L.; Schwaneberg, U.; Blank, L.; Gries, T.:
BL6-3 EnzyDegTex - Biological Transformation of Textile Recycling for a Circular Bioeconomy
Poster + Präsentation auf der Bio4MatPro-Jahresversammlung 2023, Düsseldorf, 25.-26.05.2023
- Steffens, D.L.; Ballerstedt, H.; Blank, L.M.
Enzymatic textile recycling: Microbial upcycling of synthetic fiber monomers from hydrolysates
Poster auf der Annual Conference of the Association for General and Applied Microbiology (VAAM) 2023, Göttingen, 10.-13.09.2023
- Schonauer, S.; Wissel, R.; Debicki, L.; Gries, T.:
Biological transformation of textile recycling: enzymatic, selective degradation of used textiles combined with upcycling into sustainable fibres and additives
Artikel im Textile.4U: the Textdata International Magazine (Ausgabe 3/4 2023)
- Wissel, R.; Steffens, D.; Mizza, A.-S.; Ji, Y.; Ballerstedt, H.; Schonauer, S.; Löcken, H.; Debicki, L.; Schwaneberg, U.; Blank, L.; Gries, T.:
BL6-3 EnzyDegTex - Biological Transformation of Textile Recycling for a Circular Bioeconomy
Poster auf der Fachkonferenz Perspektiven Rheinisches Revier, Mönchengladbach, 23.11.2023
- Schonauer, S.; Wissel, R.; Debicki, L.; Gries, T.:
Biological transformation of textile recycling: Enzymatic, selective degradation and microbial upcycling of used textiles
Vortrag auf der Advanced Recycling Conference 2023, Köln, 28.-29.11.2023
- Wissel, R.; Steffens, D.; Mizza, A.-S.; Ji, Y.; Ballerstedt, H.; Schonauer, S.; Löcken, H.; Debicki, L.; Schwaneberg, U.; Blank, L.; Gries, T.:
BL6-3 EnzyDegTex - Biological Transformation of Textile Recycling for a Circular Bioeconomy
Poster + Präsentation auf der Bio4MatPro-Jahresversammlung 2024, Düsseldorf, 06.-07.05.2024
- Wissel, R.; Schonauer, S.; Debicki, L.; Gries, T.:
Biological Recycling of PET-Containing Textiles
Vortrag auf der AUTEX World Conference 2024, Liberec, Czech Republic, 17.-19.06.2024
- Wissel, R.; Steffens, D.; Mizza, A.-S.; Ji, Y.; Ballerstedt, H.; Schonauer, S.; Löcken, H.; Debicki, L.; Schwaneberg, U.; Blank, L.; Gries, T.:
BL6-3 EnzyDegTex - Biological Transformation of Textile Recycling for a Circular Bioeconomy
Poster auf der 2nd Carbios International Conference 2024 in Toulouse, France, 08.-10.10.2024

- Ballerstedt, H.; Blank, L.M.:
Unchain the metabolic potential of plastics as a carbon source for biotechnology
Vortrag auf dem International Symposium on Biopolymers (ISBP), Penang, Malaysia, 20.-23.10.2024
- Wissel, R.; Steffens, D.; Mizza, A.-S.; Ji, Y.; Ballerstedt, H.; Schonauer, S.; Löcken, H.; Debicki, L.; Schwaneberg, U.; Blank, L.; Gries, T.:
Biotechnological Recycling of Polycotton Textiles
Poster auf der Aachen-Dresden-Denkendorf International Textile Conference, Stuttgart, 21.-22.11.2024
- Wissel, R.; Steffens, D.; Mizza, A.-S.; Ji, Y.; Ballerstedt, H.; Schonauer, S.; Löcken, H.; Debicki, L.; Schwaneberg, U.; Blank, L.; Gries, T.:
BL6-3 EnzyDegTex - Biological Transformation of Textile Recycling for a Circular Bioeconomy
Poster + Präsentation auf der Bio4MatPro-Jahresversammlung 2025, Leverkusen, 04.-05.06.2025
- Mizza, A. S.; Ji, Y.; Schwaneberg, U.:
Electrospinning Enables Embedding of PET Hydrolases in High-Melting PET Microfibers
Paper in ACS Sustainable Chemistry & Engineering, 13(28), 10945-10953, 2025
- Harings, J.A.M.; Ballerstedt, H.; Blank, L.M.:
Recycling-privileged plastic polymers
Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry (56), 101049-101056, 2025
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2025.101049>

6. Aufzählung der wichtigsten wissenschaftlich-technischen Ergebnisse und anderer wesentlicher Ereignisse

AP 1: Materialanalyse, Evaluation und Auswahl

AP 1.1: Datenerhebung, Abfallcharakterisierung und Musterprobenherstellung (ITA)

In AP 1.1 wurden relevante textile Abfälle recherchiert und Musterproben für die folgenden experimentellen Untersuchungen im Projekt hergestellt bzw. beschafft. Der Recherchefokus lag dabei auf Textilien, die Polyethylenterephthalat (PET) enthalten, da dies nach aktuellen Studien die am häufigsten vorkommende Chemiefaser in Alttextilien darstellt. Dabei wurden zudem Literaturrecherchen und Experteninterviews zu typischen Zuschlagstoffen (Additive, Verarbeitungshilfsmittel, Farbstoffe, etc.) in der Herstellung von PET-Textilien durchgeführt. Diese Zuschlagstoffe können den biotechnologischen Recyclingprozess potentiell als Störstoffe beeinträchtigen. In Abbildung 1 sind die Rechercheergebnisse als eine nach Relevanz für das Recycling bewertete Übersicht der Zuschlagstoffe dargestellt. Ein großer Teil der zugegebenen Zuschlagstoffe wird im Laufe der Herstellungsprozesse oder in der Gebrauchsphase beim Konsumenten wieder aus dem Textil ausgewaschen. Insbesondere Farbstoffe und Mattierungsmittel sind wichtige Zuschlagstoffe, die auch in Post-Consumer-Textilien noch vorhanden sind.

Auswaschbarkeit Einsatz- wahrscheinlichkeit	Nicht im Textil vorhanden (im gleichen Prozess- schritt ausgewaschen)	Produktionsabfälle (ausgewaschen in Herstellungsphase)	Fertige Textilprodukte/ (ausgewaschen in Gebrauchsphase)	Post-Consumer-Abfälle
Selten			- Zuschlagstoffe gegen Phenolic Yellowing - Antistatika (Garnfärbung) - Entschäumer (Stückfärbung/Ausrüstung)	
Gelegentlich	- Oligomerdispergiermittel (Garn- / Stückfärbung)	- FDY-Präparation - Oligomerbindemittel - Nachavivage Stapelfaser	- Avivage (Garnfärbung) - Rauavivage - Antimikrobielle Ausrüstung (ohne Silber) - Optische Aufheller (Garn- /Stückfärbung) - Antistatika (Ausrüstung)	- Oleophobierungsmittel - Antimikrobielle Ausrüstung (mit Silber) - Beschichtungsmittel - Isophthalsäure - Kobalt (Primär- /Sekundärherstellung) - Toner - Pigmente
Häufig		- POY-Präparation - Spulöl - Funktionsstoffe Weben - Reduktionsmittel - Zuschlagstoffe reductive Nachreinigung - Neutralisierungsmittel	- Hydrophilierungsmittel - Netzmittel - Zitronensäure	- Hydrophobierungsmittel - Netzmittel zur Hydrophobierung - Mattierungsmittel
Sehr häufig/Standard	- Nicht-ionisches Tensid - Essigsäure	- Stapelfaserpräparation - Funktionsstoffe Stricken - Nadelöl - Dispergiermittel (Garn- /Stückfärbung) - Pufferstoffe	- Diffusionsbeschleuniger - Egalisierungsmittel - Weichmacher - Nähavivage	- Dispersionsfarbstoffe (Garn- /Stückfärbung) - Katalysator

Abbildung 1: Bewertungsmatrix für identifizierte Zuschlagstoffe bei der Herstellung von PET-Textilien

Basierend auf den Ergebnissen der Recherchen wurden relevante Zuschlagstoffe ausgewählt und für die Kompatibilitätsuntersuchungen in AP 1.3 zur Verfügung gestellt: Mattierungsmittel (Titandioxid), Farbpigmente (Carbon Black), Spinnpräparationen (5 typische Spinnpräparationen für PET-Garne (Limanol V8, Drifi L113, Silastol H207, Convidol NAS5 und Limanol ZC5)) sowie Dispersionsfarbstoffe (Dianix Navy S2G und Terasil Red RBN).

In Absprache der Partner wurde ein Ansatz zur experimentellen Untersuchung des enzymatischen PET-Abbaus aus Textilien mit steigender Komplexität der Musterproben gewählt. Eine Übersicht der beschafften bzw. hergestellten Musterproben ist in den Tabellen 1-3 gegeben:

1. Reines PET in unterschiedlichen Formen (Pulver, Granulat, Faser)
2. Textiltypische Zuschlagstoffe und häufig verwendete Blend-Fasermaterialien
3. Textilien und textile Abfälle mit PET-Anteil

Tabelle 1: Musterproben - Reines PET

Musterprobe	Beschaffenheit	Kristallinität
PET-Pulver	Maximale Teilchengröße von 300 Mikron	>40 % (Herstellerangabe)
PET-Granulate	PET-Granulat ohne Zusatz von Titandioxid, Bereitstellung als ganzes Granulat sowie fein gemahlen	~57 % (DSC-Messung)
PET-Fasern	Am ITA hergestelltes Filamentgarn ohne Titandioxid (30 Filamente, Feinheit: 218 dtex, Prod.geschwindigkeit: 3600 m/min), zu Stapelfasern geschnitten (50 mm Länge)	~40 % (DSC-Messung)

Tabelle 2: Musterproben - Textiltypische Zuschlagstoffe und Blend-Fasermaterialien

Musterprobe	Einsatzzweck	Beschaffenheit
Titandioxid	Mattierungsmittel	Pures Titandioxid-Pulver und typisches PET-Granulat zur Faserherstellung mit Titandioxid-Gehalt
Carbon Black	Spinnfärbung von PET-Garnen (schwarz)	Pures Carbon Black-Pulver und Compounds aus PET und Carbon Black mit typischen Konzentrationen (0,5/1/2 %)
Spinnpräparation	Verbesserung der Verarbeitbarkeit von PET-Garnen in der textilen Prozesskette	5 typische Spinnpräparationen für PET-Garne mit unterschiedlichen Zusammensetzungen (Limanol V8, Drifi L113, Silastol H207, Convidol NAS5 und Limanol ZC5)
Dispersionsfarbstoffe	Färbung von PET-Garnen und -Textilien	2 typische Dispersionsfarbstoffe in den häufig für Bekleidungstextilien eingesetzten Farben Navy (Dianix Navy S-2G) und Rot (Terasil Red RBN)
Baumwolle	Erhöhung des Tragekomforts in Blends mit PET	Typische Baumwoll-Stapelfasern für Bekleidungsanwendungen
Elastan	Elastizität in Textilien	Typisches Elastan-Garn aus PU für Bekleidungsanwendungen

Tabelle 3: Musterproben – Textilien und textile Abfälle

Musterprobe	Beschaffenheit
PET-Textil	Am ITA hergestelltes Gewebe aus PET (mit Titandioxid und unter Verwendung von Spinnpräparation, ungefärbt)
Polycotton-Textil	Sweatshirt als typisches PET/Baumwolle-Textil (Zusammensetzung laut Etikett: 60 % Baumwolle/ 40 % PET)
Produktionsabfall PET-Faser	Ausschussware eines Herstellers von PET-Stapelfasern
Produktionsabfall PET-Textil	Ausschussware eines Bekleidungsherstellers, Fleece-Westen aus 100 % PET laut Etikett
Post-Consumer-Abfall	Typische Alttextilien aus der Altkleidersammlung mit unterschiedlichen Faserzusammensetzungen laut Etikett (100% PET, Blends mit Baumwolle (60 % BW/ 40 % PET, 70 % BW/ 30 % PET), teilweise mit Elastan-Anteil)

In den ersten Versuchen zum enzymatischen Abbau von Fasern und Textilien aus PET hat sich im weiteren Verlauf des Projekts herausgestellt, dass dieser zwar stattfindet, aber nur sehr geringe Mengen der Monomere Terephthalsäure (TPA) und Ethylenglykol (EG) erzeugt werden. Da Enzyme oberflächenaktiv amorphe Bereiche des PET angreifen, wurde ein zusätzlicher Prozess zur Vorbehandlung entwickelt, um die Oberfläche und den Anteil amorpher Bereiche zu erhöhen. Hierzu wurde ein am ITA hergestelltes PET-Gewebe mit verschiedenen Anteilen Glycerin als Weichmacher aufgeschmolzen, homogenisiert und in ein Wasserbad bei Raumtemperatur extrudiert. Durch die Zugabe von Glycerin wird die Schmelze deutlich dünnflüssiger und die Bildung kristalliner Bereiche beim schnellen Abkühlen wird erschwert. Analysiert wurden 5 Proben mittels DSC zur Bestimmung der Kristallinität. Es konnte beobachtet werden, dass die Kristallinität von 35,8 % bis auf 7,3 % abfällt. Ab 10 Tropfen (0,4 g) pro 10 g PET scheint der Effekt abzufallen und 15 Tropfen Glycerin (0,6 g) pro 10 g PET führen nur noch zu einer geringen Änderung der Kristallinität.

Tabelle 4: Amorphisierung von je 10 g PET-Gewebe mit Glycerin

Probe	Tropfen Glycerin (10 Tropfen= 0,4 g)	Kristallinität DSC [%] ($\Delta H_m / PET = 142,5 \text{ J/g}$)
0	0	35,8
V1	3	12,8
V2	5	9,0
V3	7	-
V4	10	7,6
V5	15	7,3
V6	20	-

Die Probe V5 wurde als Material für weitere Versuche zum enzymatischen Abbau ausgewählt und ca. 240 g PET auf diese Weise für den enzymatischen Abbau in AP 2.2 amorphisiert. Das Material wurde anschließend bei 50 °C, ü.N. getrocknet, vermahlen bis es ein 500 µm-Sieb passieren konnte und an Biotec übergeben. Als Analytik des Materials im Vergleich zu unbehandeltem PET wurden zudem FTIR und Mikroskopie durchgeführt (vgl. Abbildungen 2 und 3).

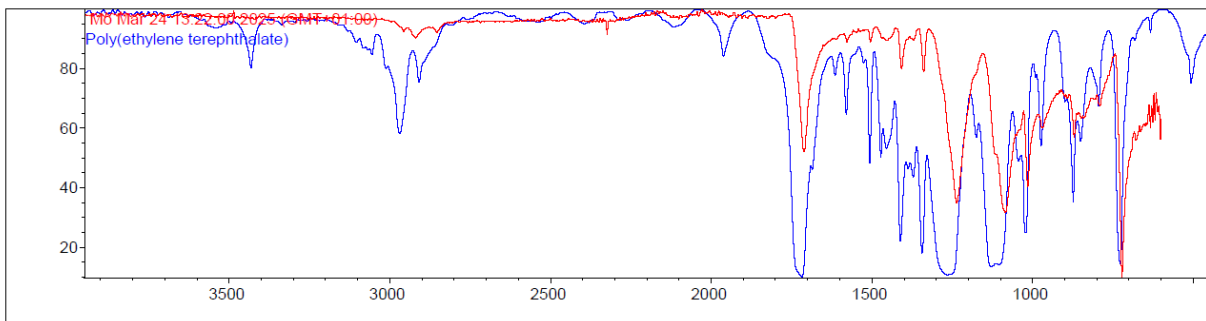


Abbildung 2: FTIR-Spektrum des amorphisierten PET (rot), Datenbankspektrum von PET (blau)

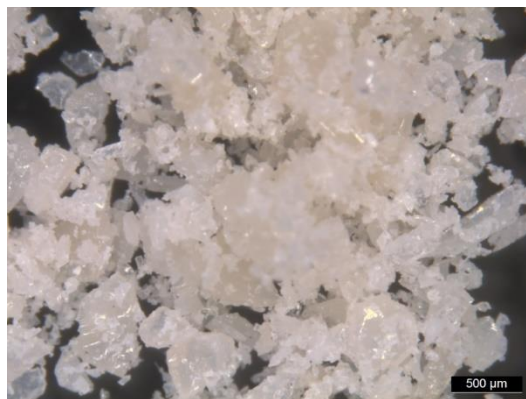


Abbildung 3: Mikroskopiebild des amorphisierten und vermahlenden PET zur Übergabe an Biotec

Für einen weiteren Abbauersuch in AP 2 wurde ein weiteres Batch mithilfe der entwickelten Vorbehandlungsmethode hergestellt. Dieses Mal wurde jedoch ein weißes Post-Consumer-Textil genutzt, welches laut Etikett aus 100 % PET bestand, sowie nur Partikel über 500 µm an Biotec übergeben, um Verstopfungen in der Anlage zu vermeiden. Die DSC-Analyse ergab, dass die Kristallinität zwar ebenfalls reduziert wurde, mit 29 % jedoch weiterhin ein vergleichsweise hohes Niveau aufwies; die Ursachen hierfür konnten im Rahmen des Projekts nicht abschließend geklärt werden.

Von dem verbleibenden PET im Bioreaktor bei während der Abbauersuche bei Biotec wurden zudem über den Versuchszeitraum Proben genommen und ebenfalls hinsichtlich der Kristallinität analysiert. Im Verlauf zeigte sich, dass der Anteil kristalliner Bereiche bis zum 10ten Tag der Reaktion zunimmt und dann zum 21ten Tag scharf abnimmt. Dies stützt die Vermutung, dass von den Enzymen zunächst die amorphen Bereiche abgebaut werden.

Die stark abnehmende Kristallinität zwischen dem 10ten und 20ten Tag der Reaktion ist unerwartet, aber möglicherweise durch eine Anreicherung amorpher „nicht PET“-Produkte im Reaktor zu erklären.

Tabelle 5: Änderung der Kristallinität über die Zeit im Bioreaktor

Tag nach Start des Bioreaktors	Kristallinität des verbleibenden PET [%]
2	14,6
7	18,7
10	44,9
21	11,6

Neben dem PET-Abbau wurde in AP 1.3 und AP 2 auch die Entfärbung von Textilien mithilfe von Enzymen untersucht. Die organischen Farbstoffe Indigo, Indigo Carmine und Reactive Black wurden für diesen Zweck beschafft und gefärbte Musterproben in Form von Fasern und Textilien aus Baumwolle sowie einem PET/Baumwolle-Textil hergestellt und für enzymatische Abbauprobeversuche zur Entfärbung zur Verfügung gestellt.

AP 1.2: Bewertung der verfügbaren zu verwendenden Enzyme

Geeignete PET-Hydrolasen für den PET-Abbau wurden ausgewählt und getestet. Hierfür wurden die Enzyme TfCut2, TfAXE, TfBTA (aus *Thermobifida fusca*) und Thc_Cut1 und Thc_Cut2 (aus *Thermobifida cellulosilytica*) aus einer in-house Hydrolase-Bibliothek der Schwaneberg-Gruppe aufgrund ihrer hohen enzymatischen Aktivität mit *para*-Nitrophenylbutyrat (*p*-NPB) und Impranil als Substrate ausgewählt. FAST-PETase (Enzymvariante von IsPETase aus *Ideonella sakaiensis*) und ICCG (Enzymvariante von LCC aus einem Leaf-branch-compost-Metagenom) wurden nach einer Literaturrecherche aufgrund ihrer berichteten hohen Aktivität ausgewählt. Zusätzlich wurde die hohe Thermostabilität und robuste Lösemittelstabilität von ICCG beschrieben. Der Abbau von 10 µg/mL PET-Pulver (Kristallinität (X_c) > 40 %), PET-Stapelfaser ($X_c \approx 40$ %) und PET-Granulat ($X_c \approx 57$ %) wurde mit diesen Enzymen (500 nM) bei deren Temperaturoptima und 600 rpm für 24 h untersucht. Die freigesetzten, aromatischen Abbauprodukte waren bis(2-hydroxyethyl)terephthalat (BHET), mono(2-hydroxyethyl)terephthalat (MHET) und Terephthalsäure (TPA). Diese wurden zunächst mittels Absorptionssmessung bei 260 nm und dann durch Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) bei 254 nm quantifiziert. ICCG katalysierte in diesem Versuch den höchsten Abbau von PET bei 65 °C, im Einklang mit Literaturdaten, und wurde daher für weiterführende Versuche in Arbeitspaket 2 ausgewählt.

AP 1.3: Untersuchung der Kompatibilität von Enzymen und Additiven

In diesem Arbeitspaket wurden sowohl anorganische als auch organische Additive untersucht. Die anorganischen textilen Additive, die am häufigsten in Textilabfall vorkommen, wurden in einer Studie zusammengefasst, die im Rahmen dieses Projekts durch den Projektpartner ITA durchgeführt wurde (vgl. AP 1.1). Laut dieser Studie werden die meisten Additive in Verarbeitungsschritten während der Herstellung oder in Waschmaschinen beim Konsumenten aus dem Textil gewaschen. Haftende Additive sind vor allem Farbstoffe und Mattierungsmittel. Aus diesem Grund wurden hauptsächlich die Farbstoffe Carbon Black (CB), Dianix Navy S2G (DN) und Terasil Red RBN (TR) und das Mattierungsmittel Titandioxid (TO) untersucht. Andere getestete Additive waren die Spinnpräparationen als Prozesshilfsmittel Limanol V8, Drifi L113, Silastol H207, Convidol NAS5 und Limanol ZC5. Die Additive wurden in Konzentrationen getestet, die laut dem Projektpartner ITA in vergleichbaren Mengen in kommerziellen Textilien vorkommen können. Nach Referenzwerten des Projektpartners ITA wurden Volumenprozent von Titandioxid selektiert, die in der Textilindustrie eingesetzt werden. Zunächst wurden Stocklösungen mit je 1 mg/mL der Farbstoffe angelegt. Aus den Stocklösungen wurden unterschiedliche Volumina entnommen und in einem PET-Abbau Assay dazugegeben, um den Effekt der Additive auf die katalytische Aktivität der getesteten Enzyme zu untersuchen (vgl. Abbildung 4). DR und TO beeinflussten in diesem Versuchsaufbau die enzymatische Aktivität von ICCG, FAST-PETase oder TfCut2 nicht. Höhere eingesetzte Volumina von TR schienen die Aktivität der Enzyme zu verringern, während höhere Volumina von CB die Aktivität

von ICCG reduzierten. Im weiteren Verlauf wurde mit TR und CB nicht weitergearbeitet, sodass die enzymatische Aktivität von ICCG nicht negativ beeinflusst wurde.

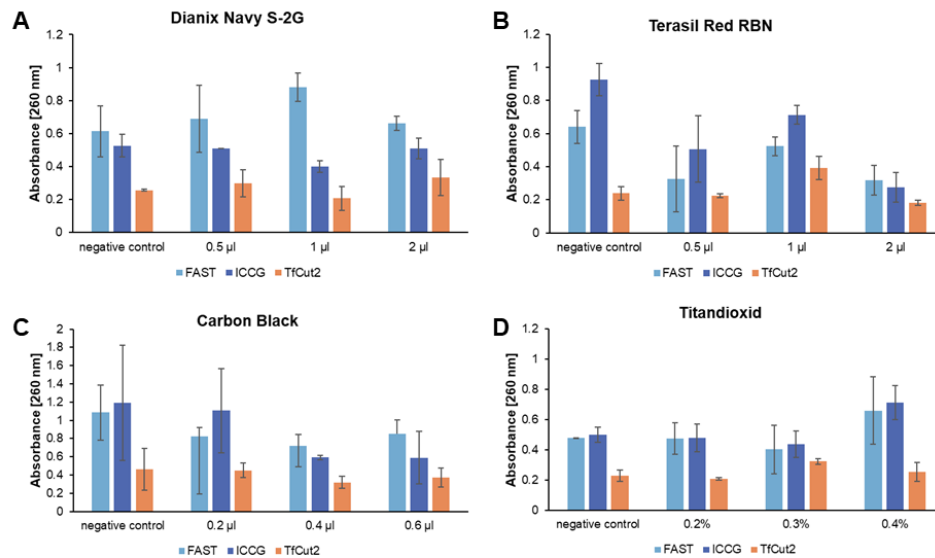


Abbildung 4: Effekt beispielhafter textiler Additive auf den enzymatischen PET-Abbau. Der Effekt von Dianix Navy S2G (A), Terasil Red RBN (B), Carbon Black (C) und Titandioxid (D) auf die enzymatische Aktivität von FAST-PETase (FAST), ICCG und TfCut2 wurde analysiert und mit der Negativkontrolle ohne Enzym verglichen. Die Absorbanz der aromatischen PET-Abbauprodukte BHET, MHET und TPA wurde bei 260 nm gemessen.

Im Vergleich zu anorganischen Additiven können organische Additive enzymatisch abgebaut werden. Deshalb wurden die Farbstoffe Indigo carmine (IC) und Reactive Black (RB) untersucht, die in hohen Mengen im Abwasser der Textilindustrie vorkommen. Ein Versuchsaufbau wurde erstellt, in dem die aufgereinigte Perhydrolase *Candida antarctica* Lipase B (CaLB) eingesetzt wurde. Der Farbstoff RB konnte in diesem Versuchsaufbau nicht abgebaut werden. Allerdings wurde IC (100 µg/mL) in 2 h vollständig zu Isatin-5-sulfonsäure abgebaut, was zu dem Farbverlust führte (vgl. Abbildung 5). Im weiteren Verlauf wurde dieser Versuchsaufbau auf IC-gefärbte Textilien angewandt. Hier wurde statt aufgereinigtem CaLB 5 mg und 10 mg Novozym (Lipase-Acrylharz mit *Candida antarctica*) eingesetzt. Nach 5 min kam es in den Proben, die Novozym enthielten, zu einem Farbverlust (vgl. Abbildung 5). In den Proben ohne Novozym wurde nach 5 min kein IC-Abbau festgestellt.

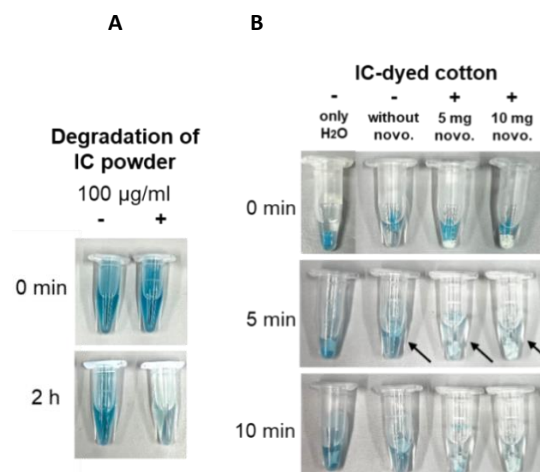


Abbildung 5: Abbau von Indigo carmine (IC)-Pulver und IC in gefärbten Textilien in der Präsenz von CaLB und Novozym. (A) In einem Versuchsaufbau konnte 100 µg/mL IC mithilfe der Perhydrolase CaLB innerhalb von 2 h abgebaut werden (- ohne CaLB, + mit CaLB). (B) In den IC-gefärbten Textilproben, wo 5 und 10 mg Novozym eingesetzt wurden, kam es nach 5 min zu einem Farbverlust. In den beiden Negativkontrollen ohne Enzym kam es innerhalb von 10 min zu keinem IC-Abbau.

AP 2: Enzymatischer Textilabbau

AP 2.1: Prozessentwicklung für den enzymatischen Abbau von synthetischen Polymeren und textiler Hilfs- und Farbstoffe aus Textilgemischen (Biotec)

Authentische Musterproben (Sweatshirt mit 60 % Baumwolle, 40 % Polyester) wurden vom Projektpartner ITA mit Indigo carmine (IC) und Reactive Black (RB) gefärbt. Die IC-gefärbten Textilien wurden nach der Färbung 1x (IC 1x) und 2x (IC 2x) in Wasser gewaschen. Die Textilien wurden in dem in AP 1.2 besprochenen Assay eingesetzt, um die Farbstoffe abzubauen. Das IC konnte aus den Proben IC 1x nach 120 min und aus IC 2x nach 10 min in Anwesenheit von Novozym entfernt werden (vgl. Abbildung 6). Reactive Black konnte unter diesen Bedingungen nicht abgebaut werden. Nach 24 h wurde das IC auch in den Proben ohne Novozym verlangsamt abgebaut. Dieses Experiment wurde in Duplikaten durchgeführt.

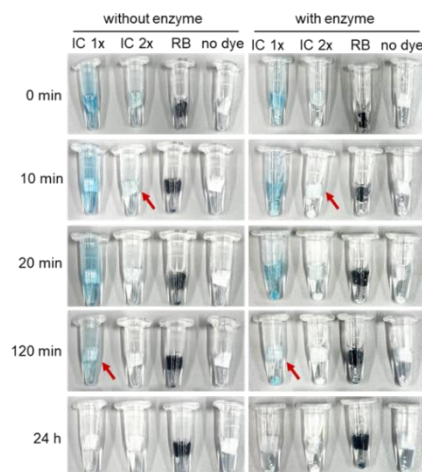


Abbildung 6: Farbstoffabbau aus authentischen Musterproben. Textilien wurden mit Indigo carmine (IC) und Reactive Black (RB) gefärbt. Nach dem Färbeprozess wurden die IC-gefärbten Textilien 1x (IC 1x) und 2x (IC 2x) gewaschen. Das IC konnte aus IC 1x nach 120 min und IC 2x nach 10 min in der Präsenz von Novozym abgebaut werden. RB konnte unter den getesteten Bedingungen nicht entfernt werden.

Nach der Entfärbung wurde ein Duplikat für 30 s in Wasser gewaschen, bevor es in einem PET-Abbau-Assay eingesetzt wurde. Das andere Duplikat wurde ungewaschen direkt dafür eingesetzt. Der PET-Abbau wurde durch HPLC quantifiziert (vgl. Abbildung 7). Es konnte in ungewaschenen Proben mit Enzym und Proben ohne Enzym kein PET-Abbau festgestellt werden. MHET wurde nur in den gewaschenen Proben mit ICCG per HPLC detektiert. Die geringe Menge an MHET liegt vermutlich u. a. an der hohen Kristallinität (X_c) des PET im Textil. Die Kristallinität konnte wegen des Baumwollgehalts in den Proben nicht gemessen werden. Die Zusammensetzung der Additive im kommerziell erworbenen Textil ist ebenfalls ungewiss, weshalb ICCG dadurch gehemmt sein könnte. In vorherigen Versuchen und aus Literaturdaten konnte die hohe katalytische Aktivität von ICCG und Hydrolyse von PET festgestellt werden. Die Vorbehandlung von PET scheint ein kritischer Schritt für die effiziente enzymatische Hydrolyse von PET zu sein. Der Meilenstein dieses AP konnte erfolgreich erreicht und abgeschlossen werden, da ein PET-Abbau katalysiert durch ICCG festgestellt wurde und IC aus authentischen Musterproben entfernt werden konnte. Die Textilproben wurden nach dem Farbstoff- und PET-Abbau an das ITA zur weiteren Analyse in AP 5 übergeben.

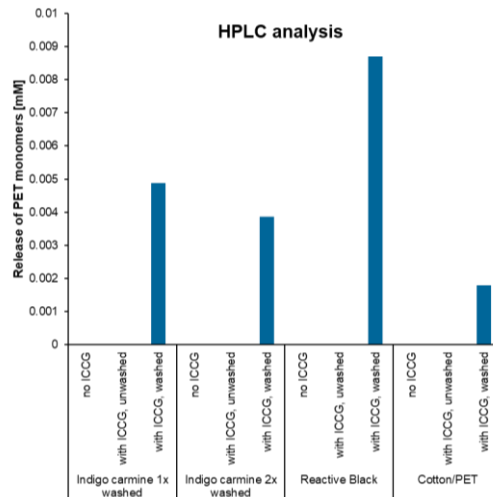


Abbildung 7: PET-Abbau aus authentischen Musterproben. Die Textilien wurden nach dem Farbstoff-Abbau Assay entweder 30 s in Wasser gereinigt (washed) oder direkt benutzt (unwashed) und für den PET-Abbau Assay eingesetzt. Das freigesetzte Abbauprodukt MHET wurde per HPLC quantifiziert. MHET wurde in sehr geringen Mengen in den Proben, die nach dem Farbstoff-Abbau Assay gewaschen wurden und wo ICCG vorhanden war, detektiert.

AP 2.2: Hochskalierung der Textilabbauprozesse (Biotec)

In einem Bioreaktor (Applikon Bioreactor Cell System 500 mL) wurde zunächst PET-Folie (amorph) mit ICCG gemäß dem beschriebenen PET-Abbau-Prozess abgebaut. Es wurden insgesamt 93.6 mM Abbauprodukte innerhalb von 8 Tagen freigesetzt, davon 48.2 mM TPA. Das Hydrolysat wurde an den Projektpartner iAMB übergeben.

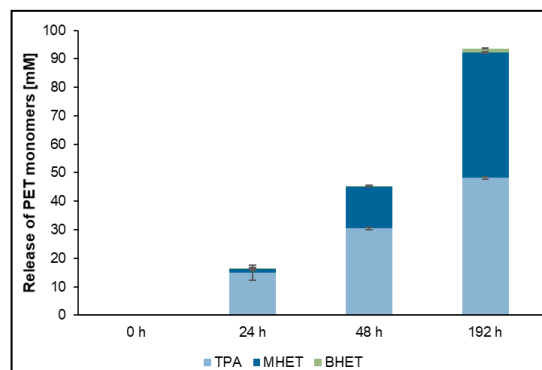


Abbildung 8: PET-Abbau durch ICCG im 500 mL Bioreaktor. Nach 192 h (8 Tage) konnten 48.2 mM TPA, 44.0 mM MHET und 1.4 mM BHET im Hydrolysat per HPLC-Analyse detektiert werden.

Die Reaktionsbedingungen des PET-Abbaus wurden nach Absprache mit dem Projektpartner iAMB hinsichtlich der Natriumphosphat-Pufferkonzentration und des pH-Werts so angepasst, dass sie für Reaktionen beider Partner geeignet sind. Dann wurde der PET-Abbau in einem Reaktionsvolumen von 10 L von ICCG katalysiert und insgesamt dreimal durchgeführt: (1) mit PET-Stapelfasern ($X_c \approx 40\%$) für 14 Tage, (2) mit amorphisiertem, gemahlenem PET aus einem am ITA hergestellten PET-Gewebe ($X_c \approx 7\%$) und (3) mit amorphisiertem, gemahlenem PET aus einem Post-Consumer-PET-Textil ($X_c \approx 29\%$). PET-Stapelfasern (Versuch 1) ließen sich vermutlich wegen der hohen X_c enzymatisch nicht ausreichend abbauen. Das entsprechende HPLC-Chromatogramm zeigte Peaks der Abbauprodukte, jedoch lagen sie unterhalb des Detektionslimits der vorher etablierten Standardkurven. Die hohe X_c der Fasern ist vermutlich der Grund für den geringen Abbau. Deshalb, und aus gewonnenen Erkenntnissen von AP 2.1, wurde das PET im weiteren Verlauf des Projekts durch das ITA vorbehandelt, um die X_c zu verringern. Das amorphisierte, gemahlene PET (Versuch 2: 200 g; Versuch 3: 250 g)

aus Textilien wurde für die 10 L-Versuche (2 & 3) als Substrat verwendet. In Versuch 2 konnte nach 21 Tagen eine hohe Konzentration TPA über die HPLC detektiert werden. Das Hydrolysat wurde an den Projektpartner iAMB und das verbliebene, nicht-abgebaute PET an den Projektpartner ITA übergeben. Versuch 3 wurde mit denselben Reaktionsbedingungen durchgeführt wie Versuch 2. Nach 21 Tagen wurde eine geringere Konzentration TPA Vergleich zu Versuch 2 detektiert. Dieser geringe Wert liegt vermutlich an der erhöhten Kristallinität des PET der Textilprobe.

Zusammenfassend wird geschlussfolgert, dass eine gleichzeitige enzymatische Entfärbung der Textilien (unter Bildung von H₂O₂ und Peressigsäure als stark oxidierende und sicherheitstechnisch kritische Spezies) und der PET-Abbau im selben Reaktor unter den gewählten Bedingungen nicht möglich war. Es wurde jedoch gezeigt, dass der Abbau von IC durch den Einsatz von Perhydrolasen deutlich beschleunigt werden konnte. Der enzymatische Abbau von hochkristallinem PET aus Textilien zeigte unter den getesteten Bedingungen nur eine geringe Umsatzrate. Der PET-Abbau konnte effizient durch ICCG katalysiert werden als die Xc von PET in einem Vorbehandlungsschritt herabgesetzt wurde, sodass ein enzymatischer Recyclingweg für textilbasiertes PET grundsätzlich realisierbar ist.

AP 3: Synthese neuer Textilgrundstoffe aus Faser-Hydrolysaten

AP 3.1: Etablierung der Produktion von Biotensiden, PHAs und Fettsäureestern aus Faser-Hydrolysaten (iAMB)

Entsprechend der originalen Projektplanung wurde im ersten Projektjahr der Fokus neben der Synthese von PHA auf Biotenside und Fettsäureester aus Faserhydrolysaten gelegt. Entsprechend wurden Pseudomonadenstämme ihres versatilen Substrat- bzw. Produktspektrums getestet, wobei vor allem *Pseudomonas putida* KT2440 und *Ps. capeferrum* Varianten optimiert wurden. Kriterien waren hier vor allem deren Fähigkeit, Plastikmonomere (z.B. Terephthalsäure (TPA), Ethylenglykol (EG), Adipinsäure (AdA), 1,4-Butandiol (BDO)), die nach erfolgreicher enzymatischer Hydrolyse von Plastikpolymeren wie PET, PUR bzw. PBAT freigesetzt werden, aufgrund ihrer t.w. Toxizität zu tolerieren und vor allem zu verstoffwechseln, wobei neben Biomasse auch die oben genannten interessanten Produkte für eine zirkuläre biobasierte Textilindustrie hergestellt werden sollten. Eine detaillierte Diskussion mit dem Projektpartner ITA führte im ersten Projektjahr zu einer punktgenauen Spezifizierung, bzw. Verkleinerung des Produktspektrums. In Reaktion auf die Ergebnisse aus AP 1, eigener Studien und publizierter Ergebnisse (bspw. Prieto et al. 2016; DOI: 10.1111/1462-2920.12760) wurde beschlossen sich ausschließlich auf die Produktion kurzkettiger PHA (PHB/Copolymere) zu fokussieren, da Polymere ab mittlerer Länge (mclPHA), die nativ von Pseudomonaden produziert werden, zunehmend ungeeignet für Spinnversuche sind. Entsprechend wurde zunächst vor allem mit dem Stamm *Cupriavidus necator* H16 gearbeitet, da er nativ hocheffizient das kurzkettige Speicherpolymer Polyhydroxybuttersäure (PHB) herstellen kann und womit in Absprache weitere Arbeiten an Pseudomonaden pausiert wurden.

Nach ersten Tests wurde nachgewiesen, dass *C. necator* H16 nativ nur AdA nach ALE-Adaptation umsetzen kann. Ein über mehrere Generationen adaptierter Stamm wurde des Weiteren mit dem Operon (*tph*) von *Pseudomonas umsogensis* GO16 (Tiso et al. 2021; DOI: 10.1016/j.ymben.2021.03.011), welches den kompletten TPA-Abbau kodiert, Plasmid-basiert (pPS-tph) mittels Konjugation transformiert. Der Stamm mit dem Namen *C. necator* H16 pPS-tph demonstrierte in Selektivmedium (Kanamycin 400 mg/L) mit 30mM TPA und AdA sein Potential PHB (50% bzw. 60% cdw) zu produzieren. Des Weiteren wurden Mischkulturen von *C. necator* H16 mit *Paracoccus pantotrophus* DSM 2944 untersucht, um weitere Monomere (wie EG und 1,4-BDO) umzusetzen und damit sowohl die Kultivierungsdauer zu verkürzen als auch das Volumen zu minimieren. Außerdem gelten Mischkulturen gegenüber toxischen Stoffen, die unter anderem in Hydrolysaten aus bspw. Bioziden-Plastikadditiven oder Farbstoffen vorkommen, als robuster. Die Mischkultur zeigte den simultanen Abbau aller Monomere (vgl. Abbildung 9). Allerdings konnte in den Mischkulturen kein Selektivantibiotikum (Kan) zugesetzt werden, was zeitabhängig zu Plasmidverlusten und damit zu einem Verlust der TPA-Abbau-Fähigkeit führte (vgl. Abbildung 10). Um dieses Problem zu lösen, wurde die Optimierung eines stabilen Produktionsstammes *C.*

necator H16 pPS_tpho für die native Synthese des Speicherpolymers PHB aus den PET-Monomeren TPA, EG sowie AdA priorisiert.

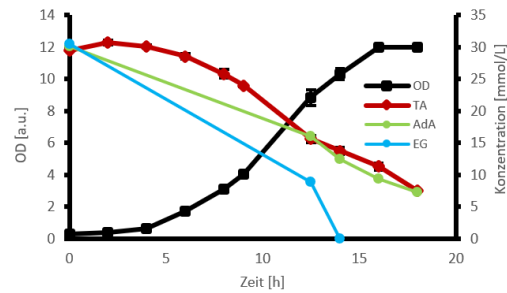


Abbildung 9: Mischkultur von *C. necator* H16 ALE AdA pPS-tph und *P. pantotrophus* DSM 2944 (EG) auf textilen Monomeren (TA, AdA, EG). Substratanfangskonzentration je 30 mM. Kultivierung: 30 °C, 200 rpm (50-mm-Orbital). Fehlerbalken Standardabweichung unabhängiger Duplikate.

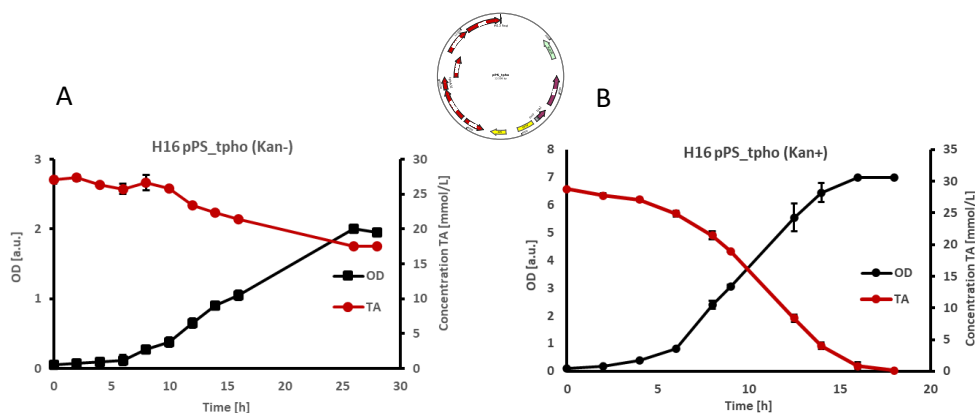


Abbildung 10: Kultivierung *C. necator* H16 pPS_tpho auf dem PET-Monomer TPA. [A] *C. necator* H16 pPS_tpho ohne Kanamycin; $\mu = 0,29 \text{ h}^{-1}$ [B] *C. necator* H16 pPS_tpho mit Kanamycin (400 mg/L) auf 30 mM TPA; $\mu = 0,54 \text{ h}^{-1}$. Bedingungen: 30 °C, 200 rpm (50 mm Schüttlerorbit).

Die Nutzung der plasmidbasierten Expression (Plasmid pPS) des Operons (*tpho*) von *P. umsogensis* GO16, welches den TPA-Abbau katalysiert, zeigte anfangs gute Ergebnisse; allerdings war die Anwesenheit von Kanamycin als selektivem Antibiotikum essentiell für die Aktivität, da leider selbst die alleinige Anwesenheit von TPA als Wachstumssubstrat als Selektionsdruck zum Behalt des Plasmides unzureichend war. Um das Dilemma des Plasmidverlustes in Abwesenheit von Kanamycin zu lösen, wird die Genomintegration des *tpho*-Operons etabliert.

Als Integrationslocus im Genom von *C. necator* H16 wurde das Gen *nagR* gewählt, da dieser Regulator (Repressor) verantwortlich für die Hemmung der Aufnahme und Nutzung von Glukose ist. Durch den Austausch des Repressors mit *tpho* wurden 2 Probleme gelöst: 1) Genomintegration des Operons für den TPA-Abbau und 2) Befähigung von *C. necator* H16 zur Nutzung von Glukose als Substrat. Hierdurch können bei zukünftig erfolgreicher Etablierung von Vorbehandlungen von Polyester-Baumwolle-Mischtextilien (Polycotton) (wie dies auch für reine Polyesterfasern erforderlich war, zur Senkung des Kristallisationsgrads der Polyesterfasern), durch den kombinierten Einsatz von PETasen (AP1/2) und Zellulasen (z.B. Flashzyme Plus 200, AB Enzymes) in den Prozess integriert werden. Hierdurch würde Glukose Monozucker freigesetzt die entsprechend verwertet werden könnten. Weiterhin wird durch diese Strategie der kostenintensive Zusatz des Selektivantibiotikums Kanamycin (400mg/L) überflüssig womit sich zusätzlich der *metabolic burden* für die Produktionsstämme verringert und höhere Wachstumsraten und PHB-Produktion zu erwarten sind. Um die genomische Integration des *tph*-Operons in *C. necator* H16 zu realisieren, wurde nach umfangreichen Versuchen ein spezieller Stamm mit Deletionen im Restriktions-Modifikations-System (*C. necator* H16 Δ RM [Δ E6A55_RS00030 Δ E6A55_RS00035 Δ E6A55_RS00040 Δ E6A55_RS00045]) verwendet, der erfolgreich modifiziert und durch Elektroporation als

Transformationsmethode zugänglich war (Vajente et al. 2024; DOI: <https://doi.org/10.1021/acssynbio.4c00380>) und auf die Nutzung von AdA durch ALE präpariert wurde. Das *tph*-Operon war identisch mit dem im plasmidbasierten System, und Sequenzierungen bewiesen, dass es in Chromosom 1 integriert ist, wo es das Gen *H16_A0310* (Transkriptionsregulator der GntR-Familie) ersetzt. Dieses Gen ist für die Regulierung des N-Acetylglucosamin-Transporters verantwortlich, sodass die Deletion den Transporter unspezifisch macht. Auf diese Weise wurde *C. necator* H16 Δ RM *attA0310::tph* befähigt, auch Glukose als Kohlenstoffquelle zu nutzen. Vergleiche zur Verringerung der oben beschriebenen Effekte des *metabolic burden* für den Produktionsstamm konnten in ersten Versuchen in einer leicht erhöhten Wachstumsrate des genomintegrierten Stammes ($\mu=0,65\text{h}^{-1}$ anstatt $0,62\text{h}^{-1}$) bei vergleichbarer TPA-Abbauaktivität gezeigt werden. Dieser Stamm wurde entsprechend in AP3.2 zur PHB-Produktion in den letzten Fermentationen verwendet.

Abschließend sollte in AP3.1 noch der Versuch unternommen werden, auch die Nutzung des bisher ungenutzten Monomers EG in *C. necator* H16 Δ RM *attA0310::tph* zu etablieren. Dies wurde erst durch die Nutzung der ALE-Methode versucht, was in anderen Stämmen wie *P. putida* KT2440 und *Paracoccus pantothrophus* erfolgreich war. Da jedoch nach 21 Tagen Versuchsdauer mit 30 mM EG kein Abbau auch nur geringster Mengen nachweisbar war, wurde eine differenziertere Strategie angewendet. Wie kürzlich für *Paracoccus denitrificans* durch Ren et al. (2025; DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-025-61056-x>) beschrieben wurde getestet, ob *C. necator* H16 Δ RM *attA0310::tph* in Anwesenheit von 10mM Glykolat wachsen kann, um nachzuweisen, dass der Organismus den ersten Stoffwechselweg von Glykolat zu Pyruvat aktiv besitzt, was der Fall ist. Da für den weiteren Abbau unspezifische Dehydrogenasen notwendig sind, wurden entsprechende NAD-abhängige Kandidaten aus dem Genom ausgewählt und in drei verschiedene Genom-loci von *C. necator* kloniert. Die folgenden drei Stämme mit integriertem EG-operon aus *Paracoccus denitrificans* DSM65 wurden generiert, wobei *Cupriavidus*-Genom-loci von Laktat- (Δ H16-A0666), Acetoin-Dehydrogenase (Δ H16_B0144-0146) bzw. NO-Reduktase (Δ H16_B2325-2323) für die Integration verwendet wurden. Trotz entsprechender Bestätigung der jeweiligen EG-Operonintegration durch PCRs und anschließende Sequenzierung der Amplikons zeigte keiner der generierten *C. necator* Stämme Wachstum auf EG bzw. EG + TPA in äquimolaren Konzentrationen. Auch beim Wachstum auf TPA konnte keine Abnahme von EG in HPLC-Analysen nachgewiesen werden.

AP 3.2: Hochskalierung der Produkthanreicherungsprozesse (iAMB)

Eine Medienoptimierung mit dem Ziel einer effizienten PHB-Produktion aus Plastikmonomeren wurde durchgeführt, die einen Kompromiss aus optimalen Wachstumsbedingungen für den Produktionsstamm und den zur Verfügung gestellten Hydrolysaten darstellt. Hier spielte neben anfangs hohen pH-Werten/Salz- und Phosphatkonzentrationen aus der enzymatischen Hydrolyse auch der Gehalt an Metaboliten der unvollständigen Hydrolyse von PET wie Mono-(2-hydroxyethyl)-terephthalsäure bzw. Bis-(2-hydroxyethyl)-terephthalsäure (MHET, BHET) eine Rolle. Vorhersehbare Fluktuationen in den Substratkonzentrationen, dem Gehalt an nicht verstoffwechselten Textiladditiven und dem Polyester-Restfasergehalt, wären weitere Faktoren, die die Architektur der verwendeten Reaktoren zur PHB/Biomasseproduktion beeinflussen. Viele Herausforderungen, die erst bei entsprechend relevanten Volumina an zur Verfügung gestellten Hydrolysaten angegangen werden konnten. Kleinere Vorversuche bis zu 0.5L-Volumina waren erfolgreich, allerdings waren die TPA-Konzentration sehr gering, womit nur geringe Umsätze von TPA aus Alttextilien realisiert werden konnten. Entsprechend wurde auch aus bioprozesstechnischen Erwägungen (pH-Kontrolle, Fed-Batch mit TPA zur PHB-Anreicherung im Anschluss an Batch-[Wachstums]phase) mit TPA-Reinstsubstanz aus dem Chemiehandel nachdotiert um entsprechende PHB-Konzentrationen zu generieren. Erfolgversprechende Ansätze einer die Kristallinität senkenden Vorbehandlung der Polyesterfasern durch das ITA hat hier Abhilfe geschaffen und ermöglichte t.w. höhere enzymatische Umsatzraten (Aktivitäten), die jedoch noch immer die Nutzung von zusätzlichem kommerziellen TPA verlangten, um relevante Mengen PHB zu generieren. Weiterer Schwerpunkt war die Etablierung eines SOP zur effizienten, chloroformfreien, nachhaltigeren Extraktion von PHB aus der gewonnenen Biomasse sowie ein weiteres zur analytischen Erfassung der PHB-Molekülzusammensetzung. Für Erstere wurde nach Alhafiz et al. (2025; DOI: [10.1016/bs.mie.2025.01.017](https://doi.org/10.1016/bs.mie.2025.01.017)) mit dem wassermischbaren Lösungsmittel 1,3-

Dioxolan. Dies ermöglicht höhere Molekulargewichte des extrahierten PHB, die wiederum entscheidend für dessen Weiterverwendung in Spinnversuchen sein werden. Extrahierte PHB-Proben aus einem geplanten *proof-of-concept* Demoversuch des Gesamtzyklus aus Alttextilien wurden rund 42 g PHB hergestellt und zur Analyse mit FTIR bei Partner ITA im Vergleich mit kommerziellen PHB untersucht. Das Material wurde als soweit geeignet für anschließende Spinnversuche eingestuft, wobei allerdings nur die minimalen Anforderungen zur Produktion eines Demonstrators erfüllt wurden. In Abbildung 11 ist beispielhaft eine Fed-Batch-Fermentation dargestellt, die mit TPA-Konzentration unter 15 g/L arbeitet die toxische Effekte auf die Zellen von *C. necator* haben.

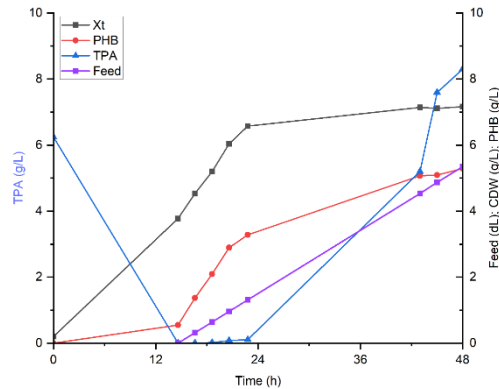


Abbildung 11: PHB-Produktion aus TPA in *Cupriavidus necator* H16 Δ RM attA0310::tph in einem Fed-Batch Bioreaktor. Zeitprofile der Gesamtbiomassekonzentration (X_t), Poly(3-hydroxybutyrat) (PHB), Terephthalsäure (TPA) und kumulativer Substratzugabe während Fed-Batch-Kultivierung. 2-l-BioFlo-120-Reaktor mit Arbeitsvolumen von 1,1 L bei 30 °C, pH 7,0, 1 vvm Belüftung, 40 % gelöstem Sauerstoff kontrolliert via Rührkaskade. Initiale Batch-Phase enthielt $\sim 6 \text{ g L}^{-1}$ TPA, gefolgt von Fed-Batch mit 66 g L^{-1} TPA-Lösung bei $15,8 \text{ mL h}^{-1}$ ab 14,5 h im. Biomasse akkumulierte während Batch-Phase, und die PHB-Bildung begann kurz nach Beginn Fed-Batch. Höchster PHB-gehalt nach 48 Stunden mit 74 % PHB (w/w Trockenbiomasse) und einer Substrat-zu-PHB-Ausbeute von $0,32 \text{ g g}^{-1}$ auf Basis des zugeführten TPA. Nach 48 Stunden führte Fed-Batch zu hohem Rest-TPA-Gehalt ($14,5 \text{ g L}^{-1}$), ohne dass der PHB-Gehalt weiter anstieg – Raum für Optimierung!

AP 4: Synthese im Gramm- bis Kilogrammmaßstab (ITA)

In AP 4 sollten laut Projektplan aus den Produkten der Biosynthese in AP 3 textil verarbeitbare Polymere erstellt und analysiert werden. In der Biosynthese in AP 3 wurde PHB in Form von Oligomeren und Polymeren hergestellt. Der Polymerisationsgrad des Produkts ist stark abhängig von den Verarbeitungsbedingungen während der Synthese als auch von der Extraktionsmethodik des PHB aus den Zellen. Um die Vergleichbarkeit mit kommerziell erhältlichem PHB zu gewährleisten, wurden kommerzielle PHB als Referenz beschafft und mittels FTIR, TGA, DSC und GPC analysiert. Im FTIR zeigte sich eine gute Übereinstimmung der FTIR-Absorption von kommerziellen und am iAMB hergestellten PHB (vgl. Abbildung 12).

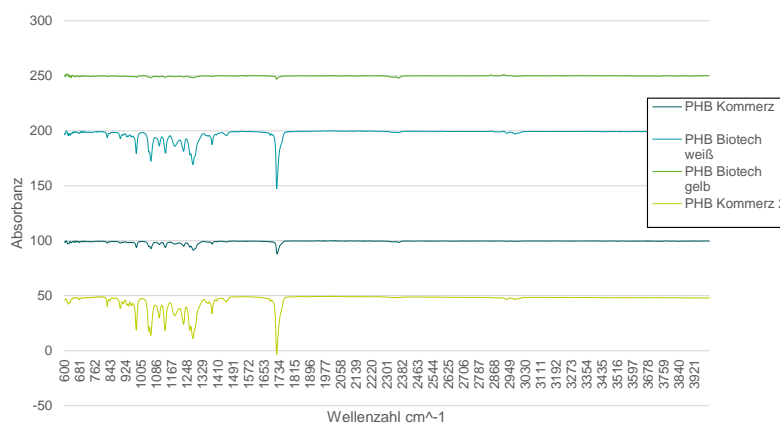


Abbildung 12: FTIR-Spektren von kommerziellen und am iAMB hergestellten PHB im Vergleich

In der GPC war ersichtlich, dass das am iAMB hergestellte PHB insgesamt kürzere Polymerketten aufweist als das kommerzielle PHB (vgl. Abbildung 13). Gemessen wurde in Chloroform-Lösung und die, von der Molekularkettenlänge abhängige, Retentionszeit auf der Säule wurde mittels Brechungsindex und UV-Absorption bestimmt. Es fällt auf, dass das PHB vom iAMB nur etwa die Hälfte der Wiederholungseinheiten (Mn) und damit des Molekulargewichts (Mw) des kommerziellen PHB ausweist. Zudem ist die Molekulargewichtsverteilung (Polydispersität, D) wesentlich größer.

Tabelle 6: GPC-Messung von kommerziellem und beim iAMB hergestellten PHB

	PHB Kommerz:		PHB iAMB	
Name:	Detektor 1 RI	Detektor 3 UV 254 nm	Detektor 1 RI	Detektor 3 UV 254 nm
Mn [Da]:	30.000	8.030	13.500	4.620
Mw [Da]:	245.000	115.000	175.000	5.740
Mz [Da]:	1.170.000	963.000	1.150.000	7.040

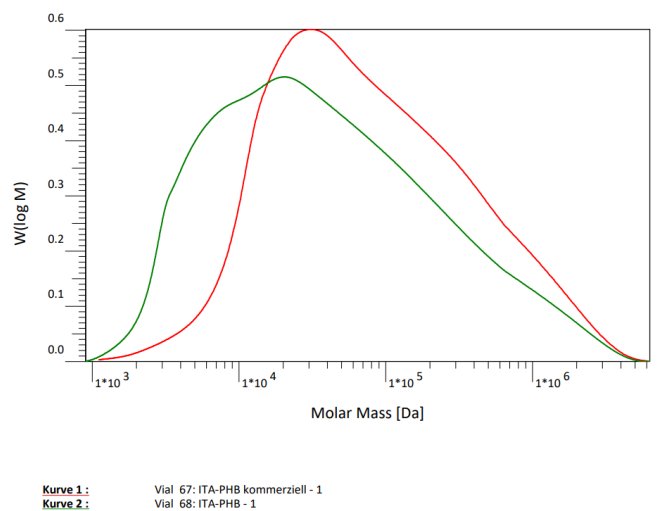


Abbildung 13: GPC-Messung von kommerziellem und am iAMB hergestellten PHB im Vergleich

In den TGA-Messungen zeigte sich sowohl bei dem kommerziellen als auch bei dem vom iAMB hergestellten PHB nur eine Temperatur, bei der der Gewichtsverlust eintritt, was für die Reinheit des Materials spricht. In den DSC-Messungen stimmte der Schmelzpunkt überein. Es war jedoch eine Verbreiterung des Schmelzpunktes zu erkennen, was z.B. durch den höheren PDI verursacht werden kann.

Da sich reines PHB sowie mit Additiven compoundiertes PHB im Rahmen der Spinnprozessentwicklung in AP 5 nicht erfolgreich verspinnen ließen, wurde das Blenden von PHB mit dem Biopolymer PLA als Lösungsansatz untersucht. Im Anschluss an erfolgreiche Blend- und Spinnversuche mit PHB und PLA im Labormaßstab (vgl. AP 5) wurden daher kommerzielles PHB-Pulver (Reinheit > 98 %) der Firma Biomer, Schwalbach und ein zum Schmelzspinnen geeignetes PLA-Granulat (Luminy L130 der Firma Total Corbion PLA, Gorinchem, Niederlande) an einem Doppelschneckenextruder im Pilotmaßstab zu Blends unterschiedlicher Zusammensetzungen verarbeitet, welche jeweils als Schmelzestrang extrudiert, in einem Wasserbad erstarrt und anschließend granuliert wurden. Die Zusammensetzungen der entwickelten Blends wurden anschließend mittels TGA analysiert. Die Ergebnisse zeigten resultierende PHB-Anteile zwischen 10 und 60 %. Mit den hergestellten Blend-Granulaten wurden anschließend Schmelzspinnversuche im Pilotmaßstab durchgeführt (siehe AP 5).

AP 5: Spinnprozessentwicklung im Pilotmaßstab (ITA)

Da die im Rahmen des Projekts produzierbaren PHB-Mengen beim Projektpartner iAMB begrenzt waren, wurden die Entwicklungen bezüglich des Schmelzspinnprozesses zunächst mit kommerziell erhältlichen PHB-Produkten durchgeführt. Ziel war es die entwickelten Prozesse anschließend auf das am iAMB hergestellte PHB aus dem biotechnologischen Recycling zu übertragen.

Kommerzielles PHB in Reinform:

Es wurde ein kommerziell erhältliches PHB in Pulverform (Reinheit > 98 %) der Firma Biomer, Schwalbach beschafft und erste Schmelzspinnversuche mithilfe eines Doppelschneckenextruders im Labormaßstab durchgeführt, in Abbildung 14 ist der entsprechende Versuchsaufbau für alle nachfolgend beschriebenen Schmelzspinnversuche im Labormaßstab dargestellt. Dabei wird das Polymer im Extruder aufgeschmolzen, anschließend durch eine Düse zu Mono- oder Multifilamenten geformt, nach dem Erstarren über eine Abzugsgalette geführt und anschließend mithilfe des Wicklers aufgewickelt.

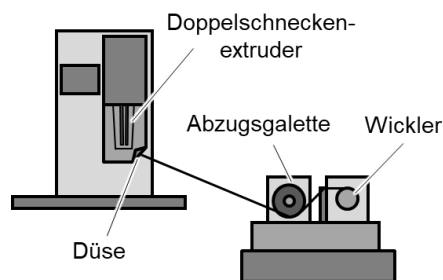


Abbildung 14: Versuchsaufbau des Doppelschneckenextruders im Labormaßstab

Im Rahmen der Versuche wurde eine grundsätzliche Filamentbildungsfähigkeit des PHB-Polymers beobachtet. Die Filamente waren zunächst jedoch sehr klebrig, sodass sie beim Wickeln aneinanderhafteten und anschließend nicht mehr einzeln abgewickelt werden konnten. Diese Klebrigkeit ist vermutlich auf hohe amorphe Anteile im Polymer aufgrund einer langsam voranschreitenden Kristallisation zurückzuführen. Darüber hinaus wurden die Filamente im Anschluss an den Spinnprozess innerhalb weniger Stunden sehr spröde, da PHB in großen Sphärolith-Strukturen nachkristallisiert. Aufgrund dieser Herausforderungen wurden im weiteren Verlauf des Projekts die Additivierung und das Blenden mit alternativen Biopolymeren als Ansätze zur Verbesserung der Schmelzspinnbarkeit von PHB betrachtet.

Kommerzieller PHB-Compound:

Ein kommerziell erhältlicher PHB-Compound in Granulatform der Firma Biomer, Schwalbach mit der Produktbezeichnung P209E wurde beschafft. Dem PHB wurden laut Hersteller der Weichmacher Tributylcitrat (TBC) sowie das Nukleierungsmittel Bornitrid (BN) als Additive zugesetzt, um die Verarbeitbarkeit des Polymers zu verbessern und den Kristallisationsprozess zu beschleunigen. Dadurch sollte die ungewollte Bildung großer Sphärolithstrukturen verhindert und die Sprödigkeit der resultierenden Filamente verringert werden. Mit dem PHB-Compound wurden ebenfalls Schmelzspinnversuche im Labormaßstab durchgeführt (vgl. Abbildung 14). Im Vergleich zum reinen PHB wurde eine Verringerung der Klebrigkeit und Sprödigkeit beobachtet. Die Filamente waren jedoch nur bei sehr geringen Abzugsgeschwindigkeiten von bis zu 20 m/min nicht klebrig, sodass sie im Anschluss wieder problemlos einzeln abgewickelt werden konnten. Darüber hinaus wurde der Prozess mit steigenden Geschwindigkeiten instabiler, sodass vermehrt Fadenbrüche auftraten. Die gesponnenen Filamente wurden in die textile Flächenherstellung für erste Strickversuche in AP 6 gegeben.

PHB/PLA-Blends mit kommerziellem PHB:

Kommerzielles PHB-Pulver (Reinheit > 98 %) der Firma Biomer, Schwalbach wurde mit einem zum Schmelzspinnen geeigneten PLA-Granulat (Luminy L130 der Firma Total Corbion PLA, Gorinchem, Niederlande) an einem Doppelschneckenextruder im Labormaßstab (vgl. Abbildung 14) in unterschiedlichen Verhältnissen

geblendet (Mischzeit 1 min) und anschließend direkt extrudiert. Für eine präzisere Dosierung des Pulvers hat sich eine vorherige Agglomerierung als vorteilhaft erwiesen. Im Vergleich zu den Versuchen mit reinem PHB und dem additvierten PHB-Compound wurde eine Verringerung der Klebrigkeit und Sprödigkeit beobachtet. Es konnten Mono- und Multifilamente mit PHB-Anteilen von 20-50 % hergestellt werden.

Aufgrund der vielversprechenden Ergebnisse wurde der Lösungsansatz des Blendens mit PLA im Rahmen von Blend- und Spinnversuchen im Pilotmaßstab weiterverfolgt. Die in AP 4 entwickelten PHB/PLA-Blends in Granulatform wurden an einer Schmelzspinnanlage im Pilotmaßstab zu Multifilamentgarnen mit 30 Einzelfilamenten versponnen (vgl. Abbildung 15).

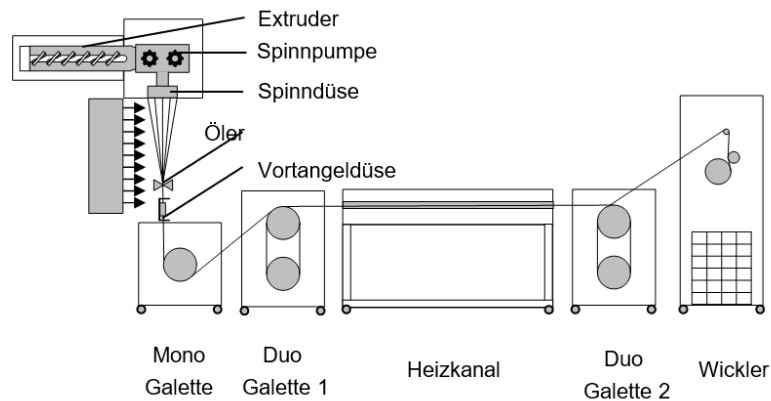


Abbildung 15: Versuchsaufbau der Schmelzspinnanlage im Pilotmaßstab

Die Temperaturen im Extruder und Spinnkopf betragen zwischen 185-200 °C. Es wurden drei verschiedene Verstreckgrade getestet (einfach, zweifach, dreifach) und Wickelgeschwindigkeiten von bis zu 210 m/min realisiert. Reines PLA (virgin und regranuliert), sowie die PHB/PLA-Blends der Verhältnisse 10/90, 25/75 und 45/55 ließen sich erfolgreich verspinnen. Der Blend mit 45/55-Verhältnis war bei einfacher und zweifacher Verstreckung spinnbar, eine dreifache Verstreckung war nicht möglich. Blends mit höheren PHB-Anteilen waren nicht in einem stabilen Prozess verspinnbar.

Die resultierenden Multifilamentgarne wurden im Hinblick auf die Garneigenschaften Feinheit, Festigkeit und Dehnung analysiert. Mit den Blendmaterialien konnten typische Garnfeinheiten für den Einsatz im Bekleidungsbereich, z.B. 167 dtex, realisiert werden. Darüber hinaus wurden mit steigendem Verstreckgrad höhere Festigkeiten und niedrigere Dehnungen der Garne beobachtet. Das Garn mit dem höchsten PHB-Anteil von 45 % zeigte bei zweifacher Verstreckung eine Festigkeit von 15,5 cN/tex sowie eine Dehnung bei Höchstzugkraft von 19 % auf. Im Vergleich der mechanischen Kennwerte zu einem kommerziell erhältlichen PHA/PLA-Garn der Firma PhaBuilder, Beijing, China mit 8,7 cN/tex ist ersichtlich, dass mit den im Projekt entwickelten Garnen teilweise höhere Festigkeiten erzielt wurden. Die entwickelten Multifilamentgarne wurden im weiteren Projektverlauf für Strickversuche in AP 6 verwendet.

PHB/PLA-Blends mit PHB aus dem biotechnologischen Recycling:

Das am iAMB hergestellte PHB wurde auf Basis der vorherigen Versuchsreihen ebenfalls mit PLA (Luminy L130 der Firma Total Corbion PLA, Gorinchem, Niederlande) an einem Doppelschneckenextruder im Labormaßstab (vgl. Abbildung 14) verarbeitet. Dazu wurden Blends mit PHB-Anteilen zwischen 20-40 % hergestellt (1 min Mischzeit im Extruder) und anschließend durch eine Multifilamentdüse mit 4 Kapillaren ausgesponnen. Dabei war eine erfolgreiche Filamentbildungsfähigkeit der Blends zu beobachten. In Abbildung 16 ist das resultierende Filament mit 40 % PHB-Anteil dargestellt. Bei geringen Kapillardurchmessern traten jedoch vereinzelt Verstopfungen der Düsenlöcher auf, was einen Hinweis auf verbliebene Feststoffpartikel im PHB-Material darstellte. Für eine zuverlässige und reproduzierbare Verarbeitung im Schmelzspinnprozess ist aus diesem Grund

eine weitergehende Aufreinigung des PHB erforderlich. Daher und aufgrund nicht ausreichender Materialmengen wurden im Rahmen des Projekts keine Schmelzspinnversuche im Pilotmaßstab mit am iAMB hergestelltem PHB durchgeführt. Es wird jedoch davon ausgegangen, dass die mit kommerziellem PHB gewonnenen Erkenntnisse bei verbesserter PHB-Aufreinigung und vergleichbaren Polymereigenschaften auf das PHB aus dem biotechnologischen Recycling übertragbar sind.



Abbildung 16: Im Labormaßstab gesponnenes Filament mit 40 % PHB-Anteil

Analyse der enzymatisch vorbehandelten Textilproben

Im Rahmen dieses Arbeitspakets wurden weiterhin die Textilproben vor und nach der enzymatischen Behandlung in AP 2.1 mittels Lichtmikroskopie und Rasterelektronenmikroskopie (REM) untersucht (vgl. Abbildung 17). Dabei wurde beobachtet, dass die Faser- bzw. Textilstruktur nach der enzymatischen Behandlung noch weitgehend erhalten war. Diese Beobachtung wurde darauf zurückgeführt, dass der enzymatische PET-Abbau zwar stattfand, aber aufgrund der hohen Kristallinität des Substrats nur geringe Mengen an Abbauprodukten freigesetzt wurden. Basierend auf dieser Erkenntnis wurde in AP 1.1 eine Vorbehandlung zur PET-Amorphisierung entwickelt.

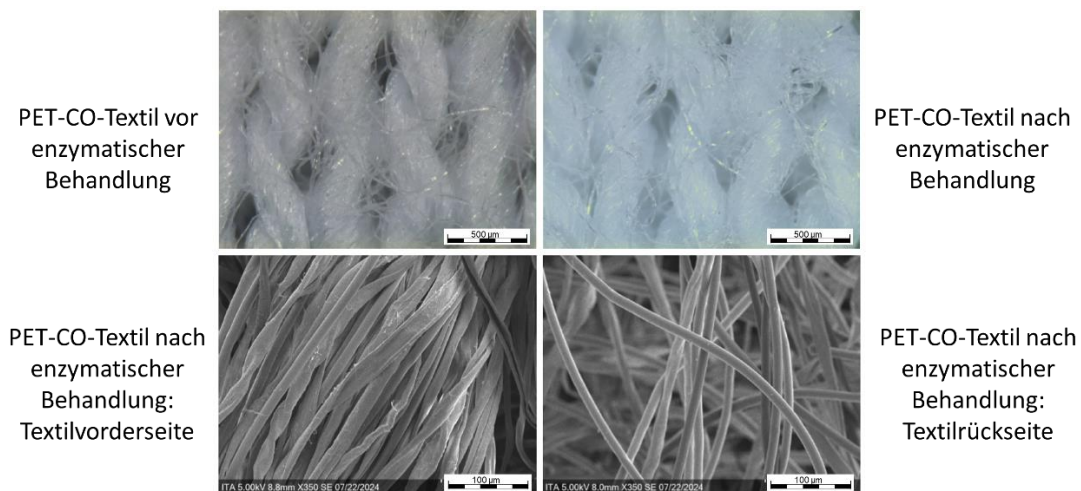


Abbildung 17: Mikroskopische Analyse der Textilproben vor und nach der enzymatischen Behandlung

AP 6: Herstellung textiler Demonstratoren (ITA)

Im Arbeitspaket 6 wurden die hergestellten Mono- und Multifilamentgarne (AP 5) hinsichtlich der Verarbeitbarkeit im Strickprozess validiert und textile Demonstratoren hergestellt. Die im Mikroextruder hergestellten Monofilamente wurden dafür auf einer Kleinrundstrickmaschine vom Typ TK 83 der Harry Lukas Textilmaschinenfabrik verstrickt. Die Garne wurden dabei sowohl einzeln, als auch mit einem gängigen Strickgarn kombiniert in die Maschine eingefügt (vgl. Abbildung 18). Mit Hilfe dieser Strickversuche auf der Kleinrundstrickmaschine konnte die grundsätzliche Verarbeitbarkeit validiert und Feedback in die Spinnprozessentwicklung (AP 5) gegeben werden.



Abbildung 18: Mikroskopiebilder der Strickversuche mit PHB-Monofilament. Rückmeldung zur Anpassung des Spinnprozesses aufgrund von zu hoher plastischer Dehnung (links) und auftretenden Dickstellen (rechts). Grundsätzliche Verarbeitbarkeit aber gegeben.

Die am Kleinschneckenextruder hergestellten Multifilamentgarne wurden ebenfalls zunächst an der Kleinrundstrickmaschine iterativ getestet, um weiteres Feedback für die Entwicklung des Multifilament-Spinnprozesses so ermitteln. Anschließend wurden die finalen Versuchspunkte der Garnherstellung auf einer industriellen Flachstrickmaschine vom Typ ADF 32-W der Karl Mayer Stoll Textilmaschinenfabrik verarbeitet. Dazu wurde in der Entwicklungsumgebung M1Plus ein Pullover programmiert, der als finaler textiler Demonstrator des Projektes dient. Zum Stricken des Pullovers auf der Flachstrickmaschine wurden iterativ die passenden Prozess- und Maschinenparameter (Fadenspannung, Maschendichte, Strickmuster, Abzugsspannung) ermittelt und im Strickprogramm angepasst. Hierzu wurde der beschaffte Messrechner zum Betrieb der Programmiersoftware M1Plus eingesetzt. Abschließend wurde ein finaler Demonstrator hergestellt (vgl. Abbildung 19).



Abbildung 19: Gestrickter Demonstrator aus PHB/PLA-Multifilamentgarnen

AP 7: Projektkoordination und Business-Case-Entwicklung (ITA, Biotec, iAMB)

Die Projektkoordination umfasste die Organisation und Teilnahme aller Partner an monatlich stattfindenden Absprachen im Konsortium, sowie an halbjährlichen, ganztägigen Projekttreffen. Darüber hinaus haben über die Projektlaufzeit diverse bilaterale Abstimmungen zwischen den Projektpartnern stattgefunden. Außerdem wurde die Projektvorstellung bei der Bio4MatPro-Jahresversammlung sowie auf diversen Fachkonferenzen und in industrienahen Zeitschriften sowie wissenschaftlichen Journals koordiniert.

Im Arbeitspaket 7 wurde darüber hinaus ein erster Business Case für die Anwendung des enzymatischen Recyclings im Bereich der Textilabfallwirtschaft generiert. Dazu wurde zunächst die benötigte Prozesskette definiert und anschließend ein Business Model Canvas erstellt. Die Prozesskette des enzymatischen Recyclings beginnt mit dem Erwerb bzw. der Sammlung und Vorsortierung von Alttextilien und erstreckt sich im Business Case über die folgenden Prozessschritte: Amorphisieren, Mahlen, enzymatischer Abbau, Filtration, Fermentation, Aufreinigung, Blenden, Schmelzspinnen, Texturieren und Stricken, sodass am Ende des Prozesses eine gestrickte Fläche bzw. ein gestricktes Produkt zur Verfügung steht.

Aufbauend auf der Prozesskette wurde ein Business Model Canvas durchgeführt, um weitere relevante Informationen für den Aufbau eines Business-Case zu ermitteln. Als Anwender für den Use-Case wurde ein

Recycling-Unternehmen definiert, welches das enzymatische Recycling und die Polymerherstellung durchführt und somit die Prozessschritte Amorphisieren bis Aufreinigung umsetzt. Das Endprodukt ist somit PHB als Polymer. Die verschiedenen Komponenten des Business Modell Canvas ergeben sich daher wie folgt:

Kundensegmente: Firmen und Brands, die nachhaltige Materialien zum Schmelzspinnen einkaufen bzw. Firmen, die zusammen mit dem Anwender einen Recyclingkreislauf aufbauen wollen. **Nutzenversprechen:** Herstellung eines Polymers aus Post-Consumer recycelten Alttextilien. Möglichkeit zum Aufbau einer Kreislaufwirtschaft mit einzelnen Firmen. **Kanäle:** Übliche Vertriebskanäle für Polymerhandel, Direktverkauf an Schmelzspinner bzw. Brands als Endkunde. **Kundenbeziehungen:** Direkte B2B-Beziehungen zu den Brands und Endanwendern. **Einnahmequellen:** Verkauf des Polymers, Einnahmen durch Abnahme der Alttextilien. **Schlüsselaktivitäten:** Enzymatischer Abbau, Fermentation zur Herstellung des PHB. **Schlüsselressourcen:** Notwendigen Biotechnologischen Anlagen und Geräte. **Schlüsselpartner:** Brands, die das Polymer einsetzen wollen, um einer Kreislaufwirtschaft aufzubauen. **Kostenstrukturen:** Betrieb der Notwendigen biotechnologischen Anlagen und Geräte.

Über die gesamte Prozesskette ergibt sich im idealisierten Laborprozess nur geringe Aufreinigungs- und Masseverluste. Über die Prozessschritte Amorphisieren und Mahlen ergibt sich eine Prozessausbeute von 91% an gemahlenem PET Pulver aus 100igem PET Alttextilien. Hier wird damit gerechnet die Ausbeute in einem industriellen Prozesse noch weiter zu verbessern. Für die Amorphisieren wurde mit einem Überschuss an Glycerin gearbeitet, sodass eine Mengenabschätzung im späteren Industrieprozess derzeit nicht möglich ist. Im Enzymatischen Abbau werden neben dem Hydrolysat und dem PET elektrische Energie benötigt, die im Laborprozess rund 8-15 kWh beträgt. Bei der Filtration wird elektrische Energie von ca. 1 kWh und in der Fermentation 10-15 kWh benötigt. Die Ausbeute bei der Fermentation und Aufreinigung beträgt im Laborprozess jeweils rund 90 %.

Eine Bewertung der Kostenstrukturen für den Aufbau einer (semi-)industriellen Anlage für das enzymatische Recycling ist ausgehend von den Labordaten mit einer zu hohen Unsicherheit verbunden und daher nicht zweckdienlich.