

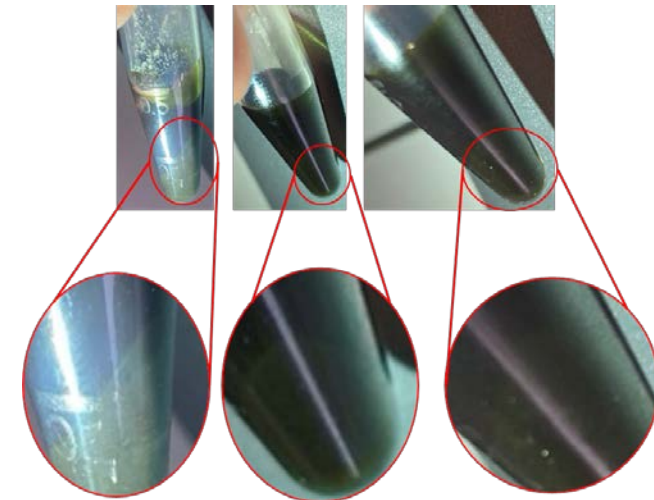
# PlastoCyan – eine nachhaltige Polyhydroxybuttersäure Herstellung



Dr. Julian Kopp

DI Ricarda Kriechbaum

Assoc. Prof. Oliver Spadiut



# Wer sind wir?

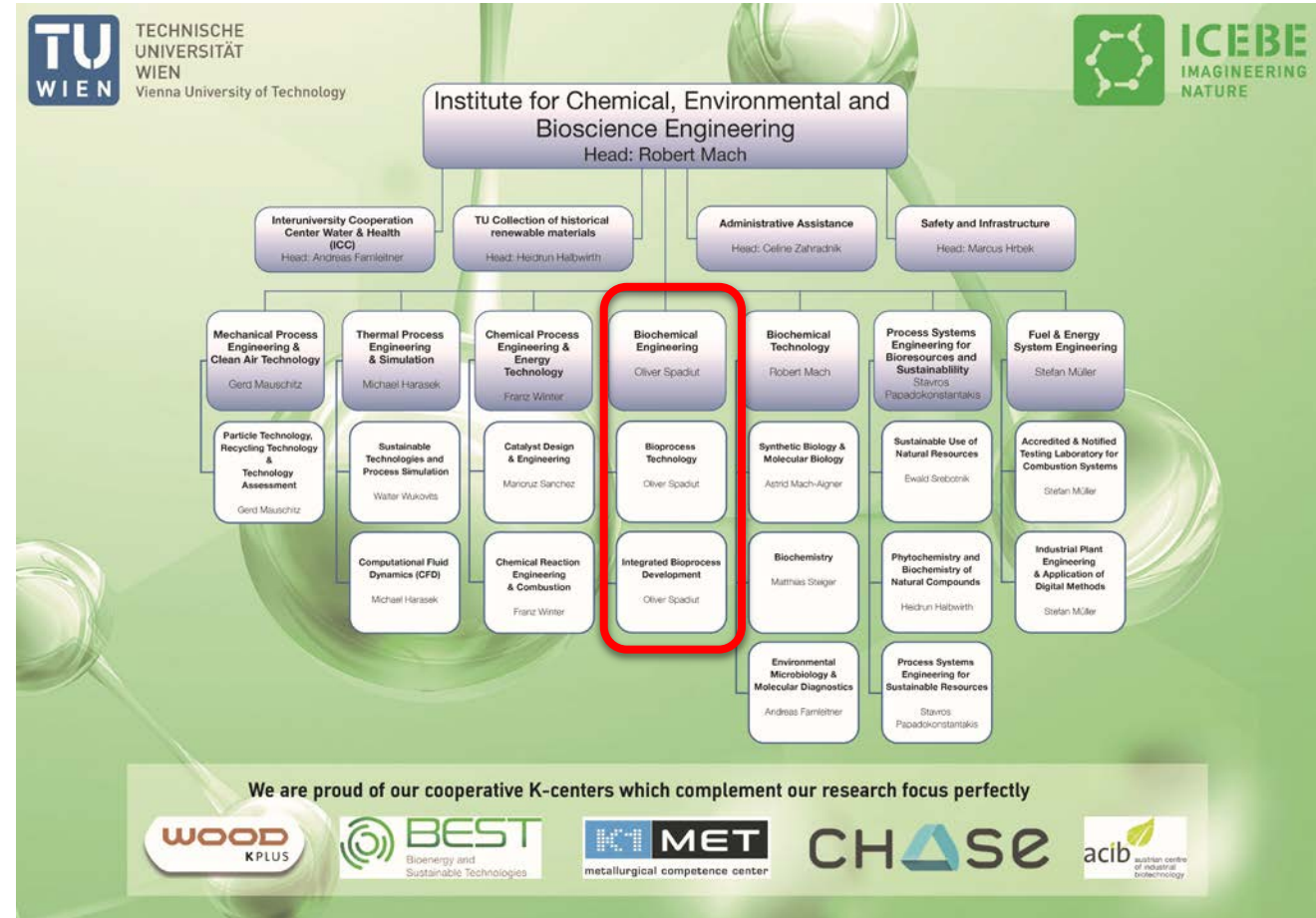
## Fakultät für technische Chemie

E163 - Institut für Angewandte Synthesechemie

E166 - Institut für Verfahrenstechnik, Umwelttechnik und technische Biowissenschaften

E164 - Institut für Chemische Technologien und Analytik

E165 - Institut für Materialchemie



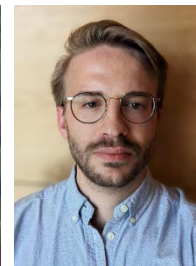
# Integrated Bioprocess Development



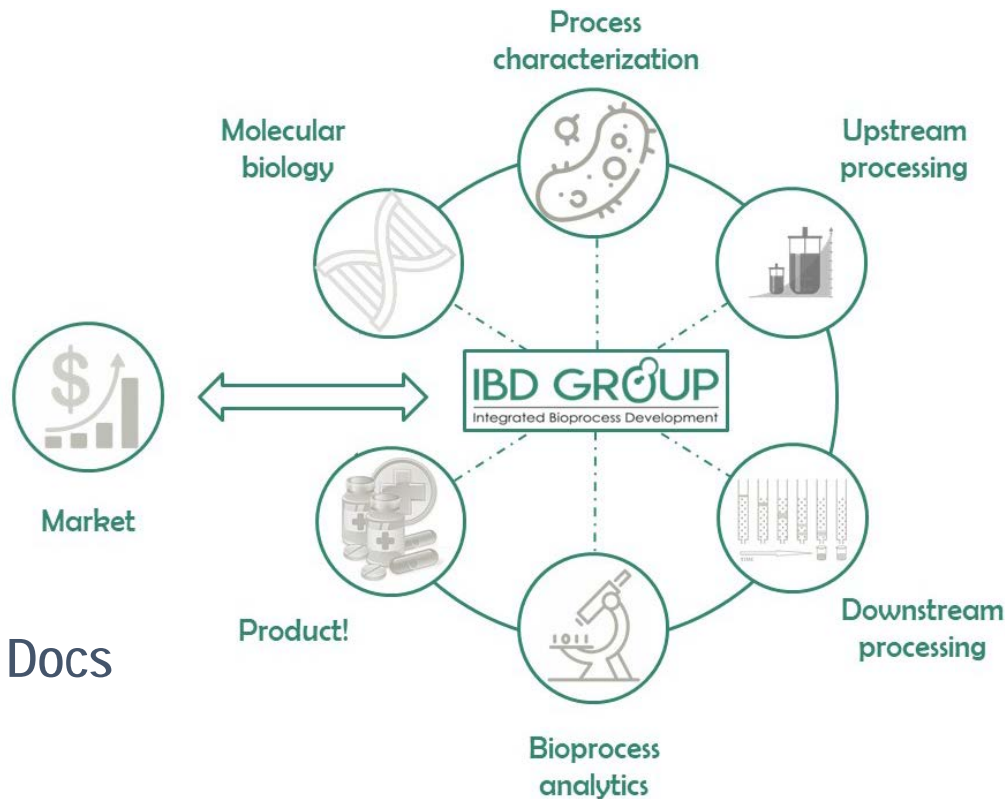
Gruppenleitung  
Prof. Spadiut



3 Post Docs

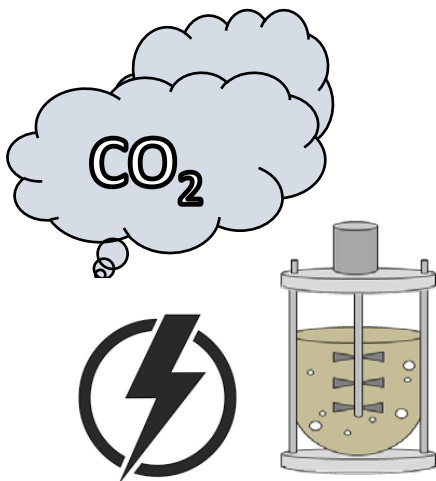


8 PhDs

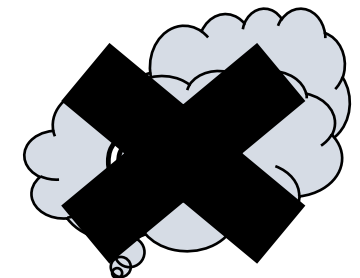
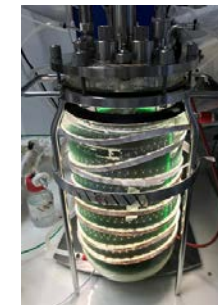
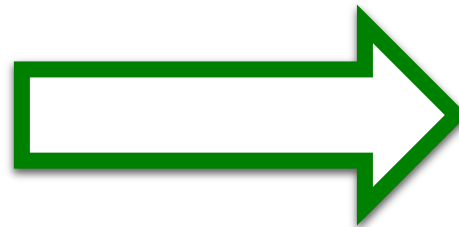


## Plastocyan – Warum?

- Schnell abbaubares Bioplastik wird immer häufiger eingesetzt, z.B. ein Tragetaschen/Tüten etc.
- Die aktuelle PHB-Produktion *Cupriavidus necator* (*Ralstonia eutropha*) wird auf organischem Kohlenstoff kultiviert.
- Bei diesem Prozess wird CO<sub>2</sub> freigesetzt.
- Darüber hinaus erfolgt die derzeitige PHB-Extraktion mit organischen Lösungsmitteln, wie Chloroform, als Fällungsmittel.



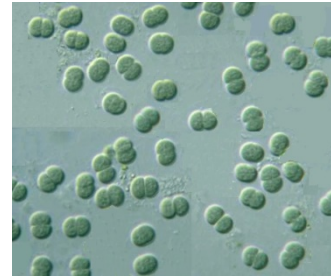
Eine grüne(re) Bioplastik Herstellung ist dringend notwendig!



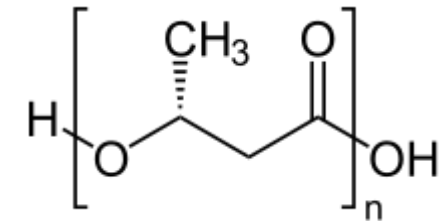
# PlastoCyan: Projekt Beschreibung



Abfallströme



*Synechocystis* sp.



Polyhydroxybuttersäure - PHB

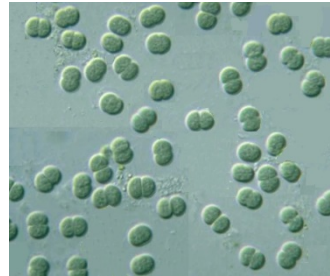
→ Nutzung von **Abwasser** für die **Produktion** von *Synechocystis* sp. **Biomasse**

→ Suche nach einem **nachhaltigen** Ansatz für die **Extraktion** von PHB aus cyanobakterieller Biomasse

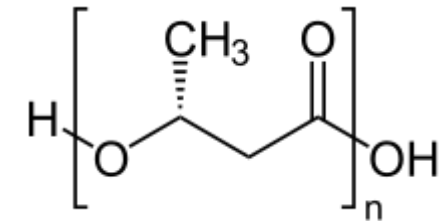
# PlastoCyan: Projekt Beschreibung



Abfallströme



*Synechocystis* sp.

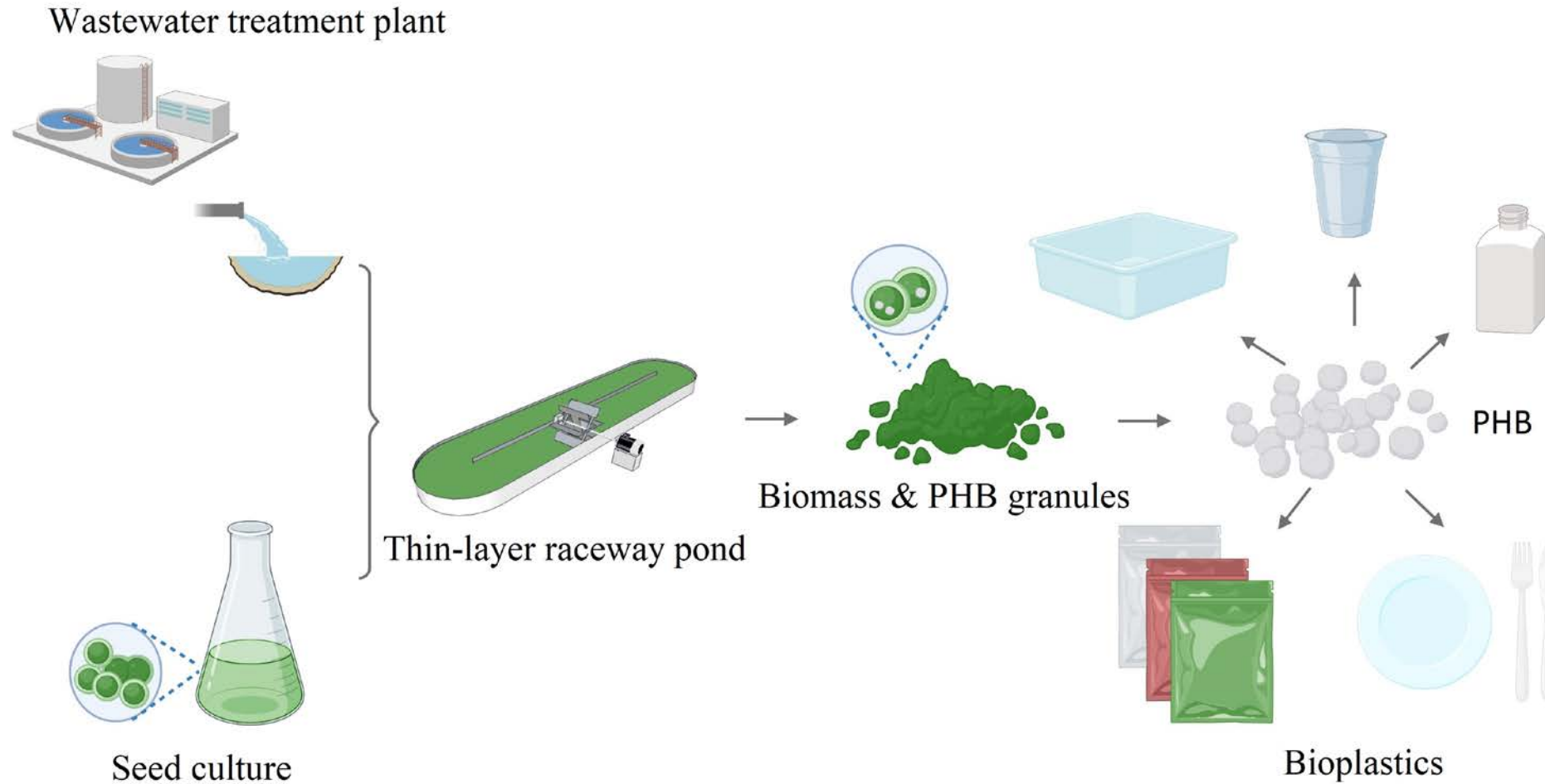


Polyhydroxybuttersäure - PHB

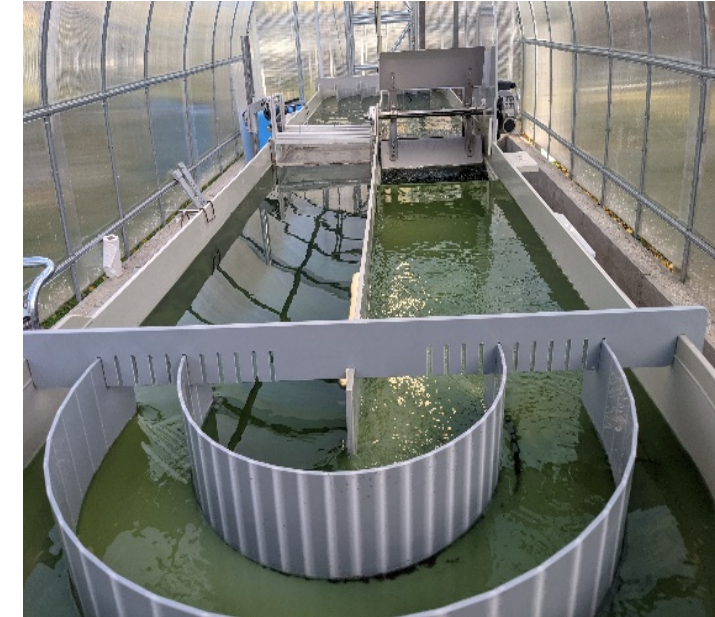
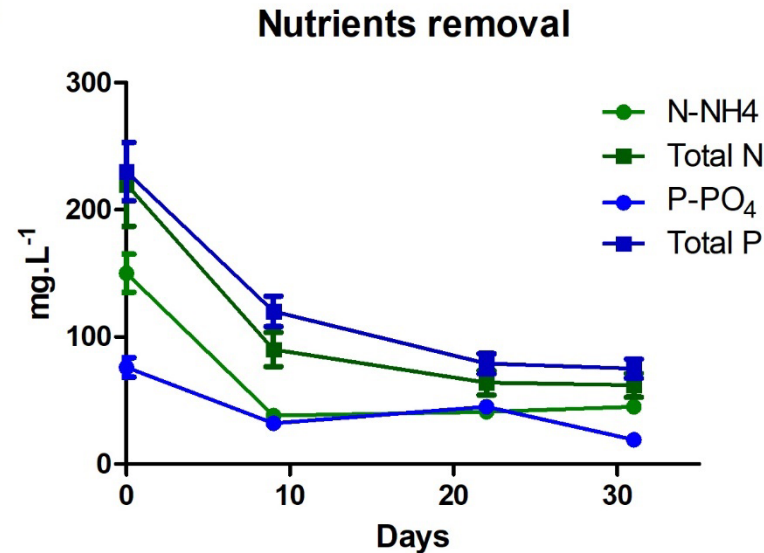
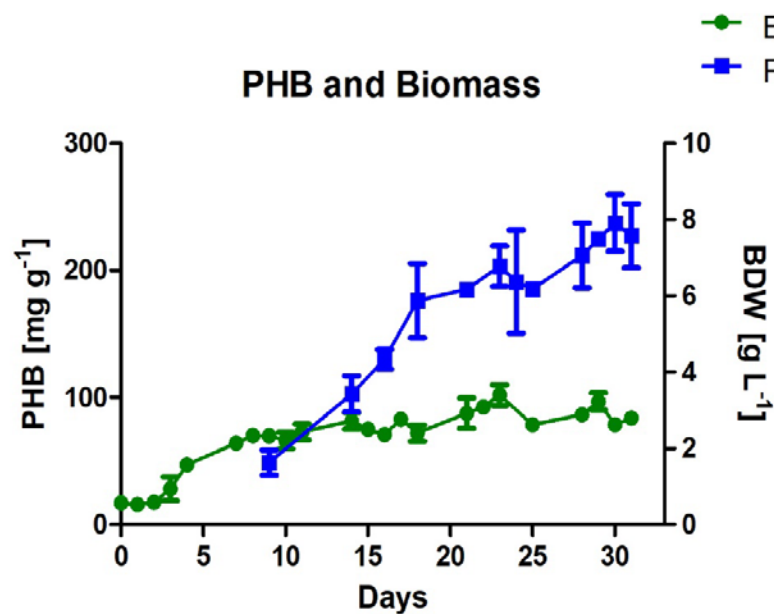
→ Nutzung von **Abwasser** für die **Produktion** von *Synechocystis* sp. **Biomasse**

→ Suche nach einem **nachhaltigen** Ansatz für die **Extraktion** von PHB aus cyanobakterieller Biomasse

# PlastoCyan: Abwasser für die Produktion von PHB



## PlastoCyan: Abwasser für die Produktion von PHB



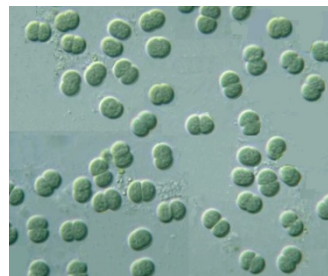
- *Synechocystis sp.* PCC6714 MT\_a24 (Stamm der TU Wien) zeigte in vorherigen Projekten die Fähigkeit zur hohen PHB-Produktion
- Städtische Abwässer sind eine hervorragende Nährstoffquelle für die photosynthetische PHB-Produktion
- Ausbeute der 100L Scale Kultivierung betrug: **23.7 ± 2.2% PHB** pro Gramm trockener Biomasse bei **3.5 g/L Biomasse**



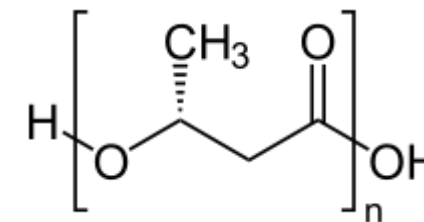
# PlastoCyan: Projekt Beschreibung



Abfallströme



*Synechocystis* sp.



Polyhydroxybuttersäure - PHB

→ Nutzung von **Abwasser** für die **Produktion** von *Synechocystis* sp. **Biomasse**

→ Suche nach einem **nachhaltigen** Ansatz für die **Extraktion** von PHB aus cyanobakterieller Biomasse

## State of the Art – PHB Extraktion

- 20% der totalen Kosten der PHB Produktion
- Aktuelle Standardmethode (99% Wiederfindung):
  - Zentrifugation
  - Resuspendierung der Biomasse über Nacht in MeOH bei 4°C (Entfernen der Pigmente)
  - Trocknen des Biomasse-Pellets bei 60°C
  - PHB-Extraktion mit Chloroform (CHCl<sub>3</sub>)
  - Fällung mit kaltem Diethylether + Waschen mit Aceton
  - Erneutes Auflösen in CHCl<sub>3</sub>
  - CHCl<sub>3</sub>-Verdampfung
- Alternative Extraktionen

Chemical	Conditions	Recovery	Microorganism	Ref.
Ethylene carbonate	150°C	98.6% +/- 1	<i>C. necator</i>	[4]
Methanol	50°C	81,2% +/- 1	<i>C. necator</i>	[4]
Cyclohexanone	120°C	99%	<i>C. necator</i>	[5]
Supercritical CO <sub>2</sub>	200 atm, 40°C	89%	<i>Ralstonia eutropha</i>	[6]
1-ethyl-3-methylimidazolium methylphosphonate	1 mg dried biomass + 1,0 g IL / stirred for 24h	98%	<i>Synechocystis</i> sp.	[7]

## Hypothese & Zielsetzung

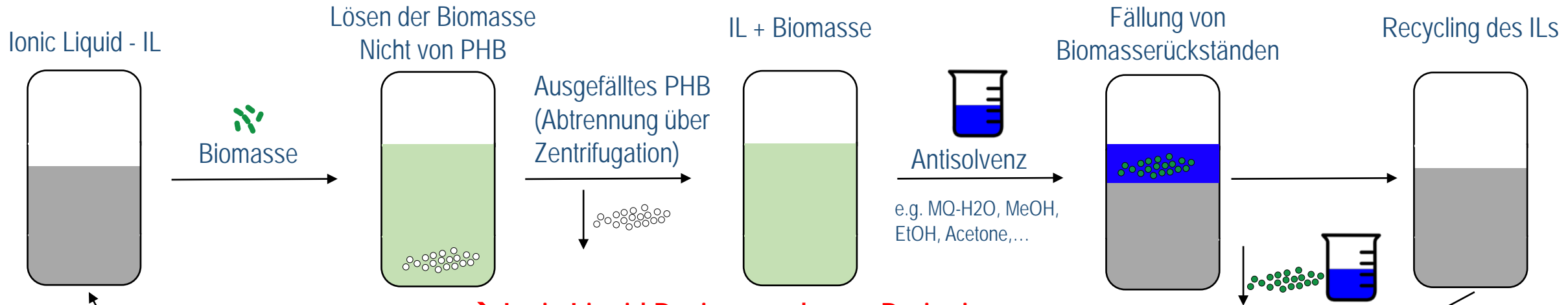
### Hypothese:

- Ionische Flüssigkeiten (IL= ionic liquids) könnten eine alternative umweltfreundliche Extraktionsmethode im Vergleich zur herkömmlichen Chloroformextraktion darstellen
- Design der ILs zum Auflösen der Biomasse, aber nicht des PHB-Gehalts
- Einführung eines Regenerationsschritts der ILs, um die wirtschaftliche Machbarkeit zu erhöhen

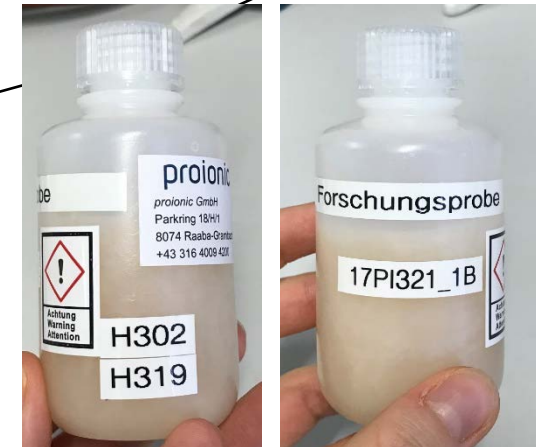
### Zielsetzung:

- Etablierung einer nachhaltigen Methode zur PHB-Extraktion
- Verwendung und Recycling von ILs, um den Nachhaltigkeitsaspekt zu erhöhen und die Prozesskosten zu senken

# Experimental strategy



→ Ionic Liquid Design wurde von Proionic GmbH durchgeführt!



1) EMIM-Diethylphosphate

2) EMIM-Acetate

3) EMIM-Chloride

(liquid at 90°C)

## Ionic Liquids – welche Zusammensetzung?

- Lösen ILs die Biomasse auf (bei welcher Temperatur - 25°C, 50°C, 75°C, 90°C) und in welchen Zeiträumen?
- Lösen ILs PHB auf oder beeinflussen sie PHB bei diesen Parametern?



**Alle drei ILs lösen Biomasse bei unterschiedlichen Parametern auf! → Überprüfung der PHB-Auflösung**

# IL + PHB

## • EMIM-Acetat

- Löst BM (schnellere Kinetik mit höherer Temperatur)
- Degradiert PHB (Temp. abhängige Kinetik)
- Degradiert PHB

## • EMIM-Chlorid

- Löst Biomasse
- (Wahrscheinlich) keine Auflösung/Zersetzung von PHB
- Höchste Viskosität in Ansätzen

## • EMIM-Diethylphosphat

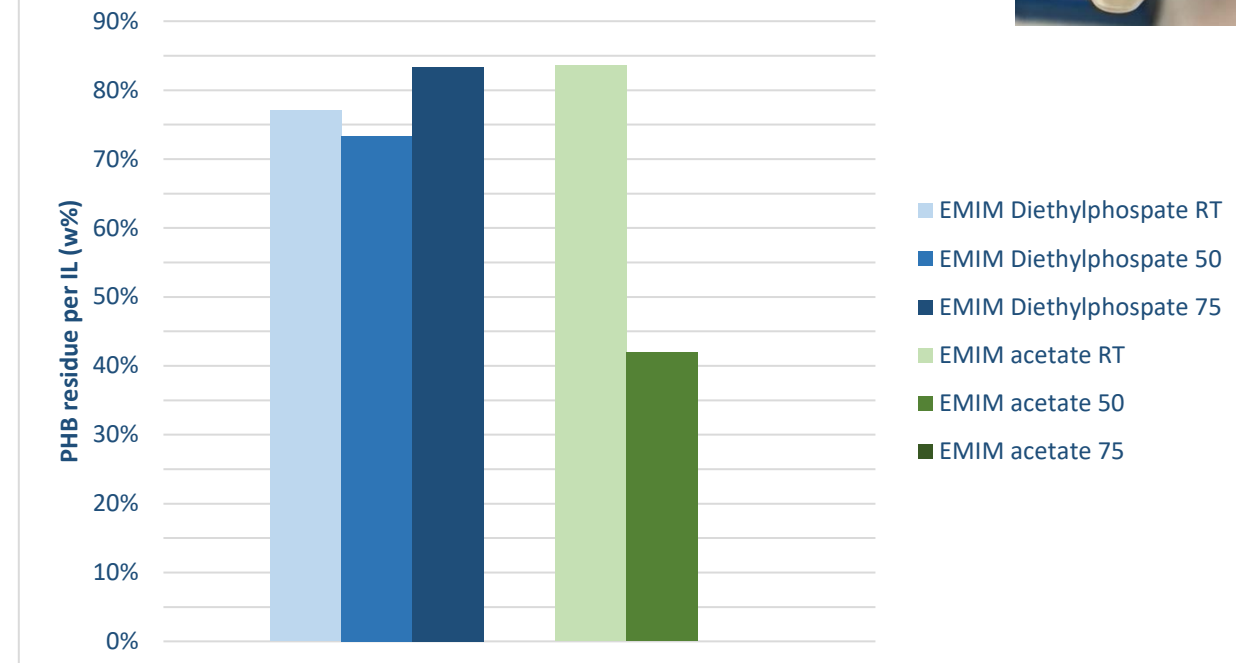
- Löst BM (schnellere Kinetik mit höherer Temperatur)
- Geringe Auflösung/Zersetzung von PHB
- Gesamtheitlich beste Resultate

→ ABER EMIM-Diethylphosphat ist immer noch zu viskos für die Trennung von PHB und gelöster Biomasse!

→ Co-Lösungsmittel?



### Recovery of undissolved PHB in IL

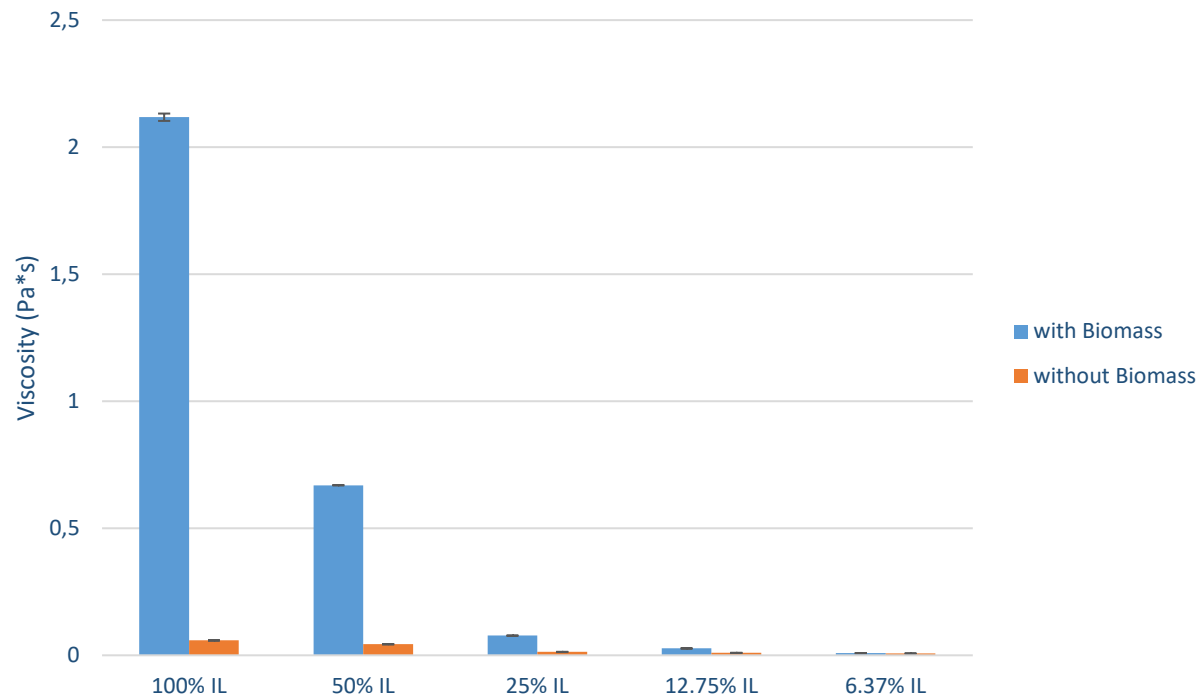


# IL + Cyrene

## Cosolvent – Cyrene

- Nachhaltig aus Zellulose produziert
- Beeinflusst nicht das Löseverhalten
- Biologisch abbaubar & ungefährlich für Mensch und Umwelt

Vergleich der IL Verdünnungen



Verringerung der Viskosität von IL + BM

Erlaubt Abtrennung von PHB und Biomasse durch Zentrifugation!

## Take-Home Messages Extraktion

- EMIM-Diethylphosphat ist am besten für die Extraktion von IL geeignet
- IL+ Cyrene muss in einem Ratio von 25%:75% gemischt werden, um die Viskosität zu verringern  
→ ermöglicht Zentrifugation
- 85% Rückgewinnung von PHB mit einer Reinheit von ~30%

### Vorteile des Verfahrens im Vergleich zum aktuellen Stand der Technik :

- Kein Chloroform oder Hexan erforderlich → Nur geringe Mengen an Methanol zum Waschen erforderlich
- Das IL-Cyrene-Gemisch kann mit Wasser für einen weiteren Extraktionszyklus (mindestens 5 Mal) wiedergewonnen werden



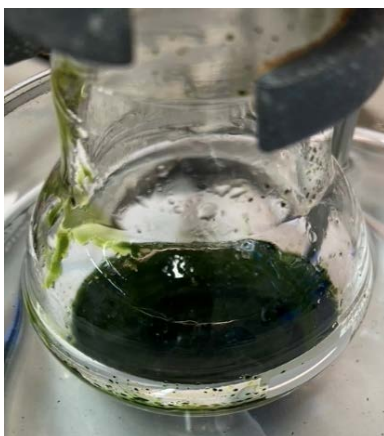
# Outlook

## Verbleibende Herausforderungen

- Potentielle Verschleppung von Abfallstromkomponenten im Zuge der PHB Aufreinigung ? Analytik notwendig!
- Prüfung der Materialeigenschaften von PHB im Vergleich zum kommerziellen Standard
- Cyrene maskiert PHB in der Analytik!  
→ Verbesserung der Analytik notwendig!
- Weitere potentielle wirtschaftliche Alternativen zu Cyrene als Co-solvenzien testen (z.B.: Propylencarbonat)
- Transformierung der Cyanobakterien mit rekombinanter  $\beta$ -Galaktosidase um Abfallströme der Milchindustrie einsetzen zu können



# Vielen Dank für die Aufmerksamkeit!



Fragen...