

## Kurzfassung

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit einem interdisziplinären Ansatz der Biofunktionalisierung thermoplastischer Polymerwerkstoffe durch die Integration von technischen Enzymen, mit dem Ziel die durch die Enzyme katalysierten Funktionen in Kunststoffprodukten nutzbar zu machen. Die Zusammenführung dieser völlig unterschiedlichen Materialklassen erfolgt unter Verwendung konventioneller Polymerverarbeitungsverfahren. Eine besondere Herausforderung bei der Integration der Enzyme in die industriell relevanten Polymerwerkstoffe stellt die geringe Enzymstabilität dar. Ziel war es, die katalytische Aktivität der Enzyme auch nach der mehrfachen thermoplastischen Verarbeitung zu erhalten und somit biologisch aktive Polymer/Enzym-Hybridmaterialien herzustellen, in der Absicht Massenkunststoffe mit neuen biologischen Funktionen auszustatten sowie diese für neue Produkte und Anwendungen nutzbar zu machen.

Basierend auf dem Modellsystem bestehend aus Polyethylen niedriger Dichte (LDPE) und einer technisch formulierten Protease wurden im ersten Verarbeitungsschritt mittels Doppelschneckenextrusion LDPE/Protease-Compounds und daran anschließend in einem zweiten Verarbeitungsschritt mittels Blasfolienextrusion biologisch aktive Polyolefinblasfolien hergestellt. Die Herstellung proteasefunktionalisierter Compounds und Blasfolien diente der Erarbeitung geeigneter Prozessparameter sowie der Entwicklung eines tieferen Verständnisses für deren Wirkung auf die katalytische Enzymaktivität. Die biologische Aktivität der Protease konnte im LDPE/Protease-Compound bis zu einer Masstemperatur von 160 °C und einer Schneckendrehzahl von 300 min<sup>-1</sup> nachgewiesen werden. Daran anschließend wird auch die Herstellung von hochgefüllten, proteasefunktionalisierten Masterbatches gezeigt. Analog zu den proteasefunktionalisierten Compounds und Masterbatches zeigen auch die daraus hergestellten Blasfolien eine Proteaseaktivität bis zu einer Masstemperatur von 160 °C. Die Übertragung dieser Ergebnisse auf andere Polymermatrizes wird demonstriert. Die Compoundierung auf einem Doppelschneckenextruder sowie die Weiterverarbeitung der Polymer/Protease-Compounds zu Blasfolien erfolgten im industrienahen Technikumsmaßstab. Die Gründe für die hohe Stabilität der Protease wurden mit umfangreichen Methoden der Strukturaufklärung ermittelt und sind neben den Bestandteilen der technischen Enzymformulierung, wie Natriumsulfat, Kaolinit, Titandioxid, Calciumcarbonat und Polyethylenglycol auch auf die poröse Morphologie der Trägerpartikel und die schützende Wirkung der niedrighschmelzenden Polymermatrizes zurückzuführen. Schonende Verarbeitungsparameter, wie geringe Verarbeitungstemperaturen, geringe Schneckendrehzahlen, kurze Verweilzeiten und eine schonende Schneckenkonfiguration, dienen auch einem Erhalt der Proteaseaktivität.

Aufgrund des großen Potentials von Polybutylensuccinat-co-adipat (PBSA) den herkömmlichen Massenkunststoff Polyethylen im Bereich der Verpackungsanwendungen zu substituieren und mit dem Ziel, sich die durch die Lipasen katalysierte Hydrolyse von Esterbindungen für einen beschleunigten biologischen Abbau von Polyestern zu Nutze zu machen, wurden die erarbeiteten Grundlagen auf ein PBSA/Lipase-System übertragen. Da die technisch, sich in Lösung befindlichen Lipasen normalerweise bei etwa 76 °C denaturieren, die thermoplastische Verarbeitung der Polyestermatrix jedoch zwischen 130 °C bis 150 °C erfolgt, wurden diese zu ihrer Stabilisierung in porösen, anorganischen Trägermaterialien adsorptiv immobilisiert. Röhrenförmige Halloysite Nanotubes sind aufgrund ihrer großen Mesoporen (8 nm bis 19 nm) und der hohen spezifischen Oberfläche (11 m<sup>2</sup>/g bis 56 m<sup>2</sup>/g) für den Einsatz als Trägerpartikel geeignet. Etwa 5 wt.% bis 8 wt.% der Lipaseformulierung

können unter Verwendung eines vakuumbasierten Immobilisierungsprozesses in den Halloysite Nanotubes immobilisiert werden.

Die in den Halloysite Nanotubes immobilisierten Lipasen wurden zu 3 wt.% bis 30 wt.% mittels Compoundierung auf einem Doppelschneckenextruder bei einer Massetemperatur von 130 °C und einer Schneckendrehzahl von 75 min<sup>-1</sup> in die PBSA-Matrix eingebracht. Eine Weiterverarbeitung der PBSA/Lipase-Compounds erfolgte mittels Blasfolienextrusion bei einer Massetemperatur von 125 °C sowie einer Schneckendrehzahl von 30 min<sup>-1</sup> und führte zu biologisch aktiven Copolymerblasfolien. Der Nachweis der katalytischen Lipaseaktivität erfolgte sowohl für die Compounds als auch für die Blasfolien. Die Integration der immobilisierten Lipasen in die PBSA-Matrix erfolgte zunächst im Labormaßstab, gefolgt von einer Skalierung in den Kilogramm-Maßstab. Die lipasefunktionalisierten Copolymercompounds und die daraus hergestellten Blasfolien zeigen einen deutlich schnelleren biologischen Abbau verglichen mit dem reinen Copolymer, welcher durch den Anteil an immobilisierter Lipase eingestellt werden kann. Die respirometrischen Untersuchungen zeigen einen um bis zu Faktor 3 schnelleren biologischen Abbau der lipasefunktionalisierten Compounds, wohingegen der biologische Abbau der daraus hergestellten Blasfolien um bis zu Faktor 2 beschleunigt werden kann. Es wurde auch gezeigt, dass die mechanischen und optischen Blasfolieneigenschaften abhängig von dem Füllstoffanteil über einen weiten Bereich einstellbar sind.

Mit dieser Arbeit wird ein interdisziplinärer Ansatz zur Biofunktionalisierung von thermoplastischen Polymerwerkstoffen durch die Integration von Enzymen unter Verwendung konventioneller Polymerverarbeitungsverfahren untersucht. Neben der Erarbeitung eines Prozessverständnisses und Grundlagen der Enzymstabilisierung, wurde damit auch erstmals die mehrfache auf Schmelzextrusion basierende Verarbeitung von gezielt stabilisierten Lipasen, welche in anorganischen, porösen Trägerpartikeln adsorptiv immobilisiert wurden, im industrienahen Technikumsmaßstab mit einem direkten und indirekten Nachweis der katalytischen Lipaseaktivität in der Polymermatrix gezeigt.

Diese Ergebnisse können durch die Integration anderer biologischer Funktionsträger in weitere Polymermatrizes auf neue Polymer/Enzym-Systeme übertragen werden, mit dem Ziel der Erschließung neuer Einsatzgebiete und Produktanwendungen.

## Abstract

The present work focuses on an interdisciplinary approach to biofunctionalization of thermoplastic polymers by integrating enzymes, with the aim of utilizing the functions catalyzed by the enzymes in plastic products. These completely different classes of materials are brought together using conventional polymer processing methods. A major challenge in the integration of enzymes into industrially relevant polymers is the low enzyme stability. The aim was to retain the catalytic activity of the enzymes even after multiple thermoplastic processing and thus to produce biologically active polymer/enzyme hybrid materials, with the intention of endowing bulk plastics with new biological functions as well as making them useful for new products and applications.

Based on the model system consisting of low-density polyethylene (LDPE) and a technically formulated protease, biologically active polyolefin blown films were produced in the first processing step by twin-screw extrusion of LDPE/protease compounds and subsequently in a second processing step by blown film extrusion. The production of protease-functionalized compounds and blown films served to elaborate suitable process parameters and to develop a deeper understanding of their effect on catalytic enzyme activity. The biological activity of the protease was detected in the LDPE/protease compound up to a melt temperature of 160 °C and a screw speed of 300 rpm. Subsequently, the production of highly filled protease-functionalized masterbatches will also be demonstrated. Analogous to the protease-functionalized compounds and masterbatches, the blown films produced from them also exhibit protease activity up to a melt temperature of 160 °C. The transfer of these results to other polymer matrices is demonstrated. Compounding on a twin-screw extruder and further processing of the polymer/protease compounds into blown films were carried out on an industrial pilot plant scale. The reasons for the high stability of the protease were determined by extensive structural elucidation methods and can be attributed to the porous morphology of the carrier particles and the protective effect of the low-melting polymer matrices, in addition to the components of the technical enzyme formulation, such as sodium sulfate, kaolinite, titanium dioxide, calcium carbonate, and polyethylene glycol. Gentle processing parameters, such as low processing temperatures, low screw speeds, short retention times and a gentle screw configuration, also serve to protect the protease activity.

Due to the great potential of polybutylene succinate-co-adipate (PBSA) to substitute the conventional bulk plastic polyethylene in the field of packaging applications and with the aim of utilizing the hydrolysis of ester bonds catalyzed by the lipases for an accelerated biodegradation of polyesters, the elaborated fundamentals were transferred to a PBSA/lipase system. Since technically lipases in solution normally denature at about 76 °C, but thermoplastic processing of the polyester matrix occurs between 130 °C to 150 °C, they were adsorptively immobilized in porous inorganic support materials to stabilize them. Tubular halloysite nanotubes are suitable for use as carrier particles due to their large mesopores (8 nm to 19 nm) and high specific surface area (11 m<sup>2</sup>/g to 56 m<sup>2</sup>/g). About 5 wt.% to 8 wt.% of the lipase formulation can be immobilized in the halloysite nanotubes using a vacuum-based immobilization process.

Lipases immobilized in the halloysite nanotubes were integrated into the PBSA matrix at 3 wt.% to 30 wt.% by compounding on a twin-screw extruder at a melt temperature of 130 °C and a screw speed of 75 rpm. Further processing of the PBSA/lipase compounds was carried out by blown film extrusion at a melt temperature of 125 °C and a screw speed of 30 rpm, resulting in biologically active copolymer blown films. Evidence of catalytic lipase activity was

obtained for both compounds and blown films. Integration of the immobilized lipases into the PBSA matrix was first performed at the laboratory scale, followed by the scale-up to the kilogram scale. The lipase-functionalized copolymer compounds and the blown films made from them show significantly faster biodegradation compared to the pure copolymer, which can be adjusted by the amount of immobilized lipase. The respirometric studies show biodegradation of the lipase-functionalized compounds to be up to a factor of 3 faster, whereas the biodegradation of the blown films made from them can be accelerated by up to a factor of 2. It was also shown that the mechanical and optical blown film properties can be adjusted over a wide range depending on the filler content.

This work investigates an interdisciplinary approach to biofunctionalization of thermoplastic polymers through the integration of enzymes using conventional polymer processing methods. In addition to developing an understanding of the process and the fundamentals of enzyme stabilization, this was also the first time that multiple melt extrusion-based processing of specifically stabilized lipases, which were adsorptively immobilized in inorganic, porous carrier particles, was demonstrated on an industrial pilot plant scale with direct and indirect evidence of catalytic lipase activity in the polymer matrix.

These results can be transferred to new polymer/enzyme systems by integrating other biological function carriers into further polymer matrices, with the aim of addressing new areas of use and product applications.