

Verwendung von Enzymen für nachhaltige additive Fertigungsmaterialien

Transglutaminase und Sojaproteinisolat im 3D-Druck

S. Eigner, S. Hohmann, K. Protte-Freitag, H.-A. Christ, H. Rothe, R. Miehe

ZUSAMMENFASSUNG Biobasierte und biologisch abbaubare Druckmaterialien gewinnen in der additiven Fertigung zunehmend an Bedeutung. Durch den Einsatz von Enzymen bei der Materialherstellung lassen sich die Druckeigenschaften der Materialien gezielt verbessern. Dieser Beitrag präsentiert die bisherigen Versuchsergebnisse, die darauf abzielen, Sojaproteinisolat mithilfe von Transglutaminase zu vernetzen, um die adhäsiven Eigenschaften eines Holzbindemittels zu steigern und so ein verbessertes Material für die additive Fertigung zu entwickeln.

STICHWÖRTER

Additive Fertigung, Biologie und Technik, Nachhaltigkeit

Transglutaminase and soy protein isolate in 3D printing- Implementing enzymes for sustainable additive manufacturing materials

ABSTRACT Biobased and biodegradable printing materials become increasingly significant in additive manufacturing. Applying enzymes during material preparation allows for making targeted modifications to enhance the printing properties of materials. This article presents preliminary results aimed at crosslinking soy protein isolate with transglutaminase to enhance the adhesive properties of a wood binder and thus develop an improved material for additive manufacturing.

1 Einleitung

Globalisierung, Klimawandel, zunehmender Ressourcenverbrauch und verschärzte Regularien führen dazu, dass kritische Materialien für eine Vielzahl von Anwendungen zunehmend durch nachhaltigere Alternativen ersetzt werden [1]. In diesem Zusammenhang gewinnen biobasierte Materialien als umweltfreundliche Alternative zu konventionellen Werkstoffen an Bedeutung [2, 3]. Dabei spielt Holz als erneuerbare Ressource und Biopolymer eine zentrale Rolle bei der Entwicklung biobasierter Werkstoffe. Die Integration von Holzfasern in die Materialentwicklung kann nicht nur als nachhaltiger Ersatz für erdölbasierte Materialien wie Kunststoffe dienen, sondern leistet auch einen Beitrag zur Bindung von Kohlenstoffdioxid aus der Atmosphäre [4]. Es eignet sich besonders zur Etablierung einer Kreislaufwirtschaft, da Holz und seine Reststoffe, wie Sägemehl, als Nebenströme aus der Forst- und Papierindustrie verfügbar sind [5–9].

Nachhaltigere Lösungen gewinnen in verschiedenen Produktionstechnologien an Bedeutung, unter anderem in der additiven Fertigung. Bislang wurde für die additive Fertigung überwiegend Kunststoff verwendet, was zur Anhäufung von nicht abbaubaren Abfällen besondere durch kurzelbige Objekte führt. Die Verwendung von biobasierten Materialien in Verbindung mit ressourcenschonenden Technologien zur Verwendung von Reststoffen wie Sägespänen ist ein vielversprechender Ansatz, um Nachhaltigkeit und Kreislaufwirtschaft zu fördern.

In dieser Hinsicht bietet die additive Fertigung mit ihrem schichtweisen Produktionsansatz eine vielversprechende Lösung

für die Herstellung maßgeschneiderter Produkte und komplexer Geometrien nach individuellen Anforderungen der Nutzenden bei gleichzeitiger Minimierung des Ressourcenverbrauchs [10]. Um ein druckbares Material aus Holzpartikeln herzustellen, müssen diese zu einer Masse verbunden werden. Es gibt bereits biobasierte Formulierungen für die additive Fertigung mit Sägemehl als Bestandteil. Jedoch werden Holzpartikel üblicherweise mit Polylactiden (PLA) gemischt, um die Druckbarkeit zu erlauben und die Stabilität der gedruckten Objekte zu erhöhen [8, 10]. Obwohl PLA unter bestimmten Bedingungen biologisch abbaubar ist, gestaltet sich sein Abbau in natürlicher Umgebung schwierig [11, 12]. Daher besteht ein Bedarf an biologisch abbaubaren Bindemitteln, welche die Einbindung von Sägemehl in die additive Fertigung erleichtern [13].

Eine solche Rezeptur für ein Bindemittel wurde beispielsweise von Podlana *et al.* [14] veröffentlicht. In ihrer Arbeit wurden verschiedene Klebstoffmischungen getestet, welche jeweils aus einer Polymerkomponente (Polyethylenoxid, Hydroxypropyl-methylcellulose, Cellulosenanofibrillen oder Polyvinylalkohol) und einer Form von Sojaprotein (Isolat oder als Bestandteil von Sojamehl) bestanden, jeweils mit und ohne den Zusatz von Kraftlignin. Diese Mischungen wurden mit unterschiedlichen Feststoffgehalten (9 %, 10 % und 15 %) bei einem festen Verhältnis der Komponenten (1:7:2-Gewichtsverhältnis von Polymer zu Protein zu Lignin) bewertet. Das Lösungsmittel war eine Mischung aus Natriumhydroxid (0,1 M) und Acetonitril im Verhältnis 9:1. Die Scherfestigkeit dieser Klebstoffmischungen wurde für die Verklebung von zwei Holzblöcken (Zucker-Ahorn oder Südliche Gelbkiefer) gemäß ASTM D905–08 evaluiert. Bei

Tabelle. Zusammensetzungen der Klebstoffe ohne und mit Natriumacetatpuffer.

Bestandteile	Ohne Puffer (%)	Mit Puffer (%)
Cellulose	1,5	1,5
Sojaproteinisolat	10,5	10,5
Kraftlignin	3	3
Acetonitril	8,5	4
0,1 M NaOH	76,5	36
50 mM NaOAc pH 4,5	0	45
Transglutaminase	0	0,53

dieser Methode wurde der Klebstoff zunächst aufgetragen und anschließend mit hohen Temperaturen (171 °C) sowie Drücken (2,4 MPa) behandelt. Die Mischung mit einem Feststoffgehalt von 9 %, die Sojaproteinisolat, Cellulose-Nanofibrillen und Lignin enthielt, ergab die höchste durchschnittliche Festigkeit von 12,25 MPa. Diese Rezeptur übertraf einen handelsüblichen Harnstoff-Formaldehyd-Klebstoff (5,57 MPa) um den Faktor 2,2 wenn er auf Südliche Gelbkiefer aufgetragen wurde.

Ein weiterer Ansatz zur Verbesserung der Materialeigenschaften oder zur Vernetzung von Komponenten ist die Verwendung von Enzymen [7–10]. Ein bekanntes Enzym zur Vernetzung von Proteinen ist die Transglutaminase (TG), welche die Bindung von Glutaminresten an andere Aminosäuren wie Lysin katalysieren kann, wodurch kovalente Bindungen zwischen Proteinketten entstehen [15, 16]. TG wird in der Regel in proteinreichen Lebensmitteln eingesetzt, um deren Textur zu verbessern [17, 18]. Es wurde nachgewiesen, dass es die Stärke und Festigkeit von Sojaprotein-Gelen erhöht [17].

Ziel dieser Arbeit war es, eine biobasierte und biologisch abbaubare Bindemittelmischung, basierend auf *Podlena et al.* [14], für die additive Fertigung anzupassen und dabei TG für die Vernetzung von Sojaprotein hinzuzufügen. Dabei wurde untersucht, inwieweit das Bindemittel in Kombination mit Holzmehl ein druckfähiges Material erzeugen kann. Das Ziel bestand darin, den Anforderungen des 3D-Drucks gerecht zu werden, indem sowohl die Druckbarkeit als auch die Materialstabilität gewährleistet werden. Der Klebstoff von *Podlena et al.* [14], der für das Binden von Holzblöcken entwickelt wurde, musste angepasst werden, um den Anforderungen der additiven Fertigung zu entsprechen. Daher wurde die Zusammensetzung an Holzmehl getestet, um möglichst eine pastöse, weiche und homogene Masse zu erhalten, die sich zum Drucken eignet. Die Klebstoffmischung sollte dabei die Holzpartikel einkapseln und ihren Zusammenhalt gewährleisten. Es sollte ein homogenes Druckmaterial ergeben, das kontinuierlich und bruchfrei extrudiert werden kann und präzise Strukturen in der vorgegebenen Größe formt.

Neben der Durchführung von 3D-Drucktests wurde die Materialstabilität mit Zugprüfungen evaluiert. Ziel war, die Festigkeit und Stabilität des getrockneten Materials zu bewerten, um es mit anderen Materialien für den 3D-Druck vergleichen zu können.

2 Materialien and Methoden

2.1 Materialien

Klebstoffe wurden mit Sojaproteinisolat, Lignin und Cellulose in einer Lösung aus Natriumhydroxid und Acetonitril hergestellt. Sojaproteinisolat Vegacon 90 S mit einem Proteingehalt von 90,2 % wurde von Eurosoy (Hamburg) bezogen, es enthält 17,95 % Glutaminsäure und 5,29 % Lysin. Kraftlignin (Natriumsulfatgehalt 0,5 bis 3 Gew.-%) und Cellulose (durchschnittliche Partikelgröße 50 µm) wurden von Tecnaro (Ilselfeld) gestellt. Natriumhydroxid-Pellets analytischer Qualität (Carl Roth, Karlsruhe) wurden für die Herstellung von 0,1 M Natriumhydroxidlösung verwendet. Acetonitril „Rotipur“ ($\geq 99,5\%$) wurde von Carl Roth bezogen. Für den Natriumacetatpuffer wurden Natriumacetat $\geq 99,0\%$ (Carl Roth) und Essigsäure $\geq 99,0\%$ (Chemsolute Th. Geyer, Renningen) verwendet. Weichholzmehl (Partikelgröße 150–350 µm) wurde von Tecnaro zur Verfügung gestellt. Zur potenziellen Vernetzung von Sojaproteinmolekülen wurde gefriergetrocknetes TG aus *Streptoverticillium moharaense* (ASA Spezialenzyme, Wolfenbüttel) in Lebensmittelqualität mit einer Aktivität $> 30 \text{ U/g}$ verwendet. TG hat nach Angaben des Herstellers die höchste Aktivität bei pH 7 und 50 °C.

2.1 Methoden

2.2.1 Messung der Transglutaminase-Aktivität

Um die Aktivität der verwendeten TG zu analysieren, wurden Enzymassays mit dem ZediXclusive Microbial Transglutaminase Assay Kit (Zedira GmbH, Darmstadt) gemäß Anweisungen des Herstellers durchgeführt. Die spektrophotometrischen Messungen wurden in Mikroplatten mit klarem Boden und schwarzem Gehäuse (SigmaAldrich, Taufkirchen) auf einem Cytaion 5 - Mikrotiterplattenlesegerät mit beheizbarer Reaktionskammer (BioTek, Friedrichshall) durchgeführt. Die gemessene Aktivität für TG bei 50 °C betrug $101,09 \pm 2,65 \text{ U/g}$.

2.2.2 Herstellung des Klebstoffs

Die Mischungen wurden wie in *Podlena et al.* [14] beschrieben hergestellt, jedoch mit folgenden Änderungen: Cellulose-Nanofibrillen wurden durch mikrokristalline Cellulose ersetzt und der Feststoffgehalt betrug 15 % statt 9 %. Da diese alkalische Mischung für die Verwendung von TG nicht optimal war, wurde eine modifizierte Mischung mit Natriumacetatpuffer und einem pH-Wert von 6,5 für eine optimale Aktivität der TG vorbereitet. Natriumacetatpuffer wurde durch Auflösen von Natriumacetat in doppelt destilliertem Wasser mit einer Endkonzentration von 50 mM und anschließendem Einstellen des pHs mit Essigsäure auf 4,5 hergestellt. Die Zusammensetzungen der Klebstoffe mit und ohne Puffer sind in der **Tabelle** dargestellt.

Der Klebstoff ohne Puffer wurde nach folgendem Verfahren hergestellt: Die Lösungsmittel NaOH und Acetonitril wurden 5 min mit einem Magnetrührer gerührt. Cellulose, Sojaproteinisolat und Kraftlignin wurden nach 30, 60 beziehungsweise 90 min zugegeben, während weiter gerührt wurde.

Klebstoffe mit Puffer enthielten als zusätzliches Lösungsmittel Natriumacetatpuffer, welcher nach dem Sojaproteinisolat in die Mischung gegeben wurde. Mischungen mit TG wurden hergestellt, indem TG zunächst in Natriumacetatpuffer gelöst wurde. Die enzymatische Reaktion fand bei 20 min Inkubation des Kle-

stoffen bei 50 °C statt. Die berechnete Aktivität in dieser Mischung betrug 0,45 U/g, bei einem Enzym-Substrat Verhältnis von 1:20.

Am Ende wurde Weichholzmehl zu den Klebstoffen gegeben und alles kräftig gemischt. Der Anteil des Weichholzmehls in der endgültigen Zusammensetzung betrug 15 %.

2.2.3 Vorbereitung der Zugprobe

Die Mischungen wurden gleichmäßig in gedruckte Silikonformen mit Maßen nach DIN EN ISO 527:25A (**Bild 1** und **Bild 2**) gestrichen [8].

Nach einer Trocknungszeit von 30 min bis 45 min bei Raumtemperatur wurden die Prüfkörper aus der Silikonform entnommen und die Trocknung bei regelmäßiger Wenden in den ersten 5 Stunden fortgesetzt, um eine Verformung aufgrund ungleichmäßiger Trocknung zu verhindern. Dann wurden die Prüfkörper 48 Stunden weiter getrocknet.

Nachdem die Proben vollständig getrocknet waren, wurden Zugversuche bei Raumtemperatur mit einem Extensometer („Shimadzu AG-X plus“, Shimadzu, Kyoto) mit einer Geschwindigkeit von 0,5 mm min⁻¹ durchgeführt. Die Messung der Dehnung und Spannung wurde mit der Software „TrapeziumX“ (Shimadzu) aufgezeichnet, um das Elastizitätsmodul und die Zugfestigkeit zu berechnen.

2.2.4 Additive Fertigung

Die Holz-Klebstoffmischungen wurden auf ihre Druckbarkeit mit einem extrusionsbasierten 3D-Drucker (Engine HR-Drucker mit Druckkopf HSD-30) von Hyrel 3D (Norcross) geprüft. Die Mischungen wurden in eine konische 30-mL-Standard-PP-Spritzze (Becton Dickinson, Franklin Lakes) mit einer modifizierten Düse (Durchmesser 5 mm) gefüllt. Die Druckparameter wurden auf eine Schichtdicke von 3 mm, eine Druckkopfgeschwindigkeit von 3 mm s⁻¹ und einen Volumenstrom von 225 mm³ s⁻¹ eingestellt.

3 Ergebnisse und Diskussion

3.1 Messung der Zugfestigkeit

Die Materialfestigkeit der pufferhaltigen Mischung wurde mit Zugprüfungen nach DIN EN ISO 527:25A analysiert, um den Einfluss der Transglutaminase zu evaluieren und um diese mit der pufferfreien Zusammensetzung zu vergleichen. Die Stabilität des Materials sollte idealerweise anhand 3D-gedruckter Prüfkörper bewertet werden, um den Anwendungsfall der Mischung besser darzustellen. Allerdings können Festigkeitsschwankungen bei gedruckten Materialien durch die strukturelle Komplexität, Hohlräume und verschiedene Wechselwirkungen zwischen den Schichten entstehen [19, 20]. Aufgrund der unzureichenden Maßtreue beim Drucken wurden die Prüfkörper stattdessen durch Ausstreichen in Formen hergestellt, die den Maßen der DIN EN ISO 527:25A entsprechen.

Die Messung der Zugfestigkeit ergab die höchsten Werte für das pufferfreie Gemisch. Von den elf Prüfkörpern der pufferlosen Mischung waren sieben messbar, während die anderen beim Einbau in das Extensometer zerbrachen. Die mittlere Zugfestigkeit betrug 1,7±0,6 MPa mit einem Elastizitätsmodul von 164,5±40,2 MPa (**Bild 3**).

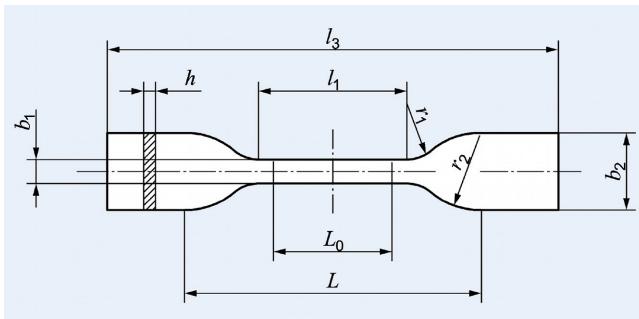


Bild 1. Prüfkörper nach DIN EN ISO 527-2-5A für die Messung der Zugfestigkeit. Grafik: DIN EN ISO 527-2

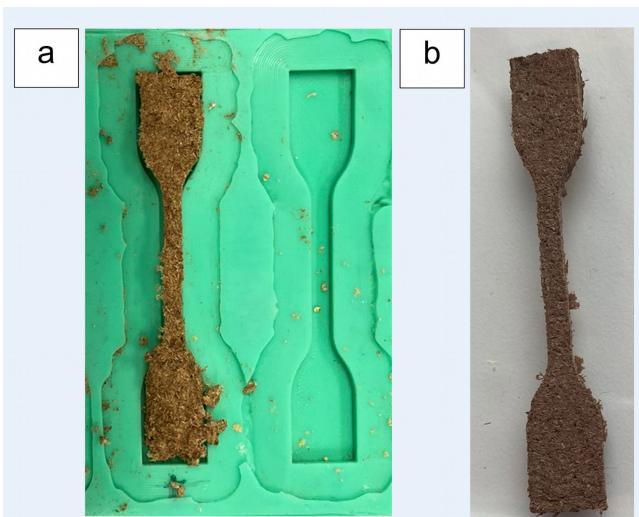


Bild 2. (a) Getrockneter Prüfkörper der pufferfreien Mischung in Silikonform; (b) getrockneter Prüfkörper der pufferhaltigen Mischung, der aus der Silikonform entnommen wurde. Foto: Fraunhofer IPA

Podlena et al. [14] hatten die Scherfestigkeit des Klebstoffs mit einem Feststoffgehalt von 9 % (Sojaproteinisolat, Lignin, Cellulose-Nanofibrillen) auf Holzblöcken aus Weichholz (Südl. Gelbkiefer) nach ASTM D905-08 gemessen. In ihrer Studie wurde eine Scherfestigkeit von 7,57 MPa bei 171 °C und 2,4 MPa Druck erreicht. In unseren Versuchen wurde hingegen ein Klebstoff mit einem Feststoffgehalt von 15 % verwendet, wobei die Cellulose-Nanofibrillen durch mikrokristalline Cellulose ersetzt wurden und die Verarbeitung bei Raumtemperatur erfolgte.

Die pufferhaltige Mischung erreichte eine Zugfestigkeit von 0,6 MPa±0,2 und ein Elastizitätsmodul von 58,6±19,7 MPa (**Bild 3**). Alle drei Prüfkörper konnten für Zugversuche verwendet werden. Die Zugabe von TG in die Mischung führte zu einer Zugfestigkeit von 0,3±0,2 MPa. Drei von neun Prüfkörpern waren stabil genug, um gemessen zu werden. Das Elastizitätsmodul konnte für einen der neun Prüfkörper bestimmt werden und betrug 80,1 MPa.

Die Modifikation der Mischung mit Puffer und TG führte somit zu einer Verringerung der Zugfestigkeit. Zudem könnte die Verarbeitung des Materials bei niedrigeren Temperaturen (Raumtemperatur oder 50 °C mit TG) die Zugfestigkeit weiter reduziert haben. Lignin und Sojaprotein eignen sich eventuell besser für Klebstoffanwendungen, bei denen heiß gepresst wird. Der Versuch, mit TG eine Vernetzung herbeizuführen und damit die

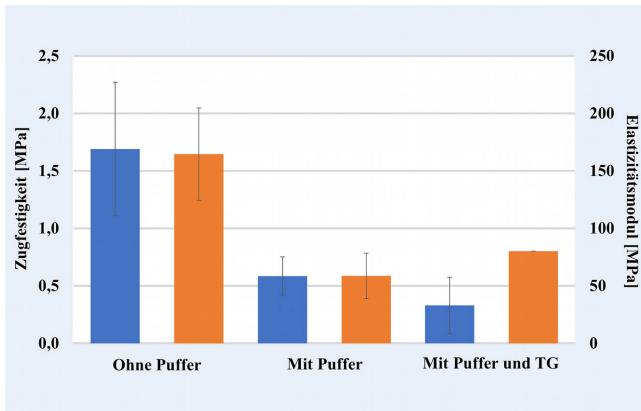


Bild 3. Zugfestigkeit (blau) und Elastizitätsmodul (orange) nach DIN EN ISO 527:2-5A der pufferfreien Mischung ($n=7$), der Mischung mit Natriumacetatpuffer ($n=3$) und der pufferhaltigen Mischung mit Transglutaminase ($n=3$ für Zugfestigkeit, $n=1$ für Elastizitätsmodul). *Grafik: Fraunhofer IPA*

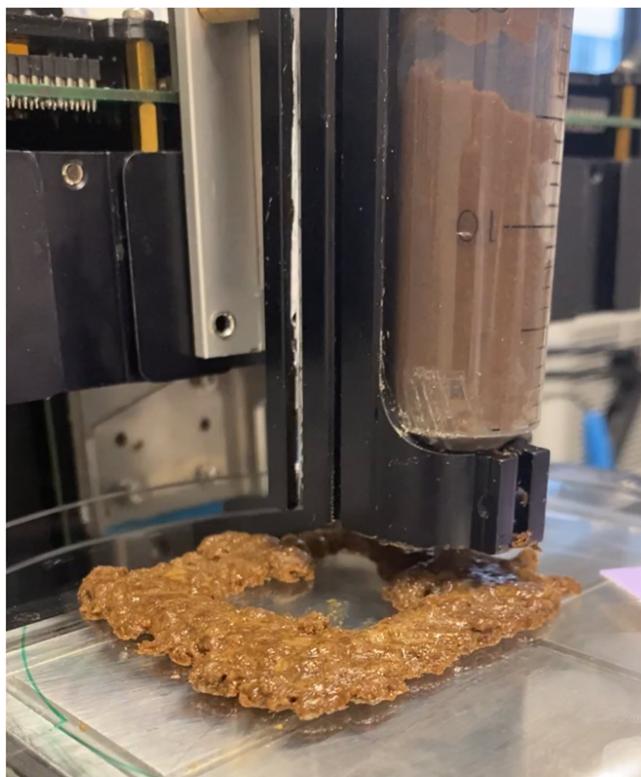


Bild 4. Druck einer 2D-Gitterschicht mit der pufferfreien Mischung.
Foto: Fraunhofer IPA

Materialfestigkeit zu erhöhen, scheint nicht erfolgreich gewesen zu sein. Dies könnte an der Fähigkeit der TG liegen, nicht nur eine Vernetzung von Lysin und Glutamin zu katalysieren, sondern auch eine Deamidierung von Aminosäureresten [15]. Dadurch könnte die Löslichkeit des Sojaproteins verringert oder die Wechselwirkungen innerhalb des Proteins beeinflusst worden sein.

Ein Vergleich von Zugfestigkeiten und Elastizitätsmodulen, die mit gängigen 3D-Druckmaterialien wie PLA erzielt werden, ergibt eine große Bandbreite an Werten. Die veröffentlichten Zugfestigkeiten von PLA erreichen bis zu 120 MPa, während die Elastizitätsmodule bis zu 3700 MPa reichen [21–23]. Vergleicht

man stattdessen stärkebasierte Biokunststoffe ohne PLA, so findet man veröffentlichte Zugfestigkeiten von wenigen MPa bis 27 MPa. Auch die Elastizitätsmodule haben ein breites Spektrum von 14 bis 152 MPa [24–26]. Die Zugfestigkeiten der in dieser Arbeit untersuchten Mischungen sind somit verbesserungsfähig und erreichen noch nicht die marktüblichen Werte.

3.2 Additive Fertigung

Bei den Versuchen zur additiven Fertigung wurde die Druckbarkeit nach folgenden Kriterien bewertet:

1. Herstellung einer homogenen Masse zur gleichmäßigen Extrusion ohne Luftblasen.
2. Bildung eines kontinuierlichen Strangs ohne Bruchstellen.
3. Übereinstimmung der Strangdicke mit den G-Code-Vorgaben.
4. Abwesenheit von Phasentrennung. [8]

Das Drucken der pufferlosen Mischung mit einer Düse von 5 mm war möglich für 2D-Formen (zum Beispiel 2-x-2-Gitter). Dabei wies die Mischung eine gleichmäßige Extrusion auf und bildete ein homogenes Gemisch (**Bild 4**).

Bei 3D-Formen, wie etwa Kegeln, wich das Druckergebnis jedoch von den Spezifikationen ab und veränderte seine Form mit der Zeit. Die mangelnde Formtreue wurde auf die pastöse Konsistenz und den langsamen Trocknungsprozess zurückgeführt, der sich über mehrere Tage hinzog und zu einer allmählichen Ausdehnung der gedruckten Schichten führte.

Als der pH-Wert der Mischung mit einem Natriumacetatpuffer von 8,5 auf 6,5 verändert worden war, kam es zur Phasentrennung beim Drucken, sodass fast ausschließlich flüssige Komponenten extrudiert wurden. Die daraus entstehende Verdichtung der Feststoffe in der Spritze führte dazu, dass die Leistung des Druckers nicht mehr für die Materialextrusion ausreichte. Der 3D-Drucker war daher nicht in der Lage, die pufferhaltige Mischung zu verarbeiten. Die Zugabe von TG führte zu keiner Verbesserung, da die Phasentrennung weiter bestand und somit die Extrusion des Gemisches verhinderte (**Bild 5**).

Basierend auf den Beobachtungen wird angenommen, dass der Puffer eine entscheidende Rolle sowohl bei der Phasentrennung als auch bei der eingeschränkten Druckfähigkeit spielte. Dies könnte auf die Verschiebung des pH-Werts von alkalisch zu leicht sauer zurückgeführt werden, was die Löslichkeit von Sojaproteinisolat und Lignin verringert [14, 27–30]. Die Adhäsionskraft des Bindemittels hängt von der Dispersion des Sojaproteinisolats ab, die unter alkalischen Bedingungen optimal ist. Zwar liegt der isoelektrische Punkt von Sojaprotein in der Regel zwischen pH 4 und 5 [14], was auf einen negativ geladenen Zustand bei pH 6,5 und eine verbesserte Löslichkeit hinweist, doch ist zu beachten, dass der isoelektrische Punkt je nach Verarbeitung des verwendeten Sojaproteinisolats variieren und auch höher ausfallen kann.

Zusätzlich ist die Löslichkeit von Kraftlignin pH-abhängig und beeinflusst die Klebeeigenschaften. Normalerweise löst sich Lignin in alkalischen Lösungen im pH-Bereich von 8 bis 12, abhängig von dem Verhältnis von Hydroxylgruppen zu Phenylpropan [27, 28, 31]. Gelöstes Lignin erhöht tendenziell die Viskosität von Klebstoffen [14] und könnte potenziell eine Phasentrennung in der pufferlosen Mischung verhindern. Durch die Integration des Puffers und die Einstellung des pH-Werts auf 6,5 wurde vermutlich die Löslichkeit des Lignins verringert, was zu einer flüssigeren Konsistenz der Mischung führte. Diese

Veränderung könnte die Trennung der flüssigen von den festen Bestandteilen während des Druckvorgangs erklären.

Ein weiterer Aspekt ist, dass durch die Zugabe von Natriumacetatpuffer möglicherweise andere Reaktionen zwischen den flüssigen Bestandteilen des Klebstoffs stattgefunden haben. Die pufferfreie Mischung enthielt Acetonitril und Natriumhydroxid, welche zu Natriumacetat und Ammoniak reagieren können [32]. Angesichts der neunfachen Menge an Natriumhydroxid im Verhältnis zu Acetonitril könnte es zu einer vollständigen Umwandlung von Acetonitril gekommen sein, wobei ein Überschuss an Natriumhydroxid zurückbleibt. Die pufferhaltige Mischung hingegen enthielt Natriumacetat und Essigsäure, die das Natriumhydroxid neutralisieren und seine Reaktion mit Acetonitril verringern oder verhindern könnten. Das damit vorhandene Acetonitril könnte die Eigenschaften der Feststoffe (Sojaproteinisolat, Zellulose, Lignin und Holzmehl) verändern, deren Wasserbindungsvermögen verringern und damit eine Phasentrennung verursachen.

4 Fazit

In dieser Studie wurden die Druckbarkeit und Zugfestigkeit verschiedener Mischungen für nachhaltige additive Fertigungsmaterialien evaluiert. Auf Basis der Klebstoffzusammensetzung von *Podlena et al.* [14] wurde für die Anwendung der TG eine Variante mit leicht saurem pH-Wert entwickelt. Diese Variante wies aber eine schlechtere Druckbarkeit wegen Phasentrennung auf sowie eine verringerte Zugfestigkeit bei den Prüfkörpern. Mögliche Ursachen wurden diskutiert, wie zum Beispiel eine verringerte Dispersion von Lignin und Sojaprotein bei einem pH-Wert von 6,5 im Vergleich zum ursprünglichen pH-Wert von 8,5. Außerdem wurden Veränderungen bei den Reaktionen zwischen den flüssigen Komponenten sowie veränderte Reaktionsbedingungen bei niedrigeren Temperaturen und Drücken in Betracht gezogen. Die Beeinträchtigung der Materialeigenschaften durch die Zugabe von TG kann durch die Katalyse der Deamidierung anstelle der Vernetzung von Proteinen bedingt sein.

Die diskutierten Ursachen müssen allerdings noch untersucht werden. Um die Hypothesen zu untermauern, könnte eine Analyse der Dispergierbarkeit von Lignin und Sojaprotein in verschiedenen Lösungsmitteln unter unterschiedlichen pH-Bedingungen durchgeführt werden. Insbesondere die Untersuchung der Eigenschaften von Lignin und Sojaprotein in Mischungen aus Natriumhydroxidlösung, Acetonitril und gegebenenfalls Natriumacetatpuffer, könnten wertvolle Erkenntnisse liefern. Darüber hinaus würde eine Analyse der Reaktionen zwischen den Lösungsmitteln (Natriumhydroxid, Acetonitril, Natriumacetatpuffer) zu einem tieferen Verständnis der Materialeigenschaften beitragen. Diese Studie zeigt die Herausforderungen, die mit der Integration von Enzymen in der Materialentwicklung von bio-basierten Werkstoffen für die additive Fertigung verbunden sind. Die Überwindung dieser Hürden könnte den Weg ebnen, Enzyme in nachhaltigen Materialmischungen anstelle umweltschädlicher Stoffe zu verwenden.

Zukünftige Forschungsarbeiten können sich darauf fokussieren, eine TG zu verwenden, die unter alkalischen Bedingungen aktiv ist, sodass keine pH-Einstellung per Puffer notwendig ist. Die verwendete TG in dieser Studie hatte einen pH-Bereich von

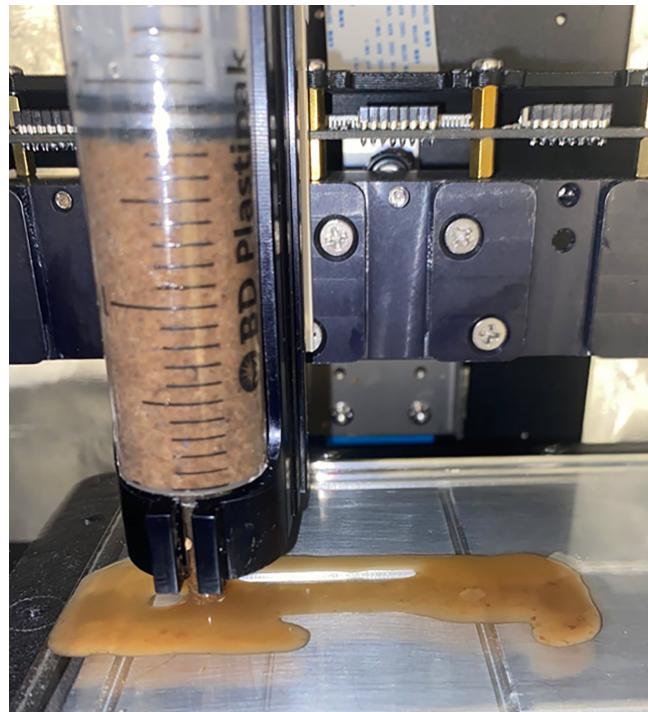


Bild 5. Phasentrennung während des 3D-Drucks der Mischung mit Natriumacetatpuffer und Transglutaminase. Foto: Fraunhofer IPA

4 bis 9 (laut Hersteller), wobei das Optimum bei pH 7 lag. Daher könnte es sinnvoll sein, Enzyme zu erforschen, die alkalischeren Bedingungen standhalten können [33]. Die Erhöhung der TG-Konzentration unter alkalischeren Bedingungen könnte die verringerte Aktivität kompensieren. Auch sind Analysen erforderlich, um die Vernetzung von Sojaprotein durch TG nachzuweisen. Eine weitere Möglichkeit besteht darin, die Kompatibilität von TG mit anderen Proteinen zu untersuchen, die möglicherweise ein höheres Vernetzungspotenzial als Sojaprotein haben.

Bevor das hier vorgestellte Material für die additive Fertigung industriell eingesetzt werden kann, sind weitere Forschungsarbeiten erforderlich. Diese Arbeit bietet einen Überblick über die experimentellen Bemühungen und gewährt einen Einblick in die Herausforderungen bei der Entwicklung biobasierter und biologisch abbaubarer Materialien für die additive Fertigung.

FÖRDERHINWEIS

Fachagentur für Nachwachsende Rohstoffe e.V. (FNR) und Bundesminister für Ernährung und Landwirtschaft. Projekt „Insect Inspired Manufacturing“, Förderkennzeichen 2221HV005X

DANKSAGUNG

Die Autoren danken der Tecnaro GmbH für die Bereitstellung von Cellulose, Lignin und Holzmehl.

L iteratur

- [1] Miehe, R.; Schneider, R.; Baaij, F. et al.: Criticality of Material Resources in Industrial Enterprises – Structural Basics of an Operational Model. *Procedia CIRP* 48 (2016), pp. 1–9
- [2] Miehe, R.; Buckreus, L.; Kiemel, S. et al.: A Conceptual Framework for Biointelligent Production—Calling for Systemic Life Cycle Thinking in Cellular Units. *Clean Technologies* 3 (2021) 4, pp. 844–857
- [3] Weiss, M.; Haufe, J.; Carus, M. et al.: A Review of the Environmental Impacts of Biobased Materials. *Journal of Industrial Ecology* 16 (2012) s1, doi.org/10.1111/j.1530-9290.2012.00468.x
- [4] Ferrari, F.; Striani, R.; Fico, D. et al.: An Overview on Wood Waste Valorization as Biopolymers and Biocomposites: Definition, Classification, Production, Properties and Applications. *Polymers* 14 (2022) 24, #5519, doi.org/10.3390/polym14245519
- [5] Cabeza, C.; Gaffey, J.; Hendriks, K. et al.: Potential of biomass sidestreams for a sustainable biobased economy. Bringing added value to agriculture and forest sectors by closing the research and innovation divide. Stuttgart: Steinbeis-Edition 2019
- [6] Hassan, M. K.; Villa, A.; Kuittinen, S. et al.: An assessment of side-stream generation from Finnish forest industry. *Journal of Material Cycles and Waste Management* 21 (2019) 2, pp. 265–280
- [7] Full, J.; Shoshi, A.; Gamero, E. et al.: Biointelligent Waste-to-X systems: A novel concept for sustainable, decentralized and interconnected value creation. *Procedia CIRP* 116 (2023), pp. 576–581
- [8] Protte, K.; Schwarz, O.: Additive manufacturing with chitin – Investigating the feasibility of an enzyme-assisted material approach for more sustainability. *Procedia CIRP* 107 (2022), pp. 149–154
- [9] Silber, N.; Hessel, J.; Eigner, S. et al.: Towards an Enzymatic Approach to Valorize Wood Residues for Industrial Production in a Circular Bioeconomy. *Procedia CIRP* 116 (2023), pp. 450–455
- [10] Protte-Freitag, K.; Gotzig, S.; Rothe, H. et al.: Enzyme-Assisted Circular Additive Manufacturing as an Enabling Technology for a Circular Bioeconomy—A Conceptual Review. *Sustainability* 16 (2024) 5, #2167, doi.org/10.3390/su16052167
- [11] Zaaba, N. F.; Jaafar, M.: A review on degradation mechanisms of polylactic acid: Hydrolytic, photodegradative, microbial, and enzymatic degradation. *Polymer Engineering & Science* 60 (2020) 9, pp. 2061–2075
- [12] Rosli, N. A.; Karamanlioglu, M.; Kargazadeh, H. et al.: Comprehensive exploration of natural degradation of poly(lactic acid) blends in various degradation media: A review. *International Journal of Biological Macromolecules* 187 (2021), pp. 732–741
- [13] Suarez, N. E.; Inalbon, M. C.; Meyer, C. I. et al.: A Wood Bioplastic Composite From Soy Flour And Sawdust. *Latin American applied research* 50 (2020) 2, pp. 95–100
- [14] Podlena, M.; Böhm, M.; Saloni, D. et al.: Tuning the Adhesive Properties of Soy Protein Wood Adhesives with Different Coadjutant Polymers, Nanocellulose and Lignin. *Polymers* 13 (2021) 12, doi.org/10.3390/polym13121972
- [15] Kieliszek, M.; Misiewicz, A.: Microbial transglutaminase and its application in the food industry. A review. *Folia microbiologica* 59 (2014) 3, pp. 241–250
- [16] Greenberg, C. S.; Birckbichler, P. J.; Rice, R. H.: Transglutaminases: multifunctional cross-linking enzymes that stabilize tissues. *FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 5 (1991) 15, pp. 3071–3077
- [17] Gouseti, O.; Larsen, M. E.; Amin, A. et al.: Applications of Enzyme Technology to Enhance Transition to Plant Proteins: A Review. *Foods* (Basel, Switzerland) 12 (2023) 13, doi.org/10.3390/foods12132518
- [18] Zeeb, B.; McClements, D. J.; Weiss, J.: Enzyme-Based Strategies for Structuring Foods for Improved Functionality. *Annual review of food science and technology* 8 (2017), pp. 21–34
- [19] Shanbhag, G.; Wheat, E.; Moylan, S. et al.: Effect of specimen geometry and orientation on tensile properties of Ti-6Al-4V manufactured by electron beam powder bed fusion. *Additive Manufacturing* 48 Part A (2021), #102366
- [20] Batley, A.; Glithro, R.; Dyer, B. et al.: Evaluation of Tensile Strength and Repeatability of 3D Printed Carbon Fiber Materials and Processes. *3D Printing and Additive Manufacturing* 11 (2024) 5, doi.org/10.1089/3dp.2022.0262
- [21] Tanveer, M. Q.; Haleem, A.; Suhaib, M.: Effect of variable infill density on mechanical behaviour of 3-D printed PLA specimen: an experimental investigation. *SN Applied Sciences* 1 (2019), #1701
- [22] Travieso-Rodriguez, J. A.; Jerez-Mesa, R.; Llumà, J. et al.: Mechanical Properties of 3D-Printing Polylactic Acid Parts subjected to Bending Stress and Fatigue Testing. *Materials* (Basel, Switzerland) 12 (2019) 23, doi.org/10.3390/ma12233859
- [23] Atakok, G.; Kam, M.; Koc, H. B.: Tensile, three-point bending and impact strength of 3D printed parts using PLA and recycled PLA filaments: A statistical investigation. *Journal of Materials Research and Technology* 18 (2022), pp. 1542–1554
- [24] Novianti, T.; Anna, I. D.; Cahyadi, I.: Optimization of bioplastic's tensile strength. *Journal of Physics: Conference Series* 1211 (2019), #12048
- [25] Hariati, A.; Harsojuwono, B. A.; Suyanto, H. et al.: Characteristics of starch-based bioplastic composites in the ratio variations of the polysaccharide mixture. *International Journal of Pharmaceutical Research* 13 (2021) 02, doi.org/10.31838/ijpr/2021.13.02.223
- [26] Amin, M. R.; Chowdhury, M. A.; Kowser, M. A.: Characterization and performance analysis of composite bioplastics synthesized using titanium dioxide nanoparticles with corn starch. *Heliyon* 5 (2019) 8, e02009
- [27] Evstigneev, E. I.: Specific features of lignin dissolution in aqueous and aqueous-organic media. *Russian Journal of Applied Chemistry* 83 (2010) 3, pp. 509–513
- [28] Evstigneev, E. I.: Factors affecting lignin solubility. *Russian Journal of Applied Chemistry* 84 (2011) 6, pp. 1040–1045
- [29] Mauri, A. N.; Arón, M. C.: Effect of solution pH on solubility and some structural properties of soybean protein isolate films. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 86 (2006) 7, pp. 1064–1072
- [30] Evstigneyev, E. I.; Shevchenko, S. M.: Structure, chemical reactivity and solubility of lignin: a fresh look. *Wood Science and Technology* 53 (2019) 1, pp. 7–47
- [31] Melro, E.; Alves, L.; Antunes, F. E. et al.: A brief overview on lignin dissolution. *Journal of Molecular Liquids* 265 (2018), pp. 578–584
- [32] Gilomen, K.; Stauffer, H. P.; Meyer, V. R.: Detoxification of Acetonitrile – Water Wastes from Liquid Chromatography. *Chromatographia* 41 (1995) 7/8, pp. 488–491
- [33] Jin, M.; Huang, J.; Pei, Z. et al.: Purification and characterization of a high-salt-resistant microbial transglutaminase from *Streptomyces mobaraensis*. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* 133 (2016), pp. 6–11



Stephanie Eigner, M. Sc.

stephanie.eigner@ipa.fraunhofer.de

Tel. +49 711 970-1357

Foto: Fraunhofer IPA

Silja Hohmann, M. Sc.

Dr. Kristin Protte-Freitag

Hannah Rothe

PD Dr.-Ing. Robert Miehe

Fraunhofer-Institut für Produktionstechnik und Automatisierung IPA
Nobelstr. 12, 70569 Stuttgart
www.ipa.fraunhofer.de

Dr. Henrik-Alexander Christ

Fraunhofer-Institut für Holzforschung,
Wilhelm-Klauditz-Institut, WKI
Riedenkamp 3, 38108 Braunschweig
www.wki.fraunhofer.de

L I Z E N Z

Dieser Fachaufsatz steht unter der Lizenz Creative Commons Namensnennung 4.0 International (CC BY 4.0)