

Biokunststoffe

Till Helge Helwig

Eberhard-Karls-Universität Tübingen

Seminar "Pflanzen als Lieferanten alternativer Energien"

19. & 20. Februar 2010

- 1 Grundlagen
 - Konservative Ansätze
 - Biotechnologische Ansätze
- 2 Cyanophycin aus Kartoffeln
 - Motivation und Grundlagen
 - Methode
 - Ergebnisse
- 3 Zusammenfassung

- 1 Grundlagen
 - Konservative Ansätze
 - Biotechnologische Ansätze
- 2 Cyanophycin aus Kartoffeln
 - Motivation und Grundlagen
 - Methode
 - Ergebnisse
- 3 Zusammenfassung

Synthetische Kunststoffe

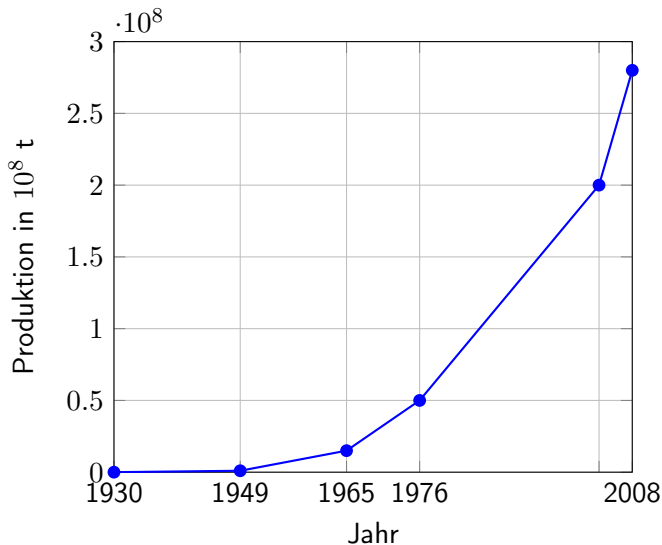
Polypropylen	Klodeckel, Gartenmöbel, ...
Polyethylen	Verpackungsfolien, Tragetaschen, ...
Polyvinylchlorid	Bodenbeläge, Dichtungen, ...
Polystyrol	Isolierung, Dämmstoff, ...
Polyurethan	Schwämme, Matratzen, ...
Polyethylenterephthalat	Sicherheitsgurte, Prothesen, ...

Synthetische Kunststoffe

Polypropylen	Klodeckel, Gartenmöbel, ...
Polyethylen	Verpackungsfolien, Tragetaschen, ...
Polyvinylchlorid	Bodenbeläge, Dichtungen, ...
Polystyrol	Isolierung, Dämmstoff, ...
Polyurethan	Schwämme, Matratzen, ...
Polyethylenterephthalat	Sicherheitsgurte, Prothesen, ...

- Weitere Spezialkunststoffe für besondere Anwendungen

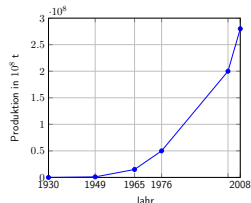
Synthetische Kunststoffe



Synthetische Kunststoffe

Polypropylen	Klodeckel, Gartenmöbel, ...
Polyethylen	Verpackungsfolien, Tragetaschen, ...
Polyvinylchlorid	Bodenbeläge, Dichtungen, ...
Polystyrol	Isolierung, Dämmstoff, ...
Polyurethan	Schwämme, Matratzen, ...
Polyethylenterephthalat	Sicherheitsgurte, Prothesen, ...

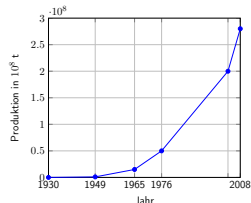
- Weitere Spezialkunststoffe für besondere Anwendungen
- Jährliche Produktion weltweit:
über **250 Millionen Tonnen**



Synthetische Kunststoffe

Polypropylen	Klodeckel, Gartenmöbel, ...
Polyethylen	Verpackungsfolien, Tragetaschen, ...
Polyvinylchlorid	Bodenbeläge, Dichtungen, ...
Polystyrol	Isolierung, Dämmstoff, ...
Polyurethan	Schwämme, Matratzen, ...
Polyethylenterephthalat	Sicherheitsgurte, Prothesen, ...

- Weitere Spezialkunststoffe für besondere Anwendungen
 - Jährliche Produktion weltweit:
über **250 Millionen Tonnen**
- ⇒ Sehr **langsam verrottender Müll** in gigantischen Mengen trotz Recycling
- Großteil der Herstellungsprozesse benötigt den **fossilen Rohstoff Erdöl**



Herstellung synthetischer Kunststoffe

- **Polymerisations-Reaktionen**
 - **Monomere** organischer Substanzen reagieren zu **Polymeren**
 - **Katalysatoren** ermöglichen die nötige Spaltung von **Mehrfachbindungen**

Herstellung synthetischer Kunststoffe

- **Polymerisations-Reaktionen**

- **Monomere** organischer Substanzen reagieren zu **Polymeren**
- **Katalysatoren** ermöglichen die nötige Spaltung von **Mehrfachbindungen**

- **Polykondensations-Reaktionen**

- Unter **Abspaltung einfacher Moleküle** verbinden sich Monomere zu Polymeren
- **Nebenprodukte:** Chlorwasserstoff, Ammoniak, Alkohole, Wasser

Herstellung synthetischer Kunststoffe

- **Polymerisations-Reaktionen**
 - **Monomere** organischer Substanzen reagieren zu **Polymeren**
 - **Katalysatoren** ermöglichen die nötige Spaltung von **Mehrfachbindungen**
- **Polykondensations-Reaktionen**
 - Unter **Abspaltung einfacher Moleküle** verbinden sich Monomere zu Polymeren
 - **Nebenprodukte:** Chlorwasserstoff, Ammoniak, Alkohole, Wasser
- Jeweils mehrere **unterschiedliche Herstellungsverfahren**
- **Industrielle Nutzung** findet in beiden Fällen statt

Herstellung synthetischer Kunststoffe

- **Polymerisations-Reaktionen**
 - **Monomere** organischer Substanzen reagieren zu **Polymeren**
 - **Katalysatoren** ermöglichen die nötige Spaltung von **Mehrfachbindungen**
- **Polykondensations-Reaktionen**
 - Unter **Abspaltung einfacher Moleküle** verbinden sich Monomere zu Polymeren
 - **Nebenprodukte:** Chlorwasserstoff, Ammoniak, Alkohole, Wasser
- Jeweils mehrere **unterschiedliche Herstellungsverfahren**
- **Industrielle Nutzung** findet in beiden Fällen statt
- Organische Substanzen werden meistens aus **Erdöl** gewonnen

Biologisch abbaubare Kunststoffe

Natürliche Stoffe mit Kunststoff-Eigenschaften:

Stärke	Medikamentkapseln, ...
Stärke + Polymere	Folien, Tragetaschen, Joghurtbecher, ...
Cellulose	Viskose, Filme, Tischtennisbälle, ...
Polymilchsäure	Transparente Folien, Kunststoffteile, ...
Polyhydroxyalkanoate	Verpackungen, Implantate, Kleber, ...

Biologisch abbaubare Kunststoffe

Natürliche Stoffe mit Kunststoff-Eigenschaften:

Stärke	Medikamentkapseln, ...
Stärke + Polymere	Folien, Tragetaschen, Joghurtbecher, ...
Cellulose	Viskose, Filme, Tischtennisbälle, ...
Polymilchsäure	Transparente Folien, Kunststoffteile, ...
Polyhydroxyalkanoate	Verpackungen, Implantate, Kleber, ...

- Viele **weitere Substanzen** werden auf Nutzbarkeit getestet

Biologisch abbaubare Kunststoffe

Natürliche Stoffe mit Kunststoff-Eigenschaften:

Stärke	Medikamentkapseln, ...
Stärke + Polymere	Folien, Tragetaschen, Joghurtbecher, ...
Cellulose	Viskose, Filme, Tischtennisbälle, ...
Polymilchsäure	Transparente Folien, Kunststoffteile, ...
Polyhydroxyalkanoate	Verpackungen, Implantate, Kleber, ...

- Viele **weitere Substanzen** werden auf Nutzbarkeit getestet
- Verbrauch in Westeuropa 2007:
~**65.000 Tonnen** (~1% Marktanteil)

Biologisch abbaubare Kunststoffe

Natürliche Stoffe mit Kunststoff-Eigenschaften:

Stärke	Medikamentkapseln, ...
Stärke + Polymere	Folien, Tragetaschen, Joghurtbecher, ...
Cellulose	Viskose, Filme, Tischtennisbälle, ...
Polymilchsäure	Transparente Folien, Kunststoffteile, ...
Polyhydroxyalkanoate	Verpackungen, Implantate, Kleber, ...

- Viele **weitere Substanzen** werden auf Nutzbarkeit getestet
- Verbrauch in Westeuropa 2007:
~**65.000 Tonnen** (~1% Marktanteil)
- Zweistellige Wachstumszahlen, Vorhersage für 2010:
1,4 Millionen Tonnen

Produktpalette



Gewinnung biologisch abbaubarer Kunststoffe

- Gewinnung aus Pflanzen
 - **Kartoffeln, Mais, ...** (→ Stärke)
 - **Baumwolle, Hartholz, ...** (→ Cellulose)

Gewinnung biologisch abbaubarer Kunststoffe

- Gewinnung aus Pflanzen
 - **Kartoffeln, Mais, ...** (→ Stärke)
 - **Baumwolle, Hartholz, ...** (→ Cellulose)
- **Polymerisation** bspw. von Milchsäure

Gewinnung biologisch abbaubarer Kunststoffe

- Gewinnung aus Pflanzen
 - **Kartoffeln, Mais, ...** (→ Stärke)
 - **Baumwolle, Hartholz, ...** (→ Cellulose)
- Polymerisation bspw. von Milchsäure
- Fermentation
 - durch **Mikroorganismen**
 - durch direkte Zugabe von **Enzymen**

Gewinnung biologisch abbaubarer Kunststoffe

- Gewinnung aus Pflanzen
 - **Kartoffeln, Mais, ...** (→ Stärke)
 - **Baumwolle, Hartholz, ...** (→ Cellulose)
- **Polymerisation** bspw. von Milchsäure
- **Fermentation**
 - durch **Mikroorganismen**
 - durch direkte Zugabe von **Enzymen**
- **Gentechnische Methoden** (“weiße Gentechnik”)
 - Induktion der Synthese einer Substanz durch **Gentransformation**
 - Erhöhung der Stoffproduktion durch **Metabolismus-Optimierung**

Probleme bei der Gewinnung

- Organismen **nicht geeignet** zum Einsatz im Bioreaktor
- **Produktionsmengen** zu gering
- Kultivierung der Organismen zu **teuer**
- Verfahren zur **Extraktion** der Substanzen zu ineffizient

- 1 Grundlagen
 - Konservative Ansätze
 - Biotechnologische Ansätze
- 2 Cyanophycin aus Kartoffeln
 - Motivation und Grundlagen
 - Methode
 - Ergebnisse
- 3 Zusammenfassung

Motivation

- Forschungsarbeit von **Maja Hühns et al.** aus dem letzten Jahr
- **Polyaspartat** kann viele synthetische Kunststoffe in Medizin und Industrie ersetzen
- Bisher ist nur die **chemische Synthese** als effiziente Möglichkeit zur Gewinnung bekannt

Motivation

- Forschungsarbeit von **Maja Hühns et al.** aus dem letzten Jahr
- **Polyaspartat** kann viele synthetische Kunststoffe in Medizin und Industrie ersetzen
- Bisher ist nur die **chemische Synthese** als effiziente Möglichkeit zur Gewinnung bekannt
- **Gesucht:** Gut kultivierbarer Organismus, der Polyaspartat herstellt

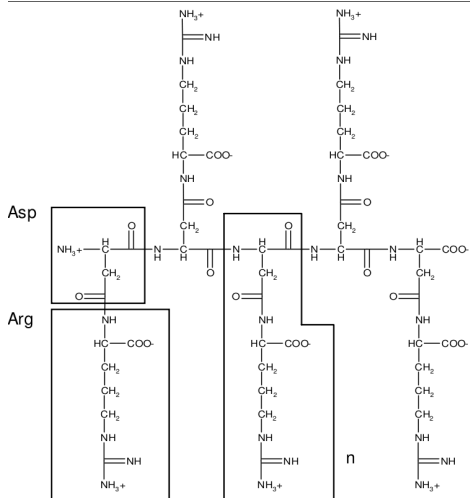
Motivation

- Forschungsarbeit von **Maja Hühns et al.** aus dem letzten Jahr
- **Polyaspartat** kann viele synthetische Kunststoffe in Medizin und Industrie ersetzen
- Bisher ist nur die **chemische Synthese** als effiziente Möglichkeit zur Gewinnung bekannt
- **Gesucht:** Gut kultivierbarer Organismus, der Polyaspartat herstellt
- Der in Cyanobakterien auftretende Stoff **Cyanophycin** hat ein Polyaspartat-Backbone

Motivation

- Forschungsarbeit von **Maja Hühns et al.** aus dem letzten Jahr
- **Polyaspartat** kann viele synthetische Kunststoffe in Medizin und Industrie ersetzen
- Bisher ist nur die **chemische Synthese** als effiziente Möglichkeit zur Gewinnung bekannt
- **Gesucht:** Gut kultivierbarer Organismus, der Polyaspartat herstellt
- Der in Cyanobakterien auftretende Stoff **Cyanophycin** hat ein Polyaspartat-Backbone
- Es konnten bereits **Tabakpflanzen** zur Herstellung von Cyanophycin in den Blättern gebracht werden

Cyanophycin Strukturformel (β -Asp-Arg)



Quelle: Holger Berg, Dissertation

Cyanophycin

- Polyaspartat kann mit **“sanfter Hydrolyse”** aus Cyanophycin gewonnen werden

Cyanophycin

- Polyaspartat kann mit **“sanfter Hydrolyse”** aus Cyanophycin gewonnen werden
- Synthese in vielen Cyanobakterien durch **Cyanophycin-Synthetase** abseits der Ribosomen
- Reaktion ist **ATP-abhängig**

Cyanophycin

- Polyaspartat kann mit **“sanfter Hydrolyse”** aus Cyanophycin gewonnen werden
- Synthese in vielen Cyanobakterien durch **Cyanophycin-Synthetase** abseits der Ribosomen
- Reaktion ist **ATP-abhängig**
- Synthetase wird codiert durch das Gen **cphA**

Cyanophycin

- Polyaspartat kann mit **“sanfter Hydrolyse”** aus Cyanophycin gewonnen werden
- Synthese in vielen Cyanobakterien durch **Cyanophycin-Synthetase** abseits der Ribosomen
- Reaktion ist **ATP-abhängig**
- Synthetase wird codiert durch das Gen **cphA**
- Cyanophycin liegt **wasserunlöslich** im Microorganismus in Form membranloser **Körnchen** vor

Massenproduktion

- Suche nach Möglichkeiten **große Mengen** Cyanophycin in Pflanzen zu erzeugen

Massenproduktion

- Suche nach Möglichkeiten **große Mengen** Cyanophycin in Pflanzen zu erzeugen
 - **Restriktion der Expression** des eingebrachten Gens auf relevante Zellen essentiell
- ⇒ Minimierung des **negativen Einflusses** auf Pflanzenwachstum, Fitness und Samenbildung

Massenproduktion

- Suche nach Möglichkeiten **große Mengen** Cyanophycin in Pflanzen zu erzeugen
 - **Restriktion der Expression** des eingebrachten Gens auf relevante Zellen essentiell
- ⇒ Minimierung des **negativen Einflusses** auf Pflanzenwachstum, Fitness und Samenbildung
- **Transformation** von Kartoffelpflanzen mittels Plasmid des Blumenkohl-Mosaik-Virus:

Expression	In Knollen	In Blättern
Transformations-Target	Patatain (Häufigstes Speicherprotein)	Transitpeptid im Photosystem II

Plasmide

Expression in Knollen



Expression in Blättern

Kultivierung, Kontrolle & Auswertung

- Jeweils Transformation von **Kontrollpflanzen** mit reinem Plasmid
- **60 (Knolle) + 75 (Blätter)** Pflanzen wachsen lassen

Kultivierung, Kontrolle & Auswertung

- Jeweils Transformation von **Kontrollpflanzen** mit reinem Plasmid
- **60 (Knolle) + 75 (Blätter)** Pflanzen wachsen lassen
- Test auf **Transformations-Erfolg** mittels PCR der Blatt-DNA

Kultivierung, Kontrolle & Auswertung

- Jeweils Transformation von **Kontrollpflanzen** mit reinem Plasmid
- **60 (Knolle) + 75 (Blätter)** Pflanzen wachsen lassen
- Test auf **Transformations-Erfolg** mittels PCR der Blatt-DNA
- Wachstumszeit: **3 Monate**
- Untersuchung nach **phänotypischen Abweichungen**
- Ermittlung des **Cyanophycin-Gehalts** in den Knollen

Kultivierung, Kontrolle & Auswertung

- Jeweils Transformation von **Kontrollpflanzen** mit reinem Plasmid
- **60 (Knolle) + 75 (Blätter)** Pflanzen wachsen lassen
- Test auf **Transformations-Erfolg** mittels PCR der Blatt-DNA
- Wachstumszeit: **3 Monate**
- Untersuchung nach **phänotypischen Abweichungen**
- Ermittlung des **Cyanophycin-Gehalts** in den Knollen
- Untersuchung der Auswirkungen von **Düngung und Lagerung**
- Versuch **weitere Generation** heranzuziehen

Cyanophycin-Gehalt

- **Kein Cyanophycin** in den Blättern der Pflanzen

Cyanophycin-Gehalt

- **Kein Cyanophycin** in den Blättern der Pflanzen
- **Fast alle Knollen** beider Klone enthielten Cyanophycin:

Expression	Knolle	Blätter
Durchschnitt	13,5 $\frac{mg}{g}$	37,6 $\frac{mg}{g}$
Maximum	22,9 $\frac{mg}{g}$	75,2 $\frac{mg}{g}$
Lokalisation	Cytoplasma & Nucleus	Amyloplasten

Cyanophycin-Gehalt

- Kein Cyanophycin in den Blättern der Pflanzen
- Fast alle Knollen beider Klone enthielten Cyanophycin:

Expression	Knolle	Blätter
Durchschnitt	13,5 $\frac{mg}{g}$	37,6 $\frac{mg}{g}$
Maximum	22,9 $\frac{mg}{g}$	75,2 $\frac{mg}{g}$
Lokalisation	Cytoplasma & Nucleus	Amyloplasten

- Cyanophycin tritt in Form von **Körnchen** auf, in älteren Knollen **faserig**

Cyanophycin-Gehalt

- **Kein Cyanophycin** in den Blättern der Pflanzen
- **Fast alle Knollen** beider Klone enthielten Cyanophycin:

Expression	Knolle	Blätter
Durchschnitt	13,5 $\frac{mg}{g}$	37,6 $\frac{mg}{g}$
Maximum	22,9 $\frac{mg}{g}$	75,2 $\frac{mg}{g}$
Lokalisation	Cytoplasma & Nucleus	Amyloplasten

- Cyanophycin tritt in Form von **Körnchen** auf, in älteren Knollen **faserig**
- Leicht verringerter **Stärkegehalt** in den Knollen

Zustand der Knollen

- **Weniger Knollen** als bei Kontrollpflanzen
- Aber **kein** Zusammenhang zwischen Cyanophycin-Gehalt und Knollen-Anzahl

Zustand der Knollen

- **Weniger Knollen** als bei Kontrollpflanzen
- Aber **kein** Zusammenhang zwischen Cyanophycin-Gehalt und Knollen-Anzahl
- Ein geringer Anteil der Knollen weist **braune Schadstellen** auf
- **Lagerung** erhöht diesen Anteil, jedoch **ohne** Einfluss auf den Cyanophycin-Gehalt

Zustand der Knollen

- **Weniger Knollen** als bei Kontrollpflanzen
- Aber **kein** Zusammenhang zwischen Cyanophycin-Gehalt und Knollen-Anzahl
- Ein geringer Anteil der Knollen weist **braune Schadstellen** auf
- **Lagerung** erhöht diesen Anteil, jedoch **ohne** Einfluss auf den Cyanophycin-Gehalt
- **Aminosäure-Zusammensetzung** in transgenene Knollen ist verändert (Bausteine für Cyanophycin!)

Zustand der Knollen

- **Weniger Knollen** als bei Kontrollpflanzen
- Aber **kein** Zusammenhang zwischen Cyanophycin-Gehalt und Knollen-Anzahl
- Ein geringer Anteil der Knollen weist **braune Schadstellen** auf
- **Lagerung** erhöht diesen Anteil, jedoch **ohne** Einfluss auf den Cyanophycin-Gehalt
- **Aminosäure-Zusammensetzung** in transgenene Knollen ist verändert (Bausteine für Cyanophycin!)
- Erhöhte Zufuhr von **Dünger** hat keine Auswirkungen

Zustand der Knollen

- **Weniger Knollen** als bei Kontrollpflanzen
- Aber **kein** Zusammenhang zwischen Cyanophycin-Gehalt und Knollen-Anzahl
- Ein geringer Anteil der Knollen weist **braune Schadstellen** auf
- **Lagerung** erhöht diesen Anteil, jedoch **ohne** Einfluss auf den Cyanophycin-Gehalt
- **Aminosäure-Zusammensetzung** in transgenene Knollen ist verändert (Bausteine für Cyanophycin!)
- Erhöhte Zufuhr von **Dünger** hat keine Auswirkungen
- Transgene Knollen **keimen** und wachsen zu Wildtyp-Pflanzen heran

- 1 Grundlagen
 - Konservative Ansätze
 - Biotechnologische Ansätze
- 2 Cyanophycin aus Kartoffeln
 - Motivation und Grundlagen
 - Methode
 - Ergebnisse
- 3 Zusammenfassung

Schlussfolgerungen

- Pflanzen können zur **Cyanophycin-Herstellung** verwendet werden

Schlussfolgerungen

- Pflanzen können zur **Cyanophycin-Herstellung** verwendet werden
- ⇒ Alternative zur chemischen Synthese von **Polyaspartat** möglich, aber noch viel **Forschungsarbeit nötig**

Schlussfolgerungen

- Pflanzen können zur **Cyanophycin-Herstellung** verwendet werden
- ⇒ Alternative zur chemischen Synthese von **Polyaspartat** möglich, aber noch viel **Forschungsarbeit nötig**
- **Biokunststoffe** stellen ein sehr aktives Forschungsgebiet dar

Schlussfolgerungen

- Pflanzen können zur **Cyanophycin-Herstellung** verwendet werden
- ⇒ Alternative zur chemischen Synthese von **Polyaspartat** möglich, aber noch viel **Forschungsarbeit nötig**
- **Biokunststoffe** stellen ein sehr aktives Forschungsgebiet dar
- ⇒ In immer mehr Bereichen werden sie konservative Kunststoffe **verdrängen**

Schlussfolgerungen

- Pflanzen können zur **Cyanophycin-Herstellung** verwendet werden
- ⇒ Alternative zur chemischen Synthese von **Polyaspartat** möglich, aber noch viel **Forschungsarbeit nötig**
- **Biokunststoffe** stellen ein sehr aktives Forschungsgebiet dar
- ⇒ In immer mehr Bereichen werden sie konservative Kunststoffe **verdrängen**
- ⇒ **Größte Herausforderung:** Wirtschaftlichkeit mit Umweltbilanz in Einklang bringen

Danke für's Zuhören.

Fragen? Anmerkungen?

Referenzen:



Holger Berg.

Untersuchungen zu Funktion und Struktur der Cyanophycin-Synthetase von Anabaena variabilis.
PhD thesis, Humboldt-Universität Berlin, 2003.



Fachagentur für Nachwachsende Rohstoffe.

Dynamischer Verlauf der Produktionskapazität für thermoplastische Biopolymere, 2008.



M. Hühns et al.

Tuber-specific cph A expression to enhance cyanophycin production in potatoes.
Plant Biotechnology, 7:1–16, 2009.



W. Kaiser.

Kunststoffchemie für Ingenieure.
Hanser Fachbuchverlag, 2007.