

Abschlußbericht

Zuwendungsempfänger

SÜDZUCKER AG Mannheim/Ochsenfurt
Maximilianstraße 10
68028 Mannheim

Förderkennzeichen

96NR116-F

Vorhabensbezeichnung:

Verbundprojekt: Synthese linearer hochmolekularer Polysaccharide auf Basis von Saccharose
als nachwachsende Rohstoffe in der Zuckerrübe

Teilvorhaben 3: Ausarbeitung einer Produktextraktionstechnologie, Produktherstellung,
Derivatisierung, Charakterisierung und anwendungstechnische Prüfung

Laufzeit des Vorhabens:

01.01.1997 bis 31.12.1999

Inhaltsverzeichnis

1.	Abschlußbericht	3
1.1	Aufgabenstellung.....	3
1.1.1	Voraussetzung zur Durchführung des Vorhabens.....	4
1.1.2	Planung und Ablauf des Vorhabens	4
1.1.3	Wissenschaftlicher und technischer Stand	5
1.1.4	Zusammenarbeit mit anderen Stellen	6
1.2	Eingehende Darstellung der wissenschaftlichen Ergebnisse.....	6
1.2a	Bakterielle Fructosyltransferasen	6
1.2b	Pflanzliche Fructosyltransferasen.....	12
1.2c	Synthese und Charakterisierung von Derivaten sowie ihre anwendungstechnischen Untersuchungen.....	14
1.3	Voraussichtlicher Nutzen, insbesondere der Verwertbarkeit der Ergebnisse.....	31
1.3.1	Fortschritte seitens Dritter während des Vorhabens.....	31
1.3.2	Die erfolgten oder geplanten Veröffentlichungen	32
1.4	Erfolgskontrollbericht	32
1.5	Zusammenfassung	33

1. Abschlußbericht

1.1 Aufgabenstellung

Das Vorhaben baute direkt auf Vorarbeiten eines dreijährigen Verbundprojektes (FKZ: 10539 A) zwischen der Kleinwanzlebener Saatzucht AG (KWS), dem Max-Planck-Institut für Molekulare Pflanzenphysiologie (MPI, Golm) sowie der Südzucker AG Mannheim/Ochsenfurt zur Polyfructansynthese in transgenen Pflanzen auf. Schwerpunktmäßig sollte in dem Teilvorhaben lineares, hochmolekulares Inulin mikrobiell aus Saccharose mittels Enzyme bakteriellen Ursprungs hergestellt werden. Weiterhin sollten genetische Modifikationen der ausgewählten Mikroorganismen zu einer Steigerung der Enzymausbeute und zur Veränderung der strukturellen Eigenschaften der Inuline führen. Es war auch beabsichtigt, durch Chimärenbildung mit Genen anderer Fructosyltransferasen, die aus anderen Bakterien zu isolieren waren, Enzyme zu erhalten, die die Herstellung von gezielt zusammengesetzten Polyfructanen ermöglichen.

Ein weiterer Schwerpunkt des Vorhabens lag bei der Derivatisierung der synthetisierten Polyfructane. Anhand einiger ausgewählter, technisch realisierbarer Umsetzungen sollten die hochmolekularen Polyfructane derivatisiert und die Produkte hinsichtlich ihrer chemischen und polymerspezifischen Eigenschaften umfassend charakterisiert werden. Zur Klärung industrieller Applikationsmöglichkeiten der Derivate waren weitere systematische Untersuchungen geplant.

Des Weiteren wurde das vom Projektpartner KWS zur Verfügung gestellte Pflanzenmaterial eingesetzt, um eine großtechnisch realisierbare Produktextraktionstechnologie auszuarbeiten.

1.1.1 Voraussetzung zur Durchführung des Vorhabens

Zur Erzeugung eines Synergieeffektes für die Lösung der gesteckten Aufgaben wurde auf die Erfahrungen der Südzucker-Gruppe, erarbeitet u. a. im Rahmen des Vorläuferprojektes (FKZ: 10539 A), und der Unterauftragnehmer unter Nutzung der vorhandenen Apparaturen zurückgegriffen. Des Weiteren wurde das Verbundprojekt arbeitsteilig und in enger Zusammenarbeit zwischen den Vertragspartnern (KWS, MPI und SZ) durchgeführt.

1.1.2 Planung und Ablauf des Vorhabens

Im Einklang zur chronologischen Beschreibung des Arbeitsplans gliederte sich der Ablauf der durchgeführten Arbeiten wie folgt:

a) Bakterielle Fructosyltransferase

- a. 1 Die Verfügbarmachung von Fructosyltransferase (Ftf)-Varianten erfolgte durch Modifikation des Ftf-Gens aus *Streptococcus mutans* (ATCC 25 175). Nach PCR-Amplifikation und Klonierung sowie Expression in *E. coli* wurden fermentativ die benötigten Ftf-Enzymmengen zur Herstellung von Mustermengen an Inulin (g-Mengen) zwecks Charakterisierung gewonnen.
- a. 2 Präparative Herstellung von Inulin (2,1 kg) mit Ftf-Variante (pDHE 143).
- a. 3 Ergebnisse zur Immobilisierung von Ftf an Eupergit C.
- a. 4 Expression in *E. coli* von nativen und deletierten Genen der Levansucrasen (LS) aus *Streptococcus salivarius* und *Erwinia amylovora*.
- a. 5 Konstruktion von LS-Ftf-Enzym-Chimären.

b) Pflanzliche Fructosyltransferase

- b.1 Prüfung auf den Inulingehalt in Blütenböden von Artischocken (*Cynara scolymus*), Extraktion und Isolierung des Inulins (g-Maßstab), Charakterisierung.
- b.2 Prüfung transformierter Kartoffelknollen auf Inulin-Gehalt (MPI-Golm).
- b.3 Isolierung von Inulin (SST/FFT, Artischocke) aus inulinhaltigen Kartoffelknollen (MPI-Golm).
- b.4 1-Kestose-Gehalte in Zuckerrüben (KWS).