

INTERNE UND EXTERNE STABILISIERUNG VON DNA-OLIGOMEREN IN REAKTIVKAPSELN FÜR VARIABLE ANWENDUNGEN

BMW IGF 16443 BR | Laufzeit: 01.2010 – 09.2012 | Michael Meyer, FILK Freiberg; Jörg Bohrisch, Fraunhofer IAP Golm

Categories: Leder Kollagen

Das IGF-Vorhaben BMWi 16443 BR der Forschungsvereinigung „Verein zur Förderung des Forschungsinstitutes für Leder und Kunststoffbahnen (FILK) Freiberg/Sachsen e. V.“ wurde über die AiF im Rahmen des Programms zur Förderung der „Industriellen Gemeinschaftsforschung und -entwicklung (IGF)“ vom Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie (BMWi) aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert. Wir bedanken uns für die gewährte Unterstützung.

Eine Lieferanten- und Chargenverfolgung für Leder und Lederhalbfabrikate ist gegenwärtig nicht möglich, da kein 100%ig sicheres Markierungssystem für Leder existiert. Auf Leder wirken in seiner Herstellung und auch nach der Fertigstellung extreme Bedingungen, durch die hohe Anforderungen an ein Ledermarkierungssystem gestellt werden müssen. DNA ist ein Biopolymer, das aufgrund seiner Struktur hervorragend als Markierungssystem geeignet ist. Während der Gerbung wäre die DNA jedoch einem pH-Wert von 2,0 bis 4,0 und einer Reihe von Chemikalien ausgesetzt, während des Trocknens von Lederhalbfabrikaten wird eine Temperatur bis zu 80°C erreicht. Auch auf ein fertig gestelltes Leder wirken zum Teil für DNA extreme Umweltbedingungen, wie z. B. erhöhte Luftfeuchtigkeit, leicht saure pH-Werte und extrem hohe Temperaturen. In einem Vorgängerprojekt wurde die DNA zur Stabilisierung in ein Hydrogel eingebettet und mit einer Polystyrolkapsel überzogen. Um dieses System langfristig als marktfähiges Markierungssystem zur Lieferanten- und Chargenverfolgung in der Lederindustrie zu etablieren, sollte die Stabilität der im Inneren eingeschlossenen DNA innerhalb dieses Forschungsprojektes durch interne und externe Stabilisierung weiter erhöht werden. Insgesamt sollten drei Faktoren des bisherigen Systems verbessert werden: (1) Erhöhung der DNA-Stabilität gegenüber erhöhten Temperaturen durch Zugabe verschiedener Additive zur Kernmatrix, (2) Erhöhung der DNA-Stabilität gegenüber sauren pH-Werten durch eine verbesserte Polystyrolkapsel, (3) kovalente Anbindung des Markierungssystems an die Kollagenmatrix des Leders durch funktionelle Seitenketten mit z. B. Carboxylgruppen. Zur Erhöhung der DNA-Stabilität gegenüber erhöhter Temperatur in Gegenwart hoher Luftfeuchtigkeit (Trocknung des Leders) wurden die verschiedensten Additive getestet: Ectoin, Hydroxylapatit, Magnesiumchlorid, Kaliumchlorid, Spermin, Glycerin, Diethylenglykol und Polyethylenimin und Pflanzpolymere mit Polyethylenglykol. Die beste DNA-Stabilisierung bei 80 °C in wässrigen Lösungen

zeigt das Hydroxylapatit mit einer Geschwindigkeitskonstanten für den DNA-Zerfall von $k = 3,45 \pm 0,35 \text{ d}^{-1}$. Hier ist die DNA an die Oberfläche des Hydroxylapatits reversibel gebunden, dadurch werden die Angriffsflächen für die Hydrolyse der DNA bei erhöhten Temperaturen minimiert, wodurch der DNA-Zerfallsprozess verlangsamt wird. Zur Erhöhung der DNA-Stabilität unter sauren pH-Werten wurden Probenreihen mit unterschiedlichem Vernetzeranteil (Divinylbenzol) in der Polystyrolkapsel hergestellt. Nach Messung der Geschwindigkeitskonstanten über einen Zeitraum von 25 bis 28 Tagen in pH 2,0 führt eine homogene Hüllzusammensetzung aus 50 % Styrol und 50 % Divinylbenzol zur kleinsten Geschwindigkeitskonstante. Zur kovalenten Anbindung des Markierungssystems an die Kollagenmatrix des Leders wurden mittels einer Hautpulvergerbung Vorversuche durchgeführt. Hier zeigte sich, dass während einer Chromgerbung neben Carboxylseitenketten und Aminseitenketten überraschenderweise auch Rhodamin zur Fixierung am Leder verwendbar ist. Rhodamin wurde ursprünglich nur zur Wiederfindung der Kapsel in der Fluoreszenzmikroskopie genutzt. Durch die gewonnenen Ergebnisse wurde ein optimiertes Markierungssystem synthetisiert: an Hydroxylapatit komplexierte DNA als Innenkern, und eine Polystyrolkapsel mit 50% Vernetzeranteil. Als funktionelle Seitengruppen wurde einmal Rhodamin gewählt und in einem zweiten Ansatz Carboxylgruppen, da diese vermutlich besser für eine Chromgerbung geeignet sind als Amingruppen. Dieses System wurde in einer Chromgerbung (saure pH-Werte) in Lederhalbfabrikate eingebracht. Nach der Trocknung der Halbfabrikate wurden Standardtests zur Lederqualitätsbestimmung durchgeführt. In diesen Prüfungen wurden die Leder hohen Temperaturen und hohen Luftfeuchtigkeiten (Klimawechseltest) oder Sonnen- und UV-Strahlung (Lichtechtheitsprüfung) ausgesetzt. In der Lichtechtheitsprüfung zeigte sich, dass das Markierungssystem eine sehr viel höhere DNA-Stabilität gegenüber UV-Strahlung aufweist als unverkapselte native DNA. [<link bericht bmwi igf>Bericht anfragen](#)