

# Metallionen-vernetzte modifizierte Weizenproteine als alternatives Klebstoffsystem – ProteoGlue

## Metal-ion Cross-linked Modified Wheat Protein as Alternative Adhesive System – ProteoGlue

### Projektleiterin

#### Project leader:

Dr. Almut Wiltner

### Projektbearbeiter

#### Persons in-charge:

Dr. Sebastian Weidlich,  
Dr. Almut Wiltner,  
Andreas Weber

### Fördermittelgeber

#### Funded by:

BMW i (INNO-KOM-Ost)

### AUSGANGSSITUATION UND ZIELSTELLUNG

In der Holzwerkstoffindustrie werden nahezu ausschließlich synthetische Harze basierend auf Harnstoff-Formaldehyd bzw. Melamin-Harnstoff-Formaldehyd verwendet. Aufgrund der kritischen Bewertung von Formaldehyd und niedriger Grenzwerte für die Formaldehydemission während der Herstellung und aus den Holzwerkstoffen sowie endlicher Ressourcen zur Darstellung von Formaldehyd, finden alternative Bindemittelsysteme vermehrt Interesse in Forschung und Entwicklung. In biobasierten Systemen mit ausgezeichneten Haftmechanismen sind vorrangig Proteine für die zugrundeliegenden Klebmechanismen ursächlich. Dabei sind sowohl kurzzeitige und lösbare Verbindungen ebenso vertreten wie dauerhafte Verbindungen. Ein Beispiel für besonders langlebige und stabile Verbindungen in wässrigen Medien und unter mechanischer Beanspruchung sind die Haftfäden der Miesmuscheln. Die zugrundeliegenden Proteinsequenzen und der Vernetzungsmechanismus sind bekannt und bieten damit die Möglichkeit eines biomimetischen Ansatzes für neuartige Bindemittel in Holzwerkstoffen. Ziel der Untersuchungen war es ein günstiges und jahreszeitlich unabhängig erhältliches Pflanzenprotein derart zu modifizieren, dass der Vernetzungsmechanismus der Miesmuschel nachgebildet werden kann. Verwendet wurde ein Weizenprotein, das als Nebenprodukt der Stärkeherstellung ganzjährig verfügbar ist, das zunächst hinsichtlich der Löslichkeit in wässrigen Dispersionen modifiziert werden sollte, um anschließend

### INITIAL SITUATION AND OBJECTIVE

The wood-based materials industry uses almost exclusively synthetic resins based on urea formaldehyde or melamine-urea formaldehyde. Due to the critical evaluation of formaldehyde and to low limit values for formaldehyde emission during manufacture or from wood-based materials as well as to finite resources to determine formaldehyde, alternative bonding-agent systems are enjoying an increasing interest in research and development.

In biobased systems of excellent adhesion mechanisms, it is preferably the proteins that effect the underlying gluing mechanisms. This holds true for short-term and detachable bonding to the same extent as for permanent gluing. An example for especially long-living and stable compounds in aqueous media and under mechanical stress are the byssus threads of the common mussel. The underlying protein sequences and the cross-linking mechanism are well-known and offer the possibility of a biomimetic approach for novel bonding agents in wood-based materials.

The objective of the investigations was to modify a reasonable vegetable protein that is obtainable regardless of the seasons in such a way that the cross-linking mechanism of the common mussel protein can be reproduced. A wheat protein was used, which is available all year round as a by-product from starch production, to be initially modified regarding its solubility in aqueous dispersions to be subsequently transformed by reacting with the characteristic functional groups in the common mussel protein. Such groups are distinct for containing the amino acid dopa-

mit den charakteristischen funktionellen Gruppen im Miesmuschelprotein umgesetzt zu werden. Derartige Gruppen zeichnen sich durch die Aminosäure Dopamin aus. In dieser Aminosäure liegen zwei freie Hydroxylgruppen vor, die entweder direkt an verschiedenen Untergründen haften können, vernetzen oder aber mittels Metallionen (z.B. Eisensalze) stabile Komplexverbindungen ausbilden. Im Projektvorhaben wurden Dopamin und Gallussäure als zwei Substanzen zur Funktionalisierung ausgewählt. Besonders Gallussäure stellt eine günstige Variante für derartige Funktionalisierungen dar. In den Untersuchungen wurden folgende Ziele verfolgt:

- Modifizierung von Weizenprotein zur Verbesserung der Löslichkeit und Erhöhung des Feststoffanteils in wässrigen Dispersionen
- Gezielte Funktionalisierung mit Dopamin und Gallussäure an freien Amino- bzw. Carboxylgruppen des modifizierten Weizenproteins
- Komplexbildung durch Zusatz von Metallionen

## ERGEBNIS

Das Weizenprotein ist aufgrund der hohen Molmasse und der geringen Löslichkeit (Feststoffanteil maximal 20%) wenig geeignet für eine direkte Funktionalisierung mit Dopamin oder Gallussäure. Daher wurde das Weizenprotein zunächst mittels Osborne-Fraktionierung in das lösliche Gliadin und unlösliche Glutenin aufgetrennt. Die weiterhin hohen Molmassen und die damit verbundene schlechte Zugänglichkeit für Funktionalisierungen resultierten in geringen Umsetzungserfolgen mit Dopamin oder Gallussäure vor

mine. There are two free hydroxyl groups in that amino acid that are able to either stick to various substrates directly or to cross-link or to form stable complex compounds by means of metal ions (e.g., ferrous salts). In this project, dopamine and gallic acid were selected as two substances for functionalisation. Particularly, gallic acid represents a reasonable variant for such functionalisation. The investigations pursued the following goals:

- Modification of wheat protein to enhance solubility and to increase the share of solid matter in aqueous dispersions
- Targeted functionalisation by means of dopamine and gallic acid at free amino or carboxyl groups of the modified wheat protein
- Complexation by adding metal ions

## RESULTS

Due to its high molar mass and low solubility (share of solid matter – maximum 20 %) little suited for direct functionalisation with dopamine or gallic acid. Hence, the wheat protein was, at first, separated by Osborne fractionation into the soluble gliadin and insoluble glutenin. The persisting high molar mass and related poor accessibility for functionalisation resulted in little success for implementation with dopamine or gallic acid, mainly in glutenin. Therefore, both proteins were further degraded by an enzyme (protease). The enzymatic degradation was effected already at very low enzyme quantities (less than 1 % m/m) and resulted in very well-soluble protein fractions. The enzymatic degradation of the native wheat protein and of the two Osborne fractions (gliadin and glutenin) resulted in molar-mass reductions of varying degrees, which could be observed by way of gel per-

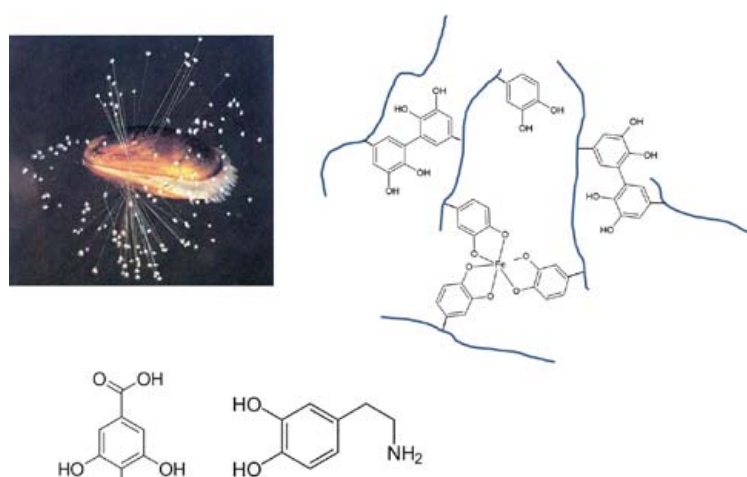


Abb. 1: Byssusfäden mit Haftpunkten der Miesmuschel (links oben), modellhaft dargestellte Komplexbildung im Protein (rechts oben, blaue Linien stellen Proteinstränge dar), Gallussäure (links unten), Dopamin (rechts unten)

Fig. 1: Fig. 1: Byssus threads of the common mussel, with adhesive points (top left) and modelled scheme of complex formation in protein (top right, blue lines are protein strands), gallic acid (bottom left), dopamine (bottom right)

allem an Glutenin. Beide Proteine wurden daher durch ein Enzym (Protease) weiter abgebaut. Der enzymatische Abbau erfolgte bereits bei sehr geringen Enzymmengen (weniger als 1 % m/m) und resultierte in sehr gut löslichen Proteinfractionen. Der enzymatische Abbau des nativen Weizenproteins und der beiden Osborne-Fractionen (Gliadin und Glutenin) resultierte in unterschiedlich stark ausgeprägten Molmassenreduzierungen, welche mittels Größenausschlusschromatographie (GPC) verfolgt wurden (Abb. 2). Einhergehend mit der Molmassenreduzierung wurde eine erhöhte Löslichkeit und damit eine Möglichkeit zur Erhöhung des Feststoffanteils von enzymatisch modifizierten Proteinfractionen in Dispersionen beobachtet. Die Entwicklung der Viskosität in Abhängigkeit vom enzymatischen Abbau und eingestelltem Feststoffanteil im Vergleich zu synthetischen Harzen ist in Abb. 2 dargestellt. In Abhängigkeit von der Löslichkeit der Proteinfractionen konnten diese erfolgreich mit

meation chromatography (GPC) (Fig. 2). Along with the molar-mass reduction, increased solubility of enzymatically modified protein fractions and, therefore, a possibility to increase the share of solid matter of enzymatically modified protein fractions in dispersions was detected. The development of the viscosity depending on the enzymatic degradation and the defined share in solid matter as compared to synthetic resins is shown in Fig. 2. Depending on the solubility of the protein fractions, they could successfully be modified with dopamine and gallic acid. The yield rate in implementation could very well be ascertained by determining the molar masses (GPC).

The thus modified protein fractions were subsequently put into aqueous dispersions containing metallic salts. Ferrous and calcium salts were chosen for complexation. Especially the ferrous salts showed complexation which could be proven by characteristic colouring and an increase in the complex viscosity. A first assessment of the cross-linking be-

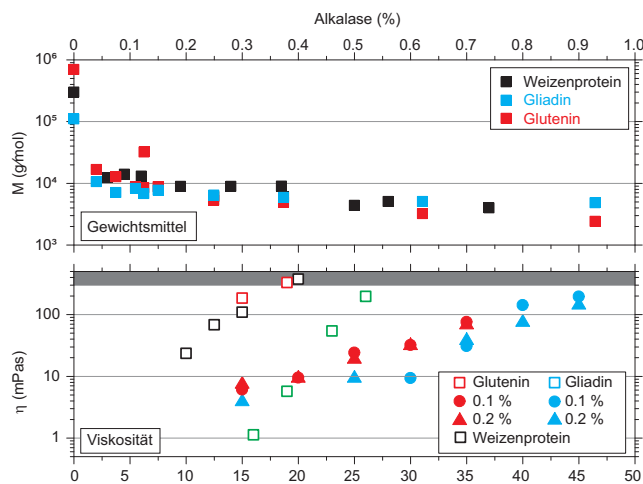


Abb. 2: Reduzierung der Molmassen löslicher Anteile in Weizenprotein und Osborne-Fractionen Gliadin und Glutenin (oben). Einfluss der Molmassenreduzierung auf Viskosität  $\eta$  in Abhängigkeit vom eingestellten Feststoffanteil für Weizenprotein und enzymatisch abgebautem Gliadin und Glutenin (unten). Ergebnisbereich synthetischer Harze ist grau.

Fig. 2: Reduction of the molar mass of the soluble shares in wheat protein and the Osborne fractions gliadin and glutenin (top). Impact of the molar-mass reduction onto viscosity  $\eta$  depending on the adjusted share in solid matter for wheat protein and enzymatically degraded gliadin and glutenin (bottom). The resulting range for synthetic resins in grey.

Dopamin und Gallussäure modifiziert werden. Der Umsetzungserfolg konnte sehr gut durch die Bestimmung der Molmassen (GPC) ermittelt werden. Die derart modifizierten Proteinfraktionen wurden anschließend in wässrigen Dispersionen mit Metallsalzen versetzt. Für die Komplexbildung wurden Eisen- und Calciumsalze gewählt. Besonders die Eisensalze zeigten eine Komplexbildung, die durch eine ausgeprägte Farbgebung und Erhöhung der Viskosität nachgewiesen werden konnte. In Oszillationsversuchen (Bestimmung der komplexen Viskosität ohne Scherbeanspruchung) konnte eine erste Beurteilung des Vernetzungsverhaltens und der klebenden Eigenschaften ermittelt werden. In nachfolgenden Untersuchungen sollen Klebversuche vorgenommen werden, um das Klebpotenzial dieser Metallsalz-koordinierten Proteinfraktionen abschließend bewerten zu können.

haviour and of the adhesive properties could be made in oscillation tests (determination of complex viscosity without shear stress). Gluing tests are intended to be performed in follow-up investigations to be able to assess the adhesive potential of these metal-salt-coordinated protein fractions.