

Biokatalyse in unkonventionellen Medien

Ionische Flüssigkeiten, organische Lösungsmittel, überkritische Fluide und Gase als Reaktionsphasen für biokatalysierte Synthesen

B Biokatalysatoren, auch Enzyme genannt, sind Proteine, die unzählige Stoffumwandlungsprozesse beschleunigen. Enzyme steuern nicht nur den Stoffwechsel in unserem Körper, sondern stehen auch im Mittelpunkt vieler umweltfreundlicher Produktionsverfahren. Sie finden ihre Anwendung in so unterschiedlichen Industriezweigen wie der Lebensmittel-, Kosmetik-, Textil- oder Papierindustrie. Enzyme bieten ein enormes Potenzial für unsere industrielle Gesellschaft und sind aus unserem Alltag nicht mehr wegzudenken. Ob Joghurt, effektive Waschmittel, Gesichtscreme oder lebenswichtige schmerzlindernde Medikamente, alle diese Produkte werden mit Hilfe von Enzymen hergestellt. Die Anzahl der industriell nutzbaren Biokatalysatoren steigt von Jahr zu Jahr.

Viele der enzymatischen Reaktionen finden in wässriger Lösung statt, da das Wasser eine essenzielle Komponente für Enzymreaktionen ist. Schwieriger wird es, wenn das Substrat eine niedrige Wasserlöslichkeit besitzt, wie zum Beispiel bei der Hydrolyse von Cellulose zur Biokraftstoffsynthese. Um die Löslichkeit der Substrate zu erhöhen, werden organische Lösungsmittel, ionische Flüssigkeiten, überkritische Fluide und Gase als Reaktionsmedien eingesetzt. Die enzymatische Reaktion kann sowohl in einem Ein- als auch im Zwei-Phasen-System stattfinden. Das ist abhängig von der Mischbarkeit des Lösungsmittels mit Wasser. Oft führt der Einsatz dieser so genannten unkonventionellen Reaktionsmedien jedoch zu einer erheblichen Verringerung der Effizienz der Enzyme. Damit die Enzyme auch in den unkonventionellen Reaktionsmedien mit einer vergleichbaren Aktivität und Selektivität funktionieren, ist es notwendig, die geeigneten maßgeschneiderten Biokatalysatoren sowie die geeigneten neuen Lösungsmittel zu finden.

Um für die schnell steigende Zahl der Enzymanwendungen in unkonventionellen Medien optimale Lösungen zu fin-

den, wird bei der AVT im Zuge des Exzellenzclusters „Maßgeschneiderte Kraftstoffe aus Biomasse“ als auch dem Graduiertenkolleg „Biokatalyse in unkonventionellen Medien“ (Bio-NoCo) daran geforscht. Das Graduiertenkolleg wurde 2005 gegründet. Es ist eine interdisziplinäre Gruppe aus hochqualifizierten Akademikern unterschiedlicher Fachrichtungen. Biologen, Chemiker und Bioverfahrenstechniker forschen gemeinsam auf dem Gebiet der Biokatalyse in unkonventionellen Reaktionsmedien. Das wissenschaftliche Team arbeitet an der Schnittstelle von Natur- und Ingenieurwissenschaften und demonstriert so die erfolgreiche Zusammenarbeit zwischen RWTH Aachen und Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf sowie dem Forschungszentrum Jülich.

Einer der Forschungsschwerpunkte sind ionische Flüssigkeiten als neuartiges Lösungsmittel. Die ionischen Flüssigkeiten sind organische Salze mit einem Schmelzpunkt unter 100 °C. Eigenschaften wie Mischbarkeit mit Lösungsmit-

teln, Hydrophobizität und Polarität können durch den Ionen- aufbau beeinflusst werden. Die meisten ionischen Flüssigkeiten besitzen einen sehr geringen Dampfdruck, leiten den elektrischen Strom, sind schwer entzündlich und haben selektive Löseigenschaften. Dieses macht ionische Flüssigkeiten zu einer viel versprechenden Alternative zu den herkömmlichen organischen Lösungsmitteln. Kern des Projektes ist es, die enzymatische Hydrolyse von Cellulose mechanistisch zu charakterisieren. Damit kann ein entscheidender Beitrag für neue Produktionsverfahren zur Herstellung von Biokraftstoffen geleistet werden. Dabei werden ionische Flüssigkeiten als neuartige Lösungsmittel zum Auflösen der Cellulose und Hemicellulose eingesetzt. Durch die ionische Flüssigkeit wird die Cellulose, die in Wasser und den meisten organischen Lösungsmitteln unlöslich ist, gelöst und kann mit Wasser wieder ausgefällt werden. Dadurch wird die hochorganisierte Struktur der Cellulose aufgebrochen und das Biopoly-

mer für die Angriffe der Enzyme zugänglich gemacht. Auch eine direkte Hydrolyse der in ionischen Flüssigkeiten gelösten Cellulose mit Enzymen wird untersucht. Dies erfordert die Optimierung der Enzyme für diese neuen Reaktionsbedingungen und wird in enger Kooperation mit dem RWTH-Lehrstuhl für molekulare Biotechnologie durchgeführt. Allerdings waren bis zuletzt keine zeitlich hoch aufgelösten Messverfahren vorhanden. Mit Hilfe der am Lehrstuhl AVT-Bioverfahrenstechnik entwickelten BioLector-Technik kann nun die Celluloseauflösung in ionischen Flüssigkeiten und ihr Abbau durch hydrolytische Enzyme online verfolgt werden. Dieses Gerät ermöglicht eine Messung der Lichtstreuung und Fluoreszenz im Mikrotiterplatten-Format unter geschüttelten Bedingungen und kann mit einer vollautomatischen Roboter-Pipettier-einheit kombiniert werden. Durch das online-Monitoring der Auflösungskinetik ergeben sich völlig neue Möglichkeiten für den direkten Vergleich un-



terschiedlicher ionischer Flüssigkeiten und die Identifizierung von leistungsfähigen Lösungsmitteln im Hoch-Durchsatz.

Ein anderer Aspekt für die technische Nutzung von Enzymen ist der Einsatz von organischen Lösungsmitteln. Mit den wachsenden Anforderungen an die Enzymeigenschaften für die technischen Anwendungen steigt auch die Bedeutung der Prozessoptimierung in der Biokatalyse, die eine kostengünstige und zeiteffektive Durchführung der enzymatischen Reaktionen ermöglichen.

Ein weiteres Forschungsfeld auf dem Gebiet der unkonventionellen Lösungsmittel ist die Gasphasenkatalyse. In der Gasphasenkatalyse werden gasförmige Substrate durch trockene Enzyme in gasförmige Produkte umgesetzt. Verschiedene Enzyme und Reaktionen, die durch isolierte Enzyme oder ganze Zellen katalysiert werden, sind bereits im Gasphasenreaktor untersucht. Die prominentesten untersuchten Enzymtypen in der Gasphasenkatalyse sind Alkoholdehydrogenasen und Li-

pasen. Der Vorteil der Gasphasenkatalyse ist die höhere Betriebsstabilität der Enzyme bei gleichzeitigen hohen Raum-Zeit Ausbeuten im Vergleich zu wässrigen Systemen. Die Forschungsschwerpunkte sind hier die Entwicklung und Durchführung neuer Reaktionen im kontinuierlichen Gasphasenreaktor. Die Enzyme werden auf geeigneten Trägern immobilisiert und auf ihre Aktivität untersucht. Durch Variation unterschiedlicher Prozessparameter und anschließende Produktanalyse werden die Reaktionen optimiert. So konnte für die Produktion von 1-(R)-Phenylethanol aus Acetophenon durch eine Alkoholdehydrogenase aus *Lactobacillus brevis* die Wirtschaftlichkeit erheblich erhöht werden.

Die hauptsächliche Forschung unkonventioneller Lösungsmittel erfolgt jedoch unter Verwendung von Hydrolase-Enzymen, wie zum Beispiel Cellulasen und Lipasen. Dies liegt vor allem an ihrer bekannten hohen Aktivität und Stabilität. Die gewonnenen Ergeb-

nisse können nicht ohne weiteres auf andere Enzyme übertragen werden. Um die Einsatzbereiche und -grenzen unkonventioneller Reaktionsmedien für die Biokatalyse in synthetischen Anwendungen abzuschätzen, müssen thermodynamische und kinetische Phänomene in komplexen Reaktionssystemen verstanden werden und spezifische Wechselwirkungen zwischen Biokatalysatoren, Reaktionsmedien und Reaktoren identifiziert und zu Designkriterien entwickelt werden. Daher wird auch zukünftig der Bereich der Biokatalyse in unkonventionellen Medien ein zentraler Bestandteil unserer Forschung sein und in dem Graduiertenkolleg BioNoCo und weiteren Projekten intensiv untersucht werden.

Autoren:
Dr.-Ing. Antje Spieß ist Wissenschaftliche Assistentin und Dipl.-Ing. Helene Wulforth arbeitet als Wissenschaftliche Mitarbeiterin am Lehrstuhl AVT-Bioverfahrenstechnik.

Bild 1: Die BioLector-Technologie ermöglicht erstmalig die online-Detektion verschiedenster Analyten im Mikrotiterplatten-Format unter geschüttelten Bedingungen. Durch eine online Verfolgung von Streulicht- und Fluorescence-Signal können verschiedene Prozessparameter wie Wachstum von (mikrobiellen) Kulturen oder Enzymkinetiken im Hochdurchsatz analysiert werden. Helene Wulforth bereitete ein Hochdurchsatz Experiment zur Untersuchung der Cellulosedepolymerisation im BioLector vor. Foto: Peter Winandy