

Berichte aus der Biotechnologie

Andreas Buthe

**Charakterisierung und rationale Immobilisierung
von Lipasen in biphasischen Reaktionssystemen**

D 82 (Diss. RWTH Aachen)

Shaker Verlag
Aachen 2006

Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.d-nb.de> abrufbar.

Zugl.: Aachen, Techn. Hochsch., Diss., 2006

Copyright Shaker Verlag 2006

Alle Rechte, auch das des auszugsweisen Nachdruckes, der auszugsweisen oder vollständigen Wiedergabe, der Speicherung in Datenverarbeitungsanlagen und der Übersetzung, vorbehalten.

Printed in Germany.

ISBN-10: 3-8322-5516-8

ISBN-13: 978-3-8322-5516-9

ISSN 1434-4556

Shaker Verlag GmbH • Postfach 101818 • 52018 Aachen

Telefon: 02407 / 95 96 - 0 • Telefax: 02407 / 95 96 - 9

Internet: www.shaker.de • E-Mail: info@shaker.de

Zusammenfassung

Zentrale Aspekte der lipasenkatalysierten Veresterung in biphasischen Reaktionssystemen sind bis heute nicht abschließend geklärt. Dies gilt insbesondere für das pH-Optimum und die Frage, ob und inwieweit in biphasischen Systemen die Estersynthese auch in der wässrigen Phase erfolgen kann. Gegenstand dieses Buches ist die eingehende Klärung dieser Sachverhalte und die Schaffung der Voraussetzungen für den rationalen Einsatz von Lipasen in biphasischen Reaktionssystemen.

Für die Lipasen von *Candida rugosa* und *Thermomyces lanuginosa* konnte erstmalig gezeigt werden, dass das pH-Optimum der lipasenkatalysierten Veresterung in biphasischen Reaktionssystemen mit pH 3,5 bzw. pH 4,25 deutlich unter dem der Hydrolyse liegt – erklärbar durch den Reaktionsmechanismus, da die deprotonierte Säure mit ihrer delokalisierten negativen Ladung im aktiven Zentrum nicht nukleophil attackiert werden kann. Diese Schlussfolgerung konnte durch eine Reihenuntersuchung weiterer Lipasen bestätigt werden.

Hinsichtlich der Abhängigkeit der katalytischen Aktivität von der spezifischen Grenzfläche konnte kein Unterschied zwischen der grenzflächenaktivierten Lipase von *Candida rugosa* und der nicht-grenzflächenaktivierten Lipase B von *Candida antarctica* festgestellt werden. Eine eingehende Analyse der Ergebnisse unter Berücksichtigung der besonderen thermodynamischen Gegebenheiten führte zur Entwicklung einer detaillierten Hypothese über die Vorgänge an der Grenzfläche bei der lipasenkatalysierten Veresterung. Auf Basis dieser Hypothese wurde ein alternatives Konzept für die Immobilisierung von Lipasen in biphasischen Reaktionssystemen entwickelt, welches vorsah, eine wässrig gelöste Lipase innerhalb eines hydrophoben Silicon-Elastomers statisch zu emulgieren. Erhalten wurden sphärische Immobilisate von gummielastischer Konsistenz. Durch diese Immobilisierung konnte eine Aktivitätssteigerung erreicht werden, wie sie sonst nur mit alkylsubstituierten Sol-Gelen zugänglich ist. Gerade der Vergleich mit alkylsubstituierten Sol-Gelen – dem bislang aussichtsreichsten Verfahren zur Immobilisierung von Lipasen – veranschaulicht, dass es sich bei der neuartigen Statischen Emulsion um eine Immobilisierungstechnik mit außerordentlichem Potential handelt.