

Enzymkinetik

In diesem Kapitel wird gezeigt, wie biotechnologische Prozesse mit Hilfe von Enzymen durchgeführt werden können. Dazu werden diese Biokatalysatoren zuerst allgemein beschrieben, um darauf aufbauend reaktionstechnische Aspekte näher zu erörtern. Es folgen Experimente, die Möglichkeiten und Eigenarten der Enzymprozeßtechnik aufzeigen.

Allgemeines

Enzyme sind die katalytisch aktiven Einheiten in lebenden Organismen. Sie haben die Aufgabe, Stoffwechselreaktionen effektiv und unter optimalen energetischen Bedingungen durchzuführen. Sie zeichnen sich durch eine hohe Reaktions- und Substratspezifität aus und erlauben es, die katalysierten Stoffwechselreaktionen unter milden physiologischen Bedingungen in etwa 10^6 - bis 10^{12} mal schneller durchzuführen als die nichtkatalysierten Reaktionen. Die katalytische Aktivität kann durch verschiedene Mechanismen reguliert werden.

Enzyme sind Proteine. Seit einigen Jahren sind aber auch katalytisch aktive RNA-Einheiten bekannt. Sie werden in diesem Buch nicht näher behandelt. Neben dem eigentlichen Proteinanteil können auch noch Cofaktoren für das funktionsfähige Enzym nötig sein. Hierzu zählen Metallionen (z.B. Zn^{2+} in der Carboanhydrase oder Fe^{2+}/Fe^{3+} in der Katalase) oder kleinere organische Moleküle wie das NAD(P)H (reduziertes Nicotinamid-adenin-dinucleotid-(phosphat)). Letztere heißen Coenzyme. Sind sie (z.B. das Flavin-adenin-dinucleotid, FAD^+) kovalent an das Enzym gebunden, werden sie als prosthetische Gruppen bezeichnet. Coenzyme gehen verändert aus der enzymatischen Reaktion hervor. Sie sind als Cosubstrat anzusehen und müssen vor einem erneuten Einsatz regeneriert werden.

Man kann grob sechs Gruppen von Enzymen unterscheiden, die wiederum in verschiedenen Untergruppen aufgeteilt sind:

1. Oxidoreduktasen (katalysieren Redoxreaktionen)
2. Transferasen (katalysieren die Übertragung verschiedener Gruppen)
3. Hydrolasen (katalysieren hydrolytische Reaktionen)
4. Lyasen (katalysieren nicht-hydrolytische Abspaltungsreaktionen)
5. Isomerasen (katalysieren Isomerisierungsreaktionen)
6. Ligasen (katalysieren Verknüpfungsreaktionen)

Enzymkinetik

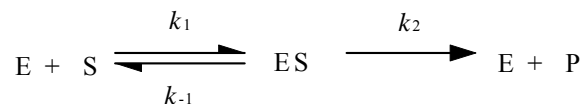
Für den industriellen Einsatz ist die Kinetik der freien (nativen) und immobilisierten Enzyme von Interesse. Jedes Enzym hat eine andere spezifische Aktivität, mit der es bestimmte Substrate umsetzt. Diese Aktivität kann auf verschiedene Art und Weise beeinflusst werden. Am einfachsten kann die Gesamtaktivität in einem Reaktionsprozeß über die Menge an Enzym geregelt werden. Technisch interessant ist auch die Regelung der Aktivität über die Temperatur und den pH-Wert. Mit steigender Temperatur durchläuft die Enzymaktivität ein Maximum, wobei oftmals die Enantioselektivität abnimmt. Dieses Maximum entsteht, da zuerst die Aktivität mit der Temperatur zunimmt, die Proteindenaturierung ab einer kritischen Temperatur aber so stark ist, daß die Aktivität insgesamt drastisch abnimmt. Ein ähnliches Optimum existiert auch bei der pH-Abhängigkeit. Auch dies ist verständlich, wenn man den Einfluß des pH-Werts auf die Proteinkonformation bedenkt (Protonierung/Deprotonierung verschiedenster Gruppen). Aus der Biochemie ist bekannt, daß Enzyme auch durch allosterische Effekte (Hemmung bzw. Aktivierung durch Anlagerung an ein regulatorisches Zentrum), durch proteolytische Aktivierung (Spaltung einer inaktiven Vorstufe zum aktiven

Enzym) und durch reversible kovalente Modifikation (z.B. Phosphorylierung von Seringruppen) in ihrer Aktivität gesteuert werden können.

Bei enzymatischen Reaktionen spricht man bei der Reaktionsgeschwindigkeit von Enzymaktivität. Dies ist eine extensive Größe, da eine größere Enzymmenge auch eine höhere Reaktionsgeschwindigkeit bedeutet. Die häufigste Einheit der Enzymaktivität ist die internationale Einheit U (international unit). Das ist die Enzymmenge, mit der bei 25°C unter optimalen Bedingungen 1,0 μ mol des Substrats pro Minute umgesetzt wird. Man unterscheidet Aktivität (U), Volumenaktivität (U/ml), molare Aktivität (U/mol) und spezifische Aktivität (U/mg). Die spezifische Aktivität, bei der sich die Aktivität auf die Menge Enzym bezieht, gibt die Reinheit des Enzyms an. Die neuere internationale Einheit ist das Katal (kat). Es ist die Aktivität, die bei optimalen Bedingungen ein Mol des Substrats pro Sekunde umsetzt. Damit gilt 1 U = 16,67 nkat oder 1 μ kat = 60 U.

Im folgenden soll die Kinetik enzymatischer Reaktionen näher behandelt werden. Das Michaelis-Menten-Modell beschreibt die kinetischen Eigenschaften von Enzymen am einfachsten. Voraussetzung ist, daß das Enzym mit dem Substrat einen Enzym-Substrat-Komplex bildet, der dann in das Produkt und das Enzym abreagiert. Dabei dissoziiert das Produkt sofort ab. Dieser Zerfallsschritt ist geschwindigkeitsbestimmend. Eine Rückreaktion des Enzyms mit dem Substrat ist nicht möglich. Das gilt dann, wenn die Reaktion irreversibel ist oder am Beginn einer Reaktion, wenn noch kein oder sehr wenig Produkt vorliegt.

Die Reaktionsgleichung hierfür lautet:



Es kommt zur Ausbildung eines stationären Zustandes, in welchem nach einer Anlaufphase die Konzentration an Enzym-Substrat-Komplex konstant bleibt (Fließgleichgewicht, steady state). Für die Reaktion läßt sich das Geschwindigkeitsgesetz wie folgt aufstellen:

$$\frac{d[ES]}{dt} = k_1 ([E]_0 - [ES]) [S] - k_{-1} [ES] - k_2 [ES],$$

wobei $[E] = [E]_0 - [ES]$ die Konzentration an freiem Enzym ist.

Durch Umformen erhält man die Michaelis-Menten-Beziehung:

$$\frac{[S] \cdot ([E]_0 - [ES]_{st})}{[ES]_{st}} = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1} = K_M.$$

K_M ist die Michaelis-Menten-Konstante. Führt man in diese Beziehung noch das Geschwindigkeitsgesetz der Produktbildung ein

$$v = \frac{d[P]}{dt} = k_2 \cdot [ES]_{st}$$

so erhält man einen Zusammenhang zwischen der Reaktionsgeschwindigkeit v und der Substratkonzentration $[S]$:

Es lassen sich zwei Grenzfälle betrachten:

- (1) $[S] \ll K_M$: Bei sehr geringer Substratkonzentration kann $[S]$ im Nenner gegenüber K_M vernachlässigt werden, so daß gilt: $v = k_2 \frac{[E]_0}{K_M} [S]$ (Reaktion erster Ordnung)
- (2) $[S] \gg K_M$: Bei sehr großen Substratkonzentrationen kann K_M gegenüber $[S]$ vernachlässigt werden (Sättigung, alle aktiven Zentren besetzt). Das Geschwindigkeitsgesetz geht über in

$$v = v_{\max} = k_2 [E]_0 \quad (\text{Reaktion nullter Ordnung}) \quad (\text{x.6})$$

Im zweiten Grenzfall ist die Geschwindigkeit nur noch von der Ausgangskonzentration des Enzyms und der Geschwindigkeitskonstante der Dissoziation abhängig.

Die Beziehung (x.6) kann in die Gleichung (x.5) eingebracht werden:

$$v = v_{\max} \cdot \frac{[S]}{[S] + K_M} \quad (\text{x.7})$$

Hierbei ist v die aktuelle Reaktionsgeschwindigkeit der enzymatischen Reaktion, v_{\max} die maximale Reaktionsgeschwindigkeit und $[S]$ die Substratkonzentration. Entspricht die aktuelle Substratkonzentration der Michaelis-Menten-Konstante K_M , läuft die enzymatische Reaktion mit halber maximaler Reaktionsgeschwindigkeit ab. Die maximale Reaktionsgeschwindigkeit v_{\max} wird erreicht, wenn alle aktiven Zentren ständig mit Substrat abgesättigt sind. Da der Zerfall des Enzym-Substrat-Komplexes geschwindigkeitsbestimmend ist, wird dann die maximal mögliche Geschwindigkeit erreicht, wenn die maximale Konzentration dieses Komplexes erreicht ist.

Die kinetischen Daten v_{\max} und K_M sind für jeden enzymatischen Prozeß typische Reaktionsgrößen und damit für die reaktionstechnische Beschreibung der Reaktionen wichtig. Um sie für eine Reaktion zu erhalten, mißt man den Umsatz bei konstanter Enzymmenge in Abhängigkeit der Substratkonzentration. Dabei werden meist die Anfangsgeschwindigkeiten bestimmt, um Produktinhibierungen zu vermeiden. Aus diesen Daten erhält man eine Michaelis-Menten- Auftragung aus der man prinzipiell v_{\max} und K_M ableiten kann. Die Bestimmung des

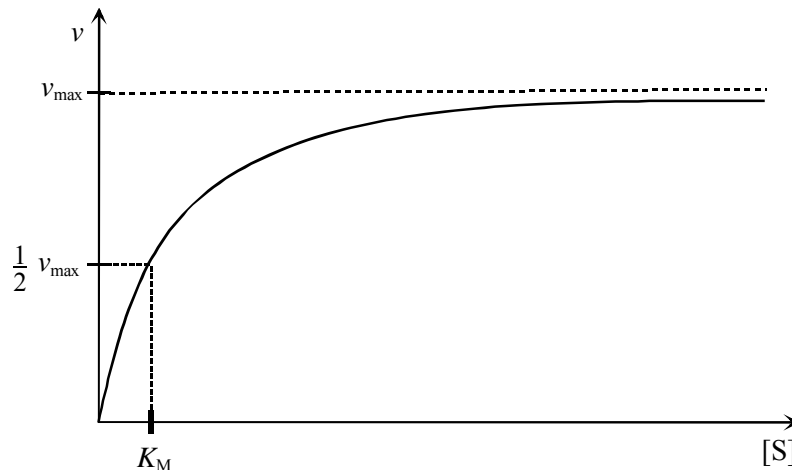


Abbildung 1 Verlauf der Reaktionsgeschwindigkeit in Abhängigkeit der Substratkonzentration gemäß der Michaelis-Menten-Kinetik (1. Ordnung, nullter Ordnung)

wahren v_{\max} - und damit auch des K_M -Werts ist aber problematisch. Deshalb wird die linearisierte Lineweaver-Burk-Auftragung vorgezogen, bei der die reziproken Substratkonzentrationen gegen die reziproken Geschwindigkeiten aufgetragen werden. Aus der Steigung und den Achsenabschnitten lassen sich dann v_{\max} und K_M herleiten. Außerdem kann auch die Berechnung der kinetischen Parameter durch eine Anpassung der Meßdaten über Computerprogramme erfolgen. Das ist besonders in Hinblick auf mögliche Inhibitormodelle nützlich.

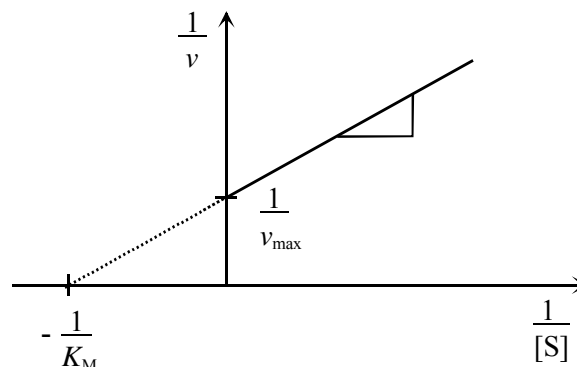


Abbildung 2 Auftragung nach Lineweaver and Burk

Abweichungen vom Michaelis-Menten-Modell

Bei den meisten enzymatischen Reaktionen kommt es jedoch zu Abweichungen. So können beispielsweise Inhibitoren die enzymatische Aktivität beeinflussen. Sogenannte *kompetitive Inhibitoren* konkurrieren mit dem eigentlichen Substrat um das aktive Zentrum des Enzyms. Dabei wird die Reaktionsgeschwindigkeit herabgesetzt, da die Wahrscheinlichkeit, daß ein Enzym-Substratkomplex gebildet wird, kleiner ist. Diese Inhibierung läßt sich aber durch eine hohe Substratkonzentration zurückdrängen, da die Wahrscheinlichkeit der Bildung des Komplexes zunimmt, und die maximale Reaktionsgeschwindigkeit v_{\max} kann wieder erreicht werden. Kompetitive Inhibitoren können auch die Substrate oder Produkte sein.

Bindet ein Inhibitor nicht an dem aktiven Zentrum, sondern an einer regulatorischen Einheit eines Enzyms, kann durch eine Konformationsänderung auch die Enzymaktivität herabgesetzt werden. Diese nicht-kompetitive Inhibierung läßt sich nicht durch eine Erhöhung der Substratkonzentration zurückdrängen. Beide Hemmtypen lassen sich leicht im

Lineweaver-Burk-Plot erkennen. Weitere kinetische Betrachtungen und Hemmtypen (unkompetitive Hemmung, Substrat- oder Produkthemmung) sind in den Lehrbüchern ausführlich beschrieben.

Enzymimmobilisierung

Für die technische Nutzung von Enzymen muß die Stabilität, die Abtrennbarkeit und die Wiederverwendbarkeit der Biokatalysatoren geklärt werden. Beispielsweise sind die technischen Enzyme zur Stärkeverzuckerung billig und unterliegen im Prozeß einer Desaktivierung. Eine Wiederverwertbarkeit ist nicht nötig. Sobald aber die Enzymkosten ein entscheidender Faktor bei den Produktionskosten sind, muß eine Wiederverwertbarkeit der Enzyme in Betracht gezogen werden. Eine Wiedergewinnung der Enzyme mit den bei der Herstellung verwendeten Methoden (Chromatographie, Ultrafiltration) ist im allgemeinen zu teuer. Besser sind Methoden zur Enzymimmobilisierung, also Techniken, die das „Molekulargewicht“ der Enzyme drastisch erhöhen und sie so vom Prozeßbeginn an zurückhalten. Grob kann man zwei Klassen von Immobilisierungsmethoden unterscheiden: Die Immobilisierung durch Kupplung und die Immobilisierung durch Einschluß. Beide Gruppen können wieder in Untergruppen eingeteilt werden.

Immobilisierung durch Kupplung:

- **Adsorptive Bindung**
- **Ionische Bindung**
- **kovalente Bindung**
- **Cross linking**

Immobilisierung durch Einschluß

- **Matrixeinhüllung**
- **Membranabtrennung**

Kinetik immobilisierter Enzyme

Bei der Immobilisierung von Enzymen auf festen Trägern möchte man auf wenig Trägermaterial viel frei zugängliches Enzym immobilisieren. Das heißt, daß man einen Träger mit großer Oberfläche benötigt, also einen porösen Träger. Bei der Immobilisierung kann ein Teil der Enzymaktivität durch Denaturierung (extreme Konformationsänderung) oder durch ungünstiges Fixieren am Träger (katalytisches Zentrum ist nicht mehr frei zugänglich) verloren gehen. Dies kann man durch eine Bilanzierung der Proteinkonzentration und der Enzymaktivität feststellen. Bekannt ist die eingesetzte Enzymmenge in Aktivitätseinheiten und deren Konzentration. Anschließend wird im Überstand und im ersten Waschpuffer die Restaktivität und Proteinkonzentration bestimmt. So läßt sich einfach bestimmen, wieviel Protein auf dem Träger gebunden wurde. Ist die Menge des aktiven Enzyms auf dem Träger auch einer Aktivitätsmessung mit dem Immobilisat zugänglich, kann man berechnen, wieviel des gebundenen Proteins aktives bzw. inaktives Enzym ist.

Wichtig ist aber auch, daß durch die porösen Träger zwar eine große Oberfläche vorhanden, diese jedoch unterschiedlich gut zugänglich ist. Diese Tatsache ist aus der allgemeinen

heterogenen Katalyse bekannt. Die Substrate müssen aus der Kernströmung über eine laminare Grenzschicht um den Katalysator (Film) durch die Poren zu dem Enzym gelangen.

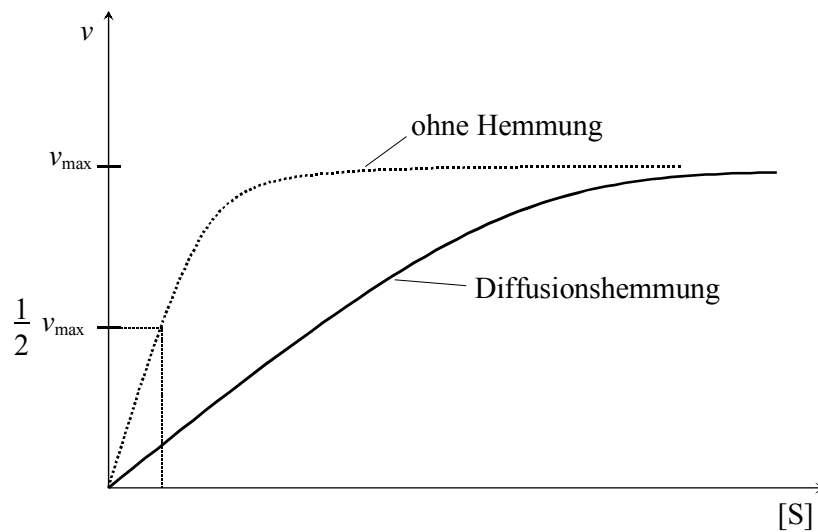


Abbildung 3 Vergleich der Michaelis-Menten-Kinetik einer enzymatischen Reaktion mit und ohne Diffusionshemmung

Der Stofftransport durch den Film und die Poren erfolgt durch reine Diffusion. Jeder einzelne Schritt kann die gesamte Reaktion limitieren (Film- bzw. Porendiffusionshemmung). Um herauszufinden, ob eine Diffusionshemmung vorliegt, können die Michaelis-Menten- und die Lineweaver-Burk-Auftragungen der enzymatischen Reaktion des freien und des immobilisierten Enzyms helfen. Diese sind in den Abbildungen x.3 und x.4 gezeigt.

Bei der Michaelis-Menten-Auftragung macht sich die Diffusionshemmung durch einen veränderten K_M -Wert bemerkbar. Durch die Hemmung ist die aktuelle Kernkonzentration nicht am Enzym zugänglich. Der Stofftransport ist erst bei hohen Substratkonzentrationen ausreichend groß (großer Gradient), daß das Enzym optimal mit dem Substrat wechselwirken kann. Ab einer hohen Substratkonzentration wird die übliche maximale Reaktionsgeschwindigkeit erreicht.

Auch in der Lineweaver-Burk-Auftragung wird dieser Effekt deutlich. Hier weicht die reziproke Reaktionsgeschwindigkeit bei kleinen Substratkonzentrationen (hohe reziproke Werte) extrem von der „ungehemmten“ Kinetik ab.

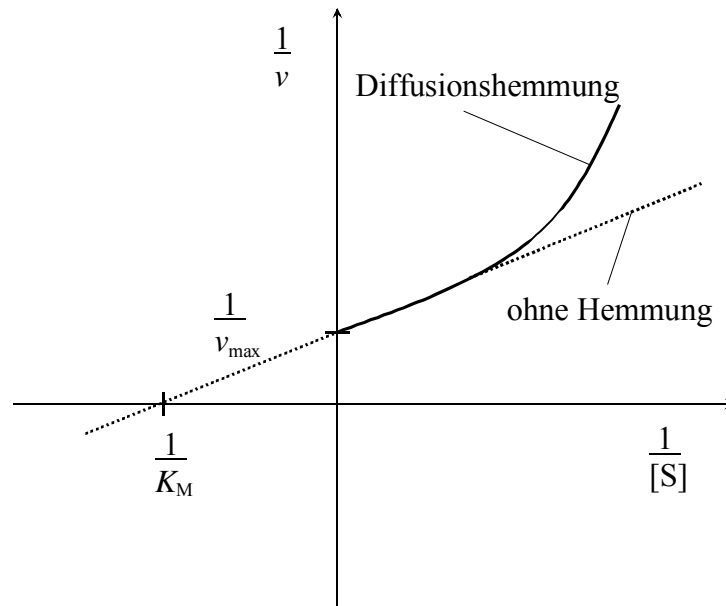


Abbildung 4
Diffusionshemmung in der Lineweaver-Burk-Auftragung

Die Kinetik der Gesamtreaktion kann auch durch pH-Gradienten in den Poren beeinflusst werden. Entstehen bei der enzymatischen Reaktion Produkte, die den pH-Wert beeinflussen, kann sich innerhalb der Poren ein pH-Gefälle aufbauen (siehe Abbildung x.5). Der pH-Wert in der Kernströmung entspricht dann nicht mehr den in den Poren. Hier kann das Enzym ineffektiv arbeiten. Wird die enzymatische Aktivität eines Trägers gemessen, ergeben sich Aktivitätswerte, die denen der tatsächlich immobilisierten Enzymmenge nicht entsprechen. Die Effektivität des immobilisierten Biokatalysators sinkt.

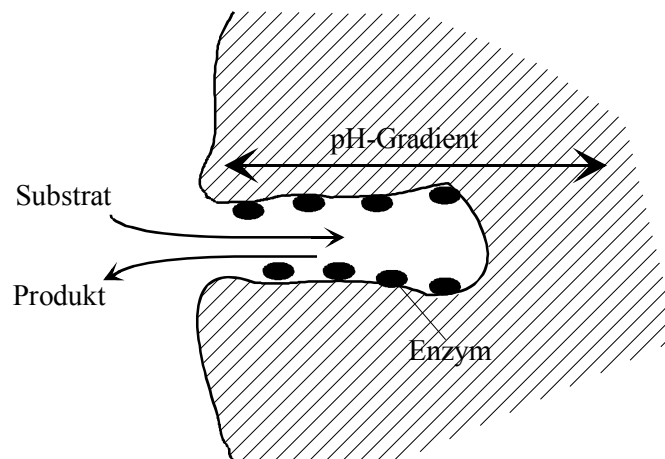


Abbildung 5 Aufbau eines pH-Gradienten innerhalb einer Pore bei der Bildung von Reaktionsprodukten, die den pH-Wert beeinflussen.

Beispiele für Enzymreaktoren

Typ Satzreaktor

Die Gewinnung von 6-Aminopenicilliansäure (6-APS) aus fermentativ hergestellten Penicillin G ist ein industriell wichtiger Prozeß, da das 6-APS als Ausgangssubstanz für verschiedene halbsynthetische Penicilline eingesetzt wird. Die enzymatische Umsetzung kann mit Penicillin-G-amidase erfolgen, wie das Reaktionsschema zeigt:

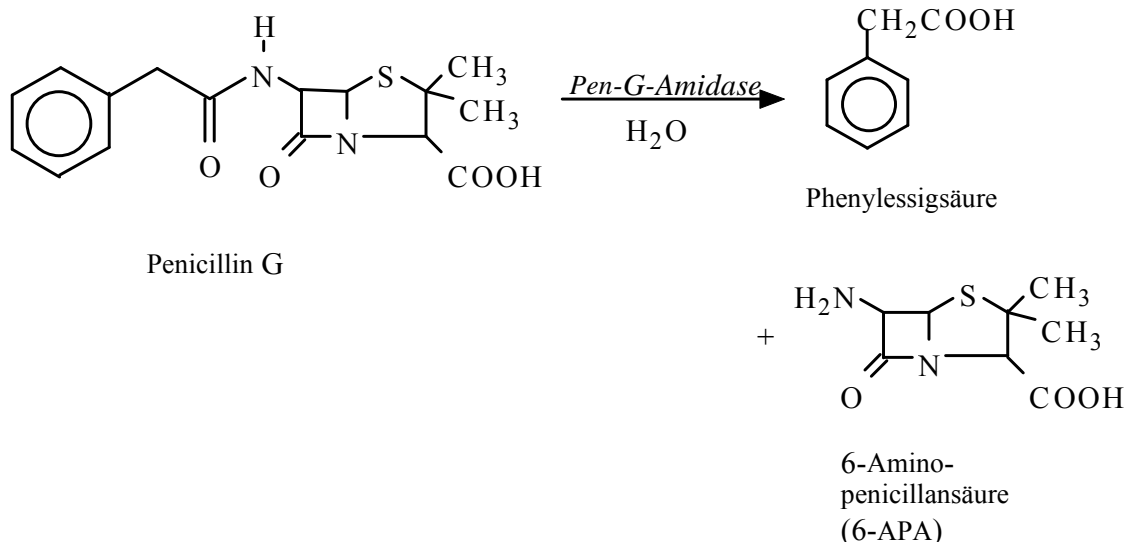


Abbildung 6

Reaktionsschema für die enzymatische Spaltung von Penicillin G zur 6-APS Produktion

Für diesen Prozeß müssen β -Lactamase-freie Enzyme verwendet werden, da sonst der β -Lactamring gespalten wird. Weiterhin ist es wichtig, daß die Produktinhibierung bei der Reaktionsführung beachtet wird, da die Ausbeuten möglichst an 100 % heranreichen sollen. Das Enzym wird im allgemeinen auf porösen Trägern kovalent gebunden und in einem Satzreaktor in der Substratlösung suspendiert. Der pH-Wert wird durch Laugezugabe im Bereich von pH 7 bis 8 bei physiologischen Werten gehalten (Abbildung x.7).

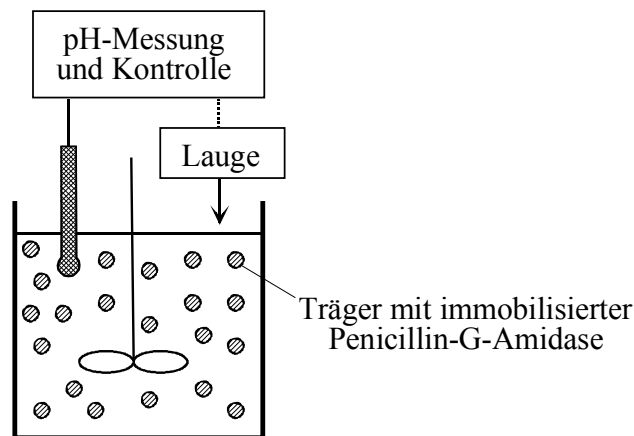
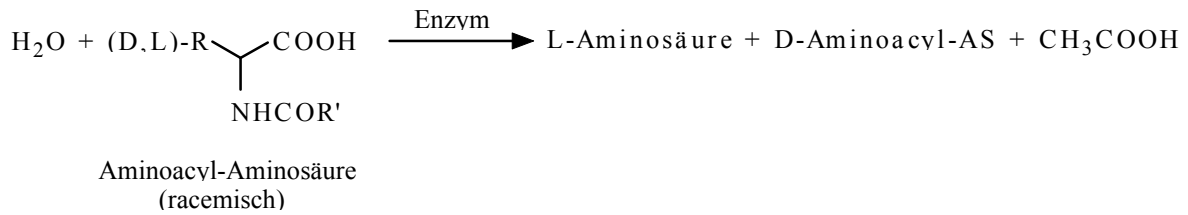


Abbildung 7

6-APS Gewinnung in einem Rührkesselreaktor mit immobilisierten Enzymen

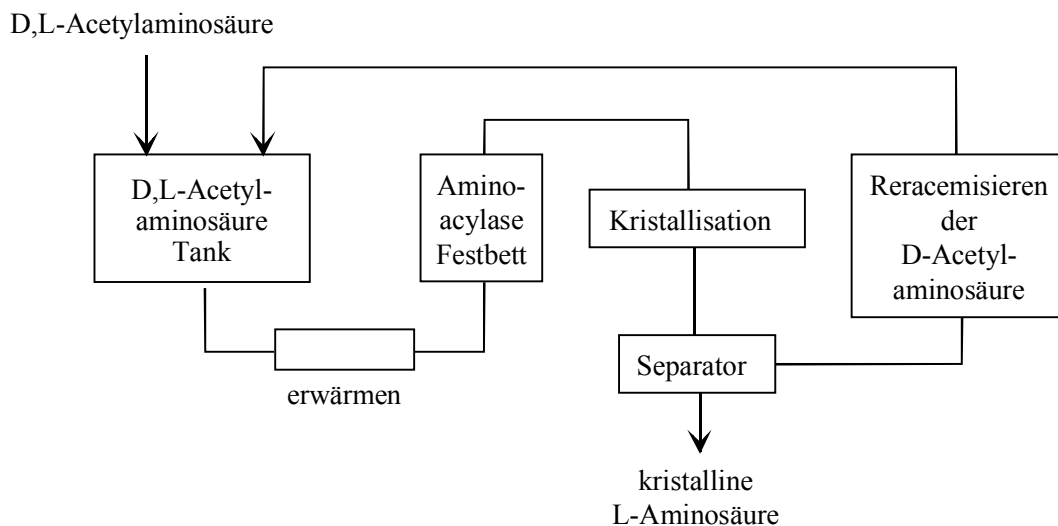
Festbettreaktor

Der erste kommerzielle Prozeß mit immobilisierten Enzymen wurde von Tanabe Seiyaku in einem Festbettreaktor durchgeführt. Es geht dabei um die L-Aminosäureherstellung aus DL-Acetyl-Aminosäure in einer durch Aminoacylasen katalysierten enantioselektiven Hydrolyse (Abbildung x.8).

**Abbildung 8**

Reaktionsschema der enzymatischen Esterhydrolyse zur L-Aminosäuregewinnung

Um möglichst hohe Umsätze zu erreichen, muß die zurückbleibende D-Acetylverbindung abgetrennt und durch Wärmebehandlung reracemisiert werden. Bei der Aufarbeitung werden die Löslichkeitsunterschiede von Edukt und Produkt ausgenutzt. Die Abbildung x.9 zeigt ein Fließschema des industriell eingesetzten Prozesses zur L-Aminosäureherstellung:

**Abbildung 9**

Ablaufschema des Tanabe-Prozesses zur enzymatischen Darstellung von L-Aminosäuren

In diesem Beispielprozeß wird DEAE-Sephadex (ionische Bindung) als Immobilisierungsmatrix gewählt, um L-Methionin, L-Phenylalanin und L-Valin herzustellen. Der Träger ist zwar teuer, doch rechtfertigen lange Standzeiten seinen Einsatz: in fünf Wochen sinkt die Aktivität auf ca. 60%. Außerdem kann der Träger regeneriert werden. Der Prozeß wird in einem 1-m³-Reaktor bei 50-70 °C und einem pH-Wert von 7 ausgeführt. Durch den Einsatz dieses Systems konnten die Preise für L-Aminosäuren halbiert werden.

Festmembranreaktoren

Eine interessante Variante eines Enzymreaktors stellt der Festmembranreaktor dar. In ihm können die Biokatalysatoren in homogener Phase reagieren. Die Enzyme müssen also nicht vor dem Einsatz auf festen Trägern immobilisiert werden. Aktivitätsverluste durch den Fixierungsschritt, Konformationsänderungen und damit verbundene Änderungen der kinetischen Parameter und Probleme wie die Diffusionslimitierung treten nicht auf. Die Funktionsweise ist in Abbildung x.11 dargestellt. In den Reaktionsraum, in dem die Enzyme in gelöster Form vorliegen, werden die Edukte gepumpt. Die enzymatische Reaktion findet hier statt. Über eine Ultrafiltrationsmembran mit einem bestimmten Ausschlußverhalten können niedermolekulare Verbindungen der Reaktor verlassen, während die hochmolekularen

Enzyme zurückgehalten werden. Der Umsatz hängt dann von der Enzymaktivität und der Verweilzeit im Reaktionsraum ab. Bei Bedarf können frische Enzyme neu zugegeben werden. Die Filtrationsfläche kann limitierend sein. Ultrafiltrationsmodule (siehe Abbildung x.12) werden dann eingesetzt, um eine große Austauschfläche zu garantieren. Die wäßrige Phase wird durch das Reaktorsystem gepumpt. Die Prozeßführung (Pumpen, Zufütterung) und -beobachtung (Analyse) verläuft automatisch. Die Produkte werden über das Filtrationsmodul abgezogen.

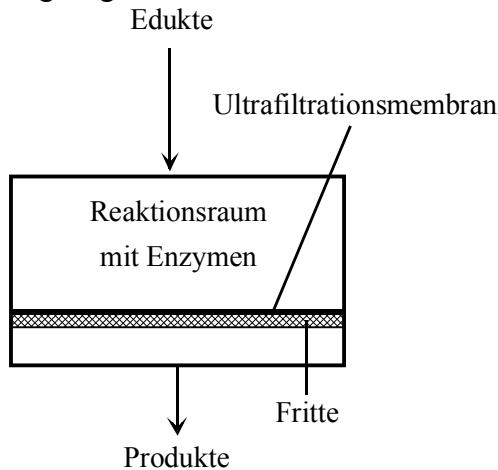


Abbildung 11 Prinzip des Festmembranreaktors

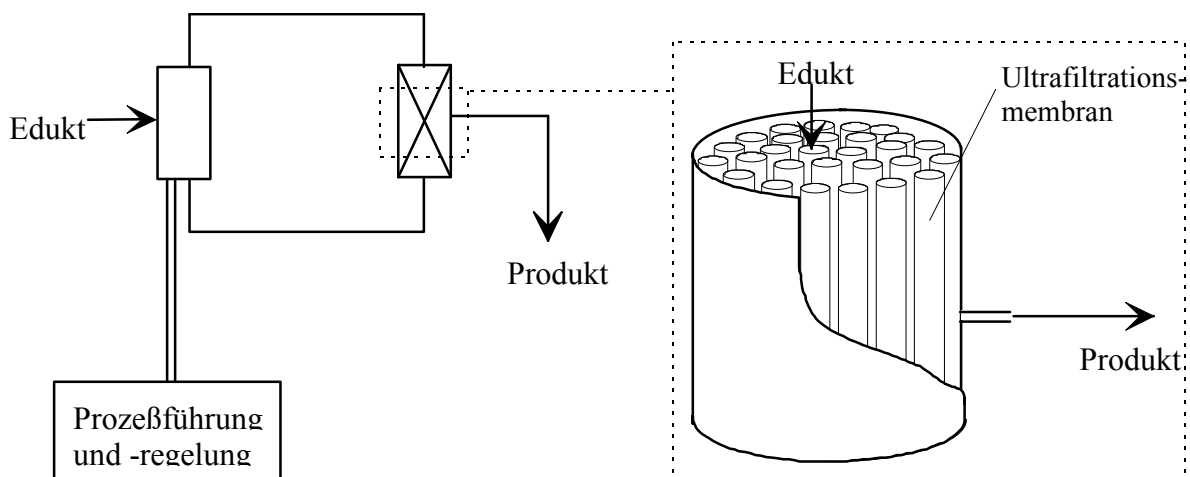


Abbildung 12 Einsatz von Ultrafiltrationsmodulen für den Festmembranreaktor

Dieses Reaktorsystem wurde für die industrielle Herstellung von L-Aminosäure von Wandrey und Kula optimiert. So können L-Aminosäuren ähnlich zum Tanabe-Prozeß durch Hydrolyse von N-Acetyl-D,L-Aminosäure oder durch reduktive Aminierung aus den korrespondierenden α -Ketosäuren hergestellt werden. Während bei der Hydrolysereaktion nur Umsätze von 50% (ohne anschließende Reracemisierung) zu erreichen sind, können bei der reduktiven Aminierung Umsätze von 100% erreicht werden. Für diese Reaktion ist NADH als Cosubstrat nötig. Es wird im gleichen Reaktionsraum durch eine zweite enzymatische Reaktion kontinuierlich zur Verfügung gestellt. Da das Molekulargewicht von NADH aber sehr klein ist (MW= 665,4), würde es die Ultrafiltrationmembran leicht passieren. Deshalb wurde für die Versuche molekulargewichtsvergrößertes NADH verwendet, beispielsweise NADH, das an Polyethylengly

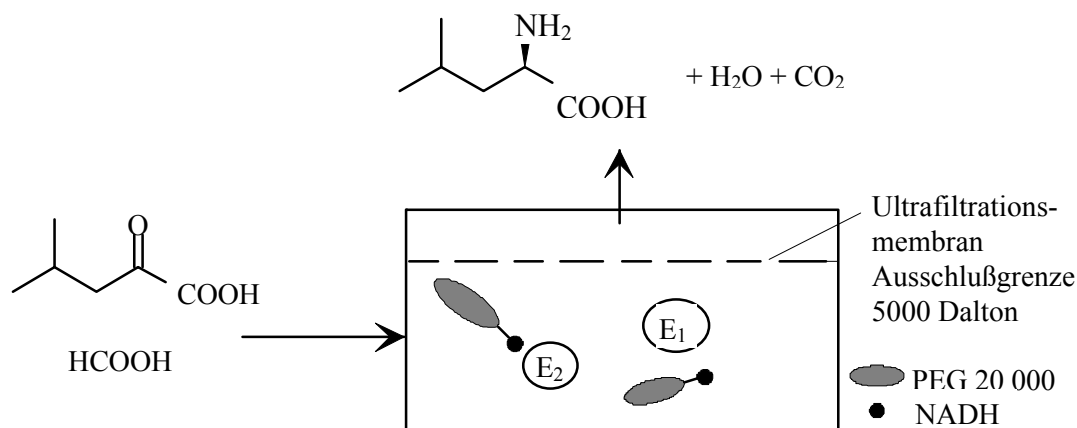
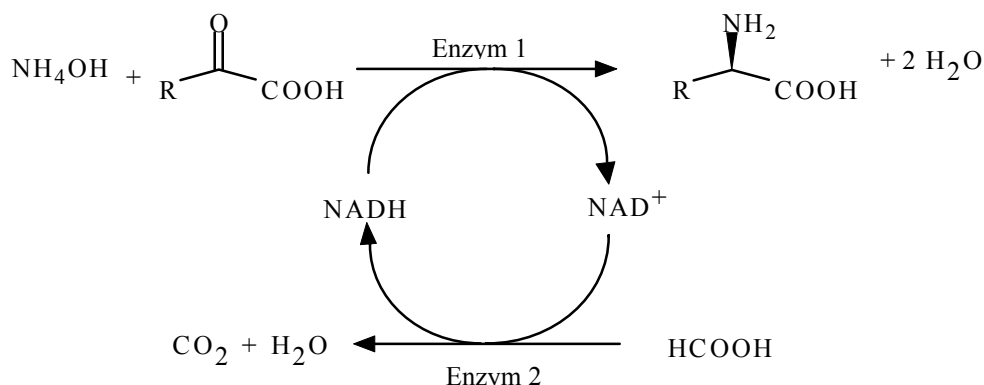


Abbildung 14 Prinzip der coenzymabhängigen enzymatischen Synthese im Festmembranreaktor zur Herstellung von L-Aminosäuren

gebunden ist (Abbildung x.13). Mit diesem Trick konnte das Molekulargewicht so vergrößert werden, daß das Coenzym relativ einfach im Reaktionsraum zurückgehalten werden konnte.

Die Abbildung x.14 zeigt das Reaktionsschema für die Darstellung einer L-Aminosäure (z.B. L-Leucin) aus der entsprechenden α -Ketosäure (z.B. α -Ketoisocaproat). Unter Verbrauch von NADH wird die Ketogruppe in eine L-Aminogruppe überführt. Ein Umsatz von 100 % ist prinzipiell möglich (anders als bei enantioselektiven Racematspaltungen). Das entstehende NAD^+ wird in einer zweiten Reaktion, bei der Formiat oxidiert wird, selbst reduziert. Bei der Reaktion entsteht Kohlendioxid (in Form von Hydrogencarbonat) als Nebenprodukt. Das teure Coenzym kann nun je nach enzymatischem System einige zehntausendmal reagieren, bis es zerstört ist. Über diese Reaktionsführung kann der Gesamtprozeß wirtschaftlich eingesetzt werden.

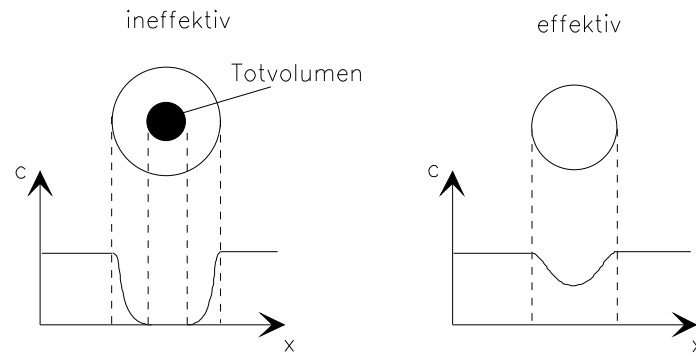


Enzym 1 z.B.: **Leucindehydrogenase (LeuDh)**

Enzym 2 z.B.: **Formiatdehydrogenase (FDH)**

Abbildung 15

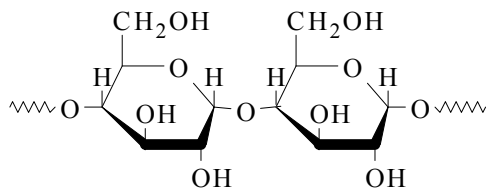
Reaktionsschema zur kontinuierlichen enzymatischen Darstellung von L-Aminosäuren aus den korrespondierenden α -Ketosäuren



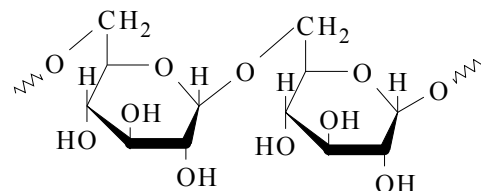
Technische Anwendungen

Stärkeverzuckerung

Stärke ist aus linearer Amylose (α -1,4-verknüpft) und verzweigtem Amylopektin (α -1,6-verknüpft) aufgebaut:



α -1,4-Verknüpfung

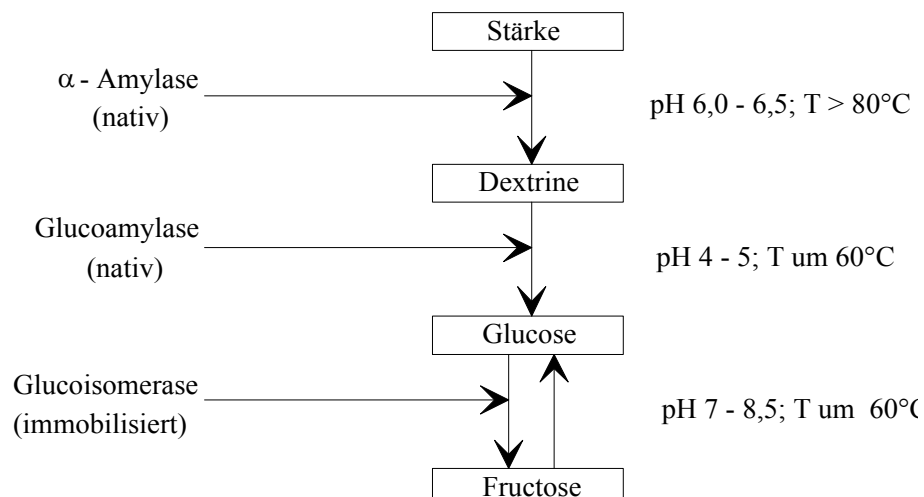


α -1,6-Verknüpfung

So entstehen verzweigte Polysaccharidketten, die je nach verwendetem Enzym an verschiedenen Positionen gespalten werden können, z.B.:

- α -Amylase: endo α -1,4-Spaltung (lineare Spaltung; es entstehen Dextrine, Maltose und Maltotriose)
- α -Amyloglucosidase: exo α -1,4- und α -1,6-Spaltung (ergibt Glucoseeinheiten)

Der Vorgang ist eine Zweischrittreaktion, bei der lösliche Enzyme eingesetzt werden. Man kann bei der Stufe der Glucoseentstehung aufhören und die Glucose aufreinigen. Sie hat eine Süßkraft von 70% gegenüber Saccharose, die Süßkraft der Fructose liegt demgegenüber bei 150%. Man schließt daher noch einen Isomerisierungsschritt an:

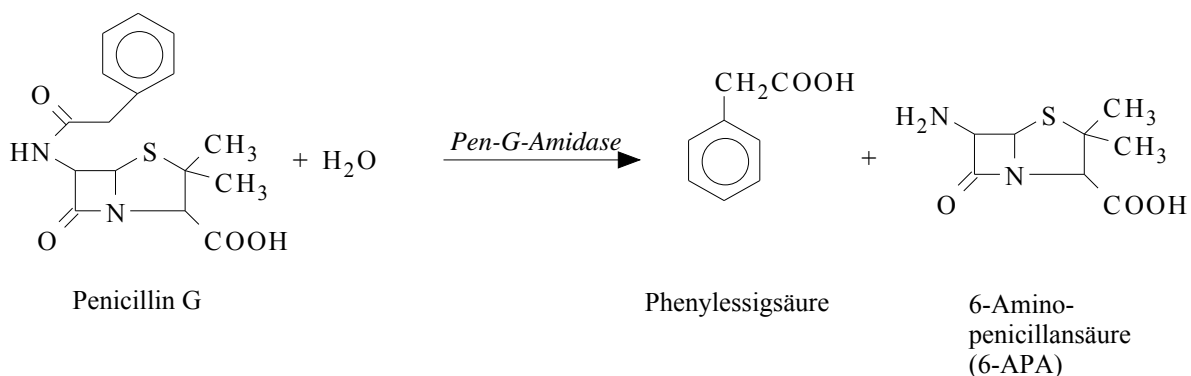


In den USA werden auf diese Weise 5,65 Millionen jato. Zuckersirup gewonnen, in Europa hingegen nur 20.000 jato ($\cong 2\%$ des Industriezuckerbedarfs). Durch Einspeisung von 50 %iger Glucoselösung entsteht ein Zuckersirup mit einem Gehalt von 52% Glucose, 42% Fructose und 6% Oligosacchariden. Die Süßkraft dieses Sirups entspricht derjenigen des Haushaltszuckers.

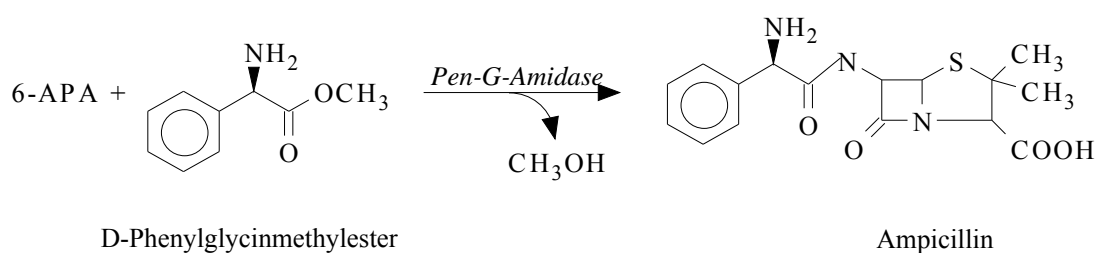
- Eckdaten:
- Halbwertszeit der Enzyme: 1.000 h
 - Reaktionsführung: Umsatz wird konstant gehalten, Durchsatz variiert
 - Pro kg immobilisierter Glucoseisomerase können 1- 3 to Fructosesirup hergestellt werden.

Penicillin

Der eingesetzte Biokatalysator ist die Penicillin-G-Amidase (PGA).



PGA wird in Polyacrylamid eingeschlossen oder in ganzen Zellen verwendet. Aus der auf diese Weise gewonnen 6-Aminopenicillansäure (6-APA) lassen sich durch einen anschließenden Schritt weitere Derivate des Penicillin G herstellen. Beispiel: Ampicillinherstellung:



Ein Problem bei der technischen Herstellung stellt die Produktinhibierung durch 6-APA und besonders durch die Phenylacetic acid dar. Ferner kommt es durch die Entstehung freier Säure zu einem starken Abfall des pH-Wertes, der im Festbett nur schwer kontrolliert werden kann. Die Reaktion wird daher zumeist im Satzbetrieb ausgeführt.