

# Entwicklung eines innovativen Verfahrens zur selektiven Produktion von Carotinoid-Spaltungsprodukten durch Einsatz neuartiger Dioxygenasen im integrierten Bioprozeß

110 ZN 1+2

Im Rahmen dieses Forschungsprojekts konnten Methoden etabliert werden, um die Carotinoid-spaltende Dioxygenase AtCCD1 aus *Arabidopsis thaliana* effizient zu gewinnen. Außerdem wurden verschiedene Konzepte zur Vermittlung der extrem hydrophoben Carotinoide als Substrate der Enzymreaktion im wässrigen Reaktionsmedium erarbeitet. Mit den Forschungsarbeiten wurde eine neuartige Strategie zur Gewinnung natürlicher Aromastoffe (z.B.  $\beta$ -Ionon) auf Basis hochselektiver pflanzlicher Biokatalysatoren aufgezeigt.

Die Carotinasen AtCCD1 wurde kloniert und heterolog in *E. coli* exprimiert. Die Enzymausbeuten wurden verbessert, indem Löslichkeitserhöhende Proteine fusioniert, die Expressionsbedingungen in *E. coli* optimiert und geeignete Tenside zur Solubilisierung der membranaffinen Dioxygenase ausgewählt wurden. Sie wies nach Etablierung geeigneter Assay-Bedingungen sowohl in-vitro- als auch in-vivo-CCD-Aktivität auf. Experimente zum Reaktionsmechanismus belegen, dass es sich bei AtCCD1 um eine Dioxygenase handelt.

Der für die Prozessentwicklung zentrale Schritt ist die Vermittlung der extrem hydrophoben Substrate in das wässrige Medium. Dies geschieht durch ein wässrig-mizellares Tensidsystem in Kombination mit aktivitätserhöhenden, wasserlöslichen Cosolventien. Das so erhaltene makroskopisch homogene Medium bietet für das Enzym eine geeignete Umgebung und erlaubt gleichzeitig ein einfaches Scale-up in den Enzymreaktormaßstab. Aufbauend auf den bisher an Modellsystemen erzielten Ergebnissen soll in einem Anschlussvorhaben die technische und ökonomische Machbarkeit einer Aromagewinnung mittels pflanzlicher Dioxygenasen unter Einsatz technischer Substrate und durch Weiterentwicklung des Reaktionssystems aufgezeigt werden.

Bearbeitet wurde das Forschungsthema von 5/2003 bis 2/2006 am **Karl-Winnacker-Institut der DECHEMA e.V.** (Theodor-Heuss-Allee 25, 60486 Frankfurt am Main, Tel. (069) 7564-0) unter der Leitung von Dr. D. Sell (Leiter der Forschungsstelle Prof. Dr. G. Kreysa) und am **Fachgebiet Biomolekulare Lebensmitteltechnologie des Forschungsdepartment Lebensmittel und Ernährung der TU München** (Lise-Meitner-Straße 34, 85354 Freising-Weihenstephan, Tel. (08161) 548-400) unter der Leitung von Prof. Dr. W. Schwab (Leiter der Forschungsstelle Prof. Dr. W. Schwab).

[--> TIB](#)

Gefördert durch:



Bundesministerium  
für Wirtschaft  
und Energie

Das IGF-Vorhaben Nr. 110 ZN 1+2 der Forschungsvereinigung DECHEMA, Gesellschaft für Chemische Technik und Biotechnologie e.V., Theodor-Heuss-Allee 25, 60486 Frankfurt am Main wurde über die AiF im Rahmen des Programms zur Förderung der industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Energie aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert.

aufgrund eines Beschlusses  
des Deutschen Bundestages