

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

243 ZN

In diesem Projekt konnten fünf Vollängen-cDNAs von bisher nicht bekannten CCD-Genen aus vier Pflanzenarten isoliert und die davon codierten Enzyme funktionell charakterisiert werden. Vier der neu identifizierten CCD-Enzyme gehörten zur bisher kaum untersuchten CCD4-Subfamilie. Für diese wurde eine von den bisher bekannten Mustern abweichende Schnittspezifität vorgefunden und eine Hypothese für die Substratspezifität und In-vivo-Funktion dieser Subfamilie formuliert.

Außerdem wurde für das neu identifizierte Enzym RdCCD1 ein Substratspektrum von bisher nicht bekannter Breite festgestellt. Dadurch wird dieses Enzym für den Einsatz in einem biokatalytischen Plattform-Verfahren attraktiv. Die Verfügbarkeit des Biokatalysators stellt eine wichtige Voraussetzung für einen industriellen Einsatz des Verfahrens dar. Durch Screening von Kombinationen verschiedener molekularer Chaperone konnte eine Verbesserung der volumetrischen Enzymausbeute um 119 % erreicht werden. Es wurden auch alternative Enzyme zur biokatalytischen β -Ionon-Herstellung auf ihre Eignung zum technischen Einsatz untersucht, sie konnten jedoch die biokatalytische Leistung von AtCCD1 nicht übertreffen.

Um ein solches Verfahren wirtschaftlich durchführen zu können, ist es notwendig β -Carotin als Substrat einzusetzen, da es besonders kostengünstig zu erhalten ist. In einem vorangegangenen Projekt konnten unter Einsatz von Modellsubstraten wesentliche Grundlagen für die technische Realisierung des Vorhabens gelegt werden. Die Umsetzung von β -Carotin gelang jedoch nicht in signifikantem Umfang. Zum Transfer auf das Zielsubstrat β -Carotin wurde die Substratvermittlung mittels Mizellen, Liposomen und Nanoemulsionen untersucht. Die Umsetzung von β -Carotin in technisch relevantem Umfang konnte im mizellaren System erreicht und reaktionskinetisch optimiert werden. Eine In-situ-Produktabtrennung für den Aromastoff β -Ionon durch organophile Pervaporation wurde entwickelt und charakterisiert. Mit diesem System kann β -Ionon aus laufenden Bioprozessen ohne den Einsatz umweltschädigender Lösungsmittel abgetrennt werden.

Weiterhin wurde die Nutzung preisgünstiger regenerativer Carotinoidquellen für den beabsichtigten Bioprozess untersucht. Sowohl mit der Biomasse als auch mit einem CO₂-Extrakt der Blaualge *Spirulina platensis* wurde eine Umsetzung des enthaltenen β -Carotins zu β -Ionon erreicht. Eine Demonstrationsanlage im Labormaßstab (3 l Reaktorvolumen) wurde entworfen und realisiert. Die biokatalytische Herstellung von β -Ionon aus β -Carotin einschließlich der Produktabtrennung und -voraufreinigung ließ sich damit erfolgreich durchführen. Die Steuerungsmöglichkeiten des Enzymreaktors wurden genutzt, um durch Sauerstoffeintrag mittels Membranschläuchen die katalytische Effizienz weiter zu verbessern.

Bearbeitet wurde das Forschungsthema von 02/07 bis 12/09 bei der **DECHEMA e.V., Karl-Winnacker-Institut** (Theodor-Heuss-Alle 25, 60486 Frankfurt am Main, Tel.: 069/7564-0) unter Leitung von PD Dr. J. Schrader (Leiter der Forschungsstelle Dr. K. Wagemann) und an der **Technischen Universität München, Forschungsdepartment Ernährungs- und Lebensmittelwissenschaften, Fachgebiet Biotechnologie der Naturstoffe** (Liesel-Beckmann-Straße 1, 85354 Freising-Weihenstephan, Tel.: 08161/71-2912) unter Leitung von Prof. Dr. W. Schwab (gleichzeitig Leiter der Forschungsstelle).

[--> TIB](#)

Gefördert durch:



aufgrund eines Beschlusses
des Deutschen Bundestages

Das IGF-Vorhaben Nr. 243 ZN 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.