

# Immobilisierung einer $\beta$ -Galactosidase auf monolithischen Disks zur Produktion von Galacto-Oligosacchariden

J. Pottratz<sup>1</sup>, C. Schmidt<sup>1</sup>, I. Müller<sup>1</sup>, C. Hamel<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Hochschule Anhalt, Köthen, Deutschland

<sup>2</sup> Otto von Guericke Universität, Magdeburg, Deutschland

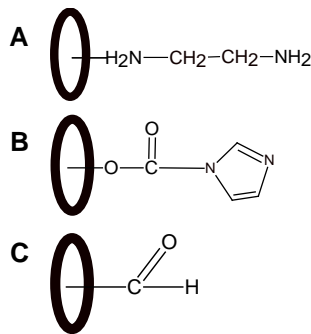
## Einleitung

Wachsendes Gesundheitsbewusstsein moderner Konsumenten führt zu einem signifikanten Bedarf an funktionellen Lebensmitteln und Zusätzen, wie den Präbiotika. Präbiotisch wirksame Galacto-Oligosaccharide (GOS) haben einen positiven Effekt auf das Wachstum und die Aktivität von nützlichen Darmbakterien und sind entscheidend für den bifidogenen Effekt [1]. Auf Grund der steigenden Nachfrage ist die Entwicklung von effizienten GOS-Produktionsstrategien essentiell. GOS werden im industriellen Maßstab u.a. mit Hilfe des preisintensiven Enzyms  $\beta$ -Galactosidase aus Lactose gewonnen, wobei insbesondere Lactose aus Molke als preiswertes Substrat für eine Wertschöpfung genutzt werden sollte. Die Anwendung des Enzyms in immobilisierter Form eröffnet neue Möglichkeiten. Der signifikante Vorteil immobilisierter Enzyme im Vergleich zu freien Enzymen ist die Erhöhung der Langzeitstabilität, geringerer Enzymverbrauch und die Möglichkeit kontinuierlich über einen langen Zeitraum zu produzieren. Dabei ist die Art des Trägers, auf dem Enzyme gebunden werden, entscheidend für die Immobilisierungseffizienz und den Stofftransport [2]. Monolithische makroporöse Träger mit geeigneten hydrodynamischen Eigenschaften basieren auf der Co-Polymerisation von Glycidylmethacrylat und Ethylenglycol-dimethacrylat und sind u.a. als CIM<sup>®</sup> (Convective Interaction Media) erhältlich. Die Monolithen zeichnen sich durch hohe mechanische und chemische Stabilität sowie einen effizienten Stofftransport durch konvektiven Porendurchfluss aus, da der konvektive Transport der Moleküle in den Poren zum aktiven Zentrum der Enzyme dominiert und nicht durch Diffusion limitiert ist [3].

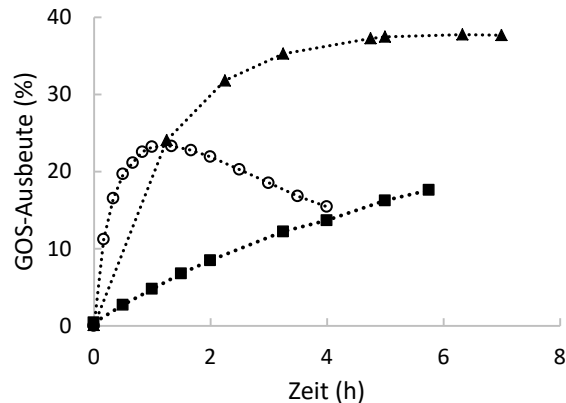
## GOS-Synthese im Porendurchflussreaktor

Bisher gibt es nur wenige wissenschaftliche Arbeiten zur Produktion von Oligosacchariden mit auf Monolithen immobilisierten Enzymen [4, 5]. Es zeigte sich, dass Bioreaktoren in Form monolithischer Disks beladen mit Glycosidasen hohe Raum-Zeit-Ausbeuten generieren können. Im Beitrag werden verschieden aktivierte CIM<sup>®</sup> Monolithe als Träger einer  $\beta$ -Galactosidase aus *B.circulans* getestet. Ziel der Arbeit ist zunächst ein Screening des Trägers in Bezug auf die Enzymbindung und

darauf aufbauend im Porendurchflussreaktor GOS in einem kontinuierlichen System herzustellen. Zu den auf dem Monolithen gebundenen Liganden gehören Carbonyldiimidazol (CDI), ein Aldehydrest (ALD) und Ethylendiamin (EDA) (Abb.1). Mit Hilfe von CDI-, ALD- und mit Glutaraldehyd derivatisierten EDA-Disks kann das Zielenzym irreversibel über kovalente Wechselwirkungen gebunden werden. EDA wirkt ohne Derivatisierung auch als schwacher Anionentauscher, so dass ein negativ geladenes Enzym über ionische Wechselwirkungen reversibel immobilisiert werden kann.



**Abb. 1:** CIM<sup>®</sup> Disks aktiviert mit (A) EDA, (B) CDI und (C) ALD



**Abb. 2:** GOS-Ausbeute, produziert mit: freiem (o) und auf CDI (▲) bzw. ALD (■) Disk immobilisiertem Enzym

### Charakterisierung und Bewertung der Immobilisierung

Im Beitrag wird gezeigt, dass eine erfolgreiche Enzymimmobilisierung auf CIM Disks aktiviert mit EDA, CDI bzw. ALD realisierbar ist und die Durchführung einer kontinuierlichen GOS-Synthese im Porendurchflussreaktor im Labormaßstab ermöglicht. Alle drei Disks mit unterschiedlicher Aktivierung wurden hinsichtlich ihrer Beladungseffizienz, der Enzymaktivität, Langzeitstabilität und GOS-Ausbeute (Abb. 2) untersucht, um für einen Scale-up die effizienteste CIM<sup>®</sup>-Aktivierung für einen Porendurchflussreaktor zu identifizieren.

### Referenzen

1. Tanaka, R., et al., Bifidobacteria and microflora, 1983. **2**(1): p. 17-24.
2. Vodopivec, M., et al., Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences, 2003. **795**(1): p. 105-113.
3. Tennikova, T.B., et al., Journal of Liquid Chromatography, 1990. **13**: p. 63-70.
4. Bertrand, E., et al., Carbohydrate Polymers, 2014. **111**: p. 707-713.
5. Delattre, C., et al., Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences, 2008. **861**(2): p. 203-208.