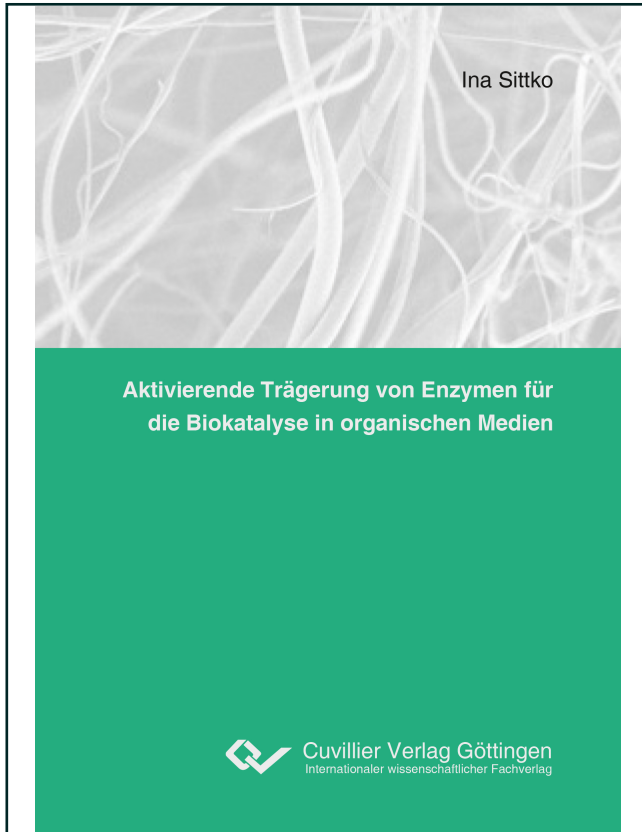




Ina Sittko (Autor)

## **Aktivierende Trägerung von Enzymen für die Biokatalyse in organischen Medien**



<https://cuvillier.de/de/shop/publications/7369>

Copyright:

Cuvillier Verlag, Inhaberin Annette Jentsch-Cuvillier, Nonnenstieg 8, 37075 Göttingen, Germany

Telefon: +49 (0)551 54724-0, E-Mail: [info@cuvillier.de](mailto:info@cuvillier.de), Website: <https://cuvillier.de>



## Inhaltsverzeichnis

1.	Motivation .....	1
2.	Einleitung.....	2
2.1.	(Bio)katalysatoren .....	2
2.2.	Amphiphile Polymerconetze .....	8
2.2.1.	Synthese von APCNs.....	10
2.2.2.	Industrieller Einsatz von APCNs.....	11
2.2.3.	APCNs als Enzymträger.....	12
2.3.	Nanofasern .....	14
2.3.1.	Polymere Nanofasern als Träger für Biokatalysatoren.....	20
3.	Aufgabenstellung.....	27
4.	Material und Methoden .....	28
4.1.	Chemikalien und Geräte .....	28
4.1.1.	Chemikalien .....	28
4.1.2.	Enzyme.....	32
4.1.3.	Proteinmarker.....	33
4.1.4.	Geräte .....	33
4.1.4.1.	Mikrowellensynthesen .....	33
4.1.4.2.	Rasterkraftmikroskopie (AFM) .....	33
4.1.4.3.	Fourier-Transform-Infrarotspektroskopie unter abgeschwächter Totalreflexion (ATR-FTIR) .....	34
4.1.4.4.	Gelpermeationschromatographie (GPC) .....	34
4.1.4.5.	Dynamische Lichtstreuung (DLS) .....	34
4.1.4.6.	Gaschromatographie (GC) .....	35
4.1.4.7.	Kernspinresonanzspektroskopie (NMR) .....	35
4.1.4.8.	Rasterelektronenmikroskop (REM) .....	35
4.1.4.9.	Geräteliste .....	36



4.1.5.	Gase und Flüssiggase.....	37
4.2.	Polymersynthese.....	38
4.2.1.	Umkristallisieren von $\alpha$ - $\alpha'$ - <i>para</i> -Dibromxylool ( <i>p</i> DBrX).....	38
4.2.2.	Destillation von 2-Methyl-2-Oxazolin (MeOx) und 2-Ethyl-2-Oxazolin (EtOx).....	38
4.2.3.	Destillation von <i>N</i> -[3-(Dimethylamino)propyl]-methacrylamid (DMPMA).....	39
4.2.4.	Trocknung von Chloroform.....	39
4.2.5.	Polymersynthese.....	39
4.2.5.1.	Polymerisation der Homopolymere.....	39
4.2.5.2.	Terminierung der Poly(2-Oxazoline) für die Linkersynthese.....	41
4.2.5.3.	Aufreinigung der Poly(2-Oxazoline).....	41
4.3.	Netzwerksynthese.....	42
4.3.1.	Destillation von 2 - Hydroxyethylacrylat (HEA).....	42
4.3.2.	Destillation von 2 - Ethylhexylacrylat (EhAc).....	42
4.3.3.	Dialyse der RmL- und CaL B-Formulierung.....	42
4.3.4.	Änderung des pH-Wertes des $\alpha$ -Chymotrypsins (CT).....	43
4.3.5.	Synthese von amphiphilen Polymerconetzwerken.....	43
4.3.5.1.	Synthese der RmL-beladenen PHEA-I-PEtOx APCNs.....	43
4.3.5.2.	Synthese der PBUAc-I-PMEOx bzw. PEhAc-I-PMEOx APCNs.....	44
4.3.5.3.	Synthese der enzymbeladenen PBUAc-I-PMEOx bzw. PEhAc-I-PMEOx APCNs.....	46
4.3.5.4.	Synthese der Polymernetzwerke mit PEtOx <sub>5000</sub> und PEtOx <sub>240</sub> .....	47
4.3.6.	Untersuchungen der amphiphilen Polymerconetzwerke.....	48
4.3.6.1.	Bestimmung des Sol-Gel Gehaltes.....	48
4.3.6.2.	Bestimmung der Quellgrade.....	48
4.4.	Mikropartikel aus amphiphilen Conetzwerken.....	49
4.4.1.	Synthese.....	49
4.4.2.	Bestimmung der durchschnittlichen Partikelgröße.....	49
4.5.	Nanofasern.....	49



4.5.1.	Synthese .....	49
4.5.1.1.	Polymerlösungen ohne Enzym .....	49
4.5.1.2.	Polymerlösungen mit Enzym .....	52
4.5.2.	Bestimmung der durchschnittlichen Faserdurchmesser .....	54
4.6.	Enzymatische Aktivitätsbestimmung im Wässrigen .....	55
4.6.1.	Lipase .....	55
4.6.2.	Peptidase .....	56
4.6.3.	Peroxidase .....	57
4.6.4.	Laccase .....	58
4.6.5.	Alkoholdehydrogenase (ADH) .....	58
4.7.	Enzymatische Aktivitätsbestimmung in organischen Lösemitteln .....	60
4.7.1.	Lipase .....	60
4.7.1.1.	Umsetzung von 1-Octanol und Laurinsäure .....	60
4.7.2.	Peptidase .....	61
4.7.3.	Peroxidase .....	62
4.7.4.	Laccase .....	63
4.7.5.	Alkoholdehydrogenase .....	64
4.8.	Berechnung des Thiele-Moduls .....	64
4.9.	Elektrophorese .....	65
4.9.1.	Sodium-dodecylsulfat-Polyacrylamid-Gelelektrophorese (SDS-PAGE) .....	65
4.9.2.	Coomassie-Färbung .....	67
5.	Ergebnisse und Diskussion .....	68
5.1.	Poly(2-Oxazoline) .....	68
5.1.1.	Synthese .....	68
5.1.2.	Polymercharakterisierung .....	71
5.2.	Ermittlung des Enzymgehaltes der aufgereinigten CaL B .....	74
5.3.	PBuAc- <i>l</i> -PMOx und PEhAc- <i>l</i> -PMOx APCNs .....	76



5.3.1.	Synthese und Charakterisierung .....	77
5.3.1.1.	Bestimmung des Solanteils und der resultierenden Zusammensetzung .....	82
5.3.1.2.	Untersuchungen zur Phasenseparation .....	85
5.3.1.3.	Untersuchungen zum Quellverhalten .....	89
5.3.2.	Aktivitätsmessungen .....	91
5.3.3.	Fazit .....	96
5.4.	PHEA-/PEtOx APCNs .....	96
5.4.1.	PHEA-/PEtOx Mikropartikel als Enzymträger .....	101
5.4.2.	Fazit .....	108
5.5.	Nanofasern .....	109
5.5.1.	Nanofasern mit kurzkettigen PEtOx-Polymeren .....	115
5.5.2.	Untersuchungen zur chemischen Vernetzung .....	122
5.5.3.	Nanofasern als Träger für Biokatalysatoren.....	134
5.5.3.1.	Vergleich der unterschiedlichen Trägersysteme.....	134
5.5.3.2.	Beladungsmessungen mit CaL B.....	136
5.5.3.3.	PEtOx-Nanofasern als Träger für weitere Enzyme .....	143
5.5.3.4.	Design eines biokatalytisch wirksamen Rührers .....	153
5.5.4.	Fazit .....	156
6.	Zusammenfassung.....	157
6.1.	APCNs und APCN-Mikropartikel.....	157
6.2.	Nanofasern .....	159
7.	Kurzzusammenfassung.....	161
8.	Literaturverzeichnis.....	163
9.	Kurzlebenslauf.....	185