



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, 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 α - α' - <i>para</i> -Dibromxylyl (<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 (DMAPMA).....	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 α -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 ₅₀₀₀ und PEtOx ₂₄₀	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