

# ENZYME

## biologische Beschleuniger

Wer käme schon auf die Idee, seine Suppe mit der Gabel zu essen oder einen knusprigen Broiler mit dem Löffel? Wir wählen das der Art des jeweiligen Gerichtes angemessene Besteck.

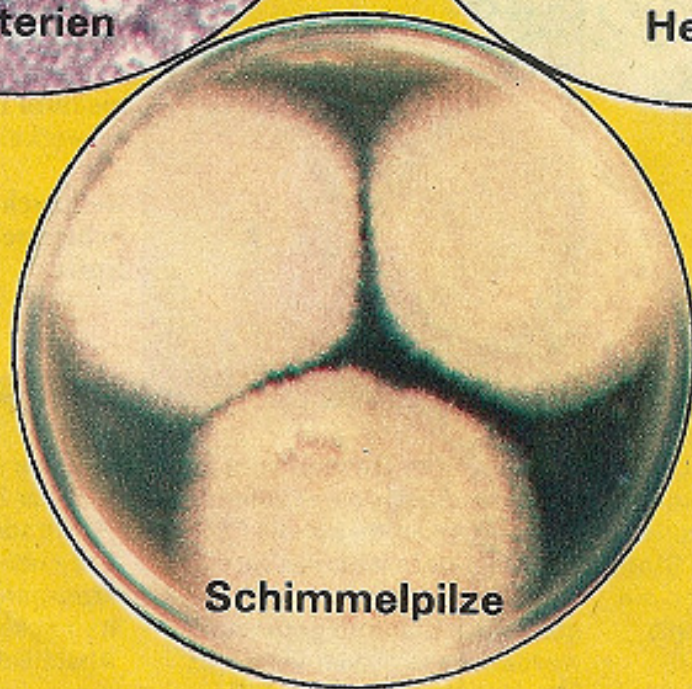
Auch die mikroskopisch kleinen Lebewesen – Mikroorganismen wie



Bakterien



Hefen



Schimmelpilze

nutzen zum „Zerlegen“ bestimmter Substrate das passende, von ihnen selbst hergestellte „Enzym-Besteck“.





Seit mehreren Jahrtausenden nutzt der Mensch die Wirkung der von Mikroorganismen produzierten Enzyme aus, um Bier, Wein, Brot, Butter und Käse herzustellen. Bis vor wenigen Jahrzehnten geschah dies jedoch mehr oder weniger empirisch, das heißt, es fehlten tiefere Kenntnisse der biochemischen Zusammenhänge.

Mit der Zeit begann man aber, solche Enzyme gezielt als lebensmitteltechnologische Hilfsstoffe einzusetzen. Spezifisch und unter milden Bedingungen wirkend, sind diese Wirkstoffe zunehmend bedeutender für verschiedene industrielle Umwandlungsprozesse geworden, so beim Reifen, Veredeln oder Aromatisieren von Nahrungs- und Genußmitteln. Enzyme beschleunigen bestimmte Reaktionen, zum Beispiel den Abbau von Stärke zu Zucker, werden bei der Reaktion selbst aber nicht verbraucht. Deshalb bezeichnet man sie auch als Biokatalysatoren. Verbunden mit der stürmischen Entwicklung des wissenschaftlich-technischen Fortschritts und damit auch der Biotechnologie gelangen in den letzten Jahren bei der Produktion von Nahrungsmitteln, in der Leichtindustrie, in der Medizin und in der biochemischen Forschung mehr und mehr Enzympräparate zum Einsatz.

## Wie zu erzeugen

Mikroorganismen stellen heute die wichtigste Quelle dar, diese Wirkstoffe herzustellen. Unter natürlichen Bedingungen produzieren Schimmelpilze, Bakterien beziehungsweise Hefen eine breite Palette von Enzymen. Dadurch können viele Stoffe, die in ihrem Lebensraum vorkommen, abgebaut werden. Diese „zerlegten Stoffe“ werden für den Stoffwechsel, das Wachstum und die Vermehrung der Mikroorganismen benötigt.

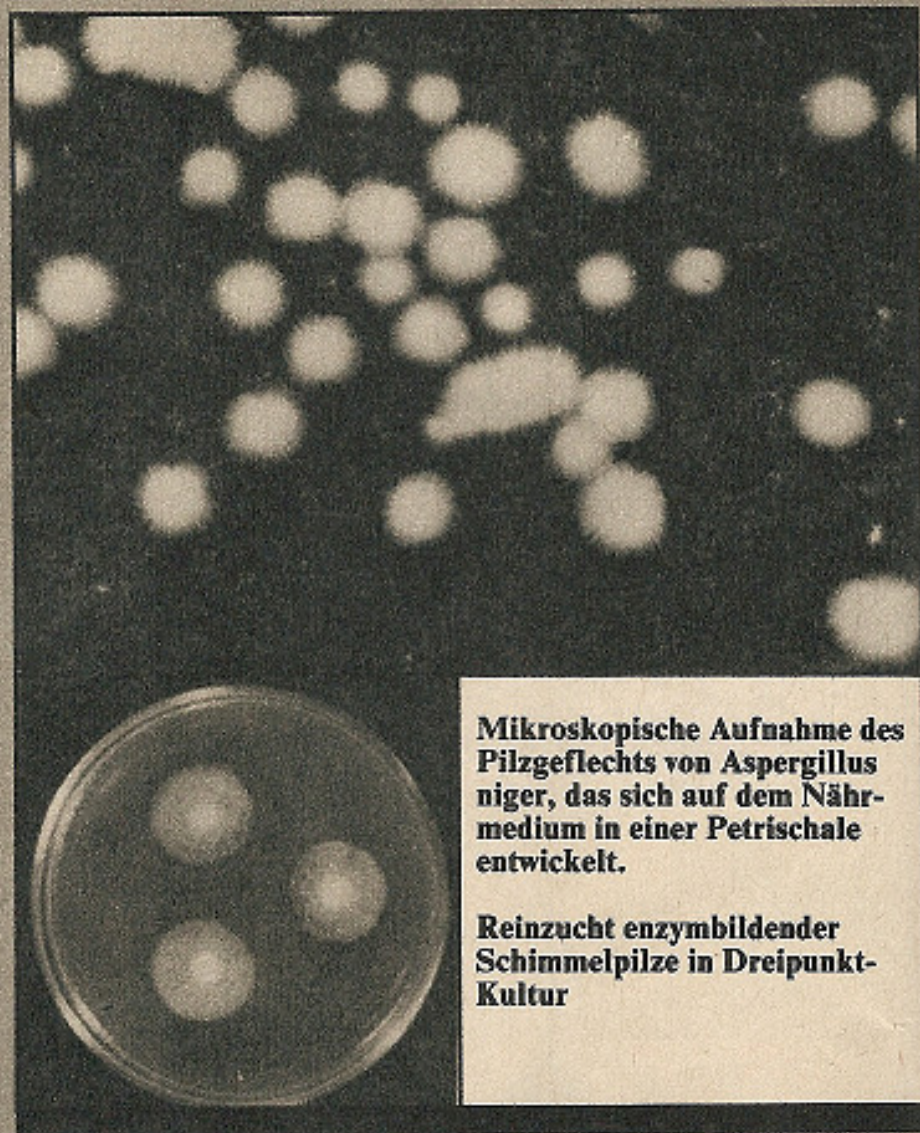
Bei der industriellen Produktion muß man entsprechende Bedingungen schaffen, damit ein ganz bestimmtes Enzym in möglichst

großer Menge von den Mikroorganismen gebildet wird. Es soll über eine hohe Aktivität und über bestimmte Eigenschaften verfügen. Wie geht man nun vor, Verfahren zur Produktion solcher mikrobieller Enzympräparate zu entwickeln?

Zunächst erfolgt die Suche nach einem geeigneten Mikroorganismen-Stamm (als Screening bezeichnet). Dazu werden zahlreiche Proben aus verschiedenen

Variation bestimmter Faktoren. Das sind vor allem die Zusammensetzung des Nährbodens, die Temperatur und die Belüftung sowie der Zusatz von Vitaminen, Spurenelementen und Mineral-salzen.

Damit das Verfahren ökonomisch wird, sucht man nach solchen Nährstoffen für die Mikroorganismen, die billig und leicht zu beschaffen sind, wie Kleie oder Maismehl. Es schließt sich die



**Mikroskopische Aufnahme des Pilzgeflechts von *Aspergillus niger*, das sich auf dem Nährmedium in einer Petrischale entwickelt.**

**Reinzucht enzymbildender Schimmelpilze in Dreipunkt-Kultur**

Bereichen der Umwelt entnommen und die darin enthaltenen Mikroorganismen auf die Fähigkeit hin untersucht, das gewünschte Enzym zu bilden. Sind geeignete Stämme gefunden, werden diese gezielt vermehrt (Anreicherungskulturen). Dadurch ermittelt man die optimalen Wachstumsbedingungen für den ausgewählten Stamm durch

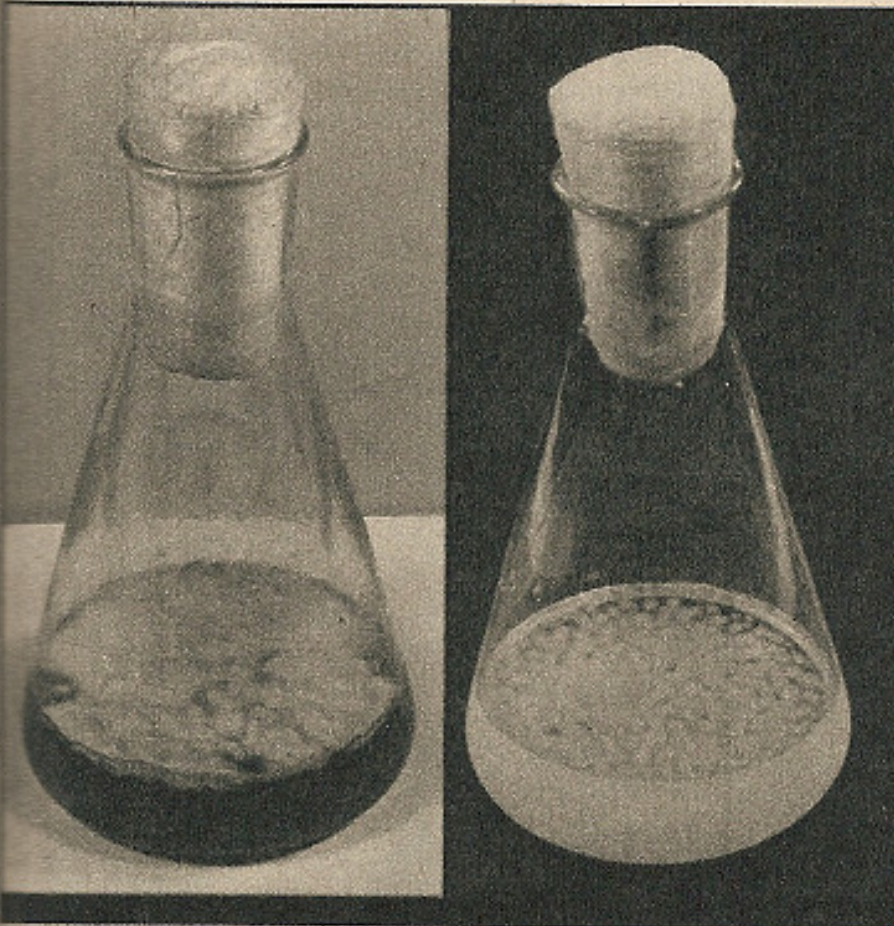
Analyse an, wie sich das Wachstum der Zellen, der Umsatz der Nährbodenbestandteile und das Enzymbildungsvermögen des Mikroorganismen-Stammes in Abhängigkeit von der Zeit verhalten. Abschließend wertet man die gewonnenen Ergebnisse aus und überführt die Verfahren in die großtechnische Dimension. Dabei kommen Behälter mit einem



**Von Mikroorganismen produzierte Enzyme und ihre Anwendungsmöglichkeiten in der Industrie**

Enzym	Produzierender Mikroorganismus	Anwendung des Enzyms in der Industrie
Amylase	Bacillus, Aspergillus	Abbau von Stärke zu Zucker in Brauerei, Brennerei, Backwarenindustrie
Pectinase	Aspergillus	Herstellung von Traubenzucker
Invertase	Saccharomyces	Herstellung und Klärung von Fruchtsaft
Lipase	Aspergillus	Verflüssigung von Zucker für Bonbonfüllungen
Protease	Bacillus, Streptomyces	Reifung von Käse
Collagenase	Clostridium	Waschmittelzusatz zur Eiweißentfernung
		Therapie von Verletzungen und Verbrennungen

**Züchtung von Aspergillus niger. Beim Emersverfahren (linke Abbildung) befindet sich der Schimmelpilz auf der Oberfläche des Nährmediums. Beim Submersverfahren schwimmt das Pilzmycel in Form kugelförmiger Pellets in der Flüssigkeit.**



Volumen von 25 bis 100 Kubikmeter zum Einsatz.

Bei der großtechnischen Herstellung von Enzympräparaten mit Hilfe von Mikroorganismen unterscheidet man zwei Verfahren:

- beim Oberflächen- bzw. Emers-Verfahren befinden sich die Mikroorganismen auf der Oberfläche ruhender Flüssigkeiten oder fester Nährböden;

- beim Tieftank- bzw. Submers-Verfahren werden die Mikroorganismen in flüssigen, meist belüfteten Nährmedien gehalten. Hatten die Mikroorganismen ausreichend Zeit, die im Tank vorhandenen Nährstoffe umzusetzen und das dazu erforderliche Enzym zu produzieren, kann das Aufarbeiten des enzymhaltigen Kulturfiltrates erfolgen. Dazu

werden spezielle Reinigungsverfahren angewendet und Flüssigkeitskonzentrate oder Trockenpräparate des Enzyms hergestellt. Wichtig ist die anschließende Analyse der Lagerstabilität, der Haltbarkeit und der Standardisierung der Enzyme. Sollen die Enzyme als Hilfsstoffe bei der Produktion von Lebensmitteln eingesetzt werden, besteht die Pflicht, die hygienisch-toxikologische Unbedenklichkeit nachzuweisen.

## Wie besser und billiger

Aus den immer größer werdenden Anforderungen, geeignete Enzympräparate bereitzustellen, erwachsen der Biotechnologie zahlreiche interessante und volkswirtschaftlich wichtige Aufgaben. Dazu gehört, die Verfahren zur Produktion der heute gebräuchlichen Enzyme, die auch als solche der ersten Generation bezeichnet werden, zu optimieren. Dabei sollen nicht nur die Leistung der enzymbildenden Mikroorganismen gesteigert und die Herstellungskosten gesenkt, sondern auch die Eigenschaften der Präparate dem speziellen Einsatzzweck genau angepaßt werden. Erhebliche Fortschritte sind hier in Zukunft mit dem mathematischen Beschreiben der Prozesse, durch Optimieren auf der Basis eines Modells und durch Computersteuerungen zu erzielen.

In den letzten 20 Jahren wurde intensiv geforscht, immobilisierte Enzyme (zweite Generation) herzustellen. Unter Immobilisierung oder Trägerfixierung versteht man, daß Enzyme an oder in bestimmte „Träger“, die Zellulose, Polyacrylamid oder Glas, gebunden oder eingeschlossen sind. Sie werden dadurch stabilisiert und können über Wochen aktiv sein. Der große Vorteil trägerfixierter Enzyme liegt darin, daß sie wiederholt verwendbar sind. Erste erfolgversprechende Ergebnisse des Einsatzes solcher, an eine Trägersubstanz gebundener





Enzyme im industriellen Maßstab liegen bereits vor; nach weiteren Einsatzmöglichkeiten wird gesucht. Der Gruppe von Enzymen der zweiten Generation kann man eine große Zukunft vorausagen.

## Wie weiter

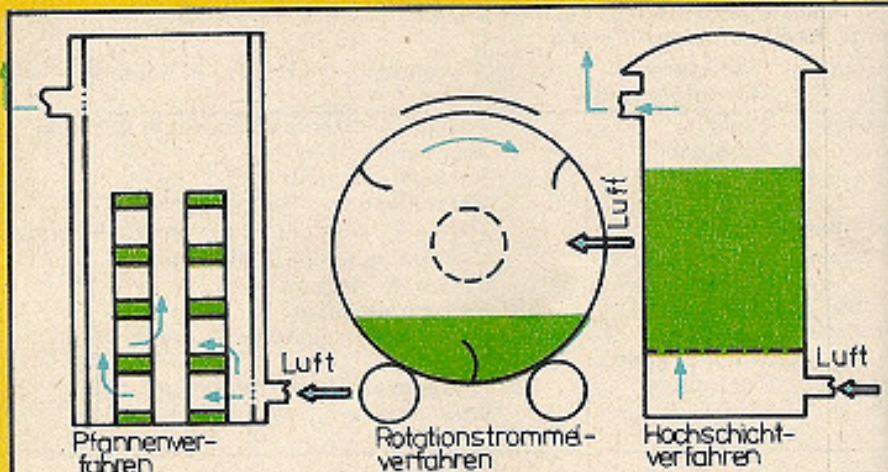
In den nächsten 20 bis 30 Jahren werden Forschung und Entwicklung auf dem Gebiet der Biotechnologie in nicht unerheblichem Maße davon geprägt sein, Enzyme der dritten Generation herzustellen und zum Einsatz zu bringen. Es handelt sich dabei um immobilisierte Enzyme, die Oxidations- und Reduktionsvorgänge katalysieren und die Mehrschritt-Reaktionen ermöglichen. Verschiedene dieser Wirkstoffe sind zu sogenannten Enzymreaktoren zusammenfügbar, womit bei geeigneter Kombination ganze Stoffwechselketten-Reaktionen ablaufen können.

In vielen Fällen stehen wir erst am Anfang der Entwicklung. So trägt der Einsatz von Enzymen der dritten Generation noch vorwiegend Modellcharakter. Vor der Biotechnologie steht die Aufgabe, Enzympräparate herzustellen, mit deren Hilfe der Ablauf biochemischer Prozesse bei der Be- und Verarbeitung von Lebensmitteln, in der Leichtindustrie, in der Medizin und in der Forschung gezielt gesteuert werden kann. Speziell in der Lebensmittelindustrie sollen dadurch traditionelle Verfahren rationalisiert, die Ausbeute erhöht, das Lebensmittelsortiment erweitert und die Qualität der Fertigerzeugnisse verbessert werden.

Dr. Birgit Fiedler

Fotos: Fiedler (3); Müller (4)

Zeichnungen: Schmidt

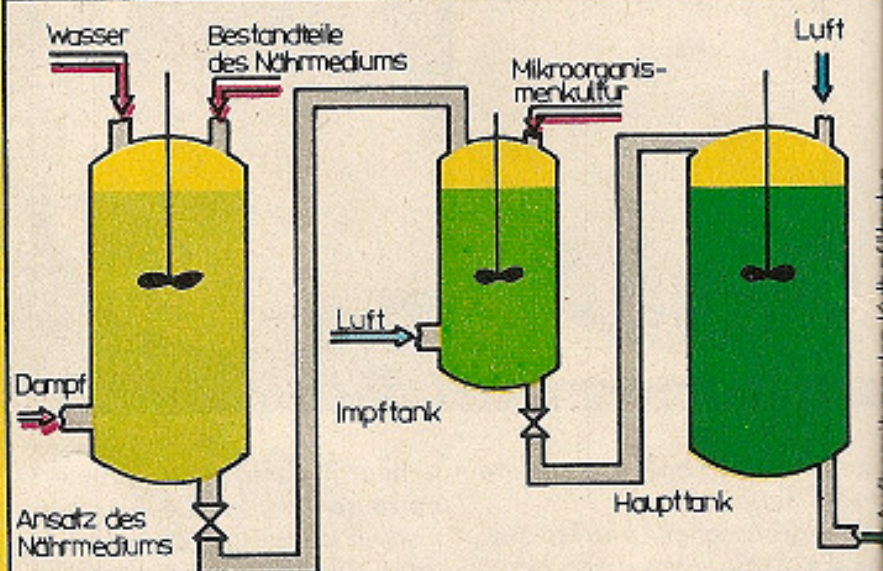


Das Emers- bzw. Oberflächenverfahren verläuft meist in folgender Reihenfolge: Einfüllen der Nährflüssigkeit, Sterilisation, Beimpfen. Welche Verfahrensart zum Einsatz kommt, resultiert vor allem aus ökonomischen Gesichtspunkten und der Art des verwendeten Mikroorganismus?

Beim Pfannenverfahren füllt man das Nährmedium in kleinen Portionen in die Pfannen. Nach dem Sterilisieren wird es mit den Mikroorganismen beimpft. Die eingeblasene sterile Luft sorgt für stets ausreichende Sauerstoffzufuhr.

Das Rotationstrommelverfahren gewährleistet eine bessere Ausnutzung der Nährflüssigkeit, da diese sich nach Sterilisation und Beimpfen in der rotierenden Trommel intensiv mit den Mikroorganismen durchmischt. Nach einer bestimmten Zeit, in der die Lösung ruht, saugt man die Kulturflüssigkeit ab und gewinnt mittels spezieller Reinigungsverfahren das Enzym.

Beim Hochschichtverfahren vollzieht sich die Enzymbildung in einem stehenden Tank, der über ein Rührwerk verfügen kann. Nach dem Durchmischungsvorgang setzen sich auch hier die Mikroorganismen auf der Oberfläche ab.



Beim Submers- bzw. Tieftank-Verfahren wird das Nährmedium angesetzt und anschließend sterilisiert. Nach dem Beimpfen entwickeln und vermehren sich die Mikroorganismen im Haupttank und bilden das gewünschte Enzym.