

# Produktion von Peroxyoktansäure mittels immobilisierter CalB

## Realisierbarkeitsstudie im einphasigen Stoffsystem mit graduellem Wasserstoffperoxid-Dosing

Gefördert durch:



aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages

J. Meyer<sup>1</sup>, A. Horst<sup>2</sup>, M. Steinhagen<sup>3</sup>, D. Holtmann<sup>2</sup>, M. B. Ansorge-Schumacher<sup>3</sup>, M. Kraume<sup>4</sup>, A. Drews<sup>1</sup>

<sup>1</sup>HTW Berlin, Wilhelminenhofstr. 75A, 12459 Berlin/E-Mail: Janine.Meyer@htw-berlin.de

<sup>2</sup>DECHEMA Forschungsinstitut Frankfurt, <sup>3</sup>Technische Universität Dresden, <sup>4</sup>Technische Universität Berlin

### MOTIVATION

Epoxide sind Zwischenprodukte für die pharmazeutische und chemische Industrie

#### Chemische Synthese

Einsatz explosiver Chemikalien u. nicht-katalytischer Einsatz von Mineralsäuren ist umwelt-/ sicherheitstechnisch problematisch [1]

#### Biokatalyse

In-situ Produktion des Precursors Persäure Problem: Inhibierung/Desaktivierung des Enzyms durch Oktansäure und H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> [2, 3] (RZA ↓ u. komplexe Prozessführung)

#### Motivation: kontinuierlicher chemo-enzymatischer Epoxidationsprozess

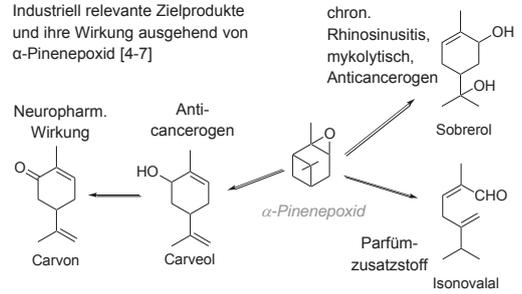
Überwindung der Prozesslimitierungen

- PGF vermeiden, diese schädigen Enzyme [9]
- hohe (lokale) Konzentrationen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> vermeiden
- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: ↑ Reaktionsrate aber ↓ Enzymstabilität

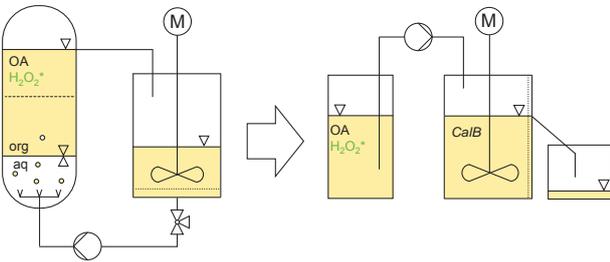
- Idee**
- organisch einphasiger Prozess + graduelles Dosing
  - Evaluierung über enzym. Teilreaktion

### ZIELPRODUKT

Industriell relevante Zielprodukte und ihre Wirkung ausgehend von α-Pineneoxid [4-7]



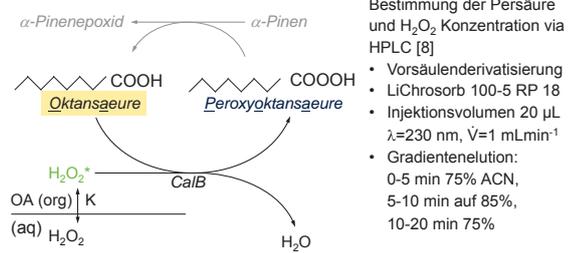
### AUFBAUTEN



Fed-Batch: zur Vermeidung ↑ c<sub>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></sub> wurde die organische Phase kontinuierlich mit H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> gesättigt

CSTR: organische Vorlage mit H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> vorgesättigt

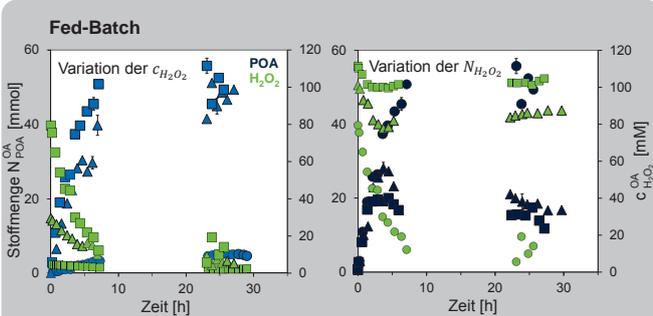
### MODELLREAKTION UND ANALYTIK



Bestimmung der Persäure und H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Konzentration via HPLC [8]

- Vorsäulenderivatisierung
- LiChrosorb 100-5 RP 18
- Injektionsvolumen 20 µL
- λ=230 nm, V̇=1 mLmin<sup>-1</sup>
- Gradientenelution: 0-5 min 75% ACN, 5-10 min auf 85%, 10-20 min 75%

### ERGEBNISSE



Variation der Enzymmenge

Stoffmenge N <sub>POA</sub> [mmol]	Stoffmenge c <sub>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></sub> [mM]
0	0
5	20
10	40
15	60
20	80
25	100
30	120

Betriebsbedingungen				
V <sup>OA</sup> [L]	m <sub>CalB</sub> [mg]	c <sup>H<sub>2</sub>O</sup> <sub>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></sub> [M]	N <sub>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></sub> [mmol]	
○	225			
△	0.16	450	0.6	60
□	0.33	900		
○	0.16		0.6	
△	0.32	450	4.4	60
□	0.33		17.5	
○	0.33			60
△	0.32	450	17.5	120
□	0.32			180

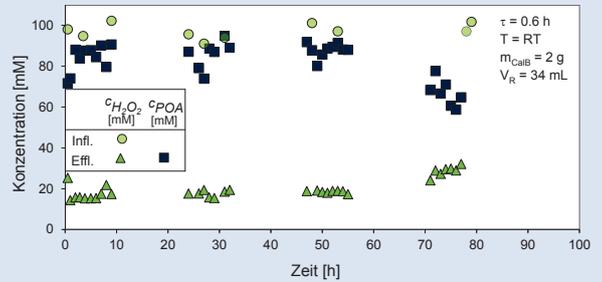
Die Berechnung des zeitlichen Verlaufs der H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Konzentration in OA erfolgte mittels Stoffmengenbilanz und Verteilungskoeffizient K<sub>20°C</sub>.

$$c_{H_2O_2}^{OA}(t) = \frac{N_{H_2O_2}^{total} - N_{POA}^{OA}(t)}{K^{-1}V_{H_2O} + V_{OA}}$$

$$K_{20^\circ C} = 0,008 \text{ für } c_{H_2O_2}^{H_2O} = 2 - 17,5 \text{ M ; } c_{H_2O_2}^{OA} = K_{20^\circ C} c_{H_2O_2}^{H_2O}$$

Basierend auf den Ergebnissen der Fed-Batch Versuche erfolgte die Auslegung (τ, m<sub>CalB</sub>, V̇, V<sub>R</sub>) des CSTR.

### CSTR



### Vergleich Fed-Batch und CSTR

No	Bedingungen		Ergebnisse					
	c <sub>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></sub> <sub>in</sub> [mM]	t <sub>start</sub> end	r̂ [mmol h <sup>-1</sup> g <sup>-1</sup> ]	t <sub>d</sub> [h]	N <sub>POA</sub> [mmol]	P <sub>Kat</sub> [mmol g <sup>-1</sup> ]	Y [%]	RZA [mmol L <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> ]
1	80	5.6	36	6	58	128	96	50*
2	110	105	27	2	21	46	11	37*
3	CSTR	97	3	55	425	213	90	154

Berechnung:  $\hat{r} = R V_{OA} (m_{CalB})^{-1}$       $Y = N_{POA} (N_{H_2O_2}^{initial})^{-1}$       $RZA = N_{POA} (V_R t)^{-1} \cdot initial$

### ZUSAMMENFASSUNG

- Synthese von Peroxyoktansäure mittels CalB unter einphasigen Bedingungen möglich
- Fed-Batch System ermöglicht Reaktionsraten bis zu 36 mmol h<sup>-1</sup>g<sup>-1</sup><sub>Kat</sub> und 96 % Ausbeute, aber Aktivitätsverlust des Enzyms
- CSTR Prozess ermöglicht ↑ RZA und ↑ P<sub>Kat</sub> (34 g<sub>Prod</sub>g<sup>-1</sup><sub>Kat</sub>) und erstmalig 55 h Langzeitbetrieb ohne Verlust von enzymatischer Aktivität

#### Ausblick

Verwendung des CSTR Prozesses zur chemo-enzymatischen Epoxidierung von Terpenen und Alkenen

Das IGF-Vorhaben (17711 BG) 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.



[1] Kotlewska, A.J., F.v. Rantwijk, R.A. Sheldon, I.W.C.E. Arends, Green Chem., 2011.  
 [2] Skouridou, V., H. Stamatis, F.N. Kolisis, Biocatal. Biotransfor., 2003.  
 [3] Bhattacharya, S., A. Drews, E. Lyagin, M. Kraume, M. B. Ansorge-Schumacher, Chem. Eng. Technol., 2012.  
 [4] Trudgill, P.W., Kluwer Academic Publishers: London, 1994.  
 [5] Busmann, D., R.G. Berger, Z., Naturforsch., 1994.  
 [6] Berger, R.G., E. Latza, F. Neuser, J. Onken, 1999, Deutsche Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie: Garching.  
 [7] Farooq, A., S. Tahara, M.I. Choudhary, R. Attaur, Z. Ahmed et al., Z. Naturforsch. C, 2002.  
 [8] Pinkernell, U., S. Effkenmann, U. Karst, Anal. Chem., 1997.  
 [9] Baldaschini, H., D. B. Janssen, Enzyme Microb. Tech., 2005.