

# Optimierung eines SpinChem-Prozesses für eine immobilisierte Ene-Reduktase



Diplomand	Tobias Baillod
Korrektor/-in ZHAW	Prof. Dr. Rebecca Buller, Prof. Dr. Achim Ecker

Durch ihre hohe Chemo-, Regio- und Enantioselektivität sind Biokatalysatoren für den Einsatz in der nachhaltigen Produktion von chiralen und hochfunktionellen chemischen Verbindungen prädestiniert. Vorteile der Biokatalyse können die Vermeidung von Schutzgruppenchemien, der Verzicht auf giftige oder teure anorganische Katalysatoren und der Einsatz von milden Reaktionsbedingungen sein.

Ene-Reduktasen der Old Yellow Enzyme (OYE) Familie sind NAD(P)H-abhängige Flavinmononucleotid (FMN)-enthaltende Oxidoreduktasen, welche die stereo- und enantioselektive Reduktion von  $\alpha$ ,  $\beta$ -ungesättigten Ketonen, Aldehyden, Nitroalkanen und Carbonsäuren katalysieren können. Die asymmetrische Hydrierung in der klassischen organischen Chemie basiert meist auf Edelmetall-Katalysatoren wie Ruthenium in Kombination mit Wasserstoff.

Die Chromat Reduktase (CrS), welche zur Old Yellow Enzyme (OYE) Familie gehört, wurde in *E. coli* exprimiert und für die biokatalytische Umsetzung von 2*E*-Hexenal zu Hexanal

genutzt. Zur Regenerierung des verwendeten NADPHs wurde das Enzym Glucose Dehydrogenase (GDH) verwendet. Dieses oxidiert D-Glucose zu D-Glucono-1,5-lacton und reduziert dabei NADP<sup>+</sup> zu NADPH.

Um die CrS besser industriell nutzen zu können und eine Rezyklierung des Katalysators zu ermöglichen, wurde die Immobilisierung von CrS überexprimierenden Zellen durch Alginate und Chitosan optimiert und ein Scale-Up in einem SpinChem Reaktor durchgeführt. Der SpinChem ist ein rotierender Bett-Reaktor, der häufig im Kontext mit immobilisierten Biokatalysen verwendet wird. Die Wiederverwendbarkeit der immobilisierten Zellen wurde für bis zu drei biokatalytische Zyklen untersucht. Im ersten Zyklus wurden nach 6 h 85 % des 5 mM Substrats umgesetzt. Durch die optimierte Alginate-Chitosan Immobilisierung konnte im 3. Zyklus sogar noch ein Umsatz von 74 % erreicht werden.

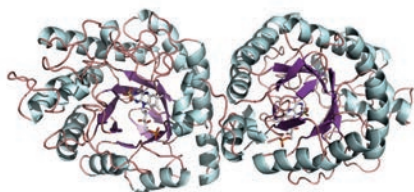


Abb. 1: 3D-Modell der Kristallstruktur der Ene-Reduktase CrS (PDB-code: 3HF3) aus *Thermus scotoductus*.



Abb. 2: Der immobilisierte Biokatalysator befindet sich während des Betriebs im Rührer des SpinChem Systems (Quelle: SpinChem).