

Literatur

- /1/ E. Blée, F. Schuber: Stereocontrolled hydrolysis of the linoleic acid monoepoxide regioisomers catalyzed by soybean epoxide hydrolase. *Eur. J. Biochem.* 230, 229–234 (1995)
- /2/ A. Stark, H. Houshmand, M. Sandberg, J. Meijer: Characterization of the activity of fatty acid epoxide hydrolase in seeds of castor bean (*Ricinus communis* L.). *Planta* 197, 84–88 (1995)
- /3/ F. Pinot, H. Bosch, J.-P. Salaün, F. Durst, C. Mioskowski, B. D. Hammock: Epoxide hydrolase activities in the microsomes and the soluble fraction from *Vicia sativa* seedlings. *Plant Physiol. Biochem.* 35, 103–110 (1997)
- /4/ E. Blée, F. Schuber: Occurrence of fatty acid epoxide hydrolases in soybean (*Glycine max*) Purification and characterization of the soluble form. *Biochem. J.* 282, 711–714 (1992)

Anschrift der Autoren:

Prof. Dr. S. Warwel, Dr. L. Heiss
Bundesanstalt für Getreide-, Kartoffel- und Fettforschung
Institut für Biochemie und Technologie der Fette, H. P. Kaufmann-Institut
Piusallee 68, 48147 Münster

Zur Kinetik der chemo-enzymatischen Epoxidation ungesättigter Fettsäuren

M. Wiebe, I. Hilker, H.-J. Warnecke¹⁾, J. Prüß²⁾
M. Rüschen, Klaas, B. Wiege, S. Warwel³⁾
1) FB 13 Technische Chemie und Chemische Verfahrenstechnik
Universität-Gesamthochschule Paderborn
2) Institut für Analysis
Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
3) Bundesanstalt für Getreide-, Kartoffel- und Fettforschung
Institut für Biochemie und Technologie der Fette, Münster

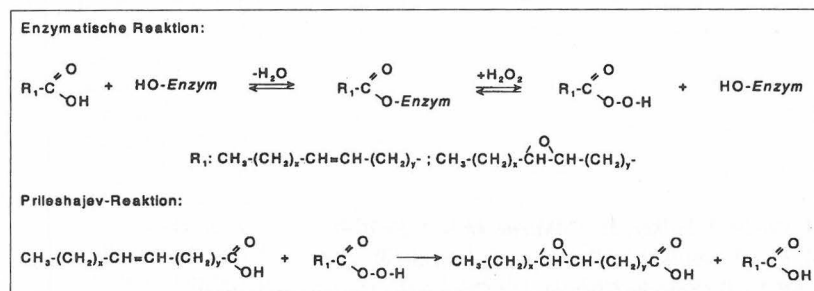
1 Problemstellung

Für den Einsatz in der chemischen Industrie müssen nachwachsende Rohstoffe modifiziert werden. Bei Fetten und Ölen bieten sich neben der Carboxylgruppe die C=C-Doppelbindungen an, die in einer Prileschajew-Reaktion epoxidiert werden können. Als Sauerstoffüberträger wird allgemein eine organische Persäure, meist Peressigsäure eingesetzt.

Eine Alternative stellt die chemo-enzymatische Epoxidation direkt mit Wasserstoffperoxid und einer immobilisierten Lipase der *Candida antarctica* dar, wobei als epoxidierende Komponente die durch Enzymreaktion gewonnene Perettsäure fungiert [1, 2].

Für dieses komplexe Reaktionssystem liegen bislang nur wenige reaktionstechnische Daten vor. Zur Aufschlüsselung der Kinetik müssen die aufeinander folgenden Reaktionen getrennt untersucht werden. Der Einsatz einer gesättigten Fettsäure wie Stearinsäure (18:0) ermöglicht die Beobachtung der Enzymreaktion, wobei die so gewonnene stabile Perstea-

rinsäure in einer Prileshajev-Reaktion mit Ölsäure (18:1) umgesetzt werden kann.



2 Experimentelles

Für die Ermittlung der Reaktionsgeschwindigkeit der Enzymreaktion wurden Umsatz-Zeit-Kurven in Abhängigkeit der eingesetzten Fettsäurekonzentration, der Enzymeinwaage, der Wasserstoffperoxidkonzentration und der Rührergeschwindigkeit aufgenommen.

Die Fettsäure und das immobilisierte Enzym werden in Toluol gelöst und in einem temperierten Reaktor vorgelegt, bei konstanter Rührerdrehzahl wird die entsprechende Menge Wasserstoffperoxid zugegeben. Die Reaktion wird durch Entfernen des Enzyms nach der vorgegebenen Reaktionszeit gestoppt, die Proben durch Titration analysiert. Dabei werden der Gesamtfettsäuregehalt, der Gesamtaktivsauerstoffgehalt, der Wasserstoffperoxidgehalt und damit indirekt der Perfettsäuregehalt bestimmt.

3 Ergebnisse

Die Umsatz-Zeit-Kurven für verschiedene H_2O_2 /Fettsäure-Verhältnisse sind in Abbildung 1 dargestellt.

Höhere H_2O_2 -Gehalte bewirken einen höheren Umsatz. Diese Steigerung ist aber dadurch begrenzt, daß gleichzeitig eine Zunahme der wäßrigen Phase erfolgt, was die Rückreaktion der enzymatischen Reaktion verstärkt.

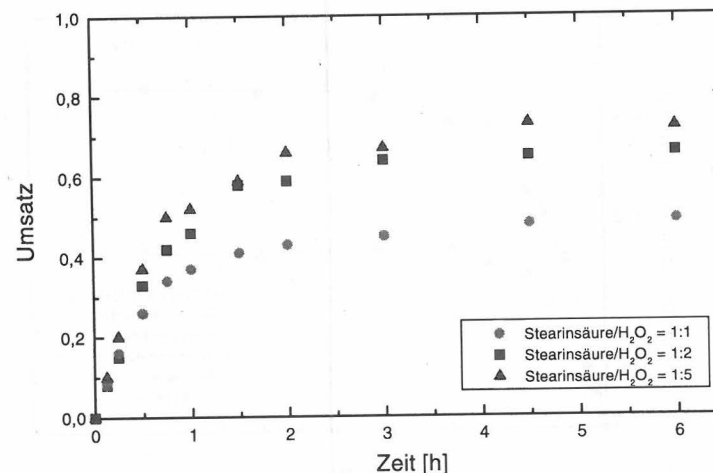


Abbildung 1: Vergleich verschiedener Wasserstoffperoxid/Fettsäure-Verhältnisse

Sowohl die Erhöhung der Enzymkonzentration als auch der Fettsäurekonzentration steigern die Reaktionsgeschwindigkeit.

Die Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten für die Enzymreaktion werden auf der Basis des Michaelis-Menten-Ansatzes für reversible Reaktionen durch Regressionsrechnung ermittelt. Abbildung 2 zeigt die gute Übereinstimmung zwischen experimentellen und mit Hilfe der so bestimmten Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten berechneten Umsatz-Zeit-Kurven-verläufen exemplarisch für zwei Meßreihen.

Bei allen Versuchen wird nach einer Reaktionszeit von 6 Stunden ein Umsatz von etwa 60 % erreicht, wobei Fettsäure- und Enzymkonzentration die Anfangsgeschwindigkeit der Reaktion merklich beeinflussen, wie Abbildung 3 zeigt [3].

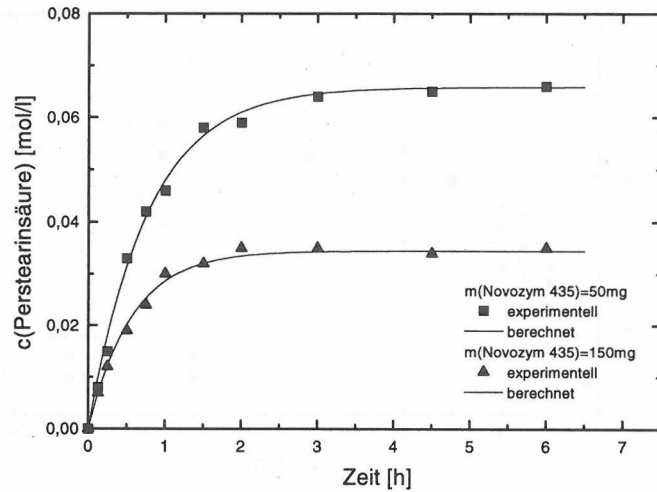


Abbildung 2: Vergleich der experimentellen und berechneten Kurven für zwei Enzymkonzentrationen

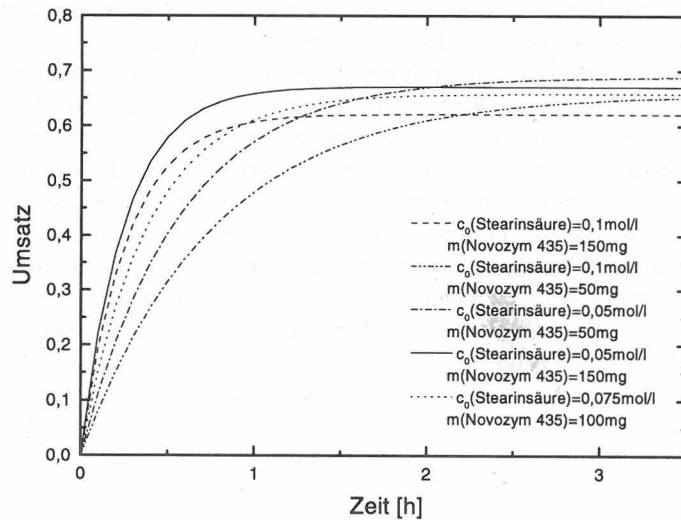


Abbildung 3: Anfangsgeschwindigkeiten der Enzymreaktion für verschiedene Fettsäure- und Enzymkonzentrationen

4 Makrokinetisches Modell

Neben dem Michaelis-Menten-Ansatz, der die makrokinetischen Vorgänge im Reaktor in der Enzymkinetik zusammenfaßt, wird ein mathematisch-mechanistisches Modell entwickelt, das die Reaktionen und die Stofftransportphänomene des komplexen Systems detailliert beschreibt (Abbildung 4).

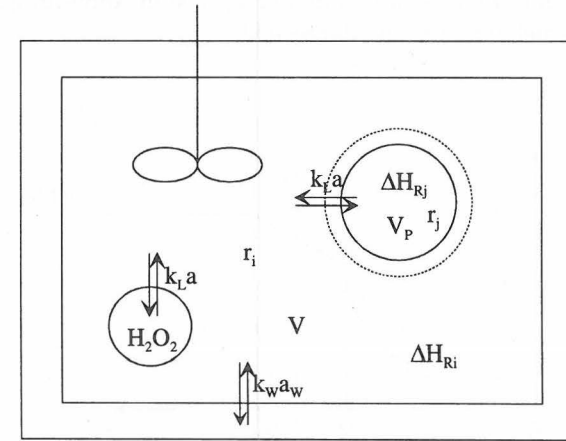


Abbildung 4: Schematische Darstellung der physiko-chemischen Vorgänge im Reaktor

Grundlagen des mathematisch-mechanistischen Modells:

Das Reaktionssystem besteht aus drei Phasen, einer organischen Phase als Lösemittel für die Fettsäure, einer wässrigen, in der organischen Phase dispergierten Phase, die als Reservoir des Wasserstoffperoxids dient, und dem immobilisierten Enzym als feste Partikel, die in der organischen Phase suspendiert sind. Die Enzymreaktion erfolgt am und im Partikel, die anschließende Prileschajev-Reaktion zur epoxidierten Fettsäure in der organischen Phase. Dabei findet ein Stofftransport der Reaktanden aus der organischen Phase durch den laminaren Grenzfilm an das Enzym statt. Die dort gebildete Perfettsäure gelangt durch den Grenzfilm zurück in die organische Phase und überträgt ein Sauerstoffatom auf die Doppelbindung einer ungesättigten Fettsäure. Diese epoxidierte Fettsäure kann analog der ungesättigten Fettsäure am Enzym zur sauerstoffübertragenden

den Perfettsäure reagieren und dann in der organischen Phase eine weitere ungesättigte Fettsäure in eine epoxidierte Fettsäure überführen.

Die organische Phase ist mit Wasserstoffperoxid gesättigt, das denselben Weg zum Enzym zurücklegt und dort abreagiert. Es wird angenommen, daß sich das Verteilungsgleichgewicht des Wasserstoffperoxids zwischen dem organischen Lösemittel und den Wassertropfen unendlich schnell einstellt.

Der Konzentrationsverlauf in den Phasen ist in Abbildung 5 schematisch am Beispiel der Fettsäure dargestellt.

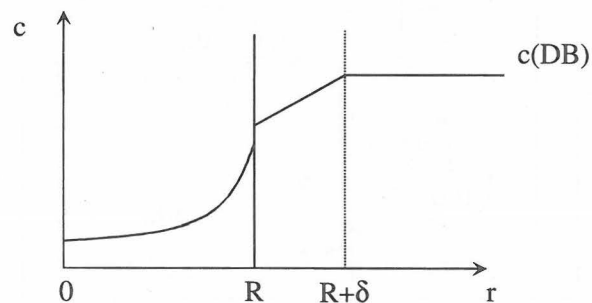


Abbildung 5: Verlauf der Fettsäurekonzentration in den drei Phasen

Das mathematisch-mechanistische Modell enthält somit Diffusions- und Verteilungskoeffizienten für die einzelnen Reaktanden, sowie Reaktionsgeschwindigkeiten für die Enzym- und die Prileshajev-Reaktionen.

Durch Ausschaltung der Kinetikterme, die die in der organischen Lösung stattfindenden Reaktionen beschreiben, kann das Modell auch für die hier untersuchte Teilkinetik eingesetzt werden.

Die zugrunde liegenden Massenbilanzen und Randbedingungen für die Fettsäure lauten:

Partikelbilanz für $0 < r < R$

$$\partial_t c_i = D_i^P \left[\partial_r^2 c_i + \frac{2}{r} \partial_r c_i \right] + r_{Ei}$$

Randbedingungen:

$$c_i(0, r) = 0$$

$$\partial_r c_i(t, 0) = 0, t > 0$$

Diffusionsfilmbilanz für $R < r < (R+d)$

$$\partial_t c_i = D_i^F \left[\partial_r^2 c_i + \frac{2}{r} \partial_r c_i \right]$$

Randbedingungen:

$$c_i(0, r) = c^0$$

$$c_i(t, R) = H_i c_i(t, R+), t > 0$$

$$D_i^P \partial_r c_i(t, R-) = D_i^F \partial_r c_i(t, R+)$$

Bulkbilanz für $r > (R+d)$

$$V \partial_t c_i = -A D_i^F \partial_r c_i(t, R+\delta) + r_{Pi}$$

Randbedingungen:

$$c_i(0, r) = c^0$$

$$c_i(t, r) = c_i^b(t)$$

Durch Anpassung des Modells an experimentelle Ergebnisse kann neben den kinetischen Parametern auch der Einfluß des Stofftransports ermittelt werden. Mit Hilfe dieser Daten wird neben der Aufklärung der makrokinetischen Mechanismen eine Verfahrensoptimierung bezüglich der Raum-Zeit-Ausbeute angestrebt.

Literatur

- /1/ S. Warwel und M. Rüschen gen. Klaas, J. Mol. Catal. B 1 29, 1995
 /2/ M. Rüschen gen. Klaas und S. Warwel, Lipid Technol. 77, 1996
 /3/ I. Hilker: Zur enzymatischen Epoxidation von Fettsäuren Diplomarbeit Universität Gesamthochschule Paderborn 1997

Symbole und Abkürzungen

| | | |
|-----------------|---------------------------|------------------------------------|
| a | [m ⁻¹] | spezifische Oberfläche |
| c | [mol/m ³] | Konzentration |
| d | [m] | Grenzschichtdicke |
| D | [m ² /min] | Diffusionskoeffizient |
| ΔH _R | [J/mol] | Reaktionsenthalpie |
| H | [-] | Verteilungskoeffizient |
| k | [m/min] | Stoffübergangskoeffizient |
| k | [m ³ /mol min] | Reaktionsgeschwindigkeitskonstante |
| R | [m] | Partikelradius |
| r | [m] | Radius |
| r | [mol/min m ³] | Reaktionsgeschwindigkeit |
| t | [min] | Zeit |
| V | [m ³] | Volumen |

Indizes

| | |
|------|-------------------------------------|
| F | Film |
| i, j | Laufzahl Reaktanden bzw. Reaktionen |
| L | lipide Phase |
| P | Partikelphase |
| W | Wärme- |
| W | wäßrige Phase |
| 0 | Anfang |

Anschrift der Autoren:

Prof. Dr.-Ing H.-J. Warnecke, Dipl.-Chem. M. Wiebe, cand.-chem. I. Hilker
 Universität-Gesamthochschule Paderborn
 FB13 Technische Chemie und Chemische Verfahrenstechnik
 Warburgerstr. 100, 33098 Paderborn

Prof. Dr. J. Prüß
 Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
 Institut für Analysis
 Theodor-Lieser-Str. 5, 06099 Halle

Prof. Dr. S. Warwel, Dr. M. Rüschen gen. Klaas, Dr. B. Wiege
 Bundesanstalt für Getreide-, Kartoffel- und Fettforschung
 Institut für Biochemie und Technologie der Fette, H. P. Kaufmann-Institut
 Piusallee 68, 48147 Münster