

Universität
Rostock



Traditio et Innovatio

BIOKATALYTISCHE SYNTHESE VON
ACRYL- UND METHACRYLATEN:
EXPERIMENTELLE UND
THEORETISCHE UNTERSUCHUNGEN

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades

doctor rerum naturalium (Dr. rer. nat.)

der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Universität Rostock

vorgelegt von

Paul Lehmann

geboren am 18.09.1997

Brest, Weißrussland

Die vorliegende Arbeit wurde im Zeitraum von August 2021 bis April 2024 am Institut für Chemie der Universität Rostock am Lehrstuhl für Technische Chemie der Universität Rostock unter der Betreuung von Prof. Dr. Udo Kragl erstellt. Die Promotion wurde im Rahmen des Leibniz Wissenschaftscampus „ComBioCat“ angefertigt.

Erstgutachter: Prof. Dr. Udo Kragl, Universität Rostock, Institut für Chemie

Zweitgutachter: Prof. Dr. Andreas Liese, Hamburg University of Technology, Institute of Technical Biocatalysis

Datum der Einreichung: 12.04.2024

Datum der Verteidigung: 25.06.2024



Danksagung

Zuallererst möchte ich Prof. Dr. Udo Kragl dafür danken, dass er mich in seinen Arbeitskreis aufnahm und mir freie Hand bei der Themenwahl zur Anfertigung meiner Dissertation überließ. Ich bedanke mich auch für die Unterstützung und Förderung über die Jahre sowie interessante Gespräche und gute Hinweise.

Meinem Co-Betreuer Dr. Stefan Jopp möchte ich für die Möglichkeit zur Kooperation und die gute Zusammenarbeit über den gesamten Zeitraum danken. Ohne dich wäre diese Arbeit nicht in der vorliegenden Form denkbar gewesen!

Natürlich gilt mein Dank auch dem Leibniz Wissenschafts Campus „ComBioCat“ für die Möglichkeit meine Forschung im Kollektiv zu präsentieren, fachlichen Input verschiedener Wissenschaftler zu erhalten sowie die finanzielle Zuwendung während der Promotion.

Es gibt wohl nichts wichtigeres als gute Kollegen, wenn man eine Promotion erfolgreich zu Ende bringen möchte. Deshalb sage ich ein ganz großes Danke an Sina, Alina, Svea, Johanna, Henrik und Arend. Es war eine schöne Zeit mit euch allen! Hervorheben muss ich Sandra Diederich, die man wohl ohne zu übertreiben als Fundament dieser Arbeitsgruppe bezeichnen kann. Ich hoffe irgendwann solche Geduldspäden aus Stahl zu haben wie du. Danke für deine Unterstützung.

Es war mir ein wirkliches Vergnügen mit Johannes das Büro zu teilen. In kurzer Zeit haben wir uns sehr gut verstanden, sodass ich die gemeinsame Zeit auf keinen Fall missen möchte. Ich freue mich schon auf unser Date mit Dune 3.

Regina Lange von der Arbeitsgruppe Speller danke ich für die Rasterelektronenaufnahmen. Mahsa Sadeghi von der Arbeitsgruppe Mejia danke ich für die Viskositätsbestimmung. Dr. Dirk Michalik danke ich für jeden Plausch auf dem Flur sowie die Ratschläge in Fragen der Wissenschaft und des Lebens.

Danken möchte ich auch Jonas, Malte, Yannic und Franzi für die schöne Zeit außerhalb der Uni und für die gemeinsame Mensarunde.

Meiner Familie bin ich dankbar für die Unterstützung während der Promotion.

Mein größter Dank geht an meine Freundin Friederike. Danke, dass du mich auf diesem Weg begleitet hast und dabei immer meinen Rücken gestärkt hast, wenn es darauf ankam!

Wissenschaftlicher Lebenslauf

Ausbildung:

2019-2021	Master of Science, Universität Rostock
2015-2019	Bachelor of Science, Universität Rostock
2015	Abitur Musikgymnasium Käthe Kollwitz, Rostock

Präsentationen:

2022	Vortrag, ROHAN DAAD SDG Winter School, Hanoi, Vietnam
2022	Poster, International Symposium of Green Chemistry, La Rochelle, Frankreich
2022	Poster, 3. „ComBioCat“ Symposium, Rostock, Deutschland

Publikationen:

2023	P. Lehmann, S. Jopp, <i>Excellence in Acrylation: Scope and Limitation of Glucosyl Imidazolium-coated Novozym 435 Catalyzed (Meth)acryl Ester Synthesis</i> , Chem.: Asian J. 2023 , e202300918
2022	P. Lehmann, S. Jopp, <i>Novel Glucosylimidazolium Ionic-Liquid-Supported Novozym 435 Catalysts: A Proof of Concept for an Acrylation Reaction</i> , ChemistryOpen 2022 , 11, e202200135

Zusammenfassung

Im Rahmen dieser Arbeit wurde die Veresterung von Acrylsäure und *n*-Butanol mithilfe von N435 als Katalysator untersucht, wobei der Katalysator zusätzlich mit einer Ionischen Flüssigkeit (IL) modifiziert wurde. Hierzu wurden systematisch verschieden An- und Kationen für Kohlenhydrat-basierte ILs (CHILs) auf Glucose Basis untersucht und mit kommerziell erwerblichen Imidazolium-basierten ILs verglichen. Folgend wurde die beste N435-IL Kombination ausgewählt und in einem Substrat Screening zur Veresterung von 16 Alkoholen mit Acrylsäure und zwei Alkoholen mit Methacrylsäure eingesetzt. Der Nelder-Mead-Algorithmus wurde als alternatives Verfahren zum Auffinden des globalen Optimums erfolgreich eingesetzt. Dadurch kann der experimentelle Aufwand deutlich reduziert werden. Darüber hinaus wurde die Synthese des Butylesters unter kontinuierlichen Bedingungen in einem Mikroreaktor untersucht.

Abstract

In this work, the esterification of acrylic acid and *n*-Butanol was investigated using N435 as a catalyst, where the catalyst was additionally modified with an IL coating. For this purpose, different anions and cations for glucose-based CHILs were systematically examined and compared with commercially available imidazolium-based ILs. The best N435-IL combination was then selected and used in a substrate screening for the esterification of 16 alcohols with acrylic acid and two alcohols with methacrylic acid. The Nelder-Mead algorithm has been successfully used as an alternative method for finding the global optimum. This allows the experimental effort to be noticeably reduced. Furthermore, the synthesis of the butyl ester was investigated under continuous conditions in a microreactor.

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	XI
Tabellenverzeichnis	XVII
Abkürzungsverzeichnis	XXI
1. Einleitung	1
1.1. Biokatalyse	1
1.2. Lipasen	5
1.3. Novozym 435	8
1.4. Ionische Flüssigkeiten und der Einfluss auf Enzyme	9
1.5. Acrylate	13
2. Zielstellung	17
3. Material & Methoden	19
3.1. Ionische Flüssigkeiten	19
3.2. Reaktionsdurchführung	21
3.3. Analytik	22
3.3.1. Gaschromatographie	22
3.3.2. Wassergehaltbestimmung	24
3.3.3. Viskosität	24
3.4. Mikroreaktor	24
3.5. Nelder-Mead-Algorithmus	25

4. Ergebnisse	29
4.1. Modifikation von N435 und <i>n</i> -Butylacrylatsynthese	29
4.2. Recycling des Katalysators	33
4.3. Optimierung der <i>n</i> -Butylacrylat Synthese	38
4.4. Substratspektrum	44
4.4.1. Aliphatische Alkohole	44
4.4.2. Aromatische Alkohole	54
4.4.3. Funktionelle Gruppen	57
4.4.4. Methacrylate	65
4.5. Nelder-Mead-Algorithmus	70
4.6. Mikroreaktor	80
4.6.1. Strömungsrohr	81
4.6.2. Satzreaktor	83
5. Zusammenfassung und Ausblick	89
Literatur	93
A. Anhang	111

Abbildungsverzeichnis

1.1. Mechanismus der katalytischen Triade zur Bildung des Acyl-Enzym-Komplexes nach Faber <i>et al.</i> und eine Übersicht potentieller Nukleophile. Die Nutzung erfolgte mit freundlicher Genehmigung von Springer Nature.	7
1.2. Wiederkehrende Struktureinheit des Polymethacrylat-Divinylbenzol Copolymers.	8
1.3. Schematische Darstellung einer immobilisierten IL Monoschicht (a) beziehungsweise Multischicht (b) auf einem Trägermaterial nach Fehrmann <i>et al.</i> ^[75] Die Nutzung erfolgte mit freundlicher Genehmigung von Wiley-VCH.	11
1.4. Reaktionsmechanismus zum Abfangen potentieller Radikale R \cdot über die initiale Bildung eines Peroxidradikals RO $_2$ nach Becker und Vogel. ^[108]	14
3.1. Reaktion zur Synthese von GMIM, GEIM, GBIM und GOIM-iodid nach Jopp <i>et al.</i> ^[86,120]	19
3.2. Reaktion zur Synthese von GMIM-BF $_4$, GMIM-OAc, GMIM-OMs, GMIM-OTf und GMIM-NTf $_2$ nach Jopp <i>et al.</i> ^[120]	20
3.3. Reaktion zur Synthese von MeGMIM-I.	20
3.4. Imidazolium-ILs, welche zur Beschichtung genutzt wurden.	21
3.5. Allgemeines Reaktionsschema des durchgeführten Screenings zur enzymatischen Synthese von Acrylaten beziehungsweise Methacrylaten.	22
3.6. Reflexion des Simplex.	26

3.7.	Expansion des Simplex.	26
3.8.	Kontraktion des Simplex.	27
3.9.	Kompression des Simplex.	27
4.1.	Reaktionsschema der enzymatischen Veresterung von <i>n</i> -Butanol mit Acrylsäure.	30
4.2.	Ausbeuten für <i>n</i> -Butylacrylat aus der Veresterung von Acrylsäure und <i>n</i> -Butanol mit beschichtetem sowie unbeschichtetem N435 Katalysator. Reaktionsbedingungen: 1 mL Reaktionsvolumen mit Acrylsäure (1 M, 1 mmol, 68.6 μ L), <i>n</i> -Butanol (2 M, 2 mmol, 183 μ L) und Cyclohexan (748 μ L), 150 mg Katalysator, 25 °C, 24 h. . . .	33
4.3.	Ausbeuten für <i>n</i> -Butylacrylat aus der Veresterung von Acrylsäure und <i>n</i> -Butanol mit wiederholt eingesetztem Katalysator. Reaktionsbedingungen: Acrylsäure (1 mmol, 68.6 μ L), <i>n</i> -Butanol (2 mmol, 183 μ L) und Cyclohexan (1000 μ L), 150 mg Katalysator, 25 °C, 24 h (rot) beziehungsweise 1 mL Reaktionsvolumen mit Acrylsäure (1 M, 1 mmol, 68.6 μ L), <i>n</i> -Butanol (2 M, 2 mmol, 183 μ L) und Cyclohexan (748 μ L), 150 mg Katalysator, 25 °C, 24 h (blau, grün, schwarz). . . .	35
4.4.	Schematische Darstellung des Reaktionskonzepts.	37
4.5.	Rasterelektronenaufnahmen der Biokatalysatoren in zunehmenden Zoom-Stufen von links nach rechts. In der oberen Reihe ist der unbeschichtete N435 Katalysator und in der unteren Reihe der GMIM-I beschichtete Katalysator zu sehen.	38
4.6.	Ausbeuten für <i>n</i> -Butylacrylat aus der Veresterung von Acrylsäure und <i>n</i> -Butanol als Funktion der Zeit <i>t</i> . Reaktionsbedingungen: 1 mL Reaktionsvolumen mit Acrylsäure (1 M, 1 mmol, 68.6 μ L), <i>n</i> -Butanol (2 M, 2 mmol, 183 μ L) und Cyclohexan (748 μ L), 150 mg Katalysator, 25 °C, 24 h.	39

4.7.	Ausbeuten für <i>n</i> -Butylacrylat aus der Veresterung von Acrylsäure und <i>n</i> -Butanol mit verschiedenen Mengen an mit GMIM-I beschichtetem Katalysator m_{N435} . Reaktionsbedingungen: 1 mL Reaktionsvolumen mit Acrylsäure (1 M, 1 mmol, 68.6 μ L), <i>n</i> -Butanol (2 M, 2 mmol, 183 μ L) und Cyclohexan (748 μ L), 25 °C, 24 h.	40
4.8.	Ausbeuten für <i>n</i> -Butylacrylat aus der Veresterung von Acrylsäure und <i>n</i> -Butanol in verschiedenen Lösungsmitteln. Der Wassergehalt in % ist in Klammern angegeben. Reaktionsbedingungen: 1 mL Reaktionsvolumen mit Acrylsäure (1 M, 1 mmol, 68.6 μ L), <i>n</i> -Butanol (2 M, 2 mmol, 183 μ L) und Cyclohexan (748 μ L), 25 °C, 24 h.	41
4.9.	Ausbeuten für <i>n</i> -Butylacrylat aus der Veresterung von Acrylsäure und <i>n</i> -Butanol für verschiedene Substratkonzentrationen $C_{Acrylsäure}$ sowie Stoffmengenverhältnisse von Alkohol zu Säure in Cyclohexan.	43
4.10.	Ausbeuten für Methylacrylat aus der Veresterung von Acrylsäure und Methanol für verschiedene Substratkonzentrationen $C_{Acrylsäure}$ sowie Stoffmengenverhältnisse von Alkohol zu Säure in CPME.	45
4.11.	Ausbeuten für Ethylacrylat aus der Veresterung von Acrylsäure und Ethanol für verschiedene Substratkonzentrationen $C_{Acrylsäure}$ sowie Stoffmengenverhältnisse von Alkohol zu Säure in CPME.	46
4.12.	Ausbeuten für <i>sec</i> -Butylacrylat aus der Veresterung von Acrylsäure und <i>sec</i> -Butanol für verschiedene Substratkonzentrationen $C_{Acrylsäure}$ sowie Stoffmengenverhältnisse von Alkohol zu Säure in Cyclohexan.	47
4.13.	Ausbeuten für <i>iso</i> -Butylacrylat aus der Veresterung von Acrylsäure und <i>iso</i> -Butanol für verschiedene Substratkonzentrationen $C_{Acrylsäure}$ sowie Stoffmengenverhältnisse von Alkohol zu Säure in Cyclohexan.	48
4.14.	Ausbeuten für 1-Hexylacrylat aus der Veresterung von Acrylsäure und 1-Hexanol für verschiedene Substratkonzentrationen $C_{Acrylsäure}$ sowie Stoffmengenverhältnisse von Alkohol zu Säure in Cyclohexan.	49

4.15. Ausbeuten für 2-Ethylhexylacrylat aus der Veresterung von Acrylsäure und 2-Ethylhexanol für verschiedene Substratkonzentrationen $C_{\text{Acrylsäure}}$ sowie Stoffmengenverhältnisse von Alkohol zu Säure in Cyclohexan.	50
4.16. Ausbeuten für Cyclohexylacrylat aus der Veresterung von Acrylsäure und Cyclohexanol für verschiedene Substratkonzentrationen $C_{\text{Acrylsäure}}$ sowie Stoffmengenverhältnisse von Alkohol zu Säure in Cyclohexan.	52
4.17. Ausbeuten für 1-Octylacrylat aus der Veresterung von Acrylsäure und 1-Octanol für verschiedene Substratkonzentrationen $C_{\text{Acrylsäure}}$ sowie Stoffmengenverhältnisse von Alkohol zu Säure in Cyclohexan.	54
4.18. Ausbeuten für Benzylacrylat aus der Veresterung von Acrylsäure und Benzylalkohol für verschiedene Substratkonzentrationen $C_{\text{Acrylsäure}}$ sowie Stoffmengenverhältnisse von Alkohol zu Säure in Cyclohexan.	55
4.19. Ausbeuten für 2-Phenylethylacrylat aus der Veresterung von Acrylsäure und 2-Phenylethanol für verschiedene Substratkonzentrationen $C_{\text{Acrylsäure}}$ sowie Stoffmengenverhältnisse von Alkohol zu Säure in Cyclohexan.	56
4.20. Ausbeuten für 2-Methoxyethylacrylat aus der Veresterung von Acrylsäure und 2-Methoxyethanol für verschiedene Substratkonzentrationen $C_{\text{Acrylsäure}}$ sowie Stoffmengenverhältnisse von Alkohol zu Säure in Cyclohexan.	57
4.21. Ausbeuten für Dimethylaminoethylacrylat aus der Veresterung von Acrylsäure und Dimethylaminoethanol für verschiedene Substratkonzentrationen $C_{\text{Acrylsäure}}$ sowie Stoffmengenverhältnisse von Alkohol zu Säure in Cyclohexan.	59
4.22. Ausbeuten für 2-Chlorethylacrylat aus der Veresterung von Acrylsäure und 2-Chlorethanol für verschiedene Substratkonzentrationen $C_{\text{Acrylsäure}}$ sowie Stoffmengenverhältnisse von Alkohol zu Säure in CPME.	60

4.23. Ausbeuten für 2-Bromethylacrylat aus der Veresterung von Acrylsäure und 2-Bromethanol für verschiedene Substratkonzentrationen $C_{\text{Acrylsäure}}$ sowie Stoffmengenverhältnisse von Alkohol zu Säure in CPME.	61
4.24. Ausbeuten für β -Cyanoethylacrylat aus der Veresterung von Acrylsäure und β -Cyanoethanol für verschiedene Substratkonzentrationen $C_{\text{Acrylsäure}}$ sowie Stoffmengenverhältnisse von Alkohol zu Säure in CPME.	63
4.25. Ausbeuten für 2-Hydroxyethylacrylat aus der Veresterung von Acrylsäure und Ethylenglycol für verschiedene Substratkonzentrationen $C_{\text{Acrylsäure}}$ sowie Stoffmengenverhältnisse von Alkohol zu Säure in $\text{CH}_3\text{-CN}$	65
4.26. Ausbeuten für 1-Hexylmethacrylat aus der Veresterung von Methacrylsäure und 1-Hexanol für verschiedene Substratkonzentrationen $C_{\text{Methacrylsäure}}$ sowie Stoffmengenverhältnisse von Alkohol zu Säure in Cyclohexan.	66
4.27. Ausbeuten für 2-Phenylethylmethacrylat aus der Veresterung von Methacrylsäure und 2-Phenylethanol für verschiedene Substratkonzentrationen $C_{\text{Methacrylsäure}}$ sowie Stoffmengenverhältnisse von Alkohol zu Säure in Cyclohexan.	67
4.28. Strukturen der in dieser Arbeit erfolgreich hergestellten Acryl- und Methacrylester. Erstmalig enzymatisch hergestellte Ester sind farblich hervorgehoben.	70
4.29. Datenpunkte in blau für die Synthese von Benzylacrylat. Die rote Fläche entspricht der Funktion $f(x,y) = -2.475 \cdot 10^{-3} \cdot x \cdot y + 2.758 \cdot y^2 + 5.825 \cdot 10^{-5} \cdot x^2 - 18.345 \cdot y - 4.959 \cdot 10^{-2} \cdot x - 41.649$, die durch das Python Programm generiert wurde.	71
4.30. Logarithmischen Werte der Kovarianzmatrix $\sigma^2(x, y)$ für Benzylacrylat aus Abbildung 4.29 in Abhängigkeit der betrachteten Variablen.	73

4.31. Mikroreaktor im Strömungsrohr Konzept. Von links nach rechts: Einlass, Drucksensor, Kartuschenreaktor, Überdruckventil, Rückdruckregler und Auslass.	81
4.32. Ausbeuten und Raum-Zeit-Ausbeuten für <i>n</i> -Butylacrylat aus der Veresterung von Acrylsäure und <i>n</i> -Butanol im Strömungsrohrreaktor. Reaktionsbedingungen: 10 mL Reaktionsvolumen mit Acrylsäure (1 M, 0.686 mL), <i>n</i> -Butanol (2 M, 1.83 mL) und Cyclohexan (7.48 mL), 750 mg Katalysator, 25 °C.	83
4.33. Ausbeuten für <i>n</i> -Butylacrylat aus der Veresterung von Acrylsäure und <i>n</i> -Butanol im Satzreaktorbetrieb. Reaktionsbedingungen: 10 mL Reaktionsvolumen mit Acrylsäure (1 M, 0.686 mL), <i>n</i> -Butanol (2 M, 1.83 mL) und Cyclohexan (7.48 mL), 750 mg Katalysator, 25 °C, 6 h.	84
4.34. Ausbeuten für <i>n</i> -Butylacrylat aus der Veresterung von Acrylsäure und <i>n</i> -Butanol im Satzreaktorbetrieb. Reaktionsbedingungen: 750 mg Katalysator, 25 °C, 6 h schwarz: Acrylsäure (1 M, 0.686 mL), <i>n</i> -Butanol (2 M, 1.83 mL) und Cyclohexan (7.48 mL) blau: Acrylsäure (0.5 M, 0.343 mL), <i>n</i> -Butanol (1 M, 0.915 mL) und Cyclohexan (8.74 mL) rot: Acrylsäure (0.1 M, 0.069 mL), <i>n</i> -Butanol (0.2 M, 0.183 mL) und Cyclohexan (9.75 mL)	86
A.1. Verwendetes Python Programm, welches die Datenpunkte als Polynom zweiten Grades fittet und das Maximum der gefitteten Funktion iterativ ermittelt.	131

Tabellenverzeichnis

1.1. Auflistung der sieben Enzymklassen, die von der <i>International Union of Biochemistry and Molecular Biology</i> definiert wurden.	2
1.2. Auswahl ökonomischer und ökologischer Ziele nach Bornscheuer <i>et al.</i> , die durch enzymatische Prozesse realisiert werden können. ^[12]	4
1.3. Zwölf Prinzipien der grünen Chemie, die von Anastas und Warner definiert wurden. ^[15]	4
2.1. Die fünf energieintensivsten Industriezweige Deutschlands sowie deren Anteil an der direkten Wertschöpfung und Energieverbrauch im Jahr 2022. ^[115,116]	17
3.1. Genutzte Kalibriergeraden mit dem entsprechenden Achsenabschnitt n , Anstieg m und der Retentionszeit t_R	23
3.2. Ergebnisse der Viskositätsbestimmung.	24
4.1. Ausbeuten mit Standardabweichung für die Veresterung von n -Butanol mit Acrylsäure in Abhängigkeit der genutzten IL zur Beschichtung und der Anteil der adsorbierten IL als Stoffmenge n bezogen auf die Masse von N435 sowie als Massenanteil ω . ^[120]	31
4.2. Ausbeuten für n -Butylacrylat aus der Veresterung von Acrylsäure und n -Butanol aus den Arbeiten von Chrobok <i>et al.</i> und mit dem beschichteten N435 Katalysator.	42
4.3. Literaturdaten für die experimentellen Viskositäten η von 1-Hexanol und 2-Ethylhexanol. ^[133,139,140]	51

4.4. Ausbeuten für 2-Ethylhexylacrylat in Abhängigkeit der Reaktionsdauer für $C_{\text{Acrylsäure}}=1000$ mM.	51
4.5. Ausbeuten für Cyclohexylacrylat in Abhängigkeit der Reaktionsdauer für $C_{\text{Acrylsäure}}=1000$ mM.	53
4.6. Ausbeuten für 2-Bromethylacrylat in Abhängigkeit der Reaktionsdauer für $C_{\text{Acrylsäure}}=1000$ mM.	62
4.7. Einteilung organischer Lösungsmittel nach Laane <i>et al.</i> ^[152]	64
4.8. Optimale Reaktionsbedingungen, die die höchste Ausbeute aller untersuchten Substrate generieren, verglichen mit Literaturwerten. ^[133]	69
4.9. Standardabweichungen σ der verwendeten Variablen aus Abbildung 4.30.	74
4.10. Optimale Reaktionsbedingungen und die dazugehörigen Ausbeuten für Benzylacrylat, die durch den Nelder-Mead-Algorithmus in Abhängigkeit der eingelesenen Datenpunkte ermittelt wurden.	75
4.11. Optimale Reaktionsbedingungen und die dazugehörigen Ausbeuten für Ethylacrylat, die durch den Nelder-Mead-Algorithmus in Abhängigkeit der eingelesenen Datenpunkte ermittelt wurden.	76
4.12. Optimale Reaktionsbedingungen und die dazugehörigen Ausbeuten für die Acrylate, die durch den Nelder-Mead-Algorithmus optimiert wurden.	77
4.13. Vergleich der berechneten Ausbeuten $\text{Ausbeute}_{\text{theo}}$ und experimentellen Ausbeuten $\text{Ausbeute}_{\text{exp}}$	78
4.14. Ausbeuten für <i>n</i> -Butylacrylat aus der Veresterung von Acrylsäure und <i>n</i> -Butanol im Strömungsrohrreaktor. Reaktionsbedingungen: 10 mL Reaktionsvolumen mit Acrylsäure (1 M, 0.686 mL), <i>n</i> -Butanol (2 M, 1.83 mL) und Cyclohexan (7.48 mL), 750 mg Katalysator, 25 °C.	82

4.15. Ausbeuten für <i>n</i> -Butylacrylat aus der Veresterung von Acrylsäure und <i>n</i> -Butanol im Satzreaktorbetrieb für den unbeschichteten sowie beschichteten N435 Katalysator. Reaktionsbedingungen: 10 mL Reaktionsvolumen mit Acrylsäure (1 M, 0.686 mL), <i>n</i> -Butanol (2 M, 1.83 mL) und Cyclohexan (7.48 mL), 750 mg Katalysator, 25 °C, 6 h.	85
4.16. Ausbeuten und Raum-Zeit-Ausbeuten für <i>n</i> -Butylacrylat aus der Veresterung von Acrylsäure und <i>n</i> -Butanol im Satzreaktorbetrieb für verschiedene Substratkonzentrationen $C_{\text{Acrylsäure}}$.	85
A.1. Ausbeuten für die Synthese von Methylacrylat. Die Standardabweichung ist in Klammern angegeben.	112
A.2. Ausbeuten für die Synthese von Ethylacrylat. Die Standardabweichung ist in Klammern angegeben.	113
A.3. Ausbeuten für die Synthese von <i>sec</i> -Butylacrylat. Die Standardabweichung ist in Klammern angegeben.	114
A.4. Ausbeuten für die Synthese von <i>iso</i> -Butylacrylat. Die Standardabweichung ist in Klammern angegeben.	115
A.5. Ausbeuten für die Synthese von Cyclohexylacrylat. Die Standardabweichung ist in Klammern angegeben.	116
A.6. Ausbeuten für die Synthese von 1-Hexylacrylat. Die Standardabweichung ist in Klammern angegeben.	117
A.7. Ausbeuten für die Synthese von 2-Ethylhexylacrylat. Die Standardabweichung ist in Klammern angegeben.	118
A.8. Ausbeuten für die Synthese von 1-Octylacrylat. Die Standardabweichung ist in Klammern angegeben.	119
A.9. Ausbeuten für die Synthese von Benzylacrylat. Die Standardabweichung ist in Klammern angegeben.	120
A.10. Ausbeuten für die Synthese von 2-Phenylethylacrylat. Die Standardabweichung ist in Klammern angegeben.	121
A.11. Ausbeuten für die Synthese von 2-Methoxyethylacrylat. Die Standardabweichung ist in Klammern angegeben.	122

A.12. Ausbeuten für die Synthese von Dimethylaminoethylacrylat. Die Standardabweichung ist in Klammern angegeben.	123
A.13. Ausbeuten für die Synthese von β -Cyanoethylacrylat. Die Standardabweichung ist in Klammern angegeben.	124
A.14. Ausbeuten für die Synthese von 2-Chlorethylacrylat. Die Standardabweichung ist in Klammern angegeben.	125
A.15. Ausbeuten für die Synthese von 2-Bromethylacrylat. Die Standardabweichung ist in Klammern angegeben.	126
A.16. Ausbeuten für die Synthese von 2-Hydroxyethylacrylat. Die Standardabweichung ist in Klammern angegeben.	127
A.17. Ausbeuten für die Synthese von <i>n</i> -Butylacrylat. Die Standardabweichung ist in Klammern angegeben.	128
A.18. Ausbeuten für die Synthese von 1-Hexylmethacrylat. Die Standardabweichung ist in Klammern angegeben.	129
A.19. Ausbeuten für die Synthese von 2-Phenylethylmethacrylat. Die Standardabweichung ist in Klammern angegeben.	130

Abkürzungsverzeichnis

CaLA/CaLB	<i>Candida antarctica</i> Lipase A bzw. B
N435	Novozym 435
IL(s)	Ionische Flüssigkeit(en)
SILP	<i>supported ionic liquid phase</i>
GC	Gaschromatographie
GC-MS	Gaschromatographie mit Massenspektrometrie-Kopplung
IS	Interner Standard
CHIL	<i>carbohydrate based ionic liquid</i>
GMIM-I	Glucosemethylimidazolium-iodid
GEIM	Glucoseethylimidazolium
GBIM	Glucosebutylimidazolium
GOIM	Glucoseoctylimidazolium
BF ₄	Tetrafluoroborat
OAc	Acetat
OMs	Mesylat
OTf	Triflat
NTf ₂	Bis(trifluormethylsulfonyl)amid
EMIM	Ethylmethylimidazolium
HO-EMIM	Hydroxy-Ethylmethylimidazolium
MeGMIM	Glucosemethylimidazolium permethyliert
CH ₃ -CN	Acetonitril
C ₆ H ₁₂	Cyclohexan
CPME	Cyclopentylmethylether

DIPE	Di- <i>iso</i> -propylether
MTBE	Methyl- <i>tert</i> -butylether
Asp	Asparaginsäure
His	Histidin
Ser	Serin

1. Einleitung

1.1. Biokatalyse

Die historischen Anfänge biokatalytischer Reaktionen lassen sich auf Gärungsprozesse zurückführen, wie beispielsweise der Umsetzung von Kohlenhydraten zu Alkoholen. Zunächst wurde als Ursache für solche Prozesse das Vorhandensein eines Ferments vermutet. Erstmals konnte Anselme Payen 1833 den enzymatisch katalysierten Stärkeabbau nachweisen.^[1] Dies führte er auf die Diastase zurück, heute bekannt als Amylase. Diese Enzymgruppe findet sich ebenfalls im menschlichen Speichel wieder. Diesem Meilenstein folgte 1858 die erste kinetische Racematspaltung mithilfe von Enzymen bei der Aufarbeitung von Ammoniumtartrat von Louis Pasteur.^[2] 1897 widerlegte Eduard Buchner endgültig die Theorie des Vitalismus, welche besagt, dass sich alles Lebendige vom nicht-Lebendigen durch das Vorhandensein einer Lebenskraft unterscheidet. Er konnte nachweisen, dass das Extrakt von Hefezellen ebenfalls zur alkoholischen Gärung führt und somit nicht auf die Anwesenheit von Mikroorganismen angewiesen ist.^[3,4] Hierfür erhielt er 1907 den Nobelpreis für Chemie. Dieses erste Indiz für die Existenz von Enzymen wurde durch die Arbeiten von Sumner, Northrop und Stanley weiter vertieft, die sich mit der Isolation ebendieser beschäftigten und denen dafür 1946 der Nobelpreis für Chemie verliehen wurde.

Wesentlich zum Verständnis des aktiven Zentrums, welches ein Protein erst zum Enzym klassifiziert, trugen Röntgenkristallanalysen als auch molekulardynamische Simulationen bei. Folgend konnte die relative Position der Aminosäuren zueinander analysiert werden, was Aussagen über die Substratspezifität erlaubt. Forschungen im Bereich des Protein-Engineering ermöglichen mittlerweile maßgeschneiderte

Tab. 1.1.: Auflistung der sieben Enzymklassen, die von der *International Union of Biochemistry and Molecular Biology* definiert wurden.

EC Nummer	Klasse
1	Oxidoreduktasen
2	Transferasen
3	Hydrolasen
4	Lyasen
5	Isomerasen
6	Ligasen
7	Translokasen

Enzyme, um ihre Limitierungen in Bezug auf Selektivität und Stabilität zu überwinden. Dabei existieren zwei verschiedene Ansätze, das rationale Design sowie die gerichtete Evolution, die die Verbesserung der Enzyme in Hinblick auf erhöhte Stabilität, Substratspezifität, Stereo- und Regioselektivität ermöglichten.^[5-8] Für ihre Pionierarbeit auf dem Gebiet der gerichteten Evolution erhielt Francis Arnold 2018 den Nobelpreis für Chemie. Aufgrund der Vielzahl an Enzymen wurde es unumgänglich sie zu kategorisieren. Die Einteilung erfolgte nach Art der katalysierten Reaktion und ist in Tabelle 1.1 zusammengefasst, wobei die Klasse der Translokasen erst 2018 hinzugefügt wurde.

Die Biokatalyse zeichnet sich generell durch milde Reaktionsbedingungen, das heißt oftmals Raumtemperatur und Atmosphärendruck, sowie hohe Chemo-, Regio- und Enantioselektivität aus. Dadurch können synthetisch schwer zugängliche Reaktionen, wie die selektive Funktionalisierung nicht-aktivierter, aliphatischer Kohlenstoff-Wasserstoff Bindungen, ermöglicht als auch das Risiko unerwünschter Nebenreaktionen reduziert werden.^[9] Gleichzeitig dürfen auch die Nachteile der Biokatalyse nicht verschwiegen werden. Ihr Einsatzbereich ist meist auf die im Vorfeld erwähnten milden Reaktionsbedingungen limitiert. Drastische Änderungen des pH-Werts sowie der Temperatur können von einem Großteil der Enzyme, die nicht modifiziert wurden, nicht toleriert werden. Des Weiteren ist ein Großteil der Enzymklassen aus Tabelle 1.1 auf den Einsatz im wässrigen Medium beschränkt.

Dies bedingt einerseits ihre Enzymaktivität und andererseits die mangelnde Löslichkeit zahlreicher organischer Substrate in Wasser als Lösungsmittel.^[9] Letzteres kann durch den Einsatz von Additiven, wie beispielsweise *tert*-Butanol, kompensiert werden, wodurch eine monophasische Reaktionsführung ermöglicht wird. Außerdem sind Enzyme oftmals angewiesen auf das Vorhandensein eines Co-Faktors. Dieser kann anorganischen Ursprungs sein in Form eines Metallions, wie beispielsweise Nickel bei Urease. Der Co-Faktor kann zudem organischer Natur sein. In diesem Fall wird von Co-Enzym beziehungsweise Co-Substrat gesprochen, welches reversibel oder nahezu irreversibel als prosthetische Gruppe an das Enzym gebunden ist. Damit das Verfahren attraktiv für die industrielle Großproduktion wird, muss der Co-Faktor regeneriert werden, um die Aktivität bei fortschreitender Reaktionsdauer weiterhin zu gewährleisten. Zusammengefasst bleibt die Transformation vom Labormaßstab zur großtechnischen Produktion die größte Herausforderung.^[10] Nichtsdestotrotz konnte sich die Biokatalyse als wichtiges Werkzeug für die chemische Industrie etablieren, um den Synthesaufwand um mehrere Schritte zu reduzieren oder um neue Reaktionswege, beispielsweise in der Polymerherstellung, zu ermöglichen.^[11] Dabei beschränkt sich der Einsatz nicht auf Feinchemikalien, da auch bei der Produktion von Bulkchemikalien enzymatische Reaktionsschritte eingebaut werden.^[11] In Tabelle 1.2 ist ein Überblick über die ökonomischen und ökologischen Ziele gegeben, die durch enzymatische Prozesse realisiert werden können. Als wichtige Vertreter für biokatalytische Verfahren seien hier der HFCS-Prozess, die Polymerase-Kettenreaktion sowie die Acrylamid-Produktion genannt. Auf Seiten der Lipasen ist die von BASF entwickelte kinetische Racematspaltung zur Herstellung chiraler Amine ein sehr prominentes Beispiel.

Tab. 1.2.: Auswahl ökonomischer und ökologischer Ziele nach Bornscheuer *et al.*, die durch enzymatische Prozesse realisiert werden können.^[12]

Ziel	Beispiel
Kostensenkung	Glucoseisomerisierung
Verbesserung biologischer Eigenschaften	Racematspaltung
Nutzung nachwachsender Rohstoffe	Biodieselproduktion
Verringerung der Umweltbelastung	Cephalosporin C Hydrolyse

Im Zuge des wachsenden Umweltbewusstseins wurde die Biokatalyse häufig als Schlüsselfaktor zur Einhaltung der 12 Prinzipien der grünen Chemie angeführt. Diese sind in Tabelle 1.3 zusammengefasst. Anstelle der gesamtheitlichen Betrachtung werden dabei jedoch einzelne Punkte hervorgehoben, um Enzymen eine signifikante Relevanz bei der Einhaltung zuzusprechen.^[13,14]

Tab. 1.3.: Zwölf Prinzipien der grünen Chemie, die von Anastas und Warner definiert wurden.^[15]

Nummer	Ziel
1	Abfallvermeidung
2	Atomökonomie
3	sichere Synthese
4	Entwicklung sicherer Chemikalien
5	sichere Lösungsmittel
6	effiziente Energienutzung
7	Nutzung nachwachsender Rohstoffe
8	Minimierung von Synthesestufen
9	Katalyse
10	biologische Abbaubarkeit
11	Echtzeitanalysen von Schadstoffemissionen
12	sichere Chemie zur Unfallvermeidung

Hierzu verglichen Hollmann *et al.* die enzymatische Synthese von Styroloxid mit zwei chemischen Synthesewegen. Obwohl letztgenannte einen zusätzlichen Reaktionsschritt über das racemische Zwischenprodukt benötigen, erzielten sie den kleinsten *E*-Faktor, ein Term der die Nachhaltigkeit eines Verfahrens beschreibt, sogar bei Vernachlässigung der Wasseraufarbeitung.^[13] Zu einem ähnlichen Schluss gelangen Woodley *et al.* bei der Synthese von 7-Aminocephalosporansäure. Es wurde festgestellt, dass der enzymatische Weg weniger Ressourcen verbraucht und weniger kritische Lösungsmittel verwendet.^[16] Dennoch fällt der *E*-Faktor größer aus verglichen mit der chemischen Synthese durch Phosphorpentachlorid.^[16] Dies liegt in der größeren Menge an wässrigem Abfall begründet, der bei dem enzymatischen Prozess entsteht. Es kommt dabei zu einem Anstieg von 0.1 t zu 1.7 t an kontaminiertem Wasser pro Tonne Produkt.^[17] Der enzymatische Prozess zeichnet sich jedoch aus durch weniger toxische Chemikalien und einer deutlichen Reduktion der notwendigen Prozessenergie.^[17]

Für die C-N-Kupplung von 3-Methylcatechol mit *n*-Hexylamin verglichen Kragl *et al.* mithilfe einer Ökoeffizienz-Analyse den bio- und chemokatalytischen Reaktionsweg. Während der Einsatz einer Laccase der Verwendung von Natriumiodat zunächst in allen sechs untersuchten Kategorien unterlag, konnte ein Szenario entwickelt und experimentell bestätigt werden, in dem beide Verfahren nahezu identisch bei der Ökoeffizienz-Analyse gewertet wurden.^[18] Dabei war es notwendig den Fokus auf die Produktivität anstelle der Selektivität zu legen.^[18]

1.2. Lipasen

Triacylglycerolesterhydrolasen (EC 3.1.1.3), besser bekannt als Lipasen, bilden eine Untergruppe der Hydrolasen. Diese Enzymklasse stellt das Gros der industriell genutzten Enzyme dar mit Einsatzgebieten in der Biodieselherstellung,^[19–24] Lebensmittel^[25–28]- und Pharmaindustrie,^[29–32] Bioremediation^[33–37] sowie in der Agrochemie.^[38–40] Lipasen nehmen diesen Status vorrangig dadurch ein, dass sie eine hohe Stabilität in organischen Lösungsmitteln aufweisen sowie durch die Vielzahl der katalysierbaren Reaktionen. Der Reaktionsmechanismus beruht dabei auf

der katalytischen Triade. Diese existiert in verschiedenen Aminosäurekombinationen. Die Triade bestehend aus L-Asparaginsäure (Asp), L-Histidin (His) und L-Serin (Ser) ist dabei am besten untersucht. Eine schematische Darstellung des Mechanismus und eine Übersicht potentieller Nucleophile und der dabei entstehenden Produkte ist in Abbildung 1.1 dargestellt. Durch die räumlichen Nähe der drei Aminosäuren kann der Serinrest von Histidin deprotoniert werden und an einem Carbonylkohlenstoffatom als Nucleophil angreifen. Bei der Bildung dieses Acyl-Enzym-Komplexes erfolgt die Abspaltung der Fluchtgruppe, durch die Wechselwirkung mit dem protonierten Histidinrest. An dem Acyl-Enzym-Komplex kann nun ein nucleophiler Angriff stattfinden.

Historisch betrachtet stellen Glyceride die ersten Substrate dar, wobei diese in der wässrigen Phase zur Bildung von Emulsionen neigen.^[41] Der Modus operandi von Lipasen basiert auf solchen Phasengrenzflächen zwischen hydrophiler und hydrophober Phase. Aus diesem Grund wird diese Gruppe von Biokatalysatoren ebenfalls als *interfacial enzymes* bezeichnet, wobei dieser Begriff von Desnuelle *et al.* geprägt wurde.^[42] Eine Polypeptidkette, die in der Literatur oftmals als "Klappe" bezeichnet wird, schützt hierbei das aktive Zentrum im geschlossenen Zustand.^[41] Die Freisetzung des aktiven Zentrums ist energetisch ungünstig in Abwesenheit einer hydrophoben Grenzfläche.^[43] Im geöffneten Zustand ist wiederum eine Penetration in das aktive Zentrum möglich. Die Präsenz dieser Polypeptidkette wird zudem als signifikanter Unterschied zu Esterasen (EC 3.1.1.1) aufgefasst, welche in Bezug auf kurzkettige, wasserlösliche Triglyceride eine hohe Aktivität aufweisen.^[44] Zu den bekanntesten Lipasen zählen die *Candida antarctica* Lipase A (CaLA) und B (CaLB). Beide Enzyme zeichnen sich durch eine besondere Robustheit aus, in Bezug auf Thermo- als auch pH-Stabilität, wobei CaLB die größere synthetische Relevanz besitzt.^[45,46] Dies kann unter anderem darauf zurückgeführt werden, dass CaLA eine höhere Aktivität in Bezug auf Triglyceride aufweist, während CaLB große Triglyceride weniger effektiv umsetzt, gleichzeitig aber ein breiteres Substratspektrum toleriert.^[47] Kristallographische Untersuchungen von Uppenberg *et al.* konnten erstmals die Struktur von CaLB näher entschlüsseln und in Kombination mit molekulardynamischen Simulationen einer

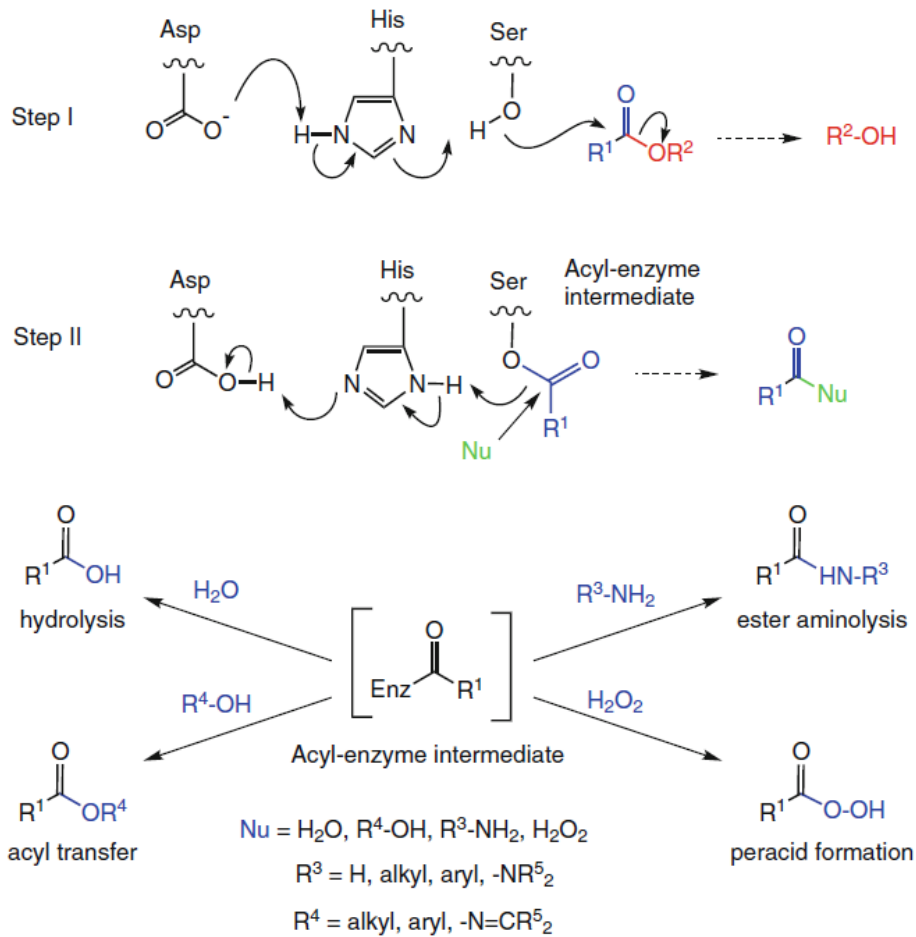


Abb. 1.1.: Mechanismus der katalytischen Triade zur Bildung des Acyl-Enzym-Komplexes nach Faber *et al.* und eine Übersicht potentieller Nukleophile. Die Nutzung erfolgte mit freundlicher Genehmigung von Springer Nature.

kinetischen Racematspaltung an 1-Phenylethanol die Enantioselektivität bezogen auf das *R*-Produkt voraussagen.^[48] Das Protein-Engineering beschäftigt sich im Fall von CaLB insbesondere mit der Verbesserung der Thermostabilität.^[49-51]

1.3. Novozym 435

Der bereits genannte Mechanismus der *interfacial enzymes* kann dazu genutzt werden, um die offene Form der Lipase auf einem hydrophoben Trägermaterial zu immobilisieren.^[52,53] Als bekanntestes Beispiel sei hier Novozym 435 (N435) genannt, das von der dänischen Firma Novo Nordisk vertrieben wird und bereits erfolgreich zur Herstellung enantiomerenreiner Pharmaprodukte respektive deren Precursoren verwendet wird, wie zum Beispiel Flurbiprofen.^[54-56] Dieses System besteht aus CaLB adsorbiert auf einem Polymethacrylat-Divinylbenzol Copolymer, vermarktet unter dem Namen Lewatit VP OC 1600 von der Firma Lanxess. Die Struktur des Trägermaterials ist in Abbildung 1.2 dargestellt. Diese Materialien sind häufig genutzte chemische Adsorber, die als makroporöse spährische Partikel vorliegen. Wahlweise können diese Materialien auch funktionalisiert werden, beispielsweise mit primären Aminen wie im Fall von Lewatit VP OC 1065.^[57] Generell sind immobilisierte Enzyme die präferierte Wahl, da hier die Vorteile der heterogenen Katalyse zum Tragen kommen, d.h. eine höhere Stabilität sowie vereinfachte Abtrennung, beispielsweise durch eine Filtration, aus dem Reakti-

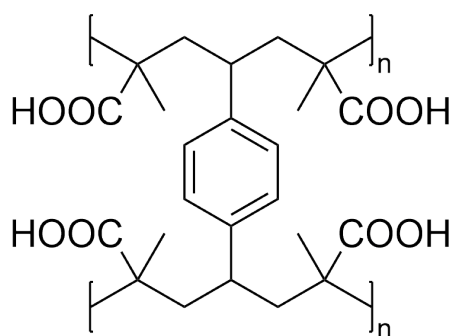


Abb. 1.2.: Wiederkehrende Struktureinheit des Polymethacrylat-Divinylbenzol Copolymers.

onsgemisch. Dies ist ebenfalls aus wirtschaftlicher Sicht entscheidend, da dies den wiederholten Einsatz des Biokatalysators ermöglicht.^[9] Dabei darf nicht unerwähnt bleiben, dass dies oftmals mit einer im Vergleich zu freien Enzymen geringeren Aktivität aufgewogen wird, die dem Immobilisierungsprozess geschuldet ist. Hier muss jedoch beachtet werden, dass immobilisierte Enzyme ebenfalls aus industrieller Sicht attraktiver sind, da freie Enzyme hohe Substrat- beziehungsweise Produktkonzentrationen schlechter tolerieren und somit die Raum-Zeit-Ausbeute limitieren.^[9]

1.4. Ionische Flüssigkeiten und der Einfluss auf Enzyme

Eine Möglichkeit die enzymatische Aktivität zu steigern, beziehungsweise den Aktivitätsverlust der Immobilisierung auszugleichen, kann durch den Einsatz ionischer Flüssigkeiten (ILs) erfolgen. ILs sind Salze mit einem Schmelzpunkt unter 100 °C.^[58] Sie weisen dabei charakteristische Eigenschaften in Bezug auf ihre Dichte, isotherme Kompressibilität, Viskosität, Wärmekapazität und -leitfähigkeit auf.^[58] Einerseits können sie als Reaktionsmedium eingesetzt werden. Hierzu existieren mehrere, umfangreiche Übersichtsartikel, die sowohl mono- als auch multiphasische Konzepte ausführlich beleuchten.^[59–62] Einer Vielzahl von IL Eigenschaften wird eine Korrelation mit der Enzymaktivität zugewiesen, jedoch ist dies bisher nicht systematisch untersucht worden, sodass keine theoretischen Modelle existieren, die eine Vorhersage ermöglichen.^[63] Viele Arbeiten beschäftigten sich damit, die HOFMEISTER-Reihe in Einklang mit der Proteinstabilität zu bringen.^[64–66] Dies führte zu der Theorie, dass kosmotrope Anionen (SO_4^{2-} , HPO_4^{2-} , CH_3COO^- , F^-) und chaotrope Kationen (K^+ , NH_4^+ , $\text{N}(\text{CH}_3)_4^+$) Proteine stabilisieren. Dies gilt für eine Vielzahl verdünnter binärer Mischungen mit Wasser, jedoch kann nicht von universeller Gültigkeit gesprochen werden, da das Verhalten konzentrierter binärer Mischungen sowie monophasischer IL Systeme durch andere Faktoren bestimmt wird.^[64] Eine weitere Möglichkeit ist die Modifikation des Katalysators durch ionische Flüssigkeiten. Dies wurde zum ersten Mal von Kim und Lee bei der

Umesterung von Vinylacetat durch eine Vielzahl unterschiedlich substituierter Alkohole untersucht, wobei eine verbesserte Enantioselektivität der IL-beschichteten *Burkholderia cepacia* Lipase verglichen mit dem unbehandeltem Enzym beobachtet wurde.^[67] Die Arbeitsgruppe um Itoh griff dieses Konzept auf und verwendete IL-beschichtete *Burkholderia cepacia* Lipase für die enantioselektive Acylierung von 1-Phenylethanol. Dabei konnte beobachtet werden, dass die bloße Zugabe der IL als Additiv zu einer Verbesserung der Enantioselektivität führt, während die Verwendung der beschichteten Lipase die Enantioselektivität verbessert sowie die Reaktionsdauer signifikant reduziert.^[68,69] Abe *et al.* griffen diese Modellreaktion auf und untersuchten dabei neue chirale Imidazolium-basierte ILs mit einer Pyrrolidin-Seitenkette. Dabei konnte das *R*-Isomer der IL die Reaktionsgeschwindigkeit um das 58-fache verbessern, verglichen mit dem nativen Enzym.^[70] Die Autoren vermuten, dass der kationische Teil der IL mit der Lipase wechselwirkt und somit die Konformation entscheidend verändert.^[70] Matsubara *et al.* untersuchten Phosphonium-basierte ILs, die das selbe Anion aufweisen, zur enantioselektiven Acylierung von 1-Phenylethanol. Die bisherigen Imidazol-basierten ILs erwiesen sich dabei als überlegen, in Bezug auf den positiven Effekt auf die Reaktionsgeschwindigkeit, jedoch unterschieden sich die getesteten ILs in ihrer Aktivitätssteigerung trotz ihrer strukturellen Ähnlichkeit.^[71] Ou *et al.* untersuchten die Umesterung von Buttersäureethylester mit *n*-Butanol. Dabei wurden Imidazolium-basierte ILs verwendet, die eine Hydroxyalkyleinheit statt der gewöhnlichen Alkylseitenkette aufweisen. Es konnte gezeigt werden, dass die Enzymaktivität zweier Lipasen in diesen Medien vergleichbar mit der in Wasser ist und somit diese Systeme interessante Alternativen für Biokatalyse in unkonventionellen Lösungsmitteln darstellen.^[63] Walker *et al.* nutzen ebenfalls solche hydroxyfunktionalisierten Systeme zur Umsetzung von Codein zu Codeinon mittels homogener Biokatalyse, wobei die zusätzliche Möglichkeit Wasserstoffbrückenbindungen einzugehen dazu führte, dass das Substrat, die Dehydrogenase sowie der entsprechende Cofaktor gelöst vorlagen.^[72,73] Es wird vermutet, dass die IL eine Schicht um das Enzym bildet, wodurch das Entfernen des strukturellen Wassers, das für die Stabilität des Enzyms entscheidend ist, verhindert wird und somit eine größere Flexibilität

herbeiführt.^[71,74]

Dieses Konzept findet sich ebenfalls in der heterogenen Katalyse bei der Modifikation von Trägermaterialien unter der Bezeichnung *supported ionic liquid phase* (SILP) wieder. Durch die Möglichkeit ILs nach den gewünschten chemischen Eigenschaften maßzuschneidern, lassen sich diese Eigenschaften zum Teil auf das genutzte Material übertragen. Einige Bulkphaseneigenschaften gehen hierbei verloren, wie z.B. die Viskosität, während Acidität und Hydrophobie erhalten bleiben.^[75] Dieser Verlust kann ausgeglichen werden, wenn statt einer Mono- eine Multischicht auf dem Trägermaterial immobilisiert wird, wobei dieser Mechanismus zumeist auf Physisorption beruht.^[75] Eine schematische Darstellung dessen ist in Abbildung 1.3 präsentiert.

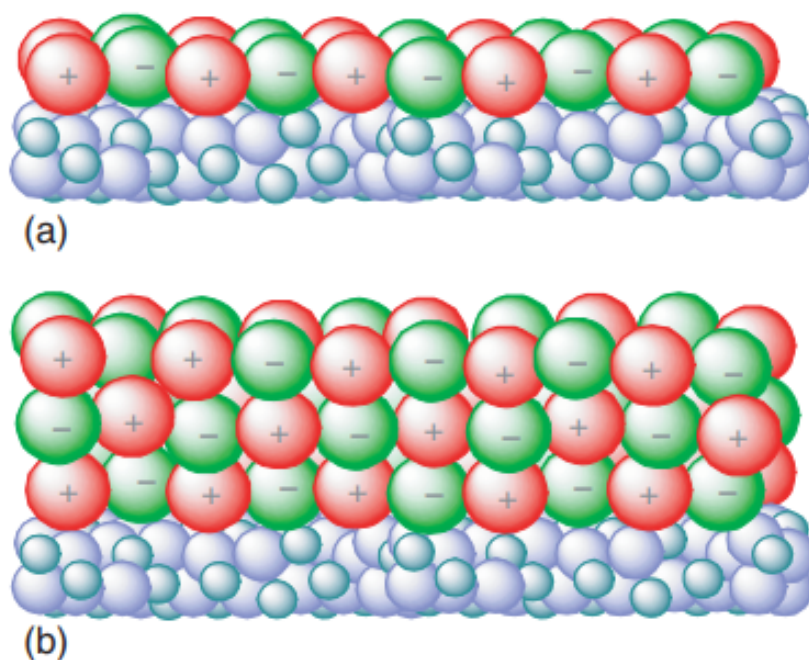


Abb. 1.3.: Schematische Darstellung einer immobilisierten IL Monoschicht (a) beziehungsweise Multischicht (b) auf einem Trägermaterial nach Fehrmann *et al.*^[75] Die Nutzung erfolgte mit freundlicher Genehmigung von Wiley-VCH.

Filmdicken im Bereich von 3 bis 30 nm sind gängig, wodurch Massentransportlimitierungen kein Problem darstellen.^[75] Der Effekt der IL-Schicht konnte noch nicht hinreichend erklärt werden. Zum einen besteht die Möglichkeit einer Co-Katalysator Funktion durch die Interaktion mit den aktiven Zentren, vergleichbar mit einem Liganden.^[75] Zum anderen kann es auch als ein Co-Solvent Effekt aufgefasst werden, da die Löslichkeit der Reaktanden im IL-Film sich von der Löslichkeit in der Bulkphase des Lösungsmittels unterscheidet, wodurch die effektive Konzentration an Substrat in unmittelbarer Nähe der aktiven Zentren beeinflusst wird.^[75] Erfolgreiche Beispiele für solche Beschichtungsverfahren sind in der Biokatalyse aktuell nur für Lipasen bekannt.^[76] In der Chemokatalyse finden sich hierzu mehrere Beispiele. Einerseits in der homogenen Katalyse bei der Hydroformylierung und andererseits in der heterogenen Katalyse bei einer Vielzahl von Kreuzkupplungsreaktionen.^[77-83]

Eine weitere Möglichkeit ILs zu modifizieren, ist der Einbau eines Kohlenhydrats in das jeweilige Kat- oder Anion bekannt unter der Bezeichnung *carbohydrate based ionic liquid* (CHIL). Kohlenhydrate gehören neben den Proteinen, Lipiden und Nucleinsäuren zu den vier großen Naturstoffklassen.^[84] Eine Eigenschaft, die die Kohlenhydrate gemeinsam haben, sind die bezogen auf die Molekülgröße vergleichsweise vielen vorhandenen funktionalen Gruppen und dabei vorzugsweise Hydroxygruppen.^[84] Das Kohlenhydratgerüst enthält dabei bereits eine chirale Information, wodurch diese Gruppe für die asymmetrische Synthese prädestiniert ist.^[85] Darüber hinaus werden die Kohlenhydrate auf Basis nachwachsender Rohstoffe gewonnen, wodurch diese ILs den Ruf als "grüne Lösungsmittel" innehaben.^[86] Dies muss kritisch evaluiert werden, da der Einsatz von Reagenzien im Überschuss zur Akkumulation von Abfallprodukten führen sowie die Verwendung toxischer Lösungsmittel bei der Synthese oder Aufreinigung keinesfalls als grün bezeichnet werden kann. Es bedarf optimierter Reaktionsbedingungen, um bei CHILs wirklich von "grünen Lösungsmittel" zu sprechen.

Das häufigste in unserer Biosphäre auftretende organische Molekül ist dabei die D-Glucose.^[84] Die vergleichsweise neue Gruppe der CHILs ist dabei nicht auf Glucose beschränkt. Andere Kohlenhydrate, wie Galactose, Ribose, Xylose und Arabinose,

wurden ebenfalls zu ILs funktionalisiert, wobei hier auf neuere Übersichtsartikel verwiesen sein soll.^[85,87,88] Es ist überraschend, dass die Synthese von CHILs so spät untersucht wurde, da die Kohlenhydratausgangsstoffe eine gute Verfügbarkeit aufweisen und zum Teil kostengünstig erworben werden können.^[89] Einen wichtigen Beitrag zur CHIL Chemie leistet die Arbeitsgruppe Chrobok, die erstmals 2014 die Anwendung eines quaternären Ammonium-Kations verbunden mit D-Glucose bei der Diels-Alder Cycloaddition von Cyclopentadien und Maleinsäurediethylester publizierte. Dabei wurde eine hohe Reaktionsrate sowie *exo/endo* Selektivität festgestellt.^[90]

1.5. Acrylate

Über 6000000 t Acrylsäure werden jährlich durch die Oxidation von Propen produziert.^[91] Acrylsäure und ihre entsprechenden Ester werden primär zur Herstellung von Polyacrylaten verwendet, die vorrangig für Farben, Klebstoffe, Superabsorber und Dispergatoren benötigt werden.^[92] Von allen Acrylestern besitzt der Acrylsäurebutylester den quantitativ größten Anteil als Baustein für die Herstellung der entsprechenden Homo- und Copolymere. Es wird prognostiziert, dass die Produktionsmenge im Jahr 2026 etwa 4840000 t erreichen wird.^[93] Als "weiches" Monomer kann es die Schlagzähigkeit von Thermoplasten verbessern sowie die Wetterbeständigkeit erhöhen, aufgrund der besonders großen Photostabilität.^[94] Weitere relevante Acrylate weisen anstelle der Butylkette eine Methyl-,^[95] Ethyl-,^[96] *iso*-Butyl-,^[97] Hexyl-^[98] oder 2-Ethylhexylgruppe^[99] auf. Von Relevanz sind zudem Methacrylate. Dabei nimmt Methylmethacrylat hier eine Vorrangstellung ein, da es primär zur Herstellung von Polymethylmethacrylat verwendet wird. Letzteres wird jährlich in Mengen über 2800000 t hergestellt und als Plexiglas und Knochenzement zur Fixation von Implantaten verwendet.^[100,101] Weiterhin findet Methylmethacrylat Verwendung in der Farb- und Lackindustrie, sowie in der Kranioplastik.^[102,103] Weitere relevante Methacrylate besitzen statt der Methylgruppe einen Ethyl-, *n*-Butyl-, *iso*-Butyl und 2-Ethylhexylrest und werden in Mengen von über 1000 t pro Jahr hergestellt.^[104]

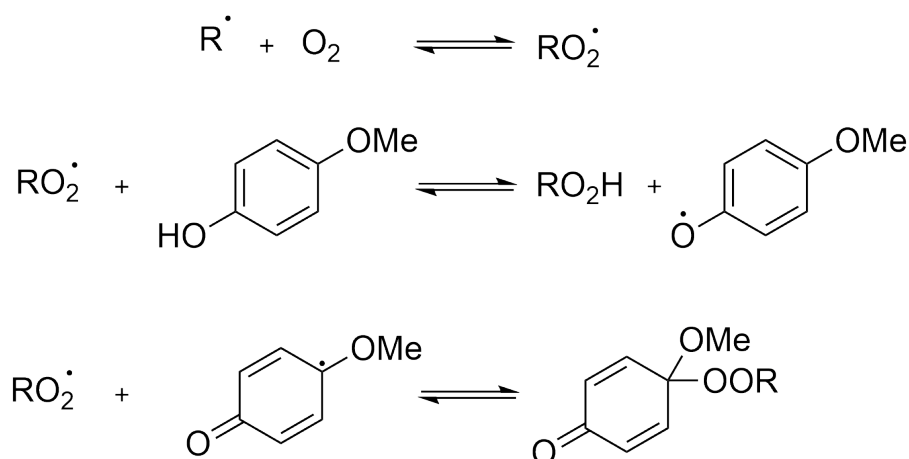


Abb. 1.4.: Reaktionsmechanismus zum Abfangen potentieller Radikale R[·] über die initiale Bildung eines Peroxidradikals RO₂[·] nach Becker und Vogel.^[108]

Die konventionelle Veresterung von Acrylsäure findet bei erhöhten Temperaturen zwischen 80 und 100 °C in Anwesenheit von *para*-Toluolsulfonsäure und Polymerisationsinhibitoren statt.^[105] Ein gängiger Inhibitor ist Hydrochinonmonomethylether, wobei darauf geachtet werden muss, dass unter Inertbedingungen der Schutz nicht mehr gewährleistet ist. Eine Darstellung der entsprechenden Wirkweise ist der Abbildung 1.4 zu entnehmen. Die Notwendigkeit von Sauerstoff ist in Hinblick auf die großtechnische Produktion problematisch, da bei großen Volumina an Lösungsmitteln der Brandschutz eine primäre Rolle einnimmt. Es ist demnach wünschenswert, eine Synthese ohne Inhibitor durchführen zu können. Der Bedarf an Inhibitor ist dabei sehr stark abhängig von der gewählten Reaktionstemperatur.^[106] Gerade die reduzierte Temperatur ist ein entscheidender Faktor, um das Risiko einer Michael-Addition der Acrylsäure zu verringern.^[107] Dies kann in der unkontrollierten explosionsartigen Polymerisation resultieren, die nicht durch den Inhibitor aus Abbildung 1.4 verhindert wird, da es sich im Unterschied dazu nicht um einen radikalischen sondern einen ionischen Mechanismus handelt.^[107]

Die Acrylestersynthese durch Enzyme wurde erstmals von Hajjar *et al.* mit einer Lipase aus *Chromobacterium viscosum* untersucht.^[109] Dabei wurden 14 Diole durch eine Umesterung mit Ethylacrylat zu den entsprechenden Monoestern

umgesetzt. In einer weiteren Studie wurde N435 zur Umesterung von Methacrylat und zusätzlich Methylmethacrylat mit sechs Alkoholen eingesetzt, wobei gute bis sehr gute Ausbeuten erzielt werden konnten.^[110] Hierbei sei angemerkt, dass der entsprechende Acrylatausgangsstoff gleichzeitig als Lösungsmittel fungierte. Park *et al.* waren in der Lage, Methyl-D-glucose mithilfe von N435 zu acrylieren, wobei eine Ausbeute von 59.3% nach 12 h erreicht wurde.^[111] Dabei ist herauszustellen, dass Kohlenhydrate, aufgrund ihrer Molekülgröße, untypische Substrate für gewöhnliche Lipasen darstellen. Ein bedeutsamer Beitrag zur enzymatischen Acrylatsynthese wurde 2021 von Chrobok *et al.* geleistet.^[112] Diese Arbeitsgruppe konnte bei der Veresterung von Acrylsäure und *n*-Butanol das Reaktionsprodukt in sehr guten Ausbeuten erhalten. Dabei wurden Kohlenstoffnanoröhren als Träger und CaLB als Enzym genutzt. Entscheidend war die Beschichtung des Katalysators mit einer IL. Für einen Teil der untersuchten ILs konnten dadurch Ausbeuten über 97% generiert werden, zu denen unter anderem Ethylmethyl- beziehungsweise Butylmethylimidazolium-octylsulfat und Ethylmethylimidazolium-dioctylphosphat gehören. Zwei der erfolgreichsten SILP Systeme beruhten auf der Verwendung von Methyl-D-glucopyranosiden mit zwei verschiedenen Trialkylammoniumsubstituenten am C6-Atom in Kombination mit dem Bis(trifluormethylsulfonyl)amid-Anion (NTf₂).

2. Zielstellung

Ein Blick auf die Energiepreisentwicklung zeigt eine steigende Tendenz, gerade in Hinblick auf das aktuelle weltpolitische Geschehen, wie dem Anschlag auf die Nord Stream Pipeline. In Deutschland äußerte sich dies in einem Sprung der Strompreise von $21 \frac{\$}{MWh}$ Anfang 2021 auf über $375 \frac{\$}{MWh}$ Sommer 2022.^[113] Dies betrifft neben privaten Haushalten auch die chemische Industrie. So bedeutete dies für BASF zusätzliche Kosten in Höhe von 3.4 Milliarden \$ im Jahre 2022.^[113] Für Covestro bedeutete dies im selben Jahr eine Halbierung der Bruttoeinkünfte.^[113] Stand Sommer 2023 beträgt der Strompreis $53 \frac{\$}{MWh}$.^[113] Der Chemie und Pharma Sektor verbrauchte im Jahr 2022 10.1 % der gesamten Strommenge Deutschlands.^[114] Gleichzeitig ist die Chemieindustrie mit dem größten Wertschöpfungseffekt in Tabelle 2.1 vertreten bei dem Vergleich der energieintensivsten Industrien Deutschlands.^[115]

Tab. 2.1.: Die fünf energieintensivsten Industriezweige Deutschlands sowie deren Anteil an der direkten Wertschöpfung und Energieverbrauch im Jahr 2022.^[115,116]

Industriezweig	Direkte Wertschöpfung / Mrd. €	Energieverbrauch / PJ
Chemie	53	1003.838
Pharma	27	23.497
Glas	21	275.049
Metall	21	244.717
Papier	13	884.380

Der Energieverbrauch ist neben den Material- und Personalkosten ein Schlüsselfaktor der Herstellungskosten.^[117] Neben dem ökonomischen Anlass ist das Einsparen von Energie auch aus umwelttechnischen Gründen wünschenswert, da Kohle und Gas als primäre Energiequellen limitiert sind. Roger A. Sheldon betont zudem die Beachtung des Energieverbrauchs zum *E*-Faktor von Bulkchemikalien, da sich dieser vorrangig in Form von Kohlenstoffdioxid als Abfallstrom äußert.^[118]

Ziel dieser Arbeit ist es, verschiedene Acrylate biokatalytisch bei Raumtemperatur herzustellen. Dadurch ist es möglich die Prozessenergie, verglichen mit konventionellen Verfahren, deutlich zu reduzieren. Das hierzu durchgeführte Screening umfasst 17 Acrylester sowie zwei Methacrylester. Die Bedeutung dieser Plattformchemikalien wurde im vorangegangenen Kapitel dargestellt. Neben der Möglichkeit Energie einzusparen, kommt hier zusätzlich der wichtige Aspekt der Prozesssicherheit hinzu, da die Gefahr der Polyaddition der Acrylsäure reduziert wird. Das Risiko der spontanen Polymerisation und daraus resultierender Explosion darf unter keinen Umständen unterschätzt werden. Zu einem solchen Szenario kam es 2012 in der Nippon Shokubai Himeji Anlage bei der es zu einem Todesfall und 36 Verletzten kam.^[119] Gleichzeitig ist theoretisch eine Synthese ohne Inhibitor denkbar, wodurch unter Inertbedingungen gearbeitet werden kann, ohne die Gasphase kontinuierlich mit definierten Mengen an Sauerstoff anzureichern.

3. Material & Methoden

3.1. Ionische Flüssigkeiten

Zu Beginn soll auf die Wahl der ILs zur Beschichtung von N435 eingegangen werden. Aufgrund der in der Literatur bekannten Effektivität von CHILs nehmen diese einen großen Raum bei dem untersuchten Spektrum an Verbindungen ein. Das Konzept und die Synthesen der in diesem Kapitel dargestellten Verbindungen wurden von Dr. Stefan Jopp erdacht und durchgeführt. Frühere Arbeiten etablierten die Synthese eines Methyl- α -D-glucopyranosids mit eingebautem Imidazoliumgerüst über ein Intermediat, welches am C6-Atom iodiert wurde.^[86] Diese modifizierte APPEL-Reaktion führt durch die Reaktion mit einem Alkylimidazol zum Glucosealkylimidazolium-iodid. Die Reaktion ist in Abbildung 3.1 dargestellt. Die Synthesedetails können der Originalliteratur entnommen werden.^[86,120]

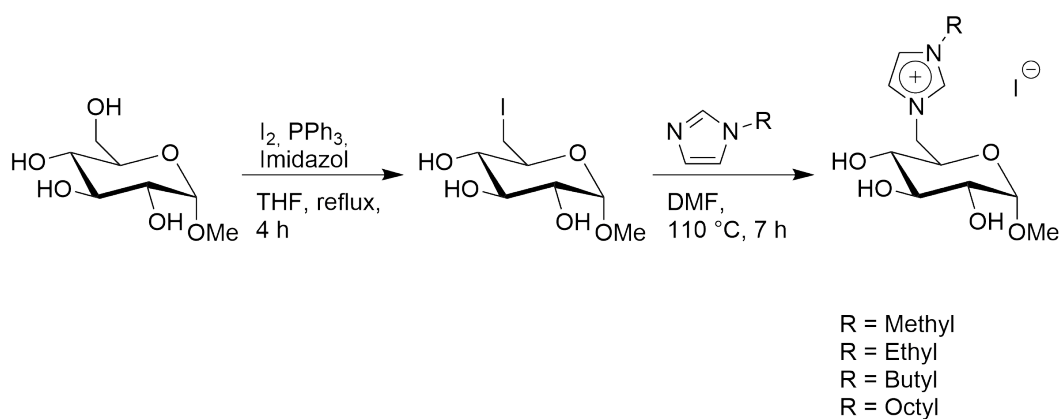


Abb. 3.1.: Reaktion zur Synthese von GMIM, GEIM, GBIM und GOIM-iodid nach Jopp *et al.*^[86,120]

3. Material & Methoden

Weiterhin wurden verschiedene Anionen untersucht. Hierzu wurde Glucosemethylimidazolium-iodid (GMIM-I) als Ausgangsstoff eingesetzt und durch einen Ionentausch mit dem Silbersalz das gewünschte Anion eingeführt, wie in Abbildung 3.2 dargestellt.^[120]

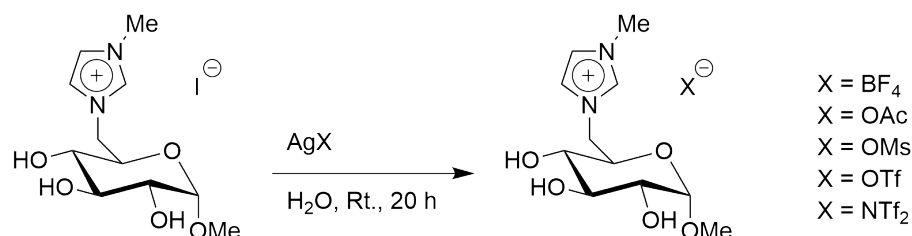


Abb. 3.2.: Reaktion zur Synthese von GMIM-BF₄, GMIM-OAc, GMIM-OMs, GMIM-OTf und GMIM-NTf₂ nach Jopp *et al.*^[120]

Abschließend wurden alle freien Hydroxygruppen methyliert, um den Einfluss von fehlenden Wasserstoffbrückenbindungen bei dem permethylierten GMIM-I (MeGMIM-I) zu untersuchen. Die Synthese ist in der Abbildung 3.3 gezeigt.

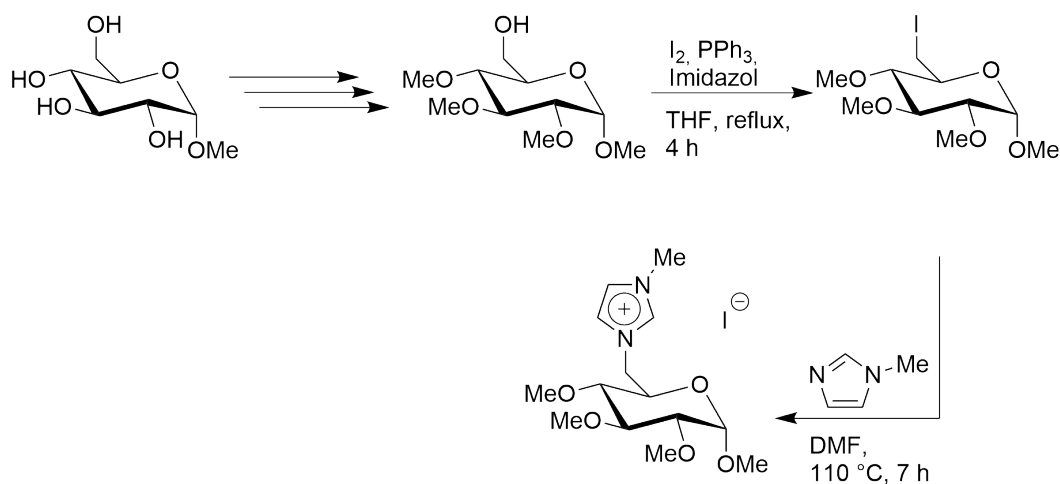


Abb. 3.3.: Reaktion zur Synthese von MeGMIM-I.

Zusätzlich wurden drei Ethylmethylimidazolium (EMIM) und zwei Hydroxy-Ethylmethylimidazolium (HO-EMIM) ILs als konventionelle Vergleichsmaterialien herangezogen, wie in Abbildung 3.4 gezeigt. Diese waren mit Ausnahme von HO-

EMIM-I kommerziell erwerblich. HO-EMIM-I wurde entsprechend der Arbeiten von Kitaoka *et al.* von Dr. Stefan Jopp hergestellt.^[120,121]

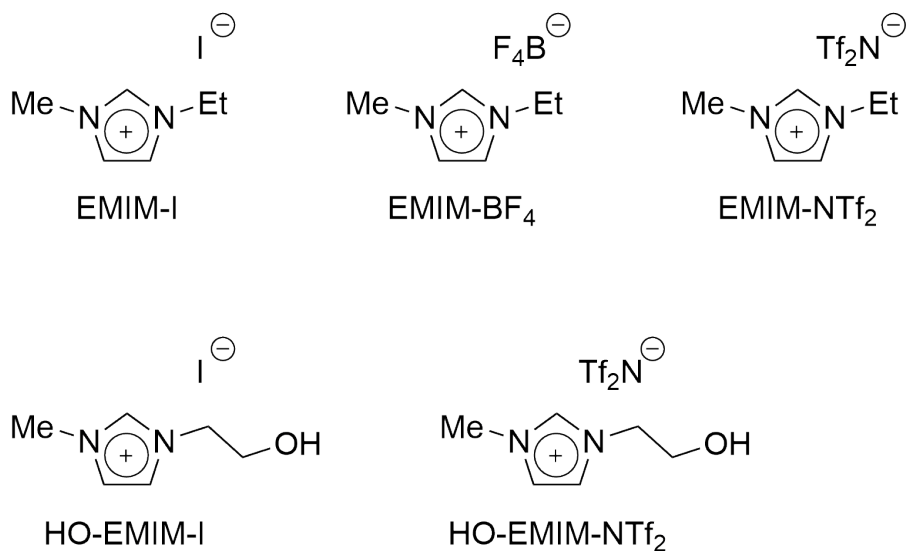


Abb. 3.4.: Imidazolium-ILs, welche zur Beschichtung genutzt wurden.

3.2. Reaktionsdurchführung

Die enzymtisch katalysierten Reaktionen wurden in Reaktionsgefäßen mit einem Volumen von 2 mL der Firma Eppendorf durchgeführt. Die Reaktionsgefäße befanden sich während der gesamten Reaktionsdauer in einem Thermoshaker, welcher eine kontinuierliche Durchmischung und Temperierung des Reaktionsgemisches gewährleistet. Das Reaktionskonzept ist in Abbildung 3.5 dargestellt. Es wurden jeweils Triplikate durchgeführt.

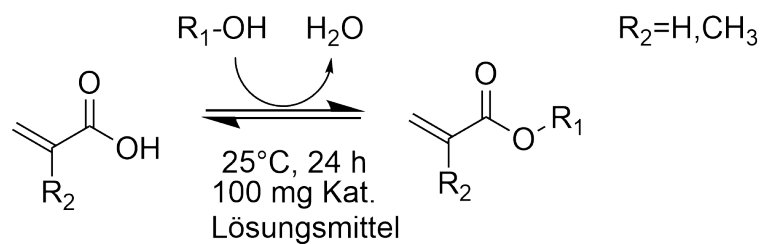


Abb. 3.5.: Allgemeines Reaktionsschema des durchgeführten Screenings zur enzymatischen Synthese von Acrylaten beziehungsweise Methacrylaten.

3.3. Analytik

3.3.1. Gaschromatographie

Der Reaktionsfortschritt der enzymatisch katalysierten Reaktionen wurde über einen Gaschromatographen bestimmt. Hierzu wurde ein Trace 1310 von Thermo Scientific mit einem Flammenionisationsdetektor und einer Agilent HP-5 Säule (30 m·0.25 mm·0.25 μm) genutzt. Als interner Standard (IS) wurde eine Lösung von *n*-Decan in dem entsprechenden Lösungsmittel, das bei der Reaktion genutzt wurde, mit einer Konzentration von $C_{n\text{-Decan}}=25\text{ mM}$ angefertigt. Lediglich für 2-Bromethanol wurde *n*-Undecan anstelle von *n*-Decan verwendet, da letzteres eine ähnliche Retentionszeit wie 2-Bromethylacrylat zeigte. Bei der Probennahme wurden dem Reaktionsvolumen 200 μL entnommen und mit 1 mL des bei der Reaktion verwendeten Lösungsmittels und 200 μL IS verdünnt. Als Injektor- und Detektortemperatur wurde stets 250 °C verwendet. Zur Kalibrierung wurden die Reinstoffe kommerziell erworben und definierte Stammlösungen hergestellt mit den Konzentrationen $C_{\text{Stamm}} = 100, 500, 1000\text{ mM}$. Dabei wurde jede Konzentration in zweifacher Ausführung angefertigt und jeweils vierfach vermessen. Die Daten der Kalibriergeraden sind in Tabelle 3.1 zusammengefasst. Auf eine Isolierung der Produkte wurde aus Zeitgründen verzichtet.

Für einen Großteil der synthetisierten Acrylester startete das Temperaturprogramm bei 75 °C, gefolgt von einer Rampe von 5 $\text{K}\cdot\text{min}^{-1}$ bis 110 °C und einer weiteren Rampe von 30 $\text{K}\cdot\text{min}^{-1}$ bis 140 °C. Für 2-Ethylhexylacrylat, Cyclohexyla-

crylat, 2-Bromethylacrylat, Benzylacrylat, 2-Phenylethylacrylat sowie beide Methacrylate wurde die bereits beschriebene Methode um eine sechs Minuten lange Halteperiode ergänzt. Für Dimethylaminoethylacrylat startete das Temperaturprogramm bei 75 °C, gefolgt von einer neun Minuten langen Halteperiode und einer Rampe von 20 K·min⁻¹ bis 120 °C.

Tab. 3.1.: Genutzte Kalibriergeraden mit dem entsprechenden Achsenabschnitt n , Anstieg m und der Retentionszeit t_R .

Verbindung	n	m / mM^{-1}	t_R / min^1
<i>n</i> -Butylacrylat	0.149	0.036	4.01
Methylacrylat	0.039	0.012	2.20
Ethylacrylat	0.747	0.017	2.47
<i>sec</i> -Butylacrylat	0.220	0.021	3.38
<i>iso</i> -Butylacrylat	0.458	0.029	3.54
1-Hexylacrylat	-0.235	0.038	7.53
2-Ethylhexylacrylat	0.207	0.047	9.61
Cyclohexylacrylat	0.255	0.038	8.01
1-Octylacrylat	1.001	0.048	10.78
Benzylacrylat	0.612	0.045	10.13
2-Phenylethylacrylat	0.092	0.045	12.05
2-Methoxyethylacrylat	-0.333	0.021	4.37
Dimethylethylaminoacrylat	0.021	0.031	8.54
β -Cyanoethylacrylat	-0.257	0.022	6.43
2-Chlorethylacrylat	-0.043	0.018	4.32
2-Bromethylacrylat	-0.274	0.018	5.61
2-Hydroxyethylacrylat	-1.091	0.012	4.55
1-Hexylmethacrylat	0.270	0.060	8.70
2-Phenylethylmethacrylat	0.801	0.069	14.40

3.3.2. Wassergehaltbestimmung

Der Wassergehalt wurde mittels KARL FISCHER Titration ermittelt. Hierbei wurde ein 831 KF Coulometer der Firma Metrohm verwendet und die entsprechende Probe dreifach vermessen mit einem Probenvolumen von etwa 10 μL .

3.3.3. Viskosität

Die Viskositäten für Cyclohexanol wurden mit einem RheoStress 1 von Thermo Scientific ermittelt. Dazu wurde der Mittelwert aus 10 Messungen bestimmt. Die Messwerte sind in Tabelle 3.2 zusammengefasst. Die Messungen wurden von Mahsa Sadeghi durchgeführt.

Tab. 3.2.: Ergebnisse der Viskositätsbestimmung.

Messung	η / mPa·s
1	44.11
2	54.16
3	54.37
4	54.45
5	54.48
6	54.52
7	54.56
8	54.60
9	54.66
10	54.82

3.4. Mikroreaktor

Die Bauteile des Mikroreaktors stammen von der Firma Ehrfeld Mikrotechnik. Als Reaktor wurde ein F200 Kartuschenreaktor ($V=2\text{ mL}$) verwendet, der mit einem Huber CC2 Thermostat verbunden wurde. Dieser Festbettreaktor ist am besten

geeignet für die sphärischen N435 Partikel. Zum Transport der Flüssigkeit wurde eine Knauer Azura P 2.1S HPLC Pumpe mit einem 10 mL Pumpenkopf genutzt.

3.5. Nelder-Mead-Algorithmus

Der Nelder-Mead-Algorithmus ist ein direktes Suchverfahren, welches basierend auf den Arbeiten von Spendley *et al.* 1965 entwickelt wurde.^[122,123] Neben dem Nelder-Mead-Algorithmus gibt es den Simplex-Algorithmus, welcher 1947 von George Dantzig entwickelt wurde und eine Möglichkeit zur Lösung linearer Optimierungsaufgaben bietet. Der Nelder-Mead-Algorithmus ist eine numerische Methode, um Optimierungsaufgaben an multidimensionalen Funktionen zu lösen. Verglichen mit anderen Gradientenmethoden ist der Nelder-Mead-Algorithmus nicht auf die Kenntnis der Ableitung der untersuchten Funktion angewiesen, sondern benötigt lediglich die Funktionswerte. Dies führt bis zu einem gewissen Grad zu einer Unempfindlichkeit gegenüber fehlerbehafteter Funktionswerte.^[124]

Der Simplex selbst ist eine geometrische Form, die durch $N+1$ Randpunkte im N -dimensionalen Raum definiert wird. Somit ergibt sich für eine Funktion f , die von den Variablen x und y abhängig ist, ein Dreieck als Simplex. Die Zunahme einer weiteren Variable würde in einem Tetraeder als Simplex resultieren. Das Ziel ist nun, das Minimum oder Maximum von f iterativ zu ermitteln. Hierzu wird das initiale Dreieck modifiziert, um die Funktion schrittweise abzusuchen, bis das Konvergenzkriterium erfüllt ist. Hierzu existieren vier Möglichkeiten Reflexion, Expansion, Kontraktion und Kompression. Der Simplex sei durch die Punkte a, b und c und die Funktionswerte $f(a)$, $f(b)$ sowie $f(c)$ definiert. Wird das Minimum gesucht, sei beispielhaft festgelegt $f(a) < f(b) < f(c)$. Der größte Wert wird als schlechtester Wert verworfen und gespiegelt. Ein Schema hierfür ist in Abbildung 3.6 dargestellt. Der daraus resultierende Punkt r wird nun evaluiert.

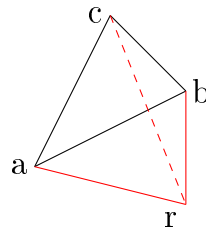


Abb. 3.6.: Reflexion des Simplex.

Im Fall $f(a) < f(r) < f(b) < f(c)$ wird der Punkt c durch r ersetzt und die Reflexion erneut durchgeführt. Dies ist in Abbildung 3.7 dargestellt. Im Fall $f(r) < f(a) < f(b) < f(c)$ erfolgt die Expansion zum Punkt e . Sollte $f(e)$ kleiner sein als $f(r)$, ersetzt e den Punkt c . Sollte $f(e)$ größer sein als $f(r)$, wird e verworfen und mit r anstelle von c weitergearbeitet.

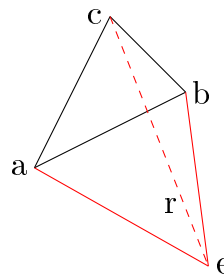


Abb. 3.7.: Expansion des Simplex.

Nun kann der Fall eintreten, dass $f(r)$ größer als $f(b)$ ist. In diesem Fall würde eine Reflexion lediglich dazu führen, dass erneut c als Spiegelung von r gefunden wird. Deshalb erfolgt in diesem Szenario die Kontraktion. Dabei werden zwei neue Punkte generiert k_1 und k_2 . Diese befinden sich bei dem 0.25- beziehungsweise 0.75-fachen der Streckenlänge $\vec{c\vec{r}}$. Dies ist in Abbildung 3.8 dargestellt. Die Funktionswerte $f(k_1)$ und $f(k_2)$ werden evaluiert. Für $f(k_i) < f(b)$ ersetzt der jeweilige Punkt k_i den Punkt c .

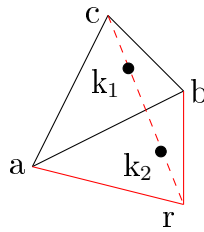


Abb. 3.8.: Kontraktion des Simplex.

Sollte keiner der Funktionswerte $f(k_i)$ $f(b)$ unterbieten, wird die Kompression durchgeführt. Dabei werden die Punkte b und c in Richtung a bewegt, sodass auf halber Strecke \vec{ca} und \vec{ba} die Punkte e_1 und e_2 erhalten werden. Dies ist in Abbildung 3.9 dargestellt. Die vier Methoden werden solange angewendet, bis das gesuchte Optimum erreicht ist.

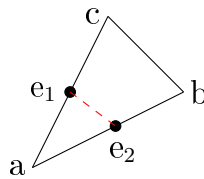


Abb. 3.9.: Kompression des Simplex.

4. Ergebnisse

4.1. Modifikation von N435 und *n*-Butylacrylatsynthese¹

Für die Modifikation von N435 wurde eine bereits existierende Methode von Iborra *et al.* zwecks einfacherer Handhabung modifiziert.^[125] Dabei wurden 1 g N435 und 0.3 g IL in einen Rundhalskolben gegeben und 30 mL Acetonitril (CH₃-CN) hinzugefügt. Die entstehende Suspension wird bei Raumtemperatur 30 min gerührt. Anschließend wird die Suspension filtriert und der Biokatalysator am Hochvakuum getrocknet. Aus dem am Rotationsverdampfer eingeeengten Filtrat wurde anschließend der Anteil der adsorbierten IL ermittelt.^[120] Die Ergebnisse sind in Tabelle 4.1 zusammengefasst.

Zunächst soll aufbauend auf den Arbeiten von Chrobok *et al.* die Synthese des *n*-Butylacrylats untersucht werden. Dazu wurden entsprechend der bereits beschriebenen Vorschrift die mit den ILs aus Kapitel 3 beschichteten Biokatalysatoren hergestellt und in der Veresterung von Acrylsäure und *n*-Butanol eingesetzt. Die Modellreaktion ist in Abbildung 4.1 dargestellt. Die Ergebnisse der Veresterung sind in Abbildung 4.2 dargestellt. Verglichen mit Chrobok *et al.* zeigt der unbeschichtete N435 Katalysator eine um 19% reduzierte Ausbeute unter vergleichbaren Reaktionsbedingungen. Die Ausbeute wurde mit zwei verschiedenen Chargen an N435 bestätigt.^[120] Somit scheint die Begründung für dieses Verhalten voraussichtlich in unterschiedlichen Reinheiten der verwendeten organischen Lösungsmittel zu liegen. Außerdem fällt auf, dass lediglich die ILs, die ein BF₄-Anion aufweisen, eine reduzierte Ausbeute bei der Veresterung zeigen.^[120] Dies gilt ebenfalls bei

¹Ein Teil dieser Ergebnisse wurde veröffentlicht in Literaturstelle 120.

4. Ergebnisse

dem Vergleich mit dem unbeschichteten Katalysator, wodurch eine Ausbeute von $55.4 \pm 2.5\%$ erreicht wurde. Dies wurde auch von Chrobok *et al.* beobachtet, die das entsprechende Anion mit einem Butylmethylimidazolium-Kation einsetzten. Für die Enzymaktivität von CaLB in ILs als Lösungsmittel wurde von Sheldon *et al.* ein positiver Effekt für schwach koordinierende Anionen, wie das PF_6^- - oder BF_4^- -Anion, nachgewiesen.^[126,127] Hier muss beachtet werden, dass diese Arbeiten oftmals unter Ausschluss von Wasser durchgeführt wurden. Wasserscheid *et al.* sowie weitere Quellen berichten von der Anfälligkeit des PF_6^- - und BF_4^- -Anions in Bezug auf die Hydrolyse, wodurch die Bildung von Flusssäure ermöglicht wird.^[58,128,129] Das Wasser kann als Nebenprodukt bei der Veresterung entstehen sowie als Verunreinigung in den Lösungsmitteln vorliegen. Da die Bulkphase äußerst unpolar ist, besteht das Risiko einer Akkumulation des Wassers am Katalysator, was den Kontakt mit der IL ermöglicht.^[41] Dadurch kann das Enzym irreversibel geschädigt werden.

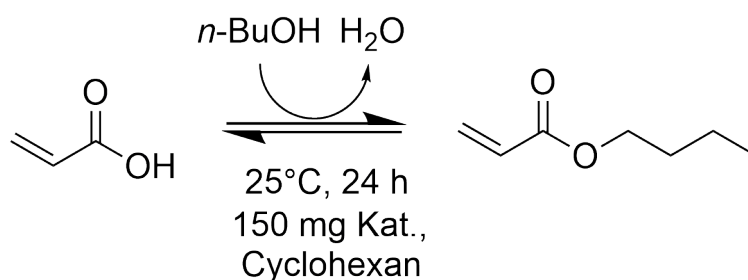


Abb. 4.1.: Reaktionsschema der enzymatischen Veresterung von *n*-Butanol mit Acrylsäure.

Tab. 4.1.: Ausbeuten mit Standardabweichung für die Veresterung von *n*-Butanol mit Acrylsäure in Abhängigkeit der genutzten IL zur Beschichtung und der Anteil der adsorbierten IL als Stoffmenge n bezogen auf die Masse von N435 sowie als Massenanteil ω .^[120]

IL	Ausbeute / %	n / $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$	ω / %
GMIM-I	67±2.0	86.3	3.225
GMIM-BF ₄	6.0±0.5	143.4	4.728
GMIM-OAc	64±2.7	141.1	4.302
GMIM-OMs	59±3.9	67.0	2.320
GMIM-OTf	61±1.9	68.8	2.731
GMIM-NTf ₂	64±2.8	88.7	4.568
GEIM-I	67±1.1	153.0	5.769
GBIM-I	64±1.2	141.9	5.729
GOIM-I	63±0.5	47.0	2.225
MeGMIM-I	58±0.3	110.1	4.502
EMIM-I	55±3.0	57.9	1.359
EMIM-BF ₄	44±1.4	73.2	1.428
EMIM-NTf ₂	60±0.7	62.4	2.382
HO-EMIM-I	67±1.1	76.1	1.896
HO-EMIM-NTf ₂	67±1.2	68.0	2.694

Bei der Betrachtung der anderen EMIM-basierten ILs fällt auf, dass diese keinen beziehungsweise nur einen marginalen Effekt auf die Ausbeute haben.^[120] Die hydroxy-funktionalisierten EMIM ILs zeigen den bisher größten Effekt auf die Ausbeute durch eine Zunahme von 12%. Auffällig ist, dass mit beiden Verbindungen eine nahezu identische Ausbeute erzielt wird, trotz der strukturellen Differenzen zwischen dem Halogen- und dem schwach koordinierenden NTf₂-Anion. Die Wahl des Anions scheint eine untergeordnete Rolle zu spielen, während die Präsenz einer Hydroxygruppe im Kation signifikant ist, um die Ausbeute zu erhöhen.^[120]

Ein ähnlicher Trend zeigt sich für die untersuchten CHILs. Mit Ausnahme der Verbindung, die ein BF₄-Anion enthält, zeigen alle weiteren CHILs einen posi-

ven Einfluss auf die Ausbeute. Der negative Einfluss des BF_4 -Anions ist hier sogar noch deutlicher zu sehen, verglichen mit EMIM-BF_4 . Ebenfalls ist festzuhalten, dass die Ergebnisse der CHILs nah beieinander liegen. Dies ist ein weiteres Indiz in Hinblick auf die Theorie des weniger relevanten Anions sowie ein Argument, welches die Bedeutung der Hydroxygruppe im Kation bekräftigt. Gleichzeitig ist festzuhalten, dass die Quantität eben jener Hydroxygruppen nicht mit der Ausbeute korreliert. GMIM-I mit drei Hydroxygruppen erzielt nahezu dieselbe Ausbeute wie die HO-EMIM ILs.

Da GMIM-I die höchste Ausbeute von 67% erreichte, erfolgten die weiteren Modifikationen an diesem CHIL System. Zunächst soll die Relevanz freier Hydroxygruppen untersucht werden. Wird die Möglichkeit zur Wasserstoffbrückenbildung am Beispiel von MeGMIM entfernt, ist der positive Effekt auf die Ausbeute minimal und sehr nahe am Wert des unbeschichteten N435 Katalysators. Im Folgenden soll der Einfluss des hydrophoben Charakters untersucht werden. Dazu werden Alkylketten unterschiedlicher Länge von Ethyl (GEIM) über Butyl (GBIM) und Octyl (GOIM) durch die entsprechenden Alkylimidazole am IL Gerüst eingebaut. Der ethylsubstituierte Heterozyklus zeigt eine identische Ausbeute zu GMIM-I. Hierbei muss beachtet werden, dass diese Verbindung ein stark erhöhten IL-Anteil pro Gramm N435 von $153.0 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ aufweist, verglichen mit den HO-EMIM ILs und GMIM-I, die Werte zwischen 68.0 und $86.3 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ vorweisen. Der Effekt von GEIM-I kann somit auch auf der Menge an IL basieren, die sich auf dem Katalysator befindet.^[120] Die weitere Verlängerung der Alkylkette am Imidazoliumring führt zu einer reduzierten Ausbeute von 64% beziehungsweise 63%. Abschließend kann hier als beste CHIL GMIM-I angeführt werden, da neben den bereits erwähnten Gründen im Vergleich zu GEIM-I die größere Ausbeute bei der Herstellung erzielt werden kann.

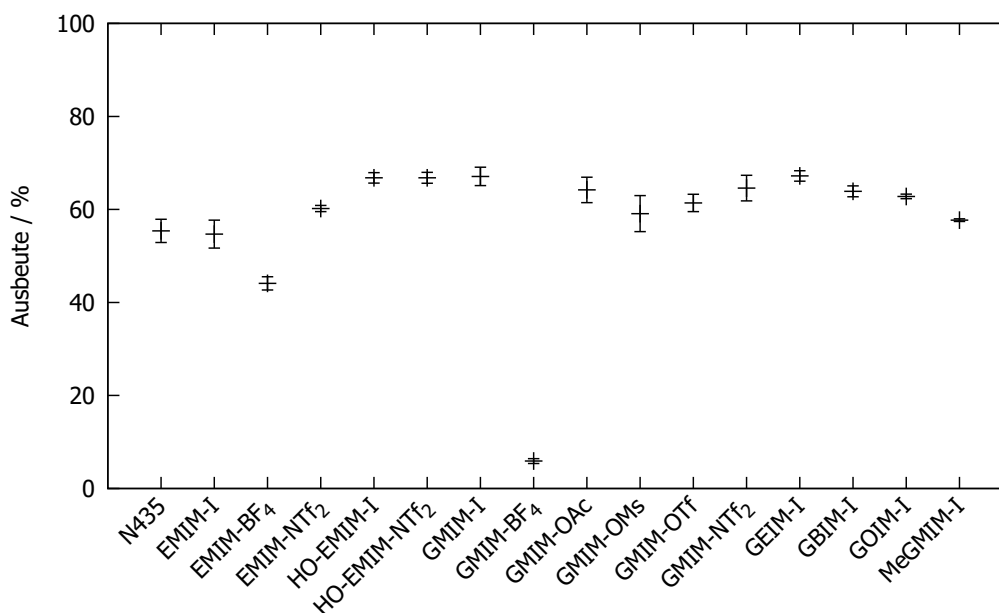


Abb. 4.2.: Ausbeuten für *n*-Butylacrylat aus der Veresterung von Acrylsäure und *n*-Butanol mit beschichtetem sowie unbeschichtetem N435 Katalysator. Reaktionsbedingungen: 1 mL Reaktionsvolumen mit Acrylsäure (1 M, 1 mmol, 68.6 μ L), *n*-Butanol (2 M, 2 mmol, 183 μ L) und Cyclohexan (748 μ L), 150 mg Katalysator, 25 °C, 24 h.

4.2. Recycling des Katalysators²

Im Folgenden ist die Frage zu stellen, ob es der Synthese neuer ILs mit Kohlenhydratbaustein bedarf, wenn kommerziell erwerbliche ILs denselben positiven Effekt auf die Ausbeute erreichen. Hierbei ist unter anderem zu beachten, ob der positive Effekt bei wiederholtem Einsatz des Katalysators erhalten bleibt. Dies ist ebenfalls ein wichtiger Punkt, damit Biokatalysatoren mit konventionellen Katalysatoren konkurrieren können. Aus diesem Grund wurden HO-EMIM-NTf₂ und GMIM-I als beste ILs zur Beschichtung ausgewählt und dieser Studie unterzogen. Die Katalysatoren wurden nach 24 h Reaktionszeit abfiltriert und am Hochvakuum

²Ein Teil dieser Ergebnisse wurde veröffentlicht in Literaturstelle 120.

vor dem nächsten Einsatz getrocknet. Die Ergebnisse der Rezyklierung sind in der Abbildung 4.3 dargestellt. Dies wurde zusätzlich um N435 sowie den Literaturwerten einer Glucose-IL aus den Arbeiten von Chrobok *et al.* erweitert, die ebenfalls mehrfach eingesetzt wurde und dabei am Besten abschnitt. Letztere zeigt dabei die höchste Initialaktivität, jedoch fällt die Ausbeute nach fünf Einsätzen auf etwa 40% ab. Dies wurde mit der chemischen Deaktivierung des Enzyms sowie der Desorption des Enzyms vom Trägermaterial erklärt.^[112] Die Desorption wurde von Chrobok *et al.* mittels Thermogravimetrie bestätigt. Ein ähnliches Verhalten zeigt N435, dass dreimal verwendet wurde ohne merklichen Verlust an Aktivität. Danach beginnt die erzielte Ausbeute graduell zu sinken. Dieser Verlust konnte nicht durch die Beschichtung mit HO-EMIM-NTf₂ verhindert werden, wo ebenfalls ein stetiger Abfall der Ausbeute zu verzeichnen ist. Jedoch liegt die Ausbeute für jede Messreihe über dem entsprechenden Wert von N435. Hier zeigt GMIM-I ein abweichendes Verhalten. Die anfängliche Ausbeute kann nahezu ohne Aktivitätsverlust gehalten werden.^[120] Dies verdeutlicht die Vorreiterstellung von GMIM-I aller getesteten ILs in dieser Arbeit, jedoch bedarf es hier weiterer Arbeiten, um dieses Verhalten besser zu verstehen. Zudem kann die Rezyklierbarkeit bei anderen CHILs möglicherweise über noch mehr Zyklen unverändert bestehen bleiben, verglichen mit GMIM-I. Dies wurde im Rahmen dieser Arbeit nicht untersucht.

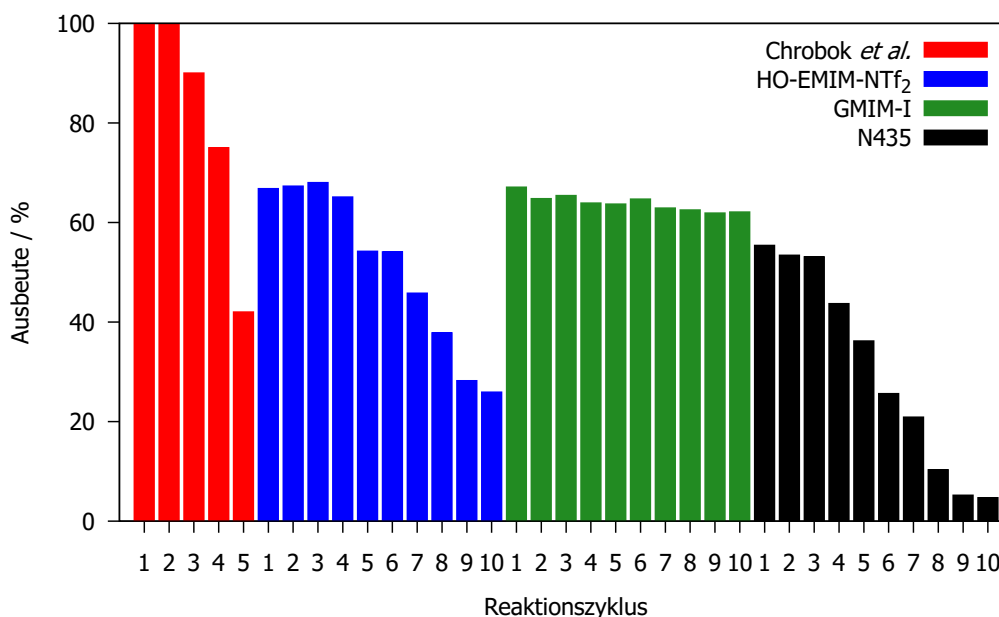


Abb. 4.3.: Ausbeuten für *n*-Butylacrylat aus der Veresterung von Acrylsäure und *n*-Butanol mit wiederholt eingesetztem Katalysator. Reaktionsbedingungen: Acrylsäure (1 mmol, 68.6 μ L), *n*-Butanol (2 mmol, 183 μ L) und Cyclohexan (1000 μ L), 150 mg Katalysator, 25 °C, 24 h (rot) beziehungsweise 1 mL Reaktionsvolumen mit Acrylsäure (1 M, 1 mmol, 68.6 μ L), *n*-Butanol (2 M, 2 mmol, 183 μ L) und Cyclohexan (748 μ L), 150 mg Katalysator, 25 °C, 24 h (blau, grün, schwarz).

Die Möglichkeit zur Desorption des Enzyms besteht auch bei N435, jedoch ist diese Problematik eher bei höheren Temperaturen präsent.^[41] Chemische Deaktivierung kann ebenfalls nicht ausgeschlossen werden. Zusätzlich muss beachtet werden, dass Wasser als Nebenprodukt bei der Veresterung entsteht. Condoret *et al.* stellten bei der Veresterung von Ölsäure mit Ethanol fest, dass das entstehende Wasser am Trägermaterial des Biokatalysators adsorbiert wird, wodurch die Enzymaktivität verringert wird.^[130] Durch die Wahl eines hydrophoben Lösungsmittels wie *n*-Hexan wird dies, aufgrund der geringen Löslichkeit von Wasser in *n*-Hexan, begünstigt.^[130] Da in dieser Arbeit ein vergleichbar hydrophobes Lösungsmittel eingesetzt wurde, ist das Zurückhalten des Wassers am Trägermaterial

auch hier ein Problem. Einerseits führt dies in direkter Nachbarschaft zum Enzym zu einer hohen Wasserkonzentration beziehungsweise -aktivität, die die Notwendigkeit des strukturellen Wassers, welches zur Enzymstabilisierung benötigt wird, um ein Vielfaches überschreitet. Dies führt wie bereits beschrieben zu einer Verringerung der Enzymaktivität. Andererseits kann durch diese lokale Wasserphase die Akkumulation von hydrophilen Reaktionspartnern, wie der in dieser Arbeit verwendeten Acrylsäure, erfolgen, was die Deaktivierung des Enzyms als Konsequenz nach sich zieht.^[41] Aus Abbildung 4.3 lässt sich ableiten, dass durch die Vielzahl an Hydroxygruppen bei GMIM-I das Risiko einer Wasserakkumulation anscheinend verringert wird. Die Wasserbildung konkurriert mit der Diffusion in die Bulkphase, wobei erstere der schnellere Prozess ist.^[41] Die Rolle der CHIL kann dabei möglicherweise mit der eines *scavenger*-Materials verglichen werden, wodurch der Diffusionsschritt entscheidend beeinflusst und somit die Langlebigkeit des Biokatalysators erhöht wird. Für zukünftige Arbeiten wäre es interessant, die Fähigkeit der ILs, Wasser zu absorbieren, untereinander zu vergleichen, um Aussagen darüber zu treffen, ob die Vielzahl an Hydroxygruppen hier von Bedeutung ist. Oliveira *et al.* nutzten hierzu die Infrarotspektroskopie, um die Menge an gebundenem Wasser an verschiedenen Butylmethylimidazolium ILs zu ermitteln. Diese Methode ist der Karl Fischer Titration überlegen, da sie die *in-situ* Bestimmung des Wassergehalts ermöglicht.^[131]

Eine schematische Darstellung eines weiteren möglichen Reaktionsmechanismus ist in Abbildung 4.4 dargestellt. Diese ist eine adaptierte Darstellung entsprechend der Arbeit von Lozano *et al.*, die sich mit der Umesterung ausgewählter Vinylester mit Citronellol beschäftigt. Dabei wurde ebenfalls der N435 Katalysator verwendet, welcher mit Imidazolium-basierten ILs beschichtet wurde. Durch die Bestimmung des Verteilungskoeffizienten des Citronellolsubstrats sowie des Citronellylprodukts konnte bewiesen werden, dass die zusätzliche IL-Schicht Massentransferlimitierungen überwinden kann, indem der Transport des Substrats aus der Bulkphase und des Produkts in die Bulkphase beschleunigt wird.^[132]

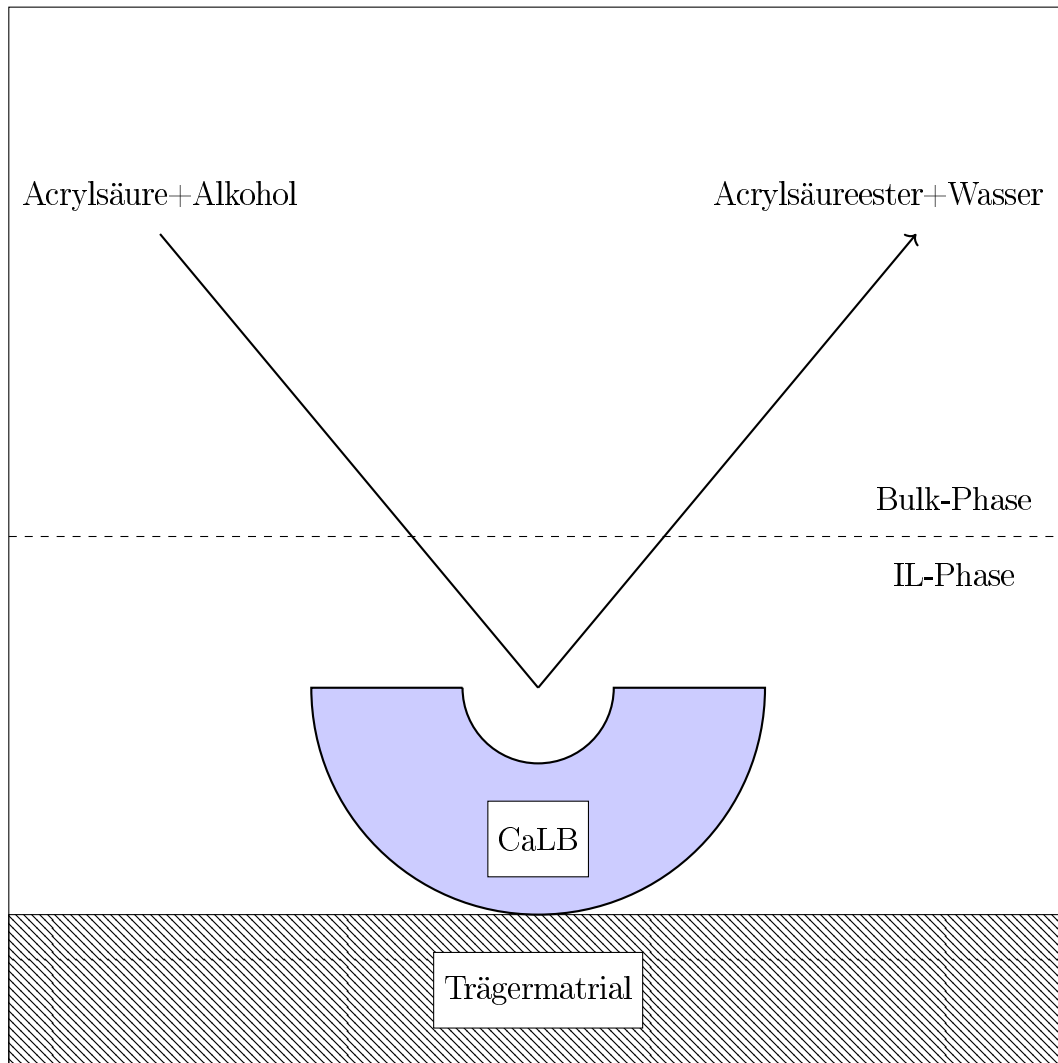


Abb. 4.4.: Schematische Darstellung des Reaktionskonzepts.

In Kooperation mit der Arbeitsgruppe von Prof. Speller konnte der kommerziell erwerbliche N435 und der GMIM-I beschichtete Katalysator mithilfe von Raster-elektronenaufnahmen untersucht werden. Die Aufnahmen sind in der Abbildung 4.5 dargestellt. Es konnte bewiesen werden, dass durch das modifizierte Beschichtungsverfahren eine zusätzliche IL-Schicht auf dem Trägermaterial erzeugt wurde. Dabei ist ebenfalls festzuhalten, dass lokal größere Mengen IL adsorbiert sind, die

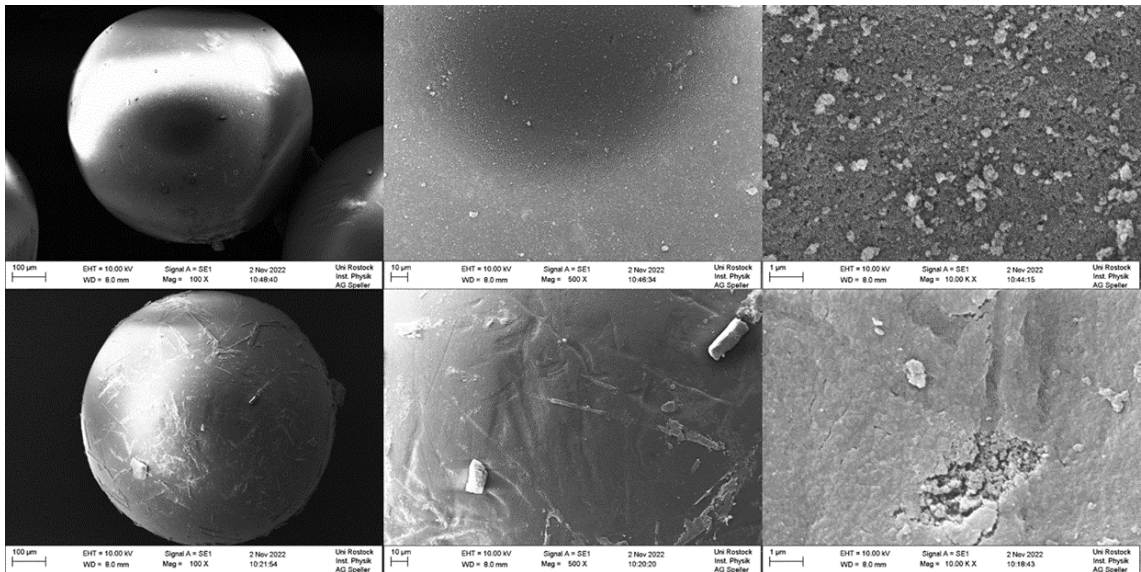


Abb. 4.5.: Rasterelektronenaufnahmen der Biokatalysatoren in zunehmenden Zoom-Stufen von links nach rechts. In der oberen Reihe ist der unbeschichtete N435 Katalysator und in der unteren Reihe der GMIM-I beschichtete Katalysator zu sehen.

sichtbar erhaben vorliegen. Bei dem direkten Vergleich zwischen unbeschichtetem und beschichtetem Katalysator in der größten Vergrößerung fällt auf, dass die porösen Zugänge teilweise durch die IL überlagert werden.^[133] Darüber hinaus ist die Auflösung der Aufnahmen der GMIM-I beschichteten Partikel höher.^[133] Dies ist auf die gesteigerte Wechselwirkung mit dem Elektronenstrahl zurückzuführen.

4.3. Optimierung der *n*-Butylacrylat Synthese³

Um die Anwendbarkeit des beschichteten N435 Katalysators weiter zu untersuchen, soll eine größere Anzahl von aliphatischen als auch aromatischen Alkoholen verestert werden. Zuvor soll jedoch die Umsetzung von *n*-Butanol weiter untersucht werden, da die bisher genutzten Reaktionsbedingungen lediglich aus der Arbeit von Chrobok *et al.* übernommen wurden. Zunächst wurde die Reaktionsdauer genauer

³Ein Teil dieser Ergebnisse wurde veröffentlicht in Literaturstelle 133.

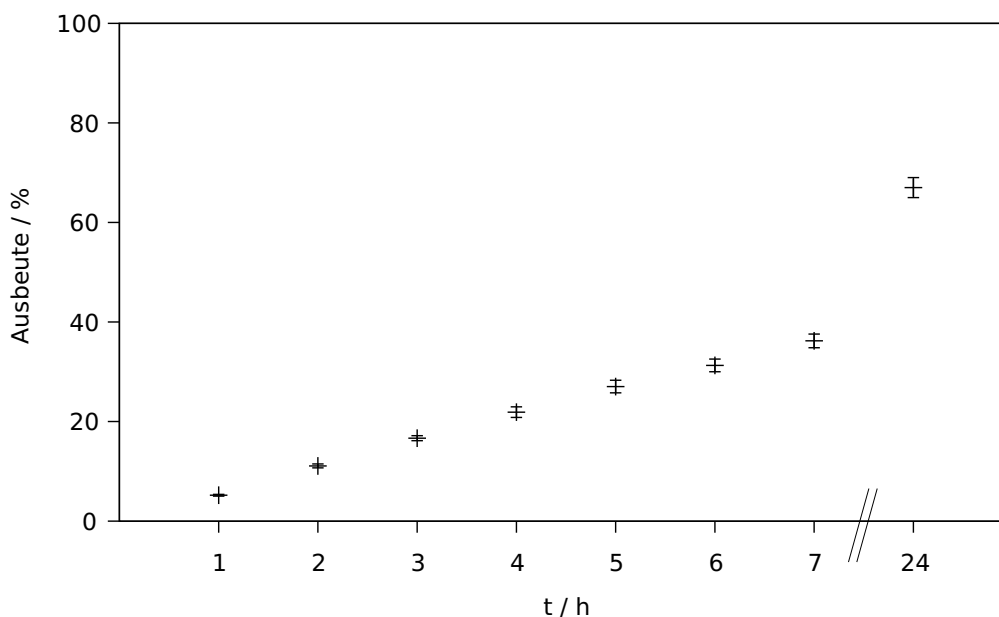


Abb. 4.6.: Ausbeuten für *n*-Butylacrylat aus der Veresterung von Acrylsäure und *n*-Butanol als Funktion der Zeit t . Reaktionsbedingungen: 1 mL Reaktionsvolumen mit Acrylsäure (1 M, 1 mmol, 68.6 μ L), *n*-Butanol (2 M, 2 mmol, 183 μ L) und Cyclohexan (748 μ L), 150 mg Katalysator, 25 °C, 24 h.

untersucht. Die Ergebnisse sind in Abbildung 4.6 dargestellt. Es wird ersichtlich, dass die Ausbeute einen linearen Zusammenhang mit der Zeit zeigt. Nach sieben Stunden wurde das Gleichgewicht jedoch nicht erreicht, sodass die Reaktionsdauer von 24 h weiterhin beibehalten wurde. Im Folgenden wurde die eingesetzte Menge an Katalysator variiert. In Abbildung 4.7 sind die Ergebnisse des Screenings dargestellt. Es ist festzuhalten, dass die Menge an GMIM-I beschichtetem N435 auf 100 mg reduziert werden kann, ohne einen merklichen Verlust an Ausbeute zu beobachten. Wird die Menge weiter reduziert, sinkt die Ausbeute proportional zur Katalysatormasse.

4. Ergebnisse

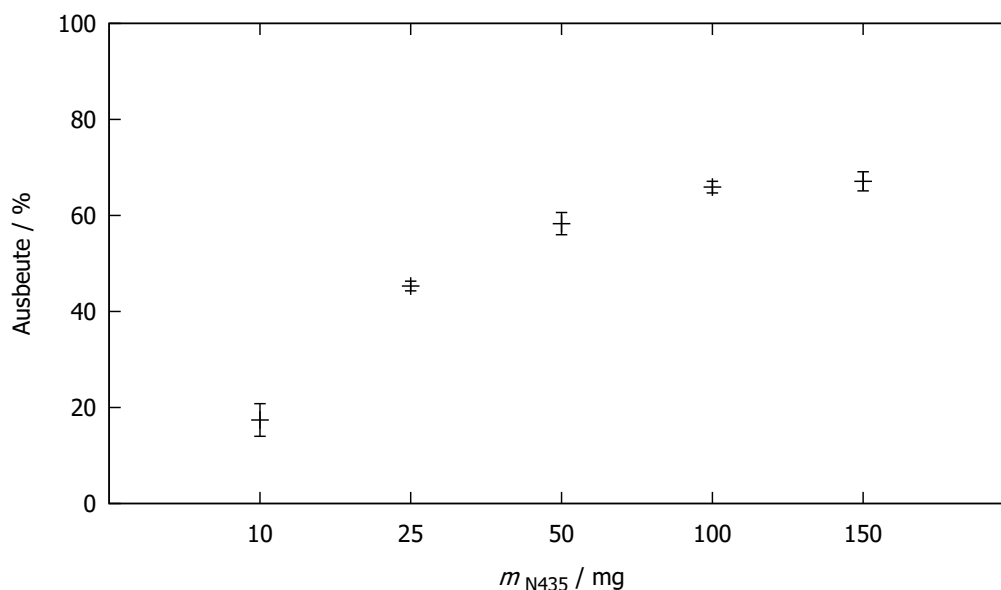


Abb. 4.7.: Ausbeuten für *n*-Butylacrylat aus der Veresterung von Acrylsäure und *n*-Butanol mit verschiedenen Mengen an mit GMIM-I beschichtetem Katalysator m_{N435} . Reaktionsbedingungen: 1 mL Reaktionsvolumen mit Acrylsäure (1 M, 1 mmol, 68.6 μ L), *n*-Butanol (2 M, 2 mmol, 183 μ L) und Cyclohexan (748 μ L), 25 °C, 24 h.

Folgend wurde die Veresterung von *n*-Butanol in Lösungsmitteln unterschiedlicher Polarität getestet. Dabei ist Cyclohexan das unpolarste Lösungsmittel während CH₃-CN das Lösungsmittel mit der höchsten Polarität darstellt. Die Ergebnisse dieses Screenings sind in Abbildung 4.8 dargestellt. Hier fällt auf, dass der Reaktionsfortschritt mit der Polarität des Lösungsmittels korreliert, je polarer desto geringer fällt die Ausbeute aus.^[133] Diese Ergebnisse decken sich mit der enzymatischen Veresterung von 1-Octanol, wo hydrophobe Lösungsmittel wie Cyclohexan, Toluol und Isooktan die besten Ergebnisse erzielten.^[105] Auffällig ist, dass sich kein eindeutiger Trend bei dem Wassergehalt der einzelnen Lösungsmittel erkennen lässt.^[133] Dabei muss beachtet werden, dass die Wasseraktivität hier mehr Aussagekraft hat. Hier wäre zu erwarten, dass hydrophobe Lösungsmittel wie Cyclohexan trotz des geringen Wassergehalts eine höhere Wasseraktivität als CH₃-

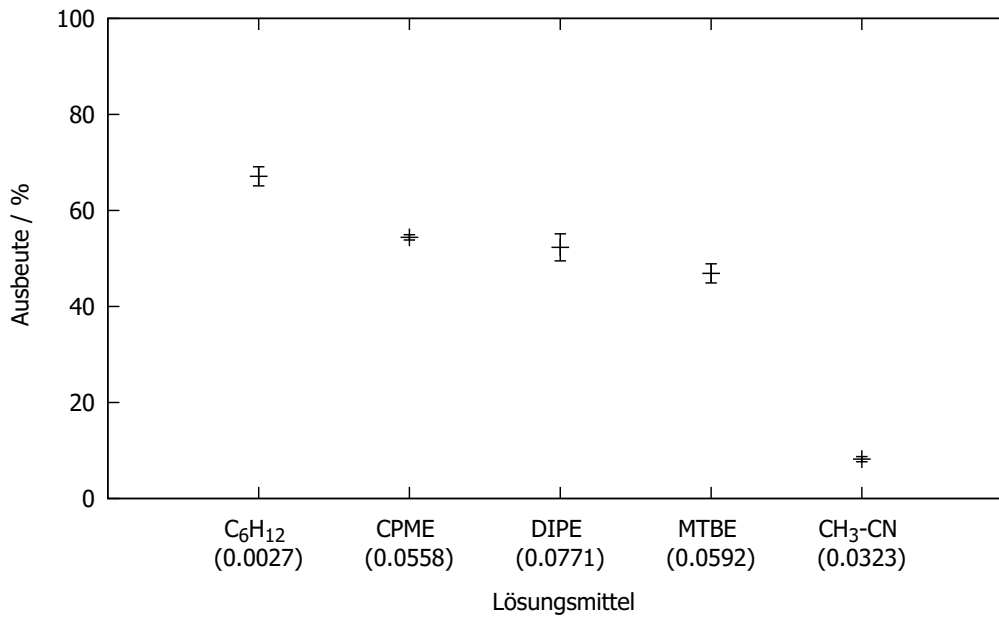


Abb. 4.8.: Ausbeuten für *n*-Butylacrylat aus der Veresterung von Acrylsäure und *n*-Butanol in verschiedenen Lösungsmitteln. Der Wassergehalt in % ist in Klammern angegeben. Reaktionsbedingungen: 1 mL Reaktionsvolumen mit Acrylsäure (1 M, 1 mmol, 68.6 μ L), *n*-Butanol (2 M, 2 mmol, 183 μ L) und Cyclohexan (748 μ L), 25 °C, 24 h.

CN aufweisen.^[133] Dies ist mit der schlechten Löslichkeit von Wasser in hydrophoben Lösungsmitteln zu begründen, aufgrund der repulsiven Wechselwirkungen zwischen den beiden Lösungsmitteln. Der wichtigste Unterschied zwischen der Arbeit von Chrobok *et al.* und der hier präsentierten enzymatischen Veresterung durch N435 ist das Trägermaterial des Katalysators. Gerade die Morphologie des Materials beeinflusst, wieviel Enzym adsorbiert werden kann. Deshalb ist ein direkter Vergleich der beiden Systeme schwierig, was dazu motiviert, die bereits untersuchten Reaktionsparameter neu zu evaluieren. Die Ergebnisse dieses Vergleichs sind in Tabelle 4.2 zusammengefasst. Es fällt auf, dass der beschichtete N435 Katalysator in der Lage ist, größere Konzentrationen an *n*-Butanol beziehungsweise Acrylsäure besser zu tolerieren als die mit CaLB beschichteten Kohlenstoffnanoröhren. Gleichzeitig ist ersichtlich, dass ein achtfacher Überschuss der Alkoholkomponente

Tab. 4.2.: Ausbeuten für *n*-Butylacrylat aus der Veresterung von Acrylsäure und *n*-Butanol aus den Arbeiten von Chrobok *et al.* und mit dem beschichteten N435 Katalysator.

Molares Verhältnis Alkohol:Acrylsäure	Ausbeute Literatur ^[112] / %	Ausbeute GMIM-I-N435 / %
1	92	71±1.6
2	99	67±1.9
4	42	74±1.3
8	23	64±1.5
10	17	45±2.2

für beide Systeme nicht mehr angemessen ist. In der Literatur wird zudem für die *n*-Butylacrylatsynthese beschrieben, dass durch den Einsatz von *n*-Butanol im Überschuss die Bildung des Dibutylethers begünstigt wird.^[133,134] Gleichzeitig sind die bisherigen Reaktionsbedingungen für biokatalytische Prozesse vergleichsweise ungewöhnlich. Gerade die hohe Acrylsäurekonzentration kann das Enzym protonieren, wodurch die Aktivität maßgeblich herabgesetzt wird.^[133,135] Grundsätzlich wäre es wünschenswert, die höchstmögliche Ausbeute zu erzielen und dabei mit dem geringsten Volumen an Alkohol zu arbeiten. In Hinblick auf die nachfolgende Aufarbeitung des Reaktionsgemisches wird deutlich, dass Alkohol und Produkt oftmals ähnliche Siedepunkte aufweisen werden, sodass eine Trennung durch Destillation sich als äußerst aufwendig gestalten wird.^[136]

Im Folgenden wurden die Experimente für verschiedene Substratkonzentrationen wiederholt. In der Abbildung 4.9 sind die Ergebnisse dargestellt, wobei der Mittelwert aus drei individuellen Messungen für das jeweilige Feld verwendet wurde. Dies gilt für alle in dieser Arbeit gezeigten Kontur-Grafiken. Die Ausbeuten beziehen sich stets auf die Acrylsäure. Die bereits angesprochenen Probleme der Substratinhibierung sind hier ebenfalls für $C_{\text{Acrylsäure}}=750$ mM zu beobachten. Erst bei der niedrigsten untersuchten Konzentration von $C_{\text{Acrylsäure}}=100$ mM kann der vollständige Umsatz der Acrylsäure erreicht werden bei einem moderaten Überschuss an *n*-Butanol. Für das folgend präsentierte Substratscreening wird das Konzept

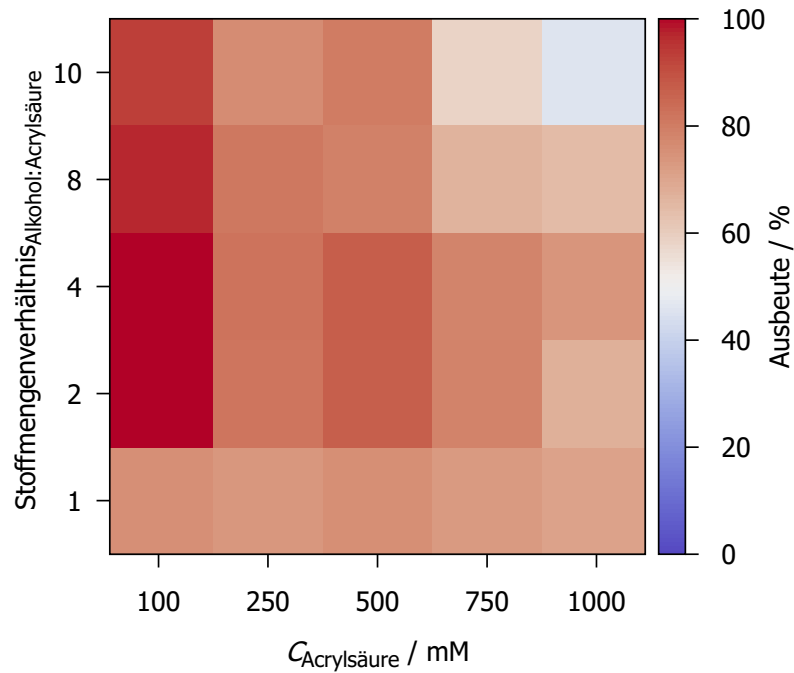


Abb. 4.9.: Ausbeuten für *n*-Butylacrylat aus der Veresterung von Acrylsäure und *n*-Butanol für verschiedene Substratkonzentrationen $C_{\text{Acrylsäure}}$ sowie Stoffmengenverhältnisse von Alkohol zu Säure in Cyclohexan.

variabler Konzentrationen beibehalten, jedoch kleinere Volumina des jeweiligen Alkohols eingesetzt. Letzteres äußert sich in Stoffmengenverhältnissen von Alkohol zu Säure, die von eins bis fünf reichen, um nach Möglichkeit vollständigen Umsatz zu generieren. Die gezeigten Ausbeuten beziehen sich auf die Acrylsäure. Für Kapitel 4.4.4 beziehen sich die Ausbeuten auf die Methacrylsäure. Alle Ergebnisse sind numerisch inklusive Standardabweichung im Anhang beigefügt.

4.4. Substratspektrum⁴

4.4.1. Aliphatische Alkohole

Zu Beginn erfolgt die Untersuchung kurzkettiger Alkohole von Methanol und Ethanol, wobei die Ergebnisse den Abbildungen 4.10 beziehungsweise 4.11 entnommen werden können. Hier muss im Vorfeld auf eine Modifikation der Reaktionsbedingungen hingewiesen werden, denn anstelle von Cyclohexan wurde CPME als Lösungsmittel in beiden Fällen verwendet. Dies hatte verschiedene Gründe. Bei Methanol ist dies mit der fehlenden Mischbarkeit des polaren Alkohols mit dem hydrophoben Medium zu begründen.^[133] Im Fall von Ethanol konnte in Cyclohexan keine ausreichende Peaktrennung in der Gaschromatographie (GC) erreicht werden, um den Produktpeak adäquat zu integrieren, obwohl zahlreiche Temperaturprogramme als auch unterschiedliche Methoden zur Probennahme getestet wurden.^[133]

Für Methylacrylat ließ sich die Acrylsäure im niedrigen Konzentrationsbereich nahezu vollständig umsetzen mit Ausbeuten über 97%, wenn der höchste Methanolüberschuss eingesetzt wird. Im Allgemeinen ist festzuhalten, dass für 100 und 250 mM Substratkonzentration $C_{\text{Acrylsäure}}$ eine höhere Ausbeute erzielt wird, wenn eine größere Methanolkonzentration vorliegt. Dies ist ein unerwartetes Ergebnis, da Methanol bekannt dafür ist, die enzymatische Aktivität zu beeinträchtigen.^[133,137] Im Konzentrationsbereich ab 500 mM konnten zumeist Ausbeuten im Bereich von 80% erreicht werden, sobald Methanol mehr als äquimolar zugesetzt wurde. Auch hier findet sich ein weiteres Maximum bei 1000 mM und hohem Methanolüberschuss von 86 beziehungsweise 85%.

⁴Ein Teil dieser Ergebnisse wurde veröffentlicht in Literaturstelle 133.

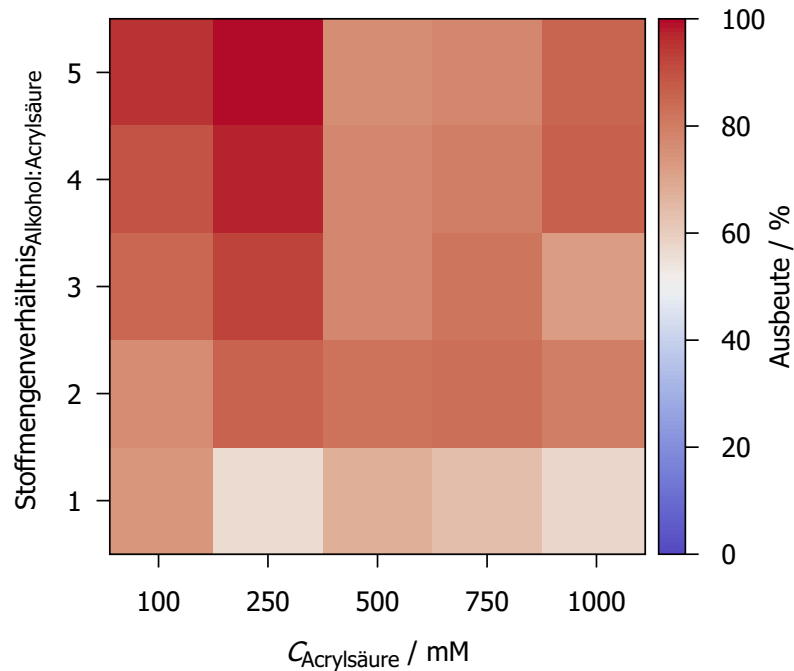


Abb. 4.10.: Ausbeuten für Methylacrylat aus der Veresterung von Acrylsäure und Methanol für verschiedene Substratkonzentrationen $C_{\text{Acrylsäure}}$ sowie Stoffmengenverhältnisse von Alkohol zu Säure in CPME.

Ein vergleichbares Bild zeigt sich für Ethanol. Ein Maximum findet sich wie bei Methanol bei 250 mM und hohem Ethanolüberschuss, während das globale Maximum von 74% bei 750 mM und zweifachem Ethanolüberschuss gefunden wurde. Im Unterschied zu Methanol fällt auf, dass generell deutlich niedrigere Ausbeuten vorgefunden werden. Da bei Methanol und Ethanol nicht von signifikanten Unterschieden in Hinblick auf Sterik und Polarität gesprochen werden kann, muss sich die Datenlage anderweitig erklären lassen. Dazu wurde der Wassergehalt der beiden Lösungsmittel bestimmt. Dieser beträgt 0.21 % für Ethanol und ist damit mehr als doppelt so groß wie der von Methanol mit 0.09 %. Da bei der Veresterungsreaktion Wasser als Nebenprodukt entsteht, sinkt die mögliche Ausbeute hier aus thermodynamischen Gründen, aufgrund der initial größeren Wasserkonzentration.^[133] Es ist zudem zu erwarten, dass durch die Verwendung von Cyclohexan die Ausbeute

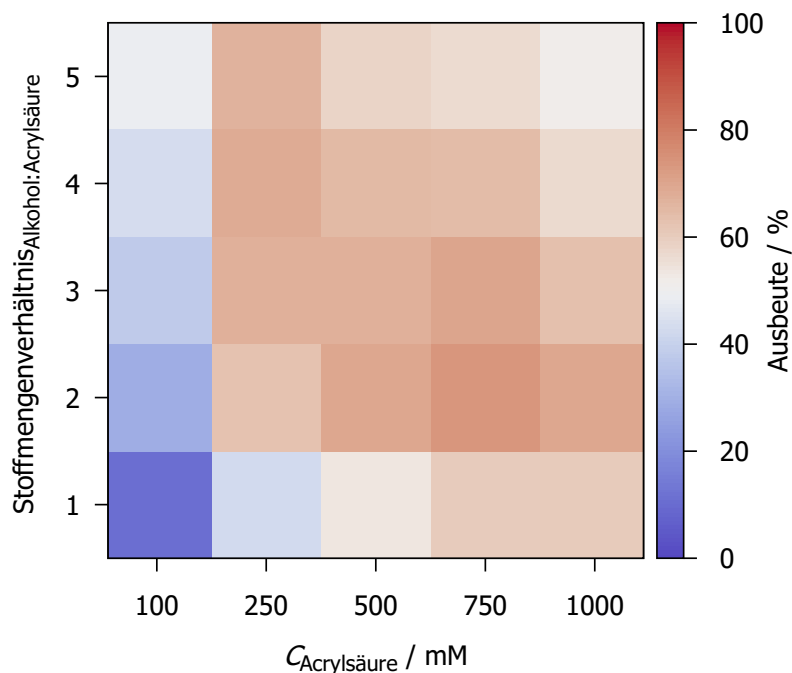


Abb. 4.11.: Ausbeuten für Ethylacrylat aus der Veresterung von Acrylsäure und Ethanol für verschiedene Substratkonzentrationen $C_{\text{Acrylsäure}}$ sowie Stoffmengenverhältnisse von Alkohol zu Säure in CPME.

positiv beeinflusst werden kann. Hier müssten die Experimente wiederholt werden, um sie mit einer anderen GC-Säule zu analysieren.

Um den Einfluss der Sterik weiter zu untersuchen, wurden zwei Isomere von *n*-Butanol ausgewählt. Neben dem linearen *n*-Butanol wurden *sec*- und *iso*-Butanol enzymatisch verestert, wobei die Ergebnisse in Abbildung 4.12 beziehungsweise 4.13 dargestellt sind. Für *sec*-Butanol konnten bei der geringsten Konzentration Ausbeuten über 99% für alle Stoffmengenverhältnisse bis auf fünf erzielt werden.^[133] Bei 250 mM konnten die sehr guten Ausbeuten ebenfalls erreicht werden. Für 500 mM konnte noch bei zweifachem Alkoholüberschuss eine Ausbeute von 96% generiert werden. Wird die Substratkonzentration weiter erhöht, sinken die Ausbeuten, wobei für die größte Substratkonzentration für einen Großteil der Experimente Ausbeuten über 70% erreicht wurden. Bei der Betrachtung der Er-

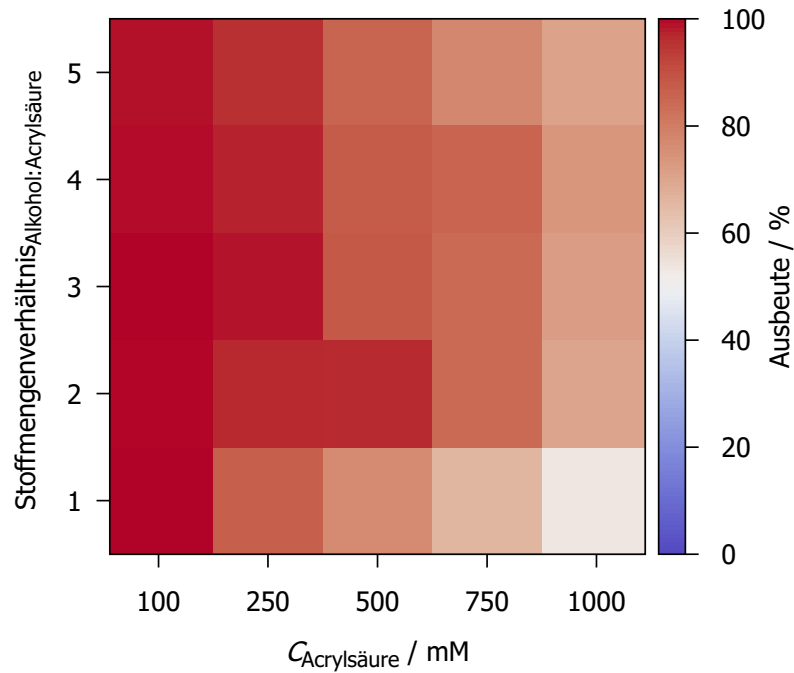


Abb. 4.12.: Ausbeuten für *sec*-Butylacrylat aus der Veresterung von Acrylsäure und *sec*-Butanol für verschiedene Substratkonzentrationen $C_{\text{Acrylsäure}}$ sowie Stoffmengenverhältnisse von Alkohol zu Säure in Cyclohexan.

gebnisse von *iso*-Butanol fällt auf, dass die sehr hohen Ausbeuten im niedrigen Konzentrationsbereich mit nahezu vollständigem Umsatz des *sec*-Isomers nicht beobachtet werden konnten. Im Gegenzug wurde für jeden getesteten Parametersatz stets eine Ausbeute über 80% ermittelt. Die Substratpräferenz von CaLB für vorrangig primäre sowie sekundäre Alkohole wurde von Kirk *et al.* nachgewiesen.^[47,133] Eine biokatalytische Veresterung von *tert*-Butanol erfolgte nicht, da dieses Isomer bekannt dafür ist, sterisch zu anspruchsvoll zu sein, um mithilfe konventioneller Enzyme umgesetzt zu werden.^[47,133,138]

4. Ergebnisse

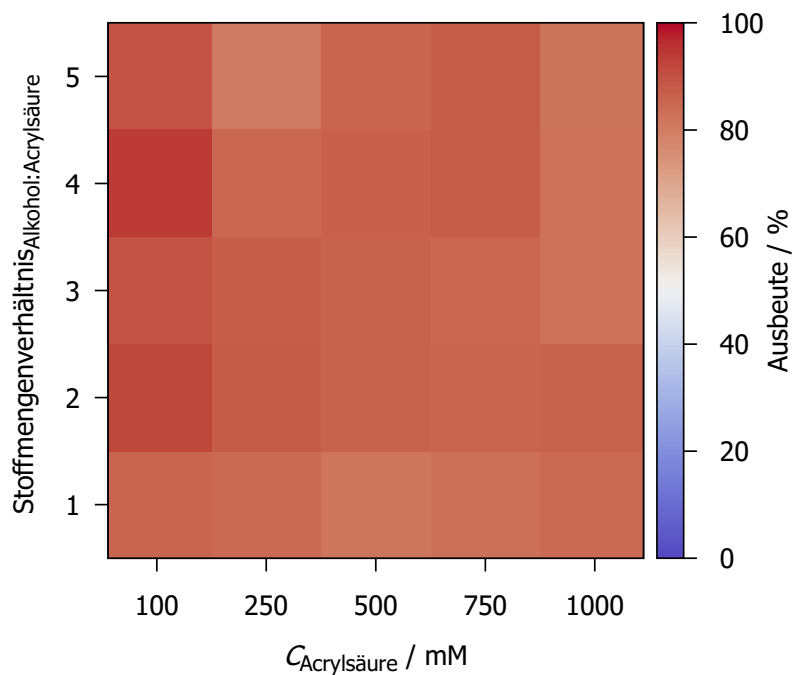


Abb. 4.13.: Ausbeuten für *iso*-Butylacrylat aus der Veresterung von Acrylsäure und *iso*-Butanol für verschiedene Substratkonzentrationen $C_{\text{Acrylsäure}}$ sowie Stoffmengenverhältnisse von Alkohol zu Säure in Cyclohexan.

Folgend wurden 1-Hexanol als weiteres lineares sowie 2-Ethylhexanol als verzweigtes Substrat untersucht. Wie in Abbildung 4.14 zu sehen ist, konnte 1-Hexanol äußerst erfolgreich umgesetzt werden. Die Hälfte der durchgeführten Experimente zeigt vollständigen Umsatz, während eine Vielzahl der verbleibenden Experimente Ausbeuten über 90% aufweisen. Selbst für 1000 mM konnte eine Ausbeute von 96% erreicht werden.

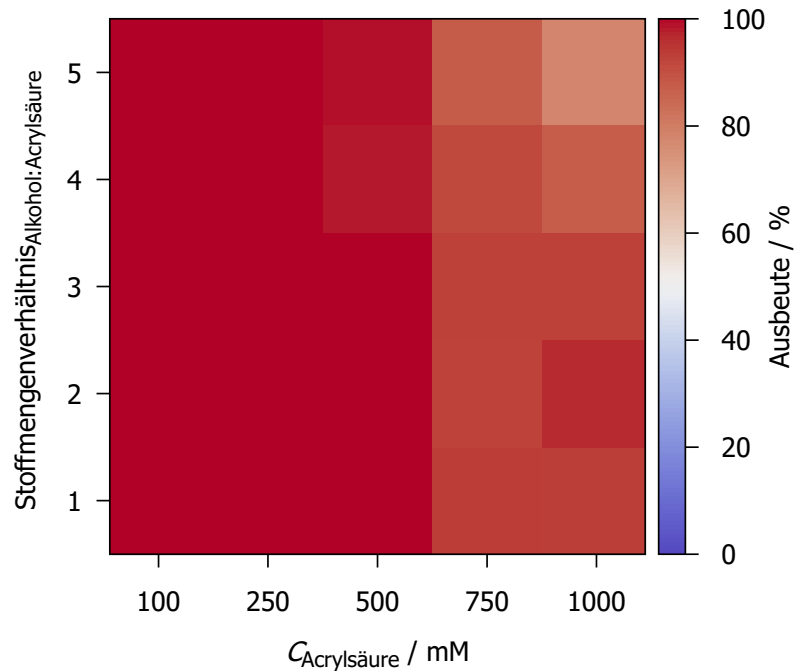


Abb. 4.14.: Ausbeuten für 1-Hexylacrylat aus der Veresterung von Acrylsäure und 1-Hexanol für verschiedene Substratkonzentrationen $C_{\text{Acrylsäure}}$ sowie Stoffmengenverhältnisse von Alkohol zu Säure in Cyclohexan.

Das verzweigte Substrat in Abbildung 4.15 zeigt im niedrigen Konzentrationsbereich ähnliche Werte. Es fällt jedoch auf, dass bei jeder weiteren Konzentrationsreihe ab 500 mM die Ausbeuten deutlich abfallen. Dieses Verhalten ließe sich möglicherweise auf die höhere Viskosität von 2-Ethylhexanol zurückführen, wie in Tabelle 4.3 gegenübergestellt. Das kann zu Transportlimitierungen führen, die die Ausbeute negativ beeinflussen. Dies würde jedoch nicht erklären, warum das globale Minimum hier für die höchste Konzentration und äquimolaren Alkoholeinsatz zu finden ist.^[133] Das globale Minimum würde eher bei $C_{\text{Acrylsäure}}=1000 \text{ mM}$ und größtem Stoffmengenüberschuss an 2-Ethylhexanol erwartet werden. Es muss berücksichtigt werden, dass womöglich eine längere Reaktionsdauer notwendig ist, um den Endpunkt der Reaktion zu erreichen. Die Kombination aus Thermodynamik und Kinetik scheint hier der sinnvollste Ansatz zu sein, um die unterschiedlichen

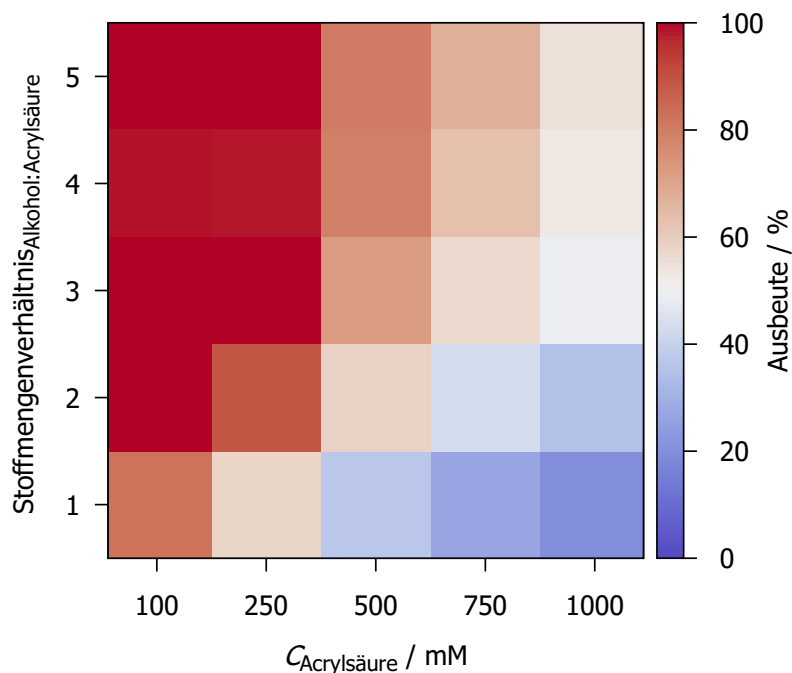


Abb. 4.15.: Ausbeuten für 2-Ethylhexylacrylat aus der Veresterung von Acrylsäure und 2-Ethylhexanol für verschiedene Substratkonzentrationen $C_{\text{Acrylsäure}}$ sowie Stoffmengenverhältnisse von Alkohol zu Säure in Cyclohexan.

Ergebnisse einordnen zu können.^[133] Aus diesem Grund wurde das Experiment für $C_{\text{Acrylsäure}}=1000 \text{ mM}$ wiederholt mit längerer Reaktionszeit. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4.4 dargestellt. Es ist zu sehen, dass eine längere Reaktionsdauer einen positiven Effekt auf die Reaktionsausbeute ausübt. Nach 72 h konnte für einen vierfachen Überschuss von 2-Ethylhexanol eine Ausbeute über 80% erreicht werden. Es ist davon auszugehen, dass weitere 24 h die Ausbeute noch weiter erhöhen können.

Tab. 4.3.: Literaturdaten für die experimentellen Viskositäten η von 1-Hexanol und 2-Ethylhexanol.^[133,139,140]

T / K	$\eta_{1\text{-Hexanol}} / \text{mPa}\cdot\text{s}$	$\eta_{2\text{-Ethylhexanol}} / \text{mPa}\cdot\text{s}$
298.15	4.55	8.42
303.15	3.90	7.14
308.15	3.36	6.09
313.15	2.91	/

Tab. 4.4.: Ausbeuten für 2-Ethylhexylacrylat in Abhängigkeit der Reaktionsdauer für $C_{\text{Acrylsäure}}=1000 \text{ mM}$.

Molares Verhältnis Alkohol:Acrylsäure	Ausbeute _{24h} / %	Ausbeute _{48h} / %	Ausbeute _{72h} / %
1	20±0.1	24±2.1	32±3.3
2	35±1.6	46±3.6	61±2.6
3	49±1.8	62±3.5	76±2.7
4	53±3.2	67±0.9	81±1.2
5	55±1.5	64±8.2	77±2.0

Als weiteres viskoses Substrat wurde Cyclohexanol untersucht. Die Viskosität η wurde experimentell zu $53.5 \pm 3.1 \text{ mPa}\cdot\text{s}$ bei 25°C bestimmt. In der Literatur findet sich $\eta = 53.3 \text{ mPa}\cdot\text{s}$ bei 27°C .^[141] Abbildung 4.16 verdeutlicht, dass auch dieser cyclische Alkohol mit guten Ausbeuten in verdünnten Lösungen verestert werden kann. Die Messwerte für 100 und 250 mM unterscheiden sich hierbei eher marginal. Erst bei höheren Konzentrationen wird ersichtlich, dass größere Mengen Alkohol die Ausbeute positiv beeinflussen. Auffällig ist dieses Verhalten besonders bei 500 und 1000 mM, wo die Ausbeute mit dem Alkoholanteil proportional ansteigt um 34% beziehungsweise 24%. Da es sich bei Cyclohexanol um eine noch viskosere Verbindung als 2-Ethylhexylacrylat handelt, liegt die Vermutung nahe, dass die bereits diskutierten Gründe auch hier zum Tragen kommen.^[133] Auch hier wurden Langzeitexperimente durchgeführt, die ebenfalls zu dem Ergebnis kommen,

4. Ergebnisse

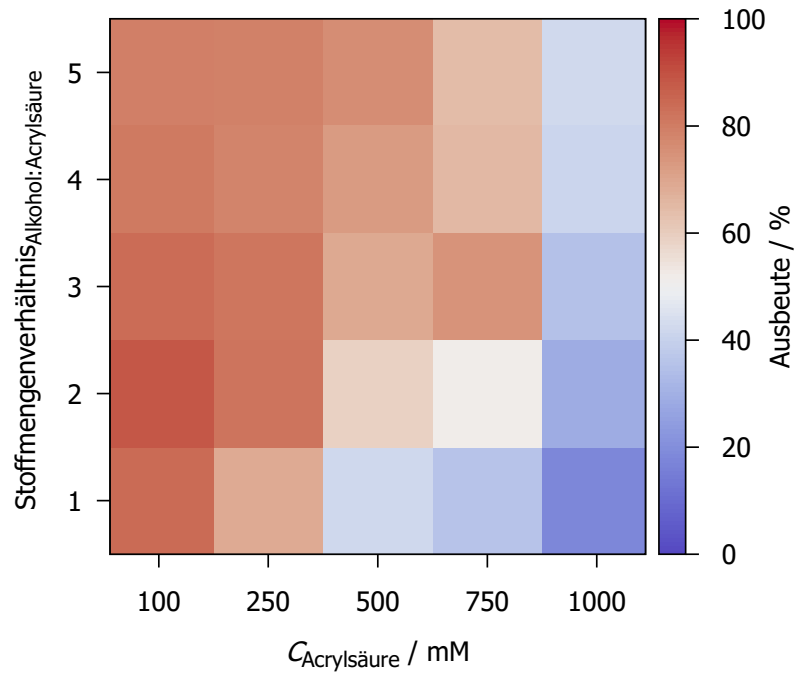


Abb. 4.16.: Ausbeuten für Cyclohexylacrylat aus der Veresterung von Acrylsäure und Cyclohexanol für verschiedene Substratkonzentrationen $C_{\text{Acrylsäure}}$ sowie Stoffmengenverhältnisse von Alkohol zu Säure in Cyclohexan.

dass eine längere Reaktionsdauer sich positiv auf die Ausbeute auswirkt. Dies gilt für alle untersuchten Stoffmengenverhältnisse. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4.5 dargestellt. Es konnte eine maximale Ausbeute von 65% erreicht werden für den größten Überschuss an Cyclohexanol.

Tab. 4.5.: Ausbeuten für Cyclohexylacrylat in Abhängigkeit der Reaktionsdauer für $C_{\text{Acrylsäure}}=1000$ mM.

Molares Verhältnis Alkohol:Acrylsäure	Ausbeute _{24h} / %	Ausbeute _{48h} / %	Ausbeute _{72h} / %
1	18±0.3	18±1.0	26±2.1
2	28±0.9	35±0.9	45±3.2
3	35±1.6	46±0.4	59±1.0
4	41±2.1	49±2.6	63±2.3
5	42±2.2	50±6.8	65±1.7

1-Octanol wurde als weiterer linearer Alkohol enzymatisch umgesetzt. Abbildung 4.17 zeigt, dass solche linearen Substrate hervorragend von CaLB umgesetzt werden. Für 250 mM und zweifachem molarem Überschuss konnte 1-Octanol vollständig verestert werden.^[133] Es konnten oftmals Ausbeuten über 90% erreicht werden.^[133] Hierbei fällt auf, dass die sukzessive Verlängerung der Alkylkette beginnend bei Methanol in einem Optimum für 1-Hexanol mündet. Dabei konnte keine direkter Zusammenhang zwischen der Länge des Alkylrests und der Ausbeute festgestellt werden. Die weitere Verlängerung der Alkylkette über 1-Octanol hinaus scheint denkbar zu sein. Aufgrund des steigenden sterischen Anspruchs, ist dabei jedoch eine schrittweise Verringerung der Ausbeute zu erwarten.

In Bezug auf die Abhängigkeit der Enzymaktivität von der Länge der Alkylkette, untersuchten Rahman *et al.* die Veresterung von Adipinsäure mit Methanol, *n*-Butanol, 1-Octanol, 1-Dodecanol und 1-Octadecanol durch N435. Die höchste Reaktivität zeigte sich bei der Reaktion von *n*-Butanol während die länger-kettigen Substrate eine niedrigere Reaktivität aufwiesen. Dies wurde mit der leichteren Diffusion kurzkettiger Moleküle zum aktiven Zentrum und der sinkenden Nukleophilie mit wachsender Anzahl an Kohlenstoffatomen begründet.^[142]

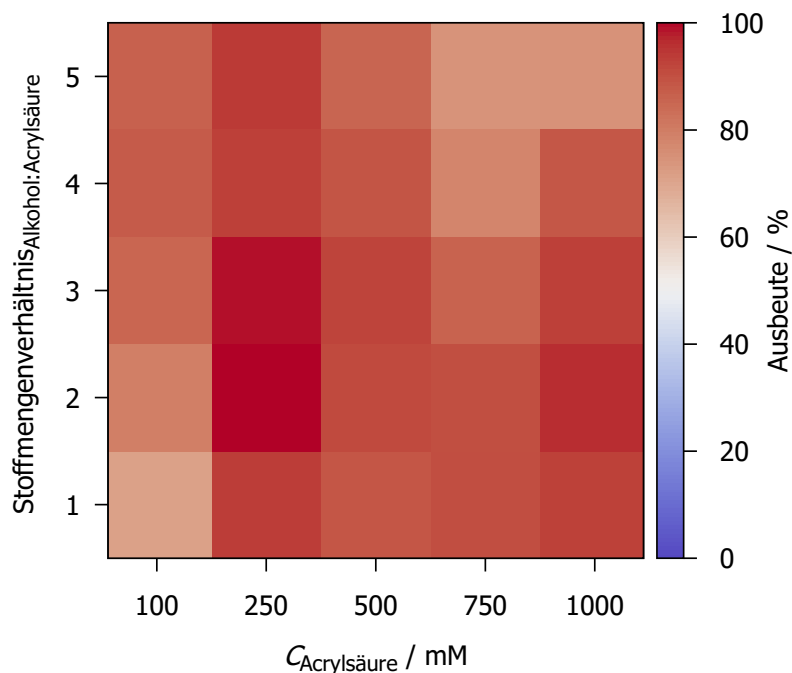


Abb. 4.17.: Ausbeuten für 1-Octylacrylat aus der Veresterung von Acrylsäure und 1-Octanol für verschiedene Substratkonzentrationen $C_{\text{Acrylsäure}}$ sowie Stoffmengenverhältnisse von Alkohol zu Säure in Cyclohexan.

4.4.2. Aromatische Alkohole

Folgend soll die Reaktion von Acrylsäure mit verschiedenen aromatischen Substraten untersucht werden. Zu Beginn wurde versucht Phenol umzusetzen. Diese Verbindung stellt hier eine Ausnahme dar, da es sich um den einzigen Feststoff des Substratspektrums handelt. Zunächst wurde auch hier versucht die Reaktion in Cyclohexan durchzuführen, wobei sich der Feststoff in diesem Medium nicht vollständig löste. Daraufhin wurden CPME und $\text{CH}_3\text{-CN}$ eingesetzt. Das Löslichkeitsproblem trat in den polaren Lösungsmitteln nicht mehr auf, jedoch konnte festgestellt werden, dass kein Produktpeak in den entsprechenden Chromatogrammen auftrat. Eine Erklärung für dieses Verhalten mit CaLB konnte nicht in der Literatur gefunden werden, jedoch untersuchten Athawale *et al.* in einer Arbeit die

enzymatische Synthese verschiedener Acrylester durch *Candida cylindracea* Lipase. Aromatische Alkohole wurden grundsätzlich als weniger kompatible Substrate für das Enzymzentrum eingeordnet, da sie verglichen mit Cyclohexanol keine Sesselkonformation aufweisen und sich dies in reduzierten Ausbeuten äußerte.^[133,143] Wird anstelle von Phenol Benzylalkohol verwendet, findet die enzymatische Umsetzung erfolgreich statt. Die Ergebnisse sind in Abbildung 4.18 dargestellt. Dabei fällt auf, dass die Konzentration hier einen vergleichsweise geringen Einfluss auf die Ausbeute hat, da ein Großteil der Ergebnisse eine Ausbeute im Bereich von 80% zeigt.^[133] Selbst für 1000 mM konnte eine Ausbeute von 79% erreicht werden bei dreifachem Überschuss an Alkohol. Der äquimolare Einsatz der Alkoholkomponente konnte lediglich für die Messreihe 500 mM eine Ausbeute von 76% erzielen. Alle anderen Experimente zeigten hier Ausbeuten unter 70%.

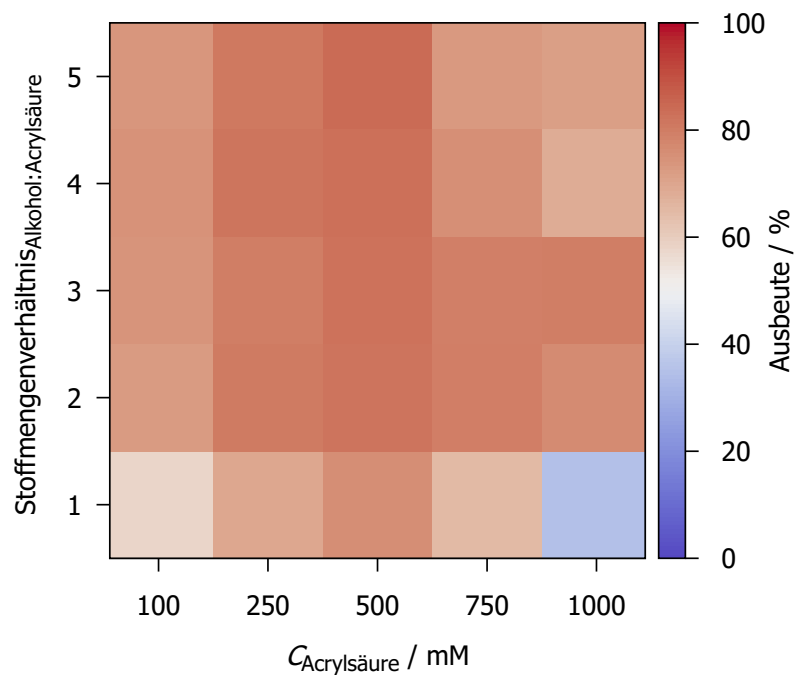


Abb. 4.18.: Ausbeuten für Benzylacrylat aus der Veresterung von Acrylsäure und Benzylalkohol für verschiedene Substratkonzentrationen $C_{\text{Acrylsäure}}$ sowie Stoffmengenverhältnisse von Alkohol zu Säure in Cyclohexan.

4. Ergebnisse

Die bisherigen Ergebnisse motivierten dazu, ein weiteres aromatisches Substrat aufzunehmen, welches eine weitere Methyleneinheit besitzt. Hierzu wurde 2-Phenylethanol ausgewählt, wobei die Ergebnisse in Abbildung 4.19 dargestellt sind. Es zeigt sich, dass eine größere Distanz zum aromatischen Ring die Ausbeute signifikant erhöht. Für die Experimente mit 250 mM Substratkonzentration und mehr als äquimolaren Einsatz von 2-Phenylethanol konnte eine Ausbeute von 99% festgestellt werden, wobei dies ebenfalls für 100 mM und fünffachen Alkoholüberschuss erreicht wurde.^[133] Im Allgemeinen zeigten nur die Experimente für 100 mM Substratkonzentration und äquimolaren Einsatz von 2-Phenylethanol sowie die komplette 1000 mM Messreihe Ausbeuten unter 90%.

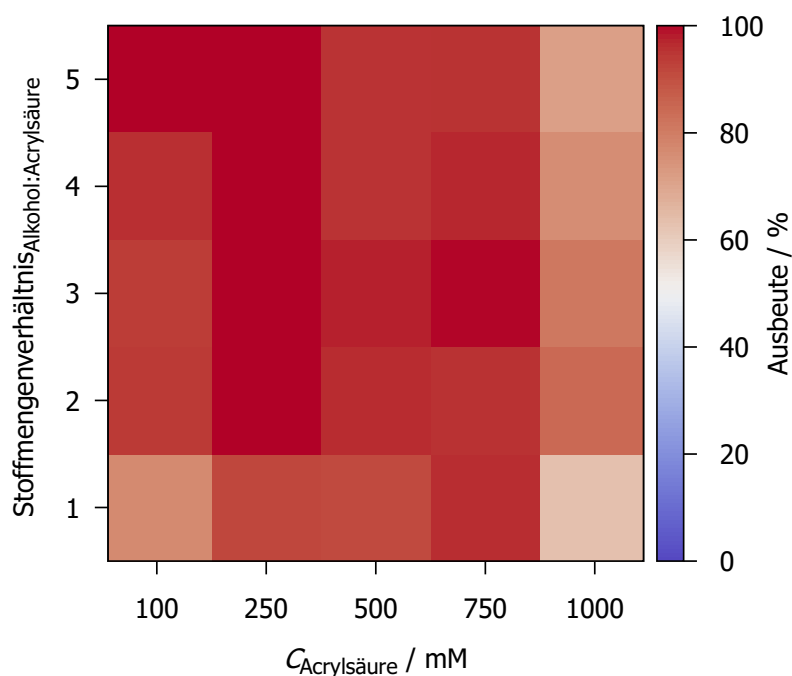


Abb. 4.19.: Ausbeuten für 2-Phenylethylacrylat aus der Veresterung von Acrylsäure und 2-Phenylethanol für verschiedene Substratkonzentrationen $C_{\text{Acrylsäure}}$ sowie Stoffmengenverhältnisse von Alkohol zu Säure in Cyclohexan.

4.4.3. Funktionelle Gruppen

Um den Einfluss funktioneller Gruppen zu untersuchen, wurden unterschiedliche Ethylenglycolderivate in das Substratspektrum aufgenommen. Zu Beginn wurden hierbei elektronenschiebende Gruppen in Form von 2-Methoxyethanol und Dimethylaminoethanol getestet. 2-Methoxyethylacrylat konnte mit Ausbeuten von 91% für die niedrigste Konzentration synthetisiert werden mit vier- und fünffachen Überschuss an Alkohol.^[133] Die Ergebnisse sind in Abbildung 4.20 dargestellt. Es ist festzuhalten, dass die optimalen Reaktionsbedingungen für alle weiteren Konzentrationen bei einem zweifachen Überschuss gefunden wurden. Dabei wurde für 250 mM noch eine Ausbeute von 80% erreicht. Folgend sinkt die maximale Ausbeute deutlich von 59% bei 500 mM, 49% bei 750 mM und schließlich 35% bei 1000 mM.

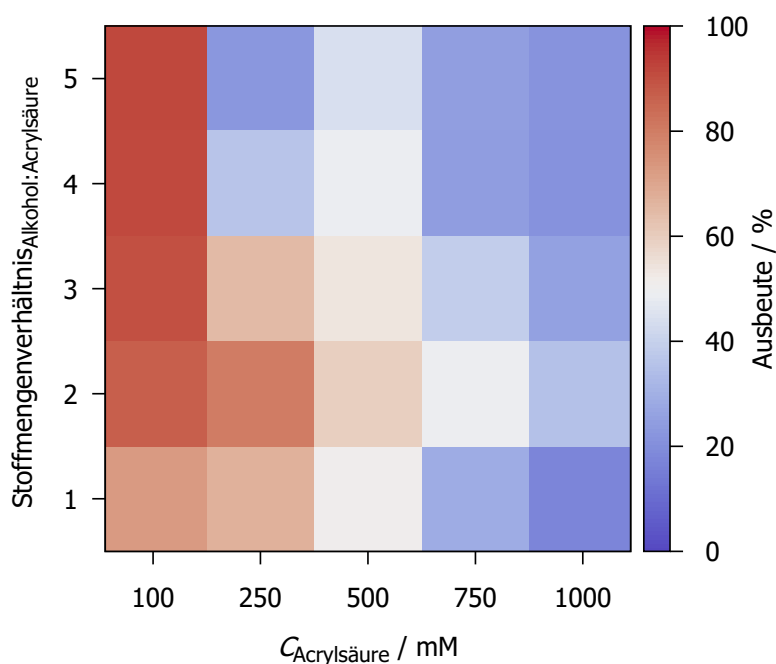


Abb. 4.20.: Ausbeuten für 2-Methoxyethylacrylat aus der Veresterung von Acrylsäure und 2-Methoxyethanol für verschiedene Substratkonzentrationen $C_{\text{Acrylsäure}}$ sowie Stoffmengenverhältnisse von Alkohol zu Säure in Cyclohexan.

Eine weitere potentielle elektronenschiebende Funktionalität bietet die primäre Aminogruppe. Diese kann jedoch in diesem Experiment nicht umgesetzt werden, da die Aminogruppe das attraktivere Nukleophil darstellt und primär angegriffen wird, solange ein kurzkettiger Aminoalkohol verwendet wird.^[144,145] Aus diesem Grund wurde Dimethylaminoethanol verwendet und die Ergebnisse sind in Abbildung 4.21 dargestellt. Ein Produktpeak im Gaschromatogramm trat lediglich für die Experimente mit einer Substratkonzentration von 100 mM und 250 mM auf. Für alle weiteren Messreihen konnte dies nicht beobachtet werden. Bei allen Reaktionen wurde die Bildung eines weißen Feststoffs beobachtet nach Zugabe der Acrylsäure zur angesetzten Reaktionslösung. Dies ist vermutlich auf eine Säure-Base-Reaktion zurückzuführen, die begünstigt durch die Gleichgewichtsverschiebung schneller ist, verglichen mit der enzymatischen Reaktion. Der Rückstand konnte nach dem Einengen am Rotationsverdampfer nicht identifiziert werden, zeigte jedoch eine gelartige Konsistenz. Da tertiäre Amine als vergleichsweise starke Basen agieren, ist auch eine anionische Polymerisation der Acrylsäure denkbar, die durch Dimethylaminoethanol induziert wird. Des Weiteren konnte in den Chromatogrammen kein zusätzlicher Peak gefunden werden, der auf ein mögliches Nebenprodukt hindeutet. Zudem muss an dieser Stelle betont werden, dass Dimethylaminoethylacrylat äußerst anfällig in Bezug auf die Hydrolyse ist. Die Hydrolyseaktivität wurde von Feng *et al.* untersucht. Dabei konnte festgestellt werden, dass nach 1 h bei 25 °C in wässriger Lösung etwa 90 % des Produkts hydrolysiert wurden.^[146] Zudem konnte gezeigt werden, dass die Reaktivität sinkt, wenn vergleichbare Methacrylate, die neben Methyl- auch Ethyl- und *iso*-Propylgruppen am Stickstoffatom aufweisen, verwendet werden.^[146]

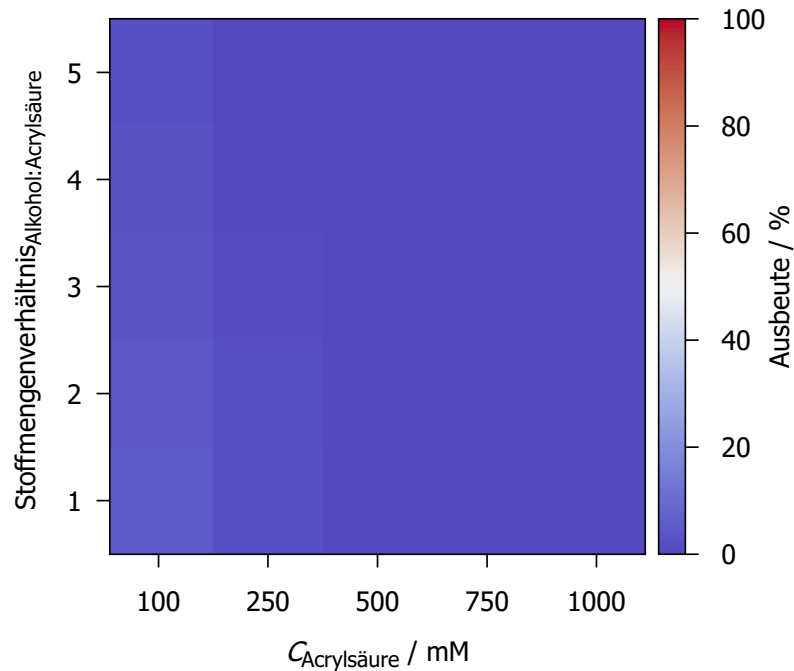


Abb. 4.21.: Ausbeuten für Dimethylaminoethylacrylat aus der Veresterung von Acrylsäure und Dimethylaminoethanol für verschiedene Substratkonzentrationen $C_{\text{Acrylsäure}}$ sowie Stoffmengenverhältnisse von Alkohol zu Säure in Cyclohexan.

Im Anschluss sollen elektronenziehende Gruppen untersucht werden. Dabei bieten sich beispielsweise verschiedene Halogenide an. Hierbei wurden 2-Chlorethanol und 2-Bromethanol verwendet, da sowohl das fluoridierte als auch iodidierte Acrylesterprodukt nicht kommerziell zur Verfügung standen und somit kein Referenzmaterial für die GC-Analyse vorhanden ist. Auf die Möglichkeit, die unbekannt Peaks über GC-MS Analytik zu identifizieren und quantifizieren, wurde verzichtet. Die Ergebnisse für 2-Chlorethylacrylat sind in Abbildung 4.22 dargestellt. Bis 500 mM ist festzustellen, dass ein hoher Stoffmengenüberschuss notwendig ist, um Ausbeuten im Bereich von 60% zu erzielen. Dabei liegt das globale Maximum bei 250 mM und vierfachem Stoffmengenüberschuss vor mit einer Ausbeute von 63.59%.^[133] Wird die Substratkonzentration weiter erhöht, verschiebt sich das Optimum der

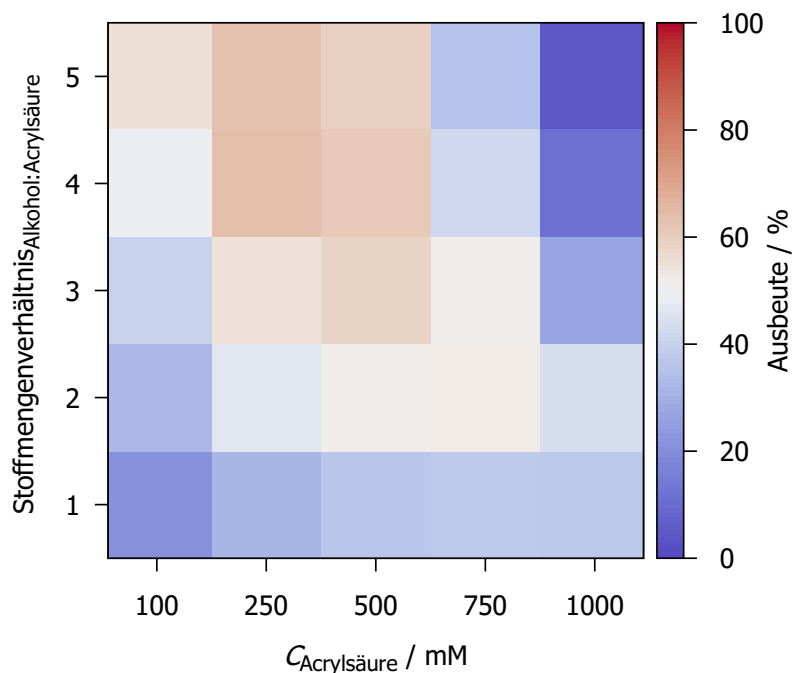


Abb. 4.22.: Ausbeuten für 2-Chlorethylacrylat aus der Veresterung von Acrylsäure und 2-Chlorethanol für verschiedene Substratkonzentrationen $C_{\text{Acrylsäure}}$ sowie Stoffmengenverhältnisse von Alkohol zu Säure in CP-ME.

Parameter zu zwei-bis dreifachem Überschuss an 2-Chlorethanol.

Die Ergebnisse für 2-Bromethanol sind in Abbildung 4.23 dargestellt. Es zeigt sich, dass für die niedrigste Konzentration die besten Ausbeuten bei hohem Stoffmengenüberschuss erhalten werden. Das globale Maximum von 54.04% liegt bei dreifachem Überschuss vor. Dicht gefolgt davon ergibt sich bei vierfachem Überschuss eine Ausbeute von 53.43%. Wird die Substratkonzentration auf 250 mM erhöht, verschiebt sich das Maximum auf 40.02% bei zweifachem Alkoholüberschuss. Wird mehr 2-Bromethanol zum Reaktionsgemisch zugeführt, sinkt die Ausbeute merklich um über 30%. Ein ähnlicher Trend zeigt sich zudem bei 500 mM und 750 mM. Hier ist die maximale Ausbeute bereits bei äquimolarem Stoffmengenverhältnis erreicht und sinkt bei höherem Volumenanteil von 2-Bromethanol deutlich.

Ein gegenläufiger Trend ergibt sich bei 1000 mM. Hier steigt die Ausbeute mit dem 2-Bromethanol Anteil an. Ein solcher Trend wurde sonst nur bei Methylacrylat, Cyclohexylacrylat und 2-Ethylhexylacrylat beobachtet. Bei 2-Bromethanol ist festzuhalten, dass weder eine sterische Hinderung noch eine außergewöhnlich hohe Viskosität vorliegen. Eine Untersuchung der optimalen Reaktionsdauer wurde hier ebenfalls durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4.23 zusammengefasst. Der Einfluss einer verlängerten Reaktionsdauer, mit Ausnahme des Experiments mit äquimolaren Einsatz von 2-Bromethanol nach 48 h, äußerte sich stets in einer erhöhten Ausbeute. Die Verbesserung der Ausbeute war jedoch weniger deutlich im Vergleich zu den Hexanolderivaten. Dies lässt vermuten, dass ähnlich wie bei Methylacrylat der größtmögliche Überschuss an Alkohol für die optimale Reaktionsführung notwendig ist.

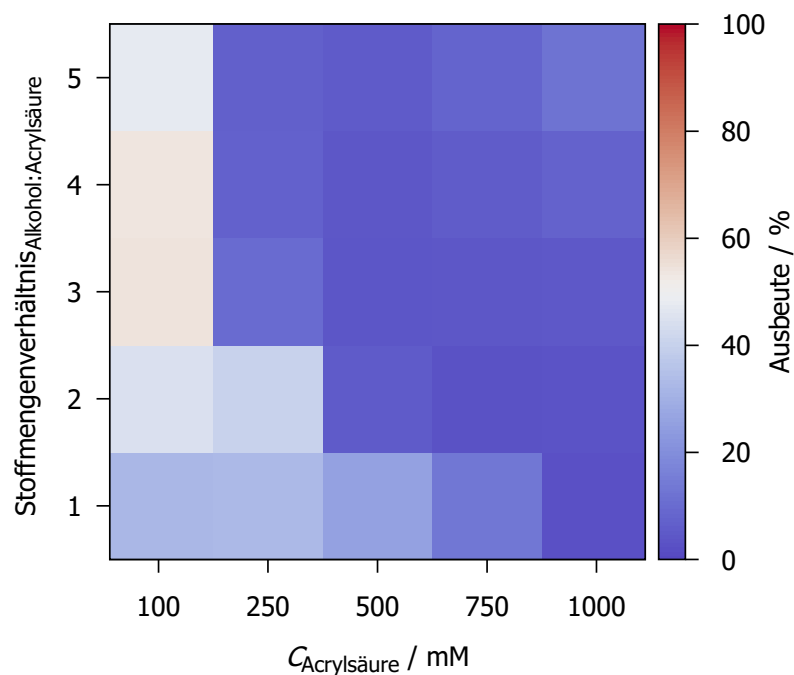


Abb. 4.23.: Ausbeuten für 2-Bromethylacrylat aus der Veresterung von Acrylsäure und 2-Bromethanol für verschiedene Substratkonzentrationen $C_{\text{Acrylsäure}}$ sowie Stoffmengenverhältnisse von Alkohol zu Säure in CP-ME.

4. Ergebnisse

Tab. 4.6.: Ausbeuten für 2-Bromethylacrylat in Abhängigkeit der Reaktionsdauer für $C_{\text{Acrylsäure}}=1000$ mM.

Molares Verhältnis Alkohol:Acrylsäure	Ausbeute _{24h} / %	Ausbeute _{48h} / %	Ausbeute _{72h} / %
1	2.2±0.4	1.6±0.1	1.9±0.1
2	3.0±0.3	3.7±0.2	4.9±0.1
3	4.3±0.6	7.8±0.3	11±0.1
4	7.2±0.2	14±0.2	18±0.2
5	12±1.9	20±0.6	26±0.5

Bei der Synthese von β -Cyanoethylacrylat zeigt sich in Abbildung 4.24, dass der Einsatz des größten Stoffmengenüberschusses notwendig ist, um im niedrigen Konzentrationsbereich Ausbeuten von 51.10% bei 100 mM sowie 54.71% bei 250 mM zu erreichen.^[133] Wird die Substratkonzentration weiter erhöht, ist erkennbar, dass ein dreifacher Überschuss für 500 mM und 750 mM optimal ist. Gleichzeitig ist festzuhalten, dass der Übergang von vier- zu fünffachem Überschuss in einem deutlichen Rückgang der Ausbeute von über 30% auf unter 10% resultiert. Dieser Übergang findet für 1000 mM bereits von drei- zu vierfachem Überschuss statt.

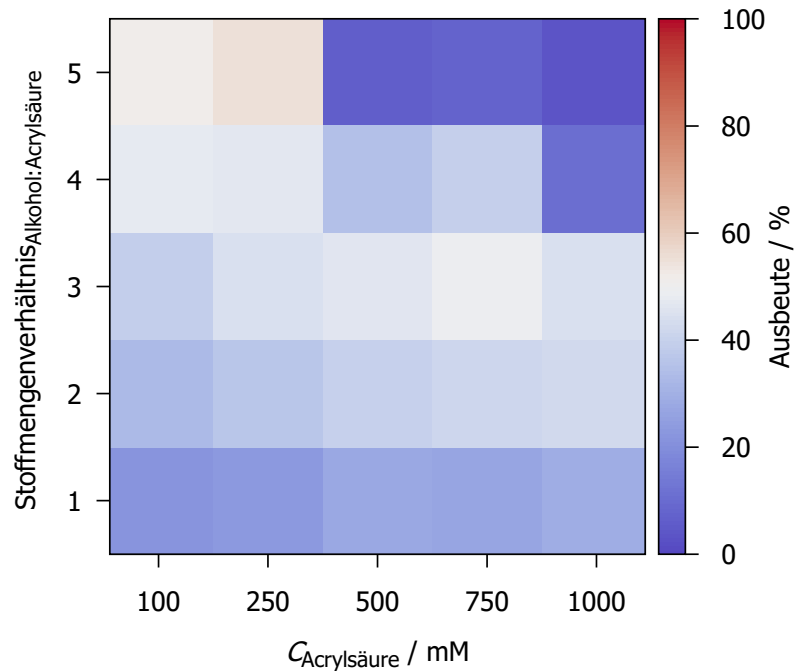


Abb. 4.24.: Ausbeuten für β -Cyanoethylacrylat aus der Veresterung von Acrylsäure und β -Cyanoethanol für verschiedene Substratkonzentrationen $C_{\text{Acrylsäure}}$ sowie Stoffmengenverhältnisse von Alkohol zu Säure in CP-ME.

Die Ergebnisse für die Veresterung von Ethylenglycol sind in Abbildung 4.25 dargestellt. Für die niedrigste Konzentration konnte ein vollständiger Umsatz zum 2-Hydroxyethylacrylat erreicht werden.^[133] Für 250 mM zeigt sich, dass ab einem dreifachen Überschuss des Diols die maximale Ausbeute im Bereich von circa 75% erzielt werden kann. Für 500 mM zeigt sich ein gegenläufiger Trend, da für diese Parameter stufenweise die Ausbeute sinkt und das lokale Maximum bei zweifachem Überschuss vorzufinden ist mit 42.73%. Wird die Substratkonzentration weiter erhöht, zeigt sich, dass die Grenzen der enzymatischen Katalyse hier ausgereizt sind. Dies äußert sich in niedrigen Ausbeuten, die stufenweise abfallen und Reaktionen mit hohem Glycol Volumenanteil, bei denen kein Produktpeak im Chromatogramm auftrat. Da 2-Hydroxyethylacrylat eine freie Hydroxygrup-

pe aufweist, ist potentiell die Möglichkeit zur weiteren Veresterung vorhanden. Die Kalibrierkurve enthielt aus diesem Grund sowohl 2-Hydroxyethylacrylat als auch Ethylendiacylat. Für alle Reaktionen mit einer Ausbeute über 0.0% wurde stets selektiv 2-Hydroxyethylacrylat erhalten.^[133] Auffällig ist außerdem, dass verglichen mit der *n*-Butylacrylat Synthese aus Abbildung 4.8 CH₃-CN als Lösungsmittel durchaus hohe Ausbeuten ermöglichen kann. Grundsätzlich ist der log *P* Wert als wichtige Kennziffer in der Biokatalyse bekannt. Der Verteilungskoeffizient *P* aus Gleichung 4.1 gibt das Verhältnis der Konzentrationen eines gelösten Stoffs zwischen 1-Octanol und Wasser an.

$$\log P = \log \frac{C_{1\text{-Octanol}}}{C_{\text{H}_2\text{O}}} \quad (4.1)$$

Eine Einteilung der verschiedenen Lösungsmittel in Bezug auf die Enzymaktivität ist in Tabelle 4.7 zusammengefasst. Lösungsmittel mit einem log *P* Wert unter zwei sind bekannt dafür, die Enzymaktivität zu reduzieren, indem sie das strukturelle Wasser entfernen, welches zur Stabilisierung des Enzyms notwendig ist. Dazu sind auch CH₃-CN und CPME einzuordnen mit einem log *P* Wert von -0.34 beziehungsweise 1.6.^[147,148] Es existieren hingegen auch Ansätze, die davon abraten, die Wahl des Lösungsmittels alleine auf Grundlage des log *P* Werts zu treffen, sondern dies in Abhängigkeit der Substrat- beziehungsweise Produktpolarität zu betrachten.^[149] Dies basiert auf der Substratlöslichkeit einerseits sowie andererseits der Akkumulation eines beispielsweise polaren Produkts im Katalysator durch eingeschränkten Stofftransport in das unpolare Reaktionsmedium.^[149-151]

Tab. 4.7.: Einteilung organischer Lösungsmittel nach Laane *et al.*^[152]

log <i>P</i>	Löslichkeit in Wasser	Effekt auf die Enzymaktivität
x < 2	hoch	Deaktivierung möglich
2 < x < 4	mittel	keine Vorhersage möglich
x > 4	gering bis unlöslich	kein Effekt

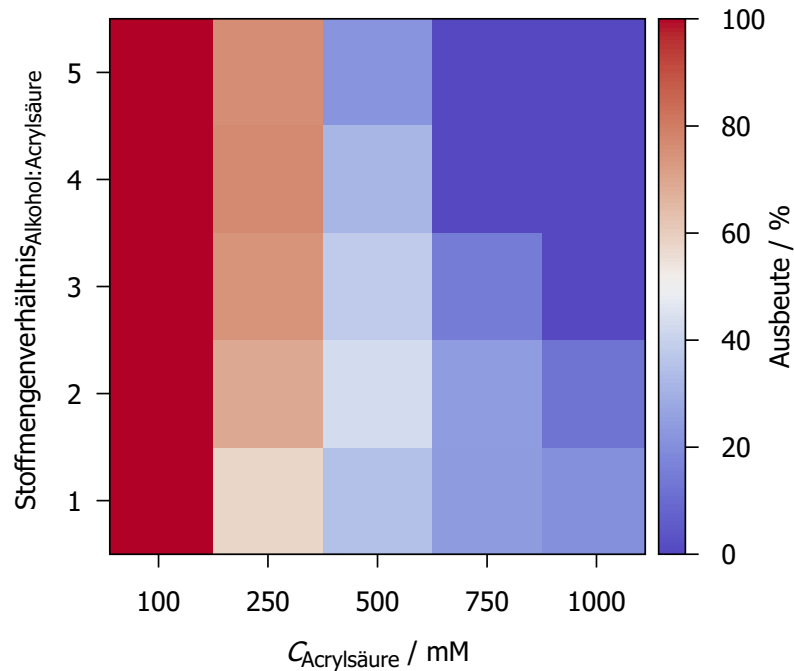


Abb. 4.25.: Ausbeuten für 2-Hydroxyethylacrylat aus der Veresterung von Acrylsäure und Ethylenglycol für verschiedene Substratkonzentrationen $C_{\text{Acrylsäure}}$ sowie Stoffmengenverhältnisse von Alkohol zu Säure in $\text{CH}_3\text{-CN}$.

4.4.4. Methacrylate

Um die breite Anwendbarkeit des Katalysators zu unterstreichen, wurden die zwei am effektivsten umgesetzten Alkohole 1-Hexanol und 2-Phenylethanol mit Methacrylsäure verestert. Die Ergebnisse sind in Abbildung 4.26 beziehungsweise 4.27 dargestellt. Für 1-Hexylmethacrylat konnte bei 100 mM durch äquimolaren Einsatz als auch zweifachen Stoffmengenüberschuss von 1-Hexanol vollständiger Umsatz erreicht werden. Mit steigendem Volumenanteil von 1-Hexanol sinkt die Ausbeute nur geringfügig. Für 250 mM wurden die höchsten Ausbeuten im gleichen Bereich erzielt. Die Beobachtung, dass die Ausbeute mit höherem 1-Hexanolanteil sinkt, tritt hier noch stärker auf. Dabei wurde ein lokales Minimum von 47.86% bei fünffachem Stoffmengenüberschuss bestimmt. Dieser Trend setzt sich mit steigen-

4. Ergebnisse

der Substratkonzentration fort. Ab 750 mM konnten keine Ausbeuten über 90% erreicht werden. Verglichen mit der Veresterung mit Acrylsäure zeigen sich grundsätzlich niedrigere Ausbeuten.^[133] Dies lässt vermuten, dass aufgrund der zusätzlichen Methylgruppe ein sterischer Einfluss ausgeübt wird und dadurch die Ausbeute verringert wird. Dies kommt auch bei 2-Phenylethylmethacrylat zum Tragen. Für 100 mM und 250 mM finden sich zumeist Ausbeuten im Bereich von 50 bis 60%. Das globale Maximum ist bei 250 mM und zweifachem Stoffmengenüberschuss von 2-Phenylethanol vorzufinden und zeigt eine Ausbeute von 61.89%.^[133] Für die Substratkonzentration $C_{\text{Methacrylsäure}}=500\text{ mM}$ finden sich Ausbeuten um 50%, wobei auffällt, dass die Ausbeuten innerhalb der Messreihe nur geringfügig voneinander abweichen. Diese Stagnation verbunden mit reduzierten Ausbeuten ist ebenfalls für 750 mM und 1000 mM vorzufinden.

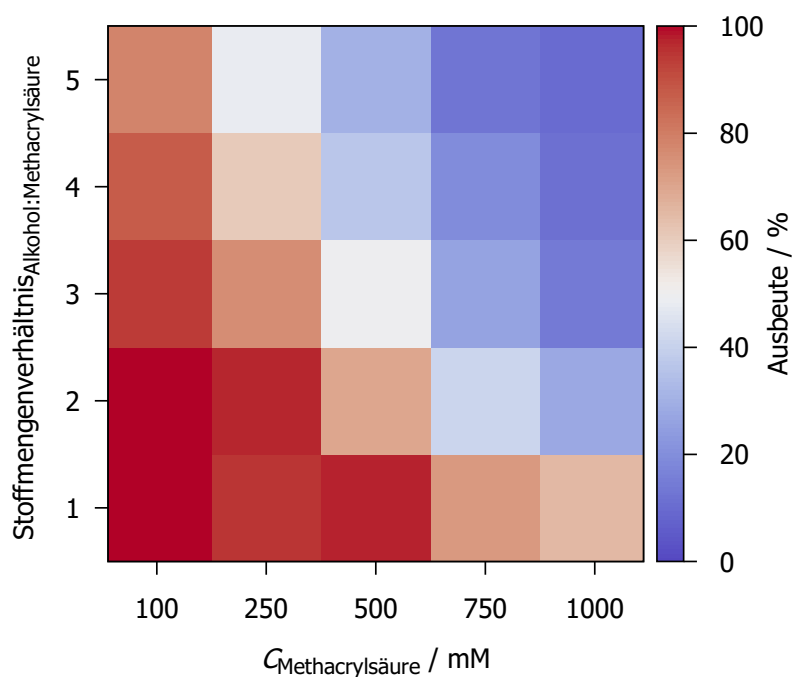


Abb. 4.26.: Ausbeuten für 1-Hexylmethacrylat aus der Veresterung von Methacrylsäure und 1-Hexanol für verschiedene Substratkonzentrationen $C_{\text{Methacrylsäure}}$ sowie Stoffmengenverhältnisse von Alkohol zu Säure in Cyclohexan.

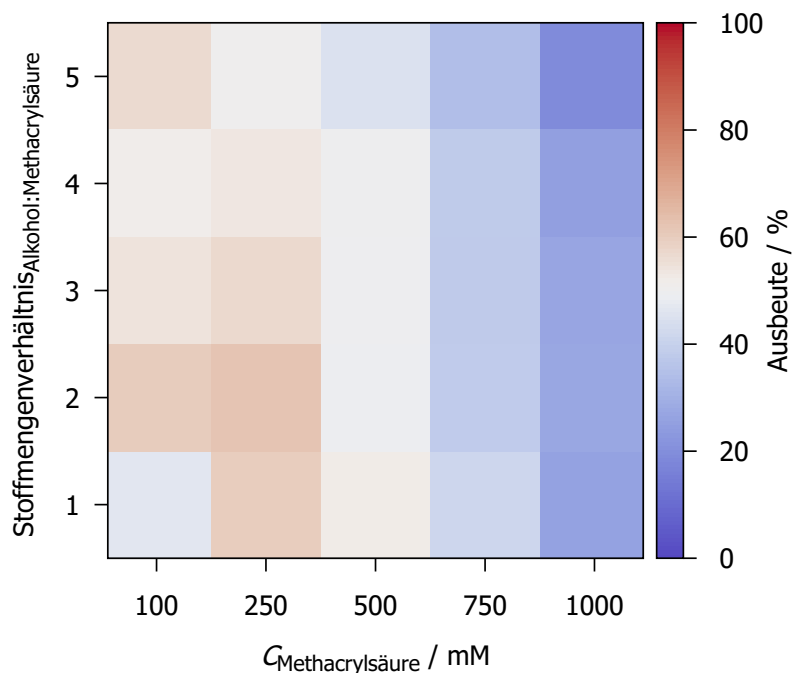


Abb. 4.27.: Ausbeuten für 2-Phenylethylmethacrylat aus der Veresterung von Methacrylsäure und 2-Phenylethanol für verschiedene Substratkonzentrationen $C_{\text{Methacrylsäure}}$ sowie Stoffmengenverhältnisse von Alkohol zu Säure in Cyclohexan.

In der Tabelle 4.8 sind für alle hergestellten Acryl- beziehungsweise Methacrylester die höchsten Ausbeuten nach 24h zusammengefasst, sowie die dazugehörigen Reaktionsparameter. Zudem sind Literaturwerte als Vergleich angeführt, falls vorhanden. Für 11 Ester konnte erstmals eine biokatalytische Synthese gezeigt werden. Die Strukturen aller erfolgreich hergestellten Acryl- und Methacrylester sind in Abbildung 4.28 dargestellt. Für einige Produkte zeigen die Literaturwerte eine deutliche Abweichung. Für Cyclohexylacrylat muss angebracht werden, dass eine Umesterung durchgeführt wurde. Das Stoffmengenverhältnis betrug 1:1 von Acyldonor und Cyclohexanol mit einer Konzentration von 1 M. Neben der hohen Substratkonzentration sind weitere mögliche Gründe für den geringen Umsatz die Nutzung immobilisierter *Candida cylindracea* Lipase, anstelle von N435, sowie DI-

PE als Lösungsmittel. Grundsätzlich untersuchten die Autoren die Synthese nur in DIPE, Chloroform und Tetrahydrofuran. Dabei sei erwähnt, dass eine erhöhte Reaktionstemperatur von 37°C genutzt wurde. Für 2-Ethylhexylacrylat wurde ebenfalls eine Umesterung durchgeführt, wobei als Lösungsmittel *n*-Hexan eingesetzt wurde. Das Stoffmengenverhältnis betrug erneut 1:1 von Acyldonor und 2-Ethylhexanol mit einer Substratkonzentration von 1 M. Außerdem wurde eine Lipase aus Schweinepankreas genutzt, bei einer Reaktionstemperatur von 35°C. Für die Ester aus Literaturstelle 153 fand wieder eine Umesterung mit immobilisierter *Candida cylindracea* Lipase statt. Dazu wurde Vinylacrylat beziehungsweise Vinylmethacrylat verwendet. Die Reaktionen wurden in *iso*-Octan bei 37°C durchgeführt. Die Reaktionsparameter wurden nicht näher spezifiziert. Die Autoren weisen darauf hin, dass das entstehende Acetaldehyd die Enzymaktivität herabsetzen kann.^[153]

Zusammengefasst sei gesagt, dass die bisher untersuchten Substratkonzentrationen womöglich zu hoch sind, um eine effiziente enzymatische Veresterung zu gewährleisten. Auch bei der Umesterung bietet es sich an, Kontur-Grafiken zu erstellen, um die optimalen Reaktionsbedingungen zu bestimmen. Dabei muss beachtet werden, dass der Wahl des Acyldonors eine besondere Bedeutung zukommt, die von der Wahl der Lipase beeinflusst wird. Gleichzeitig muss das entstehende Nebenprodukt kritisch evaluiert werden, da eine Wechselwirkung mit dem Enzym möglich ist. Hierbei besteht die Gefahr einer Deaktivierung des Enzyms, die deutlicher ausfallen kann, verglichen mit der Wasserakkumulation bei der direkten Veresterung.

Tab. 4.8.: Optimale Reaktionsbedingungen, die die höchste Ausbeute aller untersuchten Substrate generieren, verglichen mit Literaturwerten.^[133]

Verbindung -acrylat	C _{Säure} / mM	Molares Verhältnis	Ausbeute _{24h} / %	Literatur- ausbeute / %
Methyl	250	5	99.24±5.4	/
Ethyl	750	2	73.58±1.8	/
<i>n</i> -Butyl	100	4	99.99±8.2	99 ^[112]
<i>sec</i> -Butyl	100	3	99.91±1.3	/
<i>iso</i> -Butyl	100	4	93.75±3.7	/
1-Hexyl	100	1	99.99±2.4	40 ^[153]
2-Ethylhexyl	100	2	99.99±5.6	50.1 ^[154] [a]
Cyclohexyl	100	2	88.23±5.9	50 ^[143] [a]
1-Octyl	250	2	99.99±2.3	99 ^[105] [a]
Benzyl	500	5	83.89±0.7	60 ^[143] [a]
2-Phenylethyl	100	5	99.99±1.1	66 ^[153]
2-Methoxyethyl	100	5	91.30±2.2	/
Dimethylaminoethyl	100	1	4.65±0.8	/
β -Cyanoethyl	250	5	54.71±0.5	/
2-Chlorethyl	250	4	63.59±2.5	/
2-Bromethyl	100	3	54.04±1.8	/
2-Hydroxyethyl	100	1	99.99±0.9	/
1-Hexylmeth	100	1	99.99±2.4	21 ^[153]
2-Phenylethylmeth	250	2	61.89±3.1	/

[a] Der Wert bezieht sich auf den Umsatz anstelle der Ausbeute.

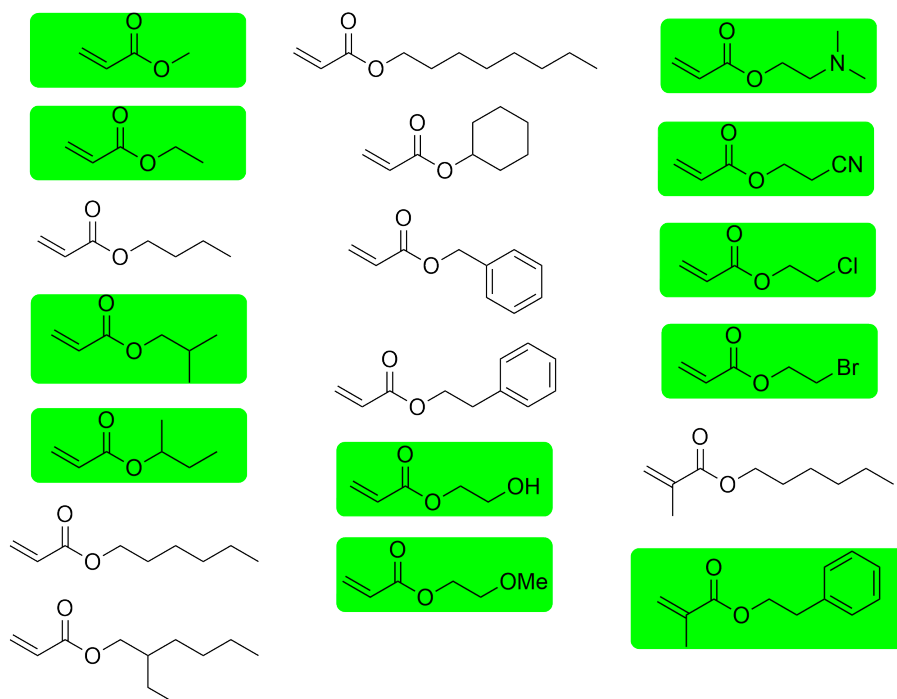


Abb. 4.28.: Strukturen der in dieser Arbeit erfolgreich hergestellten Acryl- und Methacrylester. Erstmalig enzymatisch hergestellte Ester sind farblich hervorgehoben.

4.5. Nelder-Mead-Algorithmus

Zur Anwendung des Nelder-Mead-Algorithmus wurde ein Programm in Python geschrieben. Dieses ist im Anhang in Abbildung A.1 dargestellt. Zunächst werden drei leere Arrays definiert. Diese dienen im nächsten Schritt dazu, durch eine *for*-Schleife aus dem entsprechenden Datensatz, hier beispielhaft *data.dat* genannt, die Messwerte auszulesen. Das Array *xarr* beinhaltet die Substratkonzentration $C_{\text{Acrylsäure}}$, *yarr* das Stoffmengenverhältnis von Alkohol zu Acrylsäure und *zarr* die Ausbeute des jeweiligen Experiments. Die nächste *for*-Schleife wandelt den Datentypen aller Variablen in Gleitkommazahlen um. Des Weiteren werden die Werte der Ausbeute in den entsprechenden negativen Wert umgewandelt. Die Bedeutung dessen liegt in der SciPy Methode *minimize* begründet, die das globale Minimum

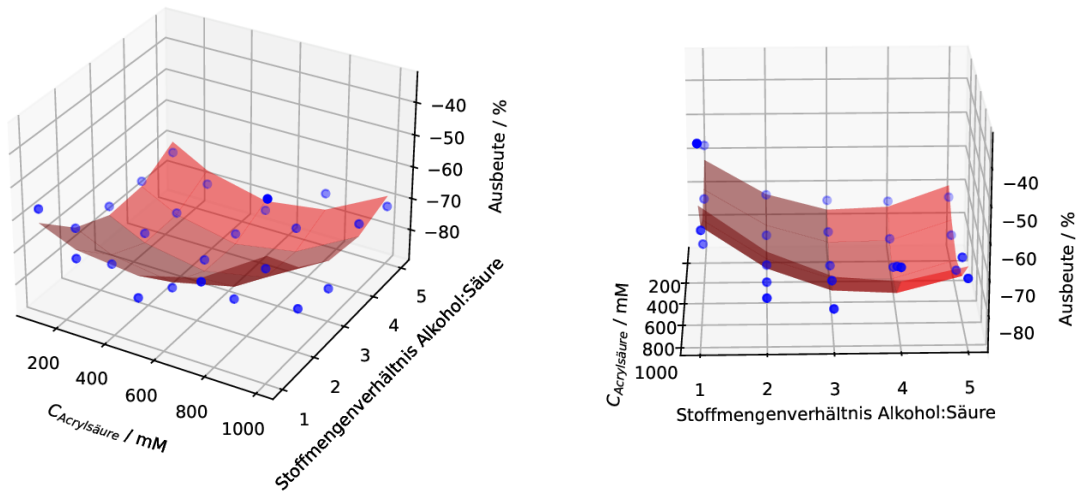


Abb. 4.29.: Datenpunkte in blau für die Synthese von Benzylacrylat. Die rote Fläche entspricht der Funktion $f(x,y) = -2.475 \cdot 10^{-3} \cdot x \cdot y + 2.758 \cdot y^2 + 5.825 \cdot 10^{-5} \cdot x^2 - 18.345 \cdot y - 4.959 \cdot 10^{-2} \cdot x - 41.649$, die durch das Python Programm generiert wurde.

einer Funktion ermittelt. Dazu existiert kein Pendant, welches das Maximum berechnet. Alle benötigten experimentellen Werte sind in den Variablen x, y und z gespeichert. Die aus SciPy entnommene Methode `curve_fit` ermöglicht es, mithilfe des in der Funktion `func` definierten Polynoms, den Datensatz zu fiten nach der Methode der kleinsten Quadrate. Beispielhaft ist das in Abbildung 4.29 für die Synthese von Benzylacrylat dargestellt, die bereits in Abbildung 4.18 gezeigt wurde.

Die sechs optimierten Variablen der Funktion sind im eindimensionalen Array `popt` gespeichert. Die folgenden Zeilen sind zur Anwendung des Nelder-Mead-Algorithmus notwendig. Dazu wurde die SciPy Methode `minimize` verwendet, der eine Funktion übergeben werden muss. In diesem Fall wird die Funktion `func2` verwendet, die die gefundenen Parameter aus `popt` enthält und derselben mathematischen Funktion entspricht wie bereits `func`. Darüber hinaus ist das Festlegen eines Startpunkts notwendig, welcher durch die Variable `starting` definiert ist. Durch die

Numpy Methode *random* kann ein zufällig gewählter, ganzzahliger Wert generiert werden. Die untere beziehungsweise obere Grenzen des Intervalls möglicher Werte sind durch *x_min*, *x_max*, *y_min* und *y_max* definiert. Nun erfolgen die Operationen zur Verschiebung des Simplex aus Kapitel 3.5. Die *if*-Schleife prüft, ob die Optimierung erfolgreich war. In diesem Fall folgen vier *print* Aufrufe. Der Erste gibt den generierten Startpunkt und der zweite Aufruf die Meldung *Status: Optimization terminated successfully* aus. Der dritte *print*-Befehl gibt die Anzahl der Iterationen aus, die bis zur Optimierung durchgeführt wurden. Die x und y Koordinate des Minimums werden in der Variable *optpara* gespeichert. Die dazugehörige Ausbeute wird durch Übergabe von *optpara* an *func2* berechnet und als Betrag in *optyield* gespeichert. Der letzte *print*-Befehl gibt die optimale Substratkonzentration und Stoffmengenverhältnis von Alkohol zu Säure mit der dazugehörigen Ausbeute aus. Sollte die Optimierung nicht erfolgreich sein, wird durch die *else*-Schleife eine Fehlermeldung ausgegeben.

Eine Variable, die bisher nicht weiter erläutert wurde, ist *pcov*, welche die Kovarianzmatrix zu *popt* enthält. Aus *pcov* lassen sich Aussagen über die Verlässlichkeit der Näherung treffen. Hier sei beispielsweise die Konditionszahl der Matrix *pcov* genannt, die sich durch *np.linalg.cond(pcov)* ermitteln lässt und eine grobe Einschätzung darüber gibt, inwieweit eine Veränderung der Inputparameter von *popt* den berechneten Funktionswert beeinflussen. Matrizen gelten als gut konditioniert, wenn die Konditionszahl gering ist beziehungsweise schlecht konditioniert, wenn dieser Wert hoch ausfällt. Um eine genauere Aussage treffen zu können, bietet es sich an die Werte der Kovarianzmatrix für jede Variable einzeln zu kontrollieren. Hierzu wurden die Werte der Matrix zwecks besserer Übersichtlichkeit in logarithmischer Form in Abbildung 4.30 dargestellt. Die diagonalen Elemente enthalten die Werte für die Varianz der Variablen. Somit sind an dem Beispiel Benzylalkohol aus Abbildung 4.30 die Terme *a* sowie *c · x* fehlerbehafteter als die restlichen Terme der verwendeten Funktion. Durch *np.sqrt(np.diag(pcov))* können selektiv die diagonalen Elemente ausgelesen und in die entsprechende Standardabweichung umgewandelt werden. Dies ist beispielhaft in Tabelle 4.9 dargestellt. Zudem sollten die nicht-diagonalen Elemente der Abbildung 4.30 untersucht werden, die eine Aus-

sage über die Kovarianz der Parameter ermöglichen. Eine signifikante Kovarianz bedeutet, dass eine Änderung eines Parameters x eine ebenso signifikante Änderung in y verursacht und somit eine Korrelation der beiden Variablen vorliegt. Der Vollständigkeit halber sei hier erwähnt, dass die diagonalen Elemente der Matrix auch als Kovarianz der entsprechenden Variable mit sich selbst aufgefasst werden können. Am Beispiel von Benzylalkohol wird ersichtlich, dass die Terme a und $c \cdot x$ am deutlichsten miteinander korrelieren. Bei besonders starker Korrelation besteht die Gefahr einer möglichen Überparametrisierung, sodass einer der Terme womöglich überflüssig ist und aus der definierten Funktion entfernt werden kann.

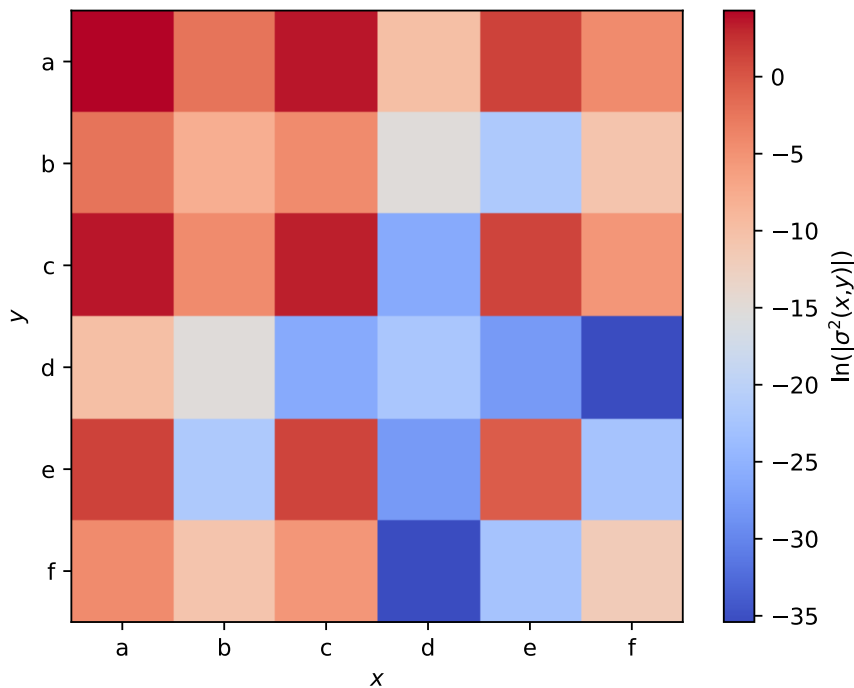


Abb. 4.30.: Logarithmischen Werte der Kovarianzmatrix $\sigma^2(x, y)$ für Benzylacrylat aus Abbildung 4.29 in Abhängigkeit der betrachteten Variablen.

Tab. 4.9.: Standardabweichungen σ der verwendeten Variablen aus Abbildung 4.30.

Variable	σ
a	8.548
b	$1.983 \cdot 10^{-2}$
c	5.021
d	$1.594 \cdot 10^{-5}$
e	$7.846 \cdot 10^{-1}$
f	$2.843 \cdot 10^{-3}$

Wird der komplette Datensatz aus 25 Punkten eingelesen, ergibt sich für Benzylacrylat ein globales Maximum von 86.64% bei $C_{\text{Acrylsäure}}=501.08$ mM und einem molaren Verhältnis Alkohol zu Acrylsäure von 3.55. Dies befindet sich in sehr guter Näherung zu dem experimentellen Wert von 83.89% bei $C_{\text{Acrylsäure}}=500$ mM und einem molaren Verhältnis Benzylalkohol zu Acrylsäure von 5. Hier ergibt sich die Frage, inwiefern der Algorithmus von der Größe des eingelesenen Datensatzes abhängig ist. Es ist wünschenswert, die benötigten Datenpunkte zu reduzieren, um den experimentellen Aufwand zu minimieren. Hierzu wurden für Benzylacrylat Datensätze mit unterschiedlicher Anzahl an Messwerten verwendet. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4.10 zusammengefasst. Es fällt auf, dass die Ergebnisse für 25 und 15 Datenpunkten sehr nah beieinander liegen. Erst bei 10 Datenpunkten wird eine niedrigere Substratkonzentration ermittelt, die signifikant vom experimentellen Optimum abweicht. Da nicht weniger Datenpunkte eingelesen werden können, als Parameter zum Fitten der Polynomfunktion verwendet werden, ist die kleinstmögliche Menge an Datenpunkten auf sechs limitiert. Hier nähern sich beide Reaktionsparameter dem experimentellen Optimum an. Dies ist ein unerwartetes Ergebnis, jedoch muss betont werden, dass die experimentellen Werte für Benzylacrylat grundsätzlich eine geringe Variation aufweisen.

Aus diesem Grund wurde zusätzlich Ethylacrylat ausgewählt, dessen experimentelle Werte eine breitere Streuung aufweisen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4.11 zusammengefasst. Erneut liegen die Werte für 25 und 15 Datenpunkte sehr nah

beieinander. Wird die Anzahl der Datenpunkte weiter reduziert, entfernt sich das gefundene Optimum sowohl für die x- als auch y-Koordinate. Für sechs Datenpunkte wird eine deutlich niedrigere Substratkonzentration ermittelt, während das molare Verhältnis von Alkohol zu Säure relativ nahe an dem wiederholt vorgefundenen Faktor von drei verbleibt. Trotz der Verschiebung auf der x-Achse befinden sich alle generierten Optima in direkter Nachbarschaft zum experimentellen Optimum von 73.58% bei $C_{\text{Acrylsäure}}=750$ mM und einem molaren Verhältnis Ethanol zu Acrylsäure von 2.

Der Nelder-Mead-Algorithmus wurde folgend für alle Substrate angewendet. Dabei wurden jeweils zehn Datenpunkte aus dem gesamten Datensatz ausgewählt, um zu zeigen, dass ein wesentlicher Teil des experimentellen Aufwands reduziert werden kann. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4.12 zusammengefasst. Es fällt auf, dass für mehrere Produkte Ausbeuten über 100% durch das Programm ermittelt wurden. Dies ist aus chemischer Sicht nicht nachvollziehbar und wird im weiteren Verlauf als vollständiger Umsatz der Acryl- beziehungsweise Methacrylsäure zum entsprechenden Ester betrachtet.

Zunächst konnte lediglich für sieben Verbindungen das Optimum gefunden werden, während die restlichen Verbindungen eine Fehlermeldung generierten. Weder eine Variation des Polynoms noch eine Erhöhung der maximalen Anzahl an Iterationen beziehungsweise Funktionsevaluationen konnten dieses Problem beheben. Der Nelder-Mead-Algorithmus selbst ist bekannt dafür relativ fehleranfällig zu

Tab. 4.10.: Optimale Reaktionsbedingungen und die dazugehörigen Ausbeuten für Benzylacrylat, die durch den Nelder-Mead-Algorithmus in Abhängigkeit der eingelesenen Datenpunkte ermittelt wurden.

Anzahl Datenpunkte	$C_{\text{Acrylsäure}} / \text{mM}$	Molares Verhältnis	Ausbeute / %
25	501.08	3.55	86.64
15	508.29	3.36	82.44
10	465.67	3.47	82.60
6	487.81	5.01	83.66

Tab. 4.11.: Optimale Reaktionsbedingungen und die dazugehörigen Ausbeuten für Ethylacrylat, die durch den Nelder-Mead-Algorithmus in Abhängigkeit der eingelesenen Datenpunkte ermittelt wurden.

Anzahl Datenpunkte	$C_{\text{Acrylsäure}} / \text{mM}$	Molares Verhältnis	Ausbeute / %
25	671.13	2.99	73.62
15	681.49	3.03	75.97
10	660.64	3.15	76.31
6	600.49	2.9	77.67

sein.^[155] Einerseits liegt es in der Natur des Simplex im Nelder-Mead-Algorithmus sich zu verkleinern, wodurch das Risiko besteht, fälschlicherweise lokale Optima als Lösung wiederzugeben. Dies wurde beispielsweise von McKinnon für eine Familie konvexer Funktionen abhängig von zwei Variablen gezeigt, wobei wiederholt die Kontraktion erfolgte.^[156] Andererseits kann nach dem letzten Iterationsschritt der Fall eintreten, dass das Konvergenzkriterium nicht erfüllt wird, was bedeutet, dass die Standardabweichung der finalen Funktionswerte einen intern festgelegten Grenzwert nicht unterschreitet. Erst durch die Nutzung der *bounds* Option konnten die restlichen Produkte erfolgreich analysiert werden. Dies definiert das Intervall für die x- und y-Koordinate, in dem das Optimum gesucht wird. Bei der Betrachtung der Funktionen bei denen eine Fehlermeldung auftrat, ist auffällig, dass diese oftmals stetig abfallende Funktionen darstellten. Dies führt ständig zu neuen Minima ohne Erfüllung des Abbruchkriteriums, trotz erhöhter Anzahl an Iterationsschritten.

Grundsätzlich zeigen die berechneten Werte aus Tabelle 4.12 eine gute Übereinstimmung mit den experimentellen Werten aus Tabelle 4.8. Für eine Vielzahl von Produkten führten mehrere Experimente zu einer Ausbeute im Bereich von 99%. Häufig war dies für eine definierte Konzentration an Acrylsäure $C_{\text{Acrylsäure}}$ zu beobachten. In diesen Fällen zeigte der Nelder-Mead-Algorithmus eine hohe Übereinstimmung mit der x-Koordinate $C_{\text{Acrylsäure}}$ und eine signifikante Abweichung für die y-Koordinate, die das Stoffmengenverhältnis von Alkohol zu Säure wiedergibt.

Tab. 4.12.: Optimale Reaktionsbedingungen und die dazugehörigen Ausbeuten für die Acrylate, die durch den Nelder-Mead-Algorithmus optimiert wurden.

Verbindung -acrylat	$C_{\text{Acrylsäure}} / \text{mM}$	Molares Verhältnis	Ausbeute / %
Methyl	100	3.45	97.73
Ethyl	660.64	3.15	76.31
<i>n</i> -Butyl	100	3.47	94.01
<i>sec</i> -Butyl	100	3.31	103.35
<i>iso</i> -Butyl	100	10	104.94
1-Hexyl	233.81	2.3	101.58
2-Ethylhexyl	100	4.39	125.85
Cyclohexyl	100	3.19	84.73
1-Octyl	460.29	3.27	92.28
Benzyl	465.67	3.47	82.60
2-Phenylethyl	100	5.11	100.73
2-Methoxyethyl	100	2.31	102.05
Dimethylaminoethyl	100	10	8.15
β -Cyanoethyl	100	3.83	54.45
2-Chlorethyl	340.03	3.68	61.76
2-Bromethyl	100	1.60	58.29
2-Hydroxyethyl	100	5.89	110.27
1-Hexylmeth	100	10	100.44
2-Phenylethylmeth	283.32	2.42	54.25

Beispiele für ein solches Verhalten zeigen unter anderem 2-Ethylhexylacrylat, 2-Methoxyethylacrylat, 2-Hydroxyethylacrylat und 1-Hexylmethacrylat. Die theoretischen Reaktionsbedingungen wurden experimentell überprüft. Dabei wurde sich auf die Verbindungen beschränkt, die mit einer Ausbeute kleiner als 99% synthetisiert wurden. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4.13 zusammengefasst. Der Nelder-Mead-Algorithmus prognostizierte für vier Produkte eine höhere Maximalausbeute. Diese sind in Tabelle 4.13 zuerst aufgeführt. Lediglich Ethylacrylat zeigte dabei

Tab. 4.13.: Vergleich der berechneten Ausbeuten $Ausbeute_{theo}$ und experimentellen Ausbeuten $Ausbeute_{exp}$.

Verbindung -acrylat	$Ausbeute_{theo} / \%$	$Ausbeute_{exp} / \%$
Ethyl	76.31	81 ± 1.0
2-Bromethyl	58.29	42 ± 6.6
<i>iso</i> -Butyl	104.94	73 ± 3.3
Dimethylaminoethyl	8.15	3.0 ± 0.7
β -Cyanoethyl	54.45	47 ± 3.2
2-Chlorethyl	61.76	58 ± 1.5
2-Methoxyethyl	102.05	76 ± 0.9
Cyclohexyl	84.73	87 ± 3.8
Benzyl	82.60	78 ± 3.9
2-Phenylethylmeth	54.25	76 ± 4.1

eine verbesserte Ausbeute von etwa 7%, verglichen mit dem bisherigen experimentellen Maximum. Gleichzeitig entspricht das einem Zuwachs von nahezu 5%, verglichen mit der theoretisch berechneten Ausbeute. Für 2-Bromethyl-, *iso*-Butyl und Dimethylaminoethylacrylat konnte weder die theoretische Ausbeute erreicht, noch die bisherige Maximalausbeute übertroffen werden. Gerade *iso*-Butylacrylat zeigt eine deutliche Abweichung zwischen der experimentellen und theoretischen Ausbeute. Dies ist auf den deutlichen Überschuss der Alkoholkomponente zurückzuführen, was mathematisch zwar einer korrekten Lösung entspricht, chemisch gesehen jedoch hinterfragt werden muss. Generell sollten solche Wertepaare, die sich an den Rändern des erlaubten Optimierungsintervalls der *bounds* Option befinden, besonders kritisch evaluiert werden. Hierzu wurde zusätzlich 1-Hexylmethacrylat entsprechend der Bedingungen aus Tabelle 4.12 synthetisiert. Bei einer Substratkonzentration $C_{Methacrylsäure} = 100$ mM und einem zehnfachen Überschuss an Hexanol ergab sich eine Ausbeute von $42 \pm 4.3\%$, obwohl der vollständige Umsatz durch den Nelder-Mead-Algorithmus vorhergesagt wurde. Für die restlichen Einträge aus Tabelle 4.13 wurde eine Ausbeute prognostiziert, die unter dem bisherigen experimentellen Maximum lag. Nichtsdestotrotz wurden diese berechneten Reaktionsbedin-

gungen überprüft. Für 2-Chlorethyl-, Cyclohexyl und Benzylacrylat konnten sehr gute Übereinstimmungen mit den dazugehörigen experimentellen Werten gefunden werden. Für β -Cyanoethyl- und besonders 2-Methoxyethylacrylat zeigten sich deutlichere Abweichungen zwischen den Ausbeuten. Möglicherweise liegt dieses Verhalten in der ungenügenden Qualität der genutzten Polynomfunktionen begründet. Hierbei muss beachtet werden, dass für diese Verbindungen Reaktionsbedingungen ermittelt wurden, die sehr ähnlich zu bereits durchgeführten Experimenten aus Abbildung 4.24 beziehungsweise Abbildung 4.20 sind. Mit den ähnlichsten Parametern für β -Cyanoethylacrylat ($C_{\text{Acrylsäure}}=100$ mM; Stoffmengenverhältnis von Alkohol zu Säure=4) ergibt sich eine Abweichung von 0% verglichen mit der Ausbeute aus Tabelle 4.13. Für 2-Methoxyethylacrylat ($C_{\text{Acrylsäure}}=100$ mM; Stoffmengenverhältnis von Alkohol zu Säure=2) ergibt sich eine Abweichung von 11% verglichen mit der Ausbeute aus Tabelle 4.13. Ein abgewandeltes Verhalten zeigt 2-Phenylethylmethacrylat. Hier konnte mithilfe der berechneten Reaktionsbedingungen eine wesentlich größere Ausbeute erzielt werden, als durch den Nelder-Mead-Algorithmus vorhergesagt wurde. Das bisherige Maximum von 62% konnte ebenfalls übertroffen werden.

Zusammengefasst ist festzuhalten, dass der Nelder-Mead-Algorithmus dafür geeignet ist, eine erste Abschätzung zur Bestimmung der besten Reaktionsparameter zu ermöglichen. Hierdurch kann der experimentelle Aufwand deutlich reduziert werden. Gleichzeitig muss erwähnt werden, dass bei der Prüfung der berechneten Reaktionsparameter nur vier der Produkte eine experimentelle Ausbeute zeigten, die vergleichbar mit der theoretischen Ausbeute ist. In zwei Fällen war es dabei möglich, eine neue Höchstausbeute zu erreichen. Womöglich sind für die restlichen Produkte mehr eingeleseene Datenpunkte notwendig, um die Qualität der Polynomfunktion zu verbessern, was das Endergebnis des Nelder-Mead-Algorithmus beeinflussen kann. Grundsätzlich müssen die berechneten Reaktionsbedingungen stets kontrolliert werden.

Neben dem Nelder-Mead-Algorithmus existieren weitere Algorithmen zur Optimierung. Gruber-Wölfler *et al.* untersuchten hierzu 15 dieser Algorithmen, welche keine Ableitungen benötigen, an einer Reihe mathematischer Funktionen, wie bei-

spielsweise der Rosenbrock und Himmelblau Funktion. Zudem wurde eine Suzuki-Kreuzkupplungsreaktion zur Synthese von 4-Phenylphenol als Beispielreaktion verwendet. Es konnte gezeigt werden, dass Algorithmen existieren, die in mehr Fällen konvergieren oder weniger Iterationsschritte brauchen oder beide Vorteile aufweisen.^[157] Der Nelder-Mead-Algorithmus besitzt dennoch eine gewisse Bedeutung, die auf seiner Einfachheit und der geringen in Anspruch genommenen Rechenkapazität beruhen.^[158] Die Anwendung solcher Algorithmen erfolgt oftmals in kontinuierlich betriebenen Reaktorkonzepten in Kombination mit online-Analytik zur Datenaufnahme.^[159]

4.6. Mikroreaktor

Obwohl die kontinuierliche Reaktionsführung in verschiedenen Bereichen der Chemie bereits etabliert ist, bleibt der Einsatz in der Biokatalyse eine weniger häufige Erscheinung.^[160–162] Neben des verbesserten Wärme- und Stofftransports ermöglicht die kontinuierliche Reaktionsführung aufgrund der geringen Volumina einen sicheren Weg, verglichen mit Reaktionen im Satzreaktor, um gefährliche Verbindungen in einen Prozess zu integrieren.^[163,164] Damit sollen die Vorteile der Enzymkatalyse mit einer verbesserten Raum-Zeit-Ausbeute verbunden werden, um aus dem Labor- in den Industriemaßstab überzugehen.^[165–167]

Für diese Arbeit wurde erneut die Veresterung von *n*-Butanol ausgewählt, da es das industriell wichtigste Substrat darstellt. Die hier gezeigten Reaktionen erfolgten mit den unbeschichteten N435 Katalysator. Zu Beginn wurde ein Strömungsrohrreaktor getestet. Ein Bild des Versuchsaufbaus ist in Abbildung 4.31 dargestellt. Der Auslass wurde in einem separaten Gefäß aufgefangen und entsprechend der Anleitung in Kapitel 3.3.1 mittels GC analysiert.



Abb. 4.31.: Mikroreaktor im Strömungsrohr Konzept. Von links nach rechts: Einlass, Drucksensor, Kartuschenreaktor, Überdruckventil, Rückdruckregler und Auslass.

4.6.1. Strömungsrohr

Im Strömungsrohraufbau wurden verschiedene Flussraten getestet, die wiederum zu unterschiedlichen Verweilzeiten führen. Die bestimmte Ausbeute sowie Raum-Zeit-Ausbeute sind in Tabelle 4.14 zusammengefasst und in Abbildung 4.32 dargestellt. Die Ergebnisse zeigen, dass eine geringere Flussrate die Ausbeute positiv beeinflusst. Dies ist mit der längeren Verweilzeit zu begründen. Auf der anderen Seite zeigt die Raum-Zeit-Ausbeute keinen eindeutigen Verlauf. Die hohe Ausbeute, die bei einer Flussrate von $0.01 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ erzielt wurde, wird durch die wesentlich längere Reaktionsdauer kompensiert. Zusätzlich muss hier ein kritischer Faktor betont werden, der bei den Experimenten häufig auftrat. Für Flussraten kleiner als $0.1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ konnte oftmals der plötzliche Stopp des Flusses beobachtet werden. Dies erforderte das Wiederholen einiger Experimente, um representative Daten zu erhalten. Diese Problematik ist bei Kolbenpumpen, wie sie hier verwendet wurden, bekannt.^[168] Es muss ein Kompromiss zwischen Geschwindigkeit und Verweilzeit gefunden werden, um eine effiziente Umsetzung zu gewährleisten.

4. Ergebnisse

Tab. 4.14.: Ausbeuten für *n*-Butylacrylat aus der Veresterung von Acrylsäure und *n*-Butanol im Strömungsrohrreaktor. Reaktionsbedingungen: 10 mL Reaktionsvolumen mit Acrylsäure (1 M, 0.686 mL), *n*-Butanol (2 M, 1.83 mL) und Cyclohexan (7.48 mL), 750 mg Katalysator, 25 °C.

Flussrate / mL·min ⁻¹	Ausbeute / %	Raum-Zeit-Ausbeute / g·L ⁻¹ ·h ⁻¹
0.5	0.7±0.02	14.7
0.4	0.9±0.03	13.5
0.3	1.4±0.14	15.3
0.2	2.9±0.04	18.9
0.1	6.8±0.24	14.6
0.05	17±0.97	19.7
0.01	21±0.49	12.6

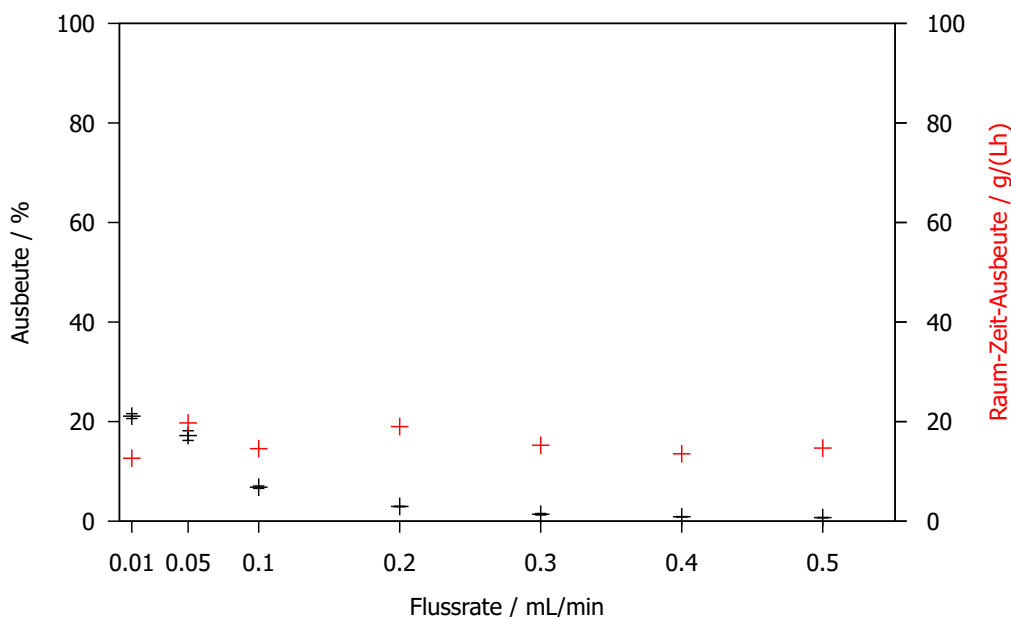


Abb. 4.32.: Ausbeuten und Raum-Zeit-Ausbeuten für *n*-Butylacrylat aus der Veresterung von Acrylsäure und *n*-Butanol im Strömungsrohrreaktor. Reaktionsbedingungen: 10 mL Reaktionsvolumen mit Acrylsäure (1 M, 0.686 mL), *n*-Butanol (2 M, 1.83 mL) und Cyclohexan (7.48 mL), 750 mg Katalysator, 25 °C.

4.6.2. Satzreaktor

Da eine längere Kontaktzeit mit dem Katalysator die Ausbeute positiv beeinflusst, wurde als zweites Konzept ein geschlossener Kreislauf untersucht. Dabei wurde der Auslass des Mikroreaktors in das Schraubdeckelglas eingeführt, welches die Reaktionslösung enthält. Dadurch arbeitet der Mikroreaktor als Satzreaktor bei dem die HPLC Pumpe der Vermischung der Ausgangsstoffe die nt. Nach zahlreichen Testversuchen hat sich eine an der HPLC Pumpe eingestellte Fließgeschwindigkeit von $2 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ unter Verwendung des Rückdruckreglers als beste Geräteeinstellung etabliert. Dies führt zu einer mittleren Fließgeschwindigkeit von $0.52 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$. Die Ergebnisse sind in Abbildung 4.33 dargestellt, wobei stündlich eine Probe genommen wurde.

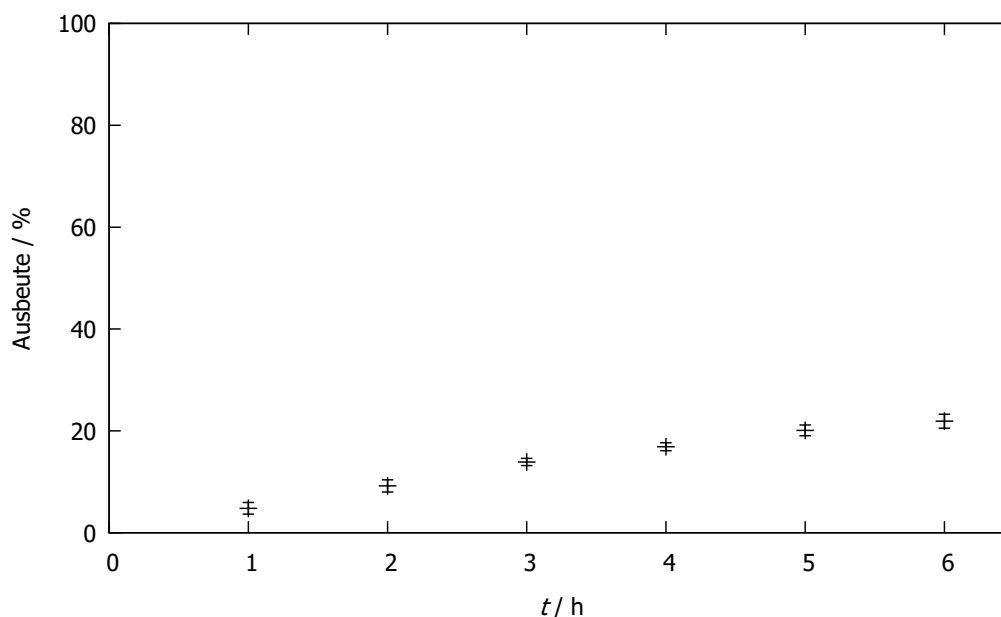


Abb. 4.33.: Ausbeuten für *n*-Butylacrylat aus der Veresterung von Acrylsäure und *n*-Butanol im Satzreaktorbetrieb. Reaktionsbedingungen: 10 mL Reaktionsvolumen mit Acrylsäure (1 M, 0.686 mL), *n*-Butanol (2 M, 1.83 mL) und Cyclohexan (7.48 mL), 750 mg Katalysator, 25 °C, 6 h.

Nach sechs Stunden konnte eine Ausbeute von 22% erreicht werden. Dies entspricht einer Raum-Zeit-Ausbeute von $23.35 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$, was die höchste Raum-Zeit-Ausbeute aller durchgeführten Experimente darstellt. Dieser Wert ist zudem sehr nahe am zu erfüllenden Kriterium nach Liese *et al.* für die Produktion von Bulkchemikalien, zu denen auch *n*-Butylacrylat einzuordnen ist.^[11,169,170] Der Einsatz des GMIM-I Katalysators wurde ebenfalls im Satzreaktorbetrieb untersucht. Der Vergleich mit dem unbeschichteten Katalysator ist in Tabelle 4.15 gegenübergestellt. Der positive Effekt der IL kommt in diesem Fall nicht zur Geltung. Generell liegen die Werte sehr nahe beieinander. Dies lässt vermuten, dass die IL keinen Einfluss auf die Kinetik der Reaktion hat und somit nicht den positiven Effekt ausübt, der in Kapitel 4.1 beschrieben wurde.

Im Folgenden wurde auch hier ein Konzentrationsscreening durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Abbildung 4.34 sowie Tabelle 4.16 dargestellt. Hier zeigt sich,

Tab. 4.15.: Ausbeuten für *n*-Butylacrylat aus der Veresterung von Acrylsäure und *n*-Butanol im Satzreaktorbetrieb für den unbeschichteten sowie beschichteten N435 Katalysator. Reaktionsbedingungen: 10 mL Reaktionsvolumen mit Acrylsäure (1 M, 0.686 mL), *n*-Butanol (2 M, 1.83 mL) und Cyclohexan (7.48 mL), 750 mg Katalysator, 25 °C, 6 h.

t / h	Ausbeute N435 / %	Ausbeute GMIM-I / %
1	4.8±1.1	3.1±0.9
2	9.2±1.2	9.4±1.5
3	14±0.7	13±1.4
4	17±0.8	16±1.2
5	20±1.1	20±1.4
6	22±1.4	23±0.78

dass die Ausbeute im Mikroreaktor positiv beeinflusst wird, wenn die Substratkonzentration $C_{\text{Acrylsäure}}$ von 1 M auf 0.5 M reduziert wird. Dabei wird die Ausbeute um den Faktor 1.68 erhöht. Eine noch stärker verdünnte Reaktionslösung zeigt lediglich einen marginalen Effekt auf die Ausbeute. Dies beeinflusst zudem die Raum-Zeit-Ausbeute. Das bisherige Maximum konnte bei einer reduzierten Substratkonzentration von 0.5 M nicht erreicht werden, da die absolute Produktmenge an *n*-Butylacrylat zu gering ist. Für 0.1 M ist die Raum-Zeit-Ausbeute erwartungsgemäß nicht kompetitiv zu den bisherigen Experimenten, da der Zugewinn bei der Ausbeute zu gering ausfällt.

Tab. 4.16.: Ausbeuten und Raum-Zeit-Ausbeuten für *n*-Butylacrylat aus der Veresterung von Acrylsäure und *n*-Butanol im Satzreaktorbetrieb für verschiedene Substratkonzentrationen $C_{\text{Acrylsäure}}$.

$C_{\text{Acrylsäure}} / \text{M}$	Ausbeute / %	Raum-Zeit-Ausbeute / $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$
1	22±1.4	23.35
0.5	37±1.9	19.03
0.1	40±1.9	4.17

4. Ergebnisse

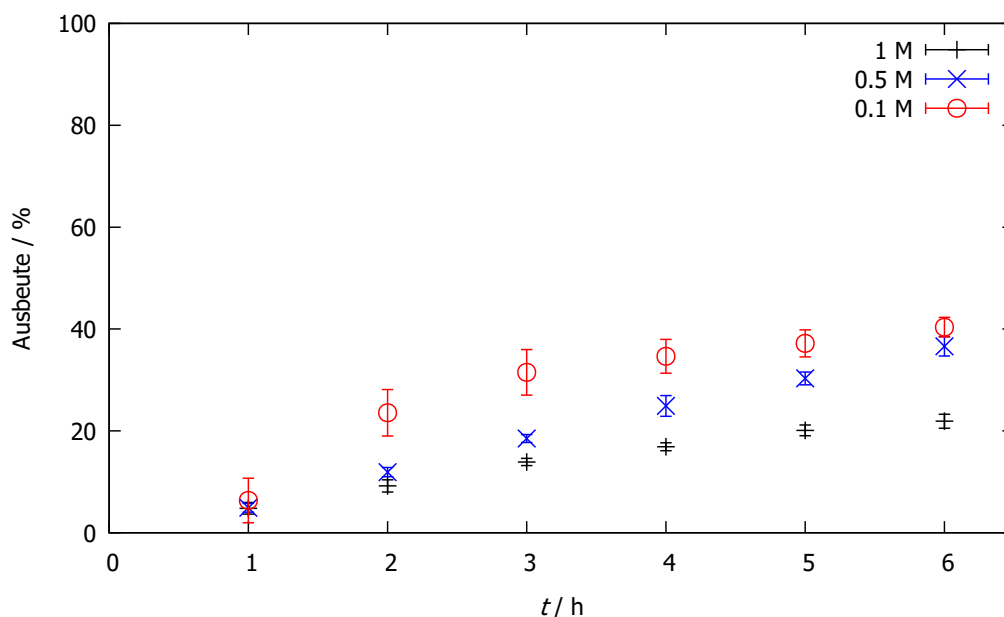


Abb. 4.34.: Ausbeuten für *n*-Butylacrylat aus der Veresterung von Acrylsäure und *n*-Butanol im Satzreaktorbetrieb. Reaktionsbedingungen: 750 mg Katalysator, 25 °C, 6 h
schwarz: Acrylsäure (1 M, 0.686 mL), *n*-Butanol (2 M, 1.83 mL) und Cyclohexan (7.48 mL)
blau: Acrylsäure (0.5 M, 0.343 mL), *n*-Butanol (1 M, 0.915 mL) und Cyclohexan (8.74 mL)
rot: Acrylsäure (0.1 M, 0.069 mL), *n*-Butanol (0.2 M, 0.183 mL) und Cyclohexan (9.75 mL)

Bei dem Experiment aus Kapitel 4 mit der höchsten Produktkonzentration von 738 mM ($C_{\text{Acrylsäure}}=1000\text{ mM}$, Molares Verhältnis 1:4) ergibt sich eine Raum-Zeit-Ausbeute von $1.97\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$. Hier ist allerdings nur begrenzte Vergleichbarkeit gegeben, da sowohl die Reaktionsdauer als auch die Katalysatormenge unterschiedlich sind. Aus diesem Grund wurde ein weiteres Experiment im Thermoshaker durchgeführt mit identischen Reaktionsbedingungen. Dabei wurde eine Ausbeute von $36\%\pm 2.2\%$ in sechs Stunden erreicht, was einer Raum-Zeit-Ausbeute von $3.87\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ entspricht. Somit konnte durch die Durchführung im Mikroreaktor

eine Steigerung der Produktivität um den Faktor sechs ermöglicht werden. Das beruht nicht auf einem gesteigerten Produktstrom, wie an den ähnlichen Ausbeuten zu sehen ist, sondern an dem geringen Reaktorvolumen des Kartuschenreaktors. Hierbei muss erwähnt werden, dass das Baukastenprinzip des Mikroreaktors eine vergleichsweise einfache Prozessintensivierung ermöglicht. Beispielsweise kann die zylindrische Kammer, die den Katalysator beinhaltet, vergrößert werden. Dies ermöglicht eine größere Verweilzeit, deren Wichtigkeit bereits diskutiert wurde. Ein Aufbau mehrerer Reaktoren in Reihe ist ebenfalls denkbar, wobei diese optional zugeschaltet werden können, um die Produktion dem Bedarf entsprechend anzupassen. Darüber hinaus muss beachtet werden, dass das Trägermaterial durch magnetisches Rühren beschädigt werden kann.^[41,171] Der Einsatz der HPLC Pumpe für diese Funktion umgeht die Problematik der Stabilität. Eine andere Möglichkeit zur Verbesserung der mechanischen Stabilität kann durch eine Silikonbeschichtung von N435 erreicht werden, bei der gleichzeitig die Enzymaktivität weitestgehend beibehalten werden kann.^[172,173]

5. Zusammenfassung und Ausblick

In dieser Arbeit wurde die biokatalytische Synthese von *n*-Butylacrylat aus Acrylsäure und *n*-Butanol mithilfe von Novozym 435 als Katalysator untersucht. Der Katalysator wurde dabei mit unterschiedlichen Imidazolium-basierten ILs sowie ILs auf Glucose Basis beschichtet, um eine *supported ionic liquid phase* aufzubauen. Es konnte gezeigt werden, dass das Vorhandensein einer Hydroxygruppe essenziell ist, um einen maximalen Zuwachs in der Ausbeute zu erreichen. Als beste ILs zur Beschichtung haben sich HO-EMIM-NTf₂ und GMIM-I erwiesen. Beide ILs ermöglichten eine Ausbeute von 67%. Dabei zeigte sich bei der Rezyklierung des Katalysators, dass GMIM-I verglichen mit HO-EMIM-NTf₂ sowie den mit CaLB und IL beschichteten Kohlenstoffnanoröhren von Chrobok *et al.* überlegen ist, da die Ausbeute ohne merklichen Verlust für 10 Zyklen aufrecht erhalten werden konnte. Die GMIM-I Beschichtung auf der Oberfläche des Novozym Katalysators konnte mithilfe von Rasterelektronenmikroskopie nachgewiesen werden. Folgend wurde die Synthese des *n*-Butylacrylats weiter untersucht. Der Katalysatorbedarf konnte reduziert werden sowie die Auswirkung der Polarität des Lösungsmittels auf die Ausbeute charakterisiert werden. Die Reaktionsbedingungen wurden in Bezug auf die Substratkonzentration und das Stoffmengenverhältnis von *n*-Butanol zu Acrylsäure variiert, wodurch auch für den mit GMIM-I beschichteten N435 Katalysator eine vollständige Ausbeute erreicht werden konnte. Dieses Screening wurde um 16 weitere Acrylate und zwei Methacrylate erweitert, wobei für 11 Produkte erstmals eine biokatalytische Umsetzung gezeigt wurde. Neun Ester wurden mit Ausbeuten von 99% synthetisiert.

Da bei der Durchführung eines solchen Screenings nur ein Parameter pro Experiment geändert wird, gestalten sich Untersuchungen zur Konzentrations-, Temperatur- oder Druckabhängigkeit als sehr aufwendig in Bezug auf die investierte Zeit sowie die Ressourcen. Durch den Einsatz des Nelder-Mead-Algorithmus lässt sich dieser Aufwand reduzieren und eine erste Einschätzung der voraussichtlich optimalen Reaktionsbedingungen ermöglichen. Der minimal notwendige Datensatz ist dabei mit der Anzahl der Parameter der verwendeten Funktion verknüpft. Dieses Verfahren lässt sich ebenfalls auf andere Reaktionskonzepte übertragen, in denen mehrere Einflussfaktoren untersucht werden sollen. Beispielsweise kann bei der Evaluation verschiedener Katalysatoren in einer Reaktion der Durchsatz erhöht werden.

Die enzymatische Umsetzung von *n*-Butanol mit Acrylsäure wurde ebenfalls unter kontinuierlichen Reaktionsbedingungen durchgeführt, wobei dies so noch nicht publiziert wurde. Einerseits konnte die Reaktion im Strömungsrohraufbau erfolgreich durchgeführt werden. Dabei konnte festgestellt werden, dass eine längere Verweilzeit die Ausbeute signifikant beeinflusst. Andererseits wurde der Reaktor als Satzreaktor eingesetzt, in dem die HPLC-Pumpe die Rührerfunktion inne hat. Dieser Aufbau erwies sich als geeignet, um die Raum-Zeit-Ausbeute zu maximieren. Zusätzlich wurde der Einfluss der Konzentration auf die Raum-Zeit-Ausbeute untersucht. Durch die niedrigere Substratkonzentration von Acrylsäure und *n*-Butanol kann die Ausbeute erhöht werden, jedoch muss dabei eine niedrigere Raum-Zeit-Ausbeute in Kauf genommen werden. Dies muss bei einer eventuellen großtechnischen Produktionsanlage kritisch evaluiert werden. Aufgrund der vergleichsweise niedrigen Ausbeute muss der Rückgewinnung nicht umgesetzter Ausgangsstoffe eine hohe Bedeutung beigemessen werden. Hierzu wäre eine *in-situ* Abtrennung des Produktesters wünschenswert. Aufgrund der thermischen Instabilität der Acrylverbindungen ist eine Destillation nicht möglich. Eine Extraktion wäre hier leichter zu integrieren, gerade im Satzreaktorbetrieb wäre eine Gleich- oder Gegenstromführung möglich. Durch den Alkylrest am Ester ist eine sinkende Polarität im Vergleich mit der Säure und dem Alkohol zu erwarten. Problematisch ist hier, dass bereits ein sehr hydrophobes Medium eingesetzt wird. Es könnte zielführender sein,

eine reduzierte Ausbeute durch polarere Lösungsmittel zu akzeptieren, um dann mit einem unpolaren Lösungsmittel zu extrahieren. Eine weitere Möglichkeit zur Optimierung der Synthese im Mikroreaktor abseits der *in-situ* Abtrennung ist der Einsatz von Molsieben. Diese können in der Reaktorkartusche eingesetzt werden, was jedoch die Katalysatormenge reduzieren würde, oder in einem zusätzlichen Modul, welches die Molsiebe beinhaltet. Dadurch kann das entstehende Wasser, welches als Nebenprodukt bei der Veresterung anfällt, entfernt werden und somit das Gleichgewicht auf die Produktseite verschoben werden.

Literatur

- [1] C. M. Heckmann, F. Paradisi, “Looking Back: A Short History of the Discovery of Enzymes and How They Became Powerful Chemical Tools”, *ChemCatChem* **2020**, *12*, 6082–6102.
- [2] J. Gal, “The discovery of biological enantioselectivity: Louis Pasteur and the fermentation of tartaric acid, 1857—A review and analysis 150 yr later”, *Chirality* **2008**, *20*, 5–19.
- [3] R. Kohler, “The background to Eduard Buchner’s discovery of cell-free fermentation”, *J. Hist. Biol.* **1971**, *4*, 35–61.
- [4] L. Jaenicke, “Centenary of the Award of a Nobel Prize to Eduard Buchner, the Father of Biochemistry in a Test Tube and Thus of Experimental Molecular Bioscience”, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 6776–6782.
- [5] N. J. Turner, “Directed evolution of enzymes for applied biocatalysis”, *Trends Biotechnol.* **2003**, *21*, 474–478.
- [6] S. Luetz, L. Giver, J. Lalonde, “Engineered enzymes for chemical production”, *Biotechnol. Bioeng.* **2008**, *101*, 647–653.
- [7] M. T. Reetz, “Biocatalysis in Organic Chemistry and Biotechnology: Past, Present, and Future”, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 12480–12496.
- [8] R. K. Singh, M. K. Tiwari, R. Singh, J.-K. Lee, “From Protein Engineering to Immobilization: Promising Strategies for the Upgrade of Industrial Enzymes”, *Int. J. Mol. Sci.* **2013**, *14*, 1232–1277.
- [9] K. Faber, *Biotransformations in Organic Chemistry. A Textbook*, Springer International Publishing, **2018**.

- [10] R. A. Sheldon, J. M. Woodley, “Role of Biocatalysis in Sustainable Chemistry”, *Chem. Rev.* **2018**, *118*, 801–838.
- [11] L. Andreas, K. Seelbach, C. Wandrey, *Industrial Biotransformations*, Wiley-VCH, **2006**.
- [12] K. Buchholz, V. Kasche, U. T. Bornscheuer, *Biocatalysts and Enzyme Technology*, Wiley-VCH, **2005**.
- [13] Y. Ni, D. Holtmann, F. Hollmann, “How Green is Biocatalysis? To Calculate is To Know”, *ChemCatChem* **2014**, *6*, 930–943.
- [14] P. Anastas, N. Eghbali, “Green Chemistry: Principles and Practice”, *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 301–312.
- [15] P. T. Anastas, J. C. Warner, *Green Chemistry: Theory and Practice*, Oxford University Press, **1998**.
- [16] R. K. Henderson, C. Jiménez-González, C. Preston, D. J. Constable, J. M. Woodley, “EHS & LCA assessment for 7-ACA synthesis A case study for comparing biocatalytic & chemical synthesis”, *Ind. Biotechnol.* **2008**, *4*, 180–192.
- [17] C. Christ, *Production-Integrated Environmental Protection and Waste Management in the Chemical Industry*, Wiley-VCH, **1999**.
- [18] S. Illner, R. Plagemann, P. Saling, U. Kragl, “Eco-efficiency analysis as a reaction-engineering tool—Case study of a laccase-initiated oxidative C–N coupling”, *J. Mol. Catal. B Enzym.* **2014**, *102*, 106–114.
- [19] J.-W. Chen, W.-T. Wu, “Regeneration of immobilized *Candida antarctica* lipase for transesterification”, *J. Biosci. Bioeng.* **2003**, *95*, 466–469.
- [20] M. M. Soumanou, U. T. Bornscheuer, “Improvement in lipase-catalyzed synthesis of fatty acid methyl esters from sunflower oil”, *Enzyme Microb. Technol.* **2003**, *33*, 97–103.

-
- [21] M. Raita, N. Laosiripojana, V. Champreda, “Biocatalytic methanolysis activities of cross-linked protein-coated microcrystalline lipase toward esterification/transesterification of relevant palm products”, *Enzyme Microb. Technol.* **2015**, *70*, 28–34.
- [22] L. Azócar, G. Ciudad, H. J. Heipieper, R. Muñoz, R. Navia, “Improving fatty acid methyl ester production yield in a lipase-catalyzed process using waste frying oils as feedstock”, *J. Biosci. Bioeng.* **2010**, *109*, 609–614.
- [23] M. Babaki, M. Yousefi, Z. Habibi, M. Mohammadi, P. Yousefi, J. Mohammadi, J. Brask, “Enzymatic production of biodiesel using lipases immobilized on silica nanoparticles as highly reusable biocatalysts: effect of water, t-butanol and blue silica gel contents”, *Renew. Energy* **2016**, *91*, 196–206.
- [24] P. Lozano, E. García-Verdugo, J. M. Bernal, D. F. Izquierdo, M. I. Burguete, G. Sánchez-Gómez, S. V. Luis, “Immobilised Lipase on Structured Supports Containing Covalently Attached Ionic Liquids for the Continuous Synthesis of Biodiesel in scCO₂”, *ChemSusChem* **2012**, *5*, 790–798.
- [25] S. Moayedallaie, M. Mirzaei, J. Paterson, “Bread improvers: Comparison of a range of lipases with a traditional emulsifier”, *Food Chem.* **2010**, *122*, 495–499.
- [26] S. Ramarethinam, K. Latha, N. Rajalakshmi, “Use of a Fungal Lipase for Enhancement of Aroma in Black Tea”, *Food. Sci. Technol. Res.* **2002**, *8*, 328–332.
- [27] L. R. Gerits, B. Pareyt, K. Decamps, J. A. Delcour, “Lipases and Their Functionality in the Production of Wheat-Based Food Systems”, *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* **2014**, *13*, 978–989.
- [28] P. Torres, D. Reyes-Duarte, N. López-Cortés, M. Ferrer, A. Ballesteros, F. J. Plou, “Acetylation of vitamin E by *Candida antarctica* lipase B immobilized on different carriers”, *Process Biochem.* **2008**, *43*, 145–153.

- [29] A. Sikora, T. Siódmiak, M. P. Marszałł, “Kinetic Resolution of Profens by Enantioselective Esterification Catalyzed by *Candida antarctica* and *Candida rugosa* Lipases”, *Chirality* **2014**, *26*, 663–669.
- [30] L. Ye, B. Zhang, E. G. Seviour, K. xiong Tao, X. hua Liu, Y. Ling, J. ying Chen, G. bin Wang, “Monoacylglycerol lipase (MAGL) knockdown inhibits tumor cells growth in colorectal cancer”, *Cancer Lett.* **2011**, *307*, 6–17.
- [31] G. F. Grabner, R. Zimmermann, R. Schicho, U. Taschler, “Monoglyceride lipase as a drug target: At the crossroads of arachidonic acid metabolism and endocannabinoid signaling”, *Pharmacol. Ther.* **2017**, *175*, 35–46.
- [32] W. Bonrath, R. Karge, T. Netscher, “Lipase-catalyzed transformations as key-steps in the large-scale preparation of vitamins”, *J. Mol. Catal. B Enzym.* **2002**, *19-20*, 67–72.
- [33] Y. Meng, S. Li, H. Yuan, D. Zou, Y. Liu, B. Zhu, X. Li, “Effect of lipase addition on hydrolysis and biomethane production of Chinese food waste”, *Bioresour. Technol.* **2015**, *179*, 452–459.
- [34] T. V. Adulkar, V. K. Rathod, “Pre-treatment of high fat content dairy wastewater using different commercial lipases”, *Desalination Water Treat.* **2015**, *53*, 2450–2455.
- [35] G. Dors, A. Mendes, E. Pereira, H. Castro, A. Furigo Jr, “Simultaneous enzymatic hydrolysis and anaerobic biodegradation of lipid-rich wastewater from poultry industry”, *Appl. Water Sci.* **2013**, *3*.
- [36] J. Nagarajan, N. Mohammad Nawawi, A. Ibrahim, “*Rhodococcus* UKMP-5M, an endogenous lipase producing actinomycete from Peninsular Malaysia”, *Biologia* **2014**, *69*.
- [37] S. M. Basheer, S. Chellappan, P. Beena, R. K. Sukumaran, K. Elyas, M. Chandrasekaran, “Lipase from marine *Aspergillus awamori* BTMFW032: Production, partial purification and application in oil effluent treatment”, *New Biotechnol.* **2011**, *28*, 627–638.

- [38] I. Bhushan, A. Kumar, G. Modi, S. Jamwal, “Chiral resolution of differently substituted racemic acetyl-1-phenyl ethanol using lipase from *Bacillus subtilis*”, *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **2011**, *86*, 315–318.
- [39] K. Tanaka, K. Yoshida, C. Sasaki, Y. T. Osano, “Practical Asymmetric Synthesis of the Herbicide (S)-Indanofan via Lipase-Catalyzed Kinetic Resolution of a Diol and Stereoselective Acid-Catalyzed Hydrolysis of a Chiral Epoxide”, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 3131–3133.
- [40] A. Sigmund, W. Hong, R. Shapiro, R. DiCosimo, “Chemoenzymatic Synthesis of cis-4-Hydroxy-D-proline”, *Adv. Synth. Catal.* **2001**, *343*, 587–590.
- [41] C. Ortiz, M. L. Ferreira, O. Barbosa, J. C. S. dos Santos, R. C. Rodrigues, A. Berenguer-Murcia, L. E. Briand, R. Fernandez-Lafuente, “Novozym 435: the “perfect” lipase immobilized biocatalyst?”, *Catal. Sci. Technol.* **2019**, *9*, 2380–2420.
- [42] L. Sarda, P. Desnuelle, “Action de la lipase pancréatique sur les esters en émulsion”, *Biochim. Biophys. Acta* **1958**, *30*, 513–521.
- [43] T. Zisis, P. L. Freddolino, P. Turunen, M. C. F. van Teeseling, A. E. Rowan, K. G. Blank, “Interfacial Activation of *Candida antarctica* Lipase B: Combined Evidence from Experiment and Simulation”, *Biochemistry* **2015**, *54*, 5969–5979.
- [44] S. H. Albayati, M. Masomian, S. N. H. Ishak, M. S. b. Mohamad Ali, A. L. Thean, F. b. Mohd Shariff, N. D. b. Muhd Noor, R. N. Z. Raja Abd Rahman, “Main Structural Targets for Engineering Lipase Substrate Specificity”, *Catalysts* **2020**, *10*.
- [45] O. Kirk, M. W. Christensen, “Lipases from *Candida antarctica*: Unique Biocatalysts from a Unique Origin”, *Org. Process Res. Dev.* **2002**, *6*, 446–451.
- [46] V. Gotor-Fernández, E. Busto, V. Gotor, “*Candida antarctica* Lipase B: An Ideal Biocatalyst for the Preparation of Nitrogenated Organic Compounds”, *Adv. Synth. Catal.* **2006**, *348*, 797–812.

- [47] E. M. Anderson, K. M. Larsson, O. Kirk, “One Biocatalyst–Many Applications: The Use of *Candida Antarctica* B-Lipase in Organic Synthesis”, *Biocatal. Biotransformation* **1998**, *16*, 181–204.
- [48] J. Uppenberg, N. Oehrner, M. Norin, K. Hult, G. J. Kleywegt, S. Patkar, V. Waagen, T. Anthonsen, T. A. Jones, “Crystallographic and molecular-modeling studies of lipase B from *Candida antarctica* reveal a stereospecificity pocket for secondary alcohols”, *Biochem.* **1995**, *34*, 16838–16851.
- [49] N. Zhang, W. Suen, W. Windsor, L. Xiao, V. Madison, A. Zaks, “Improving tolerance of *Candida antarctica* lipase B towards irreversible thermal inactivation through directed evolution”, *Protein Eng. Des. Sel.* **2003**, *16*, 599–605.
- [50] H. S. Kim, Q. A. T. Le, Y. H. Kim, “Development of thermostable lipase B from *Candida antarctica* (CalB) through in silico design employing B-factor and RosettaDesign”, *Enzyme Microb. Technol.* **2010**, *47*, 1–5.
- [51] Q. A. T. Le, J. C. Joo, Y. J. Yoo, Y. H. Kim, “Development of thermostable *Candida antarctica* lipase B through novel in silico design of disulfide bridge”, *Biotechnol. Bioeng.* **2012**, *109*, 867–876.
- [52] R. Fernandez-Lafuente, P. Armisén, P. Sabuquillo, G. Fernández-Lorente, J. M. Guisán, “Immobilization of lipases by selective adsorption on hydrophobic supports”, *Chem. Phys. Lipids* **1998**, *93*, 185–197.
- [53] E. A. Manoel, J. C. dos Santos, D. M. Freire, N. Rueda, R. Fernandez-Lafuente, “Immobilization of lipases on hydrophobic supports involves the open form of the enzyme”, *Enzyme Microb. Technol.* **2015**, *71*, 53–57.
- [54] H. Y. Zhang, X. Wang, C. B. Ching, J. C. Wu, “Experimental optimization of enzymic kinetic resolution of racemic flurbiprofen”, *Biotechnol. Appl. Biochem.* **2005**, *42*, 67–71.
- [55] P. Ramesh, R. Anjibabu, Y. N. Reddy, M. Yedukondalu, T. N. Reddy, B. Kummari, A. Raju, N. Srinivasu, “Chemoenzymatic Synthesis of the HMG-CoA Reductase Inhibitor Rosuvastatin and Natural Styryl Lactone Cryptomoscatone E1”, *Asian J. Org. Chem.* **2017**, *6*, 984–987.

-
- [56] T. d. S. Fonseca, L. D. Lima, M. d. C. F. de Oliveira, T. L. G. de Lemos, D. Zampieri, F. Molinari, M. C. de Mattos, “Chemoenzymatic Synthesis of Luliconazole Mediated by Lipases”, *Eur. J. Org. Chem.* **2018**, *2018*, 2110–2116.
- [57] E. Sonnleitner, G. Schöny, H Hofbauer, “Assessment of zeolite 13X and Lewatit VP OC 1065 for application in a continuous temperature swing adsorption process for biogas upgrading”, *Biomass Conv. Bioref.* **2018**, *8*, 379–395.
- [58] P. Wasserscheid, T. Welton, *Ionic Liquids in Synthesis*, Wiley-VCH, **2008**.
- [59] U. Kragl, M. Eckstein, N. Kaftzik, “Enzyme catalysis in ionic liquids”, *Curr. Opin. Biotechnol.* **2002**, *13*, 565–571.
- [60] F. van Rantwijk, R. A. Sheldon, “Biocatalysis in Ionic Liquids”, *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 2757–2785.
- [61] S. Oppermann, F. Stein, U. Kragl, “Ionic liquids for two-phase systems and their application for purification, extraction and biocatalysis”, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2011**, *89*, 493–499.
- [62] L.-E. Meyer, J. von Langermann, U. Kragl, “Recent developments in biocatalysis in multiphasic ionic liquid reaction systems”, *Biophys. Rev.* **2018**, *10*, 901–910.
- [63] G. Ou, B. He, P. Halling, “Ionization basis for activation of enzymes soluble in ionic liquids”, *Biochim. Biophys. Acta* **2016**, *1860*, 1404–1408.
- [64] H. Zhao, “Protein stabilization and enzyme activation in ionic liquids: specific ion effects”, *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **2016**, *91*, 25–50.
- [65] Z. Yang, “Hofmeister effects: an explanation for the impact of ionic liquids on biocatalysis”, *J. Biotechnol.* **2009**, *144*, 12–22.
- [66] B. Kang, H. Tang, Z. Zhao, S. Song, “Hofmeister Series: Insights of Ion Specificity from Amphiphilic Assembly and Interface Property”, *ACS Omega* **2020**, *5*, 6229–6239.

- [67] J. K. Lee, M.-J. Kim, “Ionic Liquid-Coated Enzyme for Biocatalysis in Organic Solvent”, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 6845–6847.
- [68] T. Itoh, S. Han, Y. Matsushita, S. Hayase, “Enhanced enantioselectivity and remarkable acceleration on the lipase-catalyzed transesterification using novel ionic liquids”, *Green Chem.* **2004**, *6*, 437–439.
- [69] T. Itoh, Y. Matsushita, Y. Abe, S.-h. Han, S. Wada, S. Hayase, M. Kawatsura, S. Takai, M. Morimoto, Y. Hirose, “Increased Enantioselectivity and Remarkable Acceleration of Lipase-Catalyzed Transesterification by Using an Imidazolium PEG–Alkyl Sulfate Ionic Liquid”, *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 9228–9237.
- [70] Y. Abe, T. Hirakawa, S. Nakajima, N. Okano, S. Hayase, M. Kawatsura, Y. Hirose, T. Itoh, “Remarkable Activation of an Enzyme by (R)-Pyrrolidine-Substituted Imidazolium Alkyl PEG Sulfate”, *Adv. Synth. Catal.* **2008**, *350*, 1954–1958.
- [71] Y. Matsubara, S. Kadotani, T. Nishihara, Y. Hikino, Y. Fukaya, T. Nokami, T. Itoh, “Phosphonium alkyl PEG sulfate ionic liquids as coating materials for activation of *Burkholderia cepacia* lipase”, *Biotechnol. J.* **2015**, *10*, 1944–1951.
- [72] A. J. Walker, N. C. Bruce, “Combined biological and chemical catalysis in the preparation of oxycodone”, *Tetrahedron* **2004**, *60*, 561–568.
- [73] A. J. Walker, N. C. Bruce, “Cofactor-dependent enzyme catalysis in functionalized ionic solvents”, *Chem. Commun.* **2004**, 2570–2571.
- [74] M. A. Latif, B. A. Tejo, R. Abedikargiban, M. B. A. Rahman, N. M. Miçaelo, “Modeling stability and flexibility of α -Chymotrypsin in room temperature ionic liquids”, *J. Biomol. Struct. Dyn.* **2014**, *32*, 1263–1273.
- [75] R. Fehrmann, A. Riisager, M. Haumann, *Supported Ionic Liquids. Fundamentals and Applications*, Wiley-VCH, **2014**.
- [76] T. Itoh, “Ionic Liquids as Tool to Improve Enzymatic Organic Synthesis”, *Chem. Rev.* **2017**, *117*, 10567–10607.

- [77] A. Riisager, R. Fehrmann, S. Flicker, R. van Hal, M. Haumann, P. Wasserscheid, "Very Stable and Highly Regioselective Supported Ionic-Liquid-Phase (SILP) Catalysis: Continuous-Flow Fixed-Bed Hydroformylation of Propene", *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 815–819.
- [78] C. Zhong, T. Sasaki, M. Tada, Y. Iwasawa, "Ni ion-containing ionic liquid salt and Ni ion-containing immobilized ionic liquid on silica: Application to Suzuki cross-coupling reactions between chloroarenes and arylboronic acids", *J. Catal.* **2006**, *242*, 357–364.
- [79] H. Qiu, S. M. Sarkar, D.-H. Lee, M.-J. Jin, "Highly effective silica gel-supported N-heterocyclic carbene–Pd catalyst for Suzuki–Miyaura coupling reaction", *Green Chem.* **2008**, *10*, 37–40.
- [80] H. Yang, X. Han, G. Li, Y. Wang, "N-Heterocyclic carbene palladium complex supported on ionic liquid-modified SBA-16: an efficient and highly recyclable catalyst for the Suzuki and Heck reactions", *Green Chem.* **2009**, *11*, 1184–1193.
- [81] L. Wang, Y. Zhang, C. Xie, Y. Wang, "PEG-Supported Imidazolium Chloride: A Highly Efficient and Reusable Reaction Medium for the Heck Reaction", *Synlett* **2005**, *12*, 1861–1864.
- [82] X. Ma, Y. Zhou, J. Zhang, A. Zhu, T. Jiang, B. Han, "Solvent-free Heck reaction catalyzed by a recyclable Pd catalyst supported on SBA-15 via an ionic liquid", *Green Chem.* **2008**, *10*, 59–66.
- [83] J.-Y. Jung, A. Taher, H.-J. Kim, W.-S. Ahn, M.-J. Jin, "Heck Reaction Catalyzed by Mesoporous SBA-15-Supported Ionic Liquid-Pd(OAc)₂", *Synlett* **2009**, *1*, 39–42.
- [84] J. Lehmann, *Kohlenhydrate. Chemie und Biologie*, Georg Thieme Verlag, **1996**.
- [85] S. Jopp, "Carbohydrate Based Ionic Liquids (CHILs): Synthesis and Applications", *Eur. J. Org. Chem.* **2020**, *2020*, 6418–6428.

- [86] J. Schnegas, S. Jopp, “Glucosylimidazolium Hydroxide: A Bench-Stable Carbohydrate Based Building Block”, *Compounds* **2021**, *1*, 154–163.
- [87] B. Gaida, A. Brzęczek-Szafran, “Insights into the Properties and Potential Applications of Renewable Carbohydrate-Based Ionic Liquids: A Review”, *Molecules* **2020**, *25*.
- [88] V. Zullo, A. Iuliano, L. Guazzelli, “Sugar-Based Ionic Liquids: Multifaceted Challenges and Intriguing Potential”, *Molecules* **2021**, *26*.
- [89] A. Marra, C. Chiappe, A. Mele, “Sugar-Derived Ionic Liquids”, *Chimia* **2011**, *65*, 76.
- [90] K. Erfurt, I. Wandzik, K. Walczak, K. Matuszek, A. Chrobok, “Hydrogen-bond-rich ionic liquids as effective organocatalysts for Diels–Alder reactions”, *Green Chem.* **2014**, *16*, 3508–3514.
- [91] T. Kharandiuk, K. H. Tan, I. Kubitska, M. A. Al Enezy-Ulbrich, V. Ivasiv, R. Nebesnyi, I. I. Potemkin, A. Pich, “Synthesis of acrylic acid and acrylic esters via oxidation and oxidative alkoxylation of acrolein under mild conditions with selenium-modified microgel catalysts”, *React. Chem. Eng.* **2022**, *7*, 2192–2201.
- [92] M. Dusselier, P. Van Wouwe, A. Dewaele, E. Makshina, B. F. Sels, “Lactic acid as a platform chemical in the biobased economy: the role of chemocatalysis”, *Energy Environ. Sci.* **2013**, *6*, 1415–1442.
- [93] D. S. Constantino, R. P. Faria, A. M. Ribeiro, A. E. Rodrigues, “Butyl acrylate production: A review on process intensification strategies”, *Chem. Eng. Process.* **2019**, *142*, 107563.
- [94] A. Serrano-Aroca, S. Deb, *Acrylate Polymers for Advanced Applications*, IntechOpen, **2020**.
- [95] E. V. Makshina, J. Canadell, J. van Krieken, B. F. Sels, “Potassium-Modified ZSM-5 Catalysts for Methyl Acrylate Formation from Methyl Lactate: The Impact of the Intrinsic Properties on Their Stability and Selectivity”, *ACS Sustain. Chem. Eng.* **2022**, *10*, 6196–6204.

-
- [96] G. Jyoti, A. Keshav, J. Anandkumar, “Experimental and Kinetic Study of Esterification of Acrylic Acid with Ethanol Using Homogeneous Catalyst”, *Int. J. Chem. React. Eng.* **2016**, *14*, 571–578.
- [97] S. Karakuş, E. Sert, A. D. Buluklu, F. S. Atalay, “Liquid Phase Esterification of Acrylic Acid with Isobutyl Alcohol Catalyzed by Different Cation Exchange Resins”, *Ind. Eng. Chem. Res.* **2014**, *53*, 4192–4198.
- [98] E. Sert, “Calculation of Standard Enthalpy of Formation of Hexyl Acrylate from Chemical Equilibrium”, *Ind. Eng. Chem. Res.* **2013**, *52*, 2840–2843.
- [99] T. Komoń, P. Niewiadomski, P. Oracz, M. E. Jamróz, “Esterification of acrylic acid with 2-ethylhexan-1-ol: Thermodynamic and kinetic study”, *Appl. Catal. A: Gen.* **2013**, *451*, 127–136.
- [100] M. J. Darabi Mahboub, J.-L. Dubois, F. Cavani, M. Rostamizadeh, G. S. Patience, “Catalysis for the synthesis of methacrylic acid and methyl methacrylate”, *Chem. Soc. Rev.* **2018**, *47*, 7703–7738.
- [101] C. Veith, F. Diot-Néant, S. A. Miller, F. Allais, “Synthesis and polymerization of bio-based acrylates: a review”, *Polym. Chem.* **2020**, *11*, 7452–7470.
- [102] K. Nagai, “New developments in the production of methyl methacrylate”, *Appl. Catal. A: Gen* **2001**, *221*, 367–377.
- [103] A. Smith, I. Jackson, J Yousefi, “The use of screw fixation of methyl methacrylate to reconstruct large craniofacial contour defects”, *Eur. J. Plast. Surg.* **1999**, *22*, 17–21.
- [104] H.-P. Gelbke, R. Ellis-Hutchings, H. Müllerschön, S. Murphy, M. Pember-ton, “Toxicological assessment of lower alkyl methacrylate esters by a category approach”, *Regul. Toxicol. Pharmacol.* **2018**, *92*, 104–127.
- [105] M. Nordblad, P. Adlercreutz, “Effects of acid concentration and solvent choice on enzymatic acrylation by *Candida antarctica* lipase B”, *J. Biotechnol.* **2008**, *133*, 127–133.

- [106] M. Nordblad, A. E. V. Hagström, P. Adlercreutz, “Enzymatic synthesis of polymer acrylates and their evaluation as wood coatings”, *Ind. Biotechnol.* **2009**, *5*, 110–118.
- [107] M. Fujita, Y. Iizuka, A. Miyake, “Thermal and kinetic analyses on Michael addition reaction of acrylic acid”, *J. Therm. Anal. Calorim.* **2017**, *128*, 1227–1233.
- [108] H. Becker, H. Vogel, “The Role of Hydroquinone Monomethyl Ether in the Stabilization of Acrylic Acid”, *Chem. Eng. Technol.* **2006**, *29*, 1227–1231.
- [109] A. B. Hajjar, P. F. Nicks, C. J. Knowles, “Preparation of monomeric acrylic ester intermediates using lipase catalysed transesterifications in organic solvents”, *Biotechnol. Lett.* **1990**, *12*, 825–830.
- [110] S. Warwel, G. Steinke, M. Rüsck, “An efficient method for lipase-catalysed preparation of acrylic and methacrylic acid esters”, *Biotechnol. Tech.* **1996**, *10*, 283–286.
- [111] D.-W. Park, S. Haam, I.-S. Ahn, T. G. Lee, H.-S. Kim, W.-S. Kim, “Enzymatic esterification of β -methylglucoside with acrylic/methacrylic acid in organic solvents”, *J. Biotechnol.* **2004**, *107*, 151–160.
- [112] A. Szelwicka, K. Erfurt, S. Jurczyk, S. Boncel, A. Chrobok, “Outperformance in Acrylation: Supported D-Glucose-Based Ionic Liquid Phase on MWCNTs for Immobilized Lipase B from *Candida antarctica* as Catalytic System”, *Materials* **2021**, *14*.
- [113] V. Zainzinger, “The German chemical industry’s energy crisis”, *Chem. Eng. News* **2023**, *101*, 16–18.
- [114] *Energiestatistik. Daten und Fakten*, Verband der Chemischen Industrie e.V., **2024**.
- [115] *Fiskalischer Impact der Energieintensiven Industrien in Deutschland*, Verband der Chemischen Industrie e.V., **2023**.

-
- [116] *Jahreserhebung über die Energieverwendung der Betriebe im Verarbeitenden Gewerbe, im Bergbau und in der Gewinnung von Steinen und Erden (EVAS-Nr. 43531)*, Statistisches Bundesamt, **2023**.
- [117] M. Baerns, A. Behr, A. Brehm, J. Gmehling, H. Hofmann, U. Onken, A. Renken, *Technische Chemie*, Wiley-VCH, **2006**.
- [118] R. A. Sheldon, “The E factor 25 years on: the rise of green chemistry and sustainability”, *Green Chem.* **2017**, *19*, 18–43.
- [119] Accident Investigation Committee, *Himeji Plant. Explosion and Fire at Acrylic Acid Production Facility. Investigation Report*, Nippon Shokubai Co., Ltd., **2013**.
- [120] P. Lehmann, S. Jopp, “Novel Glucosylimidazolium Ionic-Liquid-Supported Novozym 435 Catalysts – A Proof of Concept for an Acrylation Reaction”, *ChemistryOpen* **2022**, *11*, e202200135.
- [121] S. Kitaoka, K. Nobuoka, J. Miura, Y. Ohga, Y. Ishikawa, “First Observation for Dynamic Solvent Effect in Ionic Liquids”, *Chem. Lett.* **2016**, *45*, 385–387.
- [122] W. Spendley, G. R. Hext, F. R. Himsworth, “Sequential Application of Simplex Designs in Optimisation and Evolutionary Operation”, *Technometrics* **1962**, *4*, 441–461.
- [123] J. A. Nelder, R. Mead, “A Simplex Method for Function Minimization”, *Comput. J.* **1965**, *7*, 308–313.
- [124] R. R. Barton, J. S. Ivey, “Nelder-Mead Simplex Modifications for Simulation Optimization”, *Management Science* **1996**, *42*, 954–973.
- [125] P. Lozano, R. Piamtongkam, K. Kohns, T. D. Diego, M. Vaultier, J. L. Iborra, “Ionic liquids improve citronellyl ester synthesis catalyzed by immobilized *Candida antarctica* lipase B in solvent-free media”, *Green Chem.* **2007**, *9*, 780–784.
- [126] R. Madeira Lau, F. Van Rantwijk, K. R. Seddon, R. A. Sheldon, “Lipase-Catalyzed Reactions in Ionic Liquids”, *Org. Lett.* **2000**, *2*, 4189–4191.

- [127] R. Sheldon, “Catalytic reactions in ionic liquids”, *Chem. Commun.* **2001**, 2399–2407.
- [128] K. Saihara, Y. Yoshimura, H. Fujimoto, A. Shimizu, “Detrimental effect of glass sample tubes on investigations of BF₄-based room temperature ionic liquid–water mixtures”, *J. Mol. Liq.* **2016**, *219*, 493–496.
- [129] R. P. Swatloski, J. D. Holbrey, R. D. Rogers, “Ionic liquids are not always green: hydrolysis of 1-butyl-3-methylimidazolium hexafluorophosphate”, *Green Chem.* **2003**, *5*, 361–363.
- [130] A. Marty, V. Dossat, J.-S. Condoret, “Continuous operation of lipase-catalyzed reactions in nonaqueous solvents: Influence of the production of hydrophilic compounds”, *Biotechnol. Bioeng.* **1997**, *56*, 232–237.
- [131] C. D. Tran, S. H. D. P. Lacerda, D. Oliveira, “Absorption of Water by Room-Temperature Ionic Liquids: Effect of Anions on Concentration and State of Water”, *Appl. Spectrosc.* **2003**, *57*, 152–157.
- [132] P. Lozano, R. Piamtongkam, K. Kohns, T. D. Diego, M. Vaultier, J. L. Iborra, “Ionic liquids improve citronellyl ester synthesis catalyzed by immobilized *Candida antarctica* lipase B in solvent-free media”, *Green Chem.* **2007**, *9*, 780–784.
- [133] P. Lehmann, S. Jopp, “Excellence in Acrylation – Scope and Limitation of Glucosyl Imidazolium-coated Novozym 435 Catalyzed (Meth)acryl Ester Synthesis”, *Chem.: Asian J.* **2023**, e202300918.
- [134] S. Schwarzer, U. Hoffmann, “Experimental Reaction Equilibrium and Kinetics of the Liquid-phase Butyl Acrylate Synthesis Applied to Reactive Distillation Simulations”, *Chem. Eng. Technol.* **2002**, *25*, 975–980.
- [135] M. Nordblad, P. Adlercreutz, “Efficient enzymatic acrylation through transesterification at controlled water activity”, *Biotechnol. Bioeng.* **2008**, *99*, 1518–1524.

- [136] J. Bauwelinck, I. Cornet, M. Wijnants, R. Dams, S. Tavernier, “Investigation of the Enzyme-Catalysed Transesterification of Methyl Acrylate and Sterically Hindered Alcohol Substrates”, *ChemistrySelect* **2018**, *3*, 5169–5175.
- [137] M. Lotti, J. Pleiss, F. Valero, P. Ferrer, “Effects of methanol on lipases: Molecular, kinetic and process issues in the production of biodiesel”, *Biotechnol. J.* **2015**, *10*, 22–30.
- [138] “Chloroperoxidase catalyzed oxidations in t-butyl alcohol/water mixtures”, *J. Mol. Catal. A Chem.* **1997**, *117*, 329–337.
- [139] J. J. Cano-Gómez, G. A. Iglesias-Silva, E. O. Castrejón-González, M. Ramos-Estrada, K. R. Hall, “Density and Viscosity of Binary Liquid Mixtures of Ethanol + 1-Hexanol and Ethanol + 1-Heptanol from (293.15 to 328.15) K at 0.1 MPa”, *J. Chem. Eng. Data* **2015**, *60*, 1945–1955.
- [140] S. C. Bhatia, J. Sangwan, V. K. Rudolf Rani, “Densities, Viscosities, Speeds of Sound, and Refractive Indices of Binary Mixtures of 2-Ethyl-1-hexanol with Benzene and Halobenzenes”, *Int. J. Thermophys.* **2013**, *34*, 2076–2088.
- [141] T. Shinomiya, “Dielectric Relaxation and Intermolecular Association of Alicyclic Alcohols in Liquid and Solid States”, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1990**, *63*, 1087–1092.
- [142] N. Chaibakhsh, M. B. A. Rahman, M. Basri, A. B. Salleh, R. N. Z. R. A. Rahman, “Effect of alcohol chain length on the optimum conditions for lipase-catalyzed synthesis of adipate esters”, *Biocatal. Biotransformation* **2009**, *27*, 303–308.
- [143] V. Athawale, N. Manjrekar, “Enzymatic synthesis of the acrylic esters: a comparative study”, *J. Mol. Catal. B Enzym.* **2000**, *10*, 551–554.
- [144] M. Kidwai, R. Poddar, P. Mothsra, “N-acylation of ethanolamine using lipase: a chemoselective catalyst”, *Beilstein J. Org. Chem.* **2009**, *5*, 10.

- [145] F. Le Joubiou, N. Bridiau, Y. Ben Henda, O. Achour, M. Graber, T. Maugard, “The control of Novozym® 435 chemoselectivity and specificity by the solvents in acylation reactions of amino-alcohols”, *J. Mol. Catal. B Enzym.* **2013**, *95*, 99–110.
- [146] P. Zheng, X. Su, C. Fei, X. Shi, H. Yin, Y. Feng, “Deep insights into the hydrolysis of N,N-dialkylaminoethyl methacrylates in aqueous solution with 1H NMR spectroscopy”, *J. Polym. Sci. Part B: Polym. Phys.* **2018**, *56*, 914–923.
- [147] *Sicherheitsdatenblatt Acetonitril*, Carl Roth GmbH & Co. KG, **2022**.
- [148] *Sicherheitsdatenblatt Cyclopentylmethylether*, Carl Roth GmbH & Co. KG, **2022**.
- [149] B. Yang, S.-J. Kuo, P. Hariyadi, K. L. Parkin, “Solvent suitability for lipase-mediated acyl-transfer and esterification reactions in microaqueous milieu is related to substrate and product polarities”, *Enzyme Microb. Technol.* **1994**, *16*, 577–583.
- [150] A. J. J. Straathof, J. P. Vrijenhoef, E. P. A. T. Sprangers, H. van Bekkum, A. P. G. Kieboom, “Enzymic Formation of β -D-Fructofuranosides from Sucrose: Activity and Selectivity of Invertase in Mixtures of Water and Alcohol”, *J. Carbohydr. Chem.* **1988**, *7*, 223–238.
- [151] A. P. G. Kieboom, “Enzymes that do not work in organic solvents: Too polar substrates give too tight enzyme-product complexes”, *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas* **1988**, *107*, 347–348.
- [152] C. Laane, S. Boeren, K. Vos, C. Veeger, “Rules for optimization of biocatalysis in organic solvents”, *Biotechnol. Bioeng.* **1987**, *30*, 81–87.
- [153] I. Ikeda, J. Tanaka, K. Suzuki, “Synthesis of acrylic esters by lipase”, *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 6865–6866.
- [154] A. Ghogare, G. S. Kumar, “Novel route to chiral polymers involving biocatalytic transesterification of O-acryloyl oximes”, *J. Chem. Soc.* **1990**, 134–135.

-
- [155] J. C. Lagarias, J. A. Reeds, M. H. Wright, P. E. Wright, “Convergence Properties of the Nelder–Mead Simplex Method in Low Dimensions”, *SIAM J. Optim.* **1998**, *9*, 112–147.
- [156] K. I. M. McKinnon, “Convergence of the Nelder–Mead Simplex Method to a Nonstationary Point”, *SIAM J. Optim.* **1998**, *9*, 148–158.
- [157] S. Soritz, D. Moser, H. Gruber-Wölfler, “Comparison of Derivative-Free Algorithms for their Applicability in Self-Optimization of Chemical Processes”, *Chemistry–Methods* **2022**, *2*, e202100091.
- [158] W. H. Press, S. A. Teukolsky, W. T. Vetterling, B. P. Flannery, *Numerical Recipes 3rd Edition: The Art of Scientific Computing*, 3. Aufl., Cambridge University Press, USA, **2007**.
- [159] V. Fath, N. Kockmann, J. Otto, T. Röder, “Self-optimising processes and real-time-optimisation of organic syntheses in a microreactor system using Nelder–Mead and design of experiments”, *React. Chem. Eng.* **2020**, *5*, 1281–1299.
- [160] B. Gutmann, D. Cantillo, C. O. Kappe, “Continuous-Flow Technology—A Tool for the Safe Manufacturing of Active Pharmaceutical Ingredients”, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 6688–6728.
- [161] A. Adamo, R. L. Beingessner, M. Behnam, J. Chen, T. F. Jamison, K. F. Jensen, J.-C. M. Monbaliu, A. S. Myerson, E. M. Revalor, D. R. Snead, T. Stelzer, N. Weeranoppanant, S. Y. Wong, P. Zhang, “On-demand continuous-flow production of pharmaceuticals in a compact, reconfigurable system”, *Science* **2016**, *352*, 61–67.
- [162] K. S. Rabe, J. Müller, M. Skoupi, C. M. Niemeyer, “Cascades in Compartments: En Route to Machine-Assisted Biotechnology”, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, *56*, 13574–13589.
- [163] P. De Santis, L.-E. Meyer, S. Kara, “The rise of continuous flow biocatalysis – fundamentals, very recent developments and future perspectives”, *React. Chem. Eng.* **2020**, *5*, 2155–2184.

- [164] A. Salazar, A. Linke, R. Eckelt, A. Quade, U. Kragl, E. Mejía, “Oxidative Esterification of 5-Hydroxymethylfurfural under Flow Conditions Using a Bimetallic Co/Ru Catalyst”, *ChemCatChem* **2020**, *12*, 3504–3511.
- [165] L.-H. Du, Z. Dong, R.-J. Long, P.-F. Chen, M. Xue, X.-P. Luo, “The convenient Michael addition of imidazoles to acrylates catalyzed by Lipozyme TL IM from *Thermomyces lanuginosus* in a continuous flow microreactor”, *Org. Biomol. Chem.* **2019**, *17*, 807–812.
- [166] U. Kragl, “The Role of Reaction Engineering in Bioprocess Development”, *Chimia* **2020**, *74*, 378.
- [167] T. Peschke, P. Bitterwolf, S. Hansen, J. Gasmi, K. S. Rabe, C. M. Niemeyer, “Self-Immobilizing Biocatalysts Maximize Space–Time Yields in Flow Reactors”, *Catalysts* **2019**, *9*.
- [168] M. B. Plutschack, B. Pieber, K. Gilmore, P. H. Seeberger, “The Hitchhiker’s Guide to Flow Chemistry”, *Chem. Rev.* **2017**, *117*, 11796–11893.
- [169] K.-E. Jaeger, L. Andreas, C. Syldatk, *Einführung in die Enzymtechnologie*, Springer Spektrum, **2018**.
- [170] R. Yuryev, S. Strompen, A. Liese, “Coupled chemo(enzymatic) reactions in continuous flow”, *Beilstein J. Org. Chem.* **2011**, *7*, 1449–1467.
- [171] J. C. S. d. Santos, O. Barbosa, C. Ortiz, A. Berenguer-Murcia, R. C. Rodrigues, R. Fernandez-Lafuente, “Importance of the Support Properties for Immobilization or Purification of Enzymes”, *ChemCatChem* **2015**, *7*, 2413–2432.
- [172] L. O. Wiemann, P. Weisshaupt, R. Nieguth, O. Thum, M. B. Ansorge-Schumacher, “Enzyme Stabilization by Deposition of Silicone Coatings”, *Org. Process Res. Dev.* **2009**, *13*, 617–620.
- [173] L. Wiemann, R. Nieguth, M. Eckstein, M. Naumann, O. Thum, M. Ansorge-Schumacher, “Composite Particles of Novozyme 435 and Silicone: Advancing Technical Applicability of Macroporous Enzyme Carriers”, *ChemCatChem* **2009**, *1*, 455–462.

A. Anhang

Tab. A.1.: Ausbeuten für die Synthese von Methylacrylat. Die Standardabweichung ist in Klammern angegeben.

$C_{\text{Acrylsäure}} / \text{mM}$	Molares Verhältnis Methanol:Acrylsäure	Ausbeute / %
100	1	73.46 (± 2.8)
100	2	76.13 (± 1.3)
100	3	84.87 (± 5.5)
100	4	88.93 (± 4.1)
100	5	95.08 (± 0.2)
250	1	55.99 (± 5.0)
250	2	85.68 (± 1.6)
250	3	92.09 (± 2.1)
250	4	97.26 (± 1.2)
250	5	99.24 (± 5.4)
500	1	67.44 (± 1.6)
500	2	82.31 (± 0.7)
500	3	77.24 (± 1.1)
500	4	77.24 (± 1.3)
500	5	75.75 (± 2.8)
750	1	63.65 (± 1.5)
750	2	83.05 (± 0.9)
750	3	81.63 (± 0.7)
750	4	79.45 (± 0.7)
750	5	77.26 (± 1.3)
1000	1	57.39 (± 1.9)
1000	2	79.48 (± 1.1)
1000	3	71.85 (± 1.7)
1000	4	86.26 (± 1.6)
1000	5	85.29 (± 1.2)

Tab. A.2.: Ausbeuten für die Synthese von Ethylacrylat. Die Standardabweichung ist in Klammern angegeben.

$C_{\text{Acrylsäure}} / \text{mM}$	Molares Verhältnis Ethanol:Acrylsäure	Ausbeute / %
100	1	10.51 (± 2.2)
100	2	28.75 (± 1.1)
100	3	37.65 (± 2.9)
100	4	43.23 (± 0.9)
100	5	48.43 (± 1.9)
250	1	42.60 (± 0.9)
250	2	62.46 (± 1.9)
250	3	67.00 (± 1.8)
250	4	68.29 (± 1.4)
250	5	66.49 (± 1.1)
500	1	53.23 (± 0.3)
500	2	69.37 (± 1.0)
500	3	67.13 (± 0.9)
500	4	64.66 (± 1.2)
500	5	57.91 (± 0.7)
750	1	60.15 (± 1.1)
750	2	73.58 (± 1.8)
750	3	69.93 (± 1.1)
750	4	64.10 (± 1.4)
750	5	56.16 (± 1.3)
1000	1	60.25 (± 1.2)
1000	2	69.45 (± 0.7)
1000	3	63.10 (± 2.1)
1000	4	56.37 (± 2.1)
1000	5	51.29 (± 2.8)

Tab. A.3.: Ausbeuten für die Synthese von *sec*-Butylacrylat. Die Standardabweichung ist in Klammern angegeben.

$C_{\text{Acrylsäure}} / \text{mM}$	Molares Verhältnis <i>sec</i> -Butanol:Acrylsäure	Ausbeute / %
100	1	99.85 (± 7.7)
100	2	99.68 (± 4.3)
100	3	99.91 (± 1.3)
100	4	99.12 (± 5.0)
100	5	98.71 (± 1.8)
250	1	86.64 (± 1.8)
250	2	96.77 (± 3.2)
250	3	98.41 (± 2.5)
250	4	97.27 (± 2.9)
250	5	95.51 (± 1.6)
500	1	76.40 (± 1.7)
500	2	96.46 (± 2.2)
500	3	87.92 (± 1.7)
500	4	87.39 (± 0.7)
500	5	85.34 (± 2.8)
750	1	65.60 (± 1.9)
750	2	84.23 (± 0.9)
750	3	84.13 (± 0.4)
750	4	85.36 (± 2.1)
750	5	77.31 (± 0.9)
1000	1	53.18 (± 0.8)
1000	2	70.21 (± 1.7)
1000	3	72.02 (± 0.6)
1000	4	73.52 (± 3.6)
1000	5	70.51 (± 3.0)

Tab. A.4.: Ausbeuten für die Synthese von *iso*-Butylacrylat. Die Standardabweichung ist in Klammern angegeben.

$C_{\text{Acrylsäure}} / \text{mM}$	Molares Verhältnis <i>iso</i> -Butanol:Acrylsäure	Ausbeute / %
100	1	85.22 (± 3.5)
100	2	91.41 (± 2.8)
100	3	89.43 (± 3.4)
100	4	93.75 (± 3.7)
100	5	88.95 (± 3.7)
250	1	84.32 (± 0.5)
250	2	87.29 (± 0.7)
250	3	86.79 (± 1.6)
250	4	84.68 (± 0.5)
250	5	80.29 (± 3.7)
500	1	81.50 (± 1.2)
500	2	85.96 (± 0.7)
500	3	86.00 (± 4.3)
500	4	86.07 (± 1.2)
500	5	85.50 (± 1.5)
750	1	82.63 (± 2.7)
750	2	85.39 (± 0.3)
750	3	84.98 (± 3.5)
750	4	86.93 (± 1.0)
750	5	87.06 (± 0.7)
1000	1	84.17 (± 0.3)
1000	2	85.99 (± 0.3)
1000	3	82.13 (± 1.9)
1000	4	81.96 (± 1.4)
1000	5	81.73 (± 0.9)

Tab. A.5.: Ausbeuten für die Synthese von Cyclohexylacrylat. Die Standardabweichung ist in Klammern angegeben.

$C_{\text{Acrylsäure}} / \text{mM}$	Molares Verhältnis Cyclohexanol:Acrylsäure	Ausbeute / %
100	1	83.84 (± 4.2)
100	2	88.23 (± 5.9)
100	3	83.65 (± 4.9)
100	4	80.49 (± 4.7)
100	5	79.09 (± 5.2)
250	1	68.66 (± 2.1)
250	2	81.77 (± 0.9)
250	3	81.29 (± 0.9)
250	4	77.93 (± 0.7)
250	5	78.68 (± 0.5)
500	1	41.74 (± 1.3)
500	2	58.75 (± 3.0)
500	3	68.93 (± 0.2)
500	4	72.46 (± 0.7)
500	5	75.81 (± 0.6)
750	1	35.59 (± 2.6)
750	2	51.67 (± 0.3)
750	3	74.31 (± 3.9)
750	4	64.95 (± 6.5)
750	5	64.02 (± 5.3)
1000	1	17.58 (± 0.3)
1000	2	28.45 (± 0.9)
1000	3	34.95 (± 1.6)
1000	4	40.87 (± 2.1)
1000	5	42.14 (± 2.2)

Tab. A.6.: Ausbeuten für die Synthese von 1-Hexylacrylat. Die Standardabweichung ist in Klammern angegeben.

$C_{\text{Acrylsäure}} / \text{mM}$	Molares Verhältnis 1-Hexanol:Acrylsäure	Ausbeute / %
100	1	99.99 (± 2.4)
100	2	99.99 (± 1.7)
100	3	99.99 (± 1.1)
100	4	99.99 (± 1.7)
100	5	99.99 (± 1.4)
250	1	99.99 (± 6.5)
250	2	99.99 (± 0.3)
250	3	99.99 (± 4.3)
250	4	99.99 (± 1.8)
250	5	99.99 (± 5.1)
500	1	99.98 (± 0.6)
500	2	99.98 (± 1.4)
500	3	99.99 (± 4.7)
500	4	98.09 (± 2.9)
500	5	98.93 (± 2.6)
750	1	93.46 (± 1.2)
750	2	92.53 (± 1.9)
750	3	92.79 (± 1.6)
750	4	91.19 (± 2.0)
750	5	87.36 (± 1.3)
1000	1	93.17 (± 0.9)
1000	2	96.25 (± 3.7)
1000	3	92.83 (± 2.5)
1000	4	86.92 (± 3.1)
1000	5	77.56 (± 2.1)

Tab. A.7.: Ausbeuten für die Synthese von 2-Ethylhexylacrylat. Die Standardabweichung ist in Klammern angegeben.

$C_{\text{Acrylsäure}} / \text{mM}$	Molares Verhältnis 2-Ethylhexanol:Acrylsäure	Ausbeute / %
100	1	81.96 (± 8.4)
100	2	99.99 (± 5.6)
100	3	99.99 (± 4.0)
100	4	98.53 (± 1.3)
100	5	99.99 (± 3.1)
250	1	57.58 (± 0.5)
250	2	88.40 (± 1.1)
250	3	99.99 (± 1.7)
250	4	98.23 (± 1.7)
250	5	99.99 (± 2.8)
500	1	36.46 (± 1.8)
500	2	58.33 (± 1.0)
500	3	72.41 (± 1.6)
500	4	78.87 (± 1.3)
500	5	79.92 (± 1.1)
750	1	26.59 (± 1.5)
750	2	42.67 (± 1.0)
750	3	56.64 (± 1.2)
750	4	63.09 (± 1.9)
750	5	67.19 (± 6.6)
1000	1	19.65 (± 0.1)
1000	2	34.60 (± 1.6)
1000	3	48.52 (± 1.8)
1000	4	52.84 (± 3.2)
1000	5	54.83 (± 1.5)

Tab. A.8.: Ausbeuten für die Synthese von 1-Octylacrylat. Die Standardabweichung ist in Klammern angegeben.

$C_{\text{Acrylsäure}} / \text{mM}$	Molares Verhältnis 1-Octanol:Acrylsäure	Ausbeute / %
100	1	70.95 (± 1.9)
100	2	79.29 (± 2.0)
100	3	85.10 (± 4.9)
100	4	87.35 (± 8.0)
100	5	86.14 (± 4.6)
250	1	93.34 (± 2.8)
250	2	99.99 (± 2.3)
250	3	98.86 (± 3.7)
250	4	92.79 (± 3.1)
250	5	93.87 (± 3.2)
500	1	88.45 (± 2.8)
500	2	91.00 (± 3.3)
500	3	92.02 (± 3.4)
500	4	88.79 (± 3.7)
500	5	85.24 (± 2.5)
750	1	90.17 (± 2.8)
750	2	90.02 (± 3.3)
750	3	85.58 (± 1.9)
750	4	77.68 (± 3.3)
750	5	74.33 (± 2.7)
1000	1	92.75 (± 0.7)
1000	2	95.87 (± 2.3)
1000	3	92.77 (± 0.5)
1000	4	88.31 (± 2.7)
1000	5	74.55 (± 2.3)

Tab. A.9.: Ausbeuten für die Synthese von Benzylacrylat. Die Standardabweichung ist in Klammern angegeben.

$C_{\text{Acrylsäure}} / \text{mM}$	Molares Verhältnis Benzylalkohol:Acrylsäure	Ausbeute / %
100	1	57.52 (± 2.3)
100	2	72.32 (± 2.5)
100	3	74.14 (± 1.9)
100	4	74.57 (± 1.3)
100	5	73.51 (± 0.8)
250	1	69.36 (± 2.9)
250	2	80.26 (± 3.2)
250	3	79.43 (± 2.7)
250	4	81.64 (± 0.7)
250	5	80.74 (± 2.9)
500	1	75.58 (± 1.9)
500	2	81.81 (± 1.8)
500	3	82.17 (± 1.8)
500	4	82.79 (± 2.6)
500	5	83.89 (± 0.7)
750	1	64.63 (± 7.0)
750	2	79.35 (± 4.2)
750	3	79.12 (± 5.6)
750	4	75.27 (± 1.8)
750	5	72.89 (± 4.2)
1000	1	34.49 (± 2.3)
1000	2	76.29 (± 1.8)
1000	3	79.46 (± 3.9)
1000	4	68.22 (± 6.8)
1000	5	71.43 (± 5.8)

Tab. A.10.: Ausbeuten für die Synthese von 2-Phenylethylacrylat. Die Standardabweichung ist in Klammern angegeben.

$C_{\text{Acrylsäure}} / \text{mM}$	Molares Verhältnis 2-Phenylethanol:Acrylsäure	Ausbeute / %
100	1	76.65 (± 4.6)
100	2	93.84 (± 0.8)
100	3	93.41 (± 1.7)
100	4	95.56 (± 1.8)
100	5	99.99 (± 1.1)
250	1	91.61 (± 1.8)
250	2	99.99 (± 3.3)
250	3	99.99 (± 2.7)
250	4	99.99 (± 2.5)
250	5	99.99 (± 3.0)
500	1	90.87 (± 0.4)
500	2	96.17 (± 1.6)
500	3	97.41 (± 1.8)
500	4	94.94 (± 2.5)
500	5	94.93 (± 2.3)
750	1	95.99 (± 1.4)
750	2	95.20 (± 2.7)
750	3	99.64 (± 2.3)
750	4	96.79 (± 2.5)
750	5	95.07 (± 0.4)
1000	1	62.91 (± 3.3)
1000	2	84.32 (± 1.2)
1000	3	80.91 (± 0.3)
1000	4	75.78 (± 2.0)
1000	5	71.26 (± 4.0)

Tab. A.11.: Ausbeuten für die Synthese von 2-Methoxyethylacrylat. Die Standardabweichung ist in Klammern angegeben.

$C_{\text{Acrylsäure}} / \text{mM}$	Molares Verhältnis 2-Methoxyethanol:Acrylsäure	Ausbeute / %
100	1	72.48 (± 0.5)
100	2	86.51 (± 2.7)
100	3	89.75 (± 1.4)
100	4	91.11 (± 1.7)
100	5	91.30 (± 2.2)
250	1	66.79 (± 2.1)
250	2	79.85 (± 3.3)
250	3	64.51 (± 2.7)
250	4	35.88 (± 0.3)
250	5	22.29 (± 4.4)
500	1	50.63 (± 1.8)
500	2	59.29 (± 2.7)
500	3	53.58 (± 0.8)
500	4	48.62 (± 1.5)
500	5	43.99 (± 2.7)
750	1	28.56 (± 0.7)
750	2	49.01 (± 2.1)
750	3	38.43 (± 2.5)
750	4	24.02 (± 1.5)
750	5	24.46 (± 0.7)
1000	1	17.17 (± 3.4)
1000	2	34.81 (± 1.8)
1000	3	25.21 (± 1.4)
1000	4	20.97 (± 1.7)
1000	5	21.29 (± 3.3)

Tab. A.12.: Ausbeuten für die Synthese von Dimethylaminoethylacrylat. Die Standardabweichung ist in Klammern angegeben.

$C_{\text{Acrylsäure}} / \text{mM}$	Molares Verhältnis Dimethylaminoethanol:Acrylsäure	Ausbeute / %
100	1	4.65 (± 0.8)
100	2	3.61 (± 0.9)
100	3	2.54 (± 0.2)
100	4	2.39 (± 0.1)
100	5	1.88 (± 0.1)
250	1	1.80 (± 0.3)
250	2	1.64 (± 0.2)
250	3	1.07 (± 0.1)
250	4	0.3 (± 0.1)
250	5	0.0
500	1	0.0
500	2	0.0
500	3	0.0
500	4	0.0
500	5	0.0
750	1	0.0
750	2	0.0
750	3	0.0
750	4	0.0
750	5	0.0
1000	1	0.0
1000	2	0.0
1000	3	0.0
1000	4	0.0
1000	5	0.0

Tab. A.13.: Ausbeuten für die Synthese von β -Cyanoethylacrylat. Die Standardabweichung ist in Klammern angegeben.

$C_{\text{Acrylsäure}} / \text{mM}$	Molares Verhältnis β -Cyanoethanol:Acrylsäure	Ausbeute / %
100	1	21.54 (± 1.9)
100	2	32.61 (± 4.1)
100	3	38.77 (± 2.1)
100	4	47.27 (± 4.3)
100	5	51.10 (± 2.9)
250	1	22.90 (± 1.1)
250	2	36.28 (± 0.3)
250	3	44.19 (± 0.4)
250	4	46.46 (± 3.6)
250	5	54.71 (± 0.5)
500	1	27.44 (± 0.5)
500	2	39.49 (± 0.2)
500	3	46.01 (± 1.1)
500	4	34.49 (± 2.9)
500	5	5.89 (± 0.8)
750	1	26.39 (± 0.3)
750	2	41.39 (± 0.2)
750	3	48.71 (± 0.4)
750	4	39.16 (± 4.6)
750	5	7.38 (± 0.2)
1000	1	28.78 (± 0.5)
1000	2	42.22 (± 0.2)
1000	3	44.18 (± 1.5)
1000	4	10.34 (± 1.8)
1000	5	3.30 (± 0.6)

Tab. A.14.: Ausbeuten für die Synthese von 2-Chlorethylacrylat. Die Standardabweichung ist in Klammern angegeben.

$C_{\text{Acrylsäure}} / \text{mM}$	Molares Verhältnis 2-Chlorethanol:Acrylsäure	Ausbeute / %
100	1	20.49 (± 1.7)
100	2	32.23 (± 0.5)
100	3	39.89 (± 1.2)
100	4	49.04 (± 0.4)
100	5	55.15 (± 0.9)
250	1	31.41 (± 0.7)
250	2	45.93 (± 1.6)
250	3	54.51 (± 2.2)
250	4	63.59 (± 2.5)
250	5	62.78 (± 1.5)
500	1	36.18 (± 1.3)
500	2	51.38 (± 2.2)
500	3	58.26 (± 2.4)
500	4	60.73 (± 0.5)
500	5	59.16 (± 5.1)
750	1	37.55 (± 0.4)
750	2	51.97 (± 1.3)
750	3	51.56 (± 1.8)
750	4	41.62 (± 0.9)
750	5	35.11 (± 2.4)
1000	1	36.92 (± 0.3)
1000	2	43.28 (± 1.1)
1000	3	26.37 (± 0.5)
1000	4	11.07 (± 2.5)
1000	5	3.74 (± 0.7)

Tab. A.15.: Ausbeuten für die Synthese von 2-Bromethylacrylat. Die Standardabweichung ist in Klammern angegeben.

$C_{\text{Acrylsäure}} / \text{mM}$	Molares Verhältnis 2-Bromethanol:Acrylsäure	Ausbeute / %
100	1	31.96 (± 2.7)
100	2	44.35 (± 1.4)
100	3	54.04 (± 1.8)
100	4	53.43 (± 1.4)
100	5	47.34 (± 4.9)
250	1	32.51 (± 2.3)
250	2	40.02 (± 3.4)
250	3	9.70 (± 1.0)
250	4	6.78 (± 0.1)
250	5	6.48 (± 0.1)
500	1	25.41 (± 4.2)
500	2	4.99 (± 0.1)
500	3	3.64 (± 0.1)
500	4	4.03 (± 0.1)
500	5	5.06 (± 0.1)
750	1	13.19 (± 2.0)
750	2	2.69 (± 2.7)
750	3	3.89 (± 0.3)
750	4	5.31 (± 0.1)
750	5	7.58 (± 0.2)
1000	1	2.23 (± 0.4)
1000	2	3.03 (± 0.3)
1000	3	4.29 (± 0.6)
1000	4	7.18 (± 0.2)
1000	5	11.79 (± 1.9)

Tab. A.16.: Ausbeuten für die Synthese von 2-Hydroxyethylacrylat. Die Standardabweichung ist in Klammern angegeben.

$C_{\text{Acrylsäure}} / \text{mM}$	Molares Verhältnis Ethylenglycol:Acrylsäure	Ausbeute / %
100	1	99.99 (± 0.9)
100	2	99.99 (± 0.7)
100	3	99.99 (± 1.2)
100	4	99.99 (± 0.7)
100	5	99.99 (± 0.8)
250	1	57.60 (± 0.3)
250	2	69.05 (± 0.4)
250	3	74.04 (± 1.3)
250	4	76.47 (± 0.3)
250	5	75.57 (± 0.7)
500	1	34.50 (± 0.7)
500	2	42.73 (± 0.5)
500	3	37.99 (± 0.2)
500	4	31.43 (± 1.2)
500	5	21.64 (± 0.3)
750	1	23.52 (± 0.5)
750	2	23.79 (± 0.3)
750	3	14.63 (± 0.4)
750	4	0.0
750	5	0.0
1000	1	20.19 (± 0.7)
1000	2	12.16 (± 0.3)
1000	3	0.0
1000	4	0.0
1000	5	0.0

Tab. A.17.: Ausbeuten für die Synthese von *n*-Butylacrylat. Die Standardabweichung ist in Klammern angegeben.

$C_{\text{Acrylsäure}} / \text{mM}$	Molares Verhältnis <i>n</i> -Butanol:Acrylsäure	Ausbeute / %
100	1	75.35 (± 2.7)
100	2	99.99 (± 9.9)
100	4	99.99 (± 8.2)
100	8	96.85 (± 3.8)
100	10	93.00 (± 4.2)
250	1	73.26 (± 1.3)
250	2	81.45 (± 3.8)
250	4	82.01 (± 4.5)
250	8	80.89 (± 1.1)
250	10	75.95 (± 1.7)
500	1	75.43 (± 1.3)
500	2	86.63 (± 6.1)
500	4	86.74 (± 4.0)
500	8	78.81 (± 2.1)
500	10	79.99 (± 1.6)
750	1	72.67 (± 1.3)
750	2	78.19 (± 0.4)
750	4	78.09 (± 2.0)
750	8	66.35 (± 1.6)
750	10	58.03 (± 0.7)
1000	1	70.55 (± 1.6)
1000	2	67.15 (± 1.9)
1000	4	73.79 (± 1.3)
1000	8	64.32 (± 1.5)
1000	10	45.40 (± 2.2)

Tab. A.18.: Ausbeuten für die Synthese von 1-Hexylmethacrylat. Die Standardabweichung ist in Klammern angegeben.

$C_{\text{Methacrylsäure}} / \text{mM}$	Molares Verhältnis 1-Hexanol:Methacrylsäure	Ausbeute / %
100	1	99.99 (± 2.4)
100	2	99.99 (± 1.8)
100	3	93.71 (± 2.3)
100	4	87.17 (± 5.1)
100	5	77.94 (± 5.2)
250	1	94.74 (± 2.5)
250	2	96.93 (± 2.8)
250	3	75.72 (± 2.4)
250	4	60.51 (± 3.2)
250	5	47.86 (± 2.0)
500	1	97.27 (± 0.4)
500	2	69.68 (± 3.3)
500	3	49.44 (± 2.7)
500	4	36.47 (± 0.4)
500	5	29.93 (± 0.6)
750	1	72.81 (± 0.6)
750	2	40.89 (± 1.1)
750	3	25.88 (± 0.3)
750	4	19.15 (± 0.9)
750	5	12.53 (± 0.1)
1000	1	65.02 (± 0.8)
1000	2	27.47 (± 2.1)
1000	3	14.01 (± 0.3)
1000	4	11.17 (± 1.1)
1000	5	9.66 (± 0.6)

Tab. A.19.: Ausbeuten für die Synthese von 2-Phenylethylmethacrylat. Die Standardabweichung ist in Klammern angegeben.

$C_{\text{Methacrylsäure}} / \text{mM}$	Molares Verhältnis 2-Phenylethanol:Methacrylsäure	Ausbeute / %
100	1	46.26 (± 1.4)
100	2	59.95 (± 3.8)
100	3	54.03 (± 1.9)
100	4	51.26 (± 4.2)
100	5	56.25 (± 3.6)
250	1	59.69 (± 0.5)
250	2	61.89 (± 3.1)
250	3	56.69 (± 2.5)
250	4	53.10 (± 2.8)
250	5	50.22 (± 2.7)
500	1	51.99 (± 0.6)
500	2	48.76 (± 2.5)
500	3	49.29 (± 1.9)
500	4	49.53 (± 1.5)
500	5	44.63 (± 1.5)
750	1	41.23 (± 1.9)
750	2	37.97 (± 1.1)
750	3	37.64 (± 1.3)
750	4	37.74 (± 0.8)
750	5	34.06 (± 1.0)
1000	1	25.52 (± 1.3)
1000	2	27.03 (± 0.6)
1000	3	26.54 (± 0.4)
1000	4	24.84 (± 1.8)
1000	5	18.74 (± 1.5)

```

def func(xy, a, b, c, d, e, f):
    x, y = xy
    return a + b*x + c*y + d*x**2 + e*y**2 + f*x*y
def func2(xy):
    x, y = xy
    return popt[0] + popt[1]*x + popt[2]*y + popt[3]*x**2
        + popt[4]*y**2 + popt[5]*x*y
##### Part I - Curve fitting #####
xarr = []
yarr = []
zarr=[]
f = open('data.dat', 'r')
for line in f:
    line = line.strip()
    columns = line.split()
    zarr.append(columns[-1])
    xarr.append(columns[0])
    yarr.append(columns[1])
for i in range(0, len(zarr)):
    zarr[i]=float(zarr[i])*-1
    xarr[i]=float(xarr[i])
    yarr[i]=float(yarr[i])
f.close()
z=zarr
x=xarr
y=yarr
popt, pcov = curve_fit(func, (x, y), z)
##### Part II - Simplex algorithm #####
x_min, x_max = 100, 1000
y_min, y_max = 1, 5
starting=[random.randint(x_min,x_max),random.randint(y_min,y_max)]
result = minimize(func2, starting, method='nelder-mead', bounds=[[100, 2000], [1, 10]])
if result.success:
    print('Starting_point:%i%i' % (starting[0], starting[1]))
    print('Status:%s' % result.message)
    print('Iterations:%d' % result.nit)
    optpara = result.x
    optyield = np.abs(func2(optpara))
    print('Best_Concentration:_%0.5f_with_molar_ratio_of_%0.5f_resulting_in_%0.5f%%_Yield'
        % (optpara[0],optpara[1], optyield))
else:
    print('Warning:_Optimization_failed')

```

Abb. A.1.: Verwendetes Python Programm, welches die Datenpunkte als Polynom zweiten Grades fittet und das Maximum der gefitteten Funktion iterativ ermittelt.