

Abschlussbericht

Erhöhung der Wertproduktausbeute durch optimierte Desorption in einer reaktionsintegrierten Adsorption

Dipl.-Biotechnol. Manuel Holtkamp geb. Herrmann und Prof. Dr.-Ing. Stephan Scholl

Technische Universität Braunschweig, Institut für Chemische und Thermische Verfahrenstechnik

Abstract

Durch eine Kombination aus Eluenten- und Temperaturwechseldesorption kann eine gezielte Desorption von zuvor reaktionsintegrierter Adsorption des Wertproduktes Isomaltose erzielt werden. Somit ist es möglich in einem enzymatischen Prozess eine reaktionsintegrierte Aufreinigung zu erzielen. Dabei müssen aber vor allem die Parameter der Desorption ausführlich untersucht werden.

Einleitung

In biotechnologischen Prozessen entstehen die größten Kosten durch die Aufarbeitung. Produkte liegen meist nur in sehr geringen Konzentrationen in einem Gemisch vor. Häufig sind interessante Stoffe nur als Intermediate vorhanden oder aufgrund von enzymatischen Gleichgewichten von einem Abbau betroffen. Für diese Fälle stellt die Integration von Verfahrensstufen eine Möglichkeit zur Erhöhung der Wertproduktausbeute und damit Steigerung der Wirtschaftlichkeit des Prozesses dar. So kann z.B. durch kontinuierliches Entfernen des Produkts die Triebkraft für eine Gleichgewichtsreaktion aufrecht erhalten werden. Für Intermediate ermöglicht eine reaktionsintegrierte Produktabtrennung eine höhere Ausbeute und gleichzeitig einen Produktschutz.

Reaktivdestillation und –extraktion zeigen, dass die Zusammenlegung von Verfahrensstufen Vorteile bringt und wurden deshalb auch bereits erfolgreich eingesetzt. Die reaktionsintegrierte Adsorption hingegen erfordert die Anwesenheit eines zusätzlichen Feststoffes im Reaktionsraum, was zu weiteren Problem führen kann und bisher nur wenig untersucht wurde.

Im Rahmen des vorliegenden Projekts wurde die reaktionsintegrierte Adsorption eines Wertstoffes an Zeolithen untersucht. Dafür stand ein etabliertes Produktionssystem, ein so genannter MehrphasenBioReaktionsAdsorber (MBRA) zur Verfügung [1, 2]. Als Modellsystem wurde die Herstellung von Isomaltose, einem präbiotischen Disaccharid mit Potential für medizinische und lebensmitteltechnische

Anwendung, gewählt. Bei einer Enzymreaktion wird aus den kostengünstigen Edukten Saccharose und Glukose der Wertstoff Isomaltose durch einen Glucosyltransfer produziert. Dabei ist der Biokatalysator in Alginatperlen immobilisiert und wird durch Siebe in einer Wirbelschicht gehalten. Zeolithe, als Adsorbens eingesetzt, können die Siebe passieren und sorgen so für eine kontinuierliche Produktabtrennung. Der zur Verfügung stehende Biokatalysator wurde in einem Parallelprojekt ebenfalls weiterentwickelt, jedoch ist aufgrund der Folgereaktionen weiterhin eine prozessintegrierte Ausschleusung notwendig, um Produktverluste zu minimieren.

Die Aufarbeitung wurde bisher noch nicht detailliert betrachtet. Da die Adsorption zwar eine selektive Methode zur Produktentfernung bietet, die adsorbierten Komponenten aber auch wieder freigesetzt werden müssen, kommt der Desorption eine besondere Bedeutung zu. Die Desorption muss so erfolgen, dass der durch die Adsorption erreichte Aufreinigungserfolg nicht wieder verloren geht und letztendlich hohe Produktreinheiten und Ausbeuten erzielt werden. Somit lag der Schwerpunkt der Untersuchungen auf den Parametern, welche die Desorption beeinflussen. Hier wurde vor allem der Einfluss des Eluenten (Desorptionsmittel) und der Temperatur auf die Desorptionskinetik untersucht.

Ergebnisse

Zum Beginn des Projekts stand ein Enzymsystem zur Verfügung, das hohe Konzentrationen an Glukose benötigte, um entsprechende Produktkonzentrationen an Isomaltose zu erzielen. Bei $500 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ Glukose kam es aber sowohl zu Problemen bei der zur Desorption nötigen Fest-Flüssig-Trennung, als auch zur vermehrten Co-Adsorption von Glukose, was den Aufreinigungserfolg zunichte machte.

Als Verfahrensalternative zur derzeitigen Wirbelbettadsorption wurde ein zum Produktionsreaktor im externen Umlauf geschaltetes Adsorberfestbett in Erwägung gezogen. Damit könnte die aufwändige Fest-Flüssig-Trennung der feinen Zeolithe aus der viskosen Produktlösung vermieden werden. Durch Aluminiumoxid als Bindemittel wurden die pulverförmigen Beta Zeolithe ($\text{Si}/\text{Al}=75$) extrudiert. Die so vergrößerten Partikel sollten einen Betrieb im Festbett ermöglichen und zu einer leichteren Entfernung der Zwickelflüssigkeit, welche ebenfalls hohe Glukosekonzentrationen enthielt, ermöglichen. Die Kapazität der Extrudate wurde durch den Bindemittelanteil von 25% jedoch deutlich reduziert, so dass ein Einsatz nicht mehr sinnvoll erschien, siehe Abb. 1 links.

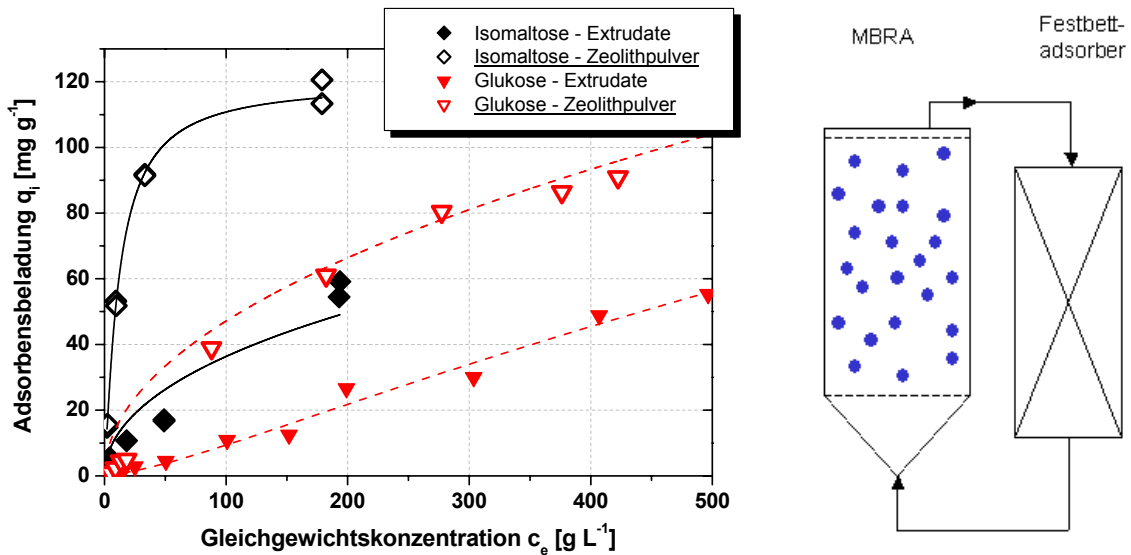


Abb. 1: Links: Adsorbensbeladung von Zeolithpulver und Extrudaten, Rechts: Fließschema

Durch einen verbesserten Biokatalysator konnte die nötige Glukosekonzentration auf $120 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ gesenkt werden [3], was zusammen mit einer neu etablierten Fest-Flüssig-Trennmethode, durch Einsatz einer Siebmantelzentrifuge, eine ausreichend effiziente Abtrennung der beladenen Zeolithe ermöglichte. Diese Zeolithe wurden dann Desorptionsuntersuchungen unterzogen, um eine möglichst effiziente Verfahrensweise zur Desorption zu finden.

Einfluss der Waschbedingungen

Nach der Ausschleusung des Adsorbens aus dem MBRA erfolgte die Abtrennung der beladenen Zeolithe von der restlichen Produktlösung durch eine Siebmantelzentrifuge. Um die den Zeolithen anhaftende Zwickelflüssigkeit so zu entfernen, dass möglichst wenig Produkt verloren geht, wurde der Einfluss der Waschdauer und der Waschtemperatur untersucht. Dazu wurden die Zeolithe in einen Rührkessel gewaschen, noch einmal zentrifugiert und anschließend desorbiert.

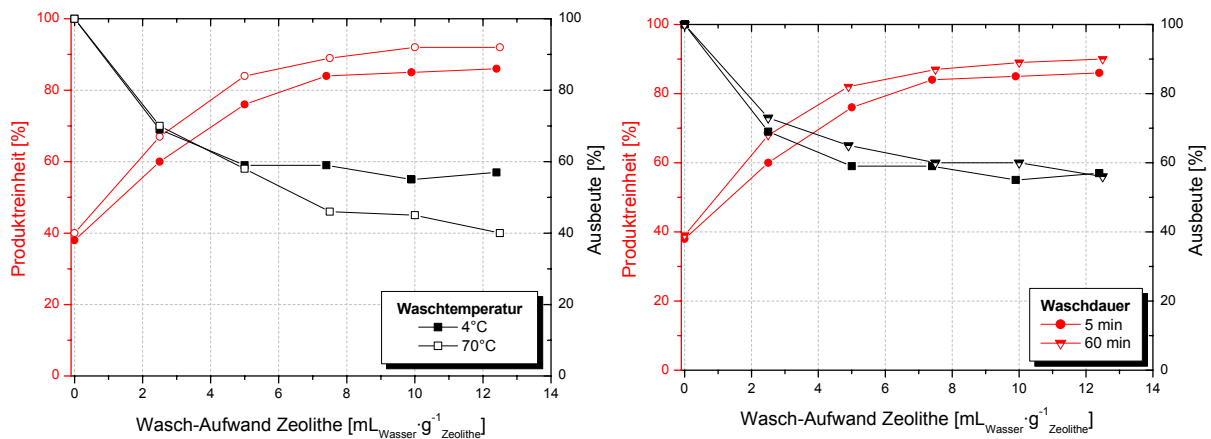


Abb. 2: Produktreinheit und Ausbeute in Abhängigkeit der Waschtemperatur und –dauer, Links: Waschtemperatur bei 5 min Waschdauer, Rechts: Einfluss der Zeit bei einer Waschtemperatur von 4°C.

Es zeigte sich, dass eine hohe Temperatur zu größeren Produktverlusten führte. Hohe Temperaturen beim Auswaschen der Zwickelflüssigkeit begünstigen eine -unerwünschte- gleichzeitige Desorption. Durch die Waschmitteltemperatur von 70°C können zwar höhere Reinheiten als bei niedrigen Temperaturen erzielt werden, dafür sinkt jedoch auch die Ausbeute auf 40% statt 60% bei 4°C. Somit sollte für das Entfernen der Zwickelflüssigkeit eine möglichst niedrige Temperatur gewählt werden. Der Einfluss der Waschdauer hat bei niedrigen Temperaturen nur einen untergeordneten Einfluss.

Desorption der beladenen Zeolithe

Die gewaschenen Zeolithe wurden in einem Rührkessel zunächst bei Raumtemperatur durch Zugabe von Wasser desorbiert. Zu nächst wurde als Eluent zur Desorption ein 50% Ethanol-Wasser-Gemisch eingesetzt. Da aber Ethanol später wieder durch eine Destillation vom Produkt getrennt werden müsste und dieses den Aufwand für die Aufarbeitung vergrößert, wurde auf die Zugabe von Ethanol verzichtet. Zu erwähnen ist jedoch noch, dass die gleichen Effekte die untenstehend beschrieben werden, auch bei einem 50% Ethanol-Wasser-Gemisch auftraten. Die bei einmaliger Desorption freigesetzte Produktmenge war um ca. 20% höher als in reinem Wasser, dieser Vorteil rechtfertigt aber einen zusätzlichen Verfahrensschritt nicht.

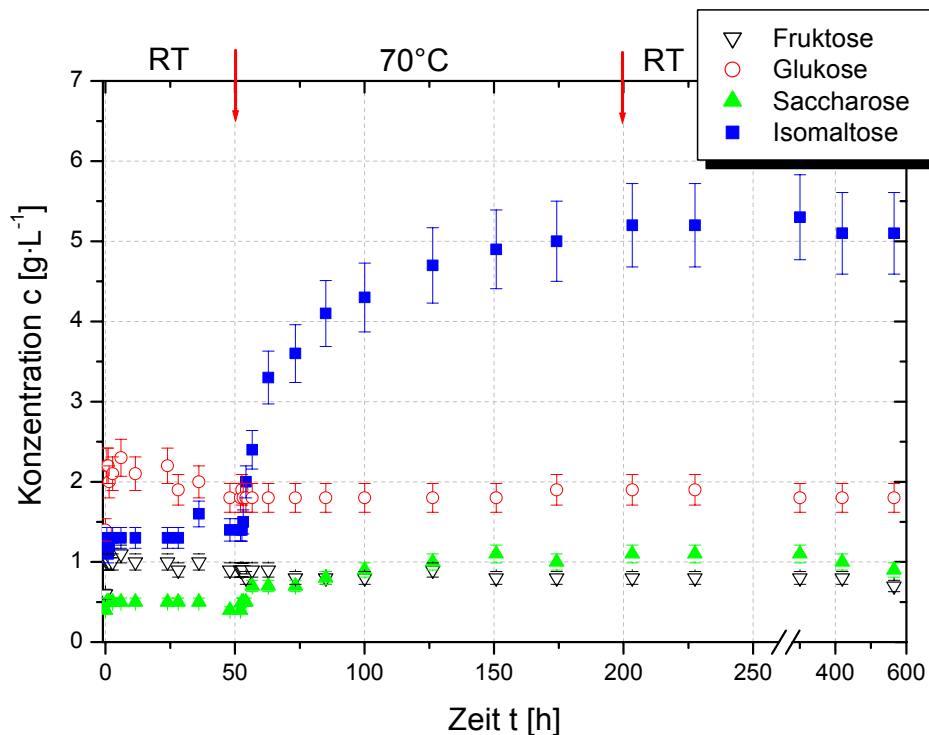


Abb. 3: Konzentrationsverlauf der beteiligten Saccharide während einer Desorption mit Wasser in einen beheizbaren Rührkessel, RT : Raumtemperatur.

Wie in Abbildung 3 zu erkennen, kommt es bei Raumtemperatur zu einer Freisetzung der adsorbierten Komponenten. Dabei kann allerdings nicht unterschieden werden, welcher Anteil noch auf die im Zwickel enthaltenen Saccharide zurückzuführen ist. Es zeigt sich jedoch, dass auch nach einer Betriebsdauer von 50 Stunden kein deutlicher Anstieg einer Komponente zu erkennen ist. Mit der Erhöhung der Temperatur auf 70°C kommt es jedoch zur Desorption von Isomaltose. Die Konzentrationen der anderen Saccharide bleiben nahezu unverändert. Dies zeigt, dass bereits eine vollständige Desorption der Komponenten Glukose und Fruktose stattgefunden hat.

Bis zur vollständigen Desorption der Isomaltose vergehen allerdings mehrere Tage, ein Zeichen, dass es sich hier um eine überaus starke adsorptive Bindung handelt. Nach mehr als 200 Stunden wird die Temperatur wieder auf Raumtemperatur abgesenkt. Die Konzentrationen im Überstand bleiben davon jedoch unbeeinflusst, d.h. es kommt nicht zu einer erneuten Adsorption des Produkts. Dieses zunächst überraschende Phänomen ist ein Vorteil für die weitere Prozessführung, denn zur endgültigen Produktgewinnung muss der Überstand erneut durch Fest-Flüssig-Trennung von den Zeolithen getrennt werden. Dies kann nunmehr bei einer beliebigen Temperatur geschehen.

Einfluss der Restfeuchte von Zeolithen auf die Adsorptionskapazität

Dass keine erneute Adsorption beim Absenken der Temperatur auftrat, ließ vermuten, dass die Zeolithe durch die längere Lagerung in Wasser an Adsorptionskapazität verlieren. Immerhin werden die Zeolithe vor dem ersten Einsatz im MBRA bei 400°C aktiviert und in der Literatur ist die Reduzierung der Adsorptionskapazität durch Restfeuchte in vielen Fällen beschrieben [4].

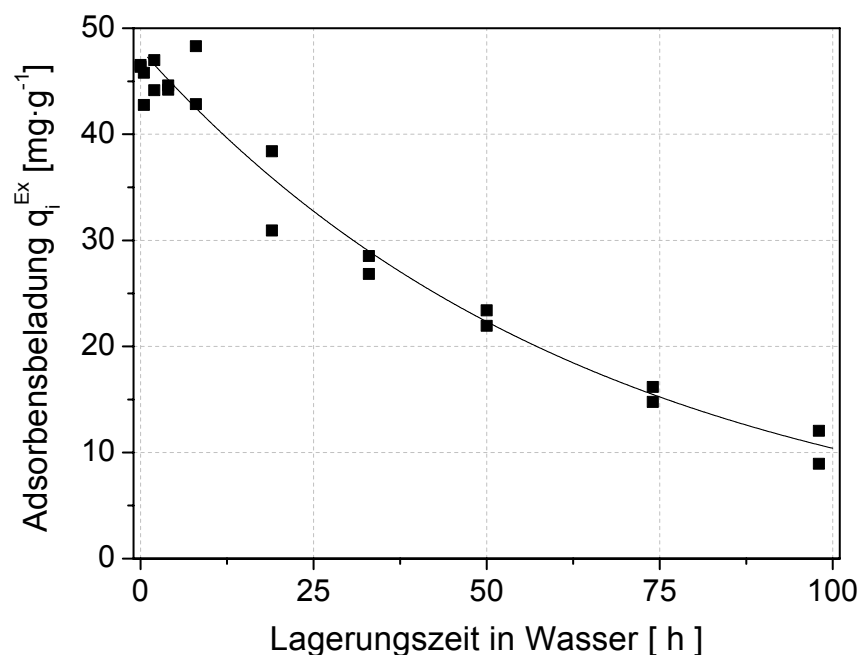


Abb. 4: Abnahme der Adsorbensbeladung mit Isomaltose in Abhängigkeit der vorherigen Lagerungszeit in Wasser

Abbildung 4 zeigt die Abnahme der Adsorbensbeladung in Abhängigkeit einer vorherigen Lagerung der Zeolithe in Wasser. Nach einer Dauer von 50 Stunden haben die Zeolithe schon die Hälfte ihrer Adsorptionskapazität für Isomaltose verloren. Dies scheint daher dann auch der Grund dafür zu sein, dass keine erneute Adsorption nach Absenken der Temperatur bei der Desorption auftritt. Für die Prozessführung ist dieses Ergebnis aber von entscheidender Bedeutung. So sollten die Zeolithe so lange wie möglich trocken gelagert und dem Feedstrom erst kurz vor Eintritt in den MBRA beigemischt werden.

Mehrfache Verwendung des Eluaten zur Desorption

Wie in Abbildung 3 zu sehen, kann nach einer Desorption mit vorangegangener Waschung auch bei hohen Zeolithkonzentrationen während der Desorption keine Isomaltosekonzentration über $10 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ erzielt werden. Weiter ist die Desorption unvollständig, je mehr Zeolith pro Eluentvolumen eingesetzt wird. Um eine weitere Aufkonzentrierung des Produktes Isomaltose in dem bereits beladenen Eluenten zu untersuchen, wurde eine mehrstufige Desorption durchgeführt. Das bereits benutzte Eluentvolumen wurde erneut mit gewaschenen Zeolithen zur Desorption verwendet.

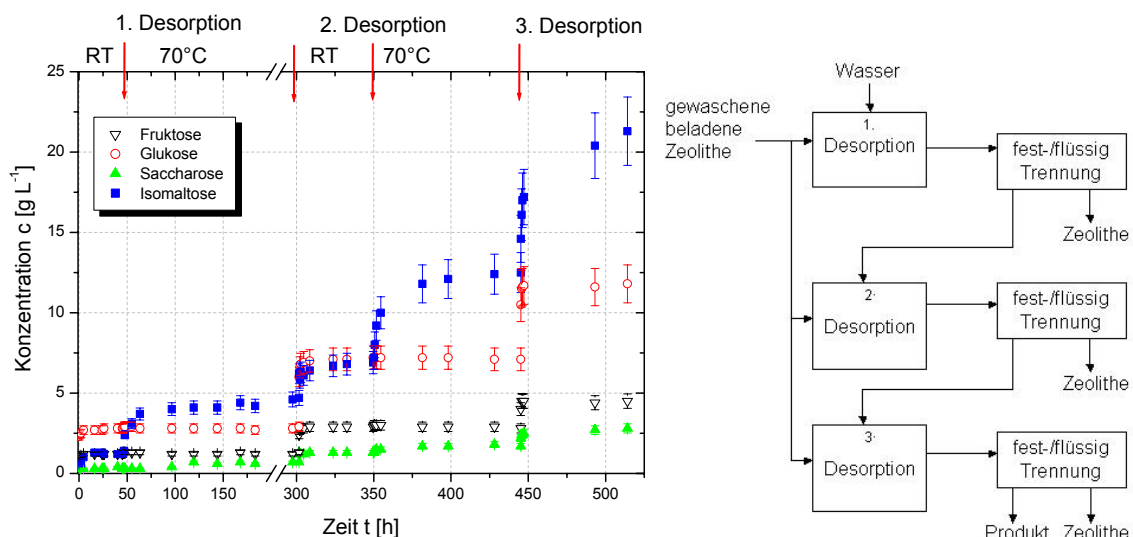


Abb. 5: Links: Konzentrationsverlauf während einer mehrstufigen Desorption unter mehrfach Verwendung des Eluenten. Rechts: Fließbild der mehrstufigen Desorption

Abbildung 5 zeigt links die Saccharidkonzentrationen im Eluenten während einer mehrstufigen Desorption, recht ist das Fließbild der mehrstufigen Desorption skizziert. Dieses Ergebnis zeigt, dass es möglich ist, mit einem bereits beladenen Eluenten eine genügend große Triebkraft für die Desorption zu erzeugen. Somit kann eine mehrstufige Gegenstromdesorption genutzt werden, um eine Aufkonzentrierung des Produkts und gleichzeitig eine vollständige Entladung des Adsorbens zu erzielen.

Alle gewonnenen Erkenntnisse resultieren somit in einem geänderten Prozessschema, das nun auch einen Lösungsweg für die Aufarbeitung enthält und in

der folgenden Abbildung dargestellt ist. Im linken Teil der Abbildung ist der MBRA dargestellt, rechts der Waschprozess und eine mehrstufige Gegenstromdesorption in einer Kaskade aus Rührkesseln und Zentrifugen. Durch den Kapazitätsverlust der Zeolithe bei Wasserlagerung wird nunmehr ein Zeolithbunker erforderlich, in dem das Adsorbens trocken gelagert und dem Feedstrom erst kurz vor Eintritt in den MBRA beigemischt wird. Die Gegenstromdesorption kann prinzipiell auch in einem Rührkessel erfolgen es sind also nicht zwingend drei Apparate erforderlich. Die gewählte Darstellung soll jedoch verdeutlichen, dass eine mehrfache Desorption im Gegenstromprinzip erforderlich ist.

Zur abschließenden Beurteilung ist noch die Reaktivierung und somit Wiederverwendung der Zeolithe zu untersuchen, um einen wirtschaftlichen Prozess zu ermöglichen.

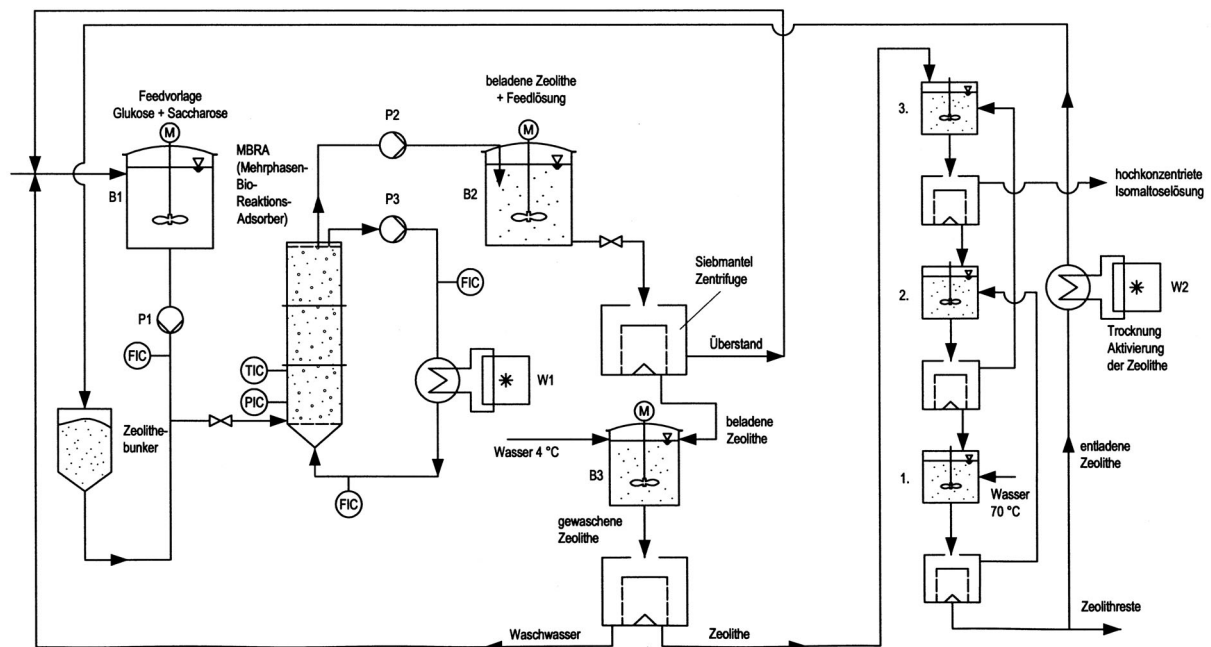


Abb. 6: Prozessfließbild für den gesamten Produktions- und Aufarbeitungsprozess.

Zusammenfassung

In einer reaktionsintegrierten Adsorption ist die Herstellung von Isomaltose durch enzymatische Umsetzung möglich. Mit einer geeigneten Aufarbeitungsstrategie für die Desorption können Reinheiten von über 90% erzielt werden, ohne dass eine chromatographische Anwendung nötig ist. Der Temperatureinfluss auf die Desorption kann positiv genutzt werden. In Kombination mit einer Verdrängungsdesorption ist eine Gegenstromdesorption möglich, die gleichzeitig eine vollständige Entladung des Adsorbens zulässt und eine Aufkonzentrierung der Produktlösung gewährleistet.

Literatur

- [1] Ergezinger, M., et al., *Integrated Enzymatic Synthesis and Adsorption of Isomaltose in a Multiphase Fluidized Bed Reactor*. Eng. Life Sci., 2006. **6**(5): p. 481-487.
- [2] Berensmeier, S., *Separation of isomaltose from high sugar concentrated enzyme reaction mixture by dealuminated b-zeolite*. Separation and purification technology, 2003. **38**: p. 129-138.
- [3] H.-J. Jördening, et al., *Verfahrens- und Katalysatordesign als Aufarbeitungsstrategie für die enzymatische Darstellung von Isomaltose*. Chemie Ingenieur Technik, 2008. **80**(6): p. 867-874.
- [4] Jasra, R.V.B., S. G. T., *Adsorptive Bulk Separations by Zeolite Molecular Sieves*. Separation Science and Technology, 1988. **23**(10 & 11): p. 945-989.

Publikationen

F. A. Erhardt, M. Herrmann, H.-J. Jördening, S. Scholl, K. Buchholz., Poster: *Integrated synthesis and separation of isomaltose in a bi-enzymatic multiphase reactor*. 24. DECHEMA-Jahrestagung der Biotechnologen, 26.-28. September 2006, Rhein-Main-Hallen, Wiesbaden, Germany

M. Herrmann und S. Scholl, Vortrag: *Reaktionsintegrierte Ad- und Desorption zur in-situ Produktabtrennung: Prinzip und Beispiele*. Fachtagung AEM 2007, Gemeinsame Sitzung der ProcessNet-Arbeitsausschüsse "Adsorption" und Extraktion" und des Arbeitskreises "Molekulare Modellierung und Simulation für Prozess- und Produktdesign" vom 21.-23. März 2007 im Pfalzhotel Asselheim, Germany.

S. Scholl and M. Herrmann, Poster: *Reaction Integrated Ad- and Desorption for in situ Product Removal: Principles and Examples*. 9th international conference on Fundamentals of Adsorption. May 20-25, 2007. Giardini Naxos, Sicily-Italy.

M. Herrmann, S. Scholl, F. A. Erhardt, H.-J. Jördening, Poster: *Herstellung neuartiger Saccharide durch integrierte Verfahren im MehrphasenBioReaktionsAdsorber*. ProcessNet Jahrestagung 2007, 16.-18. Oktober 2007, Eurogress Aachen, Germany

H.-J. Jördening, F. A. Erhardt, M. Holtkamp, K. Buchholz, S. Scholl., *Verfahrens- und Katalysatordesign als Aufarbeitungsstrategie für die enzymatische Darstellung von Isomaltose*. Chemie Ingenieur Technik, 2008. **80**(6): p. 867-874.