

Katalytische strategieën voor deoxygenatie van aminozuren naar amines

Catalytic strategies for deoxygenation of amino acids to amines

Promotor:

Prof. Dirk De Vos

Departement Microbiële en Moleculaire Systemen

Centrum voor Oppervlaktechemie en Katalyse

Masterproef voorgedragen

tot het behalen van het diploma van

Master of science in de bio-ingenieurswetenschappen:

katalytische technologie

Robin Coeck

juni 2017

"Dit proefschrift is een examendocument dat na de verdediging niet meer werd gecorrigeerd voor eventueel vastgestelde fouten. In publicaties mag naar dit proefwerk verwezen worden mits schriftelijke toelating van de promotor, vermeld op de titelpagina."

Katalytische strategieën voor deoxygenatie van aminozuren naar amines

Catalytic strategies for deoxygenation of amino acids to amines

Promotor:

Prof. Dirk De Vos

Departement Microbiële en Moleculaire Systemen

Centrum voor Oppervlaktechemie en Katalyse

Masterproef voorgedragen

tot het behalen van het diploma van

Master of science in de bio-ingenieurswetenschappen:

katalytische technologie

Robin Coeck

juni 2017

Dankwoord

“De tijd vliegt voorbij.” Met die woorden kan ik mijn afgelopen vijf jaar in Leuven samenvatten. Het lijkt wel gisteren dat ik mijn universitaire opleiding startte. Toch heb ik nu het einde van mijn opleiding bereikt en presenteer ik U met trots: mijn thesis. Het was een zeer druk, maar fijn, laatste jaar. Ik bracht vele lange dagen door in het labo en verder ook vele lange nachten achter mijn laptop. Hard werken dus. Gelukkig waren er een heleboel mensen die me vanaf de zijlijn coachten, hielpen of er waren voor morele steun.

In de eerste plaats wil ik mijn begeleider Jasper Verduyck bedanken. Ik heb altijd het gevoel gehad dat hij enorm veel vertrouwen in me heeft. Hij stimuleerde me om zelf met ideeën op de proppen te komen en gaf me al snel veel vrijheid in het labo. Ik wil hem dus in de eerste plaats bedanken voor dit vertrouwen en ook voor zijn goede coaching. Ik heb enorm veel van hem geleerd, hij was er altijd om resultaten met mij te bespreken en is verder zeer enthousiast en geduldig. Een dikke merci Jasper!

Verder wil ik graag mijn promotor, Professor Dirk De Vos, bedanken. Ik had mijn thesisonderwerp nog maar net gekozen en hij verwelkomde me al met open armen in zijn labo. Ook hem wil ik bedanken voor zijn vertrouwen en de nauwkeurigheid waarmee hij dit onderzoek opvolgde.

Ook tal van andere mensen die actief zijn aan het Centrum voor Oppervlaktechemie en Katalyse (COK) wil ik bedanken. Aan Annelies Vandekerckhove, Free De Schouwer, Thomas Cuypers en Anton Geers, bedankt dat ik gebruik mocht maken van jullie eigen gesynthetiseerde katalysatoren. Een merci aan Karel voor de ondersteuning bij het gebruik van NMR. Ook mijn mede thesisseuten, alle mensen uit “De Vos group”, de mensen van het technisch personeel en het secretariaat, jullie stonden altijd klaar om te helpen en zorgden mee voor een aangename werkomgeving.

Uiteraard verdienen ook mijn ouders een woordje van dank. Bedankt om mij vrij te laten in mijn studiekeuze en om mij de afgelopen 22 jaar een warme thuis te bezorgen. Mijn vrienden en familie wens ik te bedanken om er altijd voor mij te zijn. And last but not least, mijn vriendin Linde. Hoewel ‘chemie’ totaal niet jouw dada is, bedankt om altijd te vragen hoe mijn dag was en mij te voorzien van veel liefde en ontspanning.

Robin

Samenvatting

De huidige productie van stikstofhoudende componenten en tal van andere chemicaliën is hoofdzakelijk gebaseerd op fossiele bronnen. Gefixeerde stikstof is momenteel afkomstig van het Haber-Boschproces. Amino-zuren, afkomstig van biomassa, slachtafval of andere zijstromen, kunnen aardolie en -gas vervangen als hernieuwbare grondstof. Ze hebben namelijk een enorm potentieel als platformmoleculen voor de synthese van stikstofrijke chemicaliën. In deze masterthesis worden katalytische strategieën onderzocht om amino-zuren te deoxygeneren naar amines.

Amino-zuren kunnen in amines worden omgezet via decarboxylatie (DCO). Met een Ru/C katalysator werden verschillende amino-zuren via een hydrogenatie-decarbonylatie mechanisme omgezet in primaire alifatische amines. Het uitgestoten CO molecule wordt onmiddellijk omgezet in methaan, wat gebruikt kan worden als biogas. Reacties werden uitgevoerd in water als milieuvriendelijk solvent met 1,2 eq. H_3PO_4 , 40 bar H_2 , 2 bar N_2 , bij 150°C en een reactietijd van 1 uur en 20 min. Dit zijn de optimale reactiecondities voor de DCO van L-valine, resulterend in 87% opbrengst van isobutylamine. Reacties van amino-zuren met een eenvoudige alifatische zijketen (glycine, L-alanine, L-leucine en L-isoleucine) resulteerden bij deze condities eveneens in een hoge opbrengst van de respectievelijke DCO-producten. DCO-reacties met andere amino-zuren waren ook succesvol, al traden hier nevenreacties op zoals het verwijderen van alcohol- of carboxylzure groepen in de zijketen, ringsluitingen en -openingen. De specifieke hoeveelheid fosforzuur komt voor uit een zorgvuldige afweging. Omdat amines stabiel zijn in water, moeten ze aanwezig zijn in geprotoneerde vorm. Anderzijds resulteert het toevoegen van meer zuur in een verhoogde hydrodeoxygenatie-activiteit (HDO). Bij HDO wordt de carboxylzure groep niet van het molecule geknipt, maar omgevormd naar $-\text{CH}_3$. Deze omzetting gebeurt bij Ru-gebaseerde katalysatoren via een indirecte hydrogenolyse van het aminoalcohol. De chirale amines worden dus racemisch gevormd. Met Ru-gebaseerde katalysatoren kan slechts een opbrengst van 23% worden bereikt voor het HDO-product. Een veelbelovende katalysator is Rh-MoO_x/SiO₂. Deze katalysator heeft een selectiviteit van 94% voor 2-amino-3-methylbutaan en werd getest op L-valinol in water bij 120°C , 3 eq. H_3PO_4 , 40 bar H_2 , 2 bar N_2 en een reactietijd van 24 uur. (*R*)-2-amino-3-methylbutaan werd gevormd met een enantiomeer exces van 24%. Een nadeel van deze katalysator is de lage activiteit (16% conversie).

Abstract

The current production of nitrogenous compounds and many other chemicals is mainly based on our fossil reserves. Currently, fixed nitrogen originates from the Haber-Bosch process. Amino acids, derived from biomass, offal or other side streams, can replace petroleum and gas as renewable raw materials. They have an enormous potential as platform molecules for the synthesis of nitrogen-containing chemicals. In this master thesis, catalytic strategies for the deoxygenation of amino acids to amines are investigated.

Amino acids can be converted into amines via decarboxylation (DCO). With a Ru/C catalyst various amino acids were converted into primary aliphatic amines via a hydrogenation-decarbonylation mechanism. The emitted CO molecule is immediately converted into methane, which can be used as biogas. Reactions were carried out in water as environmentally friendly solvent with 1.2 eq. H_3PO_4 , 40 bar H_2 , 2 bar N_2 , at 150°C and with a reaction time of 1 hour and 20 minutes. These are the optimal reaction conditions for the DCO of L-valine (up to 87% yield of isobutylamine). Reactions with amino acids that have a simple aliphatic side chain (glycine, L-alanine, L-leucine and L-isoleucine) resulted in high yields of the respective DCO-products. DCO reactions with other amino acids were also successful, although side reactions, such as the removal of alcoholic or carboxylic acid groups in the side chain, and ring closures and openings, occurred. The specific amount of phosphoric acid resulted from a careful trade-off. In order for amines to be stable in water, they must be present in the protonated form. On the other hand, adding more acid results in an increased hydrodeoxygenation activity (HDO). Unlike a DCO reaction, in HDO the carboxylic acid group is transformed into $-\text{CH}_3$ rather than to be cut off. HDO occurs with Ru-based catalysts via an indirect hydrogenolysis of the amino alcohol. Therefore, the amines are formed in a racemic way. With Ru-based catalysts, a yield of 23% could be achieved for the HDO product. A promising catalyst is Rh-MoO_x/SiO₂. This catalyst has a selectivity of 94% for 2-amino-3-methylbutane and was tested on L-valinol in water at 120°C, with 3 eq. H_3PO_4 , 40 bar H_2 , 2 bar N_2 and a reaction time of 24 hours. (*R*)-2-amino-3-methylbutane was formed with an enantiomeric excess of 24%. Unfortunately the catalyst has a low activity (16% conversion).

Lijst met afkortingen

AEM	Anionuitwisselingsmembraan
BDPAB	<i>2,2'-bis(diphenylphosphinoamino)-1,1'-binaphthyl</i>
CEM	Kationuitwisselingsmembraan
DCO	Decarboxylatie
DDGS	<i>Dried distiller's grains with solubles</i>
<i>e.e.</i>	Enantiomeer excess
Et-MonoPhos	<i>2,2'-O,O-(1,1'-binaphthyl)-dioxo-N,N-diethylphospholidine</i>
FTIR	Fourier-Transform-Infraroodspectroscopie
GC	Gaschromatografie
GRAS	<i>Generally Recognized as Safe</i>
HDO	Hydrodeoxygenatie
HPLC	Hoge prestatie vloeistofchromatografie
H ₈ -BDPAB	<i>2,2'-bis(diphenylphosphinoamino)-5,5',6,6',7,7',8,8'-octahydro-1,1'-binaphthyl</i>
ICP-OES	Inductief gekoppeld plasma optische emissie spectroscopie
IEP	Iso-elektrisch punt
MS	Massaspectrometrie
NF	Nanofiltratie
NMR	Kernspinresonantie
P	Druk
PhD	<i>Doctor of Philosophy</i>
SEM	Rasterelektronenmicroscopie
T	Temperatuur
TOF	<i>Turnover frequency</i>
THF	Tetrahydrofuraan
UF	Ultrafiltratie

Lijst met tabellen

Tabel 1. Fermentatieve productie van enkele aminozuren.....	6
Tabel 2. Hydrogenatie van L-alanine naar L-alaninol	20
Tabel 3. Hydrogenatie met een asymmetrische rhodiumkatalysator	24
Tabel 4. Hydrodeoxygenatie en decarboxylatie van vetzuren en vetzuurafgeleiden	28
Tabel 5. DCO van alle andere aminozuren bij de optimale condities voor L-valine	52
Tabel 6. Karakterisatie van de Ru/C katalysator	55
Tabel 7. Productverdeling van HDO van verschillende Ru-gebaseerde katalysatoren.....	64
Tabel C1. Volledige productlijst van de decarboxylatie van alle andere aminozuren.....	107

Lijst met figuren

Figuur 1. De biochemische reactieweg voor de synthese van verschillende aminozuren	6
Figuur 2. De massafractie aan proteïnen in verschillende nevenstromen	9
Figuur 3. De massafractie van alle aminozuren in verschillende nevenstromen	10
Figuur 4. Schematische weergave van een elektrodialyseproces	15
Figuur 5. Fractionele neerslagvormingent.....	15
Figuur 6. Essentiële en niet-essentiële aminozuren.....	17
Figuur 7. Enkele hedendaagse herbiciden met ingebouwde amines	22
Figuur 8. Typische componenten voor hydrodeoxygenatie- en decarboxylatiereacties	27
Figuur 9. Homogene hydrodeoxygenatie-katalysatoren	30
Figuur 10. Eerste screening op decarboxylatie- en hydrodeoxygenatie-activiteit	40
Figuur 11. Invloed van de toegevoegde hoeveelheid fosforzuur	42
Figuur 12. Tijdsprofiel van de decarboxylatie van L-valine met Ru/C bij 1 eq. H_3PO_4	42
Figuur 13. Tijdsprofiel van de decarboxylatie van L-valine met Ru/C bij 2 eq. H_3PO_4	43
Figuur 14. Verfijning van de hoeveelheid fosforzuur	44
Figuur 15. Variatie van de reactietemperatuur	45
Figuur 16. Invloed van de waterstofdruk op DCO- en HDO-activiteit.....	47
Figuur 17. Kinetisch experiment bij verschillende waterstofdrukken	48
Figuur 18. DCO van L-valine bij verschillende katalysator-over-substraat verhoudingen	49
Figuur 19. Recyclagetest met Ru/C.....	54
Figuur 20. SEM-foto van Ru/C katalysatorpartikels.....	54
Figuur 21. N_2 adsorptie- en desorptie-isothermen van Ru/C	55
Figuur 22. Poriegrootteverdeling van Ru/C	56
Figuur 23. Katalytische reacties met twee nieuwe Ni-katalysatoren	57
Figuur 24. Screening op hydrodeoxygenatie-activiteit bij 3 eq. H_3PO_4 op 100°C	59
Figuur 25. Screening op hydrodeoxygenatie-activiteit bij 3 eq. H_3PO_4 op 150°C	59
Figuur 26. HDO van L-valinol met Ru/C bij verschillende reactietemperaturen.....	61
Figuur 27. HDO-over-DCO verhouding in functie van de reactietemperatuur	62
Figuur 28. Tijdsprofiel van de hydrodeoxygenatie van L-valinol met Ru/C.....	62
Figuur 29. Gesimuleerd tijdsprofiel van de hydrodeoxygenatie van L-valinol met Ru/C	63

Figuur 30. Poging tot HDO met platinum-gebaseerde katalysatoren bij 0 en 1 eq. H_3PO_4	64
Figuur 31. Scheiding van geacetylerde L-valinol, isobutylamine, (S)- & (R)-2-amino-3-methylbutaan	66
Figuur 32. Ijklijn voor 2-amino-3-methylbutaan	66
Figuur 33. Poging tot hydrodeoxygenatie met Ru/C en additieven in THF	67
Figuur 34. Poging tot hydrodeoxygenatie met Rh/C en additieven in THF	68
Figuur 35. Poging tot hydrodeoxygenatie met Pd/C en additieven in THF	68
Figuur 36. Poging tot hydrodeoxygenatie met Pt/C en additieven in THF	68
Figuur 37. Poging tot hydrodeoxygenatie met Rh/C, 5 mol% ZnCl_2 en azijnzuur in THF	70
Figuur 38. Poging tot hydrodeoxygenatie met Pt/C, 5 mol% ZnCl_2 en azijnzuur in THF	70
Figuur 39. Hydrodeoxygenatie van L-valinol met verschillende Rh-katalysatoren	72
Figuur 40. GC-analyse van de HDO van L-valinol in water met Rh- $\text{MoO}_x/\text{SiO}_2$	72
 Figuur C1. Calcmet data van de gasfase FTIR analyse na decarboxylatie	103
Figuur C2. Extra SEM-foto's van Ru/C katalysatorpartikels.....	104
Figuur C3. Bewijs dat de deoxygenatieroutes kunnen vereenvoudigd worden tot eerste orde reacties.....	105
Figuur C4. ^1H , ^{13}C -HSQC NMR-meting van een complex productmengsel.....	105
Figuur C5. Foto van de gebruikte drukreactoren voor alle katalytische experimenten	106

Lijst met schema's

Schema 1. De synthese van D,L-methionine uit methaanthiol, acroleïne en waterstofcyanide..	7
Schema 2. De synthese van glycine uit chloorazijnzuur en ammoniak	7
Schema 3. Hydrolyse van proteïnen.....	12
Schema 4. Racemisatie van proteïnen in basische condities.....	13
Schema 5. Enkele derivatisatiereacties met een aminozuur.....	18
Schema 6. Diverse producten van glutaminezuur	19
Schema 7. DCO van L-proline naar pyrrolidine en consecutieve nevenreacties.....	21
Schema 8. Oxidatieve decarboxylatie van aminozuren naar nitrillen	22
Schema 9. Assymetrische hydrogenatie van <i>N</i> -acetylenamide	23
Schema 10. Assymetrische reductieve aminatie van een keton	24
Schema 11. Mogelijke manieren om een aminozuur om te vormen naar een amine.....	25
Schema 12. Reactieschema voor de synthese van α -methylamines door Quagliato.....	26
Schema 13. Directe en indirecte hydrogenolyse van aminozuren naar α -methylamines.....	26
Schema 14. Hydrodeoxygenatie van fenol naar cyclohexaan.....	29
Schema 15. Decarboxylatie van L-valine naar isobutylamine	41
Schema 16. Voorgesteld reactieschema voor DCO en HDO van L-valine met Ru/C.....	48
Schema 17. Hydrodeoxygenatie van L-valinol naar 2-amino-3-methylbutaan.....	58
Schema 18. De vorming van 2,5-di-isopropylpiperazine uit L-valinol	67

Inhoudsopgave

Dankwoord.....	ii
Samenvatting	iii
Abstract	iv
Lijst met afkortingen	v
Lijst met tabellen	vi
Lijst met figuren	vii
Lijst met schema's	ix
Inhoudsopgave.....	ii
Algemene inleiding	1
Literatuurstudie	3
1.1 Het belang en de productie van aminozuren	3
1.1.1 Fermentatie.....	4
1.1.2 Chemische synthese	7
1.1.3 Isolatie van proteïnen uit nevenstromen.....	8
1.1.3.1 Bioraffinaderij en landbouwafval	8
1.1.3.2 Proteïnen uit slachtafval	11
1.1.4 Hydrolyse van proteïnen	12
1.1.5 Scheiding van aminozuren	13
1.1.5.1 Filtratie.....	13
1.1.5.2 Elektrodialyse	14
1.1.5.3 Andere scheidingstechnieken	15
1.1.6 Naar voedingssector of chemische industrie?	16
1.2 Aminozuren, bron van biogebaseerde chemicaliën	17
1.2.1 Reacties met aminozuren	17
1.2.1.1 Hydrogenatie	18
1.2.1.2 Decarboxylatie.....	20
1.3 Amines, toepassingen en synthese	22

1.3.1	Huidige productie van achirale amines	22
1.3.2	Huidige productie van chirale amines	23
1.3.3	Aminozuren naar biogebaseerde amines?	25
1.3.3.1	Decarboxylatie en hydrodeoxygenatie van aminozuren.....	25
1.3.3.2	Analoge reacties met andere biogebaseerde chemicaliën.....	27
1.4	Besluit.....	30
Materialen en methoden		31
2.1	Beschikbaarheid van de katalysatoren.....	31
2.2	Karakterisatie van de katalysatoren.....	31
2.3	Katalytische experimenten	32
2.3.1	Decarboxylatie van aminozuren.....	32
2.3.1.1	Reacties.....	32
2.3.1.2	Productanalyse	35
2.3.2	Hydrodeoxygenatie van aminozuren.....	36
2.3.2.1	Reacties.....	36
2.3.2.2	Productanalyse.....	38
Resultaten en discussie.....		39
3.1	Een eerste screening van enkele metalen	39
3.2	Decarboxylatie van aminozuren	41
3.2.1	De optimale reactietijd bij verschillende concentraties fosforzuur	41
3.2.2	Verfijnen van de hoeveelheid fosforzuur	44
3.2.3	Invloed van de temperatuur.....	45
3.2.4	Analyse van de gasfase	46
3.2.5	Variatie van de waterstofdruk	46
3.2.6	Voorgesteld reactieschema.....	48
3.2.7	Variatie van katalysator-over-substraat verhouding	49
3.2.8	Reacties met andere aminozuren.....	50
3.2.9	Recyclagetest, stabiliteit en karakterisatie van Ru/C	53
3.2.9.1	SEM van Ru/C.....	54
3.2.9.2	N ₂ fysisorptie en CO chemisorptie	55
3.2.10	Een nieuwe poging met nikkel.....	56
3.2.11	Besluit.....	57
3.3	Hydrodeoxygenatie van aminozuren.....	58

3.3.1	Een eerste screening met veel fosforzuur bij een lage temperatuur	58
3.3.2	Werken met Ru-gebaseerde katalysatoren	60
3.3.2.1	Zoeken naar de optimale reactietemperatuur.....	61
3.3.2.2	Een tijdsprofiel voor Ru/C.....	62
3.3.2.3	Ruthenium op verschillende dragermaterialen	63
3.3.3	Een korte test met platinum.....	64
3.3.4	Zoutaddities in een organisch solvent	65
3.3.4.1	Scheiding en ijklijn voor 2-amino-3-methylbutaan.....	65
3.3.4.2	Koper- en zinkaddities in THF	67
3.3.4.3	Het toevoegen van azijnzuur	69
3.3.4.4	Zinkaddities in water	70
3.3.5	HDO met een Rh-MoO _x -katalysator	71
3.3.6	Besluit.....	72
Algemeen besluit.....		74
Toekomstperspectief		77
Bibliografie.....		78
A	Lijst met producten	89
B	Productidentificatie	91
C	Extra figuren en tabellen	103
D	Risicoanalyse.....	108
Vulgariserende samenvatting.....		116

Algemene inleiding

Tot op heden kent het merendeel van alle organische molecules zijn oorsprong in de petrochemie. Niet alleen het koolstofskelet maar ook (bijna) alle gefixeerde stikstof en zwavelcomponenten zijn het gevolg onze slinkende fossiele reserves. Gefixeerde stikstof (NH_3) is namelijk het resultaat van het Haber-Boschproces en zwavel (H_2S , S_x , H_2SO_4 *etc.*) wordt hoofdzakelijk geproduceerd door de ontzwaveling van aardolie en -gas. Toch is men zich ervan bewust dat onze fossiele reserves niet oneindig en steeds moeilijker beschikbaar zijn. Daarnaast wordt de mens geconfronteerd met de huidige CO_2 -problematiek die resulteert in het smelten van de ijskappen en de verandering van ons klimaat. Deze problemen stimuleren wetenschappers om op zoek te gaan naar milieuvriendelijke productieprocessen van brandstoffen en chemicaliën uit duurzame alternatieve bronnen. Men kan bijvoorbeeld gebruik maken van biomassa of zelfs ‘echte afvalstromen’ zoals slachtafval.

Biomassa bestaat voornamelijk uit lignine, polysachariden (waaronder cellulose en hemicellulose), vetten, oliën en proteïnen. Na fragmentatie resulteren lignine en polysachariden in polyfenolen, pentoses en hexoses. De productie van chemicaliën en voornamelijk brandstoffen, werd met het merendeel van deze substraten reeds uitvoerig onderzocht. De enige uitzondering is het chemisch transformeren van proteïnen en aminozuren naar chemicaliën.

De fractie aan proteïnen in biomassa is vaak verwaarloosbaar. Toch kan deze fractie in verschillende nevenstromen oplopen tot hoge percentages; tot 40% in zijstromen van de bio-ethanol productie en slachtafval kan zelfs tot 94% uit proteïnen bestaan. Na een extractiestap, een hydrolysestap en een scheidingsproces resulteren deze proteïnen in de individuele aminozuren waar ze uit zijn opgebouwd. In het eerste deel van de literatuurstudie wordt de productie van aminozuren besproken. Ook het ethische aspect komt aan bod. “Horen aminozuren te gaan naar de voedingssector of naar de chemische industrie?” Men kan zichzelf een gelijkaardige vraag stellen over andere eetbare biomassa.

Vanuit individuele aminozuren kunnen diverse producten gemaakt worden. In de literatuur kan men voorbeelden vinden van hydrogenaties naar aminoalcoholen, oxidatieve decarboxylaties naar nitrillen *etc.* Toch blijft de chemische valorisatie van aminozuren onderontwikkeld. De deoxygenatie van aminozuren naar (primaire) amines is tot nu toe amper onderzocht en vormt daarom het centrale doel van deze masterthesis.

Aminozuren kunnen op twee verschillende manieren resulteren in biogebaseerde primaire amines. De carboxylzure groep (-COOH) die inherent aanwezig is, kan in de eerste plaats gehydrogeneerd worden tot een methylgroep (-CH₃). Het resulterende amine bezit, net als het aminozuur, een chiraal centrum. Bij voorkeur blijft het stereocentrum tijdens deze deoxygenatie intact. Enantiozuivere amines hebben een grote waarde in de farmaceutische industrie. Om een concreet voorbeeld te geven: de hydrodeoxygenatie (HDO) van D- en L-valine, met behoud van het stereocentrum, resulteert respectievelijk in (S)- en (R)-2-amino-3-methylbutaan. Hieruit kunnen enantiozuivere diazoxides worden gesynthetiseerd (Khelili *et al.*, 1999). Diazoxides remmen namelijk de vrijgave van insuline en worden gebruikt in de behandeling van een aantal alvleesklierziekten. Hier blijkt het S-isomeer veel selectiever te zijn voor alvleeskliercellen, en dus doeltreffender dan het R-isomeer. Desalniettemin kennen ook racemische mengsels van chirale amines hun toepassingen. Hydrodeoxygenatie van fenylalanine resulteert bijvoorbeeld in amfetamine. Zowel dextro- als levoamfetamine kan gebruikt worden in medicijnen voor ADHD-patiënten.

Een andere manier om uit aminozuren amines te maken, is via decarboxylatie (DCO). Met andere woorden, de carboxylzure groep wordt van het molecule af gekliefd. Hierbij gaat het stereocentrum verloren. Toepassingen van deze amines kunnen opnieuw worden teruggevonden in de farmaceutische industrie, maar ook in de synthese van agrochemicaliën, het vulkaniseren van rubber *etc.* Tal van pesticiden bevatten eenvoudige amines zoals methylamine, ethylamine, isopropylamine en *sec*-butylamine. In deze thesis wordt L-valine gebruikt als modelsubstraat voor de decarboxylatie. Het gedecarboxyleerde product is isobutylamine. Een van de belangrijkste toepassingen van isobutylamine is het synthetiseren van Darunavir. Dit geneesmiddel wordt gebruikt in de behandeling en het voorkomen van HIV/AIDS (Wigerinck *et al.*, 2013). Een andere toepassing is de synthese van 1-isothiocyano-2-methylpropaan, een chemotherapeutisch middel (Rajski & Mays, 2013).

Naast de productie van aminozuren wordt in het eerste hoofdstuk verder ingegaan op gekende reacties met aminozuren. Ook de huidige productie van amines, een verdere toelichting van de DCO en HDO van aminozuren en analoge reacties met andere biogebaseerde componenten worden hier besproken. In het tweede hoofdstuk worden de katalytische reactieprocedures en de analysetechnieken van het reactiemengsel toegelicht. In het derde en laatste hoofdstuk wordt een uitgebreide beschrijving gegeven van de resultaten. Het eerste deel bestaat uit de DCO van aminozuren en het tweede deel uit de HDO.

Hoofdstuk 1

Literatuurstudie

1.1 Het belang en de productie van aminozuren

De vraag naar aminozuren neemt alsmaar toe met de jaren. Niet alleen als voedingsadditief voor zowel mens als dier, maar ook in de farmaceutische en chemische industrie stijgt de vraag ernaar. In 2015 bedroeg de marktvraag naar aminozuren zo'n 6,8 miljoen ton. Met een jaarlijkse stijging van 5-10% wordt deze marktvraag geschat op 10 miljoen ton tegen 2022 (Grand View Research, 2015). Het gaat hier voornamelijk om drie van de twintig natuurlijk voorkomende aminozuren. Van L-glutaminezuur wordt jaarlijks meer dan 3,2 miljoen ton geproduceerd; 2,3 miljoen ton in het geval van L-lysine en D,L-methionine is goed voor 1,1 miljoen ton. Slechts 0,2 miljoen ton is toe te schrijven aan de zeventien overige aminozuren.

In de voedingssector gaat het voornamelijk om L-glutaminezuur. Het wordt meestal in zijn natriumzoutvorm (natriumglutamaat) aan diverse voedingsmiddelen toegevoegd en zorgt voor een umami smaak. De E-nummers E620-E624 wijzen erop dat extern glutaminezuur werd toegevoegd. Nog andere aminozuren die in de voedingssector gebruikt worden, zijn L-asparaginezuur en L-fenylalanine. Uit deze twee aminozuren kan men aspartaam maken, een kunstmatige zoetstof die veel voorkomt in zoete light producten (Burkovski & Krämer, 2002).

L-Lysine is het dominante aminozuur dat wordt toegevoegd aan diervoeding. Als voedingsadditief wordt het gegeven aan fokdieren zoals kippen, koeien en varkens. Ook D,L-methionine en in mindere mate L-threonine worden toegevoegd aan voeder. Het gebruik van aminozuren als diervoedingsadditief is de laatste jaren sterk gestegen. In 2001 ging het om respectievelijk 450 000, 350 000 en 15 000 ton. Amper 15 jaar later zijn deze hoeveelheden verzevenvoudigd (Burkovski & Krämer, 2002; Grand View Research, 2015).

Ook in de chemische sector stijgt de vraag naar aminozuren (Breuer *et al.*, 2004; zie sectie 1.2). Niet alleen L-, maar ook D-aminozuren kennen er hun toepassingen (Goa *et al.*, 2015). In deze sectie wordt de productie van aminozuren besproken. De focus wordt gelegd op duurzame processen en de valorisatie van afvalstromen.

1.1.1 Fermentatie

Micro-organismen bewijzen al eeuwen lang hun diensten aan de mensheid. Alledaagse producten zoals brood, kaas, bier en wijn zouden er niet zijn zonder beroep te doen op deze kleine levensvormen. Hoewel microbiële fermentatie initieel uitsluitend gebruikt werd om de houdbaarheid van levensmiddelen te verlengen, wordt hierop steeds meer en meer beroep gedaan om nuttige molecules en metabolieten te produceren. Voor bijvoorbeeld de industriële productie van farmaceutische stoffen (vitamines, antibiotica...), verkiest men steeds vaker fermentatie boven chemische synthese. In vele gevallen omdat de chemische synthese te ingewikkeld of zelfs onmogelijk is. Ook voor de productie van aminozuren is fermentatie van belang.

Het voordeel van fermentatieve aminozuurproductie is de hoge chirale zuiverheid. Op enkele uitzonderingen na produceren micro-organismen enkel het L-enantiomeer (Martínez-Rodríguez *et al.*, 2010). In het geval van chemische synthese wordt altijd een racemisch mengsel van zowel D- als L-aminozuren gevormd. Vandaar dat bijna alle aminozuren commercieel geproduceerd worden via fermentatie of met opgezuiverde enzymen.

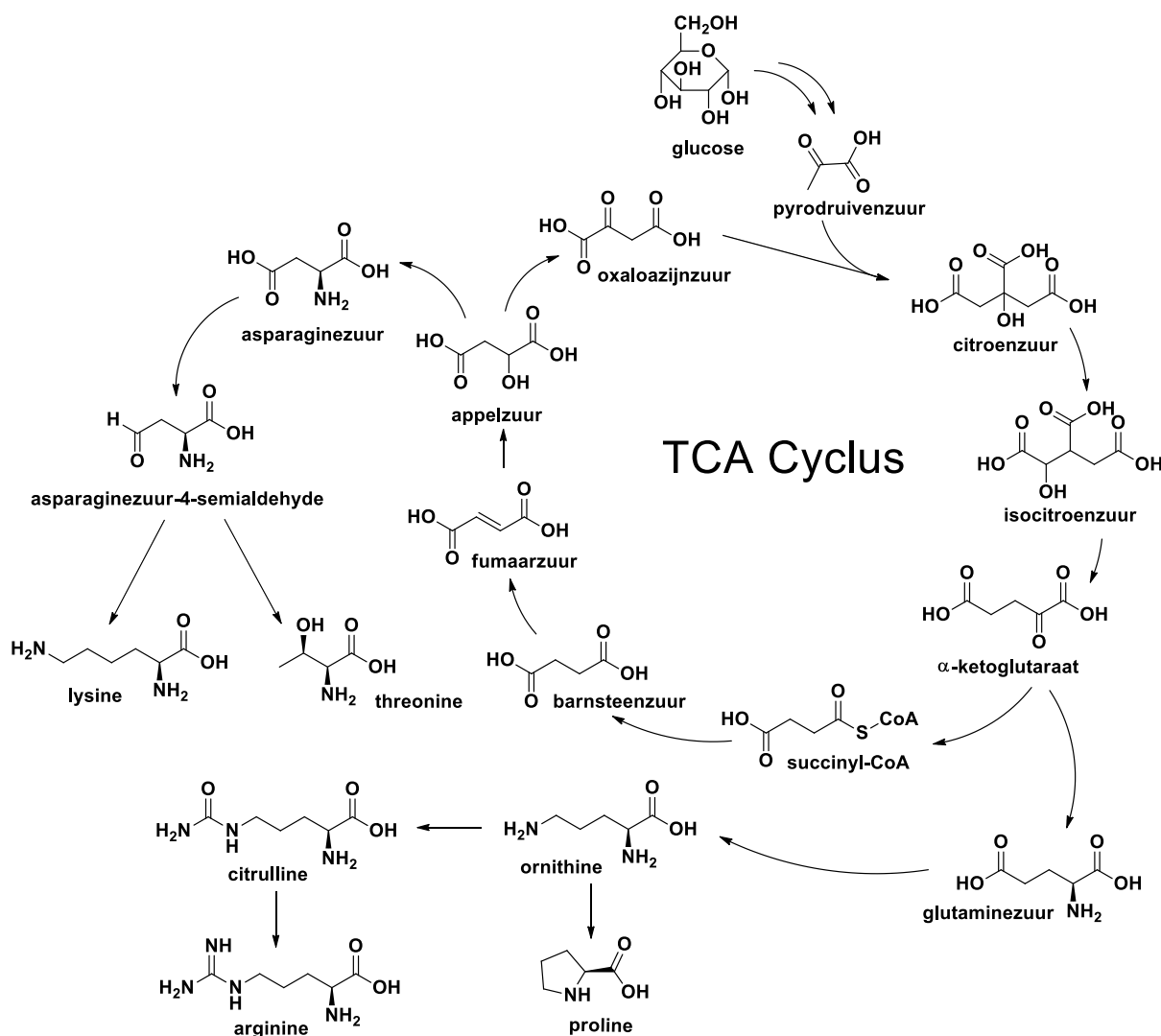
Fermentatieve aminozuurproductie startte in 1956 met de ontdekking van *Corynebacterium glutamicum*. Men kwam tot de ontdekking dat *C. glutamicum* de natuurlijke eigenschap bezat om L-glutaminezuur extracellulair te accumuleren. Hetzelfde jaar nog werd het eerste industriële proces gestart op basis van dit micro-organisme (Sano, 2009). De metabolische reactieweg van de glutaminezuurproductie wordt weergegeven in figuur 1. Het koolstofsubstraat doorgaat de glycolyse en komt finaal in de citroenzuurcyclus terecht. α -Ketoglutamaat kan uit deze cyclus onttrokken worden door het te laten reageren met ammoniak en enzymatisch te reduceren. Glutaminezuurproductie gebeurt in de aanwezigheid van een hoge concentratie suiker en ammonium. De bioreactor wordt goed belucht (aerobe condities) met een geschikte dosis aan mineralen. Ook biotine moet aan het reactiemengsel worden toegevoegd, aangezien het een limiterende factor kan zijn. Het is namelijk essentieel voor de groei van *C. glutamicum*, dat niet in staat is om het zelf te synthetiseren (Wendisch, 2007).

In de afgelopen 50 jaar werd wereldwijd veel onderzoek gedaan naar hoe de productie van glutaminezuur verbeterd kon worden. Dit gebeurde hoofdzakelijk door genetische modificatie van *C. glutamicum*. De meeste biochemische reactiewegen worden namelijk gereguleerd door feedback inhibitie. Anders gezegd, de aanwezigheid van een relatief hoge concentratie

L-glutaminezuur en tussenproducten leidt tot inhibitie van de enzymen aan het begin van de reactieweg. Het inbouwen van een gen, dat codeert voor een enzym met minder of meer feedback regulatie kan deze limitatie omzeilen (Chen *et al.*, 2014; Zhou & Zeng, 2015). Ook gen-multiplicatie van een limiterend enzym kan bijvoorbeeld leiden tot verbetering (Demain, 2007; Zhou *et al.*, 2015).

De tientallen jaren van onderzoek zorgden ervoor dat *C. glutamicum* het stokpaardje werd voor de productie van glutaminezuur met concentraties en opbrengsten van respectievelijk 100 g L⁻¹ en 0,60 g (g glucose)⁻¹. Inmiddels heeft *C. glutamicum* zelfs al de GRAS-status gekregen, wat inhoudt dat elke stam van *C. glutamicum* veilig gebruikt kan worden en geen toxische gevolgen heeft voor de mens. Ook vandaag de dag gebeurt er nog heel wat onderzoek. Uitdagingen zijn *C. glutamicum* biotine-prototroof te maken of om het te laten groeien op meer duurzame substraten (Wendisch 2014; Wendisch *et al.*, 2016). Het wildtype *C. glutamicum* kan een brede waaier aan koolstofbronnen gebruiken: glucose, fructose, ribose en de twee disachariden sucrose en maltose (Georgi *et al.*, 2005). De meest gebruikte koolstofbron is glucose, bekomen na enzymatische hydrolyse van zetmeel in maïs, aardappelen of maniok. Ook azijnzuur, ethanol en goedkope suikerrijke afvalstromen zoals molasses kunnen gebruikt worden als koolstofbron. In recente ontwikkelingen werd *C. glutamicum* zodanig gemodificeerd dat ook xylose, galactose, arabinose, cellobiose, glycerol, levoglucosaan, glucosamine en *N*-acetylglucosamine gebruikt kunnen worden. Nog niet alle polymerische koolstofbronnen kunnen rechtstreeks gebruikt worden. Lignocellulose vereist bijvoorbeeld een voorbehandeling. Dit kan chemisch met zuren en basen, of enzymatisch. Toch bestaan er *C. glutamicum* stammen, bijvoorbeeld voor de productie van L-lysine, die kunnen groeien op zetmeel, glucanen, lignocellulose, grassap en chitine (Wendisch 2014; Wendisch *et al.*, 2016). De gebruikte koolstofbron is dus zeer variabel en flexibel. *C. glutamicum* is zelfs in staat om diverse koolstofbronnen tegelijk te gebruiken, waardoor ook complexe mengsels kunnen aangewend worden. Als stikstofbron kan gekozen worden voor ammoniak, een ammonium zout of ureum.

Niet alleen glutaminezuur, maar ook tal van andere aminozuren worden geproduceerd door *C. glutamicum*. Enkele voorbeelden zijn L-lysine, L-threonine, L-asparaginezuur, L-ornithine, L-citrulline, L-proline en L-glutamine. De biochemische reactieweg voor de productie van deze aminozuren wordt weergegeven in figuur 1. Tabel 1 geeft een overzicht van verschillende aminozuren met hun titerconcentratie en opbrengst. Hoewel in deze sectie alleen *C. glutamicum* besproken werd, kunnen ook andere micro-organismen, zoals *Escherichia coli*, na genetische modificatie worden ingezet voor de productie van aminozuren (Zhou & Zeng, 2015).



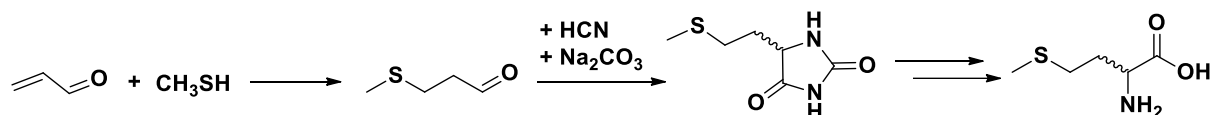
Figuur 1. De biochemische reactieweg voor de synthese van verschillende aminozuren (Chen *et al.*, 2014; Wendisch *et al.*, 2016).

Tabel 1. Fermentatieve productie van enkele aminozuren: behaalde titerconcentratie en opbrengst.

Aminozuur	Concentratie (g L ⁻¹)	Opbrengst (g (g glucose) ⁻¹)	Referentie
L-Glutaminezuur	100	0,60	Kawakita (2000)
L-Lysine.HCl	120	0,55	Becker <i>et al.</i> (2011)
	160	0,45-0,50	Pfefferle <i>et al.</i> (2003)
L-Threonine	100	0,40-0,50	Demain (2007), Hideaki (2013)
L-Arginine	92,5	0,40	Park <i>et al.</i> (2014)
L-Ornithine	51,5	0,24	Kim <i>et al.</i> (2015)
	20,8	0,52	Jensen <i>et al.</i> (2015)
L-Citrulline	7,7	0,38	Eberhardt <i>et al.</i> (2014)
L-Proline	12,7	0,36	Jensen & Wendisch (2013)

1.1.2 Chemische synthese

D,L-Methionine wordt chemisch gesynthetiseerd, ondanks dat in het merendeel van alle landen een verbod heerst op synthetische methionine in organische landbouw (Willke, 2014). Het proces wordt al 50 jaar uitgevoerd door Evonik Degussa in Duitsland, ze produceren er 60% van de wereldcapaciteit. Dit is goed voor meer dan 600 000 ton per jaar. Uit methaanthiol, acroleïne en waterstofcyanide wordt een racemaat geproduceerd (schema 1, Katryniok *et al.*, 2010).

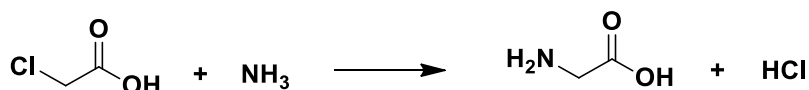


Schema 1. De synthese van D,L-methionine uit methaanthiol, acroleïne en waterstofcyanide (Katryniok *et al.*, 2010).

In diervoeding kan een racemisch mengsel rechtstreeks gebruikt worden. Dieren bezitten een D,L-racemase waardoor ze beide vormen kunnen metaboliseren. Een scheiding van de twee enantiomeren is hier dus niet nodig. Voor farmaceutische doeleinden is dit wel het geval. Het meest gebruikte scheidingsproces gebeurt enzymatisch (dynamische kinetische resolutie). Na acetylatie van D,L-methionine tot *N*-acetyl-D,L-methionine wordt een L-acylase toegevoegd. Dit enzym converteert enkel de L-vorm terug naar L-methionine. Het overgebleven *N*-acetyl-D-methionine wordt opnieuw geracemiseerd met azijnzuuranhydride, waarna het mengsel opnieuw ge-acetyleerd wordt (Wöltinger *et al.*, 2005).

Chemische synthese is niet de enige manier om L-methionine te produceren. In zowel plantaardige als dierlijke proteïnen is methionine aanwezig (sectie 1.1.3). Ook de fermentatieve productie is een optie, hoewel deze reactieweg regulatorisch zeer complex is. Daarom zijn er weinig stammen die het aminozuur in significante hoeveelheden kunnen produceren. De hoogste concentratie L-methionine dat tot nu toe gerapporteerd werd, is 35 g/L met een genetisch gemodificeerde *E. coli* (Willke, 2014).

Een ander aminozuur dat chemisch geproduceerd wordt, is glycine. Glycine heeft geen stereocentrum en heeft daarom geen L- of D-vorm. Chemische synthese levert dus altijd het gewenste product op. Het wordt meestal geproduceerd uit chloorazijnzuur en ammoniak (schema 2, Ajiamino, 2017).



Schema 2. De synthese van glycine uit chloorazijnzuur en ammoniak (Ajiamino, 2017).

1.1.3 Isolatie van proteïnen uit nevenstromen

Naast directe synthese, zijn er diverse afval- en zijstromen die rijk zijn aan proteïnen. Aangezien proteïnen zijn opgebouwd uit aminozuren, vormen deze afvalstromen een derde belangrijke bron van deze molecules. Vooral in de toekomst zal de productie van aminozuren via eiwitisolatie een zeer belangrijke bron worden. In deze sectie wordt de isolatie van proteïnen uit landbouwafval, zijstromen van bioraffinaderijen en slachtafval besproken.

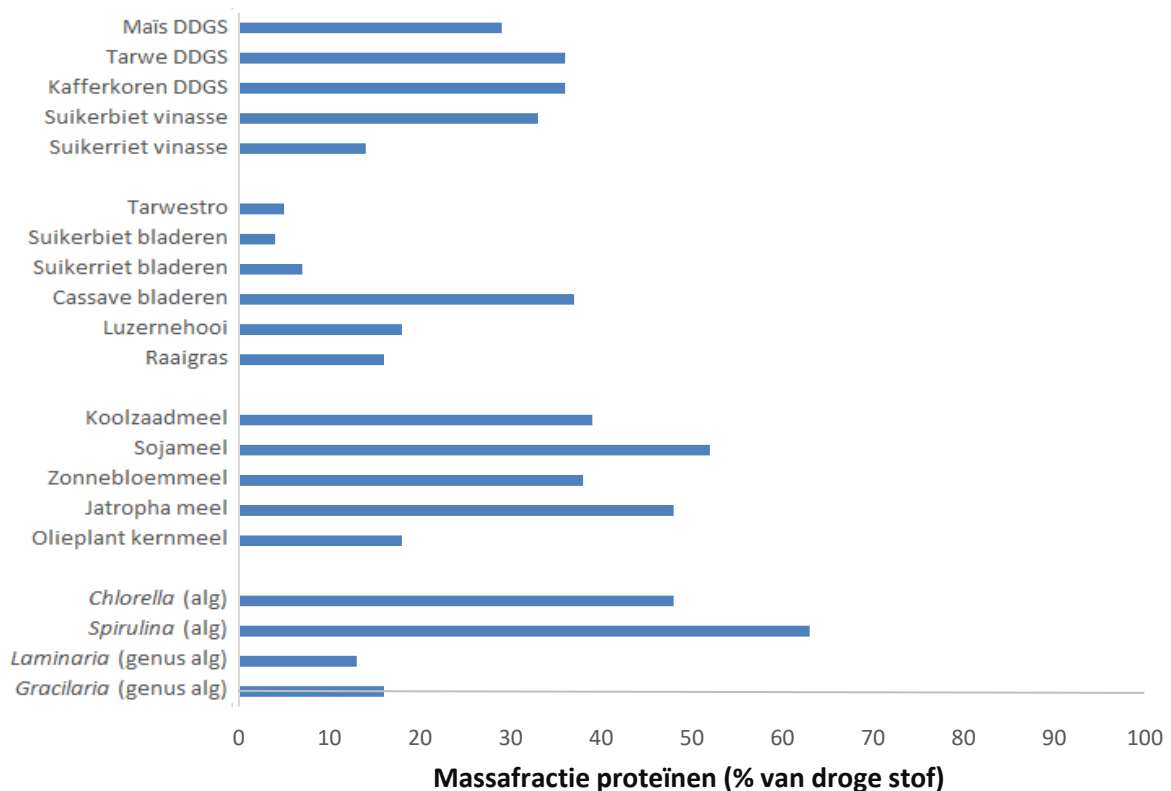
1.1.3.1 Bioraffinaderij en landbouwafval

In een bioraffinaderij verloopt de productie van voedsel, voeder, chemicaliën en biobrandstof zij aan zij. Waar sommige delen van de plant geschikt zijn voor menselijke consumptie, zijn andere delen dit minder. In de productie van bio-ethanol uit maïs of graan, wordt van de koolhydraten bio-ethanol gemaakt. Wat overblijft is een proteïnerijke reststroom, genaamd *dried distiller's grains with solubles* (DDGS). Deze DDGS heeft een kostprijs tussen de 150 en 240 €/ton en wordt hoofdzakelijk gebruikt als voeder voor runderen (USDA, 2014). Economisch gezien zou het interessanter zijn om de proteïnen te hydrolyseren tot aminozuren en er chemicaliën uit te maken, zoals bijvoorbeeld acrylonitril en caprolactam uit asparagine en lysine (Scott *et al.*, 2007). Beide chemicaliën hebben een kostprijs die gemiddeld zo'n tien keer hoger ligt dan de aankoopprijs van DDGS (Tuck *et al.*, 2012). Ook vanuit een milieubewust standpunt is het aanbevolen om uit proteïnerijke fracties, de verschillende aminozuren te isoleren en (deels) om te zetten naar chemicaliën. Wanneer teveel ruwe proteïnes gevoederd worden aan boerderijdieren, zoals bijvoorbeeld varkens, worden namelijk niet-essentiële aminozuren inefficiënt opgenomen. Het resultaat is een verhoogde emissie van ammoniak en NO_x.

Een ander voorbeeld situeert zich in de bio-ethanol productie uit suikerbiet of suikerriet. Het restproduct dat hier overblijft wordt vinasse genoemd. Vinasse is een stroperige substantie die veel mineralen bevat en voor een groot deel bestaat uit proteïnen (Dacam, 2015). Per m³ ethanol, wordt 12-13 m³ vinasse geproduceerd. In 2016 produceerde de Brazilian Sugarcane Industry Association (UNICA) maar liefst 30 miljoen m³ bio-ethanol. Dit komt overeen met ongeveer 375 miljoen m³ vinasse. Deze vinasse heeft op dit ogenblik weinig economische waarde. Het wordt gebruikt als meststof, gemengd in voeder of verbrand voor de productie van energie. Er zijn nog tal van andere productstromen zoals bladeren en ander landbouwafval. Een van de grootste stromen is sojameel, dat overblijft als restfractie bij de productie van sojaolie. Deze

eiwitrijke stroom is goed voor 218,7 Mton in 2015 (USDA, 2016). Sojameel bestaat voor de helft uit proteïnen en is makkelijk verteerbaar (Maskařová *et al.*, 2014). Het is dus geschikt voor menselijke consumptie, al wordt het wereldwijd hoofdzakelijk gebruikt in voeder.

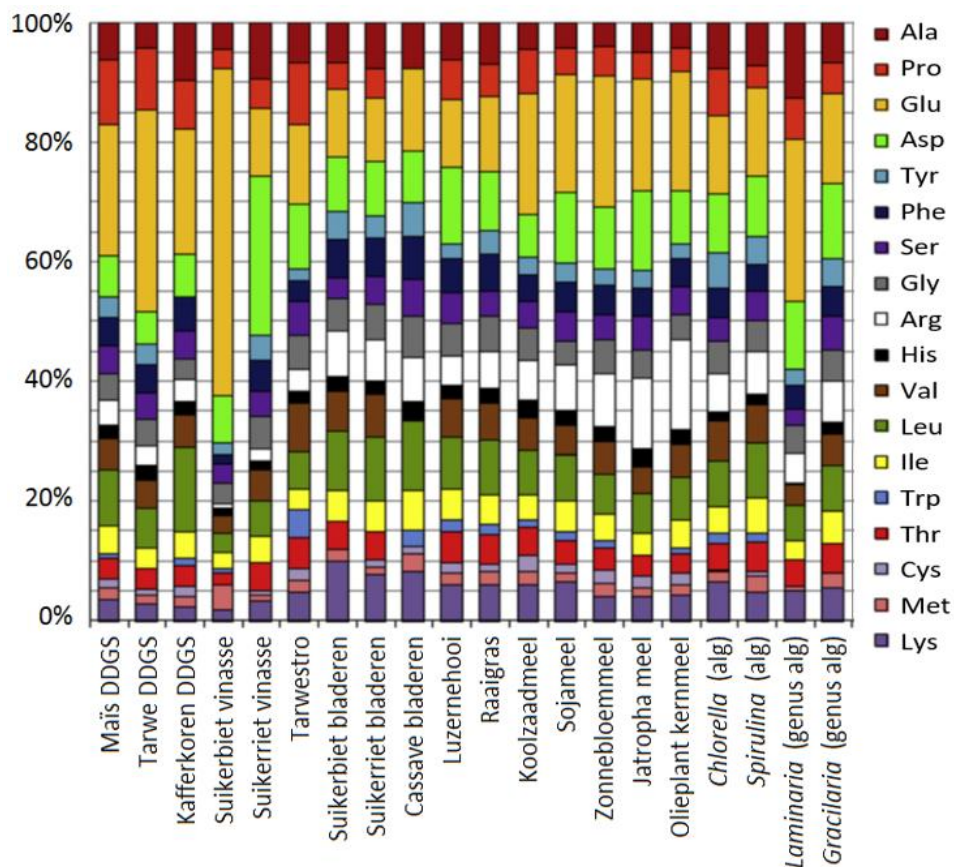
In figuur 2 wordt het proteïnegehalte van verschillende nevenstromen weergegeven. Uit deze figuur kan worden afgeleid dat gemiddeld tussen 20 en 40% van de droge stof wordt ingenomen door proteïnen. Hoewel het proteïnegehalte van sommige productstromen eerder aan de lage kant is, is het toch haalbaar om deze te extraheren. Het isoleren van laaggeconcentreerde proteïnen werd reeds succesvol onderzocht door Dale *et al.* (2007, 2009). Tarwestro bevat bijvoorbeeld $\leq 5\%$ proteïnen. Dit tarwestro kan na hydrolyse van de cellulose worden gebruikt voor de productie van bio-ethanol. De proteïnen kunnen nadien geëxtraheerd worden met behulp van een warme ammoniakoplossing in water (50-65°C; Bals *et al.*, 2007). Een andere manier om laaggeconcentreerde aminozuren te herwinnen is door gebruik te maken van cyanobacteriën (Sanders *et al.*, 2012). Typisch aan cyanobacteriën is dat ze stikstof en energie opslagen in de vorm van cyanophycine. Dit cyanophycine is een polypeptide van L-asparaginezuur en L-arginine, en wordt binnenin de cel opgestapeld tot 35% van zijn droog gewicht.



Figuur 2. De massafractie aan proteïnen in verschillende nevenstromen, uitgedrukt in percentage van de droge stof (Lammers *et al.*, 2012). De waarden weergegeven in deze figuur zijn indicatief. Het exacte gehalte aan proteïnen in de droge stof zal verschillen naar gelang de locatie, de oogst, *etc.*

Proteïnes en aminozuren kunnen op deze manier herwonnen worden uit een waterige oplossing, zoals in het geval van bijvoorbeeld aardappel- of grassap (Steinle & Steinbüchel, 2010). Hierbij moet bemerkt worden dat na hydrolyse van cyanophycine, deze techniek enkel L-asparaginezuur en L-arginine oplevert.

Naast het gehalte aan proteïnen, is het ook interessant om te weten in welke mate elk aminozuur aanwezig is in elke productstroom (figuur 3). Globaal gezien is L-glutaminezuur het meest abundant aanwezig. In suikerbiet vinasse wordt zelfs een fractie van ongeveer 63% ingenomen door L-glutaminezuur. Enkel in suikerriet vinasse wordt L-glutaminezuur overtroffen door L-asparaginezuur. Hoge fracties van één bepaald aminozuur maken het extra aantrekkelijk om dit aminozuur om te zetten naar chemicaliën. Daarnaast moet de productstroom groot genoeg zijn opdat het proces economisch rendabel zou zijn.



Figuur 3. De massafractie van alle aminozuren aanwezig in de proteïnen van verschillende nevenstromen (Lammers *et al.*, 2012). Bovenstaande waarden zijn indicatief. De exacte aminozuursamenstelling van de proteïnen zal verschillen tussen verschillende oogsten of locaties.

Zoals eerder beschreven, produceert UNICA in Brazilië, de hoofdproducent van bio-ethanol, op jaarbasis 30 miljoen m³ ethanol en maar liefst 375 miljoen m³ suikerriet vinasse. Vinasse bestaat voor 7–8% uit droge stof. Van deze droge massa is gemiddeld 13% proteïnen. Dit komt

neer op een totaal van 3,7 Mton proteïnen. Vinasse en bio-ethanol zijn niet de enige productstromen van UNICA. Per Mton suikerriet wordt 100 000 m³ ethanol geproduceerd en blijft 0,3 Mton aan bladeren achter op het veld. Verder werd in 2015 57% van het suikerriet omgezet in ethanol. Uit de overige 43% werd suiker gemaakt (UNICA, 2016). Wanneer er dus op jaarbasis 30 miljoen m³ ethanol geproduceerd wordt, gaat het hier om een totaal van 150 Mton suikerrietbladeren, goed voor meer dan 2,7 Mton aan proteïnen (28% droge stof, Deepchand, 1985).

Tot slot kunnen ook uit algen proteïnen worden afgezonderd. De droge massa van microalgen uit de geni *Chlorella* en *Spirulina* bestaat typisch voor 50 tot 60% uit proteïnen. Doordat de droge restmassa naast dit hoge gehalte aan proteïnen ook een heleboel mineralen en vitaminen bevat, wordt het momenteel voornamelijk gebruikt in de voedingsindustrie. Toch is het potentieel hoog. Voor elke m³ biodiesel die er uit deze algen gemaakt wordt, levert het 0,75 ton proteïnen op.

1.1.3.2 Proteïnen uit slachtafval

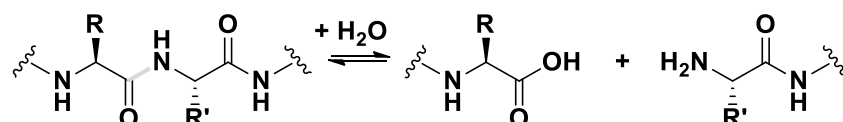
In tegenstelling tot alle eerder besproken zijstromen wordt slachtafval effectief aanzien als afval. Het is niet geschikt voor of mag niet verwerkt worden in voedsel voor mens of dier (met uitzondering van gemalen kippenveren). Om deze reden wordt het meestal verbrand of gestort. Nochtans bevat het slachtafval een heleboel waardevolle componenten. Varkenshaar is bijvoorbeeld een afvalstroom ongeschikt voor menselijke consumptie. In Spanje wordt jaarlijks 34 kton varkenshaar gegenereerd dat momenteel gestort wordt. Hierdoor wordt het een groot milieuprobleem. Varkenshaar bestaat op droge basis voor 94% uit proteïnen (α -keratine) en slechts voor 6% uit mineralen en vet. De hoge concentratie aan proteïnen maakt het een aantrekkelijke bron om de afzonderlijke aminozuren uit te isoleren. In een studie van Esteban *et al.* (2010) werden varkenshaaren succesvol gehydrolyseerd tot de verschillende aminozuren. De meest abundante aminozuren aanwezig in varkenshaar zijn L-glutaminezuur, met een massafractie van 15%, en L-arginine, L-cystine, L-leucine en L-asparaginezuur, met elk een massafractie van ongeveer 10%.

Niet alleen varkenshaar maar ook andere slachtafvalstromen werden eerder onderzocht. Gemalen kippenveren bestaan voor 85% uit proteïnen. In 2008 ging het om 21 Mton aan proteïnen aanwezig in gemalen kippenveren. Momenteel wordt dit veel gebruikt als voeder of als meststof (Kondamudi *et al.*, 2009). Ook de isolatie van aminozuren uit wol, hoornen en

hoeven van schapen (Marshall & Gillespie, 1977), uit de ingewanden van vis en uit afval van garnalen (Daimon *et al.*, 2001; Kang *et al.*, 2001), *etc.* werd reeds onderzocht.

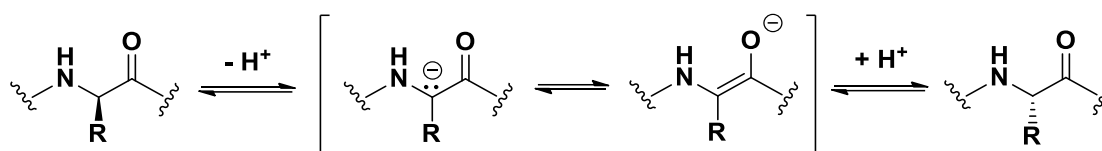
1.1.4 Hydrolyse van proteïnen

In de vorige paragraaf werd de isolatie van proteïnen uit verschillende productstromen besproken. Om de afzonderlijke aminozuren te bekomen moeten deze proteïnen gehydrolyseerd worden. Het is de bedoeling om zoveel mogelijk afzonderlijke aminozuren te herwinnen. Helaas kunnen naast de hydrolyse ook decomposities en andere nevenreacties optreden. Hydrolyse kan zowel met zuur, base of enzymatisch uitgevoerd worden (schema 3). Hoewel elke techniek zijn voor- en nadelen heeft, kiest men conventioneel voor zure hydrolyse met behulp van een 6 M HCl oplossing. Bij deze hydrolyse neemt de stikstofgroep een proton op waarna de amide binding breekt. Enkele gevolgen van deze techniek zijn dat L-asparagine en L-glutamine volledig hydrolyseren tot L-glutamine- en L-asparaginezuur. Dit kan zowel voor- als nadelig beschouwd worden. Hoewel L-asparagine en L-glutamine afwezig zijn, is er een grotere hoeveelheid van L-glutamine- en L-asparaginezuur aanwezig. Verder breekt L-tryptofaan volledig af in deze zure condities en ook L-serine, L-threonine en L-tyrosine worden deels afgebroken. Diverse beschermende agentia worden toegevoegd om deze decomposities te vertragen. Fenol is bijvoorbeeld in staat om L-tyrosine, L-fenylalanine en L-histidine te stabiliseren. Thioglycolzuur stabiliseert op zijn beurt L-tryptofaan en L-methionine (Fountoulakis & Lahm, 1998).



Schema 3. Hydrolyse van proteïnen.

Proteïnehydrolyse onder basische condities of enzymatisch is vrij uitzonderlijk. Hoewel onder basische condities L-tryptofaan stabiel is, worden andere aminozuren zoals L-serine, L-threonine, L-arginine en L-cysteïne vernietigd. De aminozuren worden eveneens geracemiseerd (schema 4, Stenberg *et al.*, 2001; Al Toma *et al.*, 2015). Dit is vrijwel niet het geval bij zure of enzymatische hydrolyse. Een groot voordeel bij enzymatische hydrolyse is de hoge hydrolyse-opbrengst. Opbrengsten tot 97-100% worden bekomen. De methodes zijn echter complex en een volledige hydrolyse duurt lang. De aminozuren die onder chemische condities vernietigd worden, blijven hier wel behouden (Fountoulakis & Lahm, 1998).



Schema 4. Racemisatie van proteïnen in basische condities.

Met het onderzoek naar proteïnehydrolyse is men de afgelopen jaren actief bezig geweest. Eén van de ontwikkelingen is het gebruik van microgolfstraling in plaats van conventionele verwarming. De directe opname van stralingswarmte leidt tot het verkorten van de hydrolysetijd. In plaats van vele uren, duurt de hydrolyse nu maximaal 45 minuten. Deze methode zorgt echter voor een verhoogde racemisatie van de aminozuren (Weiss *et al.*, 1998). Ook de hydrolyse van proteïnen in subkritisch water (Esteban *et al.*, 2010) of met cellulose nanovezels (Serizawa *et al.*, 2013) werd onderzocht. Werken met subkritisch water (200-300°C, 15-80 bar) heeft het voordeel dat er geen extern zuur of base moet worden toegevoegd. Hierdoor wordt zoutafval vermeden. Hetzelfde geldt voor cellulose nanovezels. Deze heterogene katalysator voert een enantioselectieve hydrolyse uit. Zo wordt arginine preferentieel gehydrolyseerd naar zijn L-vorm en alanine preferentieel naar zijn D-vorm (Serizawa *et al.*, 2013). De vezels kunnen nadien uit het reactiemengsel worden verwijderd.

1.1.5 Scheiding van aminozuren

Na hydrolyse van de proteïnen kunnen de individuele aminozuren nog afgezonderd worden. Op laboschaal kan men aminozuren eenvoudig van elkaar scheiden via *high-performance liquid chromatography* (HPLC) (Gheshlaghi *et al.*, 2008). Op industriële schaal is dit minder eenvoudig. De enorme scheidingskolom en het grote debiet aan mobiele fase zouden hoge kosten met zich meebrengen. Verschillende andere scheidingsmethodes werden reeds onderzocht. In deze sectie worden de meest belovenden besproken. De belangrijkste methoden werken op basis van membraanscheidingen, met in het specifiek elektrodialyse. Ook methodes op basis van adsorptie en neerslagvorming werden onderzocht.

1.1.5.1 Filtratie

Een eerste scheidingsmethode maakt gebruik van nanofiltratie (NF) en ultrafiltratie (UF) membranen. Aan de membraan/oplossing-interfase vinden drie mechanismes plaats:

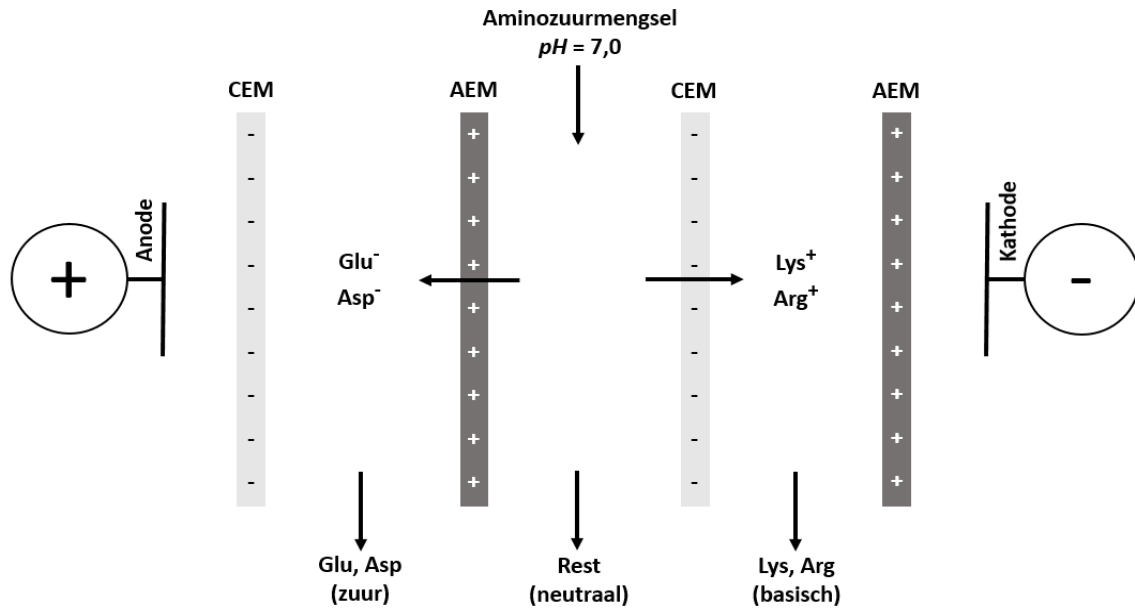
- Preferentiële adsorptie; het gevolg van bijvoorbeeld hydrofobe interacties
- Zeefeffecten; molecules met een grootte gelijkaardig of groter aan de poriegrootte van het membraan migreren minder vlot doorheen het membraan dan kleinere molecules

- Donnan-exclusie; ionen en aminozuren met dezelfde netto lading als het membraan worden tegengehouden. Afhankelijk van de pH en de R-groep op het aminozuur, zal de lading verschillen. Ondanks het zwitterionisch karakter kan een aminozuur op zijn iso-elektrisch punt (IEP) beschouwd worden als een neutraal molecuul.

De combinatie van deze drie factoren zal zorgen voor een verschillende flux doorheen het membraan voor alle aminozuren (Timmer *et al.*, 1998). Er kan een scheiding gemaakt worden tussen kleinere aminozuren, zoals glycine en alanine, en grotere aminozuren, zoals L-fenylalanine en L-tryptofaan. Ook de concentratie heeft een invloed. Dit heeft vooral invloed wanneer er scheidingen plaatsvinden op basis van lading. Bij hoge ionische sterkte is er namelijk een slechtere Donnan-exclusie. Scheiding op basis van lading wordt ook in de volgende sectie besproken.

1.1.5.2 Elektrodialyse

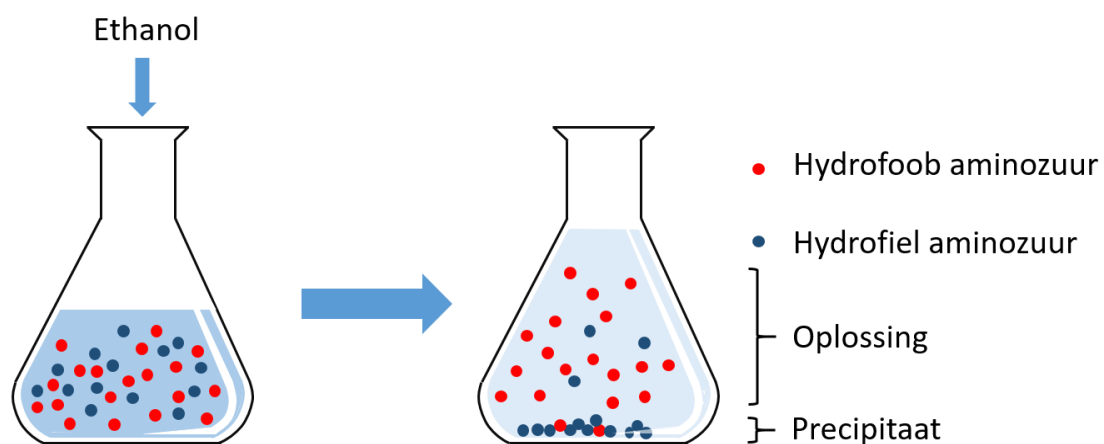
Aminozuren kan men verdelen in drie fracties. Er zijn namelijk zure, basische en neutrale aminozuren. Bij neutrale pH , is L-leucine bijvoorbeeld neutraal, draagt L-aspartaat een negatieve lading en L-lysine een positieve lading. Dit verschil in lading geeft de mogelijkheid van fractionatie via elektrodialyse. Een voorbeeld van een elektrodialyse opstelling wordt weergegeven in figuur 4. Een spanning wordt aangelegd over verschillende membranen heen. Negatief geladen aminozuren migreren naar de anode door een anionuitwisselingsmembraan. Het omgekeerde geldt voor de positief geladen aminozuren die naar de kathode migreren. Dit levert drie fracties op: een zure, een neutrale en een basische fractie. Arginine heeft echter een vergiftigend effect op de meeste commerciële anionuitwisselingsmembranen. De aanwezigheid van arginine zorgt voor een daling in het watergehalte van het membraan. Hierdoor stijgt de weerstand over het membraan en daalt de efficiëntie. Dit probleem kan omzeild worden door gebruik te maken van membranen met een hogere zwellingsgraad (Kattan Readi *et al.*, 2013). Elke fractie kan nadien verder gescheiden worden. Enkele voorbeelden worden besproken in sectie 1.1.5.3. Ook de zoutvorm van een aminozuur kan met behulp van elektrodialyse terug omgezet worden naar zijn neutrale vorm. Een concreet voorbeeld hiervan werd onderzocht door Lin *et al.* (2016). Na-methionine werd omgezet naar 99,4% zuivere methionine en NaOH.



Figuur 4. Schematische weergave van een elektrodialyseproces. Tussen de anode en de kathode bevinden zich twee anionuitwisselingsmembranen (AEM) en twee kationuitwisselingsmembranen (CEM). Een mengsel van aminozuren, dat in het midden geïnjecteerd wordt, wordt vervolgens gescheiden in drie fracties.

1.1.5.3 Andere scheidingstechnieken

Een eerste scheidingstechniek om aminozuren verder te scheiden, is fractionele neerslagvorming. Deze techniek wordt geïllustreerd in figuur 5. Een niet-solvent wordt toegevoegd aan een waterige oplossing van aminozuren. Bij een bepaalde verhouding solvent/niet-solvent zullen sommige aminozuren neerslaan en andere in oplossing blijven. Deze methode kan bijgevolg gebruikt worden om aminozuren te scheiden of verder op te zuiveren. Deze zeer recente methode werd door Widyarani *et al.* (2016) beschreven.



Figuur 5. Fractionele neerslagvorming. Een tweede solvent, zoals bijvoorbeeld ethanol, wordt toegevoegd aan een waterige oplossing van aminozuren. Hydrofobe aminozuren blijven in oplossing.

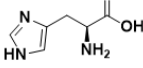
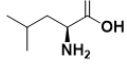
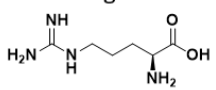
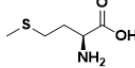
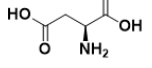
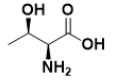
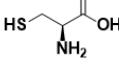
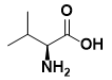
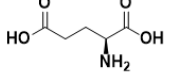
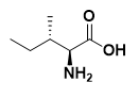
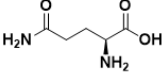
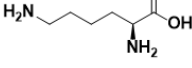
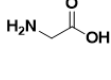
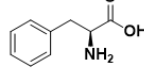
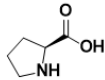
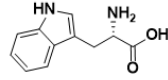
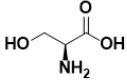
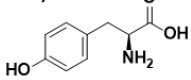
Ook adsorptieprocessen kunnen gebruikt worden om aminozuren van elkaar te scheiden. Zo publiceerde Stüeckenschneider *et al.* in 2013 een artikel over de scheiding van L-glycine, L-alanine en L-lysine door adsorptie in MFI-zeolieten. Niet alleen verschillende aminozuren kunnen door adsorptie gescheiden worden. Door enantioselectieve adsorptie op bijvoorbeeld composietmaterialen op basis van cellulose en chitosan, kunnen D-aminozuren van hun L-vorm worden gescheiden (Duri & Tran, 2014).

Tot slot kan men ook beroep doen op micro-organismen. In sectie 1.1.3.1 werd een voorbeeld uitgewerkt met cyanobacteriën. Men kan ook rechtstreeks beroep doen op opgezuiverde enzymen, zoals besproken door Teng *et al.* (2011). Na scheiding via elektrolyse, bestaan de zure en basische fractie beide uit slechts twee aminozuren. In de basische fractie kan L-lysine met L-lysinedecarboxylase worden omgezet in pentaandiamine, wat eenvoudig te scheiden is van L-arginine via destillatie.

1.1.6 Naar voedingssector of chemische industrie?

De grote vraag blijft natuurlijk: moeten aminozuren ingezet worden in de voedingsindustrie of kunnen er chemicaliën van gemaakt worden? Het antwoord op deze vraag is natuurlijk niet zo eenvoudig en werd eerder al deels besproken in sectie 1.1.3. Niet elk aminozuur is in de eerste plaats even gewild en noodzakelijk in de voedingssector. Er kan een onderscheid gemaakt worden tussen essentiële en niet-essentiële aminozuren (figuur 6). Essentiële aminozuren kunnen niet worden aangemaakt door mens of dier. Ze moeten dus opgenomen worden uit de voeding. Indien essentiële aminozuren gebruikt worden om chemicaliën van te maken, treedt dit in rechtstreekse competitie met de voedingssector. Voor niet-essentiële aminozuren is dit niet het geval, al klopt dit ook niet volledig. L-Glutaminezuur is namelijk een niet-essentieel aminozuur. Toch worden er miljoenen tonnen van gebruikt in de voedingssector; L-glutaminezuur wordt namelijk gebruikt als smaakversterker (Wendisch *et al.*, 2016).

Een andere factor die in rekening gebracht moet worden, is de afkomst van de aminozuren. In sectie 1.1.3 kwam de eiwitisolatie uit varkensharen bijvoorbeeld aan bod. Grote hoeveelheden varkenshaar worden jaarlijks gestort of verbrand, deze eiwitten kunnen namelijk niet gerecupereerd worden in voeder wegens biologische contaminatie. Van dergelijke eiwitbronnen kunnen dus zowel essentiële als niet-essentiële aminozuren gevaloriseerd worden via een chemische route.

Essentieel	Niet-essentieel
L-histidine 	L-alanine 
L-leucine 	L-arginine 
L-methionine 	L-asparaginezuur 
L-threonine 	L-cysteine 
L-valine 	L-glutaminezuur 
L-isoleucine 	L-glutamine 
L-lysine 	glycine 
L-fenylalanine 	L-proline 
L-tryptofaan 	L-serine 
	L-tyrosine 

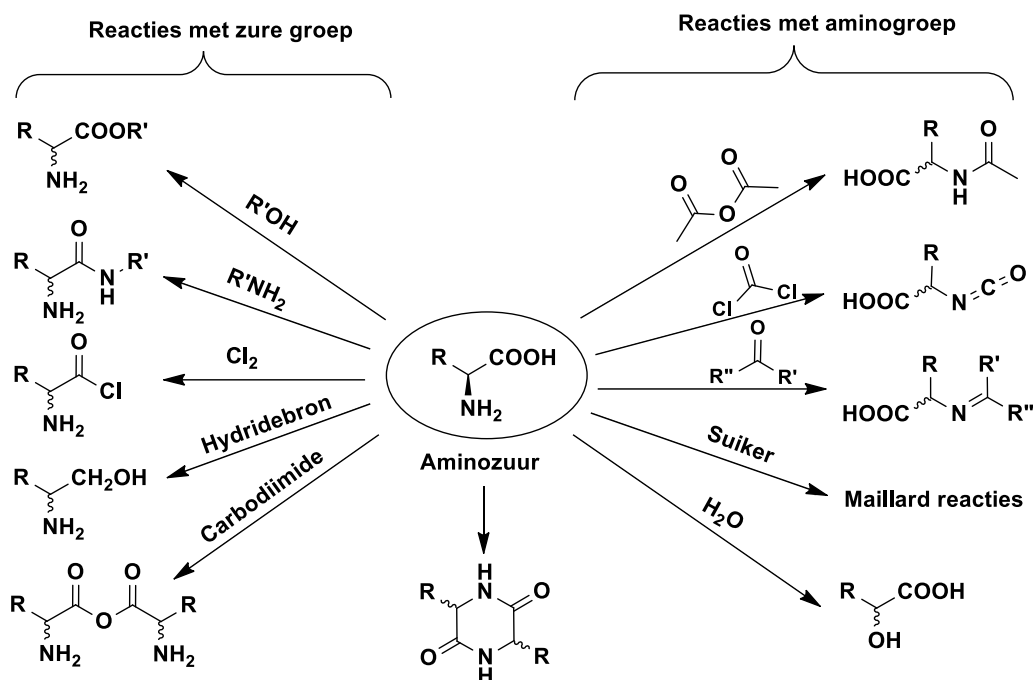
Figuur 6. Essentiële en niet-essentiële aminozuren.

1.2 Aminozuren, bron van biogebaseerde chemicaliën

De huidige productie van stikstofhoudende componenten en tal van andere chemicaliën is hoofdzakelijk gebaseerd op fossiele bronnen. Deze fossiele bronnen zijn niet oneindig en zullen vroeg of laat uitgeput raken. Om deze reden werd het converteren van biomassa naar chemicaliën de afgelopen jaren intensief onderzocht. Biomassa-afgeleiden, zoals aminozuren, hebben namelijk een enorm potentieel als platformchemicaliën in een biogebaseerde industrie. In deze sectie worden gekende omzettingen van aminozuren besproken.

1.2.1 Reacties met aminozuren

Aminozuren zijn amfolytische componenten met minstens één amino- en één carboxylzure groep. Hierdoor draagt een aminozuur, in water, zelfs bij neutrale pH ladingen (zwitterion). Een chemische reactie met een van deze twee groepen kan een gewenst product opleveren. In schema 5 worden de belangrijkste derivatisatiereacties weergegeven (Araki & Ozeki, 1992). Bij esterificatie, amidatie, *etc.* wordt de carboxylzure groep omgevormd. De aminogroep kan men onder andere laten reageren met een zuuranhydride of fosgeen. De reactie met een anhydride resulteert in een *N*-acylatie van de aminogroep. Dit is een veelgebruikte manier om de aminogroep te beschermen. De reactie met fosgeen resulteert in een isocyanaat. Vooral het isocyanaat van lysine is zeer waardevol en wordt gebruikt in de productie van verschillende polyurethanen (Han *et al.*, 2011).



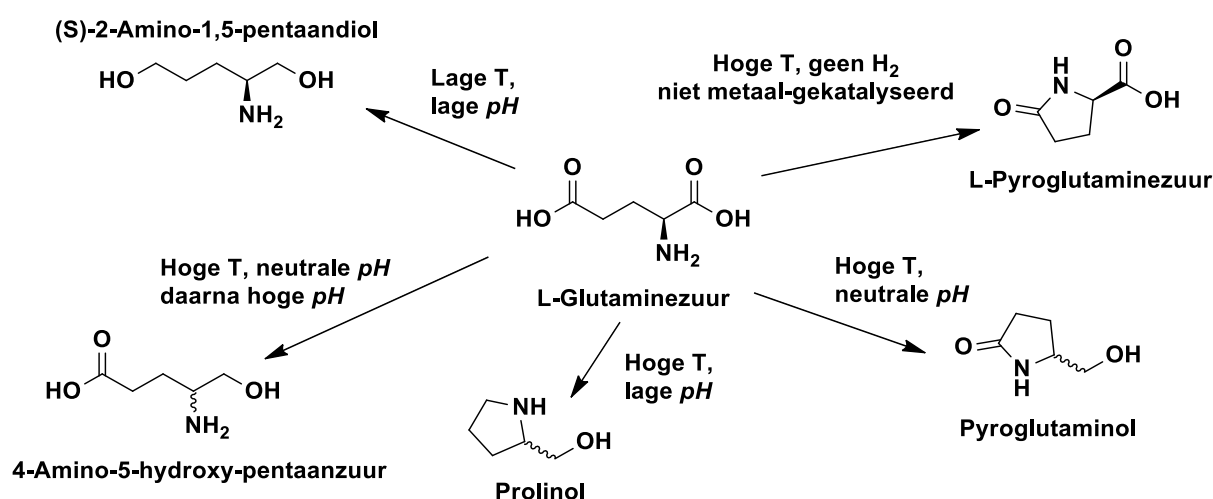
Schema 5. Enkele derivatisatiereacties met een aminozuur (Araki & Ozeki, 1992).

De reacties weergegeven in schema 5 zijn al lang gekend (Dymicky, 1976). Ook in afgelopen decennia is men opzoek gegaan naar manieren om aminozuren te transformeren naar andere nuttige chemicaliën, zoals aminoalcoholen, amines, nitrillen, kunstmatige aminozuren, *etc.* Hierbij wordt de voorkeur gegeven aan een zo groen mogelijk proces. De vorming van zoutafval wordt voorkomen en hydrogenatie- of oxidatiereacties voert men bij voorkeur uit met waterstof of zuurstof. Ook het gebruik van milieuvriendelijke solventen, zoals water, werd onderzocht.

1.2.1.1 Hydrogenatie

Hoewel katalytische hydrogenatie al vele jaren een industriële relevantie kent, werd de hydrogenatie van aminozuren relatief weinig onderzocht. Pas in 1948 beschreven Adkins en Billica voor het eerst de hydrogenatie van aminozuren naar aminoalcoholen. Ze vertrokken van α -amino-esters en gebruikten Raney nikkel katalysatoren op 100°C met ethanol als solvent (Adkins & Billica, 1948). Vijftig jaar later ontdekten Antons en zijn collega's dat deze hydrogenatie ook mogelijk is zonder de tijdelijke derivatisatie naar het α -amino-ester. Door gebruik te maken van een Ru/C katalysator bij hoge waterstofdruk (tot 200 bar) en milde temperatuur (100°C), slaagden zij erin om onder meer L-alanine in water te hydrogeneren naar L-alaninol met behoud van de enantiomere zuiverheid (98% e.e.) (Antons *et al.*, 1996).

Ook in de jaren die volgden kregen hydrogenatiereacties van aminozuren tot aminoalcoholen heel wat aandacht. Aminoalcoholen zijn namelijk belangrijke componenten in zowel synthetische als natuurlijke producten. Ze worden onder andere gebruikt in de synthese van geneesmiddelen, insecticiden, cyclische carbamaten zoals oxazolidonen of als chirale liganden (Pablo *et al.*, 2012). In 2004 schreven Holladay *et al.* een artikel over de hydrogenatie van glutaminezuur, het aminozuur waarvan bij uitstek jaarlijks het meeste geproduceerd wordt. Ook hij focuste op de productie van aminoalcoholen. Net als Antons maakte hij gebruik van een Ru/C katalysator en slaagde erin om prolinol te produceren met een conversie en selectiviteit van beide 98%. Deze reactie werd uitgevoerd bij 150°C, 138 bar H₂ en in water als milieuvriendelijk solvent met 1,3 equivalenten fosforzuur. Het toevoegen van zuur vergemakkelijkt de hydrogenatie. De zure groep van het aminozuur moet namelijk in geprotoneerde vorm zijn. Ook andere componenten zoals pyroglutaminol kunnen geproduceerd worden vanuit glutaminezuur (schema 6).



Schema 6. Diverse producten van glutaminezuur (Holladay *et al.*, 2004).

De hydrogenatie van een carboxylzuur is veel moeilijker ten opzichte van andere carbonylcomponenten zoals aldehydes, ketonen en esters (Dub & Ikariya, 2012). Het edelmetaal ruthenium (Ru/C en Ru-Re) is in het verleden een effectieve katalysator gebleken voor deze hydrogenatiereactie. Helaas heeft deze katalysator een lage activiteit. Tamura *et al.* (2014; 2015) kwamen echter met een nieuwe Rh-MoO_x/SiO₂ katalysator op de proppen. Deze heterogene katalysator bleek veel actiever te zijn dan rutheniumkatalysatoren. Verder zijn lagere temperaturen en/of lagere waterstofdrukken vereist (tabel 2). Net als zijn ruthenium-gebaseerde voorgangers wordt deze katalysator ingezet in aangezuurde waterige solventen. Ondanks zijn hoge activiteit en recycleerbaarheid, blijft het een katalysator op basis van een

duur en zeldzaam edelmetaal. Duurzamer zou zijn om te kunnen werken met een katalysator op basis van een minder edel metaal.

Minder dan een jaar geleden suggereerden Shi *et al.* (2015) een alternatief. Hoewel de tijdelijke derivatisatie naar het amino-ester opnieuw vereist is, is zijn CuZn_{0,3}Mg_{0,1}AlO_{1,9}-katalysator zeer effectief gebleken in de synthese van het chirale L-phenylalaninol uit L-phenylalanine methylester. Reacties werden uitgevoerd met een reactietijd van 5 uur, bij 110°C, 40 bar H₂ en 1,5 wt% katalysator/substraat. Het L-phenylalanine methylester wordt volledig omgezet met een opbrengst van 91,1% L-phenylalaninol en een e.e. van >99,9%. Verder bezit de katalysator goede recyclage-eigenschappen (Shi *et al.*, 2015).

Tabel 2. Hydrogenatie van L-alanine naar L-alaninol.

Katalysator	T [°C]	P _{H2} [bar]	Opbrengst (e.e.) [%]	TOF ^a [h ⁻¹]	Referentie
Ru/C	100	69	91 (99,2)	6,7	Pimparkar <i>et al.</i> (2008)
Ru/Re	70	200	80 (99,9)	2,6	Antons <i>et al.</i> (2002)
Rh-MoO _x /SiO ₂ ^b	80	80	69 ^c (>99,9)	80,3	Tamura <i>et al.</i> (2014)
	50	80	92,8 (>99,9)		
	40	80	93,7 ^d (>99,9)		

Alle reacties bij volledige conversie ^a TOF = *turnover frequency*. ^b De molaire ratio Mo/Rh = 1/8.

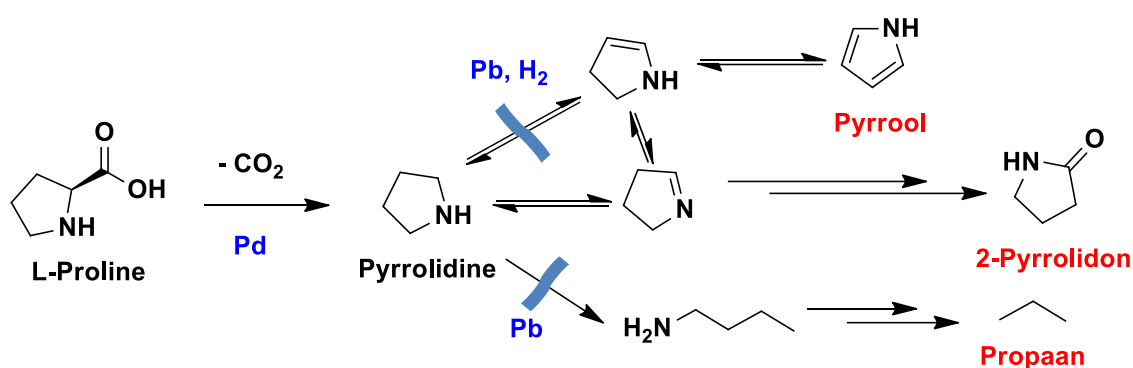
^c 88% selectiviteit en 78% conversie. Reactietijd van 2 uur. ^d Bij een conversie van 99,1%.

Niet alleen de synthese van aminoalcoholen, maar ook tal van andere reacties werden de afgelopen twee decennia bestudeerd. Midden 2015 publiceerden Sun en Süß-Fink (2015) een artikel over de synthese van enkele kunstmatige aminozuren. Met behulp van een rutheniumkatalysator bij milde condities (60°C, 40 bar H₂) in een waterige oplossing, slaagden zij erin om aromatische aminozuren te hydrogeneren naar alifatische aminozuren. Deze reactie vond plaats zonder verlies van de enantiomere zuiverheid (selectiviteit en conversie >99%). Het enige nadeel is de slechte recycleerbaarheid: na de katalysator drie keer te hergebruiken, daalde de activiteit sterk.

1.2.1.2 Decarboxylatie

Wanneer de zure groep van een aminozuur wordt afgeknipt, is er sprake van decarboxylatie (DCO). Het resulterende molecule is een amine. Deze reactie werd onder andere bestuurd door Verduyck *et al.* (2016). Ze ontdekten namelijk dat men pyrrolidine kan bekomen door L-proline in contact te brengen met een Pd-katalysator. Althans, dit gebeurt na de katalysator te

modificeren met Pb en bij de juiste condities. De aanwezigheid van lood is vereist om consecutieve reacties te vertragen (schema 7, Verduyckt *et al.*, 2016). De optimale reactiecondities werden vastgesteld bij een waterstofdruk van 4 bar en 235°C in water (neutrale *pH*). Met 4 mol% PdPb/ZrO₂ kan er gekozen worden voor een hoge selectiviteit maar relatief lage conversie (respectievelijk 95% en 58%) of voor verlaagde selectiviteit maar hogere conversie (respectievelijk 80% en 86%). Hoewel deze katalysator goed werkt voor L-proline, is ze niet geschikt om andere aminozuren te decarboxyleren (Verduyckt *et al.*, 2016). Bij andere aminozuren leidt reactie met deze katalysator tot het klieven van de C-N binding. Pyrrolidine daarentegen is stabiel, want het is een secundair amine.

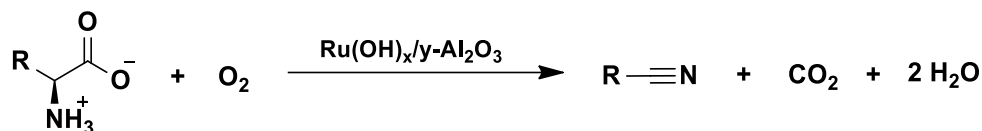


Schema 7. Decarboxylieringsreactie van L-proline naar pyrrolidine en consecutieve nevenreacties (Verduyckt *et al.*, 2016).

Naast de paper van Verduyckt *et al.* (2016) kunnen rapporteringen over de DCO van aminozuren vooral worden teruggevonden in de biokatalyse. Er werden al een heleboel decarboxylases in de literatuur beschreven die aminozuren omvormen naar het respectievelijke amine (Médici *et al.*, 2011; Foti *et al.*, 2013; Straathof, 2014). Sommige van deze carboxylases worden zelfs ingezet om de complexe scheiding van aminozuren te vergemakkelijken (Teng *et al.*, 2011, 2016). Enkele nadelen aan het gebruiken van deze enzymen zijn de vereiste strenge *pH*-controle, het gebruik van dure cofactoren en een lage volumetrische productiviteit. Ook een homogene koperkatalysator werd reeds beschreven (Cadot *et al.*, 2014). Deze katalysator is helaas verre van perfect. Een organisch solvent is vereist (polyethyleenglycol) en veel aminozuren leidden tot een complex mengsel van verschillende al dan niet geïdentificeerde componenten. Er is dus nood aan onderzoek naar een betere DCO-katalysator. Op DCO-reacties met de synthese van amines wordt verder ingegaan in sectie 1.3.3.

Tot slot zijn ook oxidatieve DCO-reacties mogelijk. Dit levert een heleboel interessante nitrillen op die op hun beurt gebruikt kunnen worden in de synthese van amines en amides (schema 8). Claes *et al.* (2015) rapporteerden voor het eerst een volledig zoutvrij proces met

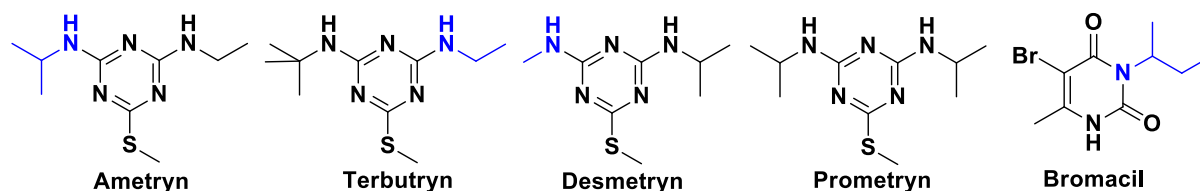
zuurstofgas als oxidans en een heterogene $\text{Ru(OH)}_x/\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$ katalysator. Deze reactie kan uitgevoerd worden bij milde condities (100°C , 30 bar O_2) en met water als solvent. Het proces is dus zeer groen en milieuvriendelijk. Hoge conversies en selectiviteiten werden gehaald voor de omzetting van de aminozuren L-alanine, L-valine, L-isoleucine, D-norleucine en L-glutaminezuur, tot de overeenkomstige nitrillen.



Schema 8. Oxidatieve decarboxylatie van aminozuren naar nitrillen met rutheniumhydroxide-katalysator (Claes *et al.*, 2015).

1.3 Amines, toepassingen en synthese

Primaire alifatische amines zijn zeer belangrijke bouwblokken in de chemische industrie. In 2013 ging het om een wereldwijde productie van meer dan 1,9 miljoen ton. Ze worden gebruikt als essentiële intermediären in de productie van agrochemicaliën, farmaceutische componenten, *etc.* (Roose *et al.*, 2015). In figuur 7 worden ter illustratie enkele herbiciden weergegeven die methyamine, ethylamine, isopropylamine en *sec*-butylamine bevatten. In deze sectie wordt de synthese van amines besproken.



Figuur 7. Enkele hedendaagse herbiciden met ingebouwde amines.

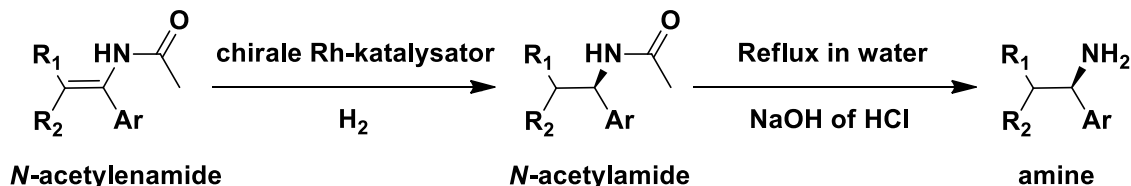
1.3.1 Huidige productie van achirale amines

Vaak worden amines gesynthetiseerd door reactie van het corresponderende alcohol met ammoniak. Vroeger gebeurde dit met pure dehydratatie katalysatoren zoals zeolieten, alumina, silica *etc.*, op 500°C (Pappas & Melville, 1992). Momenteel wordt deze reactie voornamelijk uitgevoerd met ‘*hydrogen borrowing*’-katalysatoren (Hamid *et al.*, 2007). Ze worden gebruikt bij temperaturen tot 250°C en zijn gebaseerd op Fe, Co, Ni of Cu (Roose *et al.*, 2015). Deze metalen zijn namelijk in staat om het alcohol tijdelijk te dehydrogeneren, zodat een stikstofgroep nucleofiel kan aanvallen. Het gevormde imine wordt vervolgens gehydrogeneerd naar het amine (Haniti, 2006).

Nadelig aan deze heterogene katalysatoren blijft hun gelimiteerde selectiviteit voor primaire amines en hun limitatie in te gebruiken substraten. Een manier om de selectiviteit voor het primaire amine te verhogen, is door te werken bij hoge ammoniakdruk. Recenter werden zeer actieve homogene katalysatoren ontwikkeld. Twee voorbeelden hiervan zijn de Ru-Pincer en Ru-Triphos complexen (Gunanathan & Milstein, 2008; Derrah *et al.*, 2015). Deze complexen kunnen werken met een veel complexer substraat op een temperatuur lager dan 135°C. Helaas genereren ze nog altijd secundaire en tertiaire amines.

1.3.2 Huidige productie van chirale amines

Zoals eerder al werd vermeld, is het voor de synthese van onder andere medicijnen vaak belangrijk om amines in een chiraal zuivere vorm te hebben. Om die reden wordt in deze sectie de productie van chirale amines besproken. Er zijn namelijk een heleboel verschillende manieren mogelijk (Nugent & El-Shazly, 2010). In sectie 1.1.2 kwam dynamische kinetische resolutie al aan bod. Hier worden nog drie andere methodes besproken. Een eerste manier is via enantioselectieve reductie van een *N*-acetylenamide (schema 9). Deze methode blijft voornamelijk beperkt tot aromatische amines.



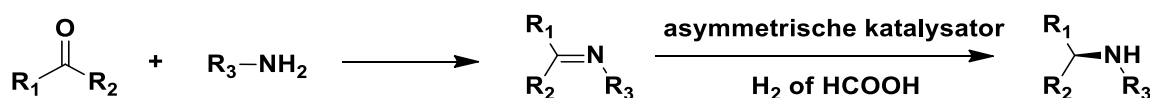
Schema 9. Assymetrische hydrogenatie van *N*-acetylenamide (Ar = aryl).

In een eerste stap wordt het *N*-acetylenamide gemaakt. Dit kan door middel van een één-pot-synthese met een aromatisch nitril, een Grignard reagens en azijnzuuranhydride (Blaise reactie, Prakash Rao *et al.*, 2008). Vervolgens wordt het *N*-acetylenamide met een asymmetrische rhodiumkatalysator gehydrogeneerd. De carbonylgroep fungeert hier als *directing group*. Vervolgens wordt het amine terug vrijgezet. In de literatuur zijn er tal van voorbeelden terug te vinden. Het gros van de gerapporteerde katalytische systemen werkt bij temperaturen lager dan 25°C en een waterstofdruk van 1-50 bar. Telkens wordt er gewerkt in organische solventen zoals THF, dichloromethaan of toluen (tabel 3).

Tabel 3. Hydrogenatie van *N*-(1-fenylvinyl)acetamide met een asymmetrische rhodiumkatalysator.

Ligand	T [°C]	P _{H₂} [bar]	Solvent	Opbrengst (e.e.)	Referentie
(<i>R</i>)-BDPAB	5	1	THF	>99% (92,9%)	Zhang <i>et al.</i> (1998)
(<i>R</i>)-H ₈ -BDPAB	5	1	THF	>99% (96,8%)	Zhang <i>et al.</i> (1998)
(<i>S</i>)-MonoPhos	-20	20	CH ₂ Cl ₂	>99% (95%)	Jia <i>et al.</i> (2002)
(<i>S</i>)-Et-MonoPhos	5	20	THF	>99% (99%)	Jia <i>et al.</i> (2003)
(<i>S</i>)-SIPHOS-Me	25	10	Tolueen	>99% (96%)	Fu <i>et al.</i> (2004)

Een andere manier om chiraal zuivere amines te synthetiseren, gebeurt via asymmetrische reductieve aminatie. Deze methode is recenter ontwikkeld dan de voorgaande. De eerste rapportering gebeurde in 1999 door Blaser *et al.* In hun proces werd (*S*)-metolachlor, een veelgebruikt herbicide, geproduceerd met een Ir-xylyphos-katalysator bij 50°C, 80 bar H₂ en met een e.e. van 78%. Asymmetrische reductieve aminatie is een één-pot-synthese waarbij een keton wordt omgezet naar een chiraal amine (schema 10). Het keton wordt namelijk met een ander amine (of ammoniak) omgezet naar een imine. Dit imine wordt vervolgens stereoselectief gehydrogeneerd.

**Schema 10.** Assymetrische reductieve aminatie van een keton (-R₃ kan -H zijn).

Om deze reactie uit te voeren, grijpt men vaak naar een asymmetrische ruthenium- of iridiumkatalysator. Verschillende additieven worden toegevoegd om de reactie te versnellen of om hogere opbrengsten & enantiomere zuiverheden te halen. In 2013 beschreven Chang *et al.* de asymmetrische reductieve aminatie van acetofenon en fenylhydrazide met een iridium-(*S,S*)-f-Binafaan-katalysator in methanol/dichloromethaan op kamertemperatuur bij 50 bar H₂. Hierbij onderzochten ze het effect van verschillende additieven. Er werd geconcludeerd dat het toevoegen van zuren, moleculaire zeven en I₂ een gunstig effect hebben op de reactie. Protonen faciliteren namelijk de vorming van het imine-intermediair. De gebruikte 4Å moleculaire zeven bevorderen de dehydratatie van het hemiaminal naar het imine. Experimenteel werd bepaald dat ze ook de reductie van het imine versnellen. Het exacte mechanisme is niet gekend. Tot slot leidt het toevoegen van I₂ tot de vorming van Ir(III)I₂Cl(f-Binafaan). Dit is een efficiënte katalytische precursor voor de hydrogenatie van het amine. Een opbrengst van >99% en een e.e. van 94% werden bereikt. Andere katalysatoren beschreven in de literatuur zijn onder meer Ir-(*R*)-BINAP, Ru-(*R*)-DM-SEGPHOS en Ru-(*S,S*)-TIPPS-DPEN (Steinhuebel *et al.*, 2009; Strotman *et al.*, 2011; Huang *et al.*, 2016).

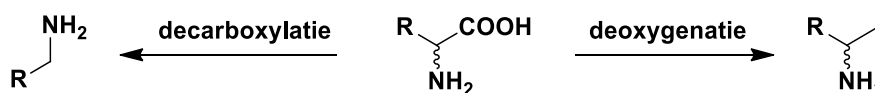
Een laatste manier die hier beschreven wordt om chiraal zuivere amines te produceren is via kristallisatie van diastereomere zouten. Soms is het goedkoper om amines achiraal te synthetiseren en het gewenste stereo-isomeer neer te slaan met bijvoorbeeld chirale zuren. De initieel neergeslagen zouten hebben typisch een diastereomeer excess van 70-90%, maar kunnen nog verder opgezuiverd worden via rekristallisatie (Nugent & El-Shazly, 2010; Pálovics *et al.*, 2012). Via deze methode kan zowel het R- als S-isomeer gesynthetiseerd en opgezuiverd worden.

1.3.3 Amino-zuren naar biogebaseerde amines?

Amper een jaar geleden schreven Froidevaux *et al.* een review over de productie van biogebaseerde amines. Globaal gezien komt het er telkens op neer dat biogebaseerde molecules, zoals alcoholen of ketonen, geamineerd worden. Hoewel het koolstofskelet dus van biologische oorsprong is, is de ingebouwde stikstof dit niet. Ammoniak wordt namelijk gesynthetiseerd via het Haber-Boschproces en is dus van fossiele oorsprong. Amines die bekomen worden via amino-zuren, kunnen wel 100% hernieuwbaar en volledig biogebaseerd zijn. Dit is niet altijd zo. Wanneer stikstof in planten afkomstig is van kunstmest, is dit ook het resultaat van het Haber-Boschproces. Stikstofhoudende componenten van natuurlijke oorsprong zijn bijvoorbeeld het gevolg van biologische stikstoffixatie. Vele planten leven namelijk in symbiose met stikstoffixerende bacteriën, *e.g.* bacteriën van het geslacht *Rhizobium*. In ruil voor suikers, zetten deze bacteriën N_2 om in ammonium. Deze symbiose is zeer typisch voor vlinderbloemigen zoals (soya)bonen, erwten, klaver *etc.* Ook andere planten die groeien in de buurt van deze stikstoffixeerders, kunnen er van meegenieten.

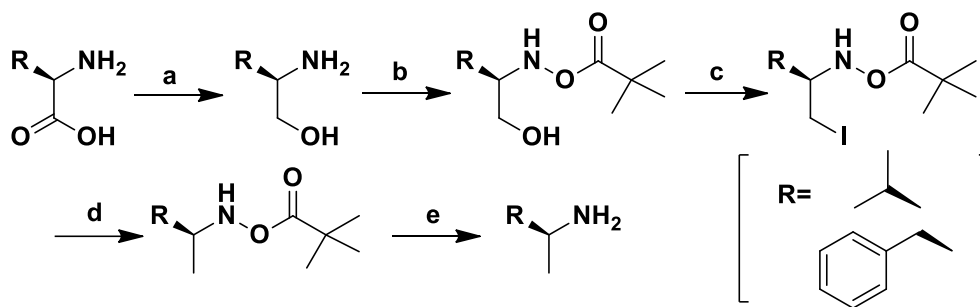
1.3.3.1 Decarboxylatie en hydrodeoxygenatie van amino-zuren

Er zijn twee manieren om amino-zuren om te vormen naar amines. Deze zijn weergegeven in schema 11. Zoals eerder vermeld werd in 1.2.1.2: indien de zure groep van het amino-zuur wordt afgeknipt, is er sprake van decarboxylatie (DCO). Dit kan zowel direct (met de uitstoot van CO_2) als indirect (hydrogenatie gevolgd door decarbonylatie) gebeuren. Het resulterende amine is bijgevolg een chiraal centrum armer. Men kan dus starten van zowel D- als L-amino-zuren, of een mengsel van beide. In beide gevallen levert het exact hetzelfde product op.



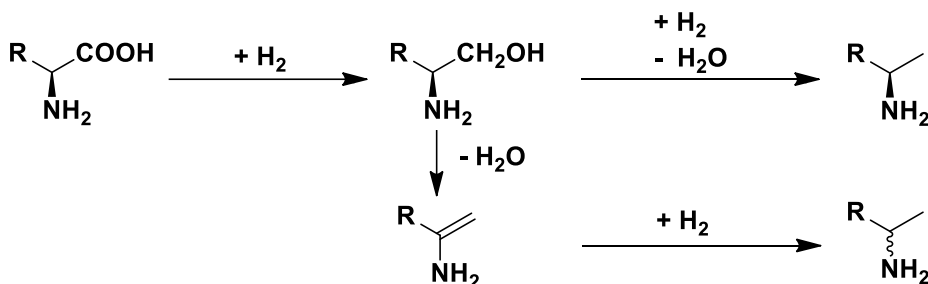
Schema 11. Twee mogelijke manieren om een amino-zuur om te vormen naar een amine.

Wat de deoxygenatie van aminozuren betreft: de synthese van enantiomeer zuivere α -methylamines werd in het verleden al eerder onderzocht door onder andere Bloom *et al.* (1992), Kohno *et al.* (1998) en Quagliato *et al.* (2000). Ze vertrokken van enantiomeer zuivere valine, fenylalanine en tyrosine (zowel D- als L-vorm). Helaas bestaan hun methodes uit vele tussenstappen en wordt veel afval gegenereerd (schema 12).



Schema 12. Reactieschema voor de synthese van α -methylamines uit valine en fenylalanine zoals beschreven door Quagliato (2000). Reagentia: (a) LiBH_4 /trimethylsilylchloride; (b) *tert*-butylzuuranhydride; (c) trifenylfosfine op een polystyreendrager, jood, imidazool; (d) *N*-selectride; (e) trifluoroazijnzuur.

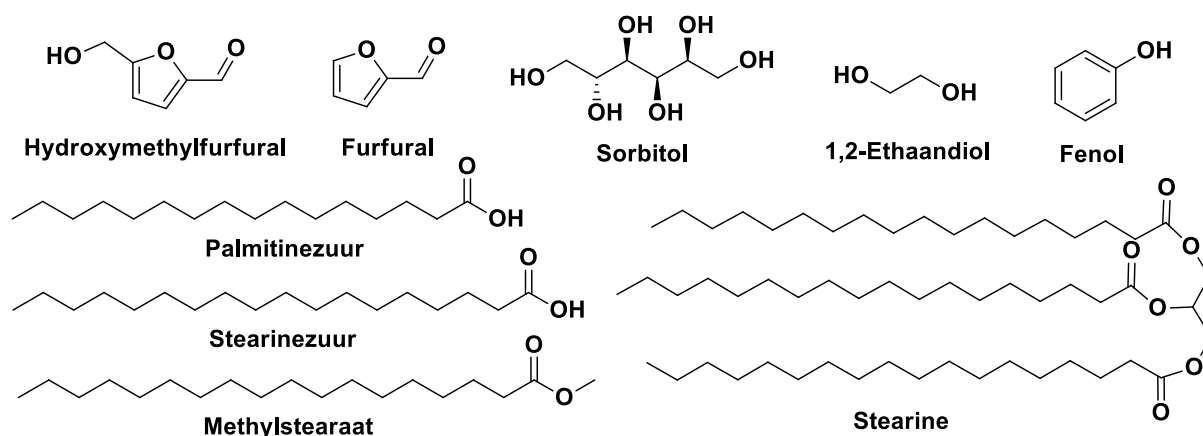
Het zou zowel vanuit een economisch als milieubewust standpunt interessanter zijn om aminozuren rechtstreeks te deoxygeneren met behulp van waterstof. Het enige ‘nevenproduct’ is in dit geval water. Deze hydrodeoxygenatie (HDO) kan gebeuren via twee reactiewegen (schema 13). Een eerste is via directe hydrogenolyse. De hydrogenolyse van het aminoalcohol naar het α -methylamine gebeurt hier via een éénstapsproces. Het chirale centrum blijft bijgevolg intact en ongewijzigd. Bij indirecte hydrogenolyse is dit niet zo. Na hydrogenatie van het aminozuur, dehydrateert het aminoalcohol tot een vinylamine. Deze stap is zuurgekatalyseerd. Vervolgens wordt het vinylamine gehydrogeneerd naar een racemisch mengsel van α -methylamines. Omdat enantiozuivere amines waardevoller zijn, wordt de voorkeur gegeven aan directe hydrogenolyse. Toch kan uit een racemisch mengsel één enantiomeer gemaakt worden via dynamische kinetische resolutie (zie sectie 1.1.2).



Schema 13. Directe en indirecte hydrogenolyse van aminozuren naar α -methylamines.

1.3.3.2 Analoge reacties met andere biogebaseerde chemicaliën

Hoewel de HDO en DCO van aminozuren tot nog toe weinig aandacht kregen, werden deze reacties voor tal van andere biogebaseerde componenten wel uitvoerig onderzocht (De *et al.*, 2015). De afnemende fossiele reserves zijn een drijvende kracht voor de zoektocht naar nieuwe hernieuwbare energiebronnen. Biomassa omzetten naar biobrandstoffen, is om die reden een populair onderzoeksonderwerp. Helaas zijn biogebaseerde platformmoleculen over het algemeen rijk aan zuurstof. Om te kunnen fungeren als biobrandstof, moet ingebouwde zuurstof verwijderd worden. Door het grote aanbod aan literatuur hieromtrent worden in deze sectie zeer selectief een aantal zaken besproken. Er zijn katalysatoren beschikbaar op basis van zowel kostbare edelmetalen (*e.g.* Ru, Rh, Re, Pd, Pt) als minder kostbare metalen (*e.g.* Fe, Ni en Cu) (He & Wang, 2012; De *et al.*, 2015). Typische biogebaseerde componenten die gedeoxygeniseerd worden zijn vetzuren en vetzuurafgeleiden (Lestari *et al.*, 2009; Rozmyslowicz, 2014; Ding *et al.*, 2015; Chen & Xu, 2016), fenol (Mortensen *et al.*, 2016), polyolen (Ota *et al.*, 2015; Weng *et al.*, 2017) en furaanafgeleide moleculen (Panagiotopoulou *et al.*, 2014). Typische modelcomponenten worden weergegeven in figuur 8.



Figuur 8. Typische componenten voor hydrodeoxygenatie- en decarboxylatiereacties.

Triglyceriden worden vaak getransesterificeerd. Het resulterende product is vloeibaar, maar de ingebouwde zuurstof verlaagt de verbrandingswarmte. Over de deoxygenatie van vetzuren schreef Rozmyslowicz in 2014 zijn PhD. Voor DCO-reacties is Pd/C zeer efficiënt. Reacties op 300°C met laurinezuur (C12) in hexadecaan, onder zowel H₂ als Ar atmosfeer (20 bar), leidden hoofdzakelijk tot het gewenste product (90% selectiviteit). In de aanwezigheid van H₂ wordt een kleine fractie gehydrodeoxygeniseerd. Anderzijds wordt undecen aangetroffen bij 20 bar Ar. Startende van dodecanal en dodecanol kan worden aangetoond dat Pd niet alleen kan decarboxyleren, maar ook decarbonyleren.

In Rozmyslowicz (2014) zijn zoektocht naar een geschikte HDO-katalysator werden 4 wt% Ru, Re en Pt op een TiO₂-drager getest op 220°C en 20 bar H₂ met stearinezuur als substraat. Enkel Pt/TiO₂ bleek hiervoor geschikt te zijn met een selectiviteit van 90%. Re/TiO₂ slaagt erin om het zuur te hydrogenen naar octadecanol (95% van productverdeling na 3u 15min), maar is ineffectief in de verdere deoxygenatie naar octadecaan. Een Ru-katalysator gebruiken onder deze condities, leidde tot DCO-reacties. Hierbij kan de uitgestoten CO_x worden teruggevonden in de vorm van methaan. Chen en Xu kwamen een jaar geleden tot gelijkaardige bevindingen. In hun recente onderzoek probeerden ze methylstearaat in water te deoxygenen (200°C, 30 bar H₂, een reactietijd van 8u en ongeveer 2 mol% metaal). Van de geteste edelmetalen (Ru, Rh, Pd en Pt) was enkel Ru/H-ZSM-5 actief. Bij een conversie van 91% bestond 64% van de productverdeling uit heptadecaan. In ander recent onderzoek probeert men niet te werken met water als milieuvriendelijk solvent, maar met minder kostbare metalen. Voorbeelden hiervan zijn MoO₂/CNT en Ni/H-ZSM-5 (Ding *et al.*, 2015; Schreiber *et al.*, 2016). Een samenvattend overzicht wordt weergegeven in tabel 4. Algemeen kan er geconcludeerd worden dat de aanwezigheid van zuur of een zure drager noodzakelijk is voor HDO-reacties.

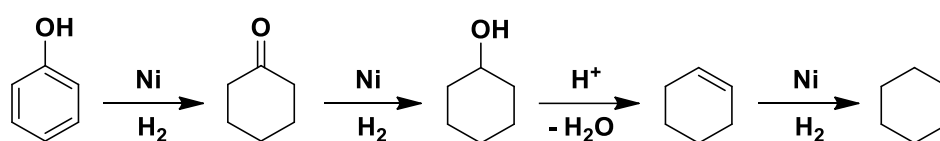
Tabel 4. Hydrodeoxygenatie en decarboxylatie van vetzuren en vetzuurafgeleiden.

Katalysator	T [°C]	P _{H2} [bar]	Solvent	DCO ^a	HDO ^b	Referentie
Ru/H-ZSM-5	200	30	water	71%	14%	Chen & Xu, 2016
Ru/TiO ₂	220	20	hexadecaan	91%	9%	Rozmyslowicz, 2016
Pt/TiO ₂	220	40	hexadecaan	6%	94%	Rozmyslowicz, 2016
Pd/C	300	20	hexadecaan	>90%	/	Rozmyslowicz, 2016
Ni/H-ZSM-5	280	40	dodecaan	46%	54%	Schreiber <i>et al.</i> , 2016
Ni/Silicaliet	280	40	dodecaan	>99%	/	Schreiber <i>et al.</i> , 2016
MoO ₂ /CNT	220	40	decaan	8%	92%	Ding <i>et al.</i> , 2015
MoO ₂ /CNT	260	40	decaan	15%	72%	Ding <i>et al.</i> , 2015

^a DCO = decarboxylatie. ^b HDO = Hydrodeoxygenatie.

Naast vetten bevat biomassa een heleboel fenolische componenten. Ook deze wil men gaan deoxygenen. Zoals Mortensen *et al.* (2016) aanhalen in hun paper zijn ook voor de HDO van fenol naar cyclohexaan een heleboel katalysatoren beschreven op basis van Pd, Pt en Ni. In recent onderzoek wordt de voorkeur gegeven aan het minder kostbare en meer voorkomende nikkel. Mortensen *et al.* onderzochten het effect van de nikkelpartikelgrootte op een silicadrager. Indien deze partikels kleiner werden dan 9-10 nm, was de dehydratatie niet langer de snelheidsbepalende stap, maar wel de hydrogenatie van de ring.

Zoals ook bij de HDO van vetzuren werd aangehaald, is de aanwezigheid van zure sites vereist voor de dehydratatie (schema 14). In andere studies onderzochten Kasakov *et al.* de activiteit van Ni op een gesulfoneerde koolstofdrager en Wang *et al.* gebruikten methanol als reducerend agens in plaats van H₂ (Kasakov *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2015). Kasakov concludeerde dat hun Ni/C-SO₃H inderdaad een geschikte katalysator is voor de HDO van fenol naar cyclohexaan (in hexadecaan bij 200°C en 40 bar H₂). Ze haalden een selectiviteit van 90%. Ook Wang *et al.* boekten succes. Omdat waterstof *in situ* geword wordt uit methanol, kan men werken bij een lage operationele druk en is er een kleinere kans op explosies. Bij volledige conversie haalden ze een globale selectiviteit van 87% voor de producten cyclohexaan en cyclohexeen. De overige 13% is toe te schrijven aan cyclohexanon en cyclohexanol.

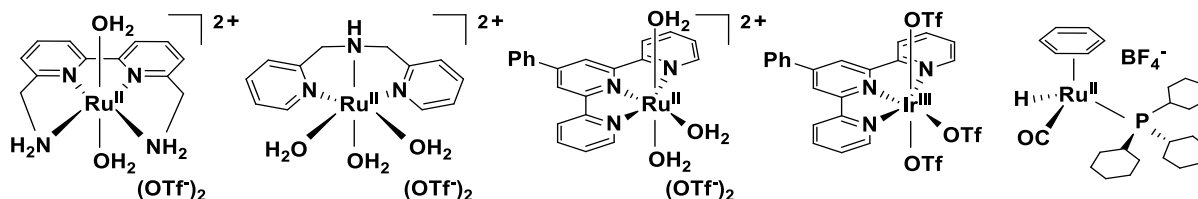


Schema 14. Hydrodeoxygenatie van fenol naar cyclohexaan.

Tot slot kunnen ook polyolen gehydrodeoxygeniseerd worden. Dit hoeft niet noodzakelijk in één stap te gebeuren. Pentoses en hexoses kunnen ook gedehydrateerd worden tot respectievelijk furfural en hydroxymethylfurfural (HMF). Voor polyolen is de grote uitdaging om zo selectief mogelijk HDO-reacties uit te voeren zonder C-C bindingen te breken. Het is mogelijk dat een eindstandige alcoholgroep dehydrogeneert tot een aldehyde, dat vervolgens decarbonyleert. Op deze manier is het mogelijk dat het volledige substraat wordt omgezet in H₂ en CO. Dit hoeft niet noodzakelijk negatief te zijn indien H₂ het gewenste product is. Uit CO kan extra H₂ worden gewonnen via de water-gas-shift-reactie (Huber *et al.*, 2006).

Al een heleboel katalysatoren werden gerapporteerd voor de HDO van polyolen (Lee *et al.*, 2014; Weng *et al.*, 2017). Ook over de HDO van furfural en HMF is een heleboel literatuur terug te vinden (Panagiotopoulou *et al.*, 2014; De *et al.*, 2015). Weng *et al.* (2017) probeerden sorbitol in water te hydrodeoxygeneren met Ru/C en H₃PO₄ als additief op 250°C en 40 bar H₂. Dit katalytisch systeem deed het beduidend beter dan enkel Ru/C. Desondanks was van de 95% geconverteerde sorbitol slechts 40% terug te vinden in de C₆-fractie. Panagiotopoulou *et al.* (2014) rapporteerden anderzijds 61% opbrengst van methylfuraan uit furfural in isopropanol met Ru/C. Dit is de hoogst gerapporteerde opbrengst in de vloeistoffase bij lage temperatuur tot nu toe. Er werd hier geen furaan gevormd. De optimale reactietemperatuur is 180°C en H₂ wordt *in situ* gevormd uit isopropanol.

Om de activiteit of selectiviteit voor HDO-reacties te verhogen, kunnen een heleboel metallische promotoren worden toegevoegd. In het geval van een Pd-katalysator kan men bijvoorbeeld gebruik maken van Cu (Grainger *et al.*, 2013), Zn (Saha *et al.*, 2014), Fe (Lee *et al.*, 2014), ReO_x (Ota *et al.*, 2015) of WO_3 (Liu *et al.*, 2016). Anderzijds kan er ook beroep worden gedaan op homogene katalysatoren. Deze zijn vaak gebaseerd op een Ru-complex met specifieke liganden, al dan niet stabiel in water bij lage pH (Sullivan *et al.*, 2014; Kalutharage *et al.*, 2015; Minard *et al.*, 2016). Enkele voorbeelden worden weergegeven in figuur 9.



Figuur 9. Homogene hydrodeoxygenatie-katalysatoren (Sullivan *et al.*, 2014; Minard *et al.*, 2015; Kalutharage *et al.*, 2015).

1.4 Besluit

Aminozuren hebben een enorm potentieel als platformchemicaliën in een biogebaseerde industrie. Ze worden goedkoop en men kan ze op verschillende manieren verkrijgen. Vooral aminozuren afkomstig van plantaardig materiaal of slachtafval zijn zeer geschikt voor de productie van chemicaliën. Deze proteïnerijke productstromen zijn namelijk zeer omvangrijk en zullen in de toekomst alleen maar groter worden. Anderzijds zijn er weinig alternatieven voor deze nevenstromen. Zo wordt slachtafval meestal verbrand. In het meest ideale geval, gaan essentiële aminozuren naar de voedingssector en niet-essentiële aminozuren naar de chemische industrie. De grootste moeilijkheid blijft echter het opzuiveren van elk individueel aminozuur. Zoals in sectie 1.1.5 werd aangehaald, is men hier volop mee bezig. Reacties uitvoeren met mengsels van aminozuren is een andere manier om met dit probleem om te gaan. Wat chemische reacties met aminozuren betreft: er is al heel wat onderzoek gebeurd over hydrogenatiereacties naar aminoalcoholen en decarboxylatiereacties met enzymen (in beperkte mate zelfs met niet-biokatalysatoren). De technologie om aminozuren om te vormen naar biogebaseerde primaire alifatische amines, is tot nog toe onderontwikkeld. Nochtans zijn dit zeer belangrijke en waardevolle bouwblokken. Momenteel worden deze amines geproduceerd vanuit onze fossiele reserves. Aminozuren via decarboxylatie (DCO) of hydrodeoxygenatie (HDO) omzetten naar de gewenste amines, is zowel vanuit een economisch als milieubewust standpunt een interessante zaak. In de zoektocht naar een geschikte katalysator kan er inspiratie gehaald worden uit DCO en HDO-reacties met andere biogebaseerde molecules.

Hoofdstuk 2

Materialen en methoden

In dit hoofdstuk worden de gebruikte materialen en methoden toegelicht. Dit omvat zowel de karakterisatie van katalysatoren als het uitvoeren van experimenten. Ook de nabehandeling en analyse van elk reactiemengsel wordt hier in de detail beschreven.

2.1 Beschikbaarheid van de katalysatoren

De meeste gebruikte katalysatoren zijn commercieel verkrijgbaar. Toch zijn er een aantal waarvoor dit niet het geval is. Hoewel ik zelf geen katalysatoren gesynthetiseerd heb, werden een aantal katalysatoren gemaakt door collega's op het Centrum voor Oppervlaktechemie en Katalyse (COK). De afkomst van elke katalysator kan gevonden worden in de Lijst met producten (bijlage A).

2.2 Karakterisatie van de katalysatoren

Rasterelektronenmicroscopie (SEM) wordt uitgevoerd met een JEOL-6010LV SEM. Ter voorbereiding wordt een palladium-goud coating aangebracht op de stalen met een JEOL JFC-1300 Auto Fine Coater onder Ar-plasma voor 20 seconden. N₂ fysisorptie metingen gebeuren met een Micromeritics 3Flex oppervlakte analysator bij -196°C (het kookpunt van N₂). Voor elke meting wordt 100 mg katalysator onder vacuüm ontgast op 150°C gedurende 6 uur. Naast N₂ fysisorptie worden ook CO chemisorptie experimenten uitgevoerd. Hierbij wordt 50 mg katalysator geladen in een tubulaire reactor. De katalysator wordt voorverwarmd met een reducerende H₂ stroom, tegen een debiet van 20 ml/min op 150°C gedurende 1 uur (verwarmingssnelheid: 10°C/min). Vervolgens wordt de katalysator gekoeld tot kamertemperatuur en stuurt men een He flow van 10 ml/min over de katalysator. Over een interval van 2 minuten worden pulsen van 5 µl 100% CO over de katalysator gestuurd. De CO concentratie in de uitlaatstroom wordt continu gemeten met een Pfeiffer Omnistar quadrupool massaspectrometer. Uit de hoeveelheid geadsorbeerde CO, kan men de dispersie berekenen. Hier wordt aangenomen dat één molecule CO adsorbeert per metaalatoom dat zich bevindt aan het oppervlak.

$$\text{Dispersie (\%)} = \frac{\text{mol metaal aan het oppervlak}}{\text{mol metaal in de katalysator}} \times 100\%$$

Het eventueel uitlogen van Ru of Ni wordt gemeten via ICP-OES op respectievelijk 267,88 nm en 231,604 nm. Hiervoor wordt de kalibratiecurve methode toegepast en gebruik gemaakt van een Varian 720-ES met het Varian SPS3 staalvoorbereidingssysteem. In het geval van Ru wordt 1 ml supernatant van het reactiemengsel aangelengd tot 10 ml met een 0,42 N HNO₃-oplossing in Milli-Q water. Voor Ni wordt er slechts 0,1 ml op dezelfde manier aangelengd tot 10 ml.

2.3 Katalytische experimenten

In deze thesis wordt er gezocht naar twee verschillende katalytische systemen. Een eerste moet in staat zijn om aminozuren te decarboxyleren. Het tweede is bedoeld voor de hydrodeoxygenatie (HDO) van aminozuren. Beide chemische routes leveren een primair alifatisch amine op (met uitzondering van proline). Bij HDO-reacties kan het aminozuur mogelijk zijn enantiomere zuiverheid behouden. Om die reden fungeert L-valine als modelsubstraat. Dit is het meest eenvoudige aminozuur dat na HDO nog een stereocentrum bevat.

2.3.1 Decarboxylatie van aminozuren

2.3.1.1 Reacties

Reagentia:

- L-Valine
- L-Valinol
- Isobutylamine
- (*R*)-2-Amino-3-methylbutaan
- Glycine
- L-Alanine
- L-Leucine
- L-Isoleucine
- L-Proline
- L-Serine
- L-Threonine
- L-Fenylalanine

L-Tyrosine
L-Histidine
L-Tryptofaan
Na-L-glutamaat
L-Glutamine
Na- L-Aspartaat
L-Asparagine
L-Lysine.HCl
L-Arginine.HCl
L-Cysteïne
L-Methionine

Additieven:

Fosforzuur (H_3PO_4 ; 2 M oplossing in water)

Solvent:

Gedemineraliseerd water

Gassen:

Stikstofgas (N_2)
Waterstofgas (H_2)

Katalysatoren:

Nikkel op silica-alumina ($\text{Ni/SiO}_2\text{-Al}_2\text{O}_3$, 65 wt% Ni)
Nikkel op zirkoniumoxide (Ni/ZrO_2 , 5 wt% Ni)
Nikkel gecoat met koolstof (Ni-C NPs, 96 wt% Ni)
Ruthenium op koolstof (Ru/C, 5 wt% Ru)
Ruthenium op alumina ($\text{Ru/Al}_2\text{O}_3$, 5 wt% Ru)
Rhodium op koolstof (Rh/C, 5 wt% Rh)
Rhodium op alumina ($\text{Rh/Al}_2\text{O}_3$, 5 wt% Rh)
Palladium op koolstof (Pd/C, 5 wt% Pd)
Palladium op alumina ($\text{Pd/Al}_2\text{O}_3$, 5 wt% Pd)
Platinum op koolstof (Pt/C, 5 wt% Pt)
Platinum op alumina ($\text{Pt/Al}_2\text{O}_3$, 5 wt% Pt)

Nabehandeling:

Benzylalcohol

Deuteriumoxide (D₂O)

Natriumhydroxide (NaOH; 2 M oplossing in water)

In een roestvrij stalen drukreactor met intern volume van 10 ml werd een teflon voering aangebracht. Het resterende interne volume is 4,3 ml. Voor een modelreactie werd hierin 2 ml van een 0,1 M waterige oplossing van L-valine gepipetteerd. Aan dit reactiemengsel werd 1,2 eq. H₃PO₄ toegevoegd (120 µl van een 2 M waterige oplossing) samen met de Ru/C katalysator (0,0202 g; 5 mol% Ru). Na het toevoegen van een magnetisch roerstaafje, werd de reactor afgesloten en vervolgens zeven keer geflusht met N₂. Aan de resterende 2 bar N₂ werd 40 bar H₂ toegevoegd (bij kamertemperatuur). Hierna vond de daadwerkelijke reactie plaats door het mengsel te roeren (500 rpm) op 150°C gedurende 1 uur en 20 minuten. Na afloop werd de reactor gekoeld op ijs, de druk afgelaten en de reactorinhoud overgebracht in een glazen flacon. Het scheiden van de vaste katalysator en het supernatant vond plaats via centrifugatie (4000 rpm, 5 min). Het supernatant werd overgebracht in een nieuwe flacon. 300 µl van het reactiemengsel werd in een NMR-buisje gemengd met 300 µl van een 0,1 M oplossing van benzylalcohol in D₂O. De rest werd geneutraliseerd met NaOH en eventueel geanalyseerd via GC-MS. Ook de initiële pH van het reactiemedium werd gemeten.

Bij de eerste screening werden verschillende katalysatoren getest. Telkens bij 5 mol% metaal/substraat, initieel met slechts 1 eq. H₃PO₄ en een reactietijd van 6 uur. Vervolgens werd de invloed van de hoeveelheid zuur onderzocht en een tijdsprofiel opgesteld. Na optimalisatie van de geschikte hoeveelheid zuur en optimale reactietijd, werden andere parameters zoals de waterstofdruk, de reactietemperatuur en de verhouding metaal/substraat gevarieerd.

Voor de recyclagetesten werd de afgescheiden katalysator drie maal gewassen met gedemineraliseerd water en vervolgens gedurende de nacht gedroogd op 60°C. De gerecycleerde katalysator werd opnieuw gebruikt bij de condities van de modelreactie (zie hierboven). Tijdens het scheidings- en wasproces ging telkens een kleine hoeveelheid Ru/C verloren. Dit werd gecompenseerd door een kleine hoeveelheid verse Ru/C toe te voegen. Het eventueel uitloggen van Ru werd gecontroleerd via ICP-OES zoals beschreven in sectie 2.2.

Tijdens de substraatscope werd de reactiviteit van alle andere 19 natuurlijke aminozuren getest bij de optimale reactiecondities voor L-valine. Ook L-valinol en de stabiliteit van de producten isobutylamine en 2-amino-3-methylbutaan werden onder de loep genomen. De gasfases van de reacties met L-valine, isobutylamine en 2-amino-3-methylbutaan werden eveneens geanalyseerd (reactie bij optimale condities).

2.3.1.2 Productanalyse

De opbrengsten, de selectiviteiten voor een bepaald product en de conversies van de reagentia, werden bepaald met ^1H -NMR. ^1H -NMR, ^1H , ^1H -COSY en ^1H , ^{13}C -HSQC spectra werden gemeten met een Bruker Ascend 400 MHz spectrometer, uitgerust met een staalhouder en een BBO 5 mm atma probe. Het protonsignaal van water werd onderdrukt met een aangepast pulsprogramma: p1 8 μs ; p11 -1 db; p19 50 db; o 1P op het resonantiesignaal van water. Dit signaal werd automatisch bepaald en geselecteerd. Finaal werden de ^1H -NMR spectra gekalibreerd door het singlet signaal van benzylalcohol vast te zetten op 4,65 ppm (Babij *et al.*, 2016). De opbrengst (Y) van een bepaald product, werd berekend volgens de onderstaande formules. Hier is $A_{\text{benzylalcohol}}$ het oppervlak van het geïsoleerde signaal van de 5 aromatische protonen in benzylalcohol. $Eq_{\text{fosforzuur}}$ staat voor het aantal equivalenten fosforzuur dat werd toegevoegd, A_{product} voor het oppervlak van de meest geïsoleerde productpiek en N voor het aantal protonen dat deze piek vertegenwoordigt.

$$Y (\%) = \frac{5 \times 100\%}{N} \times \frac{20 + Eq_{\text{fosforzuur}}}{20} \times \frac{A_{\text{product}}}{A_{\text{benzylalcohol}}}$$

Uit de resterende hoeveelheid aminozuur kan de conversie (X) berekend worden. Uit Y en X volgt de selectiviteit (S).

Naast ^1H - en 2D-NMR bleek ook gaschromatografie gekoppeld aan een massaspectrometer (GC-MS) zeer nuttig voor de identificatie van de verschillende componenten in het reactiemengsel. Het toestel, dat hiervoor gebruikt werd, is een Agilent 6890 GC. Deze is uitgerust met een HP-5ms kolom en gekoppeld met een 5973 MSD massaspectrometer. De analyse van de gasfase gebeurde op basis van infraroodspectroscopie. Hiervoor werd een Gasmet DX4000 FTIR gasanalysator gebruikt. De infrarood data werd nadien verwerkt met Calcmeter Standard software versie 12.161.

2.3.2 Hydrodeoxygenatie van aminozuren

2.3.2.1 Reacties

Reagentia:

L-Valine
D,L-Valine
L-Valinol
Isobutylamine
(R)-2-Amino-3-methylbutaan

Additieven:

Fosforzuur (H_3PO_4)
Azijnzuur
Zinkchloride (ZnCl_2)
Kopersulfaat pentahydraat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)

Solvent:

Tetrahydrofuraan (THF)
Gedemineraliseerd water

Gassen:

Stikstofgas (N_2)
Waterstofgas (H_2)

Katalysatoren:

Ruthenium op koolstof (Ru/C, 5 wt% Ru)
Ruthenium op alumina (Ru/ Al_2O_3 , 5 wt% Ru)
Ruthenium op titania (Ru/ TiO_2 , 5 wt% Ru)
Ruthenium op silica (Ru/ SiO_2 , 5 wt% Ru)
Ruthenium op zirkonia (Ru/ ZrO_2 , 2,5; 5; 7,5 en 10 wt% Ru)
Rhodium op koolstof (Rh/C, 5 wt% Rh)
Rhodium op alumina (Rh/ Al_2O_3 , 5 wt% Rh)
Rhodium-molybdeenoxide op silica (Rh-MoO_x/ SiO_2 , 5 wt% Rh, Mo/Rh = 1/8)
Palladium op koolstof (Pd/C, 5 wt% Pd)
Palladium op alumina (Pd/ Al_2O_3 , 5 wt% Pd)
Platinum op koolstof (Pt/C, 5 wt% Pt)

Platinum op alumina (Pt/Al₂O₃, 5 wt% Pt)

Nabehandeling:

Benzylalcohol

Deuteriumoxide (D₂O)

Natriumhydroxide (NaOH; 2 M oplossing in water)

Diethylether

Azijnzuuranhydride

Triethylamine

Isobutylalcohol

n-Nonaan

Voor de reacties in water werd een gelijkaardige methode toegepast zoals beschreven in 2.3.1.1. Ook hier werden 2 ml van een 0,1 M waterige oplossing van het substraat, de additieven en een zekere hoeveelheid katalysator gemengd in de reactor. Er vonden zeer veel variaties plaats. In een typische reactie met Ru/C, werd er gewerkt met L-valinol (2 ml; 0,1 M), 3 eq. H₃PO₄ (300 µl van een 2 M waterige oplossing), 2 bar N₂, 40 bar H₂ en bij 120°C. Na het koelen van de reactor op ijs, werden ook hier de vaste en vloeistoffase gescheiden via centrifugatie (4 000 rpm, 5 min). Het supernatant werd overgebracht in een nieuwe flacon en een NMR-staal werd gemaakt (zie 2.3.1.1). Aan de rest van het supernatant werd een waterige NaOH-oplossing toegedruppeld tot het alkalisch werd. In het geval van reacties met 3 eq. H₃PO₄, kwam dit overeen met 6 eq. NaOH (600 µl van een 2 M waterige oplossing). Amines werden vervolgens geëxtraheerd met 6 ml diethylether. Een GC flacon werd gevuld met 1 ml van het extract. Hier werden vervolgens 4 µl azijnzuuranhydride en 6 µl triethylamine aan toegevoegd. Azijnzuuranhydride derivatiseert de amines tot acetylammides. De verschillende componenten werden vervolgens geanalyseerd via GC. Voor analyses via GC-MS konden zowel gederivatiseerde als niet-gederivatiseerde stalen gebruikt worden.

Indien reacties werden uitgevoerd in THF, werd voor de reactie plaatsvond, 1 eq. *n*-nonaan aan elk reactiemengsel toegevoegd. Na de reactie, gebeurde een andere nabehandeling. De scheiding van de vaste en vloeistoffase gebeurde via centrifugatie (4000 rpm, 10 min) en het supernatant werd overgebracht in een nieuwe flacon. Van dit supernatant werd 1 ml gepipetteerd in een GC-vial. Er werd vervolgens 10 µl azijnzuuranhydride en 15 µl triethylamine aan toegevoegd. Zuren, gebruikt als additief tijdens de reactie, werden geneutraliseerd met extra triethylamine. De analyse gebeurde via GC en eventueel GC-MS.

Ook het resterende supernatant kon geanalyseerd worden via GC-MS. Indien een aanvullende identificatie van de componenten nodig was, werden NMR-stalen gemaakt.

Dit gebeurde als volgt: van het overgebleven reactiemengsel werd 500 µl in een GC-flacon gemengd met 500 µl van een benzylalcohol oplossing in D₂O (0,1 M). Door dit mengsel werd N₂ geborrelt tot alle THF verdampt was (na ongeveer 2 uur). Vervolgens werd in een NMR-buisje 300 µl van dit mengsel aangelengd met 300 µl D₂O. Reacties uitgevoerd in mengsels van THF en water, werden enkel geanalyseerd via deze NMR-methode of via analyse van het geneutraliseerde supernatant met GC-MS.

2.3.2.2 Productanalyse

Zoals beschreven in sectie 2.3.1.2 werden NMR-metingen uitgevoerd met een Bruker Ascend 400 MHz spectrometer met dezelfde programma's. Voor de reacties in water werd de opbrengst bepaald via ¹H-NMR. ¹H-NMR spectra werden finaal gekalibreerd met het singlet signaal van benzylalcohol op 4,65 ppm (Babij *et al.*, 2016). Bij reacties in THF werd enkel beroep gedaan op ¹H- en 2D-NMR als hulp bij de identificatie van verschillende molecules. In dit geval werd de opbrengst van elke component bepaald via GC. Er werd gebruik gemaakt van een Shimadzu 2014 gaschromatograaf met een AOC-20s Autosampler en AOC-20i Auto-injector. De gaschromatograaf is uitgerust met een CP-Chirasil-Dex CB kolom (Agilent) met een lengte van 25 meter, een interne diameter van 0,32 mm en een filmdikte van 0,25 µm. Deze chirale stationaire fase is in staat om enantiomeren van elkaar te scheiden. Zowel gederivatiseerde (*R*)- als (*S*)-2-amino-3-methylbutaan konden van gederivatiseerde isobutylamine en van elkaar gescheiden worden. Een monster (0,5 µl) werd hierbij geïnjecteerd bij 250°C met een splitratio van 1:20. Een stroom van 86,4 ml/min He transporteerde de verschillende componenten over de kolom tot bij de vlamionisatiedetector. Om een goede scheiding te verwezenlijken, werd het volgende temperatuurprogramma toegepast: gedurende de eerste 5 min werd de oventemperatuur constant gehouden op 50°C. Vervolgens werd deze verhoogd van 50°C tot 60°C aan een snelheid van 10°C/min. Na 38 min werd de oventemperatuur verder verhoogd van 60°C naar 200°C (15°C/min). Om de opbrengt te bepalen, werd voor gederivatiseerde 2-amino-3-methylbutaan een kalibratiecurve gemaakt. De opbrengst van alle andere componenten werd geschat via effectieve koolstofnummer berekeningen. Via verschillende blanco-stalen kon de retentietijd van verschillende molecules achterhaald worden. Tot slot werden GC-MS metingen uitgevoerd met de eerder vermelde Agilent 6890 GC.

Hoofdstuk 3

Resultaten en discussie

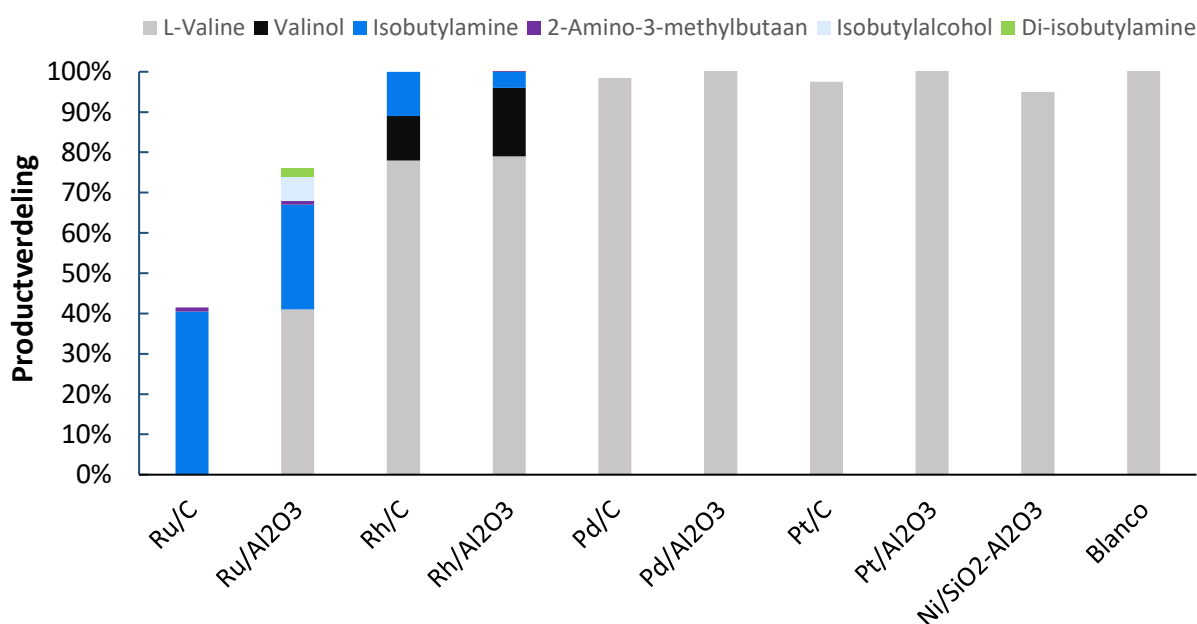
Aminozuren omvormen naar amines is het centrale doel van deze masterthesis. Deze manier om biogebaseerde amines te maken, biedt een mooi en duurzaam alternatief op de huidige oliegebaseerde productie ervan. In dit onderzoek wordt de voorkeur gegeven aan een zo groen en duurzaam mogelijk proces. Dit gebeurt enerzijds door te starten van een natuurlijk substraat. Anderzijds wordt met succes getracht om in zo'n milieuvriendelijk mogelijk solvent te werken en om zo min mogelijk (zout)afval te genereren. Het meest milieuvriendelijke solvent is en blijft natuurlijk water. Dit wordt dan ook meestal gebruikt. Verder kan het modelsubstraat best zo eenvoudig mogelijk zijn, maar het moet nog steeds een chiraal centrum bevatten na hydrodeoxygenatie (HDO). Daarom werd gekozen voor L-valine. Na de eerste screening van een aantal commerciële katalysatoren bleek dat Ru-gebaseerde katalysatoren bij de geteste condities vooral decarboxylatiereacties (DCO) versnellen. Om die reden werd in het eerste onderzoeksluik de katalytische DCO van aminozuren bestudeerd (Verduyck *et al.*, 2017). Eenmaal dit deel afgesloten werd, gingen we verder met de HDO van aminozuren.

3.1 Een eerste screening van enkele metalen

Zoals in het deel literatuurstudie al beschreven werd, worden hoofdzakelijk de metalen Ru, Rh, Pd, Pt en Ni gebruikt om biogebaseerde componenten te deoxygeneren in de aanwezigheid van waterstof. De eerste katalytische experimenten bestonden daarom uit het testen van deze metalen op een aantal dragermaterialen. Ze werden uitgevoerd onder zure condities. Aminozuren zijn namelijk zwitterionen en enkel bij lage *pH* is de zure groep geprotoneerd. Aangezien een geprotoneerde carboxylzure groep sneller wordt gehydrogeneerd naar een aminoalcohol (zie 1.2.1.1), zou de aanwezigheid van zuur ook de DCO en HDO kunnen versnellen. Daarnaast is de aanwezigheid van zuur waarschijnlijk nodig voor een eventuele dehydratatiestap tijdens HDO-reacties. Er werd initieel gewerkt bij 1 eq. H_3PO_4 . Fosforzuur resulteert niet in corrosieve dampen die de reactor kunnen aantasten (zoals bij HCl het geval zou zijn) en is verder ook het geprefereerde zuur in een aantal artikels (Holladay *et al.*, 2004; Weng *et al.*, 2017). De screening werd uitgevoerd bij 40 bar H_2 en 150°C. Deze temperatuur is relatief laag ten opzichte van wat in de literatuur teruggevonden kan worden voor HDO- en

DCO-reacties met andere biogebaseerde componenten, maar relatief hoog voor de hydrogenatie van aminozuren naar aminoalcoholen. Het is in deze eerste test belangrijk om de temperatuur laag te houden. Andere componenten waar men tot nog toe HDO- en DCO-reacties mee uitvoerden hebben geen gevoelige aminogroep. Bij hoge temperaturen kunnen uit primaire amines in water vlot aldehydes gemaakt worden via dehydrogenatie-hydrolyse, die vervolgens verdere (degradatie)reacties ondergaan. Hierdoor worden de aminozuren volledig gedefunctionaliseerd. De resultaten van de katalytische experimenten met Ni, Ru, Rh, Pd en Pt worden weergegeven in figuur 10.

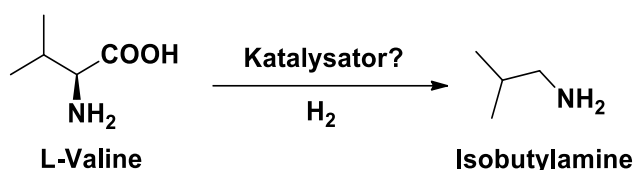
Onder de beschreven condities blijken de katalysatoren op basis van Ni, Pd en Pt niet actief te zijn. De Ru- en Rh-gebaseerde katalysatoren vertonen wel HDO- en DCO-activiteit. Rhodium is minder actief dan ruthenium. De conversies van Rh/C en Rh/Al₂O₃ zijn respectievelijk 21% en 22%. Van deze twee katalysatoren vormt Rh/C het meeste van het gedecarboxyleerde product (isobutylamine, 11%). Bij Rh/Al₂O₃ is dit slechts 4%. De katalysatoren op basis van ruthenium zijn veruit de actiefste. Hier is Ru/C nog eens veel actiever dan Ru/Al₂O₃. Bij Ru/C kan in het reactiemengsel 41% isobutylamine en 1% 2-amino-3-methylbutaan worden teruggevonden. De overige 58% is vermoedelijk volledig gedefunctionaliseerd tot het gasvormige propaan. Ru/Al₂O₃ geeft aanleiding tot meer nevenproducten en zorgt voor een conversie van slechts 59%. Bij reactie met deze katalysator werd 26% isobutylamine en 1% 2-amino-3-methylbutaan gevormd.



Figuur 10. Eerste screening op decarboxylatie- en hydrodeoxygenatie-activiteit van enkele commerciële katalysatoren. Condities: L-valine in water (0,1 M; 2 ml), metaal (5 mol%; voor Ni 10 mol%), H₃PO₄ (1 eq.), H₂ (40 bar), N₂ (2 bar), 150°C, 6 uur.

3.2 Decarboxylatie van aminozuren

Uit de eerste testen bleek dat Ru-gebaseerde katalysatoren een aanzienlijke DCO-activiteit bezitten. Omdat Ru/Al₂O₃ de neiging heeft om meer nevenreacties uit te voeren en Ru/C actiever is, werd verder gewerkt met Ru/C. Door aan de reactiecondities te sleutelen, werd een succesvolle poging gedaan om de opbrengst van het decarboxylatieproduct (isobutylamine) te verhogen. In een later stadium van dit onderzoeksluik, werd de katalysator toegepast op alle andere natuurlijke aminozuren. Bijkomend werden eveneens karakterisatie- en recyclagetesten uitgevoerd.



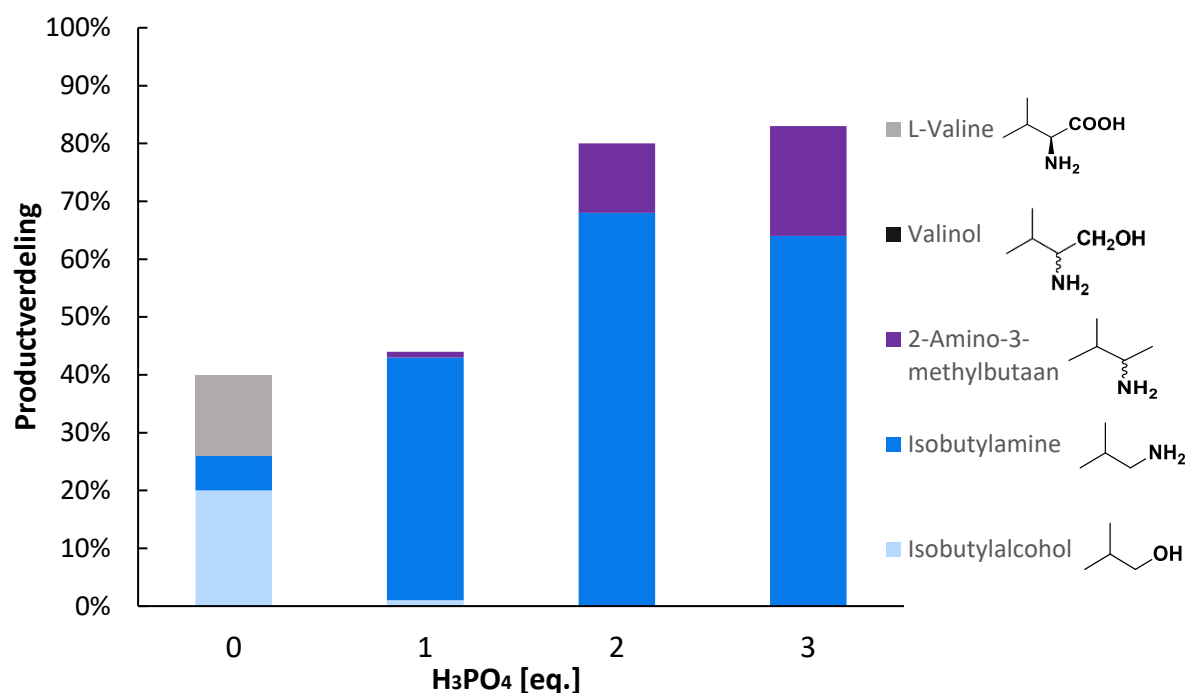
Schema 15. Decarboxylatie van L-valine naar isobutylamine.

3.2.1 De optimale reactietijd bij verschillende concentraties fosforzuur

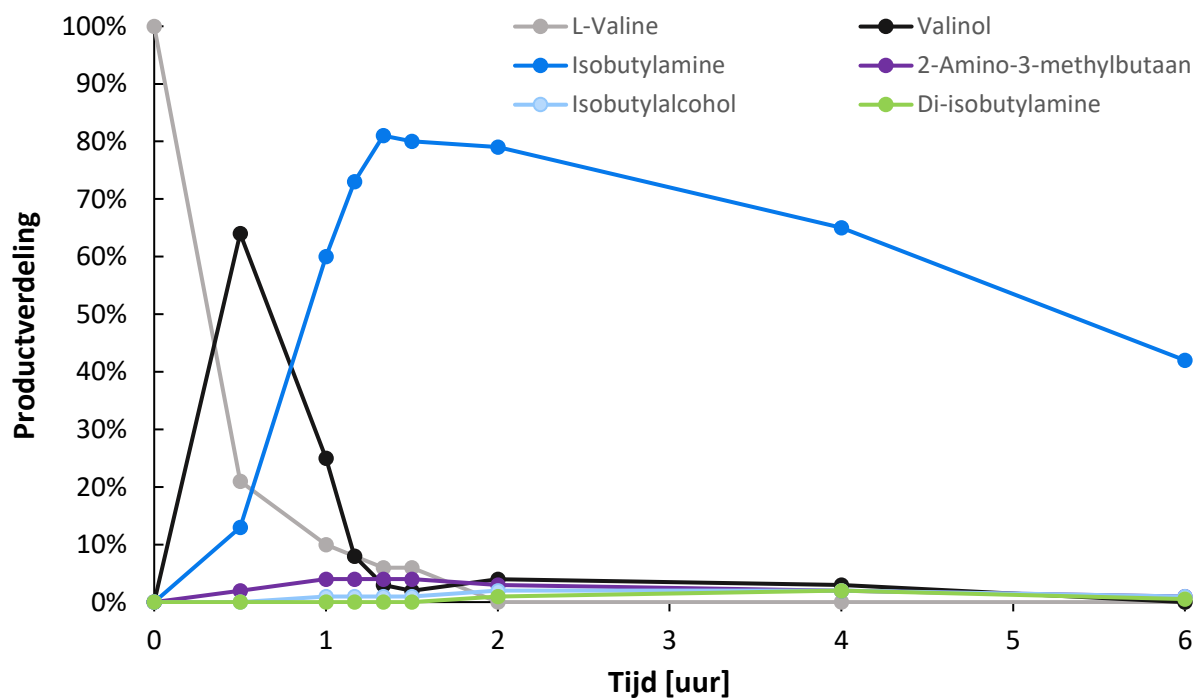
Een eerste parameter waarvan de invloed onderzocht werd, is de toegevoegde hoeveelheid zuur. In vier katalytische reacties met Ru/C, werd de hoeveelheid toegevoegd fosforzuur gevarieerd (figuur 11). Hier is de reactie bij 1 eq. H₃PO₄ identiek aan de condities bij de eerste katalytische testen met enkele metalen (figuur 10). Zoals aan het begin van dit onderzoeksluik al gesuggereerd werd, is de aanwezigheid van een extern zuur nodig om de DCO te versnellen. Indien er geen fosforzuur wordt toegevoegd is de conversie van L-valine niet volledig (86%). De carboxylzure groep is dus reactiever indien deze geprotoneerd is. Daarnaast bevat het supernatant 20% isobutylalcohol en amper 6% isobutylamine. Isobutylalcohol is waarschijnlijk een consecutief nevenproduct van eerder gevormd isobutylamine (zie sectie 3.2.6). De afwezigheid van extern toegevoegd zuur leidt dus tot een tragere reactie én ongewenste nevenreacties.

Een katalytische reactie met 2 eq. H₃PO₄ resulteerde, na een reactietijd van 6 uur, in een opbrengst van 68% isobutylamine en 12% 2-amino-3-methylbutaan. Dit is voor beide componenten meer dan bij 1 eq. H₃PO₄ het geval is. Het verder verhogen van de dosis toegevoegd fosforzuur, resulteert in een afname van de gevormde hoeveelheid isobutylamine (DCO-product). Anderzijds wordt er meer 2-amino-3-methylbutaan gevormd (HDO-product). Dit doet vermoeden dat HDO met Ru/C (voornamelijk) via een zuurgekatalyseerde dehydratatiestap gebeurt. Een maximale hoeveelheid isobutylamine wordt dus mogelijk

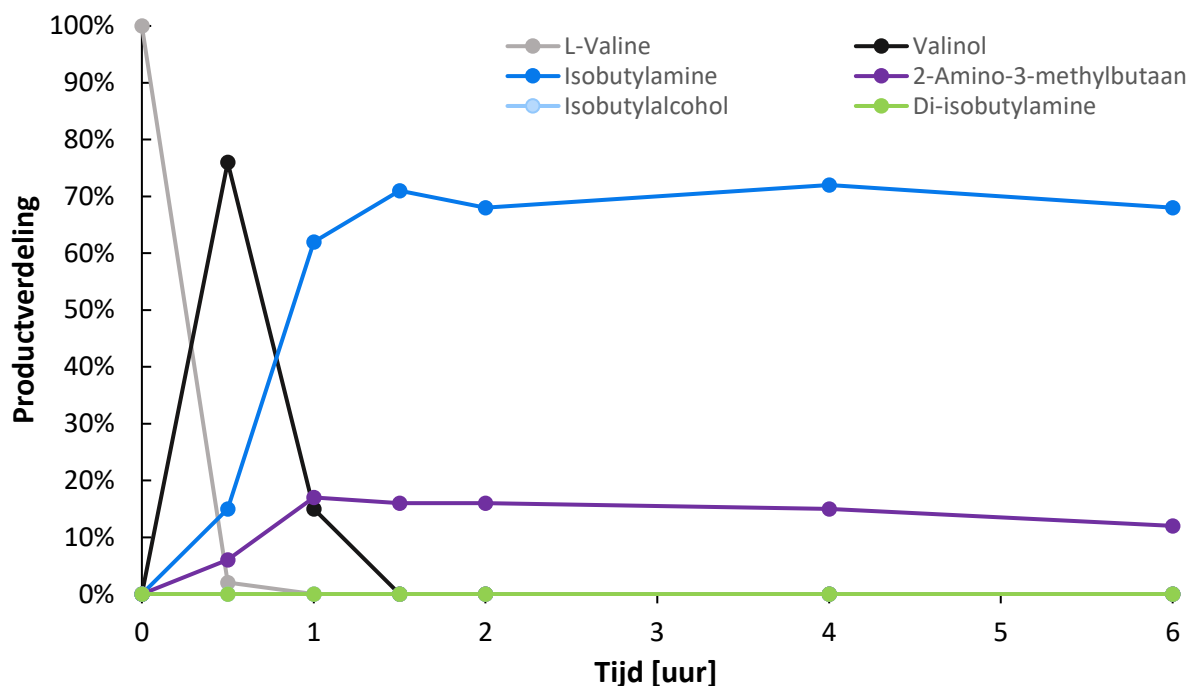
gevormd tussen 1 en 2 eq. H_3PO_4 . Voor 1 en 2 eq. H_3PO_4 werd een tijdsprofiel opgesteld (figuren 12 en 13).



Figuur 11. Invloed van de toegevoegde hoeveelheid fosforzuur. Condities: L-valine in water (0,1 M; 2 ml), Ru/C (5 mol% Ru), H_2 (40 bar), N_2 (2 bar), 150°C , 6 uur.



Figuur 12. Tijdsprofiel van de decarboxylatie van L-valine met Ru/C bij 1 eq. H_3PO_4 . Condities: L-valine in water (0,1 M; 2 ml), Ru/C (5 mol% Ru), H_2 (40 bar), N_2 (2 bar), 150°C .



Figuur 13. Tijdsprofiel van de decarboxylatie van L-valine met Ru/C bij 2 eq. H_3PO_4 . Condities: L-valine in water (0,1 M; 2 ml), Ru/C (5 mol% Ru), H_2 (40 bar), N_2 (2 bar), 150°C .

Figuren 12 en 13 verschaffen veel informatie over de kinetiek van de HDO en DCO van L-valine met Ru/C. Na een halfuur is zowel in het geval van 1 als 2 eq. H_3PO_4 al meer dan 75% van het L-valine geconverteerd naar valinol, het corresponderende aminoalcohol. Deze omzetting gebeurt sneller in de aanwezigheid van meer zuur. De oorzaak hiervan kan teruggevonden worden in de aard van de carboxylzure groep van het aminozuur (geprotoneerd of gedeprotoneerd). Met 2 eq. H_3PO_4 blijft de pH continu lager dan 2. In het geval van 1 eq. H_3PO_4 , is dit niet het geval. Na amper een halfuur is de pH al gestegen van < 2 naar 4. Na een uur bereikt de pH een waarde van 5 en vanaf een reactietijd van twee uur heeft deze een waarde van 6. Aangezien de pK_{a1} van L-valine 2,32 is, kan geconcludeerd worden dat na een halfuur nog maar een klein deel van de carboxylzure groepen in geprotoneerde vorm aanwezig is.

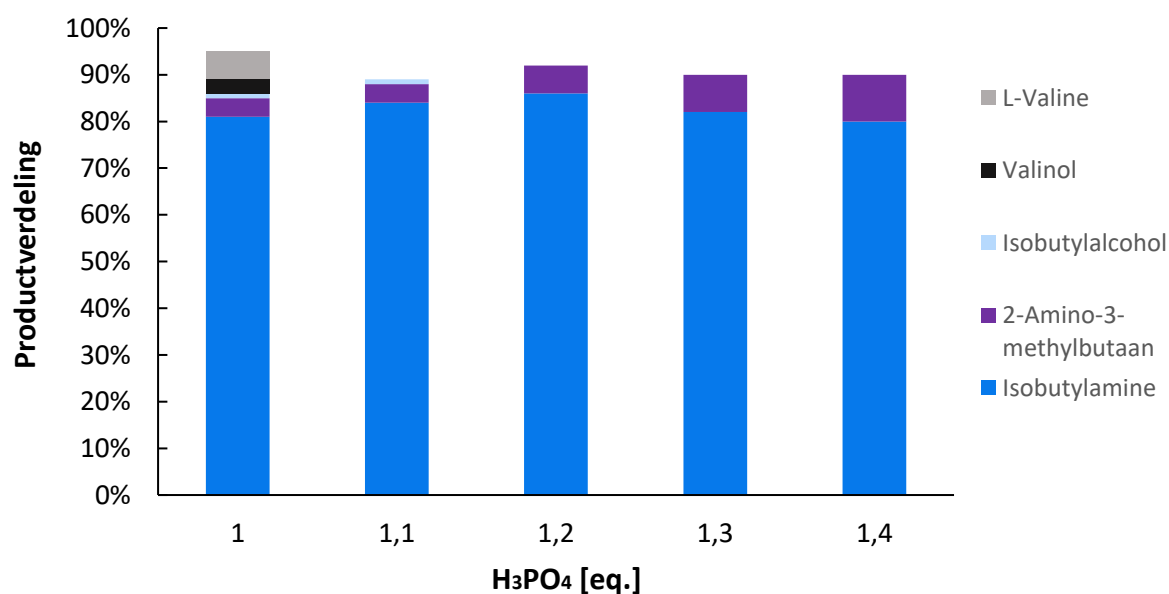
De concentratie van valinol daalt na de vorming direct terug. Valinol maakt plaats voor beide amines. Zowel isobutylamine als 2-amino-3-methylbutaan worden parallel uit valinol gevormd. Beide amines worden in parallelle reactiewegen ten opzichte van elkaar gevormd. Het meetpunt na 1 uur en 30 minuten is in de buurt van de maximale opbrengst. Voor 1 en 2 eq. H_3PO_4 worden hier respectievelijk 80% en 71% isobutylamine gevormd. Bij 2 eq. H_3PO_4 werd ook 17% 2-amino-3-methylbutaan aangetroffen in het supernatant. Bij 1 eq. H_3PO_4 is dit slechts 4%, samen met nog een kleine hoeveelheid andere nevenproducten (isobutylalcohol en di-isobutylamine). Verder daalt de concentratie van isobutylamine na verloop van tijd sterk. Dit is echter niet het geval bij 2 eq. H_3PO_4 .

Er lijkt een wisselwerking te zijn tussen de stabiliteit van isobutylamine en de selectiviteit voor 2-amino-3-methylbutaan. Bij relatief hoge pH ($pH = 5$) is isobutylamine niet stabiel in waterig milieu. Het wordt geleidelijk aan afgebroken tot vermoedelijk ammoniak, CO en propaan. Om hier zeker van te zijn, moet de gasfase geanalyseerd worden (zie sectie 3.2.4). Bij lage pH zijn alle amines geprotoneerd en hierdoor beschermd tegen degradatiereacties. Anderzijds stijgt de selectiviteit voor HDO-reacties met dalende pH , waardoor de maximale opbrengst van isobutylamine daalt bij 2 eq. H_3PO_4 . Voor de reactie met 1 eq. H_3PO_4 werd de optimale reactietijd vastgesteld op 1 uur en 20 minuten. Hier is de opbrengst van isobutylamine 81%.

3.2.2 Verfijnen van de hoeveelheid fosforzuur

Om de opbrengst van het decarboxylatieproduct verder te verhogen, werd de hoeveelheid toegevoegd fosforzuur verfijnd. Het toevoegen van 1 eq. H_3PO_4 resulteert in degradatie van het gevormde isobutylamine. Anderzijds leidt 2 eq. H_3PO_4 in het reactiemengsel tot een verhoogde stabiliteit van isobutylamine, maar ook tot een verhoogde selectiviteit voor 2-amino-3-methylbutaan. De optimale hoeveelheid fosforzuur ligt vermoedelijk ergens tussen 1 en 2 eq.

Reacties bij een optimale reactietijd van 1 uur en 20 minuten werden uitgevoerd bij verschillende concentraties fosforzuur (figuur 14). Een optimum werd gevonden bij 1,2 eq. H_3PO_4 . Op dit punt is er een evenwicht tussen de stabiliteit van isobutylamine en de selectiviteit voor 2-amino-3-methylbutaan. Een optimale opbrengst van 87% isobutylamine wordt bereikt met 1,2 eq. H_3PO_4 na een reactietijd van 1 uur en 20 minuten.

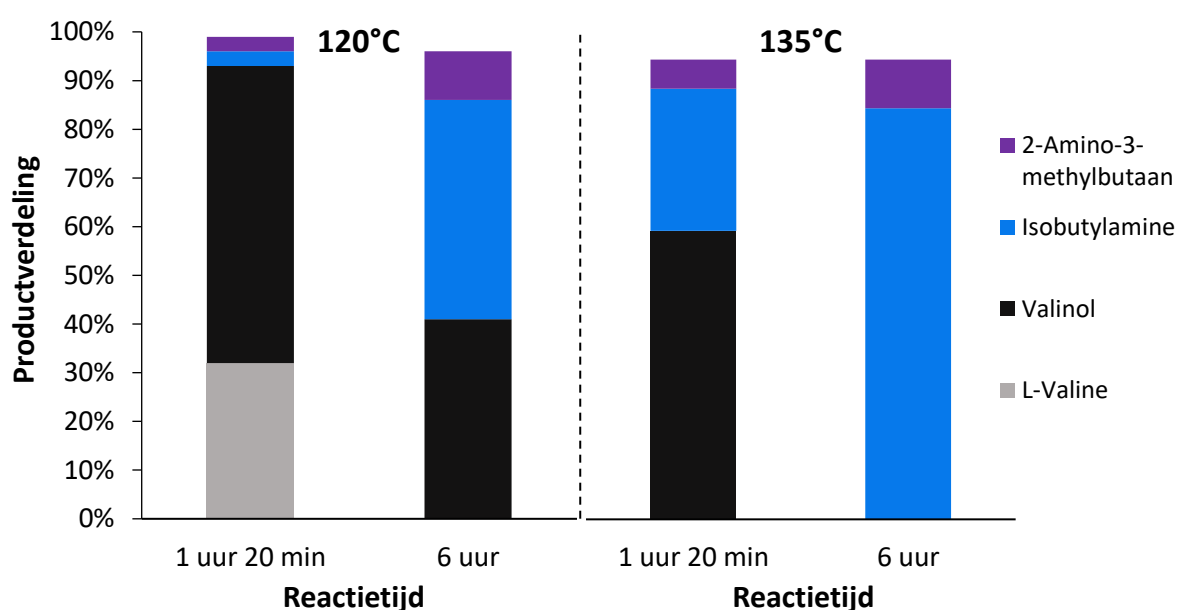


Figuur 14. Verfijning van de hoeveelheid fosforzuur. Condities: L-valine in water (0,1 M; 2 ml), Ru/C (5 mol% Ru), H_2 (40 bar), N_2 (2 bar), 150°C, 1 uur 20 min.

3.2.3 Invloed van de temperatuur

Een andere factor die een aanzienlijk effect heeft op de uiteindelijke productopbrengst, is de reactietemperatuur. Een productieproces van amines zou energie-efficiënter zijn indien het kon doorgaan op lagere temperatuur. Om de invloed van de reactietemperatuur te onderzoeken, werden reacties uitgevoerd bij 120°C en 135°C. De productverdelingen werden nagegaan bij de optimale reactietijd van 1 uur en 20 minuten, en bij de initiële reactietijd van 6 uur. De resultaten worden weergegeven in figuur 15.

Zoals volgens de vergelijking van Arrhenius verwacht werd, dalen de reactiesnelheden van DCO en HDO met dalende temperatuur. Ook de conversie van L-valine neemt bijgevolg af. Toch wordt DCO meer afgeremd dan HDO. Bij lagere temperaturen wordt dus relatief meer 2-amino-3-methylbutaan gevormd ten opzichte van isobutylamine. Bij 150°C is de verhouding van het HDO- over het DCO-product gelijk aan 0,07. Bij 135°C is dit na 6 uur 0,12 en bij 120°C 0,22. De globale activatie-energie van DCO is bijgevolg hoger dan die van HDO. Een reactietemperatuur hoger dan 150°C leidt in theorie tot meer isobutylamine en minder 2-amino-3-methylbutaan. Dit is echter zonder bijkomende nevenreacties in rekening te brengen. Bij reactie met Ru/C op 150°C kan 8% van het organische substraat niet teruggevonden worden in de vloeistoffase (na 1 uur 20 min). Op 135°C is dit 6% en op 120°C is dit 4% (beide na 6 uur). Dit percentage zal dus alleen maar stijgen bij hogere temperaturen. Hierdoor wordt verwacht dat de opbrengst van isobutylamine niet noemenswaardig zal toenemen of zelfs zal afnemen bij temperaturen hoger dan 150°C.



Figuur 15. Variatie van de reactietemperatuur. Condities: L-valine in water (0,1 M; 2 ml), Ru/C (5 mol% Ru), H₃PO₄ (1,2 eq.), H₂ (40 bar), N₂ (2 bar), 1 uur 20 min.

3.2.4 Analyse van de gasfase

In voorgaande testen was de massabalans nooit volledig. Zo kon 8% van het geconverteerde substraat (L-valine) niet teruggevonden worden in het supernatant na DCO. Er werd vanuit gegaan dat deze 8% L-valine werd omgezet in gasvormige componenten. Om dit te bewijzen en om na te gaan welke producten gevormd werden, werd een analyse van de gasfase uitgevoerd. Deze analyse gebeurde via Fourier-Transform-infraroodspectroscopie. Ze werd uitgevoerd voor de reacties met L-valine en isobutylamine als substraat bij de optimale condities voor L-valine (figuur C1).

Net zoals Rozmyslowicz (2014) constateerde in zijn PhD, werd ook hier het uitgestoten CO_x-species voornamelijk teruggevonden in de vorm van methaan. Het is inderdaad al lange tijd geweten dat Ru zelfs op lage temperatuur methanatie van CO katalyseert (Ruiz *et al.*, 1984; Powell & Langer, 1985). Naast methaan konden ook sporen van CO, formaldehyde en methanol (deze laatste via ¹H-NMR in de waterfase) worden teruggevonden. Naast deze C₁-componenten was ook propaan duidelijk aanwezig in de gasfase. De concentratie van ammoniak bevond zich onder de detectielimiet.

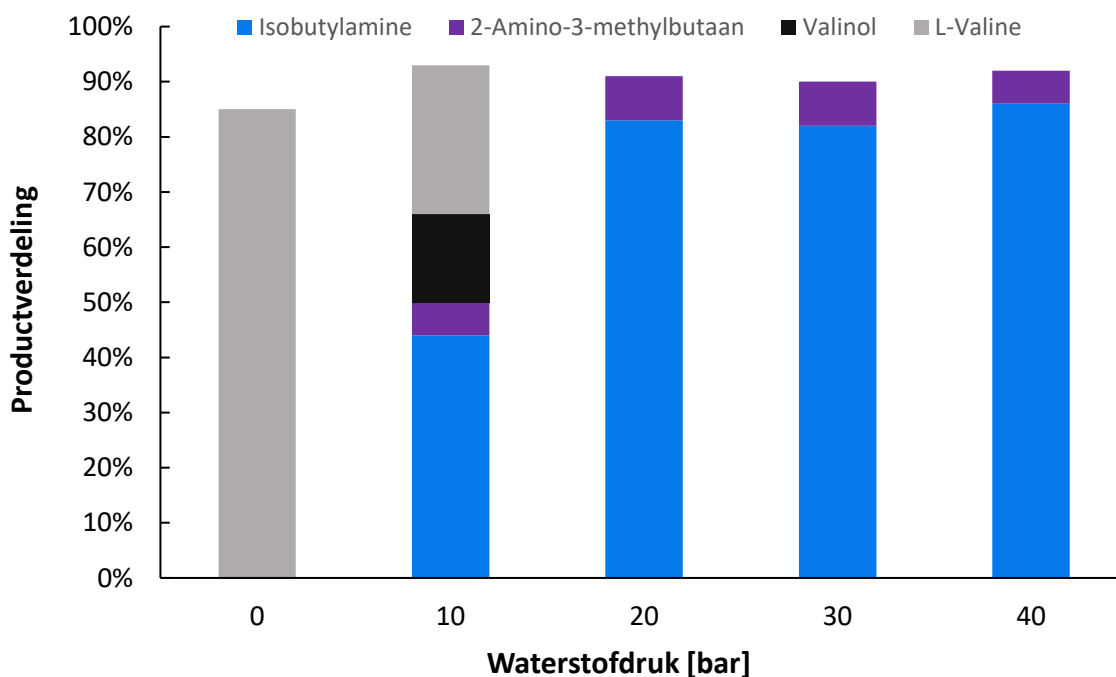
Zowel methaan als propaan werden niet alleen na reactie met L-valine gedetecteerd. Dit was ook het geval na reactie met isobutylamine. Dit bewijst dat deze component geleidelijk aan degradeert in water onder de huidige reactiecondities. Isobutylamine wordt via een dehydrogenatie-hydrolyse-mechanisme omgezet in een aldehyde dat onmiddellijk decarbonyleert (uitstoot van CO) naar propaan. Naast het bewijs dat deze gasanalyse levert voor een decarbonylatie in het reactiemechanisme, werd het idee van een zuurgekatalyseerde omgekeerde Prins-reactie ook ontkracht door een blanco reactie met L-valinol. Bij een omgekeerde Prins-reactie wordt een eindstandige alcoholgroep uitgestoten in de vorm van formaldehyde. Een batchreactie in afwezigheid van Ru/C leverde echter geen isobutylamine op.

3.2.5 Variatie van de waterstofdruk

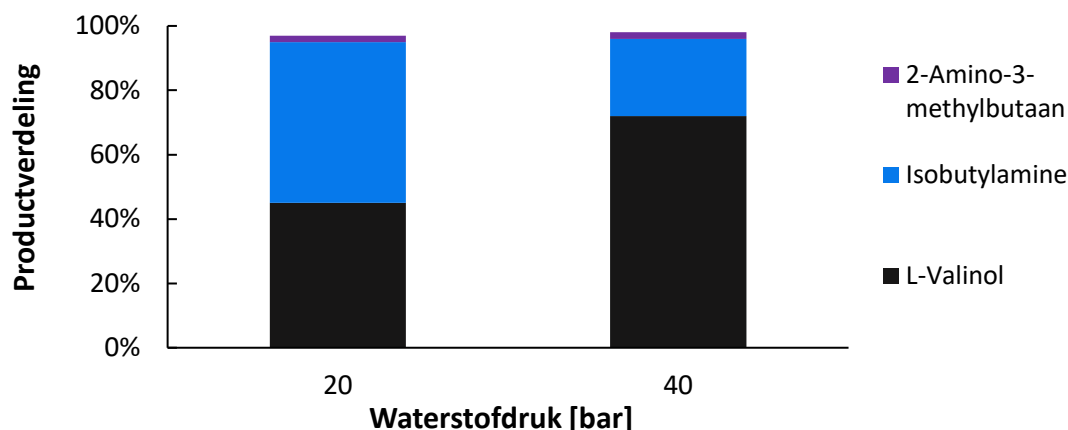
Om het exacte mechanisme te bepalen en in een poging om de opbrengst van isobutylamine verder te verhogen, werden experimenten uitgevoerd waarbij de waterstofdruk gevarieerd werd. In een eerste test werden reacties uitgevoerd met L-valine bij optimale condities, maar bij verschillende waterstofdruk (figuur 16). Hierbij werd verwacht dat, met afnemende waterstofdruk, HDO-activiteit zou afnemen en DCO de bovenhand zou nemen.

In dit experiment leidde een reactie in afwezigheid van waterstof noch tot HDO-, noch tot DCO-producten. Ook bij 10 bar H_2 bleef 27% van het L-valine intact na reactie. Vermoedelijk moet de katalysator eerst geactiveerd worden met H_2 . Het is bijvoorbeeld mogelijk dat aan het oppervlak van de Ru-partikels er zich een oxidelaagje heeft gevormd. Vanaf 20 bar H_2 wordt L-valine volledig geconverteerd. Er zijn geen opmerkelijke veranderingen in de opbrengsten van isobutylamine en 2-amino-3-methylbutaan. Dit is een bijkomend bewijs dat HDO met een Ru/C katalysator plaatsvindt via een dehydratatie van het aminoalcohol. De dehydratatie van het aminoalcohol naar het enamine is snelheidsbepalend. De hydrogenatie van het enamine naar het amine gebeurt vlot.

Om het exacte mechanisme van de DCO te bepalen, werd eveneens een kinetisch experiment uitgevoerd met L-valinol als substraat (figuur 17). Bij een decarbonylatiestap moet het aminoalcohol eerst gedehydrogeneerd worden. Dit gebeurt, volgens de wet van Le Chatelier, sneller bij lagere waterstofdruk. Uit de resultaten blijkt dat meer isobutylamine gevormd werd bij 20 bar H_2 dan bij 40 bar (na 20 minuten reactietijd). De concentratie van 2-amino-3-methylbutaan is voor beide experimenten constant. De DCO van aminozuren met Ru/C onder de huidige condities, vindt dus plaats via hydrogenatie naar het aminoalcohol (figuren 12 en 13). Dit aminoalcohol dehydrogeneert vervolgens tot een aminoaldehyde, waarna een decarbonylatiestap plaatsvindt. Dit resulteert in het gewenste primaire amine.



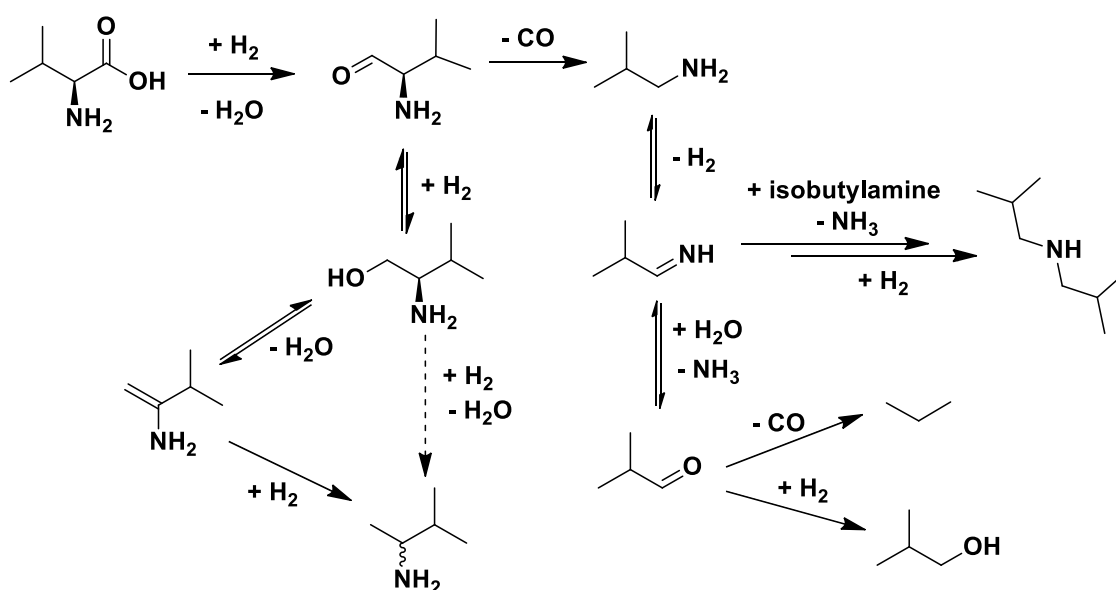
Figuur 16. Invloed van de waterstofdruk op decarboxylatie- en hydrodeoxygenatie-activiteit. Condities: L-valine in water (0,1 M; 2 ml), Ru/C (5 mol% Ru), H_3PO_4 (1,2 eq.), N_2 (2 bar; 40 bar bij 0 bar H_2), 150°C, 1 uur 20 min.



Figuur 17. Kinetisch experiment vertrekkende van L-valinol bij verschillende waterstofdrukken. Condities: L-valinol in water (0,1 M; 2 ml), Ru/C (5 mol% Ru), H_3PO_4 (1,2 eq.), N_2 (2 bar), 150°C , 20 min.

3.2.6 Voorgesteld reactieschema

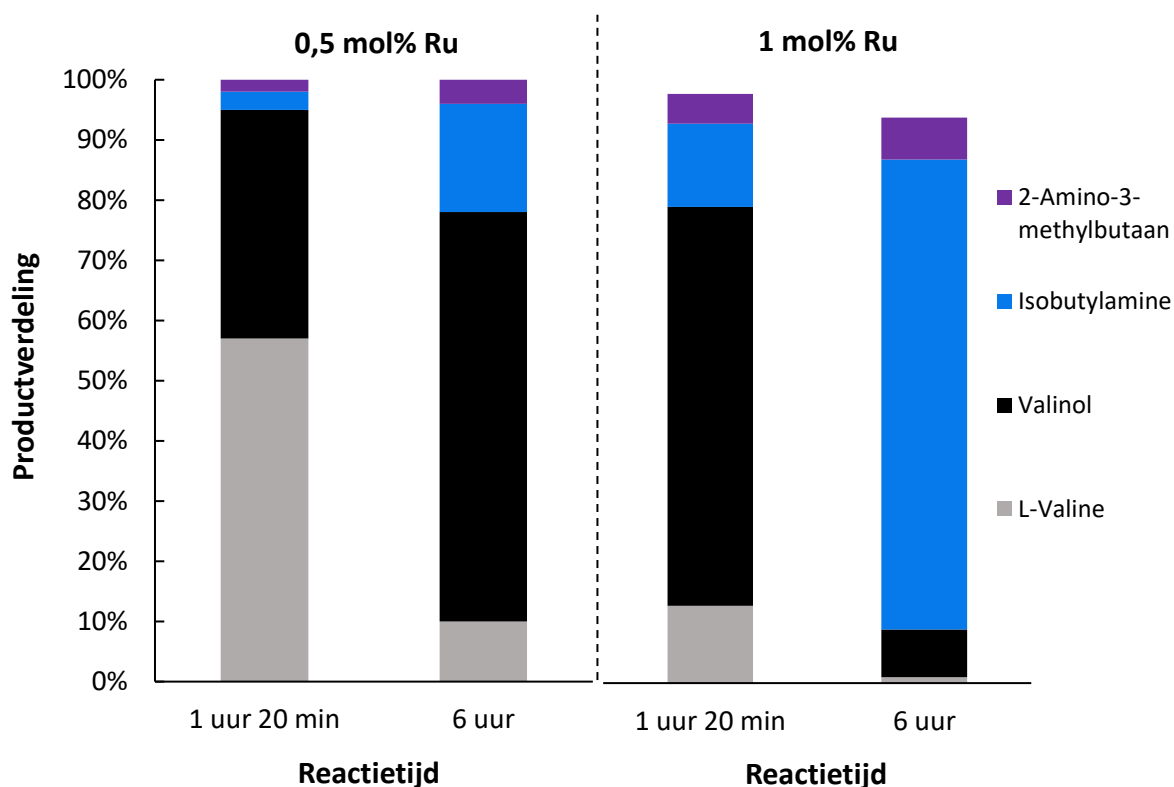
Met alle voorgaande bevindingen kan een reactieschema worden opgesteld (schema 16). L-Valine wordt in een eerste stap gehydrogeneerd tot een aminoalcohol (valinol). Tijdens de HDO met Ru/C wordt valinol eerst gedehydrateerd (zuurgekatalyseerd) en daarna gehydrogeneerd tot een racemisch mengsel van 2-amino-3-methylbutaan. In principe is ook directe hydrogenolyse van valinol mogelijk. In de DCO-route wordt valinol terug gedehydrogeneerd en vervolgens gedecarbonyleerd. Verschillende nevenreacties kunnen optreden met niet-geprotoneerd isobutylamine. Het amine kan dehydrogeneren tot een imine. Dit imine reageert op haar beurt verder tot een secundair amine of tot isobutyraldehyde. Dit aldehyde kan dan hydrogeneren tot een alcohol of decarbonyleren tot het gasvormige propaan.



Schema 16. Voorgesteld reactieschema voor decarboxylatie en hydrodeoxygenatie van L-valine met Ru/C.

3.2.7 Variatie van katalysator-over-substraat verhouding

Voor een industrieel proces is 5 mol% katalysator/substraat behoorlijk veel. Om die reden werd onderzocht wat het effect is indien er minder katalysator aan het reactiemengsel werd toegevoegd. Niet-metaalgecatalyseerde (neven)reacties krijgen in dit geval meer tijd. Dit zou kunnen leiden tot een verschillende productverdeling en -opbrengst. Reacties werden uitgevoerd met 1 mol% Ru en 0,5 mol% Ru (figuur 18). Uit dit experiment kan worden afgeleid dat er geen noemenswaardige verschillen zijn in productverdeling. De productvorming verloopt alleen trager. Een reactie met 1 mol% Ru resulteert na 1 uur en 20 minuten in een gelijkaardige productopbrengst als een reactie met 5 mol% Ru na een halfuur. Hetzelfde kan gezegd worden over 1 mol% Ru na een reactietijd van 6 uur, en een reactie met 5 mol% Ru na een reactietijd van 1 uur en 10 minuten (figuur 12). Het evalueren van de resultaten met slechts 0,5 mol% Ru, leidt tot gelijkaardige bevindingen. Katalytische reacties uitvoeren met een kleinere hoeveelheid katalysator (Ru/C) leidt niet tot een verschil in productverdeling, maar het verlaagt de productiviteit van de reactie.



Figuur 18. Decarboxylatie van L-valine bij verschillende katalysator-over-substraat verhoudingen. Conditie: L-valine in water (0,1 M; 2 ml), Ru/C, H₃PO₄ (1,2 eq.), H₂ (40 bar), N₂ (2 bar), 150°C.

3.2.8 Reacties met andere aminozuren

Nu het katalytische proces op punt staat, is de volgende stap het testen van Ru/C op andere substraten. Daarom werden reacties uitgevoerd met alle 19 andere natuurlijke aminozuren bij de optimale condities voor L-valine van 150°C; 1,2 eq. H_3PO_4 , 40 bar H_2 , 2 bar N_2 en 5 mol% Ru (0,1 M aminozuur in water). In Tabel 5 worden de resultaten van alle aminozuren weergegeven (inclusief L-valine). In deze tabel wordt telkens het hoofdproduct weergegeven samen met het belangrijkste nevenproduct. De volledige productsamenstelling kan teruggevonden worden in bijlage C (Tabel C1). Hier wordt de veronderstelling gemaakt dat alle stereocentra racemisch zijn. Pas in sectie 3.3.4.1 wordt aangetoond dat Ru/C enantiozuivere amines racemiseert.

Uit dit onderzoek van de substraatscope kunnen een aantal zaken worden geconcludeerd. Om te beginnen volgen aminozuren met een eenvoudige alifatische groep het voorbeeld van L-valine. Enkel de verwachte DCO- en HDO-producten werden teruggevonden in het reactiemengsel (rij 1-5). Aminozuren met een kleine alifatische groep, glycine en L-alanine (rij 1-2), lijken de HDO-reactieweg meer te volgen dan aminozuren met iets grotere alifatische groepen (L-valine, L-leucine en L-isoleucine, rij 3-5). Ook L-proline ondergaat vlot de DCO-reactie (rij 6). Hier is een belangrijke nevenreactie de ringopening van pyrrolidine tot *n*-butylamine (27%).

Wat aminozuren met alcoholgroepen betreft, ook deze decarbonyleren en hydrodeoxygeneren vlot. De eindstandige alcoholgroep van L-serine blijft niet gespaard (rij 7). Deze zal samen met de carboxylzure groep verwijderd worden via de DCO- of HDO-route. Secundaire alcoholen daarentegen zijn minder reactief. Een decarbonylatie is niet mogelijk, enkel HDO. Dit zorgt ervoor dat naast *n*-propylamine ook 27% 1-amino-2-propanol aanwezig is in het reactiemengsel na reactie van L-threonine bij optimale condities.

De twee aromatische aminozuren hebben de neiging om eerst de aromatische ring te hydrogenen (rij 9-10, 33% à 51% cyclohexylalaninol). Dit is niet verwonderlijk Süss-Fink (2015) slaagden er namelijk in om L-fenylalanine en L-tyrosine om te vormen naar alicyclische kunstmatige aminozuren. Ze maakte hiervoor gebruik van een rutheniumkatalysator in water op lage temperatuur. Tijdens de DCO-reactie werd ook de alcoholgroep van L-tyrosine gehydrogenoliseerd. Het aromatische L-histidine is niet zo reactief. Onder de huidige condities wordt slechts 12% omgezet naar histidinol (rij 11). Anderzijds is het aromatische L-tryptofaan helemaal niet stabiel onder de geteste condities (rij 12). Na reactie werd een complex mengsel

bekomen. In de literatuur kan inderdaad teruggevonden worden dat tryptofaan spontaan degradeert bij zure condities (Ohta *et al.*, 1981; Schäfer, 1997).

L-Glutamine en L-glutaminezuur leiden tot dezelfde set van producten (rij 13-14). Hetzelfde kan gezegd worden over L-asparagine en L-asparaginezuur (rij 15-16). De amidegroep van L-glutamine en L-asparagine wordt namelijk gehydrolyseerd. Op deze manier worden de twee aminozuren omgezet in de overeenkomstige zure aminozuren. L-Glutaminezuur heeft de neiging om een ringstructuur te vormen. Het gevormde pyroglutaminezuur volgt vervolgens de DCO- of HDO-reactieweg. Voor L-glutamine en L-glutaminezuur leidt dit tot respectievelijk 31% en 36% pyroglutaminol, en 26 en 21% pyrrolidon. Ook de carbonylgroep (in de ring) kan gehydrogeneerd worden, wat aanleiding geeft tot pyrrolidine (8 à 12%). L-Asparagine en L-asparaginezuur zijn te klein om een ringstructuur te vormen via een amidebinding (het anhyride 3-aminodihydrofuran-2,5-dion wordt wel in kleine mate gevormd, 9 à 14%). Beide carboxylzure groepen in L-asparaginezuur volgen de DCO- of HDO-reactieweg. Ze kunnen dus beide decarboxyleren, deoxygeneren of omgevormd worden naar een alcoholgroep. Ook de aminegroep wordt af en toe afgesplitst, wat resulteert in 10% à 15% barnsteenzuur. Hoewel elk paar van aminozuren dus tot dezelfde producten leidt, zijn de exacte opbrengsten van de componenten telkens verschillend.

Bij de twee basische aminozuren, L-lysine en L-arginine, kan na reactie nog aminoalcohol aangetroffen worden in het supernatant (rij 17-18, 42% lysinol en 36% argininol). Ook DCO- en HDO-producten werden geobserveerd in het reactiemengsel. Verder is de guanidinegroep van L-arginine niet volledig stabiel. Ze wordt soms afgesplitst met de vorming van onder meer methylamine (9%) en 2,5-diamino-1-pentanol (8%).

Tot slot worden de zwavelhoudende aminozuren, L-methionine en L-cysteïne, besproken (rij 19 en 20). Over deze aminozuren kan geconcludeerd worden dat de zwavelhoudende groep preferentieel adsorbeert op het rutheniumoppervlak. L-Methionine is helemaal niet reactief. Dit aminozuur blijft volledig intact na 1 uur en 20 minuten bij de optimale DCO-condities voor L-valine. De thiolgroep van L-cysteïne is echter wel reactief. Via C-S hydrogenolyse wordt het gasvormige H₂S gevormd. Deze component werd onmiddellijk bij het openen van de drukreactor waargenomen via de geur. Naast H₂S werd zo ook 32% alanine gesynthetiseerd. Opmerkelijk is dat alanine hier niet verder reageert tot methyl- of ethylamine. Vermoedelijk wordt Ru vergiftigd door de aanwezige H₂S. Alanine krijgt daarom de tijd om te dimeriseren/cycliseren tot het overeenkomstige diketopiperazine. Een andere component

aanwezig in het reactiemengsel is ethaanthiol, een klein deel van het aminozuur wordt toch gedecarboxyleerd. Vervolgens werd de aminogroep afgesplitst.

Tabel 5. Decarboxylatie van alle andere aminozuren bij de optimale condities voor L-valine.

R COOH NH₂ Ru/C (5 mol% Ru) 1,2 eq. H₃PO₄ L-Aminozuur in water (0,1 M; 2 ml), H₂ (40 bar), N₂ (2 bar), 150°C, 1 uur 20 min. R NH₂						
	Substraat	X ^a [%]	Hoofdproduct	S ^b [%]	Nevenproduct	S ^b [%]
1.		>99		22 ^c		21
2.		99		61		19
3.		>99		87		6
4.		>99		76		6
5.		>99		84		7
6.		>99		40		27
7.		>99		36		23 ^c
8.		>99		50		27
9.		>99		33		26
10.		>99		51		17
11.		12		>99	-	-

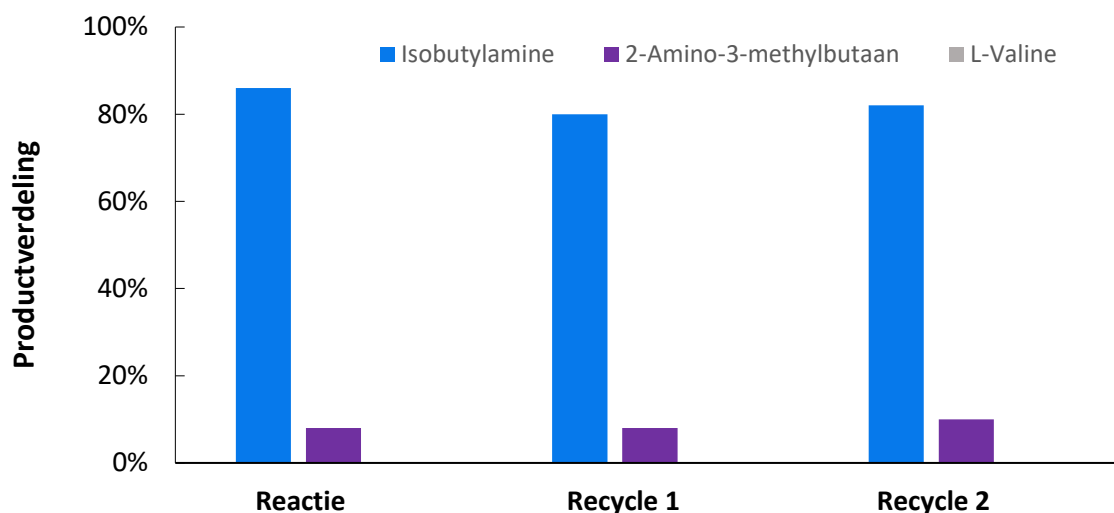
	Substraat	X ^a [%]	Hoofdproduct	S ^b [%]	Nevenproduct	S ^b [%]
12.		>99	<i>d</i>	<i>d</i>	<i>d</i>	<i>d</i>
13.		>99		36		20
14.		>99		31		26
15.		>99		19		15
16.		>99		14		11
17.		>99		42		32
18.		80		36		16
19.		90		32		7
20.		<1	-	-	-	-

Reactiecondities: L-aminozuur in water (0,1 M; 2 ml), Ru/C (5 mol% Ru), H₃PO₄ (1,2 eq.), H₂ (40 bar), N₂ (2 bar), 150°C, 1 uur 20 min. Voor alle stereocentra wordt aangenomen dat de enantiomere zuiverheid verloren gaat tijdens de reactie. ^a Conversie. ^b Selectiviteit. ^c Zeer vluchtige component, een deel kan verloren gaan naar de gasfase. ^d Complex mengsel van producten.

3.2.9 Recyclagetest, stabiliteit en karakterisatie van Ru/C

Er werd in voorgaande experimenten aangetoond dat Ru/C geschikt is om verschillende aminozuren te decarboxyleren tot primaire amines. In deze sectie wordt bijkomende informatie gegeven over de Ru/C katalysator zelf. Met een recyclagetest kon worden aangetoond dat Ru/C zijn activiteit niet verliest na minstens 2 recyclagestappen (figuur 19). Een eerste batchreactie met L-valine bij optimale condities resulteerde hier in 87% isobutylamine en 8% 2-amino-3-methylbutaan (6% massaverlies). Na een derde batchreactie met dezelfde katalysator

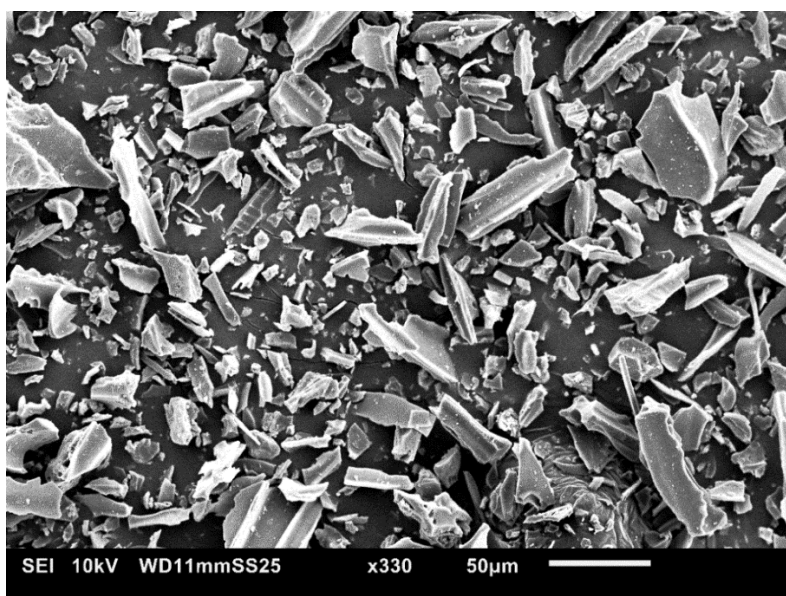
(tussendoor gewassen met water), leverde dit 82% isobutylamine op en 10% 2-amino-3-methylbutaan (8% massaverlies). Tijdens deze recyclagetest werd met inductief gekoppeld plasma optische emissie spectroscopie (ICP-OES) aangetoond dat Ru niet uit de katalysator wordt geloogd, slechts 0,025% van het Ru ging verloren na de eerste katalytische reactie.



Figuur 19. Recyclagetest met Ru/C. Condities: L-valine in water (0,1 M; 2 ml), Ru/C (5 mol% Ru), H_3PO_4 (1,2 eq.), H_2 (40 bar), N_2 (2 bar), 150°C, 1 uur 20 min.

3.2.9.1 SEM van Ru/C

Rasterelektronenmicroscopie (SEM) toont aan dat de katalysatorpartikels een zeer onregelmatige vorm hebben (figuur 20). De partikels kunnen tot 50 μm groot zijn (zie ook figuur C2).



Figuur 20. SEM-foto van Ru/C katalysatorpartikels.

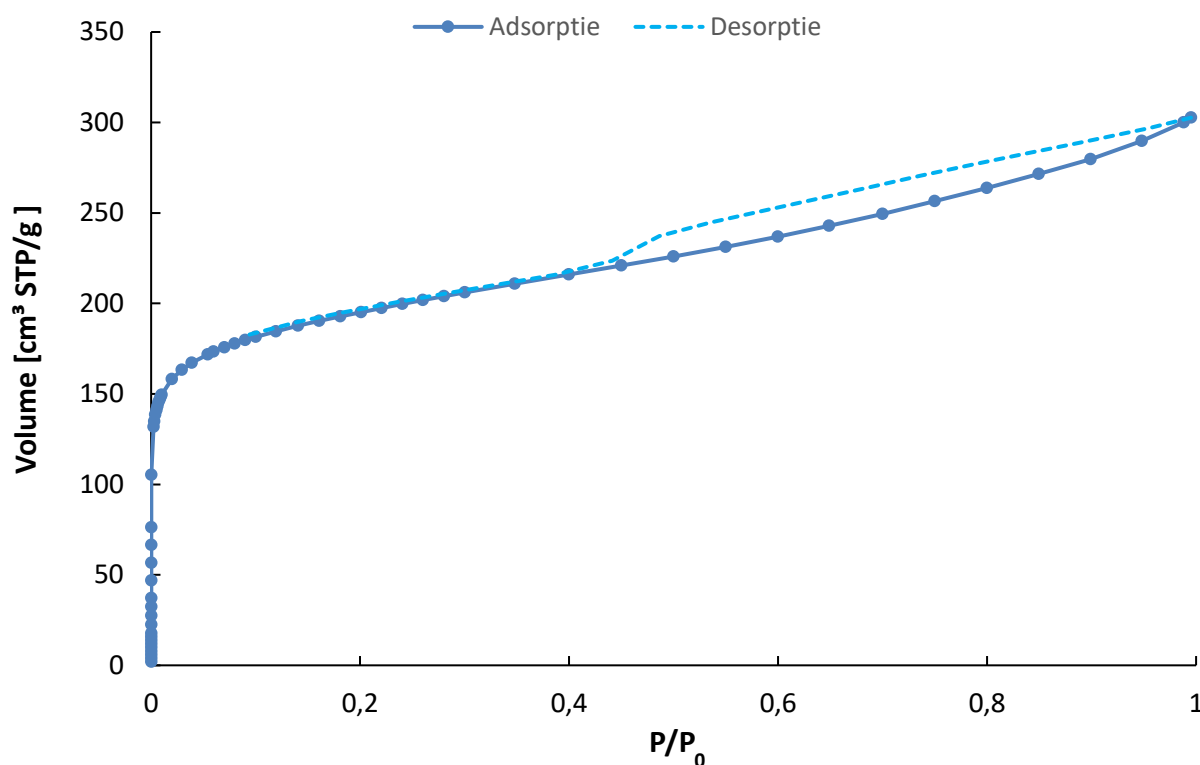
3.2.9.2 N₂ fysisorptie en CO chemisorptie

Tot slot werd met N₂ fysisorptie en CO chemisorptie informatie bekomen over de porositeit van Ru/C en de dispersie van de rutheniumpartikels. Deze informatie wordt samengevat in tabel 6. De katalysator heeft een specifiek oppervlak van 640 m²/g, wat een typisch oppervlak is van actieve kool (Sigma Aldrich, 2017). Het porievolume is 0,42 ml/g, wat kon worden afgeleid uit de desorptie-isotherm (figuur 21). De gemiddelde poriediameter kan eveneens uit de desorptie-isotherm worden afgeleid; deze is gelijk aan 4 nm. Dit wordt ook weerspiegeld door de poriegrootteverdeling (figuur 22). Tot slot werd via een CO chemisorptie-experiment de dispersie berekend; deze is gelijk aan 23%.

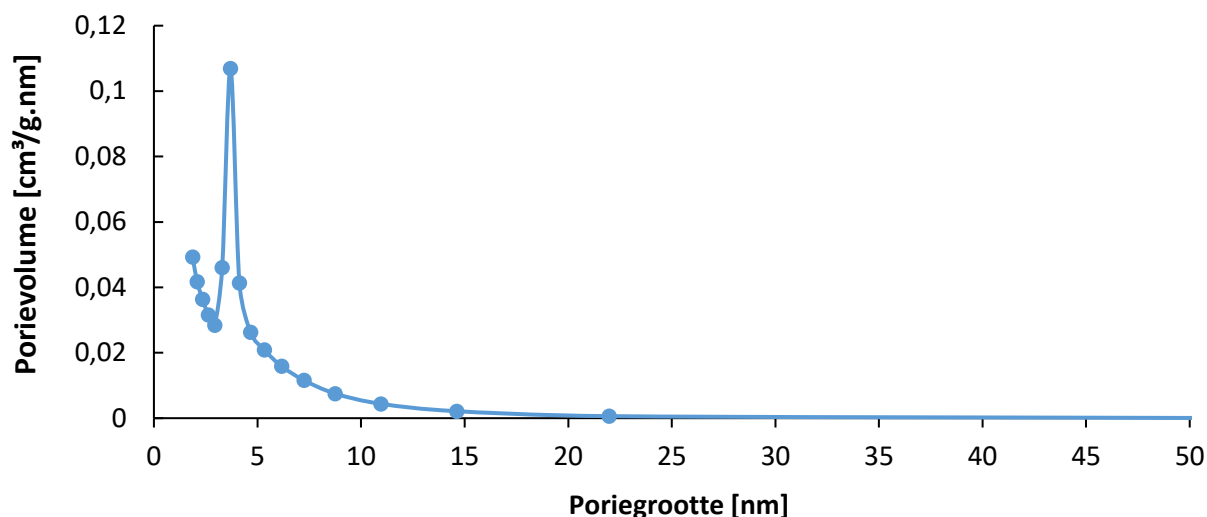
Tabel 6. Karakterisatie van de Ru/C katalysator.

Katalysator	S _{mic} [m ² /g] ^a	S [m ² /g] ^b	V _{mic} [ml/g] ^c	V [ml/g] ^d	d [nm] ^e	D [%] ^f
Ru/C	344	640	0,17	0,42	4	23

^a t-Plot microporie-oppervlak. ^b BET specifiek oppervlak. ^c t-Plot microporie-volume. ^d BJH totaal porievolume afgeleid van de desorptie-isotherm. ^e Gemiddelde poriediameter afgeleid van de desorptie-isotherm. ^f Dispersie.



Figuur 21. N₂ adsorptie- en desorptie-isothermen van Ru/C.

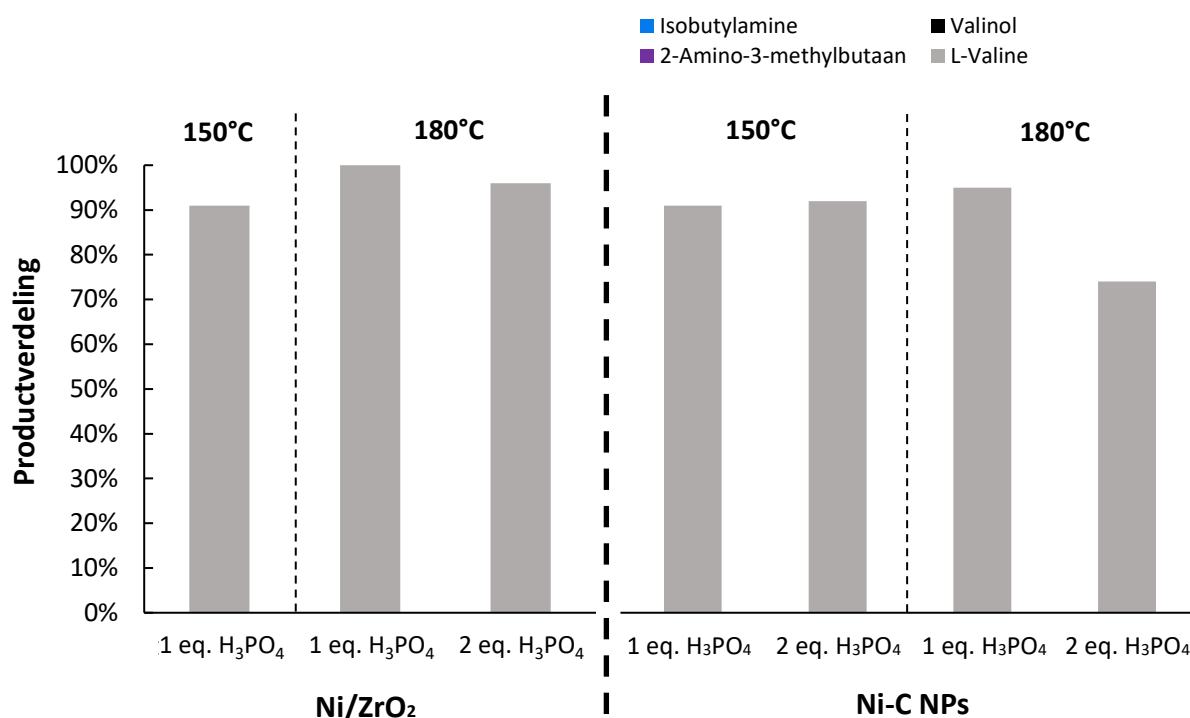


Figuur 22. Poriegrootteverdeling van Ru/C. Het t-model van Harkins en Jura werd gebruikt met FAAS correctie.

3.2.10 Een nieuwe poging met nikkel

Hoewel Ru/C een geschikte katalysator is voor de DCO van aminozuren, werd een nieuwe poging gedaan om deze reactie te verwezenlijken met Ni. Ruthenium is een kostbaar en zeldzaam edelmetaal. In het afgelopen jaar schommelde de ruthenumprijs tussen 1 175 en 1 910 EUR/kg. Nikkel is daarentegen veel goedkoper en slechts 8 tot 12 EUR/kg waard (InfoMine, 2017). Een DCO-proces opstarten met een nikkelkatalysator zou bijgevolg veel aantrekkelijker zijn. Aangezien nikkel veel minder edel is dan ruthenium, is het echter ook vatbaarder voor uitloging. Desalniettemin worden experimenten uitgevoerd met de nikkelkatalysatoren Ni/ZrO₂ en Ni-C NPs. In figuur 23 worden de resultaten weergegeven van de katalytische experimenten met de twee nikkelkatalysatoren. Er werd gewerkt bij gelijkaardige condities als bij de allereerste katalytische experimenten (zie sectie 3.1).

Voor beide katalysatoren kan besloten worden dat ze niet actief zijn, zelfs niet op 180°C. Het verder verhogen van de reactietemperatuur heeft weinig zin. Om te beginnen zijn de katalysatoren niet stabiel onder de geteste condities. De katalysator Ni-C NPs bestaat uit nikkelnanopartikels die gecoat zijn met een laagje koolstof om zo de stabiliteit van Ni te verhogen. Toch bleek uit de ICP-OES data dat 27 à 46% Ni uit deze katalysator werd geloofd (27% op 150°C met 1 eq. H₃PO₄, en 46% op 180°C met 2 eq. H₃PO₄). Ten tweede doet het resultaat van het katalytische experiment met Ni-C NPs, bij 2 eq. H₃PO₄ en op 180°C, vermoeden dat de producten niet stabiel zijn. Bij dit experiment is er namelijk 26% massaverlies. Vermoedelijk reageren gevormde amines onmiddellijk verder tot gasvormige componenten. Werken met Ni leidt dus al vanaf relatief lage temperaturen tot nevenreacties.



Figuur 23. Katalytische reacties met twee nieuwe Ni-katalysatoren. Condities: L-valine in water (0,1 M; 2 ml), Ni (10 mol%), H₂ (40 bar), N₂ (2 bar), 6 uur.

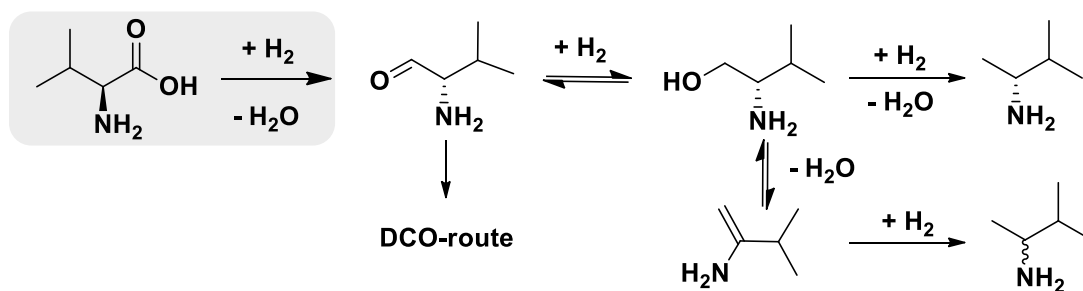
3.2.11 Besluit

Van de geteste katalysatoren bleek dat Ru/C de meest geschikte DCO-katalysator is. De meest optimale condities voor de DCO van L-valine werden bepaald. De hoogste opbrengst van isobutylamine (87%) werd bereikt bij 1,2 eq H₃PO₄, minstens 20 bar H₂, 5 mol% Ru, een reactietemperatuur van 150°C en na een reactietijd van 1 uur en 20 minuten. De specifieke hoeveelheid fosforzuur is een gevolg van twee factoren. Enerzijds katalyseren zuren de HDO-reactieweg. Anderzijds zijn de gevormde amines enkel stabiel als ze geprotoneerd zijn. Bij 1,2 eq. H₃PO₄ is er een goede balans tussen de stabiliteit van isobutylamine en de selectiviteit voor 2-amino-3-methylbutaan. Naast de hoeveelheid toegevoegd fosforzuur heeft ook de reactietemperatuur een belangrijke invloed op de maximale opbrengst aan isobutylamine. DCO, met Ru/C, heeft een hogere activeringsenergie dan HDO. Hierdoor wordt bij lagere temperatuur HDO minder afgeremd dan DCO, wat leidt tot een lager maximum in de opbrengst aan isobutylamine. Ook het exacte DCO mechanisme met een Ru/C katalysator kon worden aangetoond. Eerst wordt het aminozuur gehydrogeneerd tot een aminoalcohol. Dit aminoalcohol dehydrogeneert hierna terug tot een aminoaldehyde, waarna een decarbonylatiestap plaatsvindt. Dit resulteert in het gewenste primaire amine. De HDO vindt dan weer plaats via dehydratie van het aminoalcohol naar een enamine. Het enamine wordt daaropvolgend gehydrogeneerd tot een racemisch mengsel van 2-amino-3-methylbutaan.

Uit de recyclagetesten bleek dat Ru/C een zeer stabiele katalysator is. Ru/C heeft een hoog specifiek oppervlak en er loogt vrijwel geen Ru uit de katalysator (slechts 0,025% Ru). Tot slot, hoewel Ni een goedkoop en geschikt metaal is voor de DCO en HDO van biogebaseerde molecules zoals fenol en vetzuren, zijn de geteste Ni-katalysatoren niet geschikt voor de DCO van aminozuren, die op lagere temperatuur moet plaatsvinden. Voor Ni-C NPs werd bijvoorbeeld aangetoond dat de katalysator helemaal niet actief is onder de geteste condities, noch stabiel.

3.3 Hydrodeoxygenatie van aminozuren

Na in het eerste onderzoeksluik een geschikte katalysator te hebben gevonden voor de DCO van aminozuren, werd in het tweede deel gezocht naar een geschikte HDO-katalysator. L-Valine was hier niet langer het modelsubstraat, maar wel L-valinol. Het spreekt voor zich dat de deoxygenatie eenvoudiger is indien gestart wordt vanaf het (enantiozuivere) aminoalcohol (schema 17). Eenmaal een geschikte katalysator gevonden is voor de HDO van L-valinol zou teruggekeerd kunnen worden naar L-valine om de mogelijkheid van een één-staps proces te onderzoeken. In dit onderzoeksluik werden katalysatoren gebruikt op basis van Ru, Rh, Pd en Pt. Eerst werd een poging gedaan om met ruthenium-gebaseerde katalysatoren selectief HDO-reacties uit te voeren door de reactiecondities te variëren. Daarna werd de invloed van koper- en zinkadditieven onderzocht. Niet alleen water, maar ook tetrahydrofuraan (THF) werd gebruikt als solvent om de beschikbaarheid van waterstof te verhogen.

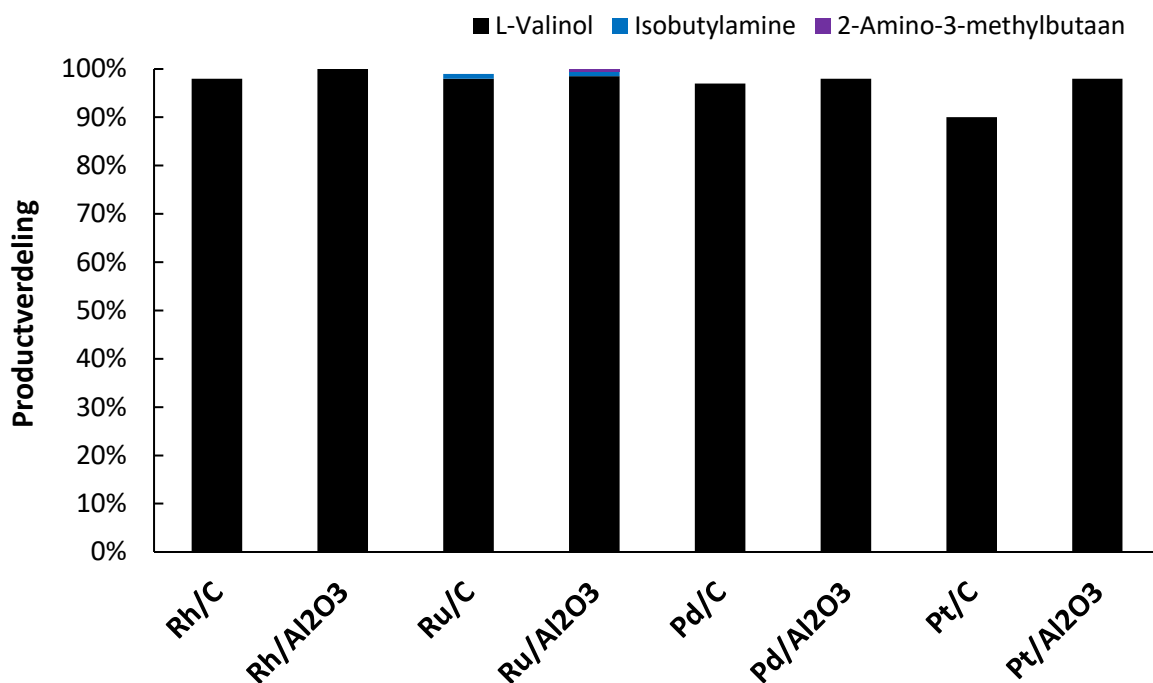


Schema 17. Hydrodeoxygenatie van L-valinol naar 2-amino-3-methylbutaan.

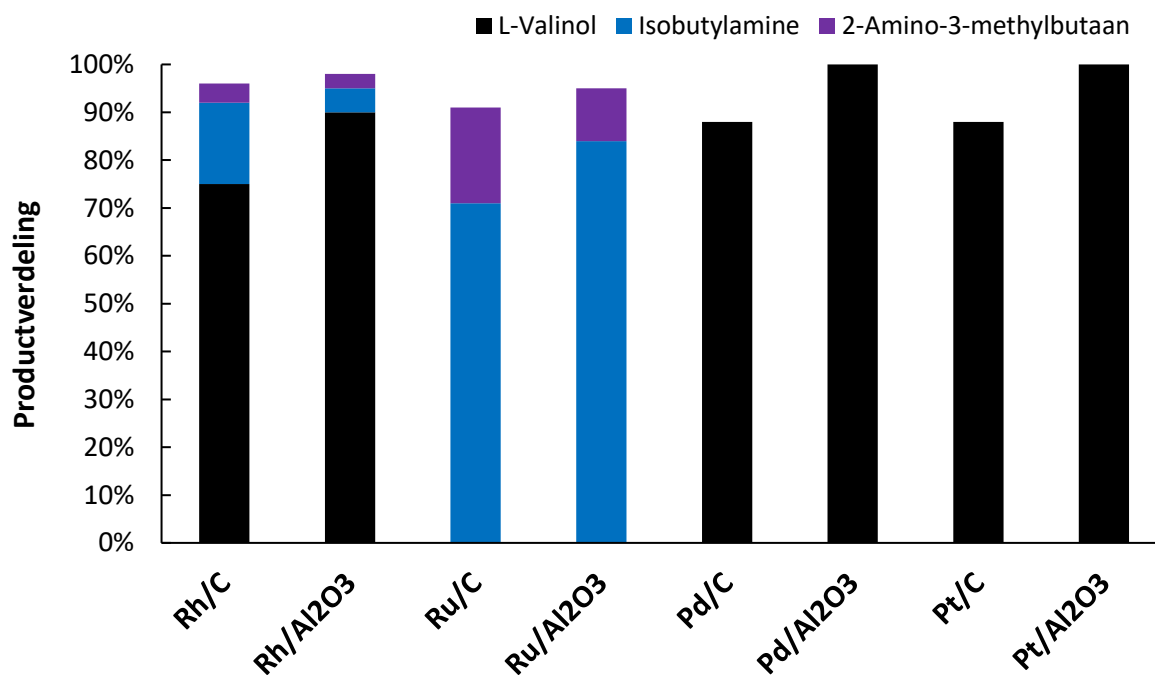
3.3.1 Een eerste screening met veel fosforzuur bij een lage temperatuur

Uit de DCO-experimenten met Ru/C bleek dat een hoge dosis fosforzuur de HDO van L-valine versnelt. Verder was de globale activeringsenergie van de DCO-reactieweg hoger dan die van de HDO-reactieweg (opnieuw voor Ru/C katalysator). Bijgevolg stijgt de HDO-over-DCO verhouding met dalende temperatuur. Om die reden werd in deze eerste screening van enkele

commerciële katalysatoren gewerkt bij 3 eq. H_3PO_4 op 100°C of 150°C. In de katalytische experimenten werd nooit gewerkt bij een nog hogere concentratie fosforzuur; 3 eq. H_3PO_4 is al heel veel. De resultaten van deze screening worden weergegeven in figuren 24 en 25.



Figuur 24. Screening van commerciële katalysatoren op hydrodeoxygenatie-activiteit bij 3 eq. H_3PO_4 op 100°C. Condities: L-valinol in water (0,1 M; 2 ml), metaal (5 mol%), H_3PO_4 (3 eq.), H_2 (40 bar), N_2 (2 bar), 100°C, 6 uur.



Figuur 25. Screening van commerciële katalysatoren op hydrodeoxygenatie-activiteit bij 3 eq. H_3PO_4 op 150°C. Condities: L-valinol in water (0,1 M; 2 ml), metaal (5 mol%), H_3PO_4 (3 eq.), H_2 (40 bar), N_2 (2 bar), 150°C, 6 uur.

Geen enkele katalysator is actief genoeg om op 100°C deoxygenatiereacties uit te voeren. Enkel na reactie met een rutheniumkatalysator kunnen sporen van isobutylamine en 2-amino-3-methylbutaan worden teruggevonden. Hoewel de HDO-over-DCO verhouding stijgt met dalende temperatuur, is een reactietemperatuur van 100°C te laag om nog een actieve katalysator te hebben. Op 150°C zijn palladium- en platinum-gebaseerde katalysatoren niet actief. Zelfs wanneer er gestart wordt vanaf het aminoalcohol, zijn deze katalysatoren op 150°C niet in staat om deoxygenatiereacties uit te voeren. Rh/C en Rh/Al₂O₃ kunnen wel deoxygenatiereacties uitvoeren. Toch blijft er na reactie nog respectievelijk 75% en 90% L-valinol over. De enige katalysatoren waarbij een volledige conversie kan worden waargenomen, zijn Ru/C en Ru/Al₂O₃. Ruthenium op een koolstofdrager leidt tot meer 2-amino-3-methylbutaan (20%) dan met een aluminadrager (11%). Voor beide katalysatoren neemt de DCO-route nog altijd de bovenhand. De opbrengsten aan isobutylamine zijn respectievelijk 71% en 84%. Een opbrengst van 84% isobutylamine met Ru/Al₂O₃ is behoorlijk veel, maar men mag niet vergeten dat het substraat in deze experimenten L-valinol is en niet L-valine. Zoals in sectie 3.1 werd aangetoond, is Ru/Al₂O₃ minder geschikt voor de DCO van L-valine omwille van nevenreacties en een lagere activiteit. De enantiomere zuiverheid van het HDO-product werd in deze screening nagegaan via de beschreven gaschromatografische methode (sectie 2.3.2.2). Het bleek telkens te gaan om een racemisch mengsel van (*R*)- en (*S*)-2-amino-3-methylbutaan.

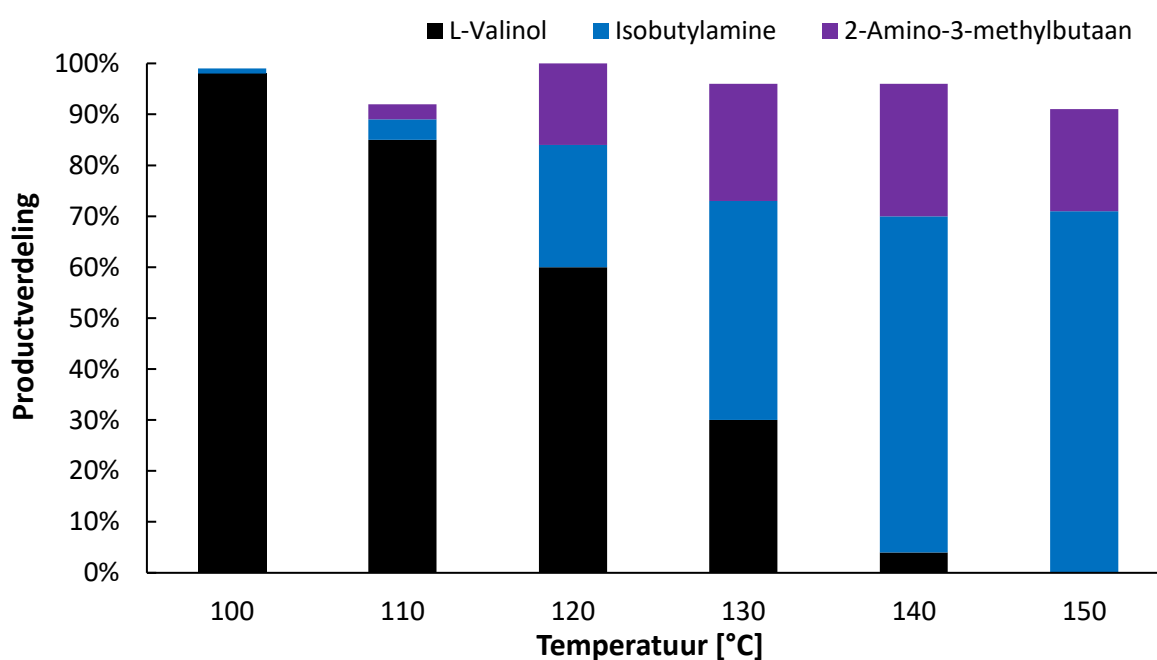
3.3.2 Werken met Ru-gebaseerde katalysatoren

De enige geteste katalysatoren die een aanzienlijke activiteit hebben op 150°C of lager, zijn op basis van ruthenium. In deze sectie wordt daarom gewerkt met ruthenium-gebaseerde katalysatoren. Deze katalysatoren hebben de ongewenste neiging om vooral de DCO-route te katalyseren. De reactietemperatuur en -tijd werden voor Ru/C geoptimaliseerd om zoveel mogelijk 2-amino-3-methylbutaan te maken uit L-valinol. Dit gebeurde bij een hoge dosis fosforzuur en hoge waterstofdruk (3 eq. H₃PO₄ en 40 bar H₂). Nadien werd het dragermateriaal van de rutheniumkatalysator gevarieerd. Zoals in de voorgaande sectie werd aangetoond, heeft deze een grote invloed op de opbrengst van het HDO-product. Onder dezelfde condities resulteert Ru op een koolstofdrager tot bijna dubbel zoveel 2-amino-3-methylbutaan als Ru op een aluminadrager.

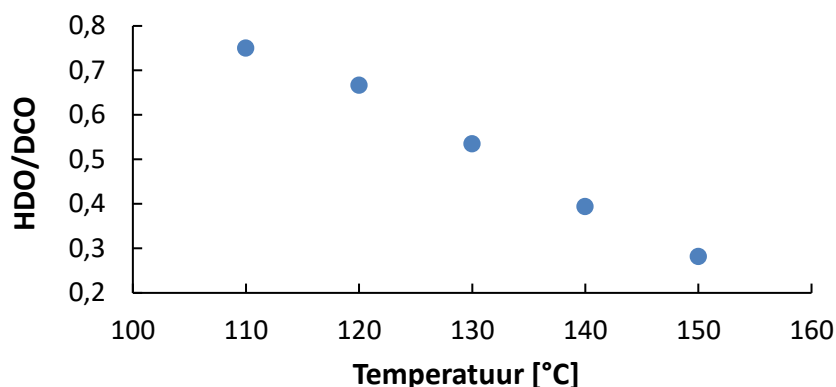
3.3.2.1 Zoeken naar de optimale reactietemperatuur

Bij 100°C heeft Ru/C een zeer lage deoxygenatie-activiteit. Anderzijds wordt op 150°C vooral de DCO-route gekatalyseerd. Een balans tussen activiteit en selectiviteit voor 2-amino-3-methylbutaan bevindt zich vermoedelijk tussen 100 en 150°C. Daarom werden aanvullende katalytische reacties uitgevoerd bij 110, 120, 130 en 140°C (figuur 26). Ook de HDO-over-DCO verhouding werd voor elke reactietemperatuur bepaald (figuur 27).

Er heerst een lineaire relatie tussen de HDO-over-DCO verhouding en de reactietemperatuur. Voor elke toename van 10°C in reactietemperatuur, daalt de HDO-over-DCO verhouding met een factor 0,12. Met afnemende reactietemperatuur daalt ook de conversie van L-valinol. Vanaf 110°C is de conversie na een reactietijd van 6 uur kleiner dan 15%. Een reactietemperatuur van 120°C is daarom optimaal. Na 6 uur bestaat dit reactiemengsel voor 60% uit L-valinol, 24% uit isobutylamine en 16% uit 2-amino-3-methylbutaan. Het gevormde 2-amino-3-methylbutaan is volledig racemisch. Dit laatste geldt ook voor alle andere katalytische experimenten. Eerdere observaties wezen er eveneens op dat het stereocentrum racemisch gevormd wordt. De opbrengst aan 2-amino-3-methylbutaan werd namelijk niet beïnvloed door de waterstofdruk maar wel door de hoeveelheid toegevoegd fosforzuur. 2-Amino-3-methylbutaan wordt daarom waarschijnlijk gevormd via een dehydratatie-hydrogenatie-mechanisme. In sectie 3.3.4.1 wordt ook aangetoond dat ruthenium in staat is om enantiozuivere amines te racemiseren.



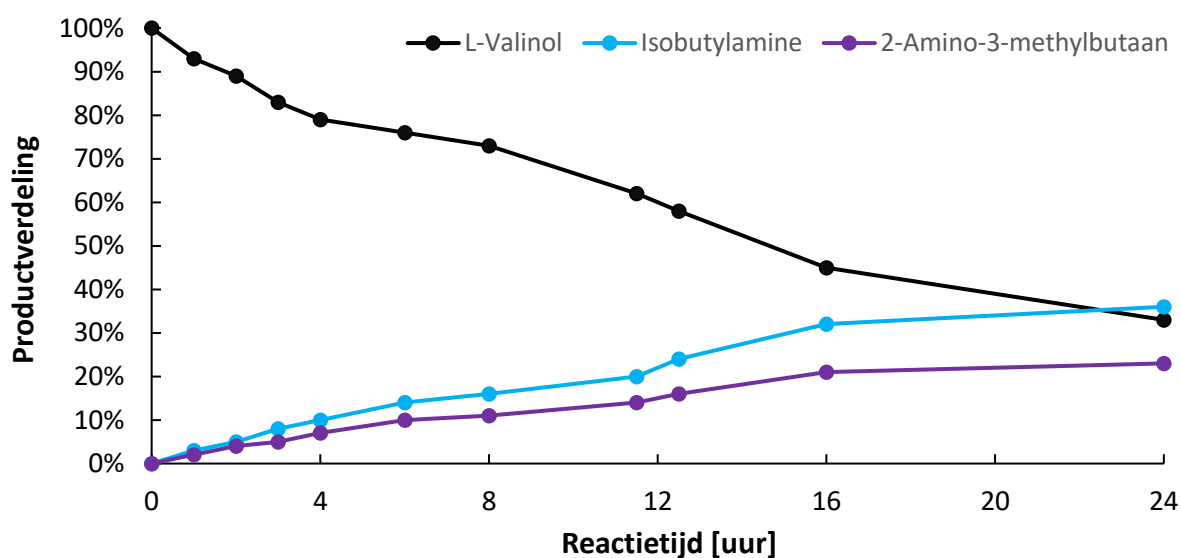
Figuur 26. Hydrodeoxygenatie van L-valinol met Ru/C bij verschillende reactietemperaturen. Condities: L-valinol in water (0,1 M; 2 ml), Ru/C (5 mol% Ru), H₃PO₄ (3 eq.), H₂ (40 bar), N₂ (2 bar), 6 uur.



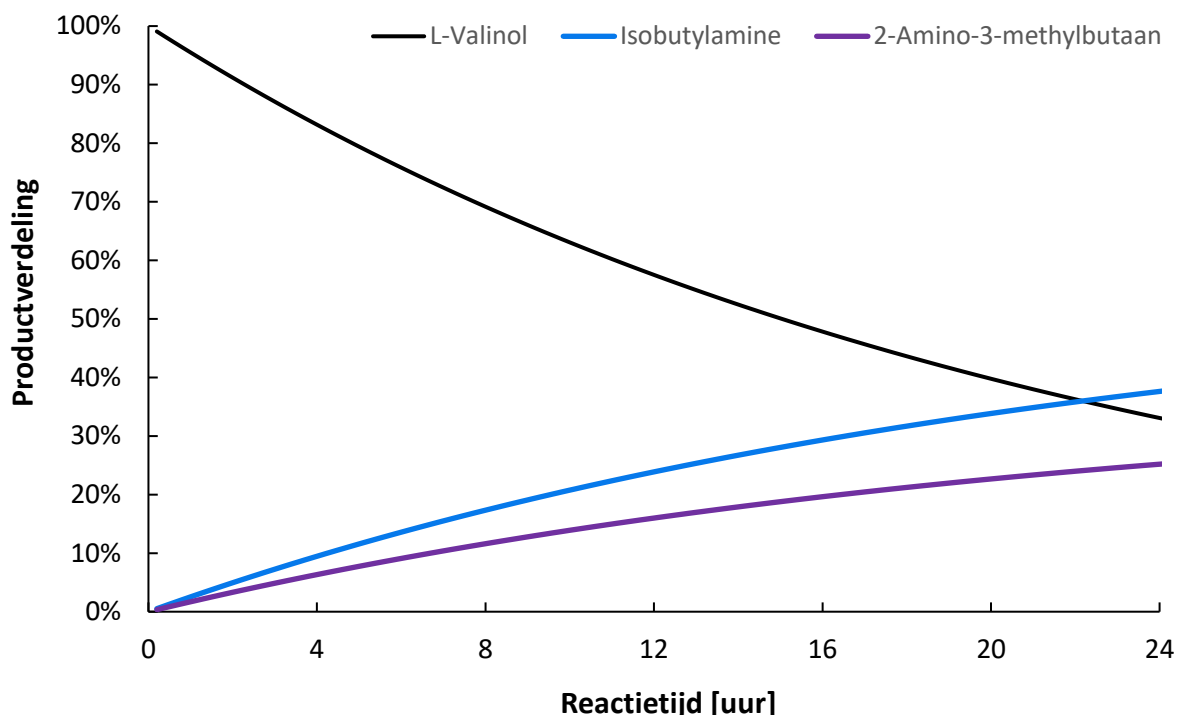
Figuur 27. HDO-over-DCO verhouding in functie van de reactietemperatuur. Condities: L-valinol in water (0,1 M; 2 ml), Ru/C (5 mol% Ru), H_3PO_4 (3 eq.), H_2 (40 bar), N_2 (2 bar), 6 uur.

3.3.2.2 Een tijdsprofiel voor Ru/C

Voor de deoxygenatie van L-valinol met Ru/C op 120°C en met 3 eq. H_3PO_4 werd een tijdsprofiel opgesteld (figuur 28). Het gevormde 2-amino-3-methylbutaan is zelfs bij heel lage conversies en korte reactietijden racemisch. Dit wijst erop dat het amine racemisch gevormd wordt en niet achteraf wordt geracemiseerd. Na 24 uur bestaat het reactiemengsel voor 33% uit L-valinol, 36% uit isobutylamine en 23% uit 2-amino-3-methylbutaan. De HDO-over-DCO verhouding blijft constant over het hele tijdsprofiel. Er kan verder worden aangetoond dat de verandering van de concentratie van L-valinol lineair gecorreleerd is met de concentratie van L-valinol (figuur C3). Met andere woorden, de HDO- en DCO-route kunnen beide worden vereenvoudigd tot eerste orde reacties. Met deze berekeningen kon het verloop van de concentratie van L-valinol, isobutylamine en 2-amino-3-methylbutaan worden gesimuleerd in functie van de tijd. Deze simulatie komt goed overeen met de experimentele data (figuur 29).



Figuur 28. Tijdsprofiel van de hydrodeoxygenatie van L-valinol met Ru/C. Condities: L-valinol in water (0,1 M; 2 ml), Ru/C (5 mol% Ru), H_3PO_4 (3 eq.), H_2 (40 bar), N_2 (2 bar), 120°C.



Figuur 29. Gesimuleerd tijdsprofiel van de hydrodeoxygenatie van L-valinol met Ru/C. Conditie: L-valinol in water (0,1 M; 2 ml), Ru/C (5 mol% Ru), H_3PO_4 (3 eq.), H_2 (40 bar), N_2 (2 bar), 120°C.

3.3.2.3 Ruthenium op verschillende dragermaterialen

Eenmaal de optimale HDO-reactietemperatuur voor Ru/C bepaald was, werden deoxygenatiereacties uitgevoerd met andere rutheniumkatalysatoren (Ru op verschillende dragermaterialen). Reacties werden uitgevoerd bij eerder vermelde condities maar met een reactietijd van 24 uur, waarbij een aanzienlijke hoeveelheid van het HDO- en DCO-product gevormd werd (Tabel 7). Geen enkele katalysator is even actief én selectief als Ru/C. Ru op een zirkoniadrager heeft een gelijkaardige HDO-over-DCO verhouding als Ru/C, maar een veel lagere activiteit. Ru/ Al_2O_3 heeft anderzijds een gelijkaardige activiteit (62% conversie), maar een zeer lage HDO-over-DCO verhouding. Vermoedelijk lost het alumina deels op onder deze zure condities. Dit leidt tot een stijging in *pH*, wat de DCO-route bevoordeelt. Hoewel de *pH* in dit onderzoeksluik nooit gemeten werd, kunnen observaties in het eerste deel deze hypothese bevestigen. In een DCO-reactie van L-valine met een Ru/ Al_2O_3 katalysator op 150°C en met 3 eq. H_3PO_4 , was de geobserveerde finale *pH* 4. Dit kan onmogelijk enkel en alleen het werk zijn van de gevormde HDO- en DCO-producten. Tot slot, de geteste Ru op tinania en silica zijn helemaal niet actief. Er kan geconcludeerd worden dat tot nu toe Ru/C op 120°C, 3 eq. H_3PO_4 en 40 bar H_2 , het beste katalytische systeem is om aminoalcoholen te hydrodeoxygenen. In theorie kan een maximale opbrengst van 40% 2-amino-3-methylbutaan worden bereikt (samen met 60% isobutylamine). Dit biedt nog veel ruimte voor verbetering.

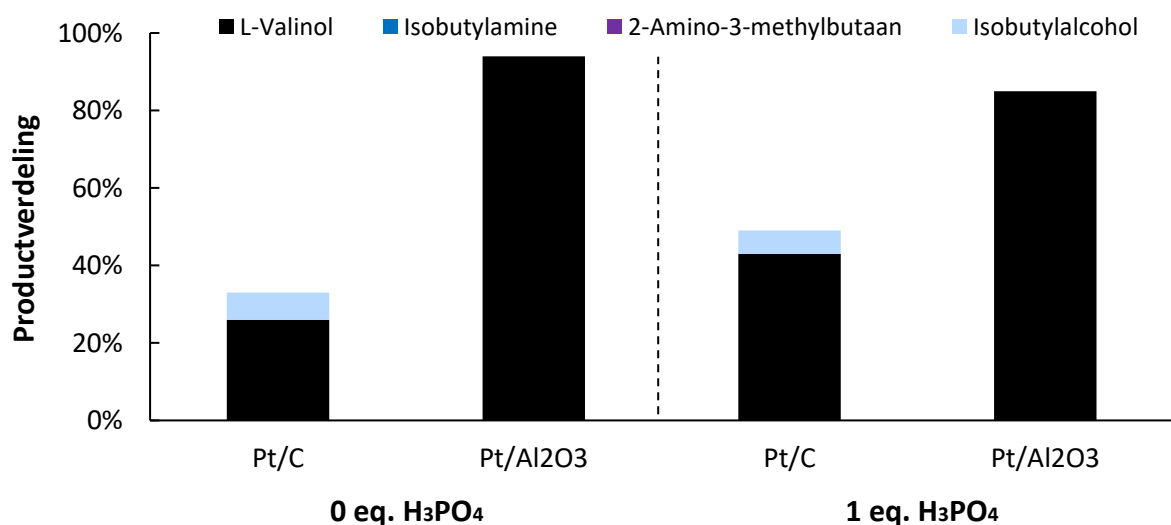
Tabel 7. Productverdeling van hydrodeoxygenatie van verschillende Ru-gebaseerde katalysatoren.

Katalysator	L-Valinol	Isobutylamine	2-Amino-3-methylbutaan	HDO/DCO
Ru/TiO ₂	100%	-	-	-
Ru/ZrO ₂ ^a	99%	1%	-	-
Ru/ZrO ₂	85%	9%	6%	0,667
Ru/ZrO ₂ ^b	99%	1%	-	-
Ru/ZrO ₂ ^c	95%	3%	2%	0,667
Ru/Al ₂ O ₃	38%	49%	13%	0,265
Ru/SiO ₂	94%	4%	2%	0,500
Ru/C	33%	36%	23%	0,639

Alle katalysatoren bestaan voor 5 wt% uit Ru. Condities: L-valinol in water (0,1 M; 2 ml), Ru (5 mol%), H₃PO₄ (3 eq.), H₂ (40 bar), N₂ (2 bar), 120°C, 24 uur. ^a 2,5 wt% Ru. ^b 7,5 wt% Ru. ^c 10 wt% Ru.

3.3.3 Een korte test met platinum

Hoewel Pt op 150°C noch actief is met L-valine als substraat, noch met L-valinol, volgens de literatuur zou het een goede deoxygenatiekatalysator zijn. Om die reden werden reacties uitgevoerd op een licht verhoogde temperatuur van 180°C met Pt/C en Pt/Al₂O₃ bij zowel 0 als 1 eq. H₃PO₄ (figuur 30). Pt/Al₂O₃ is helemaal niet actief en ook bij Pt/C is de conversie respectievelijk slechts 74% en 57%. Het gewenste amine werd niet aangetroffen in het supernatant, enkel 6% en 7% isobutylalcohol. Het gevormde amine is dus waarschijnlijk isobutylamine; dit amine is niet stabiel onder de geteste condities. Door de lage stabiliteit van het amine werd er niet verder gewerkt met Pt/C. Het verder verhogen van de reactietemperatuur zou het amine des te instabieler maken. Het toevoegen van meer zuur lijkt de activiteit van Pt/C te verlagen.



Figuur 30. Poging tot hydrodeoxygenatie met platinum-gebaseerde katalysatoren bij 0 en 1 eq. H₃PO₄. Condities: L-valinol in water (0,1 M; 2 ml), Pt (5 mol%), H₃PO₄, H₂ (20 bar), N₂ (2 bar), 180°C, 24 uur.

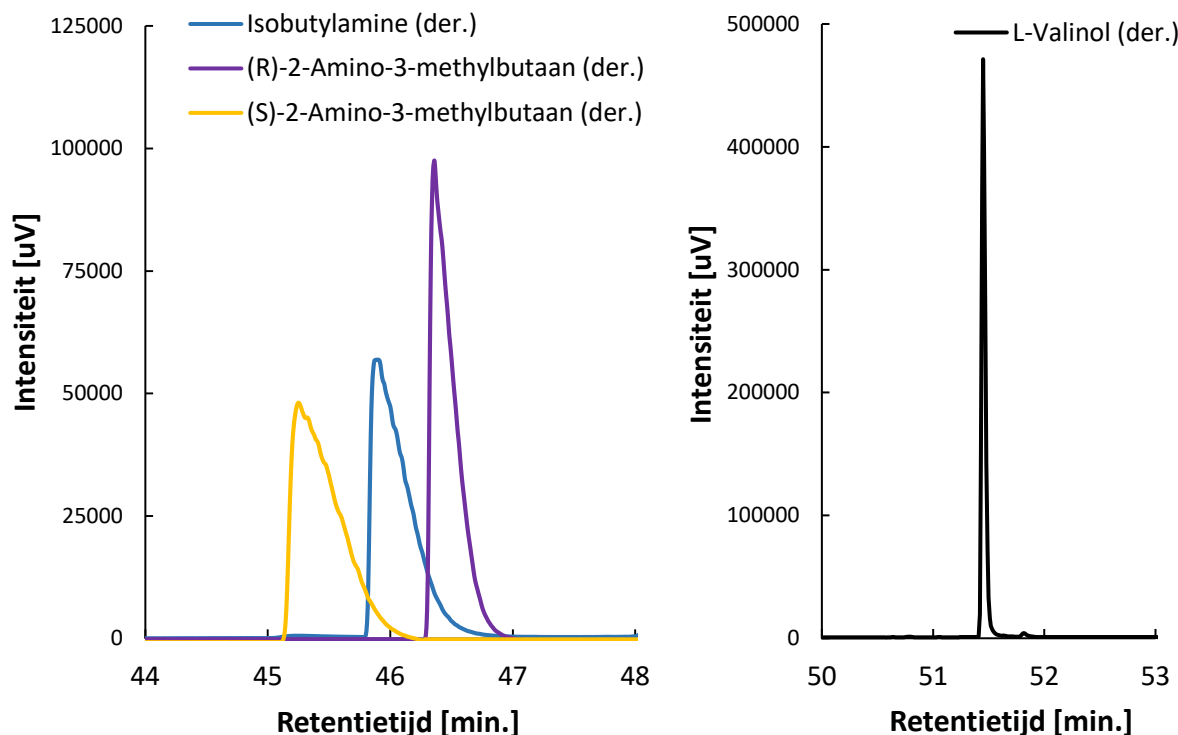
3.3.4 Zoutadditieven in een organisch solvent

In het artikel van Grainger *et al.* (2013) werd een complex benzylic alcohol gehydrodeoxygeneerd met Pd/C in de aanwezigheid van CuSO₄ op lage temperatuur (70°C). Het zout zou zowel de selectiviteit voor HDO-reacties als de activiteit van Pd/C verhogen. Verder was het bij de HDO van dit alcohol zeer onwaarschijnlijk dat een dehydratatie plaatsvond. Indien dit katalytisch systeem ook de HDO van aminoalcoholen katalyseert, zou het bijgevolg een enantiozuiver HDO-product kunnen opleveren. Om die reden werden testen uitgevoerd met Ru, Rh, Pd en Pt op een koolstofdrager, met 5 mol% CuSO₄, 3 eq. H₃PO₄, 40 bar H₂, op temperaturen tot 100°C en een reactietijd van 24 uur (0,1 M L-valinol in 2 ml water). Deze katalytische experimenten leverden niets op. Enkel bij Ru konden sporen van beide amines worden teruggevonden. Op dit punt werd besloten om over te schakelen naar een organisch solvent. Een organisch solvent kan de HDO mogelijk vergemakkelijken door de beschikbaarheid van waterstof te verhogen. Om die reden werd water vervangen door het relatief polaire tetrahydrofuraan (THF). Naast katalytische testen met 5 mol% CuSO₄, werden ook experimenten uitgevoerd met 5 mol% ZnCl₂. Naast koper- zijn ook zinkadditieven in het verleden doeltreffend gebleken voor de HDO van biogebaseerde componenten met een Pd/C katalysator (Parsell *et al.*, 2013; Saha *et al.*, 2014). Deze zinkadditieven werden, net als in de literatuur, enkel gebruikt op temperaturen vanaf 150°C.

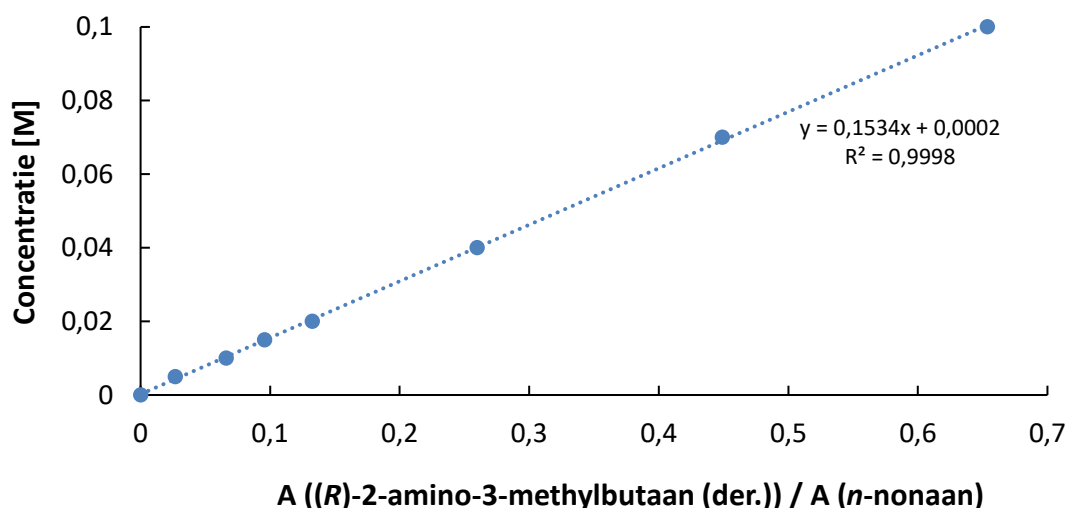
3.3.4.1 Scheiding en ijklijn voor 2-amino-3-methylbutaan

Het overschakelen naar een organisch solvent ging gepaard met enkele moeilijkheden. In de eerste plaats moest opnieuw worden aangetoond dat (*R*)- en (*S*)-2-amino-3-methylbutaan ook in THF van elkaar gescheiden kunnen worden (na acetylatie met azijnzuuranhydride). (*R*)-2-amino-3-methylbutaan is in zuivere vorm verkrijgbaar bij Sigma Aldrich, maar zijn (*S*)-enantiomeer moest gesynthetiseerd worden. In een eerste poging reageerde Ru/C (5 mol% Ru) in THF met L-valinol, bij 3 eq. H₃PO₄ (41 µl van een 85% waterige oplossing), 40 bar H₂, op 150°C en een reactietijd van 6 uur. Dit resulteerde in 2-hydroxy-3-methylbutaan. Een tweede poging was wel succesvol. Zuivere (*R*)-2-amino-3-methylbutaan werd geracemiseerd met een Ru/C katalysator (5 mol%) in THF, bij 40 bar H₂, op 150°C en een reactietijd van 1 uur en 20 minuten. De componenten valinol, isobutylamine en (*R*)- en (*S*)-2-amino-3-methylbutaan konden na derivatisatie gescheiden worden op een gaschromatograaf (figuur 31).

Een tweede moeilijkheid is het niet langer kunnen gebruiken van ^1H -NMR. Zoals besproken in het hoofdstuk Materialen en methoden (sectie 2.3.2.2) werd voor (*R*)-2-amino-3-methylamine een ijklijn opgesteld. *n*-Nonaan werd gebruikt als interne standaard (figuur 32). De opbrengst van andere componenten werd geschat via berekeningen op basis van effectief koolstofnummer.



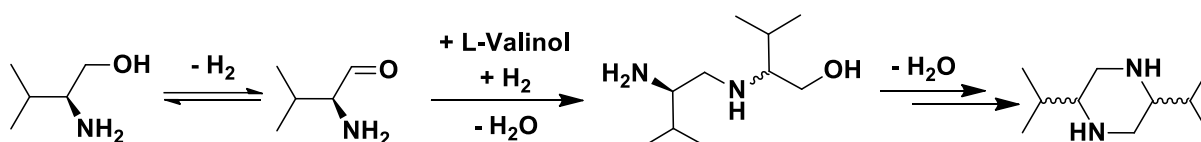
Figuur 31. Scheiding van geacetyleerde L-valinol, isobutylamine, (S)- & (R)-2-amino-3-methylbutaan.



Figuur 32. Ijkljn voor 2-amino-3-methylbutaan. De concentratie van (*R*)-2-amino-3-methylbutaan in het reactiemengsel in functie van de verhouding in oppervlakken van (*R*)-2-amino-3-methylbutaan en *n*-nonaan.

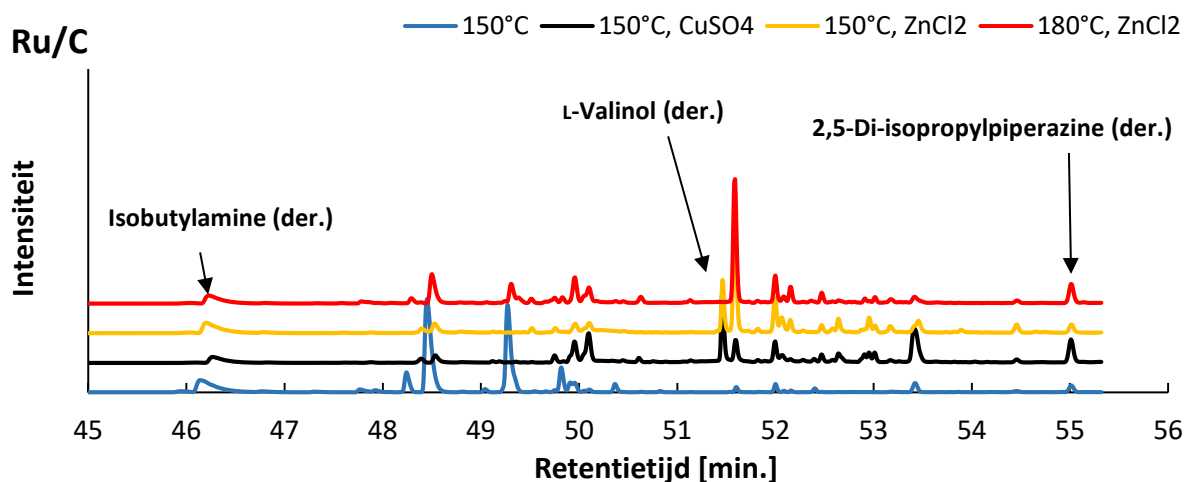
3.3.4.2 Koper- en zinkaddities in THF

Om het organische solvent niet te contamineren met water, werd niet langer gewerkt met fosforzuur. Analoge reacties aan deze in water op lage temperatuur, maar in afwezigheid van fosforzuur, werden uitgevoerd. Er werd geen conversie van L-valinol waargenomen. In de hierop volgende experimenten werd de reactietemperatuur verhoogd naar 150 of 180°C. De GC-scheidingen resulteerden in de chromatogrammen weergegeven in figuren 33, 34, 35 en 36. toevoegen van CuSO₄ of ZnCl₂ is inderdaad belangrijk. De conversie van L-valinol is lager in afwezigheid van deze zouten. Dit verschil in activiteit en selectiviteit voor een bepaald product is het meest merkbaar bij Ru/C (figuur 33). Opmerkelijk is dat enkel na reacties met Ru/C kleine hoeveelheden van isobutylamine (6% à 12%) en 2-amino-3-methylbutaan (kleiner dan 2%) konden worden gedetecteerd. Typisch voor Pd/C is de relatief hoge selectiviteit voor 2,5-di-isopropylpiperazine (tot 32%). Het mechanisme waarmee dit molecule kan gevormd worden uit valinol, wordt weergegeven in schema 18.

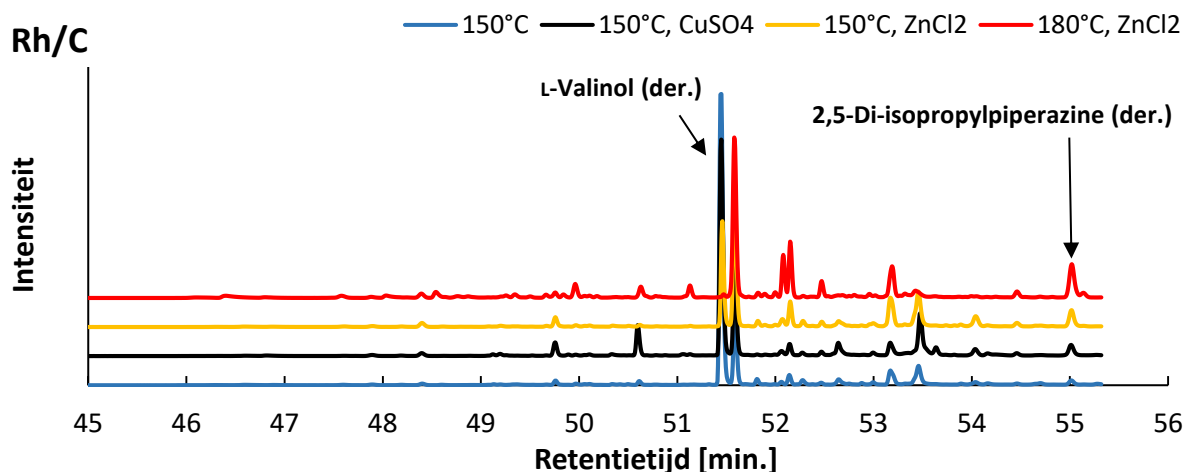


Schema 18. De vorming van 2,5-di-isopropylpiperazine uit L-valinol.

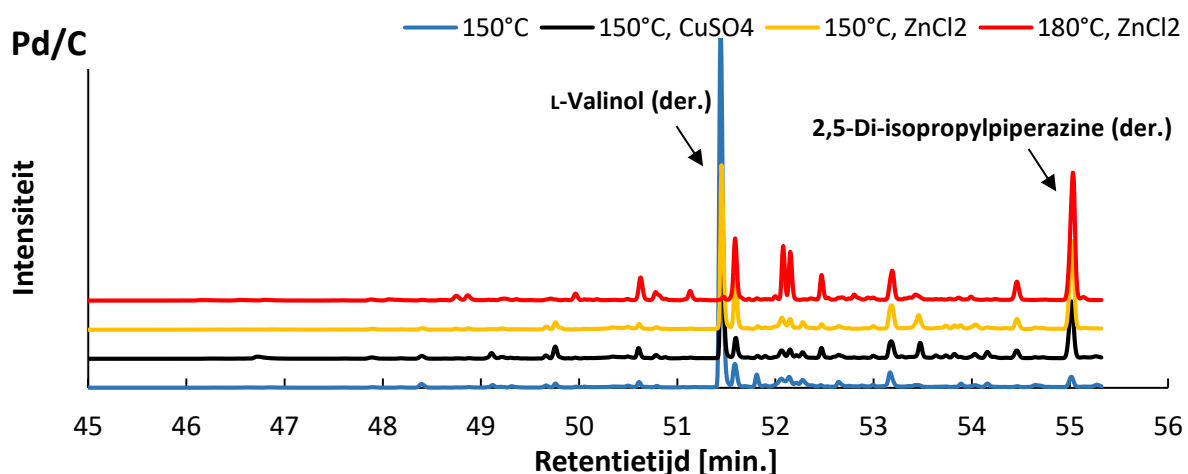
De andere producten konden niet worden geïdentificeerd. De NIST MS Search 2.0 database suggereerde, na GC-MS analyse, dat de meeste componenten secundaire of tertiaire amines zijn. Ook enkele 2D-NMR metingen (¹H, ¹³C-HSQC), na het uitdampen van THF, kunnen bevestigen dat het gaat om een complex mengsel van amines en alcoholen (figuur C4).



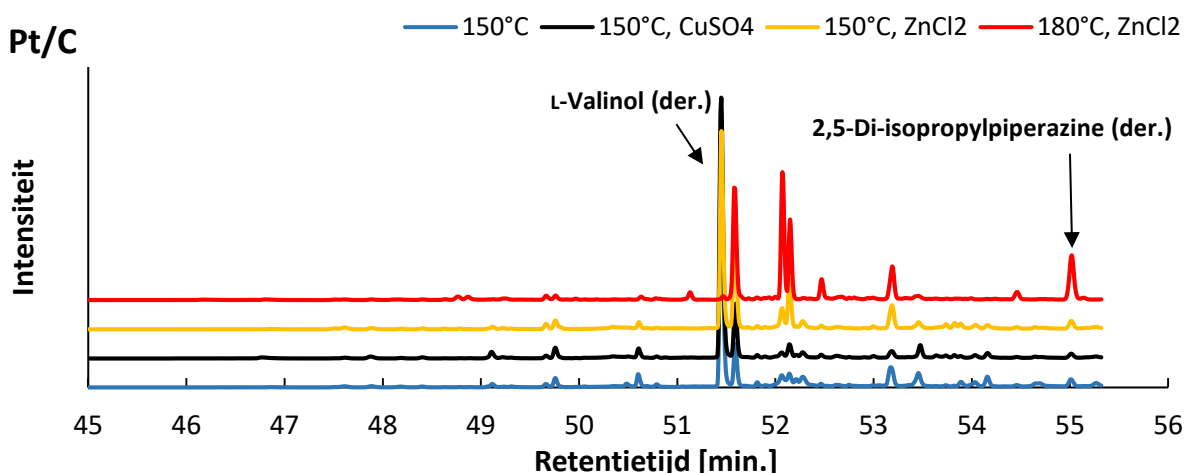
Figuur 33. Poging tot hydrodeoxygenatie met Ru/C en addities in THF. Condities: L-valinol in THF (0,1 M; 2 ml), Ru/C (5 mol% Ru), zoutaddities (5 mol%); 0,2 mmol *n*-nonaan, H₂ (40 bar; bij 180°C met 30 bar), N₂ (2 bar), 24 uur.



Figuur 34. Poging tot hydrodeoxygenatie met Rh/C en additieven in THF. Condities: L-valinol in THF (0,1 M; 2 ml), Rh/C (5 mol% Rh), zoutadditief (5 mol%); 0,2 mmol *n*-nonaan, H₂ (40 bar; bij 180°C met 30 bar), N₂ (2 bar), 24 uur.



Figuur 35. Poging tot hydrodeoxygenatie met Pd/C en additieven in THF. Condities: L-valinol in THF (0,1 M; 2 ml), Pd/C (5 mol% Pd), zoutadditief (5 mol%); 0,2 mmol *n*-nonaan, H₂ (40 bar; bij 180°C met 30 bar), N₂ (2 bar), 24 uur.



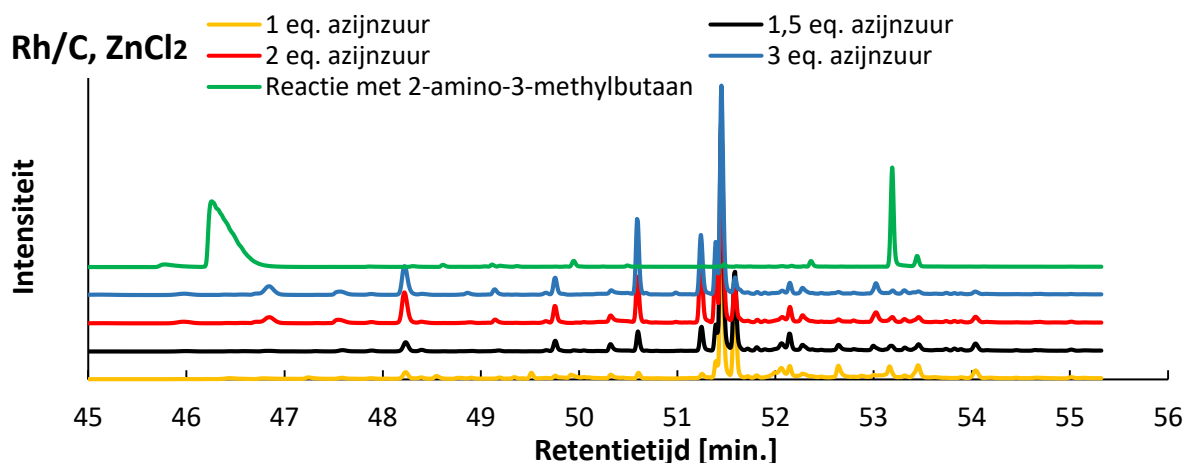
Figuur 36. Poging tot hydrodeoxygenatie met Pt/C en additieven in THF. Condities: L-valinol in THF (0,1 M; 2 ml), Pt/C (5 mol% Pt), zoutadditief (5 mol%); 0,2 mmol *n*-nonaan, H₂ (40 bar; bij 180°C met 30 bar), N₂ (2 bar), 24 uur.

3.3.4.3 Het toevoegen van azijnzuur

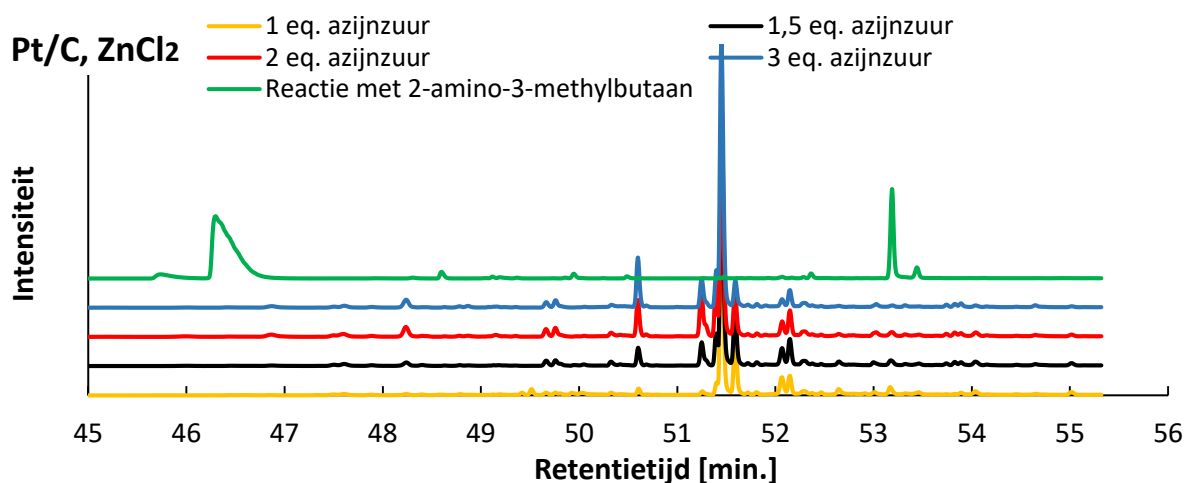
In voorgaande sectie werd aangetoond dat Ru/C in THF eerder aanleiding geeft tot DCO-reacties en in mindere mate tot HDO. Anderzijds heeft Pd/C een vrij hoge selectiviteit voor 2,5-di-isopropylpiperazine. Het mechanisme waarmee dit molecule gevormd wordt, heeft het aminoaldehyde als tussenproduct. De dehydrogenatie van het aminoalcohol naar het aminoaldehyde is ongewenst en kan eveneens aanleiding geven tot DCO. Om die redenen werd er niet verder gewerkt met zowel Ru als Pd in THF.

Van alle niet-geïdentificeerde producten wordt verondersteld dat het secundaire of tertiaire amines zijn. Deze amines worden consecutief gevormd uit primaire amines, uit het aminoalcohol en mogelijk zelfs uit afbraakproducten van het solvent. In een poging om de stabiliteit van de amines te verhogen wordt beroep gedaan op azijnzuur. In het eerste onderzoeksluik werd aangetoond dat de aanwezigheid van fosforzuur de stabiliteit van amines kan verhogen. De amines zijn in dit geval geprotoneerd en voeren geen ongewenste nevenreacties uit (zoals dimerisatiereacties). Reacties werden daarom uitgevoerd bij verschillende concentraties van azijnzuur (figuren 37 en 38). Er werd gewerkt bij 5 mol% ZnCl₂ op 150°C. In voorgaande experimenten werd onder deze condities veel van één (hooguit twee) product(en) gevormd met zo min mogelijk massaverlies (dat volgde uit berekeningen op basis van effectief koolstofnummer). 5 mol% CuSO₄ leidde niet tot voornamelijk één specifiek hoofdproduct, maar tot een grote variatie. Een katalytische reactie uitvoeren bij 180°C leidt verder tot een groter massaverlies.

De reacties met azijnzuur leidden niet tot het gewenste 2-amino-3-methylbutaan. Toch worden andere componenten gevormd dan initieel het geval was. Opnieuw kon niet exact bepaald worden om welke componenten het gaat. Om na te gaan of deze producten consecutief gevormd worden uit 2-amino-3-methylbutaan, werd een reactie uitgevoerd met zijn enantiozuivere *R*-vorm in afwezigheid van azijnzuur. Tegen onze verwachtingen in blijft het amine voor het merendeel intact (retentietijd van 46,3 min.). Dat niet alleen, het amine werd onder deze condities niet geracemiseerd. Ook het nevenproduct, consecutief gevormd uit (*R*)-2-amino-3-methylbutaan, werd niet eerder gedetecteerd (retentietijd van 53,2 min.). De katalysatoren Ru/C, Rh/C, Pd/C en Pt/C, met toegevoegde koper- en zinkadditieven, leiden in THF dus niet tot het gewenste HDO-product. Het uiteindelijk supernatant bestond, na reactie met L-valinol, telkens uit een complex mengsel van niet-geïdentificeerde alcoholen en amines.



Figuur 37. Poging tot hydrodeoxygenatie met Rh/C, 5 mol% ZnCl₂ en azijnzuur in THF. Condities: L-valinol in THF (0,1 M; 2 ml), Rh/C (5 mol% Rh), ZnCl₂ (5 mol%); 0,2 mmol *n*-nonaan, azijnzuur (reactie met (*R*)-2-amino-3-methylbutaan is zonder azijnzuur), H₂ (40 bar), N₂ (2 bar), 150°C, 24 uur.



Figuur 38. Poging tot hydrodeoxygenatie met Pt/C, 5 mol% ZnCl₂ en azijnzuur in THF. Condities: L-valinol in THF (0,1 M; 2 ml), Pt/C (5 mol% Pt), ZnCl₂ (5 mol%); 0,2 mmol *n*-nonaan, azijnzuur (reactie met (*R*)-2-amino-3-methylbutaan is zonder azijnzuur), H₂ (40 bar), N₂ (2 bar), 150°C, 24 uur.

3.3.4.4 Zinkadditieven in water

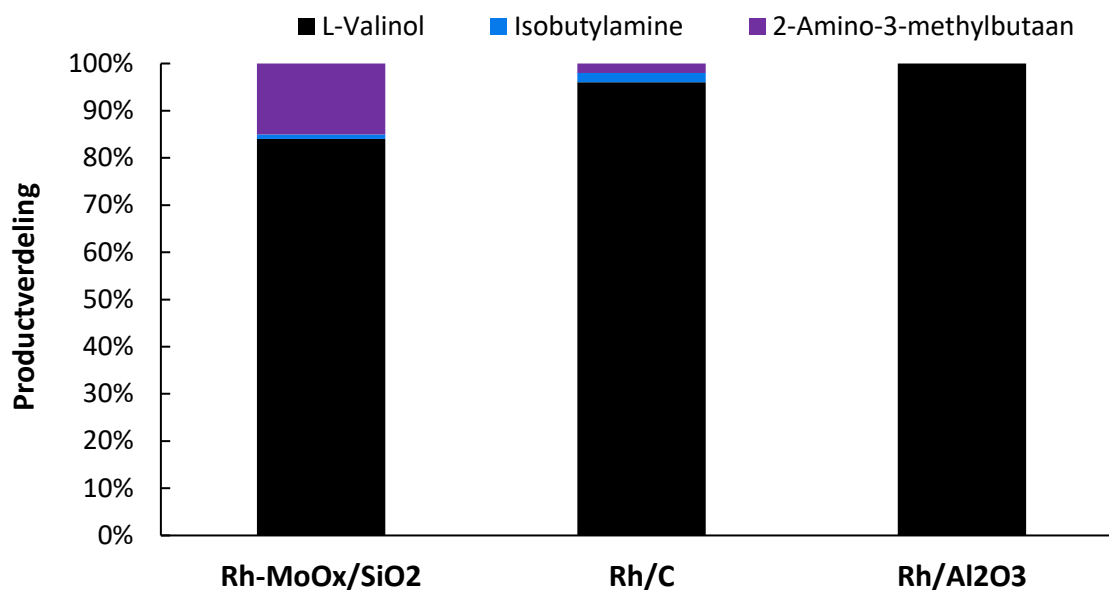
Uit vorige experimenten bleek dat werken in THF geen goed idee is. Er werd terug overgeschakeld naar water als solvent of een 80-20 mengsel THF-water. Reacties werden uitgevoerd met Rh/C en Pt/C, met L-valinol als substraat (0,1 M; 2 ml), 5 mol% ZnCl₂, 2 eq. H₃PO₄, op zowel 150°C als 180°C bij respectievelijk 40 bar en 20 bar H₂ en met een reactietijd van 24 uur. Geen enkele reactie leidde tot het gewenste 2-amino-3-methylbutaan. Voor reacties met Rh/C op 150°C, werd niet meer dan 20% L-valinol omgezet in product. Van de producten kon enkel een deel worden geïdentificeerd als isobutylamine (tot 5%). Het katalytische experiment op 180°C leidde tot een complex mengsel met iets meer isobutylamine (7%, conversie van 80%).

In het geval van Pt werd op 150°C nauwelijks L-valinol omgezet. Ook bij 180°C is er nog 76% valinol over. De katalysator Ru/C werd eveneens getest bij 150°C in een 80-20 mengsel van THF-water. Het resultaat was een complex mengsel met als twee hoofdcomponenten L-valinol en isobutylamine. De activiteit van Ru daalt dus in aanwezigheid van THF. THF zal vermoedelijk interfereren met de adsorptie van het substraat aan het rutheniumoppervlak. Ook verschillende variaties op voorgaande reacties werden uitgevoerd met Pd/C. Deze katalytische experimenten leverden opnieuw geen 2-amino-3-methylbutaan op. De additieven CuSO₄ en ZnCl₂ leiden dus zowel in THF als in water niet tot een verhoogde opbrengst voor de HDO van aminoalcoholen.

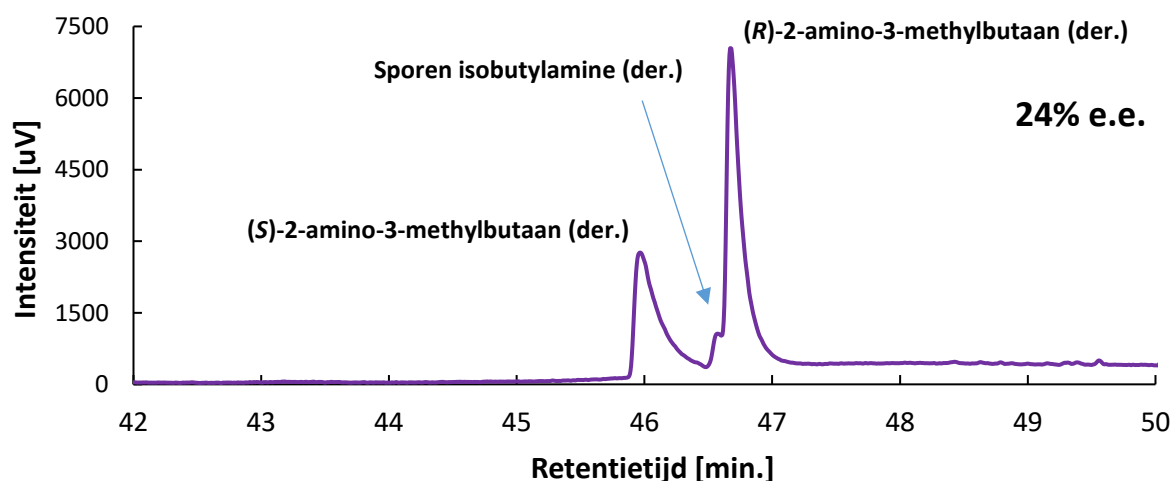
3.3.5 HDO met een Rh-MoO_x-katalysator

In de laatste katalytische experimenten werd beroep gedaan op een Rh-MoO_x-katalysator. In de literatuur werd deze katalysator meermaals beschreven voor de hydrogenatie van aminozuren naar aminoalcoholen en voor de hydrogenolyse van tetrahydrofurfurylalcohol tot 1,5-pentaandiol (Tamura *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2014). De hydrogenatie van aminozuren gebeurt bij lage temperatuur met behoud van het stereocentrum. Een nevenproduct dat bij Tamura *et al.* gedetecteerd werd, is het gehydrodeoxygeneerde amine. Om die reden werd een katalytische reactie uitgevoerd met Rh-MoO_x/SiO₂ bij de beste condities voor Ru/C (zie sectie 3.3.2.2; 0,1 M L-valinol in 2 ml water, 5 mol% Rh, Rh-over-Mo verhouding van 8/1, 3 eq. H₃PO₄, 40 bar H₂, 2 bar N₂, op 120°C en een reactietijd van 24 uur). Ook referentiereacties werden uitgevoerd met Rh/C en Rh/Al₂O₃ (figuur 39).

Na 24 uur bleef bij Rh/Al₂O₃ L-valinol volledig intact. Na een katalytisch experiment met Rh/C werd een conversie gedetecteerd van 4% (2% isobutylamine en 2% 2-amino-3-methylbutaan). De Rh-MoO_x/SiO₂ katalysator bleek veel actiever dan de referenties. Na 24 uur was er een conversie van 16% met een selectiviteit voor 2-amino-3-methylbutaan van maar liefst 94%. Naast deze zeer hoge selectiviteit wordt L-valinol omgezet in (*R*)-2-amino-3-methylbutaan met een enantiomeer exces (e.e.) van 24% (figuur 40). De deoxygenatie vindt dus deels plaats via een directe hydrogenolyse. Aangezien het niet-omgezette L-valinol niet geracemiseerd werd, kan besloten worden dat de hydrogenolyse ook gebeurt op een indirecte manier via een dehydratatie gevolgd door een niet-enantioselectieve hydrogenatie. Ondanks het gerealiseerde e.e. van 24%, blijft een conversie van 16% laag.



Figuur 39. Hydrodeoxygenatie van L-valinol met verschillende Rh-katalysatoren. Condities: L-valinol in water (0,1 M; 2 ml), Rh (5 mol%), molaire Rh-over-Mo verhouding van 8/1, H_3PO_4 (3 eq.), H_2 (40 bar), N_2 (2 bar), 120°C, 24 uur.



Figuur 40. GC-analyse van de hydrodeoxygenatiereactie van L-valinol in water met Rh-MoO_x/SiO₂.

3.3.6 Besluit

Om te concluderen, uit de experimenten blijkt dat katalysatoren op basis van Pd en Pt helemaal niet in staat zijn om aminoalcoholen, en dus ook aminozuren, te deoxygeneren. Katalysatoren op basis van Ru en Rh zijn wel beloftevol. Ru/C blijft de neiging hebben om DCO-reacties uit te voeren. Bij optimale condities (3 eq. H_3PO_4 , 40 bar H_2 , 2 bar N_2 en 120°C) werd na 24 uur een opbrengst van 23% bekomen voor 2-amino-3-methylbutaan, met in theorie een maximale opbrengst van 40%. Rutheniumkatalysatoren met andere dragers zijn ofwel niet zo actief als Ru/C, ofwel niet zo selectief voor HDO. De activiteit van een katalysator en de selectiviteit

voor HDO proberen te verbeteren met koper- en zinkadditieven bleek niet effectief. Noch in water, noch in THF. Reacties in THF leidden telkens tot een complex mengsel van alcoholen en amines. Palladium vormt met relatief hoge selectiviteit het ongewenste 2,5-diisopropylpiperazine (selectiviteit tot 32%). De meest selectieve katalysator voor de HDO van aminoalcoholen, die in dit thesisonderzoek getest werd, is een Rh-MoO_x/SiO₂ katalysator (Rh-over-Mo verhouding van 8/1). Deze katalysator heeft onder de geteste condities een selectiviteit voor 2-amino-3-methylbutaan van 94%. Verder wordt (*R*)-2-amino-3-methylbutaan gevormd met een e.e. van 24%. Hoewel deze katalysator veel actiever is dan Rh/C en Rh/Al₂O₃, werd na een reactietijd van 24 uur onder de geteste condities slechtst 16% L-valinol omgezet. Verder onderzoek met deze katalysator is aangewezen om de conversie en het e.e. te verhogen.

Algemeen besluit

In de productie van chemicaliën en brandstoffen moeten aardolie en -gas geleidelijk aan vervangen worden door hernieuwbare bronnen. Ideale bronnen zijn biomassa (bij voorkeur de fractie die niet geschikt is voor menselijke consumptie), zijstromen van bioraffinaderijen en afvalstromen zoals slachtafval. De productie van chemicaliën uit lignine, polysachariden (waaronder cellulose en hemicellulose), vetten en oliën werd in het verleden al uitvoerig onderzocht. Chemicaliën maken uit de fractie aan proteïnen kreeg tot nu toe veel minder aandacht. Toch heeft deze fractie een enorm potentieel. Proteïnen kunnen gehydrolyseerd worden tot aminozuren. Deze kunnen vervolgens gebruikt worden in de voedingssector of als platformchemicaliën in een biogebaseerde industrie, bijvoorbeeld voor de productie van 100% hernieuwbare primaire amines.

Aminozuren kunnen in amines worden omgevormd via decarboxylatie (DCO) en hydrodeoxygenatie (HDO). De biogebaseerde amines kunnen vervolgens worden gebruikt in de synthese van geneesmiddelen, agrochemicaliën, het vulkaniseren van rubber *etc.* In deze masterproef werd het aminozuur L-valine (of het aminoalcohol L-valinol) gebruikt als modelsubstraat. Uit het gedecarboxyleerde en gehydrodeoxygeneerde product (isobutylamine en 2-amino-3-methylbutaan) kunnen onder meer HIV/AIDS remmers, efficiënte diazoxides (geneesmiddelen tegen alvleesklierziekten) en chemotherapeutische middelen worden gemaakt.

Ru/C is een goede katalysator voor DCO-reacties. L-Valine kon met een opbrengst van 87% worden omgezet in isobutylamine. De ideale condities voor deze omzetting zijn bij 5 mol% Ru; 1,2 eq. H_3PO_4 , 40 bar H_2 , 2 bar N_2 , een reactietemperatuur van 150°C en een reactietijd van 1 uur 20 min. In deze masterproef werd aangetoond dat de DCO van aminozuren met Ru/C plaatsvindt met het aminoalcohol als intermediair. Het aminoalcohol wordt vervolgens omgezet in het amine via een dehydrogenatie-decarbonylatie mechanisme. De uitgestoten CO wordt onmiddellijk omgezet in methaan (CH_4), wat gebruikt kan worden als biogas. De specifieke hoeveelheid fosforzuur is het resultaat van een aantal factoren. Enerzijds moeten amines geprotoneerd zijn opdat ze onder deze condities stabiel zijn in water. Anderzijds versnellen zuren het HDO-mechanisme, waardoor de selectiviteit voor DCO daalt. Een optimum werd vastgesteld bij 1,2 eq. H_3PO_4 .

Alle aminozuren met een eenvoudige alifatische zijketen (glycine, L-alanine, L-valine, L-leucine en L-isoleucine) konden onder deze condities met succes worden gedecarboxyleerd. Slechts een kleine hoeveelheid van het HDO-product werd als nevenreactie gevormd. Ook bijna alle andere aminozuren werden succesvol gedecarboxyleerd. Een bijkomende nevenreactie bij L-proline is de ringopening van pyrrolidine tot *n*-butylamine. Alcoholgroepen (bij L-serine en L-threonine) worden grotendeels verwijderd via hydrogenolyse of via de DCO-route. Typisch voor aromatische aminozuren (L-fenylalanine en L-tyrosine) is dat eerst hun aromatische ring wordt gehydrogeneerd alvorens ze een hydrogenolyse of decarbonylatie ondergaan. De koppels L-glutamine/L-glutaminezuur en L-asparagine/L-asparaginezuur reageren zeer gelijkaardig. Dit komt omdat een amidegroep onder deze condities hydrolyseert tot een carboxylzure groep. L-Glutaminezuur vormt eerst L-pyroglutaminezuur, een ringstructuur, en wordt vervolgens gedecarboxyleerd tot pyrrolidon. Pyrrolidon kan consecutief worden gehydrogeneerd naar pyrrolidine. L-Asparaginezuur is daarentegen te klein om een ringstructuur te vormen. Beide carboxylzure groepen volgen de HDO- of DCO-reactieweg. Ook diverse nevenproducten werden teruggevonden als gevolg van deaminatie. Wat de basische aminozuren betreft, ook L-lysine en L-arginine kunnen gedecarboxyleerd worden, al is de guanidinegroep van L-arginine relatief onstabiel. De enige aminozuren die niet gedecarboxyleerd werden, zijn L-histidine, L-tryptofaan, L-cysteïne en L-methionine. Een poging tot DCO levert bij L-histidine enkel een kleine fractie van het aminoalcohol op. Anderzijds degradeert L-tryptofaan spontaan bij zure condities. De aminozuren L-cysteïne en L-methionine zijn zwavelhoudende aminozuren en adsorberen bij voorkeur met hun zwavelgroep aan het Ru-oppervlak. L-Methionine is hierdoor helemaal niet reactief, terwijl bij L-cysteïne een C-S hydrogenolyse plaatsvindt. Dit resulteert in het aminozuur alanine en het gasvormige H₂S, dat vermoedelijk de Ru-katalysator vergiftigt.

Ru/C is niet alleen actief, maar ook zeer stabiel. Slechts 0,025% Ru gaat verloren na een katalytische reactie. Toch is en blijft Ru een duur edelmetaal. Dit metaal is wel ruwweg een factor 18 goedkoper dan de edelmetalen Rh, Pd en Pt, maar Ni is op haar beurt nog veel goedkoper dan Ru. Daarnaast is Ni in het verleden doeltreffend gebleken in de DCO en HDO van biogebaseerde molecules zoals fenol en vetzuren. Voor de DCO van aminozuren in water bleken Ni-katalysatoren echter niet geschikt. Zelfs gecoat met een beschermende koolstoflaag zijn nikkelnanopartikels niet actief, noch stabiel.

Hydrodeoxygenatie biedt de mogelijkheid om uit aminozuren chirale amines te maken. Indien de HDO plaatsvindt via een directe hydrogenolyse, zijn de gevormde amines enantiozuiver. Bij Ru-gebaseerde katalysatoren vindt de deoxygenatie echter plaats via dehydratatie naar een

enamine. Dit enamine resulteert na hydrogenatie in een racemisch mengsel van amines. Daarnaast kon worden aangetoond dat Ru/C (in tetrahydrofuraan) in staat is om enantiozuivere amines te racemiseren, waardoor de kans op een significant enantiomeer excess (e.e.) bij deze katalysator klein is. Een opbrengst van 23% racemisch 2-amino-3-methylbutaan kon met Ru/C worden bereikt na een reactietijd van 24 uur bij 3 eq. H_3PO_4 , 40 bar H_2 , 2 bar N_2 en 120°C . Bij volledige conversie kan in theorie een maximale opbrengst van 40% 2-amino-3-methylbutaan bekomen worden.

Werken in THF en het toevoegen van additieven (*e.g.* CuSO_4 en ZnCl_2) resulteren niet in een verhoogde selectiviteit voor HDO. In de literatuur kunnen voorbeelden teruggevonden worden waarbij dit wel het geval is. Het enige katalytische systeem dat veelbelovend is, is een Rh-MoO_x/SiO₂ katalysator in water (Rh-over-Mo verhouding van 8/1). Rh-MoO_x/SiO₂ werd getest met L-valinol in water bij 120°C , 3 eq. H_3PO_4 , 40 bar H_2 , 2 bar N_2 en een reactietijd van 24 uur. De katalysator heeft een selectiviteit van 94% voor 2-amino-3-methylbutaan (16% conversie). Daarnaast wordt (*R*)-2-amino-3-methylbutaan gevormd met een e.e. van 24%.

Om te concluderen, in deze masterthesis werd aangetoond dat aminozuren een hernieuwbaar substraat zijn voor de productie van amines. Het voorgestelde DCO-proces met Ru/C is zeer milieuvriendelijk, met water als milieuvriendelijk solvent en waterstofgas als reducerend agens. De gesynthetiseerde amines hebben een behoorlijke vluchtigheid en kunnen in een productieproces uit de waterige fase verwijderd worden via destillatie.

Toekomstperspectief

De hydrodeoxygenatie (HDO) van aminozuren is voorlopig nog geen groot succes. Rh-MoO_x/SiO₂ is wel een veelbelovende katalysator. De katalysator is zeer selectief voor de HDO van L-valinol, maar helaas is Rh-MoO_x/SiO₂ niet zo actief op 120°C. De activiteit kan verhoogd worden door te werken op hogere temperaturen, hoewel dit mogelijk ten koste kan gaan van de selectiviteit voor de HDO-reactieweg en het 24% enantiomeer exces (e.e.) voor (R)-2-amino-3-methylbutaan. Naast experimenten op hogere temperatuur, kan ook de invloed van de toegevoegde hoeveelheid fosforzuur verder onderzocht worden. Een kleine hoeveelheid zuur is vermoedelijk noodzakelijk om de gevormde amines stabiel te houden in water. Anderzijds zal met minder fosforzuur de indirecte hydrogenolyse via dehydratatie benadeeld worden ten opzichte van de directe hydrogenolyse, wat zou resulteren in een hoger e.e. Wanneer de deoxygenatie voornamelijk plaatsvindt via directe hydrogenolyse, zal de reactiesnelheid toenemen met hogere waterstofdruk. Ook dit kan verder onderzocht worden. De beschikbaarheid van waterstof kan eveneens worden opgedreven door te werken in een organisch solvent. Een nadeel is wel dat dit de synthese van chirale amines minder milieuvriendelijk maakt en tetrahydrofuraan is mogelijk niet geschikt als organisch solvent. Rh-MoO_x/SiO₂ is namelijk bekend om zelfs op 120°C gelijkaardige ethers te hydrogenolysen.

Wat de decarboxylatie (DCO) van aminozuren betreft, kunnen bijkomende experimenten uitgevoerd worden met mengsels van aminozuren. De grote moeilijkheid bij de productie van aminozuren via hydrolyse van proteïnen is namelijk het scheidingsproces. Een nauwkeurige scheiding wordt overbodig wanneer mengsels kunnen worden gedecarboxyleerd. De amines kunnen nadien via destillatie eenvoudig van elkaar gescheiden worden. Daarnaast is het eveneens interessant om experimenten uit te voeren in een continu productiesysteem.

Bibliografie

- Adkins, H., & Billica, H. R. (1948). The Hydrogenation of Esters to Alcohols at 25-150°. *Journal of the American Chemical Society*, 70(9), 3121–3125.
- AJINOMOTO Co., I. (2017.). Glycine [online]. Beschikbaar op http://www.ajiaminoscience.com/products/manufactured_products/l-amino_acids/Glycine.aspx [datum van opzoeken: 20/04/2017]
- Al Toma, R. S., Brieke, C., Cryle, M. J., & Süssmuth, R. D. (2015). Structural aspects of phenylglycines, their biosynthesis and occurrence in peptide natural products. *Natural Product Reports*, 32(8), 1207–1235.
- Antons, S., & Beitzke, B. (1995). Process for preparing optically active amino alcohols. United States patent no. US 5 536 879
- Araki, K., & Ozeki, T. (2003). Amino Acids. In *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology* (Vol. 2). Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc.
- Atesin, A. C., Ray, N. A., Stair, P. C., & Marks, T. J. (2012). Etheric C-O bond hydrogenolysis using a tandem lanthanide triflate/supported palladium nanoparticle catalyst system. *Journal of the American Chemical Society*, 134(36), 14682–14685.
- Axelsson, L., Franzén, M., Ostwald, M., Berndes, G., Lakshmi, G., & Ravindranath, N. H. (2012). Perspective: Jatropha cultivation in southern India: Assessing farmers' experiences. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 6(3), 246–256.
- Babij, N. R., McCusker, E. O., Whiteker, G. T., Canturk, B., Choy, N., Creemer, L. C., De Amicis, C. V., Hewlett, N. M., Johnson, P. L., Knobelsdorf, J. A., Li, F., Lorschach, B. A., Nugent, B. M., Ryan, S. J., Smith, M. R., Yang, Q. (2016). NMR chemical shifts of trace impurities: industrially preferred solvents used in process and green chemistry. *Organic Process Research & Development*, 20, 661–667
- Bals, B., Teachworth, L., Dale, B., & Balan, V. (2007). Extraction of proteins from switchgrass using aqueous ammonia within an integrated biorefinery. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 143(2), 187–198.
- Becker, J., Zelder, O., Häfner, S., Schröder, H., & Wittmann, C. (2011). From zero to hero-Design-based systems metabolic engineering of *Corynebacterium glutamicum* for L-lysine production. *Metabolic Engineering*, 13(2), 159–168.
- Blaser, H.-U., Buser, H.-P., Jalett, H.-P., Pugin, B., & Spindler, F. (1999). Iridium Ferrocenyl Diphosphine Catalyzed Enantioselective Reductive Alkylation of a Hindered Aniline. *Synlett*, (S1), 867–868.

- Bloom, J. D., Dutia, M. D., Johnson, B. D., Wissner, A., Burns, M. G., Largis, E. E., Dolan, J. A., Claus, T. H. (1992). Disodium (R,R)-5-[2-[[2-(3-chlorophenyl)-2-hydroxyethyl]amino]propyl]-1,3-benzodioxole-2,2-dicarboxylate (CL 316,243). A potent β -adrenergic agonist virtually specific for β_3 receptors. A promising antidiabetic and antiobesity agent. *Journal of Medicinal Chemistry*, 35(16), 3081–3084.
- Brazilian Sugarcane Industry Association (UNICA). (2016). *UNICA's Comments on "Renewable Fuel Standard Program: Standards for 2017 and Biomass-Based Diesel Volume for 2018; Proposed Rule."*
- Breuer, M., Ditrich, K., Habicher, T., Hauer, B., Keßeler, M., Stürmer, R., & Zelinski, T. (2004). Industrial methods for the production of optically active intermediates. *Angewandte Chemie - International Edition*, 43(7), 788–824.
- Burkovski, A., & Krämer, R. (2002). Bacterial amino acid transport proteins: Occurrence, functions, and significance for biotechnological applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 58(3), 265–274.
- Cadot, S., Rameau, N., Mangematin, S., Pinel, C., & Djakovitch, L. (2014). Preparation of functional styrenes from biosourced carboxylic acids by copper catalyzed decarboxylation in PEG. *Green Chemistry*, 16(6), 3089.
- Chang, M., Liu, S., Huang, K., & Zhang, X. (2013). Direct Catalytic Asymmetric Reductive Amination of Simple Aromatic Ketones, *Organic Letters*, 15(17), 4354–4357
- Chen, J., & Xu, Q. (2016). Hydrodeoxygenation of Biodiesel-Related Fatty Acid Methyl Esters to Diesel-Range Alkanes over Zeolite-Supported Ruthenium Catalysts. *Catalysis Science & Technology*, 6, 27–34.
- Chen, Z., Bommarreddy, R. R., Frank, D., Rappert, S., & Zeng, A. P. (2014). Dereglulation of feedback inhibition of phosphoenolpyruvate carboxylase for improved lysine production in *Corynebacterium glutamicum*. *Applied and Environmental Microbiology*, 80(4), 1388–1393.
- Chiesa, S., & Gnansounou, E. (2011). Protein extraction from biomass in a bioethanol refinery - Possible dietary applications: Use as animal feed and potential extension to human consumption. *Bioresource Technology*, 102(2), 427–436.
- Claes, L., Verduyck, J., Stassen, I., Lagrain, B., & De Vos, D. E. (2015). Ruthenium-catalyzed aerobic oxidative decarboxylation of amino acids: a green, zero-waste route to biobased nitriles. *Chemical Communications*, 51(30), 6528–6531.
- Dacam. (2015). Vinasse [online]. Beschikbaar op <http://www.dacam.nl/vinasse.html> [datum van opzoeken: 26/12/2016]
- De, S., Saha, B., & Luque, R. (2015). Hydrodeoxygenation processes: Advances on catalytic transformations of biomass-derived platform chemicals into hydrocarbon fuels. *Bioresource Technology*, 178, 108–118.

- Deepchand, K. (1985). System for the production of electricity, leaf protein and single cell protein from sugar cane tops and leaves. *Solar Energy*, 35(6), 477–482.
- Demain, A. L. (2007). The business of biotechnology. *Industrial Biotechnology*, 3(3), 269–283.
- Derrah, E. J., Hanauer, M., Plessow, P. N., Schelwies, M., Da Silva, M. K., & Schaub, T. (2015). Ru(II)-triphos catalyzed amination of alcohols with ammonia via ionic species. *Organometallics*, 34(10), 1872–1881.
- Ding, R., Wu, Y., Chen, Y., Liang, J., Liu, J., & Yang, M. (2015). Effective hydrodeoxygenation of palmitic acid to diesel-like hydrocarbons over MoO₂/CNTs catalyst. *Chemical Engineering Science*, 135, 517–525.
- Dub, P. A., & Ikariya, T. (2012). Catalytic reductive transformations of carboxylic and carbonic acid derivatives using molecular hydrogen. *ACS Catalysis*, 2(8), 1718–1741.
- Duri, S., & Tran, C. D. (2014). Enantiomeric selective adsorption of amino acid by polysaccharide composite materials. *Langmuir*, 30(2), 642–650.
- Dymicky, M. (1976). *N*-acetyl-L-tyrosine ethyl ester. *Organic Preparations and Procedures International*, 8(5), 219–222.
- Eberhardt, D., Jensen, J. V. K., & Wendisch, V. F. (2014). L-citrulline production by metabolically engineered *Corynebacterium glutamicum* from glucose and alternative carbon sources. *AMB Express*, 4(1), 1–9.
- Esteban, M. B., García, A. J., Ramos, P., & Márquez, M. C. (2010). Sub-critical water hydrolysis of hog hair for amino acid production. *Bioresource Technology*, 101(7), 2472–2476.
- Foti, M., Médici, R., & Ruijsenaars, H. J. (2013). Biological production of monoethanolamine by engineered *Pseudomonas putida* S12. *Journal of Biotechnology*, 167(3), 344–349.
- Fountoulakis, M., & Lahm, H.-W. (1998). Hydrolysis and amino acid composition analysis of proteins. *Journal of Chromatography A*, 826(2), 109–134.
- Froidevaux, V., Negrell, C., Caillol, S., Pascault, J. P., & Boutevin, B. (2016). Biobased Amines: From Synthesis to Polymers; Present and Future. *Chemical Reviews*, 116(22), 14181–14224.
- Fu, Y., Guo, X.-X., Zhu, S.-F., Hu, A.-G., Xie, J.-H., & Zhou, Q.-L. (2004). Rhodium-Catalyzed Asymmetric Hydrogenation of Functionalized Olefins Using Monodentate Spiro Phosphoramidite Ligands. *The Journal of Organic Chemistry*, 69(14).
- Gao, X., Ma, Q., & Zhu, H. (2015). Distribution, industrial applications, and enzymatic synthesis of d-amino acids. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 99(8).
- Georgi, T., Rittmann, D., & Wendisch, V. F. (2005). Lysine and glutamate production by *Corynebacterium glutamicum* on glucose, fructose and sucrose: Roles of malic enzyme and fructose-1,6-bisphosphatase. *Metabolic Engineering*, 7(4), 291–301.

- Gheshlaghi, R., Scharer, J. M., Moo-Young, M., & Douglas, P. L. (2008). Application of statistical design for the optimization of amino acid separation by reverse-phase HPLC. *Analytical Biochemistry*, 383(1), 93–102.
- Grainger, D. M., Zanotti-Gerosa, A., Cole, K. P., Mitchell, D., May, S. A., Pollock, P. M., & Calvin, J. R. (2013). Development of a Stepwise Reductive Deoxygenation Process by Ru-Catalysed Homogeneous Ketone Reduction and Pd-Catalysed Hydrogenolysis in the Presence of Cu Salts. *ChemCatChem*, 5(5), 1205–1210.
- Grand View Research. (2015). *Amino Acids Market By Product, By Source, By Application And Segment Forecasts To 2022*. 273p.
- Gunanathan, C., & Milstein, D. (2008). Selective synthesis of primary amines directly from alcohols and ammonia. *Angewandte Chemie - International Edition*, 47(45), 8661–8664.
- Hamid, M. H. S. A., Slatford, P. A., & Williams, J. M. J. (2007). Borrowing hydrogen in the activation of alcohols. *Advanced Synthesis and Catalysis*, 349(10), 1555–1575.
- Han, J., Cao, R. W., Chen, B., Ye, L., Zhang, A. Y., Zhang, J., & Feng, Z. G. (2011). Electrospinning and biocompatibility evaluation of biodegradable polyurethanes based on L -lysine diisocyanate and L -lysine chain extender. *Journal of Biomedical Materials Research - Part A*, 96 A(4), 705–714.
- He, Z., & Wang, X. (2012). Hydrodeoxygenation of model compounds and catalytic systems for pyrolysis bio-oils upgrading. *Catalysis for Sustainable Energy, Versita*, 1, 28–52.
- Hideaki, Y. (2013). *Corynebacterium glutamicum*. (H. Yukawa & M. Inui, Eds.) (Vol. 23). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- Holladay, J. E., Werpy, T. A., & Muzatko, D. S. (2004). Catalytic Hydrogenation of Glutamic Acid. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 115(1–3), 0857–0870.
- Huang, H., Liu, X., Zhou, L., Chang, M., & Zhang, X. (2016). Direct Asymmetric Reductive Amination for the Synthesis of Chiral β -Arylamines. *Angewandte Chemie - International Edition*, 55(17), 5309–5312.
- Huber, G. W., Shabaker, J. W., Evans, S. T., & Dumesic, J. A. (2006). Aqueous-phase reforming of ethylene glycol over supported Pt and Pd bimetallic catalysts. *Applied Catalysis B: Environmental*, 62(3–4), 226–235.
- Jensen, J. V. K., Eberhardt, D., & Wendisch, V. F. (2015). Modular pathway engineering of *Corynebacterium glutamicum* for production of the glutamate-derived compounds ornithine, proline, putrescine, citrulline, and arginine. *Journal of Biotechnology*, 214, 85–94.
- Jensen, J. V. K., & Wendisch, V. F. (2013). Ornithine cyclodeaminase-based proline production by *Corynebacterium glutamicum*. *Microbial Cell Factories*, 12(1), 63.

- Jia, X., Guo, R., Li, X., & Chan, A. S. C. (2002). Highly enantioselective hydrogenation of enamides catalyzed by rhodium – monodentate phosphoramidite complex, *Tetrahedron Letters*, 43(32), 5541–5544.
- Jia, X., Li, X., Xu, L., Shi, Q., Yao, X., & Chan, A. S. C. (2003). Highly efficient rhodium/monodentate phosphoramidite catalyst and its application in the enantioselective hydrogenation of enamides and alfa-dehydroamino acid derivatives. *Journal of Organic Chemistry*, 68(11), 4539–4541.
- Kalutharage, N., & Yi, C. S. (2015). Scope and Mechanistic Analysis for Chemoselective Hydrogenolysis of Carbonyl Compounds Catalyzed by a Cationic Ruthenium Hydride Complex with a Tunable Phenol Ligand. *Journal of the American Chemical Society*, 137(34), 11105–11114.
- Kasakov, S., Zhao, C., Baráth, E., Chase, Z. A., Fulton, J. L., Camaioni, D. M., Vjunov, A., Shi, H., Lercher, J. A. (2015). Glucose- and cellulose-derived Ni/C-SO₃H catalysts for liquid phase phenol hydrodeoxygenation. *Chemistry – A European Journal*, 21(4), 1567–1577.
- Katryniok, B., Paul, S., Belliere-Baca, V., Rey, P., & Dumeignil, F. (2010). Glycerol dehydration to acrolein in the context of new uses of glycerol. *Green Chemistry*, 12(12), 2079–2098.
- Kattan Rendi, O. M., Gironès, M., & Nijmeijer, K. (2013). Separation of complex mixtures of amino acids for biorefinery applications using electrodialysis. *Journal of Membrane Science*, 429, 338–348.
- Kawakita, T. (2000). L-Monosodium Glutamate(MSG). In *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology* (pp. 1–8). Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc.
- Khelili, S., de Tullio, P., Lebrun, P., Fillet, M., Antoine, M.-H., Ouedraogo, R., Dupont, L., Fontaine, J., Felekidis, A., Leclerc, G., Delarge, J., Pirotte, B. (1999). Preparation and pharmacological evaluation of the R- and S-enantiomers of 3-(2'-butylamino)-4H- and 3-(3'-methyl-2'-butylamino)-4H-pyrido[4,3-e]-1,2,4-thiadiazine 1,1-dioxide, two tissue selective ATP-sensitive potassium channel openers. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 7(8), 1513–1520.
- Kim, S. Y., Lee, J., & Lee, S. Y. (2015). Metabolic engineering of *Corynebacterium glutamicum* for the production of L-ornithine. *Biotechnology and Bioengineering*, 112(2), 416–421.
- Kohn, H., Iwakuma, T., & Yamada, K. (1998). A Simple and Efficient Procedure for the Synthesis of Optically Active 4-Methoxy- α -Methylphenylethylamine from Tyrosine. *Synthetic Communications*, 28(11), 1935–1945.
- Kondamudi, N., Strull, J., Misra, M., & Mohapatra, S. K. (2009). A green process for producing biodiesel from feather meal. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(14), 6163–6166.

- Kumagai, H. (2013). Amino acid production. In *The Prokaryotes*. (E. Rosenberg, E. F. DeLong, S. Lory, E. Stackebrandt, & F. Thompson, Eds.). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. 169-179
- Lammens, T. M., Franssen, M. C. R., Scott, E. L., & Sanders, J. P. M. (2012). Availability of protein-derived amino acids as feedstock for the production of bio-based chemicals. *Biomass and Bioenergy*, 44, 168–181.
- Lee, J., Kim, Y. T., & Huber, G. W. (2014). Aqueous-phase hydrogenation and hydrodeoxygenation of biomass-derived oxygenates with bimetallic catalysts. *Green Chemistry*, 16(2), 708.
- Lestari, S., Mäki-Arvela, P., Beltramini, J., Lu, G. Q. M., & Murzin, D. Y. (2009). Transforming triglycerides and fatty acids into biofuels. *ChemSusChem*, 2(12), 1109–1119.
- Lin, X., Pan, J., Zhou, M., Xu, Y., Lin, J., Shen, J., Gao, C., Van Der Bruggen, B. (2016). Extraction of Amphoteric Amino Acid by Bipolar Membrane Electrodialysis: Methionine Acid as a Case Study. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 55(10), 2813–2820.
- Liu, C., Sun, J., Brown, H. M., Marin-Flores, O. G., Bays, J. T., Karim, A. M., & Wang, Y. (2016). Aqueous phase hydrodeoxygenation of polyols over Pd/WO₃-ZrO₂: Role of Pd-WO₃ interaction and hydrodeoxygenation pathway. *Catalysis Today*, 269, 103–109.
- Marshall, R. C., & Gillespie, J. M. (1977). The keratin proteins of wool, horn and hoof from sheep. *Australian Journal of Biological Sciences*, 30(5), 389–400.
- Martínez-Rodríguez, S., Martínez-Gómez, A. I., Rodríguez-Vico, F., Clemente-Jiménez, J. M., & Las Heras-Vázquez, F. J. (2010). Natural occurrence and industrial applications of D-amino acids: An overview. *Chemistry and Biodiversity*, 7(6), 1531–1548.
- Maskaľová, I., Vajda, V., Krempaský, M., & Bujňák, L. (2014). Rumen degradability and ileal digestibility of proteins and amino acids of feedstuffs for cows. *Acta Veterinaria Brno*, 83(3), 225–231.
- Médici, R., de María, P. D., Otten, L. G., & Straathof, A. J. J. (2011). A High-Throughput Screening Assay for Amino Acid Decarboxylase Activity. *Advanced Synthesis & Catalysis*, 353(13), 2369–2376.
- Minard, T. A., Oswin, C. T., Waldie, F. D. C., Howell, J. K., Scott, B. M. T., Mondo, D. Di, Sullivan, R. J., Stein, B., Jennings, M., Schlaf, M. (2016). In situ generation of water-stable and -soluble ruthenium complexes of pyridine-based chelate-ligands and their use for the hydrodeoxygenation of biomass-related substrates in aqueous acidic medium. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 422, 175–187.
- Mortensen, P. M., Grunwaldt, J. D., Jensen, P. A., & Jensen, A. D. (2016). Influence on nickel particle size on the hydrodeoxygenation of phenol over Ni/SiO₂. *Catalysis Today*, 259, 277–284.

- Nishimura, S. (2001). *Handbook of Heterogeneous Catalytic Hydrogenation for Organic Synthesis. Organic Process Research & Development*. New York: John Wiley & Sons, Inc.
- Nugent, T. C., & El-Shazly, M. (2010). Chiral amine synthesis - Recent developments and trends for enamide reduction, reductive amination, and imine reduction. *Advanced Synthesis and Catalysis*, 352(5), 753–819.
- Ohta, T., Suzuki, S., Tödö, M., & Kurechi, T. (1981). The Decomposition of Tryptophan in Acid Solutions, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 29(6), 1767-1771.
- Ota, N., Tamura, M., Nakagawa, Y., Okumura, K., & Tomishige, K. (2015). Hydrodeoxygenation of vicinal OH groups over heterogeneous rhenium catalyst promoted by palladium and ceria support. *Angewandte Chemie - International Edition*, 54(6), 1897–1900.
- Pablo, Ó., Guijarro, D., & Yus, M. (2012). Chiral β -Amino Alcohols as Ligands for the Ruthenium-Catalyzed Asymmetric Transfer Hydrogenation of N-Phosphinyl Ketimines. *Applied Sciences*, 2(1), 1–12.
- Pálovics, E., Faigl, F., & Fogassy, E. (2012). Separation of the Mixtures of Chiral Compounds by Crystallization. In *Advances in Crystallization Processes*, 1–38
- Panagiotopoulou, P., Martin, N., & Vlachos, D. G. (2014). Effect of hydrogen donor on liquid phase catalytic transfer hydrogenation of furfural over a Ru/RuO₂/C catalyst. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 392, 223–228.
- Pappas, P. G., & Melville, J. B. (1992). Catalyzed gas-phase mono N-alkylation of aromatic primary amines. United States patent no. US 5 159 115
- Park, S. H., Kim, H. U., Kim, T. Y., Park, J. S., Kim, S.-S., & Lee, S. Y. (2014). Metabolic engineering of *Corynebacterium glutamicum* for L-arginine production. *Nature Communications*, 5, 366–375.
- Parsell, T. H., Owen, B. C., Klein, I., Jarrell, T. M., Marcum, C. L., Hauptert, L. J., Amundson, L. M., Kenttämää, H. I., Ribeiro, F., Miller, J. T., Abu-Omar, M. M. (2013). Cleavage and hydrodeoxygenation (HDO) of C–O bonds relevant to lignin conversion using Pd/Zn synergistic catalysis. *Chemical Science*, 4(2), 806.
- Pfefferle, W., Möckel, B., Bathe, B., & Marx, A. (2003). Biotechnological Manufacture of Lysine. In *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnologie*, 79, 59–112. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- Pimparkar, K. P., Miller, D. J., & Jackson, J. E. (2008). Hydrogenation of Amino Acid Mixtures to Amino Alcohols. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 47(20), 7648–7653.
- Powell, J. B., & Langer, S. H. (1985). Low-temperature methanation and Fischer-Tropsch activity over supported ruthenium, nickel, and cobalt catalysts. *Journal of Catalysis*, 94(2), 566–569.

- Prakash Rao, H. S., Rafi, S., & Padmavathy, K. (2008). The Blaise reaction. *Tetrahedron*, 64(35), 8037–8043.
- Quagliato, D. a, Andrae, P. M., & Matelan, E. M. (2000). Efficient procedure for the reduction of alpha-amino acids to enantiomerically pure alpha-methylamines. *The Journal of Organic Chemistry*, 65(16), 5037–5042.
- Rajski, R. S. & Mays, J. R. (2013). Isothiocyanates and glucosinolate compounds and anti-tumor compositions containing same. United States patent no. US 2013/0116203 A1
- Roose, P., Eller, K., Henkes, E., Rossbacher, R., & Höke, H. (2015). Amines, Aliphatic. In *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*. 1–55. Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.
- Rozmyslowicz, B. (2014). Deoxygenation of fatty acids for production of fuels and chemicals. Ph.D.thesis. Åbo Akademi University. Finland. 52p.
- Ruiz, A. G., Gonzalez, J. D. L., & Ramos, I. R. (1984). Metal Dispersion Effects on CO Hydrogenation over Ru/Graphitized Carbon Black Catalysts. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*, (24), 1681–1682.
- Saha, B., Bohn, C. M., & Abu-Omar, M. M. (2014). Zinc-assisted hydrodeoxygenation of biomass-derived 5-hydroxymethylfurfural to 2,5-Dimethylfuran. *ChemSusChem*, 7(11), 3095–3101.
- Sanders, J. P. M., Clark, J. H., Harmsen, G. J., Heeres, H. J., Heijnen, J. J., Kersten, S. R. A., van Swaaij, W. P. M., Moulijn, J. A. (2012). Process intensification in the future production of base chemicals from biomass. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 51, 117–136.
- Sano, C. (2009). History of glutamate production. *American Journal of Clinical Nutrition*, 90(3), 728–732.
- Schäfer, K. (1997). Determination of the amino acid tryptophan in protein fibres. *Journal of the Society of Dyers and Colourists*, 113(10), 275–280.
- Schneider, J., Niermann, K., & Wendisch, V. F. (2011). Production of the amino acids l-glutamate, l-lysine, l-ornithine and l-arginine from arabinose by recombinant *Corynebacterium glutamicum*. *Journal of Biotechnology*, 154(2–3), 191–198.
- Schreiber, M., Rodriguez Niño, D., Gutiérrez, O. Y., & Lercher, J. (2016). Hydrodeoxygenation of fatty acid esters catalyzed by Ni on nano-sized MFI type zeolites. *Catalysis Science & Technology*, 6, 7976–7984.
- Scott, E., Peter, F., & Sanders, J. (2007). Biomass in the manufacture of industrial products-the use of proteins and amino acids. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 75(4), 751–762.
- Serizawa, T., Sawada, T., & Wada, M. (2013). Chirality-specific hydrolysis of amino acid substrates by cellulose nanofibers. *Chemical Communications*, 49(78), 8827–8829.

- Shi, Z., Zhang, S., Xiao, X., Mao, D., & Lu, G. (2015). A highly effective and stable CuZn_{0.3}Mg_xAlO_y catalyst for the manufacture of chiral L-phenylalaninol: the role of Mg and its hydrotalcite-like precursor. *Catalysis Science & Technology*, 6, 3457–3467
- Sigma Aldrich. (2017). Activated Carbon [online]. Beschikbaar op: <http://www.sigmaaldrich.com/chemistry/chemical-synthesis/learning-center/technical-bulletins/al-1430/activated-carbon.html> [datum van opzoeken: 21/03/2017]
- Steinhuebel, D., Sun, Y., Matsumura, K., Sayo, N., & Saito, T. (2009). Direct asymmetric reductive amination. *Journal of the American Chemical Society*, 131(32), 11316–11317.
- Steinle, A., & Steinbüchel, A. (2010). Establishment of a simple and effective isolation method for cyanophycin from recombinant *Saccharomyces cerevisiae*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 85(5), 1393–1399.
- Stenberg, M., Marko-Varga, G., & Öste, R. (2001). Racemization of amino acids during classical and microwave oven hydrolysis - Application to aspartame and a Maillard reaction system. *Food Chemistry*, 74(2), 217–224.
- Straathof, A. J. J. (2014). Transformation of biomass into commodity chemicals using enzymes or cells. *Chemical Reviews*, 114(3), 1871–1908.
- Strotman, N. A., Baxter, C. A., Brands, K. M. J., Cleator, E., Krska, S. W., Reamer, R. A., Wallace, D. J., Wright, T. J. (2011). Reaction development and mechanistic study of a ruthenium catalyzed intramolecular asymmetric reductive amination en route to the dual orexin inhibitor suvorexant (MK-4305). *Journal of the American Chemical Society*, 133(21), 8362–8371.
- Stückenschneider, K., Merz, J., Hanke, F., Rozyczko, P., Milman, V., & Schembecker, G. (2013). Amino-acid adsorption in MFI-type zeolites enabled by the pH-dependent ability to displace water. *Journal of Physical Chemistry C*, 117(37), 18927–18935.
- Sullivan, R. J., Latifi, E., Chung, B. K. M., Soldatov, D. V., & Schlaf, M. (2014). Hydrodeoxygenation of 2,5-hexanedione and 2,5-dimethylfuran by water-, air-, and acid-stable homogeneous ruthenium and iridium catalysts. *ACS Catalysis*, 4(11), 4116–4128.
- Sun, B., & Süss-fink, G. (2015). Ruthenium-catalyzed hydrogenation of aromatic amino acids in aqueous solution, *Journal of Organometallic Chemistry*, 812, 81–86.
- Tamura, M., Tamura, R., Takeda, Y., Nakagawa, Y., & Tomishige, K. (2014). Catalytic hydrogenation of amino acids to amino alcohols with complete retention of configuration. *Chemical Communications*, 50(50), 6656–6659.
- Tamura, M., Tamura, R., Takeda, Y., Nakagawa, Y., & Tomishige, K. (2015). Insight into the mechanism of hydrogenation of amino acids to amino alcohols catalyzed by a heterogeneous MoO(x)-modified Rh catalyst. *Chemistry – A European Journal*, 21(7), 3097–3107.

- Teng, Y., Scott, E. L., van Zeeland, A. N. T., & Sanders, J. P. M. (2011). The use of L-lysine decarboxylase as a means to separate amino acids by electrodialysis. *Green Chemistry*, 13(3), 624.
- Teng, Y., Scott, E. L., Witte-van Dijk, S. C. M., & Sanders, J. P. M. (2016). Simultaneous and selective decarboxylation of l-serine and deamination of L-phenylalanine in an amino acid mixture-a means of separating amino acids for synthesizing biobased chemicals. *New Biotechnology*, 33(1), 171–178.
- Timmer, J. M. K., Speelmans, M. P. J., & Van Der Horst, H. C. (1998). Separation of amino acids by nanofiltration and ultrafiltration membranes. *Separation and Purification Technology*, 14(1–3), 133–144.
- Tuck, C. O., Perez, E., Horvath, I. T., Sheldon, R. a., & Poliakoff, M. (2012). Valorization of Biomass: Deriving More Value from Waste. *Science*, 337(6095), 695–699.
- USDA. (2014). Livestock, Poultry & Grain Market News [online]. Beschikbaar op: <https://www.ams.usda.gov/> [datum van opzoeken: 26/11/2016]
- USDA. (2016). Supply and use: Soybeans, soybean meal, and soybean oil, U.S., major foreign exporters, importers, and world [online]. Beschikbaar op: <https://www.ers.usda.gov/data-products/oil-crops-yearbook.aspx> [datum van opzoeken: 25/11/2016]
- Verduyckt, J., Coeck, R., & De Vos, D. E. (2017). Ru-Catalyzed Hydrogenation–Decarbonylation of Amino Acids to Bio-based Primary Amines. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 5(4), 3290–3295.
- Verduyckt, J., Van Hoof, M., De Schouwer, F., Wolberg, M., Kurttepli, M., Eloy, P., Gaigneaux, E. M., Bals, S., Kirschhock, C. E. A., De Vos, D. E. (2016). PdPb-Catalyzed Decarboxylation of Proline to Pyrrolidine: Highly Selective Formation of a Biobased Amine in Water. *ACS Catalysis*, 6(11), 7303–7310.
- Wang, L., Ye, P., Yuan, F., Li, S., & Ye, Z. (2015). Liquid phase in-situ hydrodeoxygenation of bio-derived phenol over Raney Ni and Nafion/SiO₂. *International Journal of Hydrogen Energy*, 40(43), 14790–14797.
- Wang, Z., Pholjaroen, B., Li, M., Dong, W., Li, N., Wang, A., Cong, Y., Zhang, T. (2014). Chemoselective hydrogenolysis of tetrahydrofurfuryl alcohol to 1, 5-pentanediol over Ir-MoOx/SiO₂ catalyst. *Journal of Energy Chemistry*, 23(4), 427–434.
- Weiss, M., Manneberg, M., Juranville, J. F., Lahm, H. W., & Fountoulakis, M. (1998). Effect of the hydrolysis method on the determination of the amino acid composition of proteins. *Journal of Chromatography. A*, 795(2), 263–75.
- Wendisch, V. F. (2007). *Amino acid biosynthesis - Pathways, regulation and metabolic engineering*. (D. Schüler, Ed.) (Vol. 3). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- Wendisch, V. F. (2014). Microbial production of amino acids and derived chemicals: Synthetic biology approaches to strain development. *Current Opinion in Biotechnology*, 30, 51–58.

- Wendisch, V. F., Jorge, J. M. P., Pérez-García, F., & Sgobba, E. (2016). Updates on industrial production of amino acids using *Corynebacterium glutamicum*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 32(6).
- Weng, Y., Wang, T., Qiu, S., Wang, C., Ma, L., Zhang, Q., Chen, L., Li, Y., Sun, F., Zhang, Q. (2017). Aqueous-Phase Hydrodeoxygenation of Biomass Sugar Alcohol into Renewable Alkanes over a Carbon-Supported Ruthenium with Phosphoric Acid Catalytic System. *ChemCatChem*, 9(5), 774–781.
- Widyarani, Bowden, N. A., Kolfshoten, R. C., Sanders, J. P. M., & Bruins, M. E. (2016). Fractional Precipitation of Amino Acids from Agro-industrial Residues Using Ethanol. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 55(27), 7462–7472.
- Wigerinck, P. T. B. P., Surleraux, D. L. N. G, Verschueren, W. G., De Kock, H. A., Aelterman, W.A.A. (2013). hexahydrofuro[2,3-b]furan-3-yl(1S,2R)-3-[[4-aminophenyl)sulfonyl] (isobutyl)amino]-1-benzyl-2-hydroxypropylcarbamate. United States patent no. US 8 580 981 B2
- Willke, T. (2014). Methionine production - a critical review. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98(24), 9893–9914.
- Wöltinger, J., Karau, A., Leuchtenberger, W., & Drauz, K. (2005). Membrane reactors at Degussa. *Advances in Biochemical Engineering/biotechnology*, 92, 289–316.
- Zhang, F., Pai, C., & Chan, A. S. C. (1998). Asymmetric Synthesis of Chiral Amine Derivatives through Enantioselective Hydrogenation with a Highly Effective Rhodium Catalyst Containing a Chiral Bisaminophosphine Ligand. *Journal of the American Chemical Society*, 120(23), 5808–5809.
- Zhou, K., Qiao, K., Edgar, S., & Stephanopoulos, G. (2015). Distributing a metabolic pathway among a microbial consortium enhances production of natural products. *Nature Biotechnology*, 33(4), 377–383.
- Zhou, L. B., & Zeng, A. P. (2015). Exploring Lysine Riboswitch for Metabolic Flux Control and Improvement of L-Lysine Synthesis in *Corynebacterium glutamicum*. *ACS Synthetic Biology*, 4(6), 729–734.

Bijlage A

Lijst met producten

Product	Firma	Zuiverheid [%]
L-Alanine	Janssen Chimica	99
2-Amino-3-methyl-butaan	Sigma-Aldrich	≥ 97
L-(+)-Arginine	Janssen Chimica	98+
L-Asparagine	Sigma-Aldrich	≥ 98
L-Asparaginezuur, mononatriumzout (monohydraat)	Sigma-Aldrich	≥ 98
Azijnzuur	VWR	100
Azijnzuuranhydride	Fluka	≥ 99
Benzylalcohol	Sigma-Aldrich	≥ 99
L-Cysteïne	Sigma-Aldrich	97
Deuteriumoxide	Sigma-Aldrich	99,9
Diethylether	Sigma-Aldrich	≥ 99,8
L-Fenylalanine	Acros	98,5+
L-(+)-Glutamine	Janssen Chimica	99
L-Glutaminezuur, mononatriumzout (monohydraat)	Sigma-Aldrich	≥ 98
Glycine	Sigma-Aldrich	≥ 98,5
L-Histidine	Acros	98
Hydrochloride	Fisher Scientific	37
L-Isoleucine	Sigma-Aldrich	≥ 98
Kopersulfaat pentahydraat	Merck	> 99
L-Leucine	Acros	99
L-Lysine monohydrochloride	Sigma-Aldrich	≥ 98
L-Methionine	Sigma-Aldrich	≥ 99,5
Natriumhydroxide	Fisher Scientific	99,1
Nikkel gecoat met koolstof (96 wt% Ni)	US Res. Nanomaterials	-

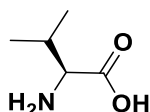
Product	Firma	Zuiverheid [%]
Nikkel op silica-alumina (65 wt% Ni)	Sigma-Aldrich	-
Nikkel op zirkonia (5 wt% Ni)	COK	-
<i>n</i> -Nonaan	Acros	99
Orthofosforzuur (85% in water)	VWR	-
Palladium op alumina (5 wt% Ru)	Alfa Aesar	-
Palladium op koolstof (5 wt% Rh)	Johnsen Matthey	-
Platinum op alumina (5 wt% Ru)	Alfa Aesar	-
Platinum op koolstof (5 wt% Rh)	Johnsen Matthey	-
L-Proline	Sigma-Aldrich	≥ 99
Rhodium-molybdeenoxide op silica (5 wt% Rh, Mo/Rh = 1/8)	COK	-
Rhodium op alumina (5 wt% Ru)	Alfa Aesar	-
Rhodium op koolstof (5 wt% Rh)	Alfa Aesar	-
Ruthenium op alumina (5 wt% Ru)	Alfa Aesar	-
Ruthenium op koolstof (5 wt% Ru)	Alfa Aesar	-
Ruthenium op silica (5 wt% Ru)	COK	-
Ruthenium op titania (5 wt% Ru)	COK	-
Ruthenium op zirkonia (2,5; 5; 7,5 en 10 wt% Ru)	COK	-
Stikstofgas	Air Liquide	-
Tetrahydrofuraan	Sigma-Aldrich	≥ 99,9
L-Threonine	Sigma-Aldrich	≥ 98
Triethylamine	Sigma-Aldrich	≥ 99
L-Tryptophaan	Alkemi	99
L-Tyrosine	Acros	99+
L-Serine	Sigma-Aldrich	≥ 99
D,L-Valine	Acros	99+
L-Valine	Acros	99
L-Valinol	Sigma-Aldrich	96
Waterstofgas	Air Liquide	-
Zinkchloride	Acros	98,5

Bijlage B

Productidentificatie

Algemene informatie: ^1H -NMR spectra werden gekalibreerd door het singlet signaal van benzylalcohol in te stellen op 4,65 ppm (Babij *et al.*, 2016). Enkel de chemische verschuiving van koolstofatomen gekoppeld aan protonen zijn beschikbaar.

L-Valine (1, MW = 117 g/mol)

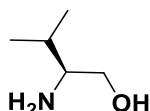


^1H -NMR (400 MHz, H₂O/D₂O): δ (ppm) = 3,82 (d, 1H, NH₂-CH<), 2,38-2,28 (m, 1H, (CH₃)₂>CH-CH<), 1,05 (dd, 6H, (CH₃)₂>CH-CH<).

^{13}C -NMR (400 MHz, H₂O/D₂O): δ (ppm) = 60,8 (NH₂-CH<), 29,1 ((CH₃)₂>CH-CH<), 17,9 (CH₃)₂>CH-CH<. De koolstof van de carboxylzure groep kon niet worden waargenomen.

GC-MS (EI, 70 eV): m/z (rel. int., %): 39 (13), 41 (12), 42 (6), 43 (8), 44 (5), 45 (13), 46 (13), 54 (6), 55 (39), 56 (30), 57 (37), 72 (100), 73 (6), 74 (34), 75 (13).

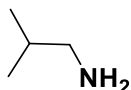
L-Valinol (2, MW = 103 g/mol)



^1H -NMR (400 MHz, H₂O/D₂O): δ (ppm) = 3,88 (dd, 1H, >CH-CH₂-OH), 3,68 (dd, 1H, >CH-CH₂-OH), 3,16-3,06 (m, 1H, NH₂-CH<), 1,97 (m, 1H, (CH₃)₂>CH-CH<), 1,03 (d, 3H, (CH₃)₂>CH-CH<), 1,01 (d, 3H, (CH₃)₂>CH-CH<).

GC-MS (EI, 70 eV): m/z (rel. int., %): 31 (7), 39 (10), 41 (11), 42 (17), 43 (8), 44 (7), 55 (42), 56 (17), 57 (10), 60 (51), 70 (5), 72 (100), 73 (7).

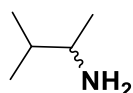
Isobutylamine (3, MW = 73 g/mol)



^1H -NMR (400 MHz, H₂O/D₂O): δ (ppm) = 2,85 (d, 2H, >CH-CH₂-NH₂), 1,95 (non, 1H, (CH₃)₂>CH-CH₂-NH₂), 0,99 (d, 6H, (CH₃)₂>CH-).

^{13}C -NMR (400 MHz, H₂O/D₂O): δ (ppm) = 46,6 (NH₂-CH₂-), 26,2 ((CH₃)₂>CH₂-), 18,7 (CH₃)₂>CH₂-).

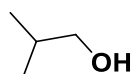
GC-MS (EI, 70 eV): m/z (rel. int., %): 31 (11), 37 (8), 38 (100), 40 (14), 41 (74), 42 (26), 43 (24), 51 (7), 52 (9), 53 (5), 54 (20), 55 (28), 56 (53), 57 (20), 58 (18), 72 (13), 73 (87).

2-Amino-3-methylbutaan (4, MW = 87 g/mol)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 3,26-3,16 (m, 1H, $>\text{CH}-\underline{\text{CH}}(\text{CH}_3)-\text{NH}_2$), 1,89 (oct, 1H, $(\text{CH}_3)_2>\underline{\text{CH}}-\text{CH}<$), 1,25 (d, 3H, $-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{NH}_2$), 0,98 (t, 6H, $(\underline{\text{CH}_3})_2>\text{CH}-\text{CH}<$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 53,1 ($\text{NH}_2-\underline{\text{CH}}<$), 31,1 $(\text{CH}_3)_2>\underline{\text{CH}}-\text{CH}<$, 16,6 $(\underline{\text{CH}_3})_2>\text{CH}-$, 14,5 $(-\text{CH}(\underline{\text{CH}_3})-\text{NH}_2)$.

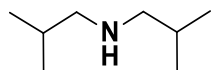
GC-MS (EI, 70 eV): m/z (rel. int., %): 39 (11), 41 (10), 42 (11), 43 (13), 44 (100), 55 (17), 56 (12), 70 (7), 72 (11).

Isobutylalcohol (5, MW = 74 g/mol)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 3,38 (d, 2H, $>\text{CH}-\underline{\text{CH}_2}-\text{OH}$), 1,75 (non, 1H, $(\text{CH}_3)_2>\underline{\text{CH}}-\text{CH}_2-$), 0,88 (d, 6H, $(\underline{\text{CH}_3})_2>\text{CH}-$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 68,7 $(-\underline{\text{CH}_2}-)$, 29,5 $((\text{CH}_3)_2>\underline{\text{CH}_2}-)$, 18,3 $(\underline{\text{CH}_3})_2>\text{CH}_2-$.

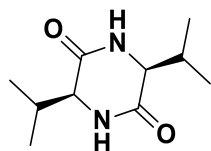
GC-MS (EI, 70 eV): m/z (rel. int., %): 31 (52), 33 (19), 35 (8), 37 (9), 38 (11), 39 (54), 40 (6), 41 (84), 42 (41), 43 (100), 45 (8), 51 (5), 53 (11), 55 (17), 56 (18), 57 (21), 58 (7), 59 (17).

Di-isobutylamine (6, MW = 129 g/mol)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 2,89 (d, 4H, $-\underline{\text{CH}_2}-\text{NH}-\underline{\text{CH}_2}-$), 2,03 (non, 2H, $(\text{CH}_3)_2>\underline{\text{CH}}-\text{CH}_2-$), 0,99 (d, 12H, $(\underline{\text{CH}_3})_2>\text{CH}-$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 54,9 $(-\underline{\text{CH}_2}-\text{NH}-\underline{\text{CH}_2}-)$, 25,4 $((\text{CH}_3)_2>\underline{\text{CH}}-)$, 16,2 $(\underline{\text{CH}_3})_2>\text{CH}-$.

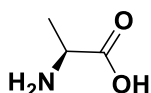
GC-MS (EI, 70 eV): m/z (rel. int., %): 39 (8), 40 (6), 41 (29), 42 (16), 43 (15), 44 (17), 54 (5), 55 (7), 56 (12), 57 (27), 58 (9), 72 (7), 86 (100), 87 (12), 129 (23).

(3S,6S)-3,6-Di-isopropylpiperazine-2,5-dion (7, MW = 198 g/mol)

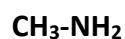
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 3,85 (d, 2H, $-\text{NH}-\underline{\text{CH}}(\text{CH}<)-\text{CO}-$), 2,38-2,28 (m, 2H, $(\text{CH}_3)_2>\underline{\text{CH}}-\text{CH}<$), 1,05 (dd, 12H, $(\underline{\text{CH}_3})_2>\text{CH}-\text{CH}<$).

Methanol (8, MW = 32 g/mol) **CH_3-OH**

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 3,36 (s, 3H, $\underline{\text{CH}_3}-\text{OH}$).

L-Alanine (9, MW = 89 g/mol)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 3,99 (quart, 1H, $>\text{CH-NH}_2$), 1,53 (d, 3H, $\text{CH}_3\text{-CH}$).

Methylamine (10, MW = 31 g/mol)

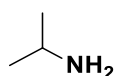
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 2,60 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-NH}_2$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 24,7 ($\text{CH}_3\text{-NH}_2$).

Ethylamine (11, MW = 45 g/mol)

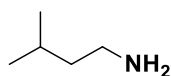
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 3,05 (quart, 2H, $-\text{CH}_2\text{-NH}_2$), 1,27 (t, 3H, $\text{CH}_3\text{-CH}_2$).

GC-MS (EI, 70 eV): m/z (rel. int., %): 30 (67), 31 (7), 38 (6), 39 (16), 40 (29), 41 (39), 42 (72), 43 (26), 44 (100), 45 (79), 46 (6).

Isopropylamine (12, MW = 87 g/mol)

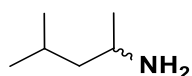
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 3,49 (hept, 1H, $>\text{CH-NH}_2$), 1,29 (t, 6H, $(\text{CH}_3)_2>\text{CH}$).

GC-MS (EI, 70 eV): m/z (rel. int., %): 39 (7), 40 (7), 41 (14), 42 (27), 43 (17), 44 (100), 45 (12), 58 (8).

Isoamylamine (13, MW = 87 g/mol)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 3,02 (t, 2H, $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}_2$), 1,67 (non, 1H, $(\text{CH}_3)_2>\text{CH}$), 1,55 (quart, 2H, $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}_2$), 0,92 (d, 6H, $(\text{CH}_3)_2>\text{CH}$).

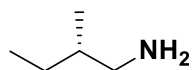
GC-MS (EI, 70 eV): m/z (rel. int., %): 31 (6), 37 (5), 38 (15), 39 (100), 40 (19), 41 (78), 42 (63), 43 (44), 44 (32), 45 (18), 50 (7), 51 (10), 52 (6), 53 (11), 54 (13), 55 (42), 56 (15), 58 (39), 59 (6), 70 (71), 86 (8), 87 (44).

2-Amino-4-methylpentaan (14, MW = 101 g/mol)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 3,49-3,38 (m, 1H, $-\text{CH}_2\text{-CH}(\text{CH}_3)\text{-NH}_2$), 1,67 (non, 1H, $(\text{CH}_3)_2>\text{CH}$), 1,48 (dd, 2H, $-\text{CH}_2\text{-CH}(\text{CH}_3)\text{-NH}_2$), 1,28 (d, 3H, $-\text{CH}_2\text{-CH}(\text{CH}_3)\text{-NH}_2$), 0,92 (d, 6H, $(\text{CH}_3)_2>\text{CH}$).

GC-MS (EI, 70 eV): m/z (rel. int., %): 39 (20), 41 (22), 42 (18), 43 (16), 44 (100), 56 (6), 69 (5), 70 (6), 86 (9).

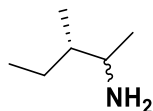
(S)-2-Methylbutaan-1-amine (15, MW = 87 g/mol)



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 3,04-2,92 (m, 1H, $\text{NH}_2\text{-CH}_2\text{-}$), 2,87-2,75 (m, 1H, $\text{NH}_2\text{-CH}_2\text{-}$), 1,81-1,68 (m, 1H, $\text{NH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}$), 1,49-1,37 (m, 1H, $>\text{CH-CH}_2\text{-CH}_3$), 1,31-1,19 (m, 1H, $>\text{CH-CH}_2\text{-CH}_3$), 0,98 (d, 3H, $-\text{CH}_2\text{-CH}(\text{CH}_3)\text{-CH}_2\text{-}$), 0,91 (t, 3H, $-\text{CH}_2\text{-CH}_3$).

GC-MS (EI, 70 eV): m/z (rel. int., %): 31 (12), 32 (8), 38 (10), 39 (73), 40 (12), 41 (100), 42 (42), 43 (17), 44 (34), 50 (10), 51 (18), 52 (11), 53 (14), 54 (25), 55 (36), 56 (74), 57 (23), 58 (37), 69 (7), 70 (22), 86 (6), 87 (89), 88 (5).

(3S)-2-Amino-3-methylpentaan (16, MW = 101 g/mol)



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 3,41-3,26 (m, 1H, $\text{NH}_2\text{-CH}$), 1,81-1,68 (m, 1H, $\text{NH}_2\text{-CH}(\text{CH}_3)\text{-CH}$), 1,49-1,37 (m, 1H, $-\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 1,31-1,19 (m, 1H, $-\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 1,20 (d, 3H, $\text{NH}_2\text{-CH}(\text{CH}_3)\text{-}$), 0,98 (d, 3H, $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-CH}_2\text{-CH}_3$), 0,92 (t, 3H, $-\text{CH}_2\text{-CH}_3$).

GC-MS (EI, 70 eV): m/z (rel. int., %): 39 (6), 41 (11), 42 (12), 43 (7), 44 (100), 54 (7), 55 (5), 56 (14), 57 (5), 69 (7), 70 (5), 86 (7), 87 (5).

Prolinol (17, MW = 101 g/mol)



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 3,88 (dd, 1H, $>\text{CH-CH}_2\text{-OH}$), 3,69 (dd, 1H, $>\text{CH-CH}_2\text{-OH}$), 3,80-3,70 (m, 1H, $>\text{CH-CH}_2\text{-OH}$), 3,72-3,62 (m, 2H, $-\text{NH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-}$), 2,25-2,15 (m, 2H, $-\text{NH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-}$), 1,44-1,32 (m, 2H, $-\text{NH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-}$).

Pyrrolidine (18, MW = 71 g/mol)



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 2,73 (t, 4H, $-\text{CH}_2\text{-NH-CH}_2\text{-}$), 2,02-1,96 (m, 4H, $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-}$).

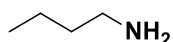
$^{13}\text{C-NMR}$ (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 45,6 ($-\text{CH}_2\text{-NH-CH}_2\text{-}$), 23,5 ($-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-}$).

GC-MS (EI, 70 eV): m/z (rel. int., %): 39 (16), 40 (6), 41 (18), 42 (24), 43 (100), 44 (5), 68 (7), 70 (49), 71 (38).

2-Methylpyrrolidine (19, MW = 85 g/mol)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 3,37-3,29 (m, 2H, $-\text{NH}-\underline{\text{CH}_2}-\text{CH}_2-$), 3,19-3,13 (m, 1H, $-\text{NH}-\underline{\text{CH}}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-$), 2,14-2,02 (m, 2H, $-\text{NH}-\text{CH}_2-\underline{\text{CH}_2}-\text{CH}_2-$), 1,83-1,72 (m, 2H, $-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\underline{\text{CH}_2}-$), 1,38 (d, 3H, $>\text{CH}-\underline{\text{CH}_3}$).

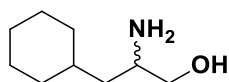
GC-MS (EI, 70 eV): m/z (rel. int., %): 39 (11), 41 (13), 42 (10), 43 (14), 56 (30), 57 (50), 68 (15), 70 (100), 82 (5), 84 (10), 85 (7).

***n*-Butylamine (20, MW = 73 g/mol)**

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 2,99 (t, 2H, $-\text{CH}_2-\underline{\text{CH}_2}-\text{NH}_2$), 1,63 (quint, 2H, $-\text{CH}_2-\underline{\text{CH}_2}-\text{CH}_2-$), 1,38 (sex, 2H, $-\text{CH}_2-\underline{\text{CH}_2}-\text{CH}_3$), 0,92 (t, 3H, $-\text{CH}_2-\underline{\text{CH}_3}$).

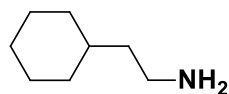
$^{13}\text{C-NMR}$ (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 36,4 ($-\text{CH}_2-\underline{\text{CH}_2}-\text{NH}_2$), 26,4 ($-\text{CH}_2-\underline{\text{CH}_2}-\text{CH}_2-$), 21,3 ($-\text{CH}_2-\underline{\text{CH}_2}-\text{CH}_3$), 12,9 ($-\text{CH}_2-\underline{\text{CH}_3}$).

GC-MS (EI, 70 eV): m/z (rel. int., %): 30 (100), 38 (10), 39 (19), 40 (6), 41 (13), 42 (11), 54 (5), 56 (8), 73 (20).

Cyclohexylalaninol (21, MW = 157 g/mol)

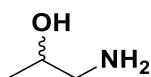
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 3,82 (dd, 1H, $-\text{CH}_2-\text{OH}$), 3,60 (dd, 1H, $-\underline{\text{CH}_2}-\text{OH}$), 3,50-3,39 (m, 1H, $>\underline{\text{CH}}-\text{NH}_2$), 1,54-1,45 (m, 2H, $-\underline{\text{CH}_2}-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{CH}_2-\text{OH}$), 1,75-1,59; 1,43-1,32; 1,31-1,08; 1,03-0,86 (m, 5H; m, 1H; m, 3H; m, 2H, $\text{C}_6\underline{\text{H}_{11}}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH}_2)-$).

GC-MS (EI, 70 eV): m/z (rel. int., %): 39 (6), 41 (10), 42 (6), 43 (7), 44 (10), 55 (20), 60 (12), 67 (6), 83 (11), 97 (6), 109 (6), 126 (100), 127 (11).

2-Cyclohexylethylamine (22, MW = 127 g/mol)

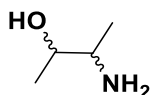
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 3,02 (t, 2H, $-\text{CH}_2-\underline{\text{CH}_2}-\text{NH}_2$), 1,55 (quart, 2H, $-\underline{\text{CH}_2}-\text{CH}_2-\text{NH}_2$), 1,75-1,59; 1,43-1,32; 1,31-1,08; 1,03-0,86 (m, 5H; m, 1H; m, 3H; m, 2H, $\text{C}_6\underline{\text{H}_{11}}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}_2$).

GC-MS (EI, 70 eV): m/z (rel. int., %): 39 (35), 40 (9), 41 (42), 42 (15), 43 (15), 44 (7), 45 (21), 51 (7), 53 (17), 54 (28), 55 (35), 56 (9), 65 (9), 66 (8), 67 (44), 68 (12), 77 (7), 79 (10), 80 (10), 81 (49), 82 (30), 95 (12), 110 (100), 127 (20).

1-Amino-2-propanol (23, MW = 75 g/mol)

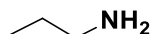
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 4,10-3,99 (m, 1H, $\text{CH}_3\text{-CH(OH)-}$), 3,11 (dd, 1H, $-\text{CH(OH)-CH}_2\text{-NH}_2$), 2,91 (dd, 1H, $-\text{CH(OH)-CH}_2\text{-NH}_2$), 1,25 (d, 3H, $\text{CH}_3\text{-CH(OH)-}$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 64,0 ($\text{CH}_3\text{-CH(OH)-}$), 45,7 ($-\text{CH(OH)-CH}_2\text{-NH}_2$), 19,6 ($\text{CH}_3\text{-CH(OH)-}$).

3-Amino-2-butanol (24, MW = 89 g/mol)

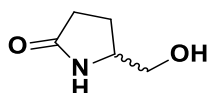
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 3,80-3,73 (m, 1H, $\text{CH}_3\text{-CH(OH)-}$), 3,34-3,24 (m, 1H, $>\text{CH-NH}_2$), 1,28 (d, 6H, $\text{CH}_3\text{-CH(OH)-CH(NH}_2\text{)-CH}_3$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 68,5 ($\text{CH}_3\text{-CH(OH)-}$), 24,6 ($>\text{CH-NH}_2$), 17,3 & 14,7 ($\text{CH}_3\text{-CH(OH)-CH(NH}_2\text{)-CH}_3$).

***n*-Propylamine (25, MW = 59 g/mol)**

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 2,96 (t, 2H, $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}_2$), 1,68 (sex, 2H, $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}_2$), 0,97 (t, 3H, $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-}$).

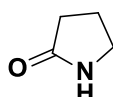
$^{13}\text{C-NMR}$ (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 41,2 ($-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}_2$), 20,4 ($-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}_2$), 10,1 ($\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-}$).

Pyroglutaminol (26, MW = 115 g/mol)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 3,90-3,82 (m, 1H, $-\text{NH-CH}<$), 3,66 (dd, 1H, $-\text{CH}_2\text{-OH}$), 3,54 (dd, 1H, $-\text{CH}_2\text{-OH}$), 2,30-2,20 (m, 2H, $\text{C(=O)-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}<$), 1,92-1,82 (m, 2H, $\text{C(=O)-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}<$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 64,1 ($-\text{CH}_2\text{-OH}$), 56,3 ($-\text{NH-CH}<$), 22,2 ($\text{C(=O)-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}<$), 22,0 ($\text{C(=O)-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}<$).

GC-MS (EI, 70 eV): m/z (rel. int., %): 31 (6), 41 (13), 54 (5), 56 (24), 84 (100), 85 (6).

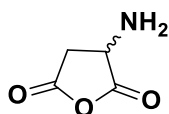
Pyrrolidon (27, MW = 85 g/mol)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 3,43 (t, 2H, $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH-}$), 2,35 (t, 2H, $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-C(=O)-}$), 2,13 (quint, 2H, $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-}$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 42,8 ($-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH-}$), 30,0 ($-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-C(=O)-}$), 20,0 ($-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-}$).

GC-MS (EI, 70 eV): m/z (rel. int., %): 39 (8), 40 (6), 41 (20), 42 (15), 56 (16), 84 (25), 85 (100), 86 (6).

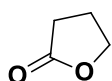
3-Aminodihydrofuran-2,5-dion (28, MW = 115 g/mol)



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 3,90 (dd, 1H, $>\text{CH-NH}_2$), 2,82 (dd, 1H, $-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_2-\text{CH}<$), 2,67 (dd, 1H, $-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_2-\text{CH}<$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 52,5 ($>\text{CH-NH}_2$), 37,0 ($-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_2-\text{CH}<$). De koolstoffen in carbonylgroepen konden niet worden waargenomen.

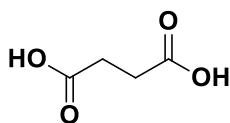
γ -Butyrolacton (29, MW = 86 g/mol)



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 4,45 (t, 2H, $-\text{O}-\text{CH}_2-$), 2,58 (t, 2H, $-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_2-$), 2,29 (quint, 2H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 70,5 ($-\text{O}-\text{CH}_2-$), 27,9 ($-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_2-$), 21,5 ($-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$).

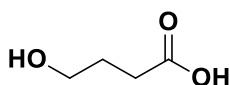
Barnsteenzuur (30, MW = 118 g/mol)



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 2,43 (s, 4H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$).

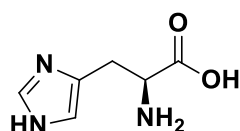
$^{13}\text{C-NMR}$ (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 33,6 ($-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$). De koolstof van de carboxylzuren konden niet worden waargenomen.

γ -Hydroxybutaanzuur (31, MW = 104 g/mol)



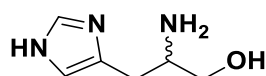
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 3,60 (t, 2H, $-\text{CH}_2-\text{OH}$), 2,24 (t, 2H, $-\text{CH}_2-\text{COOH}$), 1,80 (quint, 2H, $\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 61,5 ($-\text{CH}_2-\text{OH}$), 33,9 ($-\text{CH}_2-\text{COOH}$), 28,4 ($-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$). De koolstof van de carboxylzuren kon niet worden waargenomen.

L-Histidine (32, MW = 155 g/mol)

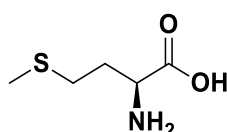
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 8,63 (s, 1H, $-\text{N}=\text{CH}-\text{NH}-$), 7,38 (s, 1H, $-\text{NH}-\text{CH}=\text{C}<$), 4,03 (t, 1H, $>\text{CH}-\text{NH}_2$), 3,35 (d, 2H, $\geq\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}<$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 134,1 ($-\text{N}=\text{CH}-\text{NH}-$), 117,9 ($-\text{NH}-\text{CH}=\text{C}<$), 53,7 ($>\text{CH}-\text{NH}_2$), 25,9 ($\geq\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}<$). De koolstof van de carboxylzure groep kon niet worden waargenomen.

Histidinol (33, MW = 141 g/mol)

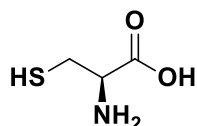
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 8,63 (s, 1H, $-\text{N}=\text{CH}-\text{NH}-$), 7,38 (s, 1H, $-\text{NH}-\text{CH}=\text{C}<$), 3,86 (dd, 1H, $-\text{CH}-\text{CH}_2-\text{OH}$), 3,70 (m, 1H, $>\text{CH}-\text{NH}_2$), 3,68 (dd, 1H, $-\text{CH}-\text{CH}_2-\text{OH}$), 3,16 (t, 2H, $\geq\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}<$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 134,1 ($-\text{N}=\text{CH}-\text{NH}-$), 117,9 ($-\text{NH}-\text{CH}=\text{C}<$), 60,1 ($-\text{CH}_2-\text{OH}$), 51,8 ($>\text{CH}-\text{NH}_2$), 24,3 ($\geq\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}<$).

L-Methionine (34, MW = 149 g/mol)

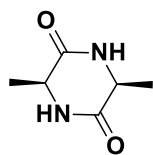
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 4,07 (t, 1H, $>\text{CH}-\text{NH}_2$), 2,68 (t, 2H, $-\text{S}-\text{CH}_2-$), 2,32-2,12 (m, 2H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}<$), 2,14 (s, 3H, $-\text{S}-\text{CH}_3$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 52,8 ($>\text{CH}-\text{NH}_2$), 29,3 ($-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}<$), 28,7 ($-\text{S}-\text{CH}_2-$), 13,9 ($-\text{S}-\text{CH}_3$). De koolstof van de carboxylzure groep kon niet worden waargenomen.

L-Cysteine (35, MW = 121 g/mol)

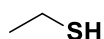
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 4,16 (t, 1H, $>\text{CH}-\text{NH}_2$), 3,16 (dd, 1H, $-\text{CH}_2-\text{SH}$), 3,08 (dd, 1H, $-\text{CH}_2-\text{SH}$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 55,5 ($>\text{CH}-\text{NH}_2$), 24,7 ($-\text{CH}_2-\text{SH}$). De koolstof van de carboxylzure groep kon niet worden waargenomen.

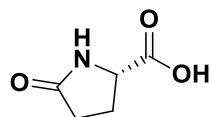
(3S,6S)-3,6-Diisopropylpiperazine-2,5-dion (36, MW = 142 g/mol)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 4,38 (quart, 2H, $-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}<$), 1,49 (d, 6H, $>\text{CH}-\text{CH}_3$).

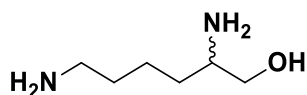
$^{13}\text{C-NMR}$ (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 66,5 ($-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}<$), 20,5 ($>\text{CH}-\text{CH}_3$). De koolstoffen in carbonylgroepen konden niet worden waargenomen.

Ethaanthiol (37, MW = 62 g/mol)

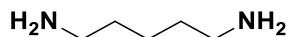
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 2,40 (quart, 2H, $-\text{CH}_2-\text{SH}$), 1,09 (t, 3H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$).

L-Pyroglutaminezuur (38, MW = 129 g/mol)

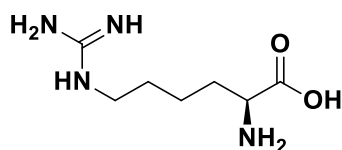
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 4,13 (dd, 1H, $>\text{CH}-\text{COOH}$), 2,32-2,22 (m, 1H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}<$), 2,27 (t, 2H, $-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_2-$), 2,10-1,98 (m, 1H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}<$).

Lysinol (39, MW = 132 g/mol)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 3,84 (dd, 1H $-\text{CH}_2-\text{OH}$), 3,65 (dd, 1H $-\text{CH}_2-\text{OH}$), 3,41-3,31 (m, 1H, $>\text{CH}-\text{NH}_2$), 3,02 (t, 2H, $-\text{CH}_2-\text{NH}_2$), 1,96-1,82 (m, 2H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH}_2)-$), 1,72 (quint, 2H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}_2$), 1,48 (quint, 2H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}_2$).

1,5-Pentaandiamine (40, MW = 102 g/mol)

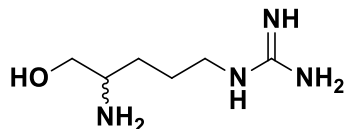
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 3,02 (t, 4H, $-\text{CH}_2-\text{NH}_2$), 1,70 (quint, 4H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}_2$), 1,46 (quint, 2H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}_2$).

L-Arginine (41, MW = 188 g/mol)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 3,77 (t, 1H, $>\text{CH}-\text{NH}_2$), 3,24 (dt, 2H, $-\text{NH}-\text{CH}_2-$), 2,05-1,88 (m, 2H, $-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{COOH}$), 1,83-1,61 (m, 2H, $-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$).

^{13}C -NMR (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 54,3 ($>\underline{\text{C}}\text{H}-\text{NH}_2$), 40,6 ($-\text{NH}-\underline{\text{C}}\text{H}_2-$), 27,3 ($-\underline{\text{C}}\text{H}_2-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{COOH}$), 23,0 ($-\text{NH}-\text{CH}_2-\underline{\text{C}}\text{H}_2-$). Koolstoffen die niet koppelen met protonen konden niet worden waargenomen.

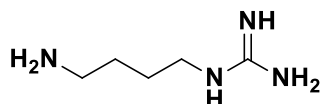
Argininol (42, MW = 174 g/mol)



^1H -NMR (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 3,84 (dd, 1H, $-\underline{\text{C}}\text{H}_2-\text{OH}$), 3,66 (dd, 1H, $-\underline{\text{C}}\text{H}_2-\text{OH}$), 3,41-3,31 (m, 1H, $>\underline{\text{C}}\text{H}-\text{NH}_2$), 3,28-3,20 (m, 1H $-\text{NH}-\underline{\text{C}}\text{H}_2-$), 1,80-1,59 (m, 4H, $-\underline{\text{C}}\text{H}_2-\underline{\text{C}}\text{H}_2-\text{CH}_2-\text{NH}_2$).

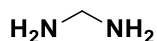
^{13}C -NMR (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 60,6 ($-\underline{\text{C}}\text{H}_2-\text{OH}$), 52,7 ($>\underline{\text{C}}\text{H}-\text{NH}_2$), 40,5 ($-\text{NH}-\underline{\text{C}}\text{H}_2-$), 25,9 & 24,0 ($-\underline{\text{C}}\text{H}_2-\underline{\text{C}}\text{H}_2-\text{CH}_2-\text{NH}_2$). Koolstoffen die niet koppelen met protonen konden niet worden waargenomen.

1-(4-Aminobutyl)guanidine (43, MW = 130 g/mol)



^1H -NMR (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 3,28-3,20 (m, 2H, $-\text{NH}-\underline{\text{C}}\text{H}_2-$), 3,03 (t, 2H, $-\underline{\text{C}}\text{H}_2-\text{NH}_2$), 1,80-1,59 (m, 4H, $-\underline{\text{C}}\text{H}_2-\underline{\text{C}}\text{H}_2-\text{CH}_2-\text{NH}_2$).

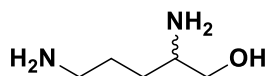
Methaandiamine (44, MW = 46 g/mol)



^1H -NMR (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 3,36 (s, 2H, $-\underline{\text{C}}\text{H}_2-$).

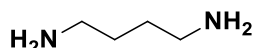
^{13}C -NMR (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 49,2 ($-\underline{\text{C}}\text{H}_2-$).

2,5-Diamino-1-pentanol (45, MW = 115 g/mol)

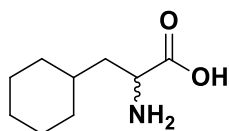


^1H -NMR (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 3,85 (dd, 1H, $-\underline{\text{C}}\text{H}_2-\text{OH}$), 3,68 (dd, 1H, $-\underline{\text{C}}\text{H}_2-\text{OH}$), 3,41-3,31 (m, 3H, $>\underline{\text{C}}\text{H}-\text{NH}_2$ & $-\underline{\text{C}}\text{H}_2-\text{NH}_2$), 1,80-1,59 (m, 4H, $-\underline{\text{C}}\text{H}_2-\underline{\text{C}}\text{H}_2-\text{CH}_2-\text{NH}_2$).

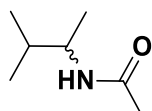
1,4-Butaandiamine (46, MW = 88 g/mol)



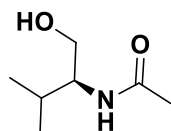
^1H -NMR (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 3,06 (t, 4H, $-\underline{\text{C}}\text{H}_2-\text{NH}_2$), 1,70 (quint, 4H, $-\underline{\text{C}}\text{H}_2-\text{CH}_2-\text{NH}_2$).

Cyclohexylalanine (47, MW = 171 g/mol)

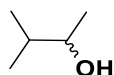
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 4,00-3,91 (m, 1H, $>\text{CH}-\text{NH}_2$), 1,74-0,84 (m, 13H, $\text{C}_6\text{H}_{11}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH}_2)-$).

N-Acetyl-2-amino-3-methylbutaan (48, MW = 129 g/mol)

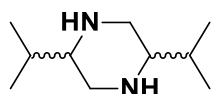
GC-MS (EI, 70 eV): m/z (rel. int., %): 39 (9), 41 (16), 42 (18), 43 (46), 44 (89), 55 (13), 56 (5), 60 (10), 70 (8), 72 (39), 86 (100), 87 (7).

N-Acetyl-L-valinol (49, MW = 145 g/mol)

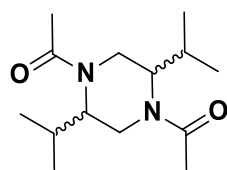
GC-MS (EI, 70 eV): m/z (rel. int., %): 39 (5), 41 (7), 42 (7), 43 (26), 55 (22), 56 (10), 58 (5), 60 (51), 70 (7), 72 (100), 73 (5), 102 (19), 114 (94), 115 (15).

3-Methyl-2-butanol (50, MW = 88 g/mol)

GC-MS (EI, 70 eV): m/z (rel. int., %): 39 (17), 41 (18), 42 (9), 43 (25), 44 (21), 45 (100), 55 (32), 56 (5), 57 (6), 71 (5), 72 (5), 73 (25).

2,5-Di-isopropylpiperazine (51, MW = 170 g/mol)

GC-MS (EI, 70 eV): m/z (rel. int., %): 41 (7), 42 (5), 55 (11), 56 (16), 70 (10), 72 (24), 83 (7), 84 (11), 86 (85), 87 (5), 96 (6), 98 (14), 126 (13), 127 (100), 128 (10).

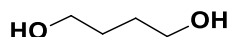
N,N'-Diacetyl-2,5-di-isopropylpiperazine (52, MW = 254 g/mol)

GC-MS (EI, 70 eV): m/z (rel. int., %): 43 (8), 83 (5), 126 (11), 127 (16), 169 (100), 170 (11), 211 (88), 212 (12), 254 (8).

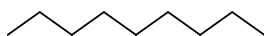
Tetrahydrofuraan (53, MW = 72 g/mol)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 3,75 (t, 4H, -O-CH $\underline{\text{H}}$ $_2$ -), 1,92-1,86 (m, 4H, -O-CH $_2$ -CH $\underline{\text{H}}$ $_2$ -).

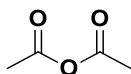
GC-MS (EI, 70 eV): m/z (rel. int., %): 38 (9), 39 (37), 40 (19), 41 (73), 42 (100), 43 (29), 44 (6), 71 (45), 72 (40).

1,4-Butaandiol (54, MW = 90 g/mol)

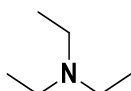
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$): δ (ppm) = 3,63 (t, 4H, HO-CH $\underline{\text{H}}$ $_2$ -), 1,62-1,56 (m, 4H, HO-CH $_2$ -CH $\underline{\text{H}}$ $_2$ -).

***n*-Nonaan (55, MW = 128 g/mol)**

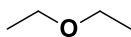
GC-MS (EI, 70 eV): m/z (rel. int., %): 39 (17), 41 (53), 42 (17), 43 (77), 55 (21), 56 (25), 57 (100), 69 (7), 70 (25), 71 (33), 84 (21), 85 (65), 98 (13), 99 (23), 128 (20).

Azijnzuuranhydride (56, MW = 102 g/mol)

GC-MS (EI, 70 eV): m/z (rel. int., %): 42 (8), 43 (100).

Triethylamine (57, MW = 101 g/mol)

GC-MS (EI, 70 eV): m/z (rel. int., %): 32 (7), 42 (7), 41 (6), 56 (5), 58 (22), 86 (100), 87 (6), 100 (7), 101 (18).

Diethylether (58, MW = 74 g/mol)

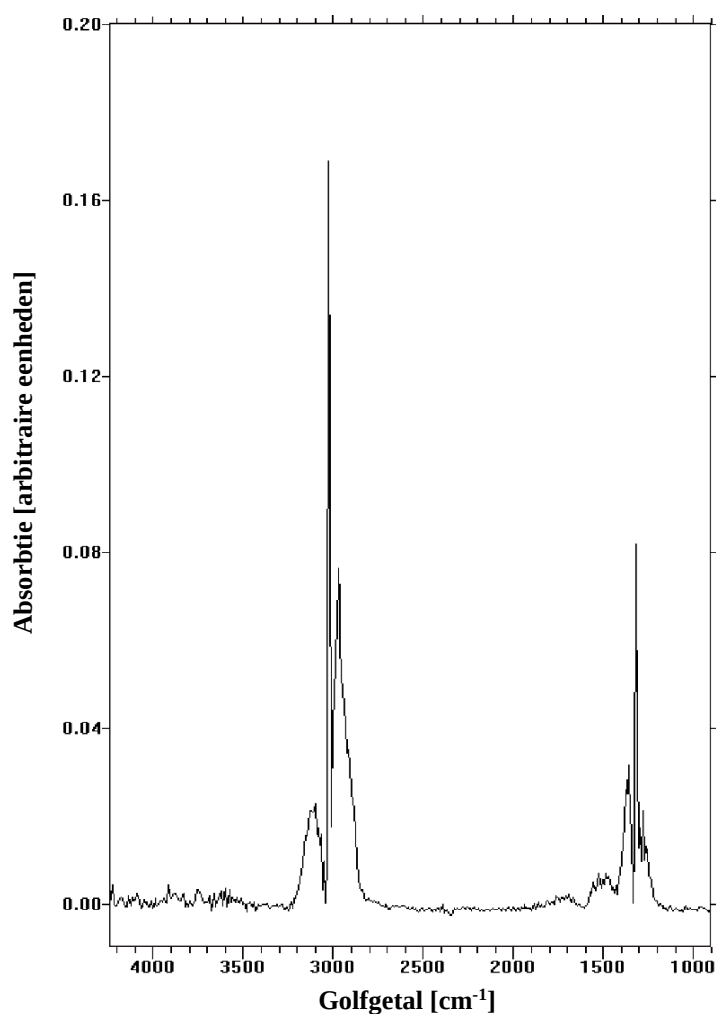
GC-MS (EI, 70 eV): m/z (rel. int., %): 31 (100), 43 (5), 45 (14), 59 (17), 74 (8).

Propaan (59, MW = 44 g/mol)

Propaan werd geïdentificeerd samen met methaan (CH_4), ammoniak (NH_3) en met sporen van CO en formaldehyde, door gebruikt te maken van een Gasmet DX4000 FTIR gas analyzer en Calcmeter Standard software versie 12.161.

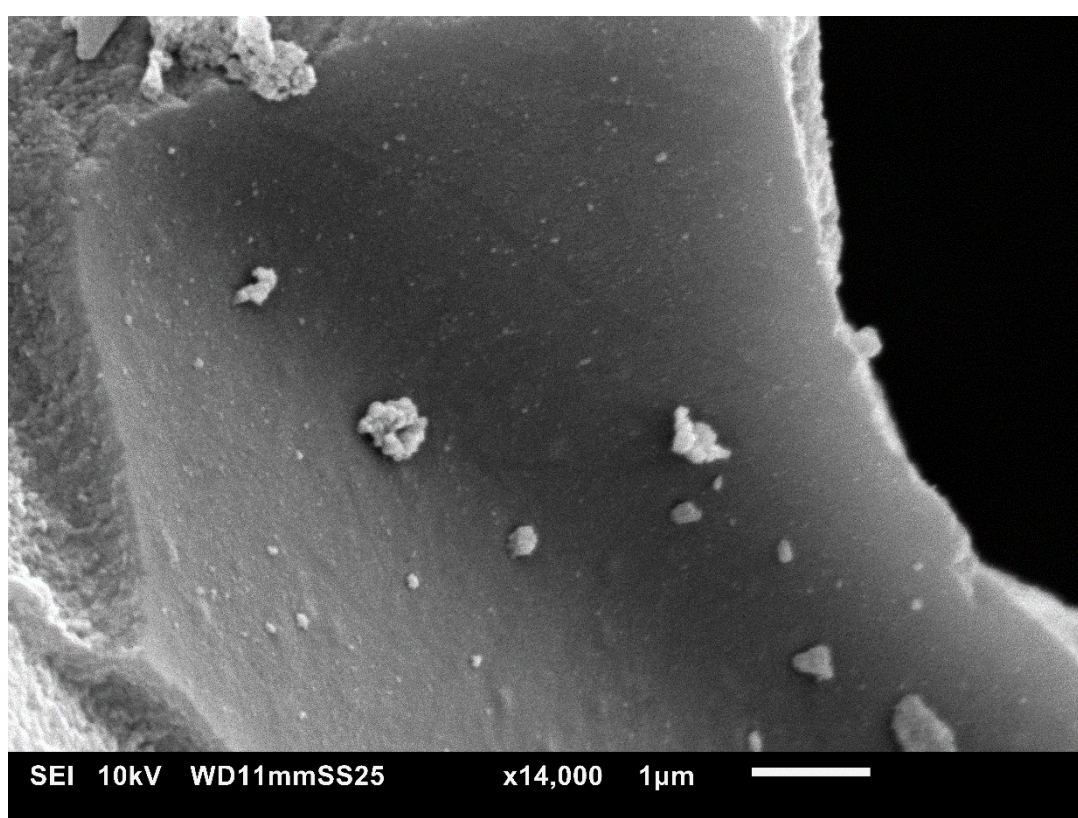
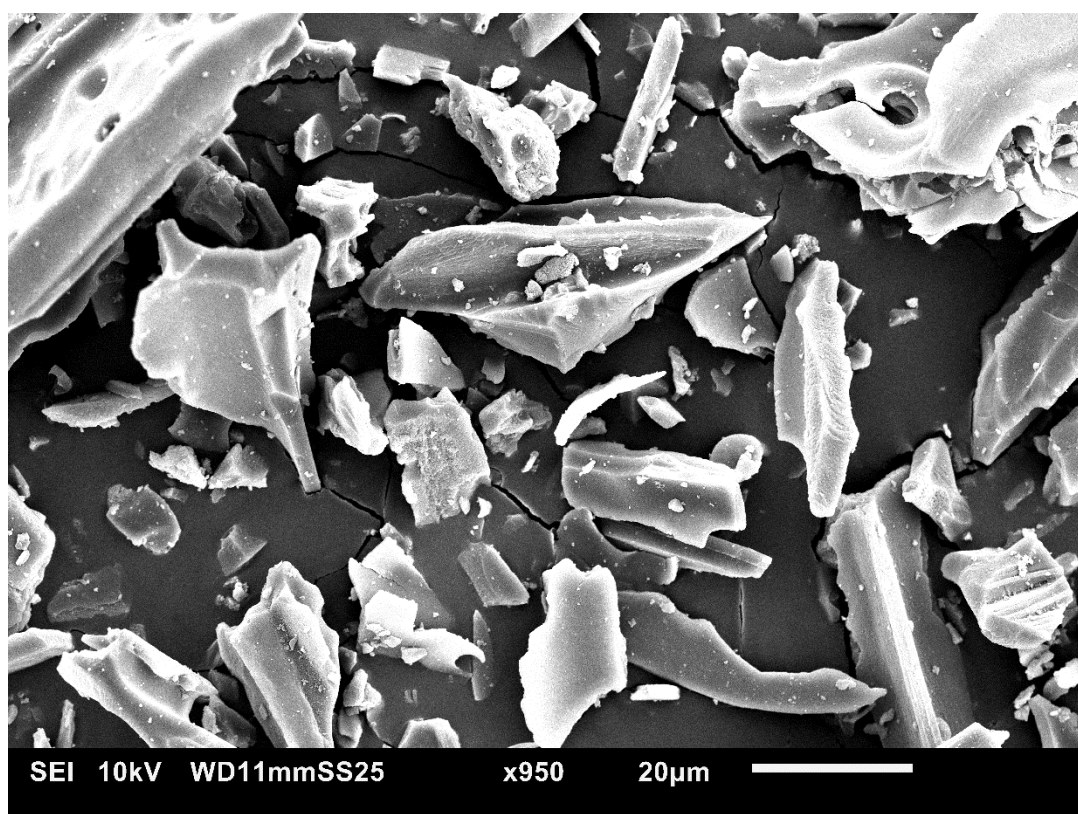
Bijlage C

Extra figuren en tabellen

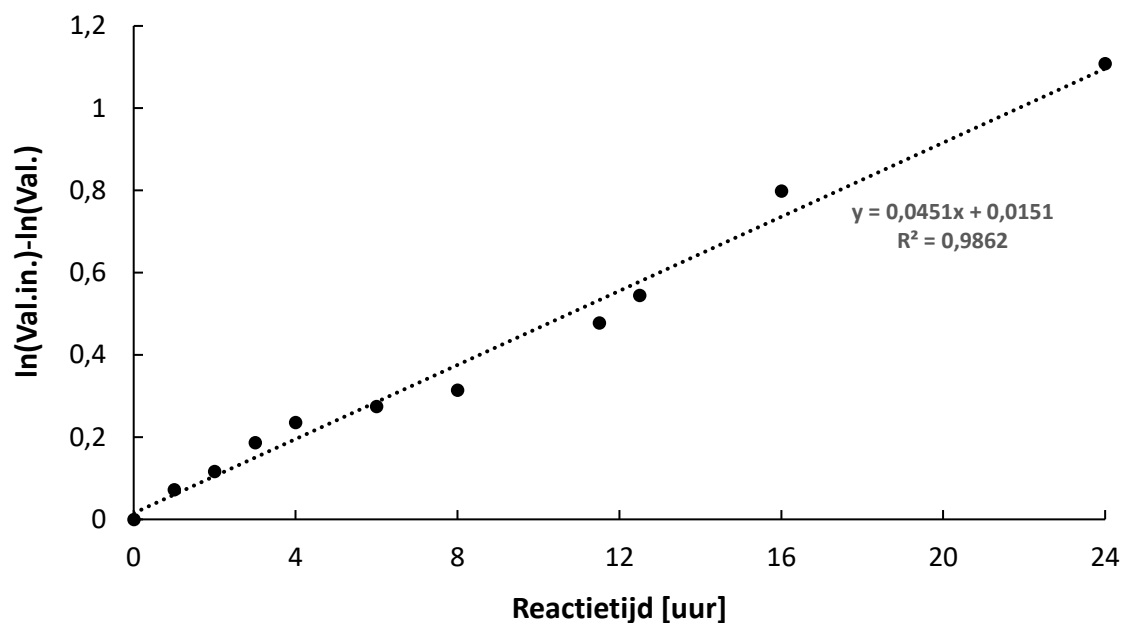


Ch	Component	Concentration	Unit	Compensation		Range	Resid...
1	Water vapor H2O	0.01	vol-%	wet		30	0.0011
2	Carbon dioxide CO2	-0.0265	vol-%	wet		30	0.0008
3	Carbon monoxide CO	0.13	ppm	wet		5000	0.0004
8	Ammonia NH3	0.00	ppm	wet		1500	0.0007
11	Methane CH4	178.82	ppm	wet		100	0.0057
12	Ethane C2H6_100 ppm diluted	0.00	ppm	wet		100	0.0087
13	Propane C3H8_100 ppm diluted	37.07	ppm	wet		100	0.0057
15	Formaldehyde CHOH	0.08	ppm	wet		50	0.0006
204	NOx	0.00	ppm	wet		1500	0.0000
221	Ambient pressure	1013.00	mbar	N/A		1200	0.0000
226	Cell temperature	180.00	°C	N/A		200	0.0000

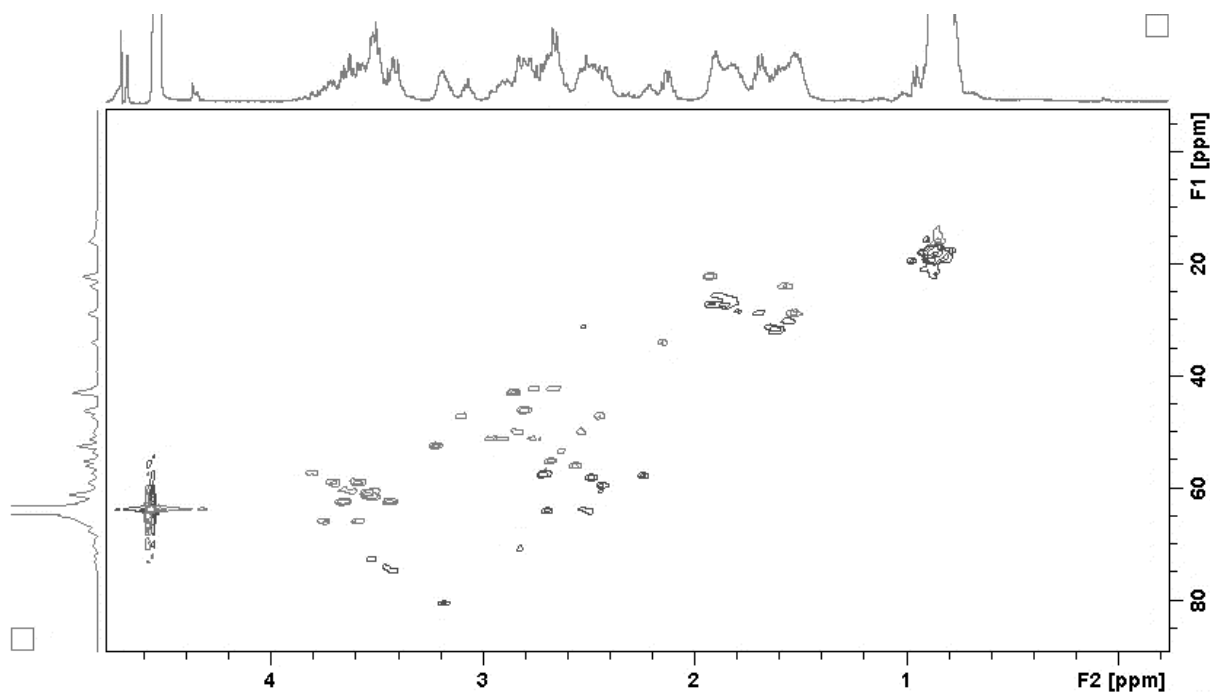
Figuur C1. Calcmets data van de gasfase FTIR analyse na decarboxylatie. Condities: L-valine in water (0,1 M; 2 ml), Ru/C (5 mol% Ru), H₃PO₄ (1,2 eq.), H₂ (40 bar), N₂ (2 bar), 150°C, 1 uur 20 min.



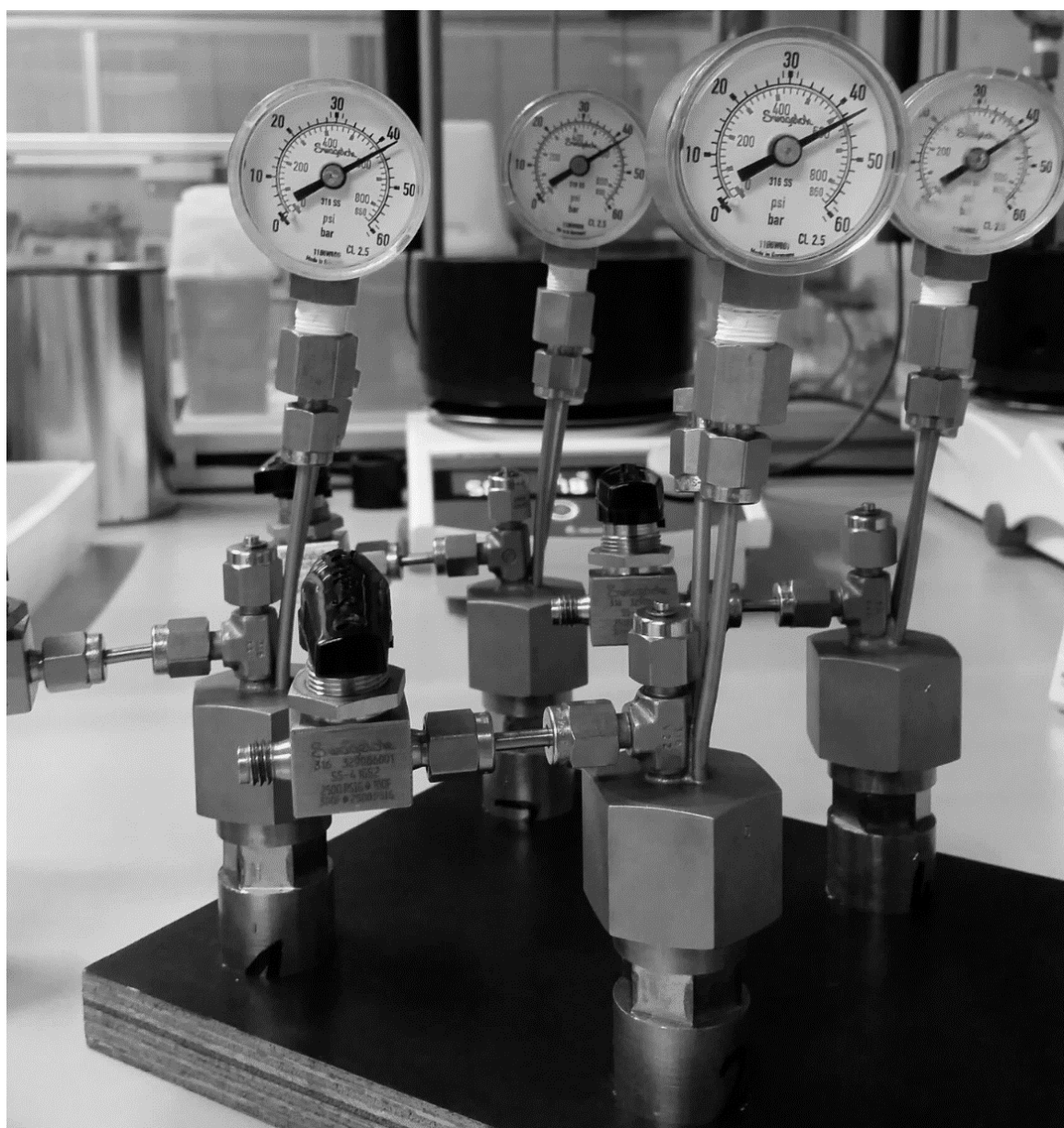
Figuur C2. Extra SEM-foto's van Ru/C katalysatorpartikels.



Figuur C3. Bewijs dat de deoxygenatieroutes kunnen vereenvoudigd worden tot eerste orde reacties. Voor eerste orde geldt: $d(\text{valinol})/dt = -k \cdot (\text{valinol})$ of $\ln(\text{valinol, initieel}) - \ln(\text{valinol}) = k \cdot t$



Figuur C4. ^1H , ^{13}C -HSQC NMR-meting van een complex productmengsel na deoxygenatie. Condities: L-valinol in THF (0,1 M; 2 ml), Ru/C (5 mol% Ru), ZnCl_2 (5 mol%); 0,2 mmol *n*-nonaan, H_2 (40 bar), N_2 (2 bar), 150°C , 24 uur.



Figuur C5. Foto van de gebruikte drukreactoren voor alle katalytische experimenten.

Tabel C1. Volledige productlijst van de decarboxylatie van alle andere aminozuren

Substraat	Producten (Selectiviteit)
Glycine	Methylamine (>22% ^a), Ethylamine (>22%)
L-Alanine ^b	Ethylamine (>61%), Isopropylamine (22%)
L-Valine	Isobutylamine (87%), 2-Amino-3-methylbutaan (6%)
L-Leucine	Isoamylamine (76%), 2-Amino-4-methylpentaan (7%)
L-Isoleucine	(S)-2-Methylbutaan-1-amine (84%), (3S)-2-Amino-3-methylpentaan (7%)
L-Proline	Pyrrolidine (40%), <i>n</i> -Butylamine (27%), 2-Methylpyrrolidine (13%), Prolinol (7%)
L-Serine	Methylamine (>23% ^a), Ethylamine (>36%), Isopropylamine (5%)
L-Threonine	<i>n</i> -Propylamine (50%), 1-Amino-2-propanol (27%), 3-Amino-2-butanol (7%) , 2-Butylamine (4%)
L-Fenylalanine	Cyclohexylalaninol (33%), 2-Cyclohexylethylamine (26%)
L-Tyrosine	Cyclohexylalaninol (51%), 2-Cyclohexylethylamine (17%), Cyclohexylalaninol (18%)
L-Histidine ^c	Histidinol (12%)
L-Tryptofaan	Complex reactiemengsel, geen geïdentificeerde componenten
Na-L-Glutamaat	Pyroglutaminol (38%), Pyrrolidon (20%), L-Pyroglutaminezuur (4%), Pyrrolidine (12%), <i>n</i> -Butylamine (5%), 5-Methyl-2-pyrrolidon (2%)
L-Glutamine	Pyroglutaminol (32%), Pyrrolidon (25%), L-Pyroglutaminezuur (10%), Pyrrolidine (8%), <i>n</i> -Butylamine (4%), 5-Methyl-2-pyrrolidon (2%)
Na-L-Aspartaat	Ethylamine (>19%), Barnsteenzuur (15%), 3-Aminodihydrofuran-2,5-dion (9%), γ -Hydroxyboterzuur (9%), <i>n</i> -Propylamine (7%), γ -Butyrolacton (3%), Butaanzuur (3%), Propaanzuur (3%)
L-Asparagine	Ethylamine (>6%), Barnsteenzuur (10%), 3-Aminodihydrofuran-2,5-dion (14%), γ -Hydroxyboterzuur (11%), <i>n</i> -Propylamine (4%), γ -Butyrolacton (8%), Butaanzuur (3%), Propaanzuur (2%), Isopropylamine (4%), Pyrrolidine (3%)
L-Lysine.HCl	Lysinol (39%), 1,5-Pentaandiamine (32%), 1,5-Hexaandiamine (6%), 2-Methylpiperidine (4%), <i>n</i> -Pentylamine (3%)
L-Arginine.HCl ^d	Argininol (29%), 1-(4-Aminobutyl)guanidine (13%), Methaandiamine (10%), 1,4-Butaandiamine (10%), Methylamine (9% ^a), 2,5-Diamino-1-pentanol (8%), 1-(4-Aminopentyl)guanidine (2%)
L-Methionine ^e	/
L-Cysteïne ^f	Alanine (29%), (3S,6S)-3,6-Diisopropylpiperazine-2,5-dion (10%), Ethaanthiol (6%), 2-Amino-1-ethaanthiol (1%)

^a Vluchtige component. ^b 97% conversie. ^c 12% conversie. ^d 80% conversie. ^e 5% conversie. ^f 90% conversie.

Bijlage D

Risicoanalyse

Veiligheid boven alles. In de volgende pagina's wordt de goedgekeurde risicoanalyse gegeven voor de hydrotreating van aminozuren.

DIENTEN ALGEMEEN BEHEER
 DIRECTIE STAFDIENSTEN ALGEMEEN BEHEER
DIENT VGM
 W. DE CROYLAAN 58 – BUS 5530, BE-3001 LEUVEN
 TEL. + 32 16 32 20 24 FAX + 32 16 32 29 95
 WWW.KULEUVEN.BE/VGM vgm@kuleuven.be

MELDINGSFORMULIER: RISICOANALYSE VOOR EXPERIMENT MET CHEMISCHE PRODUCTEN VAN RISICOKLASSE E3 EN E4

Vul het formulier elektronisch in, in overleg met het VGM-antennelid chemische veiligheid.

1. Identificatie van de afdeling (gebruikers)

Aanvrager/contactpersoon: Jasper Verduyck / Robin Coeck
 Tel: 0472 91 60 80 / 0495 45 64 30
 E-mail adres: jasper.verduyck@kuleuven.be / robin.coeck@kuleuven.be

Afdeling: Centrum voor Oppervlaktechemie en Katalyse (COK)
 Magazijncode¹: INB
 Leidinggevende : Prof. Bert Sels (afdelingshoofd); Prof. Dirk De Vos (promotor)

2. Identificatie experiment

Titel(benaming): Hydrotreating van aminozuren (maximaal 40 karakters)
Startdatum: 01/07/2016 **Geplande einddatum:** 01/10/2018

- ☒ Het betreft een nieuw experiment
☐ Het betreft een bestaand experiment zonder eerder opgestelde risicoanalyse
☐ Het betreft een wijziging/uitbreiding van een bestaand experiment met eerder opgestelde risicoanalyse
- Deze wijziging/uitbreiding betreft (gelieve aan te duiden en verder in het formulier te beschrijven):
- ☐ personen
 - ☐ lokalen waar het experiment plaatsvindt
 - ☐ chemische producten
 - ☐ andere risico's
 - ☐ verlenging

Dossiernummer of referentienummer vorig advies: (indien gekend)

- ☐ Indien VGM-DOSSIER beschikbaar:
- ☐ experiment in het kader van een bestaande activiteit
 Geef nummer van de activiteiten:
 - ☐ experiment in het kader van een nieuwe activiteit (in overleg met VGM-antenne en Afdelingshoofd¹)
 Geef naam van de nieuwe activiteit voor het VGM-dossier: (max. 40 karakters)

- ☒ Doorloopprouwen (**onbewaakt** experiment binnen of buiten de diensturen)

¹ <https://admin.kuleuven.be/vgm/intranet/doc/antenne/antennemagazijncodes.xlsx/view>

Beschrijving van al de aangewende(of gevormde) chemische producten*

Productnaam	Casnummer	Fysische toestand (gas/vloeibaar/vast)	Aangewende hoeveelheid	Aangewende concentratie	Chemische risicoklasse product (E4/E3/E2/E1)
1. L-Alanine	56-41-7	vast	0,5 mmol	0,1 - 0,5 M	n.v.t.
2. L-Arginine	74-79-3	vast	0,5 mmol	0,1 - 0,5 M	E1
3. L-Asparagine	70-47-3	vast	0,5 mmol	0,1 - 0,5 M	n.v.t.
4. L-Asparaginezuur	56-84-8	vast	0,5 mmol	0,1 - 0,5 M	E1
5. L-Cysteïne	52-90-4	vast	0,5 mmol	0,1 - 0,5 M	E1
6. L-Glutaminezuur	56-86-0	vast	0,5 mmol	0,1 - 0,5 M	n.v.t.
7. L-Glutamine	56-85-9	vast	0,5 mmol	0,1 - 0,5 M	n.v.t.
8. L-Glycine	56-40-6	vast	0,5 mmol	0,1 - 0,5 M	n.v.t.
9. L-Histidine	71-00-1	vast	0,5 mmol	0,1 - 0,5 M	n.v.t.
10. L-Isoleucine	73-32-5	vast	0,5 mmol	0,1 - 0,5 M	n.v.t.
11. L-Leucine	61-90-5	vast	0,5 mmol	0,1 - 0,5 M	n.v.t.
12. L-Lysine	56-87-1	vast	0,5 mmol	0,1 - 0,5 M	n.v.t.
13. L-Methionine	63-68-3	vast	0,5 mmol	0,1 - 0,5 M	n.v.t.
14. L-Fenylalanine	63-91-2	vast	0,5 mmol	0,1 - 0,5 M	n.v.t.
15. L-Proline	147-85-3	vast	0,5 mmol	0,1 - 0,5 M	n.v.t.
16. L-Serine	56-45-1	vast	0,5 mmol	0,1 - 0,5 M	n.v.t.
17. L-Treonine	72-19-5	vast	0,5 mmol	0,1 - 0,5 M	n.v.t.
18. L-Tryptofaan	73-22-3	vast	0,5 mmol	0,1 - 0,5 M	n.v.t.
19. L-Tyrosine	60-18-4	vast	0,5 mmol	0,1 - 0,5 M	E1
20. L-Valine	72-18-4	vast	0,5 mmol	0,1 - 0,5 M	n.v.t.
21. Isoamylamine	107-85-7	vloeibaar	0,5 mmol	0 - 0,5 M	E3
22. Isoamylalcohol	123-51-3	vloeibaar	0,5 mmol	0 - 0,5 M	E2
23. Pyrrolidine	123-75-1	vloeibaar	0,5 mmol	0 - 0,5 M	E3
24. n-Butylamine	109-73-9	vloeibaar	0,5 mmol	0 - 0,5 M	E3
25. H ₃ PO ₄	7664-38-2	vloeibaar	1 mmol	0 - 0,5 M	E3
26. Ru/drager	-	vast	0,1 g	-	-
27. Pt/drager	-	vast	0,1 g	-	-
28. Pd/drager	-	vast	0,1 g	-	-
29. Rh/drager	-	vast	0,1 g	-	-
30. Methanol	67-56-1	vloeibaar	1-5 mL	(solvent)	E4
31. water	7732-18-5	vloeibaar	1-5 mL	(solvent)	n.v.t.
32. Stikstofgas	7727-37-9	gas	1-30 bar	1-30 bar	n.v.t.
33. Waterstofgas	1333-74-0	gas	1-40 bar	1-40 bar	E4
34. Benzylalcohol	100-51-6	vloeibaar	1 mmol	0,1 M	E3

* Indien mogelijk de zeer gevaarlijke producten of processen vervangen door minder gevaarlijke !

Lokaalgegevens

Gebouw	Lokaal	Omschrijving deelexperiment (bv. voorbereiding, eigenlijk experiment, nabehandeling, meting, ...)	Specificaties lokaal
492-31	03.313	1. Aanmaken van het reactiemengsel	☒ eigen afdeling ☐ ruimte toegewezen aan andere afdeling*
492-31	03.311	2. Reactor vullen met H ₂ (6 keer flushen met N ₂) 3. Eigenlijk experiment 4. Nabehandeling	☒ eigen afdeling ☐ ruimte toegewezen aan andere afdeling*

		5. Bereiding van GC- en NMR-stalen	
--	--	------------------------------------	--

* indien manipulaties worden uitgevoerd in een ruimte toegewezen aan een andere afdeling dan moet het meldingsformulier ook naar dit afdelingshoofd gestuurd worden (in kopie).

Personen die het experiment zullen uitvoeren of voor een practicum het toezichthoudend personeel

Naam - voornaam	Geboortedatum	Personeelsgroep
Verduyck Jasper	22/04/1991	☒ KU ☐ Student KU ☐ UZ ☐ VIB ☐ Externen:
Coeck Robin	21/11/1994	☐ KU ☒ Student KU ☐ UZ ☐ VIB ☐ Externen:
		☐ KU ☒ Student KU ☐ UZ ☐ VIB ☐ Externen:

3. Beschrijving experiment en risicoanalyse

Beschrijving handelingen en aangewende technieken:

Nummer* deel- experiment	Beschrijving handelingen en technieken	Gebruikte uitrusting	Nummers** gebruikte producten
1	In een drukreactor (10 mL) COK#PRtype2 worden achtereenvolgens één aminozuur en katalysator afgewogen op de balans onder afzuiging. Hieraan wordt solvent (methanol of water) en een magnetische roerstaaf toegevoegd. Hier wordt eventueel nog 50-400 µl van een 2M H ₃ PO ₄ oplossing aan toegevoegd.	magnetische roerstaaf + drukreactor (10 mL) COK#PRtype2 + pipet + analytische balans onder afzuiging in lokaal 03.313	1-20 + 25-31
2	De reactor wordt dichtgeschroefd, 6 keer geflusht met stikstof en beladen met de gewenste waterstofdruk (max. 40 bar).	steeksleutel + houder bevestigd op tafel in lokaal 03.311	32-33 (hoge druk)
3	De reactor wordt in een verwarmingsblok geplaatst op een roerplaat met verwarming (MAP#COK#MSH). De gewenste temperatuur wordt ingesteld (max. 250°C). Deze opstelling bevindt zich in trekast U8 in lokaal 03.311.	verwarmings- en roerplaat met verwarmingsblok	
4	Na reactie wordt de reactor gekoeld tot kamertemperatuur in een water/ijsbad, en wordt de gasdruk afgelaten in de trekast. De reactor wordt geopend en het reactiemengsel wordt overgebracht in een glazen reactieflesje (8 mL). Na afsluiten met een crimp cap wordt het flesje gecentrifugeerd om de katalysator af te scheiden.	glazen pasteurpipet, glazen reactieflesje (8 mL), crimp cap, Eppendorf centrifuge 5804	
5	1 mL van het reactiemengsel wordt overgebracht in een GC vial. 300 µl van het reactiemengsel wordt overgebracht in een NMR-buisje, waar ook 300 µl van een 0,1M oplossing van benzyalcohol in D ₂ O aan wordt toegevoegd.	GC vial, cap, glazen NMR-buisje, (pasteur)pipet	34

* Nummer van het deexperiment zoals weergegeven onder "Lokaalgegevens"

** Nummer chemische producten zoals weergegeven onder "Beschrijving aangewende(of gevormde) chemische producten"

Frequentie uitvoering experiment:

☒ Dagelijks
☐ Wekelijks

- ☐ Maandelijks
☐ Minder dan maandelijks

Indien gewenst, kan u hier meer informatie over het experiment toevoegen (bv. reactieschema) of verwijzen naar een bijlage

Katalytische hydrotreating van aminozuren.

Voor verscheidene solventen bedraagt de totale te verwachten druk in de reactor in het extreme scenario:

* Methanol: 56 bar (bij 150°C, inclusief 2 bar N₂ en 40 bar H₂), methanol zal dus niet bij een hogere temperatuur dan 150°C worden gebruikt

* Water: 51 bar (bij 175°C, inclusief 2 bar N₂ en 40 bar H₂), water zal dus niet bij een hogere temperatuur dan 175°C worden gebruikt

Risico's verbonden aan de chemische producten

Vóór het gebruik van de chemische producten dienen de gevaren, R- of H- en S of P-zinnen, gekend te zijn!

Op te zoeken in de KULeuven gevaarlijke stoffendatabank (via KULoket, algemeen, gevaarlijke stoffen) of op de veiligheidsinformatiebladen van de fabrikant.

Voor de producten van risicoklasse E3 en **E4** dienen de gevaren aangeduid te worden in onderstaande tabel.

Naam chemisch product	n-butylamine	isoamylamine	H ₃ PO ₄	methanol	benzylalcohol	pyrrolidine	waterstofgas
Explosie- en brandgevaar							
Zeer licht of licht ontvlambaar (H220, H222, H224, H228, H225) / (R11, R12)	☒	☒	☐	☐	☐	☒	☒
Ontvlambaar gas, aerosol, vaste stof (H221, H223, H228)	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Ontvlambaar door zelfverhitting (H251, H252)	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Brand, ontploffing met scherfwerking (H204, H202, H203), massa-explosie bij brand (H205)	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Explosief (EUH001, EUH006, H200, H201) / (R1, R2, R3, R5) + brandb.stoffen (H271, H272) / (R9) + T↑ (H240, H241), afgesloten en T↑ (EUH044) / (R44)	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Ontvlamb damp/lucht mengsel (EUH018)	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Ontploffbare peroxiden (EUH019)	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Incompatibel met water (EUH014, H260) / (R14, R15)	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Vat spontaan vlam in contact met lucht (H250)	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Explosief + metalen (R4) + O ₂ (R6)	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Incompatibel met oxiderende stoffen (R16)	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Instabiel product (R17, R18, R19)	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Acuut gevaar voor gezondheid							
Zeer giftig (H300, H330, H310) / (R26, R27, R28) + zuur (EUH032) / (R32) Giftig (H311, H331, EUH070) / (R23, R24) + water (EUH029) / (R29) + zuur (EUH031) / (R31)	☐	☐	☐	☒	☒	☐	☐
Ernstige brandwonden (H314) / (R35)	☒	☒	☒	☐	☐	☒	☐
Gevaar voor gezondheid op langere termijn							
Kankerverwekkend of kanker niet uitgesloten (H350, H350i, H351) / (R40, R45, R49)	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐

Teratogeen (H361d, H360D) / (R61 , R63) en schade aan vruchtbaarheid (H361f, H360F) / (R60 , R62) , beide (H361fd, H360FD , H360Df , H360Fd)	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Mutageen (H341, H340) / (R46)	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Schade aan bep organen (H371, H372, H370) bij herh of langd. blootstelling (H373)	☐	☐	☐	☒	☐	☐	☐
Ernstige onherstelbare effecten (mogelijks) (R39, R68), Gezondheidsschade bij langdurige blootstelling (R48)	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐

Bijkomende opmerkingen voor bepaalde producten:

Andere risico's verbonden aan het experiment

- ☒ Verbranden, bevroren (☒ hoge of lage temperaturen, ☐ cryogene stoffen, ...)
- ☒ Implosie, explosie (☒ hoge drukken, ☐ lage drukken, ☐ onderdruk, ...)
- ☒ Brand (☐ ovens, ☒ verwarmingsspiralen, ☐ bunzenbrander, ☐ oliebaden ...)
- ☐ Niet-ioniserende straling (☐ NMR, ☐ lasers, ☐ UV-lampen, ...)
- ☐ Elektrocutie (☐ naakte contacten, ☐ vochtige omgeving, ☐ hoge vermogens, ...)
- ☐ Valgevaar (☐ opstellingen op hoogte, ☐ in de hoogte, ☐ moeilijk bereikbaar, ...)
- ☐ Biologisch risico (☐ pathogene μ -organismen, ☐ GGO, ☐ cellen, ☐ bloed, ☐ proefdieren, ...)
- ☐ Ioniserende straling (X-stralen, radio-isotopen, ...)
- ☒ De kans bestaat dat bij een ernstig incident **NIET** zelfstandig alarm kan gegeven worden (bv. gebruik van zeer toxische dampen of gasen, explosierisico, aanwezigheid verstikkend gas, ...)
- ☐ Andere:

Voorzorgsmaatregelen toe te passen

Nummer Dealexperiment*	1	2	3	4	5
Collectieve beschermingsmiddelen					
- Gesloten systeem	☐	☐	☐	☐	☐
- Zuurkast(trekkast)	☐	☒	☒	☒	☒
- Plaatselijke afzuiging	☒	☐	☐	☐	☐
- Ruimtelijke afzuiging	☒	☒	☒	☒	☒
- Veiligheidsscherm	☐	☐	☐	☐	☐
- Opvangbakken onder opstelling	☐	☐	☐	☐	☐
- Andere:	☐	☐	☐	☐	☐
Individuele beschermingsmiddelen					
- Laboschoort	☒	☒	☒	☒	☒
- Veiligheidsbril	veiligheidsbril (artnr. 18042)	veiligheidsbril (artnr. 18042)	veiligheidsbril (artnr. 18042)	veiligheidsbril (artnr. 18042)	veiligheidsbril (artnr. 18042)
- Handschoenen:	nitrile (M artnr.15929, L artnr. 15930, XL artnr. 15931)	nitrile (M artnr.15929, L artnr. 15930, XL artnr. 15931)	nitrile (M artnr.15929, L artnr. 15930, XL artnr. 15931)	nitrile (M artnr.15929, L artnr. 15930, XL artnr. 15931)	nitrile (M artnr.15929, L artnr. 15930, XL artnr. 15931)
- Maskers:	wegwerpstofmasker P3 (artnr. 16236)	Kies een item.	Kies een item.	Kies een item.	Kies een item.
- Wegwerp hygiëne haarnetje	☐	☐	☐	☐	☐
- Andere:	☐	☐	☐	☐	☐

Specifieke**preventiemaatregelen**

- ☒ controle werking zuurkast
- ☐ controle glaswerk op barsten
- ☐ bevestigen spanringen aan koelslangen
- ☐ automatisch uitschakelen verwarmingssysteem bij defecte koeling
- ☐ overdrukbeveiligingssysteem
- ☐ brandblusser voor metaalbranden (D-blusser) aanwezig
- ☐ zuurstofkit aanwezig (verplicht bij het werken met cyaniden)
- ☒ detector met alarm bij werken met giftige of brandbare gassen
- ☐ aanwezigheid gasmasker met specifieke filters (interventie)
- ☐ aanwezigheid calciumgluconaatzalf (werken met waterstoffluoride)
- ☐ interventiekit aanwezig
- ☐ specifiek neutralisatieproduct aanwezig nl.
- ☒ invullen en opsturen formulier doorloopproeven (zie <https://admin.kuleuven.be/vgm/intranet/AntenneDoorloopproeven.html>)
- ☐ aanwezigheid van een 2^{de} persoon in de buurt vereist
- ☐ automatisch alarmsysteem (bv. dodemansalarm)

Andere:

Werkpraktijken

- ☒ Toepassen Code Goede Laboratoriumpraktijk
<https://admin.kuleuven.be/vgm/intranet/ChemischeVeiligheidCodeGoedeLabopraktijken.html>)
- ☒ Interne opleiding en begeleiding
- ☒ Selectieve inzameling afval – chemisch afval

Bijzondere maatregelen bij storing/falen: beschrijf hoe een noodgeval wordt opgevangen (denk o.a. aan stroomuitval, ventilatie-uitval, uitval watertoevoer, uitval perslucht, uitval gastoevoer, ...)
NVT. Als de stroom uitvalt, stopt de verwarming en stopt de reactie. Ventilatie-uitval heeft geen onmiddellijke impact aangezien de reactoren afgesloten zijn. De reactoren worden pas geopend wanneer de ventilatie in orde is.

* Nummer van het deexperiment zoals weergegeven onder "Lokaalgegevens"

Indien niet alle voorzorgsmaatregelen toegepast kunnen worden, mag het experiment niet starten!

Persoonlijke beschermingsmiddelen kunnen verkregen worden via het aanvraagformulier

(<https://admin.kuleuven.be/vgm/intranet/doc/personen/personenfaanvraagpbm.docx>).

Chemisch afval

Per afvalfractie de categorie van het chemisch afval aangeven.

Afvalfractie	Afvalcategorie	Recipiënt aanwezig
Indien zuivere stoffen:		
	☐ 1 - ☐ 2 - ☐ 3 - ☐ 4 - ☐ 5 - ☐ 6 - ☐ Andere	☐
	☐ 1 - ☐ 2 - ☐ 3 - ☐ 4 - ☐ 5 - ☐ 6 - ☐ Andere	☐
	☐ 1 - ☐ 2 - ☐ 3 - ☐ 4 - ☐ 5 - ☐ 6 - ☐ Andere	☐
	☐ 1 - ☐ 2 - ☐ 3 - ☐ 4 - ☐ 5 - ☐ 6 - ☐ Andere	☐
	☐ 1 - ☐ 2 - ☐ 3 - ☐ 4 - ☐ 5 - ☐ 6 - ☐ Andere	☐
	☐ 1 - ☐ 2 - ☐ 3 - ☐ 4 - ☐ 5 - ☐ 6 - ☐ Andere	☐
Indien mengsels:		
Hoofdcomponent : Water of methanol met aminozuren, reactieproducten	☐ 1 - ☐ 2 - ☒ 3 - ☐ 4 - ☐ 5 - ☐ 6 - ☐ Andere	☒
Hoofdcomponent : met	☐ 1 - ☐ 2 - ☐ 3 - ☐ 4 - ☐ 5 - ☐ 6 - ☐ Andere	☐
Hoofdcomponent : met	☐ 1 - ☐ 2 - ☐ 3 - ☐ 4 - ☐ 5 - ☐ 6 - ☐ Andere	☐
Hoofdcomponent : met	☐ 1 - ☐ 2 - ☐ 3 - ☐ 4 - ☐ 5 - ☐ 6 - ☐ Andere	☐
Hoofdcomponent : met	☐ 1 - ☐ 2 - ☐ 3 - ☐ 4 - ☐ 5 - ☐ 6 - ☐ Andere	☐
Hoofdcomponent : met	☐ 1 - ☐ 2 - ☐ 3 - ☐ 4 - ☐ 5 - ☐ 6 - ☐ Andere	☐
Andere:		
	☐ 1 - ☐ 2 - ☐ 3 - ☐ 4 - ☐ 5 - ☐ 6 - ☐ Andere	☐
	☐ 1 - ☐ 2 - ☐ 3 - ☐ 4 - ☐ 5 - ☐ 6 - ☐ Andere	☐

Opmerkingen / vragen:

Bezorg dit formulier aan uw VGM-antennecoördinator en leidinggevende .

De VGM-antennecoördinator bezorgt deze melding aan de Dienst VGM indien producten van klasse E4 met vrijgave voorkomen.

Advies Dienst VGM

Vulgariserende samenvatting

Tot op heden kent het merendeel van alle chemicaliën zijn oorsprong in de petrochemie. Om te streven naar een duurzame toekomst, moeten aardolie en -gas geleidelijk aan vervangen worden door hernieuwbare bronnen. Amino-zuren, de bouwblokken van proteïnen, komen in aanmerking als hernieuwbare bron voor de productie van stikstofhoudende chemicaliën. Alle amino-zuren bezitten namelijk minstens één stikstofhoudende aminogroep (-NH_2) en één zuurstofrijke carboxylzure groep (-COOH). Ze zijn momenteel voornamelijk beschikbaar via fermentatie door micro-organismen. Een alternatief is de isolatie van proteïnen uit al dan niet eetbaar plantenmateriaal, uit slachtafval of uit andere zijstromen. Deze geïsoleerde proteïnen kunnen altijd opgesplitst worden in afzonderlijke amino-zuren, maar het scheidingsproces van de twintig verschillende amino-zuren is nog niet optimaal. Een analogie kan gemaakt worden met een bouwwerk uit LEGO[®]. Het bouwwerk kan relatief eenvoudig worden afgebroken tot individuele LEGO[®]-blokjes. Het vervolgens sorteren van de blokjes per kleur of soort, gebeurt iets moeizamer.

In deze masterproef werd gezocht naar een katalysator die het mogelijk maakt om amino-zuren om te vormen naar amines. Amines bezitten, net als amino-zuren, een aminogroep, maar niet langer de zuurstofrijke carboxylzure groep. Ze worden gebruikt voor de synthese van geneesmiddelen, pesticiden *etc.* Er zijn twee mogelijke manieren om amines uit amino-zuren te maken. Een eerste manier is door de carboxylzure groep van het molecuul af te knippen. De tweede manier is door de zuurstof uit de carboxylzure groep te halen en deze om te vormen naar een methylgroep (-CH_3). De eerste optie noemt men een decarboxylatie (DCO) en de tweede een hydrodeoxygenatie (HDO).

De DCO van amino-zuren was een groot succes. De katalysator die dit verwezenlijkte bestaat uit het actieve element ruthenium. Als modelsubstraat werd gewerkt met het aminozuur L-valine in water als milieuvriendelijk solvent. De optimale reactiecondities om van dit aminozuur de carboxylzure groep af te knippen, zijn bij 150°C , met een hoge druk van waterstofgas en een zekere hoeveelheid fosforzuur (één tot twee moleculen fosforzuur per molecuul L-valine). De HDO van amino-zuren was voorlopig geen succes. Extra onderzoek is nodig.