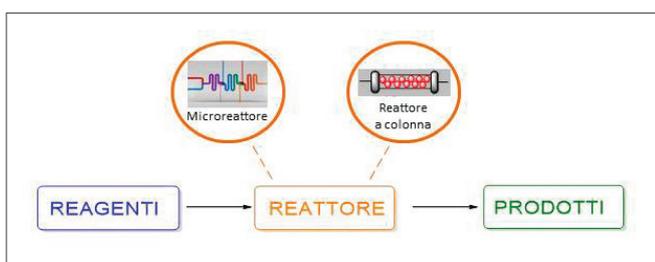




MARTINA LETIZIA CONTENTE^A, LUCIA TAMBORINI^B
^ASCHOOL OF CHEMISTRY, UNIVERSITY OF NOTTINGHAM (UK)
^BDIPARTIMENTO DI SCIENZE FARMACEUTICHE (DISFARM)
 UNIVERSITÀ DI MILANO
 LUCIA.TAMBORINI@UNIMI.IT

MICROREATTORI E BIOCATALISI: COME MINIMIZZARE IL DIVARIO TRA RICERCA ACCADEMICA E INDUSTRIA

Negli ultimi due decenni, la tecnologia dei microreattori ha cambiato il paradigma nella sintesi organica sia su scala di laboratorio che di produzione e sta recentemente ricevendo sempre maggiore attenzione anche nel campo della biocatalisi. Grazie ai vantaggi dei microreattori, quali il rapido e accurato trasferimento di massa e di calore, i piccoli volumi di reazione e i brevi percorsi di diffusione, è possibile selezionare in modo più rapido ed economico i substrati e le condizioni di reazione e sviluppare dei metodi di immobilizzazione adeguati per l'uso di biocatalizzatori in continuo. Inoltre, la progettazione di processi biocatalizzati in continuo integrati con sistemi di analisi e purificazione consente di scalare le biotrasformazioni in modo più efficiente e riproducibile. Nel complesso, queste caratteristiche possono colmare il divario tra la ricerca accademica e l'uso su larga scala dei biocatalizzatori.



La tecnologia della sintesi a flusso continuo (*flow chemistry*) si è dimostrata nel corso degli anni estremamente vantaggiosa in diversi processi chimici [1]. La miniaturizzazione è una caratteristica importante della *flow chemistry* e la disponibilità sul mercato di micro e mesoreattori è aumentata negli ultimi anni, sebbene possano essere assemblati anche semplicemente sfruttando parti di strumentazione per GC o LC. I microreattori sono spesso dispositivi a chip o reattori tubulari con diametro interno compreso tra 10 μm e 500 μm , mentre reattori con canali di diametro superiore (da 500 μm a pochi millimetri) vengono in genere classificati come mesoreattori [2-5]. Il capil-

lare o microcanale, in genere in vetro, plastica o metallo, rappresenta l'ambiente di reazione. I microreattori possiedono un rapporto area superficiale/volume (area specifica) elevato, compreso tra 5.000 e 50.000 m^2/m^3 , e questo consente che i trasferimenti di massa e di calore siano estremamente efficienti, il flusso sia laminare (**numero di Reynolds** basso), la miscelazione sia limitata alla diffusione, e che il controllo della temperatura sia rapido ed efficace. D'altra parte, le dimensioni ridotte dei capillari comportano alcune problematiche, in quanto il volume di produzione è limitato e possono verificarsi perdite di pressione e occlusione dei canali [6, 7]. Il blocco dei canali dovuto alla presenza di solidi, sia come prodotti di reazione che come materiali di partenza non solubilizzati, può essere ridotto al minimo mediante l'uso di ultrasuoni, che possono disperdere gli aggregati quando applicati in adeguati livelli di energia e frequenza, oppure aggiungendo un opportuno co-solvente [8, 9]. I mesoreattori hanno volumi nell'ordine di millilitri, possiedono aree specifiche tra 100 e 10.000 m^2/m^3 e





hanno una maggiore portata e minori cadute di pressione, sebbene presentino proprietà inferiori in termini di trasferimento di calore e di miscelazione rispetto ai microreattori.

Negli ultimi anni, l'industria ha cominciato ad investire nella tecnologia della sintesi a flusso continuo per diversi motivi, da ricollegarsi soprattutto all'aumento della sicurezza, a un migliore controllo dei parametri di processo, alla possibilità di integrare sistemi di analisi e di effettuare diversi passaggi sintetici in sequenza e al trasferimento più rapido e semplice da scala di laboratorio a scala industriale, sfruttando l'approccio del 'numbering up' (mettendo reattori in serie e/o in parallelo). Inoltre, la *flow chemistry* offre la possibilità di ridurre i tempi e i costi necessari per ottenere dati di base per lo sviluppo di un processo. Nel 2016, la Food and Drug Administration (FDA) ha

approvato per la prima volta il passaggio dal processo di produzione tradizionale in batch ad un processo continuo per il farmaco anti-HIV Prezista (darunavir) [10], incoraggiando i produttori a investire in processi in continuo innovativi ed efficienti che possano consentire una produzione più rapida, riproducibile ed ecosostenibile.

D'altra parte, negli ultimi cinquant'anni, i progressi negli studi dei fondamenti della biocatalisi e delle sue applicazioni in vari settori industriali [11, 12] hanno fatto emergere la biocatalisi come una tecnologia chiave per la chimica sostenibile ed è stata sfruttata in numerosi processi produttivi per l'ottenimento di prodotti farmaceutici, aromi, profumi, cosmetici e sostanze chimiche [13]. I biocatalizzatori, sia sotto forma di enzimi isolati che di cellule intere, sono estremamente interessanti per le loro proprietà come la stereo-

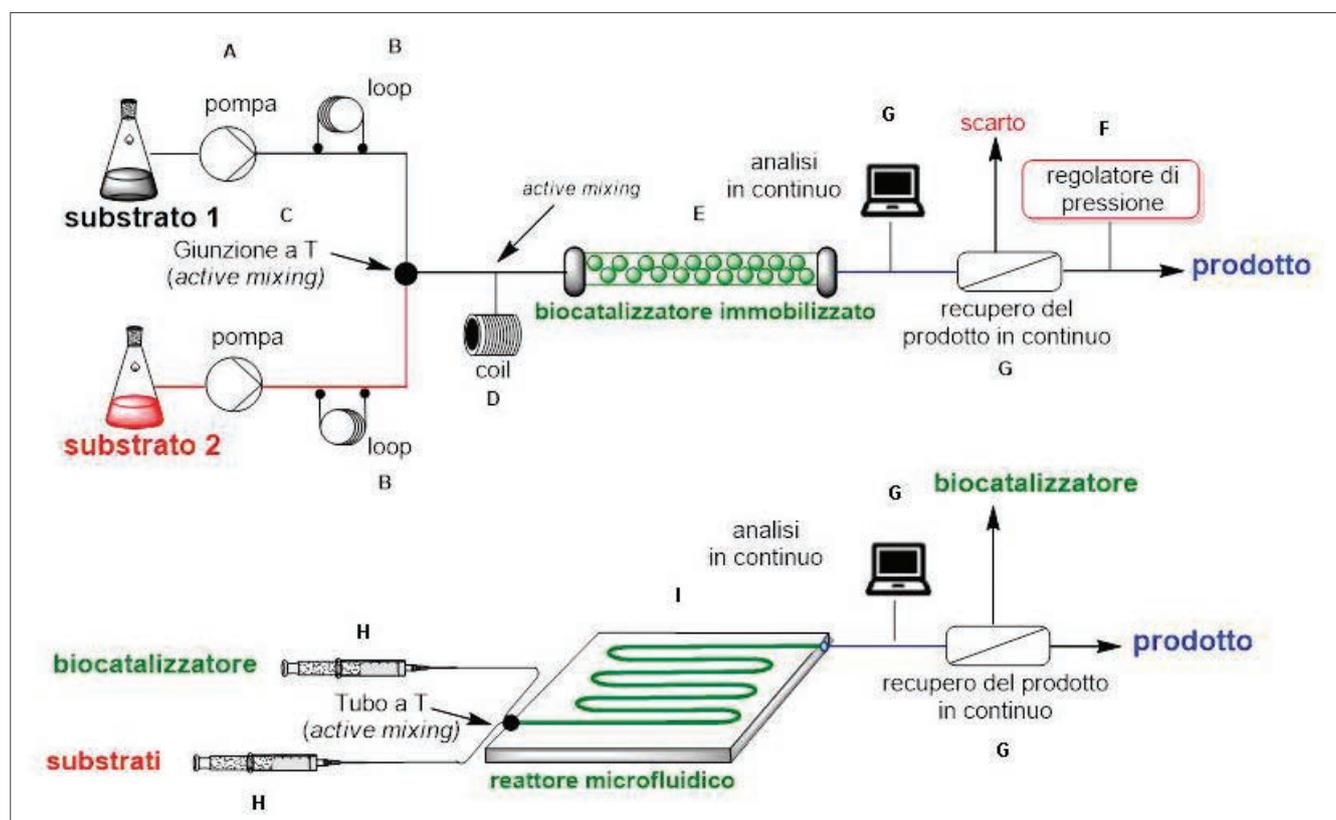


Fig. 1 - [17]: rappresentazione schematica dei principali componenti dei reattori di flusso. (A) Pompe: utilizzate per fornire quantità riproducibili di solventi e reagenti; i tipi più comuni sono pompe a pistoni, peristaltiche, a siringa. (B) Loop: utilizzati per introdurre piccoli volumi di reagenti. (C) Giunzione a T: punto di miscelazione primario, in cui i flussi di reagenti si uniscono (D) Coil: reattore che fornisce una miscelazione omogenea per la reazione. (E) Reattore a colonna: riempito con il biocatalizzatore immobilizzato. (F) Regolatore di pressione: controlla la pressione del sistema. (G) Unità a valle: analisi in linea, operazioni di purificazione, ecc. (H) Pompe a siringa. (I) reattori microfluidici

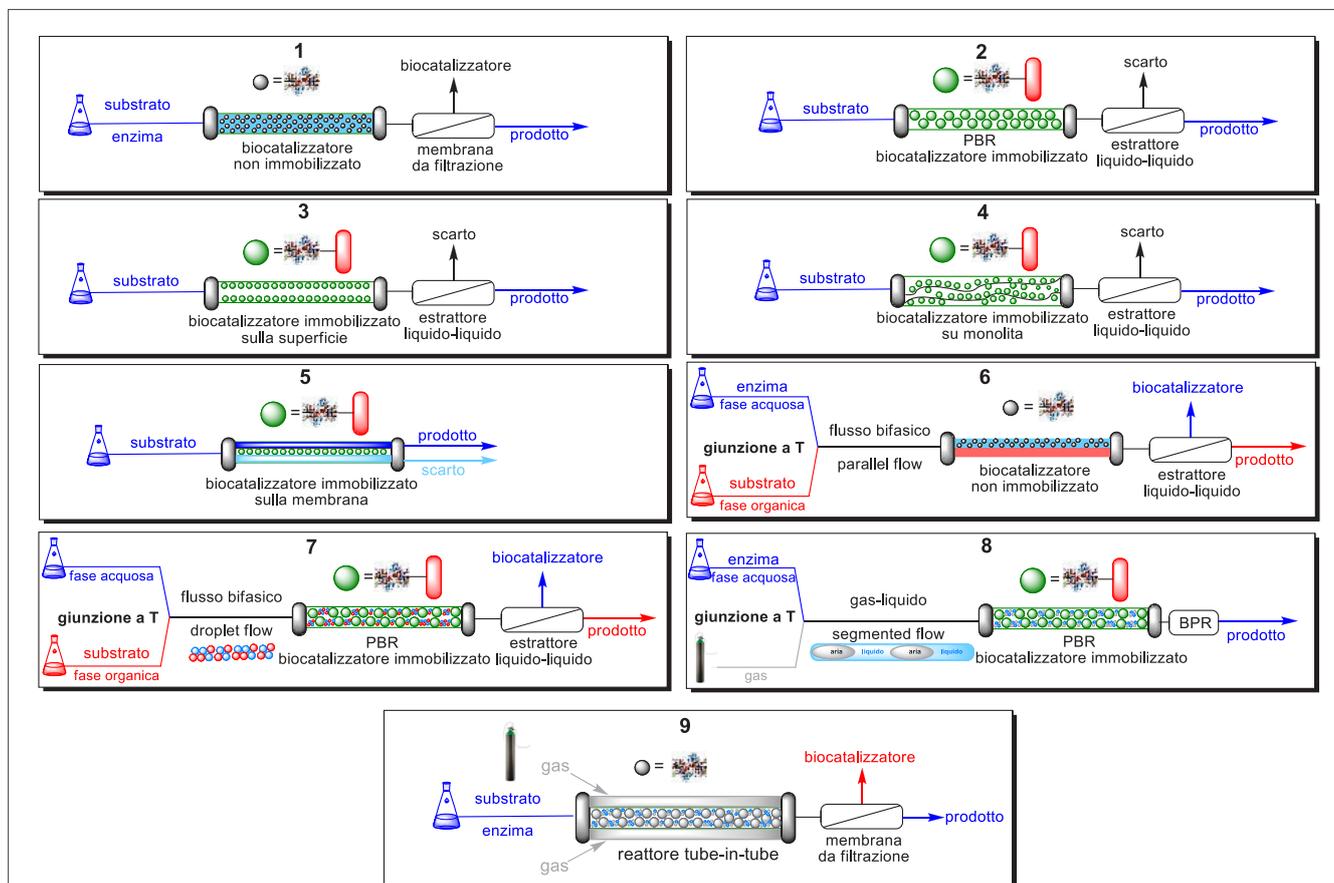


Fig. 2 - [17]: (1) Biocatalizzatore non immobilizzato. (2) Biocatalizzatore immobilizzato. (3) Biocatalizzatore immobilizzato sulla superficie interna del reattore. (4) Biocatalizzatore immobilizzato su monolita. (5) Biocatalizzatore immobilizzato su membrana. (6) Biocatalizzatore non immobilizzato in flusso bifasico (l/l). (7) Biocatalizzatore immobilizzato in flusso bifasico (l/l). (8) Biocatalizzatore immobilizzato in flusso bifasico (g/l). (9) Biocatalizzatore non immobilizzato in reattore tube-in-tube

regio-selettività, le condizioni di reazione blande, la biocompatibilità, e la biodegradabilità. L'introduzione di passaggi biocatalitici nella produzione industriale di prodotti farmaceutici, ad esempio pregabalin [14], il farmaco antidiabetico sitagliptina [15] e l'antivirale boceprevir [16], hanno mostrato un miglioramento significativo nelle prestazioni e nella sostenibilità dei processi produttivi, come risulta evidente da una riduzione del **fattore E** del 79,3% e del 63,1% nel caso, rispettivamente, di pregabalin e boceprevir. In realtà, nei processi biocatalizzati su scala industriale spesso emergono problematiche come la scarsa miscelazione e la presenza di "zone morte" che possono portare a basse conversioni. Questo, ovviamente, può anche avere un grave impatto sulle procedure di isolamento e purificazione del prodotto e sui costi operativi dei processi.

Nonostante l'importanza crescente sia della biocatalisi che della tecnologia della sintesi a flusso continuo, la loro combinazione per lo sviluppo sostenibile di nuovi processi non è ancora stata ampiamente valorizzata, sebbene negli ultimi anni stia ricevendo sempre più attenzione.

Possono essere usati come biocatalizzatori in reattori per *flow chemistry* sia enzimi isolati che cellule intere, in entrambi i casi sia in soluzione (fase omogenea) che immobilizzati (fase eterogenea) (Fig. 1).

Nel caso di reazioni in fase omogenea, il substrato e la soluzione contenente l'enzima vengono iniettati nel reattore e la reazione viene condotta in un flusso continuo di entrambi i reagenti (Fig. 2, configurazione 1). Di conseguenza, la soluzione in uscita contiene sia il prodotto che i substrati eventualmente non reagiti e il biocatalizzatore. Immobilizzando il biocatalizzatore





è possibile riutilizzarlo senza dover effettuare alcuna complicata procedura di isolamento e purificazione dalle miscele post-reazione ed è stato dimostrato, inoltre, che l'immobilizzazione degli enzimi può aumentare significativamente la loro stabilità [18,19]. Per i reattori con biocatalizzatori immobilizzati possono essere utilizzate diverse configurazioni:

- (i) biocatalizzatore immobilizzato su un supporto e impaccato in un reattore a colonna (Packed Bed Reactor, PBR, Fig. 2, configurazione 2). Le tecniche per l'immobilizzazione degli enzimi si sono evolute e ad oggi è disponibile una varietà di protocolli per l'immobilizzazione su supporti diversamente derivatizzati, dalla reticolazione con glutaraldeide all'attacco diretto del catalizzatore su resine epossidiche [20], all'uso innovativo di nano-particelle magnetiche [21-23];
- (ii) biocatalizzatore immobilizzato sulla superficie interna dei capillari (Fig. 2, configurazione 3) [24];
- (iii) biocatalizzatore immobilizzato su un monolita contenuto nel capillare (Fig. 2, configurazione 4) [8];
- (iv) biocatalizzatore immobilizzato su una membrana (Fig. 2, configurazione 5) [25].

Il flusso può essere monofasico o bifasico (segmentato); nel flusso segmentato sono presenti due fasi immiscibili che producono goccioline di soluzione separate (Fig. 2, configurazioni 6-9), in cui la superficie di contatto è elevata. Variando il flusso dei due liquidi, la dimensione e la periodicità dei segmenti possono essere modulate e controllate [26].

Utilizzando enzimi o cellule immobilizzati in micro o mesoreattori si riduce al minimo la perdita di biocatalizzatore, si ottiene una maggiore resa del prodotto per quantità di enzima utilizzato e una maggiore produttività. In primo luogo, questo è dovuto all'elevato valore del rapporto enzima-substrato che risulta da un elevato eccesso *in situ* di molecole di biocatalizzatore rispetto alla concentrazione del substrato e, in secondo luogo, all'alto valore del rapporto superficie-volume. Di conseguenza, anche la produzione su larga scala risulta economicamente più fattibile in apparecchiature significativamente più piccole con una sostanziale riduzione dei tempi di reazione, da ore a pochi minuti, e un miglioramento della resa spazio-temporale, con aumenti fino a 650 volte rispetto ai processi batch [27]. Complessivamente, queste caratteristiche si traducono in una riduzione degli scarti

e dei fabbisogni energetici del processo biocatalitico in continuo, rispetto alla modalità convenzionale in batch.

Il tempo di reazione ovvero il tempo di permanenza del substrato nel reattore può essere facilmente controllato e variato modificando il flusso. Questa peculiarità della sintesi a flusso continuo è particolarmente importante quando si formano prodotti instabili che devono essere rimossi rapidamente dall'ambiente di reazione o quando l'equilibrio della reazione è un fattore che determina la conversione. Il flusso in uscita può essere analizzato in tempo reale (ad esempio UV, LC, GC, spettroscopia di massa) ed inoltre possono essere integrate procedure per l'isolamento dei prodotti come estrazioni liquido-liquido, separazioni di fase ed evaporazione del solvente [28]. L'integrazione di sensori per monitorare condizioni di processo variabili (ad esempio, temperatura, pH, ossigeno disciolto) rappresenta un argomento di ricerca importante; i sensori ottici, in grado di operare in linea, sono particolarmente attraenti, data la loro natura non invasiva, non distruttiva e l'ingombro compatibile con i dispositivi microfluidici [29]. In reazioni in cui alcuni parametri, come l'ossigeno o il pH, possono cambiare, è preferibile un monitoraggio on-line, in quanto fornisce una misura diretta del progresso della reazione. Questa problematica è stata affrontata recentemente con successo da Gruber e collaboratori, che hanno utilizzato un sensore di pH ottico integrato in un microreattore per misurare il pH in più punti del capillare, valutando la progressione di una reazione catalizzata da una tirosin-chinasi (TK-) e una penicillina G acilasi attraverso la regolazione costante del pH nella reazione [30].

L'utilizzo di enzimi isolati sia immobilizzati (Immobilized Enzyme Reactors, IMERs) che liberi (Free Enzyme Reactors, FERs) è più comune poiché presenta indubbi vantaggi rispetto all'approccio con cellule intere [31, 32]. Per esempio, gli enzimi isolati non possiedono la parete cellulare, che rappresenta una barriera aggiuntiva tra substrato e catalizzatore e la cui integrità deve essere preservata, ed è inoltre trascurabile la possibilità che si verifichino reazioni collaterali. L'utilizzo di cellule intere è invece favorevole in quelle reazioni enzimatiche in cui è richiesto un cofattore in quanto può essere rigenerato *in situ* dal metabolismo nativo cellulare. Anche le cellule inte-

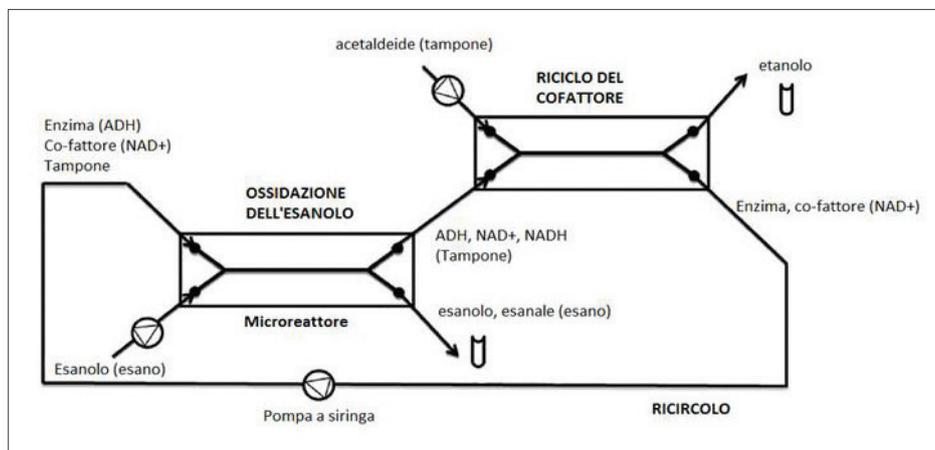


Fig. 3 - [37]: due microchip connessi in serie. L'ossidazione di esanolo avviene nel primo microreattore, la rigenerazione del cofattore nel secondo da cui parte un ricircolo di enzima e cofattore

re possono essere utilizzate in fase omogenea, o, per semplificare il riciclo del biocatalizzatore e le procedure di purificazione a valle, possono essere immobilizzate (Immobilized Whole Cells Reactors, IWCRs) [33]. Molte applicazioni con cellule intere immobilizzate riguardano cellule con attività idrolasica, in particolare nel settore della produzione di biodiesel [34]. In un'altra recente applicazione, il micelio di *Cladosporium cladosporioides* MUT 5506, un ceppo dotato di attività trans-fruttosilasica, è stato usato in sfere di alginato in un IWCR per produrre una nuova miscela di frutto-oligosaccaridi [35]. Cellule intere liofilizzate di *Aspergillus oryzae* sono state utilizzate in solvente organico in un PWCR per la risoluzione cinetica del flurbiprofene [36].

Un esempio molto interessante di enzimi isolati in microreattori (FER) è quello riportato da Šalić e Zelić [37] che riguarda una tra le più rilevanti classi enzi-

matiche, le ossidoreduttasi, in cui viene proposto un nuovo metodo per la produzione di esanale tramite ossidazione di esanolo usando un'aldeide deidrogenasi (ADH) da *Saccharomyces cerevisiae*. L'elevato rapporto superficie-volume, la rapida miscelazione, il migliore trasferimento di calore e quindi la riduzione di energia consumata, il buon controllo dei parametri di processo e l'utilizzo di minime quantità di reagenti (microlitri) sono alcuni dei vantaggi dei microreattori che per-

mettono una migliore produzione di esanale (>99% conversione molare) rispetto ai tradizionali metodi in batch. La rigenerazione di co-fattori, molecole molto costose, è necessaria per rendere il processo catalizzato dalle ossidoreduttasi appetibile dal punto di vista economico e maggiormente sostenibile. In questo caso, la rigenerazione del co-fattore NADH è catalizzata dallo stesso enzima della reazione principale, ma viene utilizzata acetaldeide come co-substrato in quanto poco costosa e facilmente riducibile da parte delle aldeidi deidrogenasi. Il prodotto derivato, l'etanolo, è benigno e facilmente rimovibile. L'ultima fase dello studio è stata focalizzata sullo sviluppo di un sistema integrato con due microreattori collegati in serie. Il primo chip è stato utilizzato per l'ossidazione di esanolo e il secondo per la rigenerazione del co-fattore (Fig. 3). Il NADH rigenerato è stato riutilizzato mediante ricircolo nel primo chip, dove la fase di

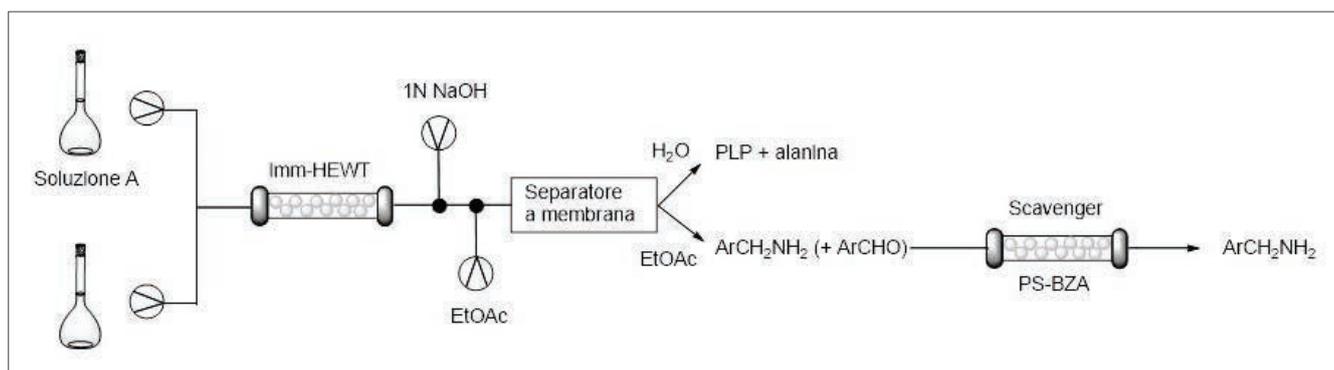


Fig. 4 - [38]: soluzione A: soluzione 20 mM ammino-accettore in tampone fosfato (50 mM, pH 8,0) contenente 0,1 mM PLP; soluzione B: soluzione 1 M L-alanina in tampone fosfato (50 mM, pH 8,0). T = 37 °C, P = atm



ossidazione è stata effettuata in continuo per tre giorni senza l'aggiunta di co-fattore fresco.

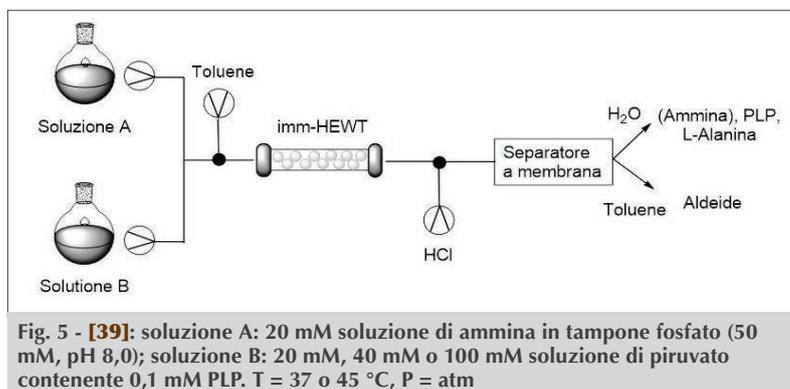
Nel 2017, per la prima volta, una transaminasi *S*-selettiva (HEWT), derivante dal batterio alo-adattato *Halomonas elongata* è stata utilizzata in flusso (IMER) risultando estremamente efficiente sia per la sintesi di ammine (Fig. 4) [38], che per la reazione opposta, vale a dire l'ossidazione di ammine aromatiche nei corrispondenti derivati carbonilici interessanti come aromi e fragranze (Fig. 5) [39]. L'amminotransferasi da *H. elongata*, precedentemente caratterizzata [40], è stata selezionata in quanto mostra una notevole stabilità che è stata ulteriormente incrementata mediante immobilizzazione su resine epossidiche. La strategia di immobilizzazione sfrutta il poly-His-tag fuso all'enzima per un'interazione selettiva con una resina epossidica precedentemente derivatizzata con un metallo bivalente, il cobalto(II) [41]. L'utilizzo di enzimi estremofili che tollerano differenti tipologie e concentrazioni di solventi ed un vasto range di temperatura e pH ha permesso la biotrasformazione di un'ampia gamma di substrati. Tali enzimi hanno permesso lo sviluppo di un'efficiente piattaforma biocatalitica per la bioproduzione di ammine e aldeidi in reattori a flusso continuo. In entrambi i casi i prodotti sono stati ottenuti con rese eccellenti (90-99%), con tempi di reazione brevissimi (1-15 minuti) rispetto ai metodi tradizionali, grazie all'elevata concentrazione di biocatalizzatore (5 mg/grammo di resina) disponibile all'interno del reattore a colonna utilizzato (PBR). Nella sintesi di ammine, il processo è stato successivamente implementato effettuando una basificazione seguita da un'estrazione con solvente organico e separazione di fase in linea (Fig. 4). Qualsiasi traccia di aldeide eventualmente non reagita, presente nella fase organica, è stata intrappolata da una

seconda colonna contenente benzilammina immobilizzata (PS-BZA). Questa strategia ha permesso il facile recupero delle ammine sintetizzate mediante evaporazione del solvente organico, semplificando e accelerando in modo significativo le procedure di *work-up*.

Per l'ossidazione di ammine nelle corrispondenti aldeidi in ambiente acquoso, l'uso di piruvato come ammino-accettore è risultato estremamente favorevole e il suo

prodotto di scarto, l'amminoacido naturale *L*-alanina, è completamente benigno e può essere facilmente recuperato rendendo il sistema ulteriormente eco-sostenibile. Sedici ammine diverse sono state ossidate rapidamente nelle corrispondenti aldeidi e, in tutti i casi, è stato osservato un incremento di produttività di almeno 4 volte, rispetto alle reazioni condotte in batch. Per evitare che alcuni prodotti venissero trattenuti dalla matrice polimerica del supporto, è stato sviluppato un sistema bifasico liquido/liquido, utilizzando toluene come solvente organico (Fig. 5). A seguito dell'acidificazione, a valle del processo, i prodotti sono stati estratti in linea e recuperati mediante separazione come composti puri. La presenza di toluene non ha avuto effetti sull'efficienza catalitica dell'enzima.

In conclusione, il costante progresso nella comprensione dei fattori coinvolti nella catalisi enzimatica, unito ad un crescente bisogno di alternative maggiormente ecosostenibili rispetto alla catalisi tradizionale, ha generato uno scenario in rapida evoluzione in cui la biocatalisi si sta rapidamente adattando alle problematiche della produzione industriale, offrendo soluzioni alternative ai chimici di sintesi e, contemporaneamente, stimolando gli ingegneri nella costruzione di reattori innovativi. La biocatalisi in flusso può ridurre drasticamente i costi delle trasformazioni chimiche e questo è chiaramente, a livello industriale, molto allettante. I microreattori sono inoltre molto utili nella selezione delle condizioni ottimali di reazione e nella valutazione preliminare degli aspetti economici della biocatalisi prima dell'implementazione dei processi di scale-up. Infine, la possibilità di riciclare il cofattore ed, eventualmente, intrappolarlo nel reattore possono rappresentare sviluppi molto importanti nell'espansione a livello industriale dei processi biocatalitici.



BIBLIOGRAFIA

- [1] T. Wirth (Ed.), *Microreactors in Organic Chemistry and Catalysis*, 2nd Ed., Wiley-VCH, Weinheim, 2013.
- [2] X. Yao *et al.*, *Renew. Sustain. Energy Rev.*, 2015, **47**, 519.
- [3] T. Honda *et al.*, Development of enzymatic reactions in miniaturized reactors, in *Applied Bioengineering: Innovations and Future Directions*, T. Yoshida (Ed.), Wiley, 2017, 99.
- [4] K.S. Elvira *et al.*, *Nat. Chem.*, 2013, **5**, 905.
- [5] S.G. Newman, K.F. Jensen, *Green Chem.*, 2013, **15**, 1456.
- [6] D. Barrow *et al.*, Properties and use of microreactors. In *Microreactors in Organic Chemistry and Catalysis* (2nd Ed.), T. Wirth (Ed.), Wiley, 2013, 1.
- [7] R. Wohlgenuth *et al.*, *Trends Biotechnol.*, 2015, **33**, 302.
- [8] J. Sedelmeier *et al.*, *Org. Lett.*, 2010, **12**, 3618.
- [9] R.L. Hartman *et al.*, Patent US 8763623 B2, 2014.
- [10] P. Kleinebudde *et al.* (Eds.), *Continuous Manufacturing of Pharmaceuticals*, Hoboken, NJ, Wiley, 2017.
- [11] K. Faber *et al.*, in *Biocatalysis in Organic Synthesis* (Vols 1-3), Thieme-Verlag, 2014.
- [12] U.T. Bornscheuer *et al.*, *Nature*, 2012, **485**, 185.
- [13] H.P. Meyer *et al.*, *Catal. Sci. Technol.*, 2013, **3**, 29.
- [14] C.A. Martinez *et al.*, *Org. Process Res. Dev.*, 2008, **12**, 392.
- [15] C.K. Savile *et al.*, *Science*, 2010, **329**, 305.
- [16] T. Li *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, 2012, **134**, 6467.
- [17] L. Tamborini *et al.*, *Trends Biotechnol.*, 2018, **36**, 73.
- [18] D. Alsafadi, F. Paradisi, *Mol. Biotechnol.*, 2014, **56**, 240.
- [19] R.C. Rodrigues *et al.*, *Chem Soc Rev.*, 2013, **42**, 6290.
- [20] R. Singh *et al.*, *Int. J. Mol. Sci.*, 2013, **14**, 1232.
- [21] I.I. Junior, *et al.*, *Org. Process Res. Dev.*, 2012, **16**, 1098.
- [22] R.C. Rodrigues *et al.*, *Chem. Soc. Rev.*, 2013, **42**, 6290.
- [23] A. Šalić *et al.*, *J. Flow Chem.*, 2016, **6**, 27.
- [24] J.M. Bolivar, B. Nidetzky, *Chem. Today*, 2013, **31**, 50.
- [25] L. Hajba, A. Guttman, *J. Flow Chem.*, 2015, **6**, 8.
- [26] M. Bolivar, B. Nidetzky, *Chem. Today*, 2013, **31**, 50.
- [27] E. Jones, *Chem. Eng. Res. Des.*, 2012, **90**, 726.
- [28] S.V. Ley *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 2015, **54**, 3449.
- [29] P. Gruber *et al.*, *Lab Chip.*, 2017, **17**, 2693.
- [30] P. Gruber *et al.*, *Biotechnol. J.*, 2017, **12**, 1600475.
- [31] H. Zhou *et al.*, *FEBS J.*, 2011, **278**, 3796.
- [32] M. Miyazaki, H. Maeda, *Trends Biotechnol.*, 2006, **24**, 463.
- [33] M. Polaković *et al.*, *Biotechnol. Lett.*, 2017, **39**, 667.
- [34] A. Guldhe *et al.*, *Renew. Sustain. Energy Rev.*, 2015, **41**, 1447.
- [35] P. Zambelli *et al.*, *Food Chem.*, 2016, **190**, 607.
- [36] L. Tamborini *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, 2013, **54**, 6090.
- [37] A. Šalić *et al.*, *RSC Adv.*, 2014, **4**, 41714.
- [38] M. Planchestainer *et al.*, *Green Chem.*, 2017, **19**, 372.
- [39] M.L. Contente *et al.*, *ChemCatChem* 2017, **9**, 3843.
- [40] L. Cerioli *et al.*, *J. Mol. Cat. B: Enzym.* 2015, **120**, 141.
- [41] C. Mateo *et al.*, *Biotechnol. Bioeng.*, 2001, **76**, 269.

Micoreactors and Biocatalysis: Bridging the Gap between Academic Research and Industry

In the last two decades, microreactor technology has changed the paradigm in the laboratory and production scale organic synthesis, and is recently receiving increased attention also in the field of biocatalysis. The benefits of microflow devices, such as rapid mass and heat transfer, small reaction volumes and short diffusion pathways, results in faster and cheaper selection of substrates and media, and in the rapid development of suitable immobilization methods for continuous biocatalyst use. Furthermore, the use of highly efficient reactor designs integrated with in-line analysis and purification procedures enables faster and more reliable scale-up of biocatalysed reactions. Overall, these feature can bridge the gap between the academic research and industrial use of biocatalysts.