



Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I
Abbildungsverzeichnis	V
Tabellenverzeichnis	XII
Abkürzungs- und Symbolverzeichnis	XIV
1 Einleitung und Zielsetzung	1
2 Grundlagen	3
2.1 Kaffee	3
2.1.1 Rohkaffee.....	4
2.1.2 Röstkaffee.....	6
2.2 Chlorogensäuren	8
2.2.1 Chlorogensäuren des Kaffees.....	10
2.2.1.1 Physiologische Wirkung von Chlorogensäuren.....	13
2.2.1.2 Biosynthese von Chlorogensäuren.....	15
2.2.2 Chlorogensäurelactone.....	17
2.2.2.1 Physiologische Wirkung von Chlorogensäurelactonen.....	19
2.3 Gegenstromverteilungschromatographie	20
2.3.1 High-Speed Countercurrent Chromatography (HSCCC).....	21
2.3.2 pH-zone-refining countercurrent chromatography.....	25
2.3.3 Low-Speed Rotary Countercurrent Chromatography (LSRCCC).....	27
2.3.3.1 Spiral-Coil Low-Speed Rotary Countercurrent Chromatography (SCCCC).....	28
2.3.4 Zirkulardichroismus.....	30
2.3.5 Antioxidative Aktivität mittels TEAC-Assay.....	31
3 Ergebnisse und Diskussion	32
3.1 Gegenstromverteilungschromatographische Methoden zur Trennung von Roh- und Röstkaffeeextrakten	32
3.2 Entwicklung von 2-Phasen-Fließmittelsystemen für die High-Speed Countercurrent Chromatography	33
3.2.1 HSCCC-Trennung von Robusta Rohkaffeeextrakt mit dem Fließmittelsystem TBME/ACN/BuOH/Wasser (2:1,5:2:5,5, v/v/v/v).....	36
3.2.2 HSCCC-Trennung von Robusta Rohkaffeeextrakt mit dem Fließmittelsystem EtOAc/BuOH/Wasser (1:4:5, v/v/v).....	39



3.2.3	HSCCC-Trennung von Robusta Rohkaffeeextrakt mit dem Fließmittelsystem TBME/IsoProp/Wasser (2:2:3, v/v/v)	40
3.2.4	HEMWat-Fließmittelsysteme mit Trifluoressigsäurezusatz	42
3.2.5	Einfluss verschiedener TFA-Konzentrationen auf die Trenneigenschaften des Fließmittelsystems Hexan/Ethylacetat/Methanol/TFA _(aq) (2,5:5:2,5:5, v/v/v/v)	45
3.2.5.1	Einsatz von Pentafluorpropionsäure und Heptafluorbuttersäure als Ionenpaarreagenzien	47
3.2.5.2	Variation des Fließmittels Hexan/EtOAc/MeOH/TFA 0,1 % _(aq) durch Austausch des Methanols gegen Aceton.....	49
3.2.6	Isolierung von mono-Caffeoyl- und Feruloylchinasäuren mittels HSCCC	51
3.2.7	Fraktionierung von Robusta Rohkaffeeextrakt mittels Low-Speed Rotary Countercurrent Chromatography (LSRCCC)	54
3.2.7.1	HSCCC-Trennung der Extrusion-Fractionen der LSRCCC 1	56
3.2.8	Fraktionierung von Robusta Rohkaffeeextrakt mittels Spiral-Coil Countercurrent Chromatography (SCCCC).....	58
3.2.8.1	Fraktionierung von Robusta Rohkaffeeextrakt mittels SCCC unter Verwendung des Fließmittelsystems TBME/ACN/BuOH/Wasser 2:1,5:2:5,5 v/v/v/v	58
3.2.8.2	HSCCC-Trennung der Fraktionen F2 und 3 der SCCC 1 und F2 der SCCC 2...60	
3.2.8.3	HSCCC-Trennung der Coil-Fractionen FC 3 und FC 4 der SCCC 1 und FC 4 der SCCC 2	61
3.2.8.4	Fraktionierung von Robusta Rohkaffeeextrakt mittels SCCC unter Verwendung des Fließmittelsystems Hexan/EtOAc/MeOH/TFA 0,1 % _(aq)	63
3.2.9	pH-zone-refining HSCCC und SCCC zur Fraktionierung von Robusta Rohkaffeeextrakt	66
3.2.9.1	pH-zone-refining SCCC zur Fraktionierung von Robusta Rohkaffeeextrakt.....	69
3.2.10	Isolierung von Chlorogensäurelactonen mittels HSCCC	71
3.2.10.1	Herstellung und Aufreinigung geeigneter Extrakte aus Modellröstungsmischungen und Röstkaffee für die HSCCC.....	71
3.2.10.2	HSCCC-Trennungen von Modellröstungsmischungen	75
3.2.10.3	HSCCC-Trennung der Lactonfraktion aus Röstkaffee	76
4	Strukturaufklärung ausgewählter Verbindungen	78
4.1.1	Strukturaufklärung von 3-O-Caffeoyl-5-O-Feruloylchinasäure	78
4.1.2	Strukturaufklärung von 3-O-Caffeoyl- γ -lacton und 3-O-Caffeoyl-epi- γ -lacton.....	84
4.1.3	Antioxidatives Potential von Chlorogensäuren und Chlorogensäurelactonen.....	90
5	Entwicklung einer HPLC-DAD Methode zur qualitativen und quantitativen Bestimmung von Chlorogensäuren und Derivaten	92



5.1	Entwicklung einer Methode zur Extraktion von Chlorogensäuren und Chlorogensäurelactonen aus Roh- und Röstkaffee	92
5.1.1	Auswirkung der Extraktionsmethode auf den Chlorogensäurelactongehalt	95
5.2	Entwicklung einer HPLC-DAD Methode zur qualitativen und quantitativen Bestimmung von Chlorogensäuren und Derivaten	97
5.2.1	Trennung von Röstkaffeeextrakten	101
5.3	Quantitative Untersuchung der Chlorogensäureverteilung von Arabica und Robusta Rohkaffees.....	105
5.3.1	Statistische Auswertung der Chlorogensäuregehalte in Bezug auf Sorte und Herkunft	111
5.3.2	Identifizierung einer möglichen Markersubstanz in Arabica Rohkaffee mittels LC-MS ⁿ	114
5.3.2.1	Abschätzung der Gehalte von 11-O-Glucopyranosyl-cafestol-2-on	116
5.3.3	Carboxyatractyligene in Arabica und Robusta Rohkaffee	118
5.3.4	Abschätzung der Gehalte von Carboxyatractyligeninen in Arabica und Robusta Rohkaffee mittels LC-ESI-MS ⁿ	120
5.4	Untersuchung von verschiedenen Pflanzenmaterialien auf die Eignung zur Isolierung von Chlorogensäuren mittels CCC	122
6	Zusammenfassung.....	124
7	Material und Methoden	126
7.1	Probenmaterial	126
7.1.1	Rohkaffees	126
7.1.2	Pflanzenmaterial	127
7.2	Chemikalien und Lösungsmittel	127
7.3	Geräte und Parameter.....	128
7.3.1	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC)	128
7.3.1.1	Fließmittel, Gradienten und Säulen für HPLC und LC-MS/MS	129
7.3.2	Massenspektrometrie	131
7.3.3	Countercurrent Chromatography (CCC)	134
7.3.3.1	High-speed countercurrent chromatography	134
7.3.3.2	Low-speed rotary countercurrent chromatography (LSRCCC)	134
7.3.3.3	Spiral-Coil LSRCCC	135
7.3.4	NMR-Spektroskopie	135
7.3.5	Weitere Geräte und Software	136



7.4	Präparative und analytische Methoden	138
7.4.1	Herstellung der Extrakte	138
7.4.1.1	Herstellung von Extrakten aus Roh-, Röstkaffee und anderem Pflanzenmaterial zur qualitativen und quantitativen Bestimmung von Chlorogensäuren und lactonen	138
7.4.1.2	Herstellung von Extrakten zur Quantifizierung von Carboxyatractylosiden und 11-O-Glucopyranosyl-cafestol-2-on in Rohkaffee	139
7.4.1.3	Herstellung von Extrakten aus Rohkaffee für präparative Zwecke	139
7.4.1.4	Herstellung von Extrakten aus Röstkaffee zur Isolierung von Chlorogensäurelactonen	139
7.4.2	Bestimmung der Trockenmasse der Rohkaffeeproben.....	139
7.4.3	Bestimmung des Koffeingehalts von Kaffeeproben	140
7.4.4	Bestimmung der antioxidativen Aktivität mittels TEAC-Assay	140
7.4.5	Bestimmung der Verteilungskoeffizienten (k-Werte) für die CCC	141
7.4.6	Bestimmung des optischen Drehwertes	141
8	Physikalisch-chemische Charakterisierung der isolierten Verbindungen	142
9	Literatur.....	160
10	Anhang.....	174
10.1	Chlorogensäuregehalte (mg/100g, dmb) der untersuchten Rohkaffees	174
10.2	IR-Spektrum der 3-O-Caffeoyl-5-O-Feruloylchinasäure	178