

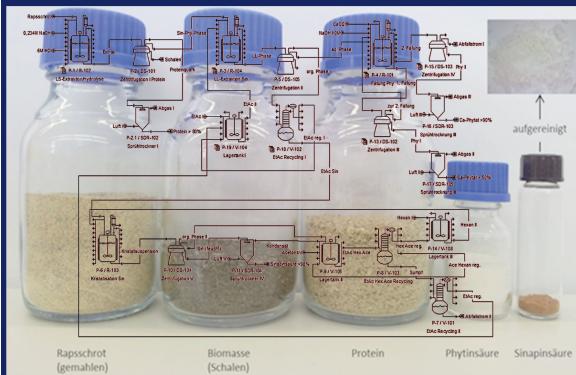


Alexander Thiel (Autor)

Downstream processing von Biomolekülen aus nachwachsenden Rohstoffen

Alexander Thiel

Downstream processing von Biomolekülen aus nachwachsenden Rohstoffen



Cuvillier Verlag Göttingen
Internationaler wissenschaftlicher Fachverlag

<https://cuvillier.de/de/shop/publications/6946>

Copyright:

Cuvillier Verlag, Inhaberin Annette Jentzsch-Cuvillier, Nonnenstieg 8, 37075 Göttingen, Germany

Telefon: +49 (0)551 54724-0, E-Mail: info@cuvillier.de, Website: <https://cuvillier.de>

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung und Zielsetzung	1
2 Stand der Technik	3
2.1 Raps und Weizen	3
2.1.1 Wertschöpfungskette Rapsextraktionsschrot und -presskuchen.....	3
2.1.2 Proteine.....	3
2.1.3 Polyphenole	4
2.1.4 Phytinsäure	5
2.1.5 Proteine, Sinapinsäure und Phytinsäure.....	6
2.1.6 Weitere Anwendungen	6
2.1.7 Polyphenolgewinnung aus Weizen.....	7
2.2 Lipophilisierung von Polyphenolen.....	8
3 Theoretische Grundlagen	11
3.1 Polyphenole.....	11
3.1.1 Phenolcarbonsäuren	12
3.1.1.1 Hydroxyzimtsäuren	12
3.1.1.2 Hydroxybenzoësäuren	13
3.1.2 Flavonoide	13
3.1.3 Stilbene	14
3.1.4 Lignane	15
3.1.5 Eigenschaften der Polyphenole.....	16
3.1.5.1 Physiologische Wirkung	16
3.1.5.2 Oxidation und Polymerisierung.....	17
3.1.6 Polyphenole im Raps	17
3.1.7 Polyphenole in Weizen	18
3.2 Phytinsäure.....	20
3.2.1 Eigenschaften der Phytinsäure.....	21
3.3 Rapsproteine	22
3.3.1 Eigenschaften von Rapsproteinen.....	23
3.4 Statistische Versuchsplanung	24
3.5 Adsorption und Ionentausch	28
3.5.1 Adsorptionsisothermen.....	28
3.5.1.1 Langmuir-Isotherme	29
3.5.1.2 BET-Isotherme	30

3.5.2 Kinetik	30
3.5.2.1 Kinetik Pseudo-Erster-Ordnung.....	31
3.5.2.2 Kinetik Pseudo-Zweiter-Ordnung	31
3.5.2.3 Weber-Morris-Plot.....	32
3.5.3 Chromatographie	32
3.5.3.1 Kenngrößen der Chromatographie.....	33
3.5.3.2 Durchbruchskurven von Festbettadsorbern.....	37
3.6 Extraktion	39
3.6.1 Flüssig-Flüssig-Extraktion	39
3.6.2 Fest-Flüssig-Extraktion.....	40
3.6.3 Kinetik der Extraktion	41
3.6.3.1 Fest-Flüssig-Extraktion.....	41
3.6.3.2 Flüssig-Flüssig-Extraktion	42
3.6.4 Kinetik und Aktivierungsenergie der Hydrolyse während der Extraktion	43
3.7 Kristallisation	45
3.8 Immobilisierung von Enzymen	47
4 Material	51
4.1 Nachwachsende Rohstoffe	51
4.1.1 Raps	51
4.1.2 Weizen.....	54
4.2 Partikelsysteme	56
4.2.1 Zeolithe	56
5 Ergebnisse zur Aufarbeitung von Wertstoffen aus Rapsschrot und Weizen.....	59
5.1 Stabilität und Löslichkeit von Polyphenolen während der Extraktion	59
5.1.1 Einfluss von Polyphenoloxidases	59
5.1.2 Analytik der Oxidationsprodukte.....	62
5.1.3 Maßnahmen gegen die enzymatische Oxidation	64
5.1.3.1 Inhibierung der POD durch Zugabe von Ascorbinsäure.....	64
5.1.3.2 Entfernung der POD durch Adsorption	65
5.1.4 Einfluss der Extraktionsparameter.....	67
5.1.4.1 Einfluss des pH-Wertes und der Temperatur.....	67
5.2 Fest-Flüssig-Extraktion von Polyphenolen aus Rapsschrot.....	72
5.2.1 Parameteroptimierung der Batchextraktion durch DoE	72
5.2.1.1 Lösemittel-Feststoff-Verhältnis	74
5.2.1.2 pH-Wert.....	75

5.2.1.3	Temperatur	75
5.2.1.4	Zeit.....	76
5.2.1.5	Optimale Parameter	76
5.2.2	Kinetik der Extraktion sowie Degradation und Hydrolyse während der Extraktion	77
5.2.3	Vergleich von organischen Lösemitteln und der Ultraschall-gestützten Extraktion	82
5.2.4	Kreuzstromextraktion	83
5.2.5	Gegenstromextraktion	85
5.2.6	Modellbildung der Extraktion	89
5.2.7	Bestimmung des Stoffaustauschkoeffizienten K _s	92
5.2.8	Bestimmung des Stoffübergangskoeffizienten k _a für Sinapinsäure	93
5.2.9	Modellierung der Extraktion.....	96
5.2.9.1	Überprüfung der Anwendbarkeit auf die Gegenstromextraktion	97
5.3	Hydrolyse von Rapsschrot.....	99
5.3.1	Chemische Hydrolyse	100
5.3.2	Enzymatische Hydrolyse	102
5.3.3	Vergleich der chemischen mit der enzymatischen Hydrolyse	106
5.3.4	Enzymatische Hydrolyse mit Immobilisatien im Batch und Festbett.....	107
5.3.4.1	Einsatz im komplexen System Rapsschrot.....	112
5.3.4.2	Einsatz im Festbett.....	114
5.4	Partikeleinsatz zur Gewinnung der Polyphenole, Phytinsäure und Protein.....	116
5.4.1	Polyphenole	116
5.4.1.1	Adsorber-Screening	117
5.4.1.2	Einsatz der Zeolithe in Rapsschrotextrakten	122
5.4.1.3	Bindung von Phytinsäure und Proteinen an Zeolithen	127
5.4.1.4	Aufklärung der Mechanismen an Zeolithen	128
5.4.1.5	Einsatz in der Chromatographie	132
5.4.2	Phytinsäure	135
5.4.2.1	Charakterisierung von Purolite A200	135
5.4.2.2	Einsatz von Purolite A200 in Rapsschrotextrakten	138
5.4.2.3	Bindung von Sinapinsäure und Protein an Purolite A200	141
5.4.2.4	Einsatz von Purolite A200 in der Chromatographie	142
5.4.3	Proteine.....	147

5.5	Flüssig-Flüssig Extraktion der Wertstoffe	151
5.5.1	Screening von Lösemitteln	151
5.5.2	Kinetik der Extraktion mit Ehtylacetat und Pentanol.....	154
5.5.3	Anwendung der LL-Extraktion zur Gewinnung von Sinapinsäure aus hydrolysierten Rapsschrotextrakten	155
5.5.4	Optimierung des Lösemittelverhältnis und der Stufenzahl	157
5.5.5	Extraktion von Phytinsäure und Proteinen.....	158
5.6	Phytinsäuregewinnung über ein Fällungsverfahren.....	160
5.7	Herstellung von hochreiner Sinapinsäure	164
5.7.1	Entfernung der Fettsäuren.....	165
5.7.2	Verdrängungskristallisation und Reinheit der Sinapinsäure.....	166
5.8	Verfahrensentwicklung zur Aufarbeitung aller Biomoleküle	171
5.9	Wirtschaftlichkeitsbetrachtung mittels Super Pro Designer	175
5.9.1	Prozessfließbilder aus SuperPro Designer	177
5.9.2	Vergleich der Verfahrenskombinationen.....	177
5.9.3	Vergleich der chemischen und enzymatischen Hydrolyse	182
5.10	Zusammenfassung	184
6	Aufarbeitung von Ferulasäure aus Weizen	187
6.1	Partikelgrößenverteilung der Weizensorten Safrania und Indigo.....	187
6.2	Fest-Flüssig-Extraktion der Polyphenole.....	189
6.2.1	Vergleich mit organischen Lösemitteln	190
6.3	Hydrolyse des Weizens	191
6.4	Optimierung der Ferulasäureausbeute durch Klassieren	194
6.5	Aufarbeitung der Ferulasäure	197
6.6	Prozessintegration	199
6.7	Zusammenfassung	201
7	Lipophilisierung von Polyphenolen	203
7.1	Charakterisierung der Lipophilie	204
7.2	Parameteroptimierung mittels Design of Experiments.....	205
7.3	Veresterungsreaktion mit verschiedenen Fettalkoholen und -säuren	210
7.4	MS-und LogP-Analytik der Produkte	212
7.5	Antioxidative Aktivität der Prdodukte.....	214
7.6	Zusammenfassung	216
8	Abschlussdiskussion und Ausblick	219
9	Literaturverzeichnis	225
Anhang A: Analytische Methoden.....		249

Anhang A1: HPLC und LC-MS Analytik von Polyphenolen	249
Anhang A1.1: Sinapin-Analytik	250
Anhang A1.2: LC-MS Analytik von Polyphenolen	251
Anhang A2: HPLC Analytik von Phytinsäure	252
Anhang A3: HPLC Analytik von Zuckern.....	253
Anhang A4: GC-MS/FID Analytik von Fettsäuren und Sinapinsäure	254
Anhang A5: HPLC Analytik zur Bestimmung des Log P Wertes.....	254
Anhang A6: Folin-Ciocalteau-Test (FC-Test) zur Quantifizierung von Polyphenolen.....	256
Anhang A7: Farbassay zur Quantifizierung von Phytinsäure.....	256
Anhang A8: Bradford-Assay zur Quantifizierung von Proteinen	258
Anhang A9: IR (Infrarot)-Analytik	259
Anhang A9: Elementaranalyse (CHNS)	259
Anhang A10: XPS (X-ray Photoelectron Spectroscopy) - Analytik.....	260
Anhang A11: Pulverdiffraktometrie/ XRD (X-Ray Diffraction)	260
Anhang A12: Pyknometrie	261
Anhang A13: BET, spezifische Oberfläche und Porengröße	262
Anhang A14: Partikelgrößenverteilung.....	263
Anhang A15: PCD (Particle Charge Detector) Potential	263
Anhang A16: UV-VIS Analytik.....	264
Anhang A17: Fluoreszenz Analytik	265
Anhang A18: Gel-Elektrophorese (SDS-PAGE)	266
Anhang A19: NMR (Nuclear Magnetic Resonance)-Analytik.....	267
Anhang B: Aktivitäts-Assays.....	268
Anhang B1:Enzymaktivitäts-Assay.....	268
Anhang B1.1: Enzymaktivitäts-Assay Lipase.....	268
Anhang B1.2: Enzymaktivitäts-Assay Tyrosinase	268
Anhang B1.3: Enzymaktivitäts-Assay Laccase	269
Anhang B1.4: Enzymaktivitäts-Assay Ferulasäureesterase.....	269
Anhang B2: Antioxidative Aktivität von Polyphenolen.....	269
Anhang B2.1: FRAP – Assay	270
Anhang B2.2: TEAC – Assay	271
Anhang B2.3: DPPH–Assay	271
Anhang C: Material und Methoden.....	272
Anhang C1: Enzyme	272
Anhang C2: Partikelsysteme	273
Anhang C3: Immobilisierungsmethoden.....	276

Anhang C3.1: Partikelsystem Sepabeads® EC-EP:	276
Anhang C3.2: Partikelsystem Sepabeads® EC-OD	277
Anhang C3.3: Partikelsystem Sepabeads® EC-EA.....	277
Anhang C3.4: Partikelsysteme EXM 1907, EXM 2305, EXM 2256 und EXM 2178....	279
Anhang D: Ergebnisdaten.....	280
Anhang D1: Messdaten zu den Zeolithen EXM 2200 und EXM 2202.....	280
Anhang D1.1: XRD-Messungen	280
Anhang D1.2: XPS-Messung.....	281
Anhang D1.3: BET Messung	281
Anhang D1.4: Dichtemessung mit dem Pyknometer.....	282
Anhang D2: Einfluss von Ascorbinsäure auf die Enzymatische Oxidation	282
Anhang D3: Ergebnisse zum DoE der Rapsschrotextraktion	283
Anhang D5: Lösungsansatz des Modells zur Fest-Flüssig-Extraktion	284
Anhang D6: Berechnete Konzentrationsprofile.....	288
Anhang D7: Bindungsmechanismen der Polyphenole an XAD und PVPP	290
Anhang D8: Getestete Elutionsmittel für Sinapin.....	290
Anhang D9: Partikelgrößenverteilung der Pulver und Granulate von EXM 2202	291
Anhang D10: Sorptionsisothermenvergleich Phytinsäure.....	291
Anhang D11: Regenerierbarkeit der Zeolithe	292
Anhang D12: Bindung von Sinapinsäure an Purolite A200.....	292
Anhang D13: Übersicht der Ergebnisse zur parallelen Aufarbeitung mit Purolite A200	293
Anhang D14: Ergebnisse zum Screening der LM zur LL-Extraktion	294
Anhang D15: CHNS und AAS Analytik der Sinapinsäure und Phytinsäure	295
Anhang D16: Ergebnisse der NMR-Analytik	299
Anhang D17: Ergebnisse des Adsorber-Screenings zur Fettsäureabtrennung.....	303
Anhang D18: Verfahrensfließbilder aus SuperPro Designer.....	304
Anhang D19: Ergebnisse zur Wirtschaftlichkeit.....	305
Anhang D20: Ergebnisse zum DoE der Weizenextraktion.....	306
Anhang D21: Ergebnisse zum DoE der Lipophilisierung	308
Anhang E: Verwendete Geräte	310
Anhang F: Verwendete Chemikalien, Puffer und Lösungen	311
Anhang G: Angaben zur Person.....	315
Anhang G1: Betreute Arbeiten	315
Anhang G2: Veröffentlichungsliste	316
Anhang G3: Lebenslauf	318