

Berichtsblatt

1. ISBN oder ISSN	2. Berichtsart Schlussbericht BMBF-Verbundvorhaben	
3a. Titel des Berichts Aufreinigung von Biopolymeren mittels Presseelektrofiltration; Teilprojekt 3 Chemische Begleitanalytik		
3b. Titel der Publikation		
4a. Autoren des Berichts (Name, Vorname(n)) Kirschhoefer, Frank; Prechtel, Carolin; Brenner-Weiß, Gerald; Obst, Ursula	5. Abschlussdatum des Vorhabens 31.01.2012	
	6. Veröffentlichungsdatum	
4b. Autoren der Publikation (Name, Vorname(n))	7. Form der Publikation	
	8. Durchführende Institution(en) (Name, Adresse) Institut für Funktionelle Grenzflächen (IFG), Karlsruher Institut für Technologie, KIT Campus Nord Hermann-von-Helmholtz-Platz 1 76344 Eggenstein-Leopoldshafen	
13. Fördernde Institution (Name, Adresse) Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) 53170 Bonn	9. Ber. Nr. Durchführende Institution	
	10. Förderkennzeichen *) Fkz 0315332 C	
	11a. Seitenzahl Bericht 45	
	11b. Seitenzahl Publikation	
16. Zusätzliche Angaben keine	12. Literaturangaben 9	
	14. Tabellen 14	
	15. Abbildungen 25	
17. Vorgelegt bei (Titel, Ort, Datum)		
18. Kurzfassung Das Gesamtziel des beantragten Forschungsvorhabens bestand in der Aufreinigung und Aufkonzentrierung von technisch gewonnenen Biopolymeren (Chitosan, Hyaluronsäure und Polyhydroxybutyrat) mit Hilfe des innovativen Verfahrens der Presseelektrofiltration (PEF). Im Rahmen dieses Verbundvorhabens war das Ziel des vorliegenden Teilprojektes die Entwicklung und Etablierung der projektbegleitenden Analytik inklusive der hierfür notwendigen Probenaufbereitung. Mittels dieser Verfahren sollten dabei überprüft werden, ob die einzelnen Prozessstufen der Elektrofiltration Auswirkungen auf die Struktur, Zusammensetzung und damit Qualität der genannten Biopolymere haben würde. Für die zu untersuchenden Biopolymere Chitosan, Hyaluronsäure, Polyhydroxybutyrat wurden unterschiedliche analytische Nachweis- und Bestimmungsverfahren entwickelt und auf die jeweilige Fragestellung hin optimiert. So konnte beispielsweise mit Hilfe der Raman-Spektroskopie gezeigt werden, dass sich bei allen drei Biopolymeren keine signifikanten, strukturellen Veränderungen durch die Presseelektrofiltration (Variation von Druck und Spannung) ergeben. Durch die für jedes Biopolymer durchgeführten umfangreichen qualitativen Analysen wurden wichtige, projektbezogene Kenndaten erhalten, die eine nahezu vollständige Charakterisierung der Biopolymere erlauben und darüber hinaus eine wertvolle Datengrundlage für andere Arbeitsgruppen bilden. Neben den qualitativen Methoden wurden für jedes Biopolymer spezifische, quantitative Verfahren entwickelt, die eine Gehaltsbestimmung auch aus komplexer Matrix heraus erlauben (Beispiel PHB). Mit Hilfe weiterer analytischen Daten (z.B. Zetapotential, Gehaltsbestimmung der Feed-Lösungen bzw. Filterkuchen) konnte für jedes Biopolymer die optimalen Verfahrensparameter ermittelt werden.		
19. Schlagwörter Presseelektrofiltration, Biopolymere, Chitosan, Hyaluronsäure, Polyhydroxybutyrat, chemische Analytik und Charakterisierung		
20. Verlag	21. Preis	

*) Auf das Förderkennzeichen des BMBF soll auch in der Veröffentlichung hingewiesen werden.

Document Control Sheet

1. ISBN or ISSN	2. type of document (e.g. report, publication) Final report
3. title Electrofiltration as an alternative step for biopolymer purifications; Subproject 3: chemical analysis	
4. author(s) (family name, first name(s)) Kirschhoefer, Frank; PrechtI, Carolin; Brenner-Weiß, Gerald; Obst, Ursula	5. end of project 31.01.2012
	6. publication date
	7. form of publication
8. performing organization(s) (name, address) Institut für Funktionelle Grenzflächen (IFG), Karlsruher Institut für Technologie, KIT Campus Nord Hermann-von-Helmholtz-Platz 1 76344 Eggenstein-Leopoldshafen	9. originator's report no.
	10. reference no. BMBF - 0315332 C
	11. no. of pages 45
12. sponsoring agency (name, address) Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) 53170 Bonn	13. no. of references 9
	14. no. of tables 14
	15. no. of figures 25
16. supplementary notes	
17. presented at (title, place, date)	
18. abstract The overall aim of the cooperative project was to verify the purification of selected biopolymers, such as chitosan, hyaluronic acid and polyhydroxy butyrate (PHB) by the process of electrofiltration. The aim of the subproject "Chemical Analysis" was to establish the chemical analysis including the necessary sample pre-treatment steps, e.g. extraction and chromatography etc. Using these analytical tools, the behaviour of the biopolymers regarding changes in structure, composition and quality during different electrofiltration steps was investigated. Different analytical methods could be established and optimised according to the analytical requirements for certain compounds. Thus, a Raman spectroscopy protocol could be developed for the verification of putative structural changes of chitosan and other polymers during electrofiltration. As the results show, no significant alterations occur by varying parameters like pressure or voltages or both. Based on the comprehensive qualitative analysis important characteristics of the biopolymers during the electrofiltration process could be acquired and the obtained data were made available to other project partners. In addition to qualitative analysis protocols for the quantitative analysis of the Polymers were developed enabling the determination of these compounds, like PHB even from complex matrices. These investigations resulted in a dataset allowing the optimisation of electrofiltration parameters for each Biopolymer.	
19. keywords Electrofiltration, biopolymers, chitosan, hyaluronic acid, polyhydroxy butyrate, chemical analysis and characterisation	
20. publisher	21. price

I. Kurze Darstellung der Wissenschaftlich-technischen Ergebnisse

1. Aufgabenstellung und Projektziele

Das Ziel des beantragten Forschungsvorhabens bestand in der Aufreinigung und Aufkonzentrierung von technisch gewonnenen Biopolymeren (Chitosan, Hyaluronsäure und Polyhydroxybutyrat) mit Hilfe des innovativen Verfahrens der Presselektrofiltration (PEF).

Im vorliegenden Teilprojekt 3 wurden projektbezogene Analyseverfahren zur Charakterisierung der genannten Biopolymere entwickelt und diese zur Überprüfung einzelner Prozessstufen bei der Aufbereitung mittels PEF eingesetzt.

2. Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde

Zu Beginn des Projekts standen dem Projektpartner KIT-BVT eine Laborfilterkammer sowie vorhergehende Forschungsarbeiten zum Verfahren PEF zur Verfügung (siehe Schlussbericht KIT-BVT). Jedoch war eine Optimierung notwendig, um das Verfahren in einen Pilotmaßstab zu übertragen, in der es ökonomisch arbeitete und somit für eine industrielle Anwendung interessant erschien.

3. Arbeitsplan

- ❖ Ausarbeitung und Etablierung von Methoden zur Bestimmung der Molekulargewichte von Chitosan, Hyaluronsäure (HAS) und Polyhydroxybutyrat (PHB) auf Grundlage der Größenausschlusschromatographie (SEC).

- ❖ Qualitätskontrolle einzelner Biopolymer-Chargen durch Ermittlung weiterer Stoffdaten wie Deacetylierungsgrad (nur Chitosane), Löslichkeit, Viskosität, Asche- und Proteingehalt.

- ❖ Quantitative Überprüfung von Chitosan-Lösungen vor PEF mit Hilfe des Muzzarelli-Tests.

- ❖ Bestimmung von PHB-Gehalten mittels Gaschromatographie (GC-MS) und Thermogravimetrie (TG).

- ❖ Strukturelle Charakterisierung von Chitosan, Hyaluronsäure und PHB vor und nach PEF mittels IR- und Ramanspektroskopie.

- ❖ Ermittlung des pH-abhängigen Zetapotentials von Hyaluronsäure-Lösungen und PHB-haltigen Zelllysaten.

4. Wissenschaftlicher und technischer Stand

4.1. Biopolymere

Chitosan

Neben Cellulose ist das Aminoglycan Chitin das am weitesten verbreitete natürliche Polysaccharid. Es befindet sich beispielsweise im Stützskelett von Insekten und Krebsen und ist wesentlicher Bestandteil der Zellwände zahlreicher Pilzspezies (Schlegel, 1992).

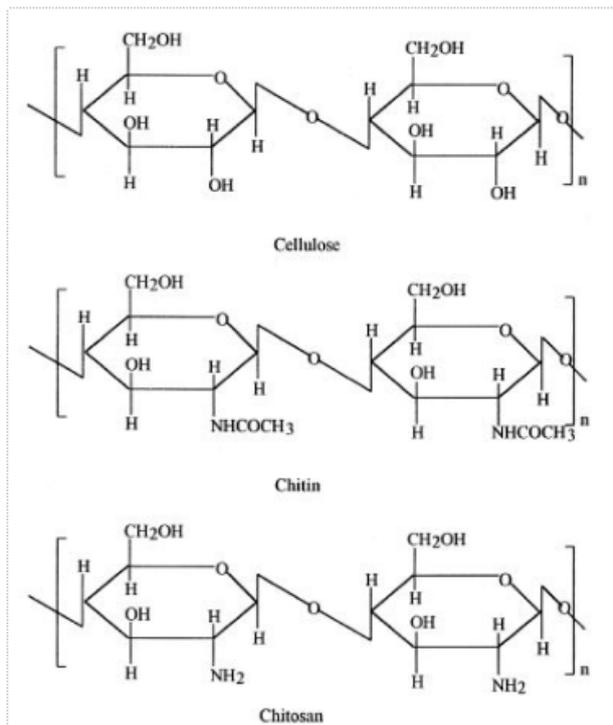


Abb. 1: Chemische Struktur von Cellulose, Chitin und Chitosan (Majeti *et al.*, 2000)

Das heterogene und lineare Biopolymer Chitosan (deacetylierte Form von Chitin) ist natürlicherweise nur in einigen Pilzgattungen der Klasse *Zygomyceta* (Ordnung *Mucorales*) zu finden (Steinbüchel *et al.*, 2005). Es besteht aus Glucosamin- und Acetylglucosamin-Untereinheiten die jeweils drei reaktive funktionelle Gruppen besitzen.

Die Gewinnung von Chitosan kann zum einen direkt aus der Zellwand von *Mucorales* Pilzarten erfolgen, da neben Chitin auch in vivo produziertes Chitosan als Gerüstsubstanz eingelagert wird. Daneben kann durch die chemische Deacetylierung von Chitin, das in großen Mengen als Abfallprodukt in Form von Krabbenschalen anfällt, Chitosan gewonnen werden.

Aus Krustentieren wird hochmolekulares Chitosan mit einem Molekulargewicht von 150-600 kDa gewonnen. Aus Pilzmycelien extrahiertes Chitosan ist dagegen niedermolekular bei durchschnittlich 1 bis 100 kDa (Ondruschka *et al.* 2008).