

**Eine praxisbezogene Labormethode zur  
Ermittlung der Wirksamkeit von Pektinasen  
für die Sekundärmembran-Minderung  
bei Membrantrenn-Prozessen**

Vom Fachbereich Chemie  
der Carl von Ossietzky Universität Oldenburg  
zur Erlangung des Grades eines  
Doktors der Naturwissenschaften  
(Dr. rer. nat.)  
angenommene

DISSERTATION

vorgelegt von  
**Sonja Stroot**  
aus  
Schüttorf

Erstreferent: Prof. Dr. D. Schuller

Koreferent: apl. Prof. Dr. Axel Brehm

Tag der Disputation: 07. Dezember 2001

**Eine praxisbezogene Labormethode zur  
Ermittlung der Wirksamkeit von Pektinasen  
für die Sekundärmembran-Minderung  
bei Membrantrenn-Prozessen**

Vom Fachbereich Chemie  
der Carl von Ossietzky Universität Oldenburg  
zur Erlangung des Grades eines  
Doktors der Naturwissenschaften  
(Dr. rer. nat.)  
angenommene

DISSERTATION

vorgelegt von  
**Sonja Stroot**  
aus  
Schüttorf

Erstreferent: Prof. Dr. D. Schuller

Koreferent: apl. Prof. Dr. Axel Brehm

Tag der Disputation: 07. Dezember 2001

Die dieser Arbeit zugrundeliegenden Experimente wurden in der Zeit von September 1997 bis September 1999 im Fachbereich Chemie der Carl von Ossietzky Universität Oldenburg in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. D. Schuller durchgeführt und in der Emsland-Stärke GmbH in Emlichheim.

Herrn Prof. Dr. D. Schuller danke ich für die interessante Themenstellung und für die Unterstützung im Verlauf der Arbeit.

Herrn apl. Prof. Dr. A. Brehm danke ich für die Übernahme des Zweitgutachtens.

An dieser Stelle sei nicht zuletzt all den anderen gedankt, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Eine praxisbezogene Labormethode zur  
Ermittlung der Wirksamkeit von Pektinasen  
für die Sekundärmembran-Minderung  
bei Membrantrenn-Prozessen

---

<b>Inhaltsverzeichnis</b> .....	<b>I</b>
<b>Abbildungsverzeichnis</b> .....	<b>V</b>
<b>Tabellenverzeichnis</b> .....	<b>VIII</b>
<b>1 Einleitung</b> .....	<b>1</b>
<b>2 Die Kartoffelstärke-Gewinnung</b> .....	<b>3</b>
2.1 Einsatzbereich und Produktpalette der Stärke.....	3
2.2 Kartoffelanbau.....	4
2.3 Produktionsprozesse in der Emsland-Stärke.....	5
2.3.1 Kartoffelreinigung.....	10
2.3.2 Kartoffelzerkleinerung.....	10
2.3.3 Fruchtwasserabtrennung.....	11
2.3.4 Extraktion.....	12
2.3.5 Raffination.....	13
2.3.6 Kartoffelfruchtwasser-Behandlung.....	14
2.3.7 Kartoffelprotein-Gewinnung.....	19
2.3.8 PPL-Gewinnung (Potato-Protein-Liquid).....	19
<b>3 Einsatz von Membrantechniken</b> .....	<b>21</b>
3.1 Allgemeine und Theoretische Grundlagen zur Membrantechnik.....	21
3.1.1 Membranfiltration.....	21
3.1.2 Stofftransport durch Membranen.....	23
3.1.3 Theoretische Aspekte von Konzentrationspolarisation und Fouling.....	25
3.1.4 Praktische Aspekte von Konzentrationspolarisation und Fouling.....	29
3.1.5 Beurteilung von Membranfouling hinsichtlich des Mediums KFW.....	31
3.2 Einsatz der Ultrafiltration.....	32
3.3 Einsatz der Querstrom Filtrationsanlage „Konti“.....	33
<b>4 Die Kartoffel</b> .....	<b>34</b>
4.1 Inhaltsstoffe der Kartoffel.....	34
4.1.1 Weitere Inhaltsstoffe der Kartoffel.....	35
4.1.2 Inhaltsstoffe des Kartoffelfruchtwassers.....	36
<b>5 Enzyme</b> .....	<b>38</b>
5.1 Anwendbarkeit von Enzymen zur Prozessoptimierung.....	38
5.1.1 Historischer Exkurs.....	38
5.2 Allgemeine Eigenschaften von Enzymen.....	39
5.3 Enzymkinetik.....	40
5.3.1 Aktivierungsenergie.....	40

---

5.3.2	Reaktionsgeschwindigkeit.....	42
5.3.3	Enzymaktivität.....	43
5.3.4	Enzyminhibitoren .....	44
5.4	Technische Anwendung von Enzympräparaten.....	46
5.4.1	Die industrielle Herstellung von Fruchtsäften.....	46
5.4.2	Daten zu technischen Enzymen.....	47
<b>6</b>	<b>Pektin.....</b>	<b>49</b>
6.1	Vorkommen von Pektin .....	49
6.2	Struktur von Pektin.....	52
6.2.1	Eigenschaften von Pektinen.....	54
6.2.2	Geliereigenschaften von Pektinen .....	55
6.3	Pektinspaltende Enzyme.....	57
6.3.1	Biochemie der Pektinasen .....	57
6.3.2	Klassifizierung der Pektinenzyme .....	59
6.3.3	Esterasen.....	60
6.3.4	Glycosidasen .....	61
6.3.5	Weitere Enzyme mit Pektinsubstrat-Wirkung.....	65
6.3.6	Enzymanalyse und Enzymeinheiten.....	66
6.3.7	Beurteilung der verschiedenen Pektinasen hinsichtlich der Anwendbarkeit zur Kartoffelfruchtwasser-Behandlung.....	68
<b>7</b>	<b>Galakturonsäure.....</b>	<b>70</b>
7.1.1	Physikalisch-chemische Eigenschaften von Galakturonsäure.....	71
<b>8</b>	<b>Detektion .....</b>	<b>72</b>
8.1	HPLC.....	72
8.1.1	Theorie, Geräte und Geräteparameter.....	74
<b>9</b>	<b>Problemstellung und Zielsetzung.....</b>	<b>76</b>
<b>10</b>	<b>Probenvorbereitung .....</b>	<b>78</b>
10.1	Beurteilung der zu leistenden Trennaufgabe.....	78
10.2	Anwendbarkeit der Festphasenextraktion auf die Matrix KFW .....	79
<b>11</b>	<b>Detektion .....</b>	<b>80</b>
11.1	HPLC.....	80
<b>12</b>	<b>Versuche im Labormasstab.....</b>	<b>82</b>
12.1	Eichreihe des Galakturonsäure-Standards.....	82
12.2	Standardaddition von Galakturonsäure in KFW .....	84
12.2.1	Erstellen einer Eichreihe für Galakturonsäure in KFW.....	85
12.2.2	Erstellen einer Eichreihe für Galakturonsäure in KFW.....	87
12.3	Enzymatische Versuche am Pektinstandard.....	89

---

12.3.1	Erstellen einer Modellösung zur Methodenentwicklung .....	89
12.3.2	Versuchsdurchführung .....	90
12.3.3	Einzelergbnisse aus den Enzym Versuchen am Pektinstandard .....	91
<b>12.4</b>	<b>Enzymatische Versuche an Kartoffelfruchtwasser.....</b>	<b>99</b>
12.4.1	Auswahlkriterien der Matrix Kartoffelfruchtwasser .....	99
12.4.2	Versuchsdurchführung .....	100
12.4.3	Einzelergbnisse aus den Enzym-Versuchen am Kartoffelfruchtwasser.....	101
12.4.4	Erreichen der Maximalen Produktmenge bei Einwirkung von Enzymen auf den Pektinstandard 106	
12.4.5	Erreichen der Maximalen Produktmenge bei Einwirkung von Enzymen auf KFW.....	109
<b>13</b>	<b>Einsatz der Ultrafiltration .....</b>	<b>112</b>
13.1	Anlagenbeschreibung .....	113
13.1.1	Fliessbild der Ultrafiltrations-Anlage .....	113
13.2	Betrieb der Ultrafiltrations-Anlage mit Kartoffelfruchtwasser .....	116
13.2.1	Versuchsdurchführung mit KFW im kontinuierlichen Betrieb .....	116
<b>14</b>	<b>Diskussion der Ergebnisse .....</b>	<b>122</b>
14.1	Erfahrungen mit dem Einsatz kommerziell verfügbarer Enzymgemische auf Kartoffelfruchtwasser in halbtechnischen Versuchen mit der Ultrafiltrationsanlage. ....	126
<b>15</b>	<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>127</b>
<b>16</b>	<b>Anhang .....</b>	<b>129</b>
16.1	Festphasenextraktion .....	129
16.1.1	Probenaufarbeitung von KFW mit Hilfe der Festphasenextraktion.....	131
16.2	Herstellerangaben zu den verwendeten Enzymen.....	133
16.3	Beispielchromatogramme.....	145
16.3.1	Beispielchromatogramme der Eichreihe mit Galakturonsäure .....	145
16.3.2	Beispielchromatogramme der Standardaddition in KFW Teil 1 .....	147
16.3.3	Beispielchromatogramme der Standardaddition in KFW Teil 2 .....	150
16.3.4	Beispielchromatogramme für enzymatisch behandelten Pektinstandard.....	153
16.3.5	Beispielchromatogramme für enzymatisch behandeltes Kartoffelfruchtwasser.....	157
16.4	Versuche an der Ultrafiltrations-Anlage .....	163
16.4.1	Versuchsdurchführung mit Prozesswasser im Batch-Betrieb.....	163
16.4.2	Versuchsdurchführung mit Prozesswasser im Batch-Betrieb; Teil Zwei .....	170
16.4.3	Versuchsdurchführung mit Prozesswasser im Batch-Betrieb zur Ermittlung der pH-Abhängigkeit bezüglich der Trennleistung.....	172
16.5	Ergebnisse der Versuche an der Ultrafiltrationsanlage .....	175
16.6	Einsatz der Mikrofiltration .....	176
16.6.1	Funktionsbeschreibung der Querstromfiltrations-Anlage „Konti“ .....	176
16.6.2	Versuchsdurchführung .....	179

---

16.6.3	Beurteilung der Versuche an der Mikrofiltrationsanlage unter Verwendung von KFW .....	185
<b>17</b>	<b>Literaturverzeichnis.....</b>	<b>186</b>

## ABBILDUNGSVERZEICHNIS

<i>Abbildung 2-1 Blockschaltbild Schema Stärkefabrikation der Emsland-Stärke GmbH Emlichheim.....</i>	<i>7</i>
<i>Abbildung 2-2 Reststoffverwertungskonzept der Volumenströme 1998/99 Tagesmengen .....</i>	<i>8</i>
<i>Abbildung 2-3 Reststoffverwertungskonzept der Volumenströme 1998/99.....</i>	<i>9</i>
<i>Abbildung 2-4 Ultra Reibe .....</i>	<i>11</i>
<i>Abbildung 2-5 Dekanter zur Fruchtwasserabtrennung.....</i>	<i>12</i>
<i>Abbildung 2-6 Strahlauswascher zur Abtrennung von Stärke und Fasern .....</i>	<i>13</i>
<i>Abbildung 2-7 Schnitt durch eine Separatortrommel mit Wascheinrichtung.....</i>	<i>14</i>
<i>Abbildung 3-1 Trenngrenzen unterschiedlicher Membrantrenn-Verfahren.....</i>	<i>22</i>
<i>Abbildung 3-2 Prinzip der Umkehrosmose .....</i>	<i>23</i>
<i>Abbildung 3-3 Konzentrationsprofil an der Membran.....</i>	<i>27</i>
<i>Abbildung 3-4 Gelschichtbildung und Konzentrationsprofil an der Membran.....</i>	<i>28</i>
<i>Abbildung 3-5 Rohrmodul.....</i>	<i>32</i>
<i>Abbildung 5-1 Herabsetzung der Aktivierungsenergie durch Enzymkatalyse.....</i>	<i>42</i>
<i>Abbildung 5-2: Reaktionsgeschwindigkeit einer enzymkatalysierten Reaktion.....</i>	<i>43</i>
<i>Abbildung 5-3 Produktbildung in Abhängigkeit von der Zeit .....</i>	<i>44</i>
<i>Abbildung 6-1 Schematischer Aufbau der pflanzlichen Zellwand.....</i>	<i>51</i>
<i>Abbildung 6-2 Cl-Konformation der <math>\alpha</math>-D-Galakturonsäure .....</i>	<i>53</i>
<i>Abbildung 6-3 Polygalakturonsäure, Veresterungsgrad 50%.....</i>	<i>53</i>
<i>Abbildung 6-4 Struktur von Rhamnogalakturonan .....</i>	<i>54</i>
<i>Abbildung 6-5 Die Haftzonen im Netzwerk eines Pektin Gels .....</i>	<i>55</i>
<i>Abbildung 6-6 Assoziation von Polygalakturonsäure-Sequenzen durch Chelatisierung von <math>Ca^{2+}</math>-Ionen.....</i>	<i>56</i>
<i>Abbildung 6-7 Assoziation durch Komplexbildung mit <math>Ca^{2+}</math>- Ionen.....</i>	<i>56</i>
<i>Abbildung 6-8 Entesterung und Depolymerisation von Pektin .....</i>	<i>60</i>
<i>Abbildung 6-9 Darstellung von zwei möglichen Enzym/Substrat-Komplexen .....</i>	<i>62</i>
<i>Abbildung 8-1 Schema einer isokratischen HPLC Apparatur .....</i>	<i>72</i>
<i>Abbildung 8-2 Schema eines Trennvorgangs.....</i>	<i>75</i>
<i>Abbildung 12-1 Grafik der linearen Regression; Galakturonsäure in Wasser .....</i>	<i>83</i>
<i>Abbildung 12-2 Beschreibung der Peak Integration.....</i>	<i>85</i>
<i>Abbildung 12-3 Grafik der linearen Regression Galakturonsäure in KFW, Teil 1.....</i>	<i>86</i>
<i>Abbildung 12-4 Grafik der linearen Regression Galakturonsäure in KFW, Teil 2.....</i>	<i>88</i>
<i>Abbildung 12-5 Enzymkonzentration 200 ppm zum Pektinstandard.....</i>	<i>91</i>
<i>Abbildung 12-6 Enzymkonzentration 100 ppm zum Pektinstandard.....</i>	<i>92</i>
<i>Abbildung 12-7 Enzymkonzentration 100 ppm zum Pektinstandard.....</i>	<i>93</i>
<i>Abbildung 12-8 Enzymkonzentration 50 ppm zum Pektinstandard.....</i>	<i>94</i>
<i>Abbildung 12-9 Enzymkonzentration 50 ppm zum Pektinstandard.....</i>	<i>95</i>
<i>Abbildung 12-10 Enzymkonzentration 25 ppm zum Pektinstandard.....</i>	<i>96</i>
<i>Abbildung 12-11 Enzymkonzentration 10 ppm zum Pektinstandard.....</i>	<i>97</i>
<i>Abbildung 12-12 Produktbildung aus dem Pektin Standard als Funktion der Enzymkonzentration .....</i>	<i>98</i>

---

Abbildung 12-13 Enzymkonzentration 250 ppm in KFW .....	102
Abbildung 12-14 Enzymkonzentration 200 ppm in KFW .....	103
Abbildung 12-15 Enzymkonzentration 100 ppm in KFW .....	104
Abbildung 12-16 Enzymkonzentration 50 ppm in KFW .....	105
Abbildung 12-17 Enzymkonzentration kleiner 50 ppm in KFW .....	106
Abbildung 12-18 Erreichen der maximalen Produktbildung .....	107
Abbildung 12-19 Erreichen der maximalen Produktbildung .....	108
Abbildung 12-20 Erreichen der maximalen Produktbildung .....	109
Abbildung 12-21 Erreichen der maximalen Produktbildung in KFW .....	110
Abbildung 13-1 Fließbild der Ultrafiltrations-Anlage .....	114
Abbildung 13-2 Volumenströme, kontinuierlicher Betrieb mit KFW .....	118
Abbildung 13-3 Brix, pH-Wert, LF mit KFW im kontinuierlichen Betrieb .....	119
Abbildung 13-4 Konzentrationsfaktor, KFW im kontinuierlichen Betrieb enzymatisch behandelt .....	120
Abbildung 14-1 Produktbildung (Galakturonsäure) aus dem Pektinstandard bzw. aus KFW .....	123
Abbildung 14-2 Produktbildung (Galakturonsäure) aus dem Pektinstandard bzw. aus KFW .....	124
Abbildung 14-3 Produktbildung (Galakturonsäure) aus dem Pektinstandard bzw. aus KFW .....	125
Abbildung 16-1 Beispiel HPLC Chromatogramm für die Eichgerade der Galakturonsäure .....	145
Abbildung 16-2 Beispiel HPLC Chromatogramm für die Eichgerade der Galakturonsäure .....	146
Abbildung 16-3 Beispiel HPLC Chromatogramm für die Eichgerade der Galakturonsäure .....	146
Abbildung 16-4 Beispiel HPLC Chromatogramm für die Standardaddition in KFW (TBB) .....	147
Abbildung 16-5 Beispiel HPLC Chromatogramm für die Standardaddition in KFW (TBB) .....	148
Abbildung 16-6 Beispiel HPLC Chromatogramm für die Standardaddition in KFW (TBB) .....	149
Abbildung 16-7 Beispiel HPLC Chromatogramm für die Standardaddition in KFW (VV) .....	150
Abbildung 16-8 Beispiel HPLC Chromatogramm für die Standardaddition in KFW (VV) .....	151
Abbildung 16-9 Beispiel HPLC Chromatogramm für die Standardaddition in KFW (VV) .....	152
Abbildung 16-10 Beispiel HPLC Chromatogramm für den enzymatisch behandelten Pektinstandard .....	153
Abbildung 16-11 Beispiel HPLC Chromatogramm für den enzymatisch behandelten Pektinstandard .....	153
Abbildung 16-12 Beispiel HPLC Chromatogramm für den enzymatisch behandelten Pektinstandard .....	154
Abbildung 16-13 Beispiel HPLC Chromatogramm für den enzymatisch behandelten Pektinstandard .....	154
Abbildung 16-14 Beispiel HPLC Chromatogramm für den enzymatisch behandelten Pektinstandard .....	155
Abbildung 16-15 Beispiel HPLC Chromatogramm für den enzymatisch behandelten Pektinstandard .....	155
Abbildung 16-16 Beispiel HPLC Chromatogramm für den enzymatisch behandelten Pektinstandard .....	156
Abbildung 16-17 Beispiel HPLC Chromatogramm für Kartoffelfruchtwasser ohne Enzymzugabe .....	157
Abbildung 16-18 Beispiel HPLC Chromatogramm für enzymatisch behandeltes KFW .....	158
Abbildung 16-19 Beispiel HPLC Chromatogramm für enzymatisch behandeltes KFW .....	159
Abbildung 16-20 Beispiel HPLC Chromatogramm für enzymatisch behandeltes KFW .....	160
Abbildung 16-21 Beispiel HPLC Chromatogramm für enzymatisch behandeltes KFW .....	161
Abbildung 16-22 Beispiel HPLC Chromatogramm für enzymatisch behandeltes KFW .....	162
Abbildung 16-23 pH-Wert und KF von PW im Batch-Betrieb enzymatisch behandelt .....	165
Abbildung 16-24 pH-Wert und KF von PW im Batch-Betrieb enzymatisch behandel .....	165
Abbildung 16-25 pH-Wert und KF von PW im Batch-Betrieb enzymatisch behandelt .....	166

---

<i>Abbildung 16-26 Brix im Zulauf und KF von PW im Batch-Betrieb enzymatisch behandelt</i> .....	167
<i>Abbildung 16-27 Brix im Zulauf und KF von PW im Batch-Betrieb enzymatisch behandelt</i> .....	167
<i>Abbildung 16-28 Brix im Zulauf und KF von PW im Batch-Betrieb enzymatisch behandelt</i> .....	168
<i>Abbildung 16-29 Mittelwerte; Brix, pH-Wert, KF von enzymatisch behandeltem PW im Batch-Betrieb</i> .....	169
<i>Abbildung 16-30 pH des Zulauf und KF, PW im Batch-Betrieb enzymatisch behandelt</i> .....	170
<i>Abbildung 16-31 Brix des Zulauf und KF, PW im Batch-Betrieb enzymatisch behandelt</i> .....	171
<i>Abbildung 16-32 Mittelwerte; Brix, pH, KF von enzymatisch behandeltem PW im Batch-Betrieb</i> .....	172
<i>Abbildung 16-33 pH im Zulauf der Versuche mit PW im Batch-Betrieb</i> .....	173
<i>Abbildung 16-34 Brix im Zulauf der Versuche mit PW im Batch-Betrieb</i> .....	174
<i>Abbildung 16-35 Konzentrierungsfaktor der Versuche mit PW im Batch-Betrieb</i> .....	174
<i>Abbildung 16-36 Mittelwerte; Brix, pH, KF; Versuche PW im Batch-Betrieb</i> .....	175
<i>Abbildung 16-37 Fließbild der Mikrofiltrationsanlage</i> .....	178
<i>Abbildung 16-38 Permeatmengen der Versuche 1 bis 8 an der Mikrofiltrationsanlage</i> .....	181
<i>Abbildung 16-39 Differenz des Brix in den Stoffströmen der Versuche 1 bis 8 an der MF</i> .....	182
<i>Abbildung 16-40 Stoffströme der Versuche AB und VB parallel an der MF</i> .....	183
<i>Abbildung 16-41 Brix der Stoffströme, der Versuche AB und VB parallel, an der MF</i> .....	184

---

## TABELLENVERZEICHNIS

<i>Tabelle 2-1 Zusammensetzung des original Kartoffelfruchtwassers (kKFW) nach Reibseldekanter.....</i>	<i>16</i>
<i>Tabelle 2-2 Trennleistung Celluloseacetat Membran WFR 0950.....</i>	<i>18</i>
<i>Tabelle 4-1 Inhaltsstoffe der Kartoffel.....</i>	<i>34</i>
<i>Tabelle 4-2 Aschengehalt der Kartoffel.....</i>	<i>35</i>
<i>Tabelle 4-3 Keimbelastung der Kartoffeln.....</i>	<i>36</i>
<i>Tabelle 5-1 Unterteilung von kommerziell vorhandenen Enzymen.....</i>	<i>47</i>
<i>Tabelle 5-2 Richtpreis von Industrieenzymen.....</i>	<i>47</i>
<i>Tabelle 5-3 Merkmale von Industrieenzymen.....</i>	<i>48</i>
<i>Tabelle 5-4 Kosten der Enzyme im Prozeß.....</i>	<i>48</i>
<i>Tabelle 5-5 Weltweiter Verkauf von Industrieenzymen von 1966 – 1990.....</i>	<i>48</i>
<i>Tabelle 6-1 Pektingehalte verschiedener Pflanzenmaterialien.....</i>	<i>52</i>
<i>Tabelle 6-2 Klassifizierung der Pektinenzyme gemäß Enzym-Nomenklatur.....</i>	<i>58</i>
<i>Tabelle 6-3 Klassifizierung der Pektinenzyme nach Pilnik et al.....</i>	<i>59</i>
<i>Tabelle 12-1 Meßergebnisse Eichreihe, Galakturonsäure in Wasser.....</i>	<i>83</i>
<i>Tabelle 12-2 Meßergebnisse Eichreihe Galakturonsäure in KFW, Teil 1.....</i>	<i>86</i>
<i>Tabelle 12-3 Meßergebnisse Eichreihe: Galakturonsäure in KFW, Teil 2.....</i>	<i>87</i>
<i>Tabelle 13-1 Membrankenndaten der Ultrafiltrationsanlage.....</i>	<i>115</i>
<i>Tabelle 13-2 Betriebsdaten der Ultrafiltrationsanlage mit Reinwasser und KFW.....</i>	<i>115</i>
<i>Tabelle 16-1 Betriebsdruck der Mikrofiltrationsanlage.....</i>	<i>179</i>
<i>Tabelle 16-2 Membrakenndaten der Mikro- und Ultrafiltrations-Anlage.....</i>	<i>179</i>
<i>Tabelle 16-3 Summenparameter der Permeate der Mikro- und Ultrafiltration.....</i>	<i>184</i>

## 1 EINLEITUNG

Die industrielle Produktion wird sich unter dem Einfluß knapper werdender Ressourcen künftig zunehmend um eine nachhaltige Gestaltung der Produktionsprozesse bemühen müssen. Hierzu gehört vor allem die Schonung von Ressourcen und die sachgerechte Nutzung von Koppelprodukten, die bislang häufig nicht oder nicht optimal verwertet wurden. Diese Forderung nach einem produktionsintegrierten Umweltschutz gilt es auch für die Kartoffelstärke-Produktion umzusetzen.

Hier ist zusätzlich eine innerbetriebliche Schließung der gesamten Wasserkreisläufe anzustreben. Das umfaßt sowohl die Frischwasserzufuhr, als auch ein Aufarbeiten aller anfallenden Prozeßwässer.

Die Kartoffelstärke stellt einen bedeutenden nachwachsenden chemischen Rohstoff dar und wird bei der Herstellung von Papier und Pappen, sowie in der Textil- und Klebstoffindustrie verwendet.

Das Werk Emlicheim der Emsland-Stärke steht an der Spitze der Technologie bei der industriellen Gewinnung von Produkten aus nachwachsenden Rohstoffen. Dennoch verbleiben besonders auf dem Gebiet der Verarbeitung der Koppelprodukte der Kartoffelstärke-Gewinnung zukünftig zu lösende Aufgaben des o.a. produktionsintegrierten Umweltschutzes.

Im Rahmen der derzeitigen Kartoffelstärke-Produktion sind beispielsweise der Frischwasserbedarf und die Handhabung der dort anfallenden Produktionsabwässer Bereiche, welche unter diesen Aspekten schwerpunktmäßig betrachtet werden. Hinsichtlich eines anzustrebenden, möglichst umweltverträglichen und ökonomisch sinnvollen Produktionsablaufes nimmt dabei das Kartoffelfruchtwasser, als größter Teil der anfallenden Produktionsabwässer, eine zentrale Bedeutung ein.

Eine Verringerung der Entsorgungskosten für das Koppelprodukt Kartoffelfruchtwasser durch eine qualitativ höhere Nutzung, insbesondere eine weitestmögliche Nutzung des Wasseranteils der Kartoffel durch ein Wasserrecycling, erfüllte sowohl Forderungen nach Ökonomie durch eine Verringerung des Primärenergiebedarfes, als auch nach produktionsintegriertem Umweltschutz durch Ressourcenschonung.

---

Auf dieser Basis muß die Möglichkeit einer Verbesserung der Konzentrierung von Kartoffelfruchtwasser durch Anwendung von Enzymen auf dessen Inhaltsstoffe angestrebt und untersucht werden, was den Bedarf an Energie und Wasser signifikant verringern sollte.

Diese Verwendung von Enzymen soll die Ausbildung einer Sekundärmembran beim Einsatz von membrantechnischen Anlagen wie Mikrofiltration, Ultrafiltration und Umkehrosmose möglichst unterbinden und die bestehenden Filtrationsanlagen dadurch in ihrer Leistungsfähigkeit nachdrücklich verbessern.

Die Kapazitäten von Membrantrennanlagen lassen sich fraglos deutlich erhöhen, wenn durch enzymatischen Einsatz eine Sekundärmembran-Bildung unterdrückt werden kann.

Im Folgenden wird die Kartoffelstärke-Produktion des Werkes Emsland-Stärke GmbH Emlichheim exemplarisch vorgestellt. Ebenfalls erfolgt aus diesem Grunde eine kurze Beschreibung der zur Aufkonzentrierung des Kartoffelfruchtwassers verwendeten Membrantrenn-Verfahren.

## 2 DIE KARTOFFELSTÄRKE-GEWINNUNG

Die Kartoffelstärke-Gewinnung stellt, wegen der heimischen Vegetationsperiode und Basis (deutsche Landwirtschaft), einen Kampagnebetrieb dar, d.h. es erfolgt eine halbjährliche Produktion und Verarbeitung von August bis Februar des Folgejahres. Sie ist deswegen gegenüber der Mais- und Weizenstärkeproduktion als Ganzjahresproduktion und Wettbewerber benachteiligt. Die Kartoffel kann aufgrund ihres hohen Wasseranteils nicht ohne Qualitätsverlust eingelagert werden, bei dem für die Stärkegewinnung vermahlenem Mais auch handelt es sich fast ausschließlich um Importmais.

### 2.1 EINSATZBEREICH UND PRODUKTPALETTE DER STÄRKE

Nach der Zellulose ist die Stärke einer der häufigsten erneuerbaren Naturstoffe, der in der Pflanzenwelt als Energie- und Kohlenstoffspeicher genutzt wird. Dazu wird sie vor allem in den Wurzeln, Knollen und Samen der Pflanzen gespeichert und sichert so unter anderem dem Pflanzennachwuchs vor dem Einsetzen der Photosynthese das Überleben.

Gewonnen wird Stärke industriell aus Mais, Weizen, Kartoffeln, Reis, Sorghum (Hirse) und Kassavawurzel (Tapioka).

Für den Menschen hält die Stärke eine vielseitige Verwendbarkeit bereit, sowohl im Nahrungsmittelbereich als auch im Non-Food Bereich. Dort besitzt die Stärke als nachwachsender Rohstoff ein großes Potential. In Forschung und Industrie werden deshalb ständig große Anstrengungen unternommen, um neue Gebiete für eine sinnvolle Nutzung der Stärke zu erschließen /1/.

Der Einbau von Stärke in synthetischen Polymeren, z.B. Polyvinylchlorid oder Polyurethanschäume, wird als Möglichkeit gesehen, deren biologische Abbaubarkeit und damit das Verrottungsverhalten zu verbessern. Derzeit stehen der industriellen Nutzung solcher Kunststoffe noch einige Mängel im Wege, wie die geringe mechanische Belastbarkeit und die Neigung zur vermehrten Wasseraufnahme /2/.

Aus Stärke oder stärkehaltigen Abfallprodukten können durch fermentative Einwirkung einfach gebaute chemische Ausgangsstoffe, wie Ethanol, Glycerin, Aceton, Butanol, Essigsäure u.a., hergestellt werden /3/.

Kationische Stärken und deren Weiterentwicklungen kommen als Füll- und Pigmentstoffe in der Papierindustrie zum Einsatz /4/.

Stärke und Stärkeprodukte werden in vielen Anwendungsgebieten eingesetzt. Sie finden Verwendung als Klebstoffe und Klebemittel, z.B. in der Wellpappen-, Klebeband- und Hülsenherstellung, als Bindemittel in der Gips- und Mineralfaserplatten-Herstellung, sowie bei Herstellung von Gußformen /5/.

Weiterhin verbessern Stärkederivate bei der Papierherstellung die Festigkeitseigenschaften und die Bedruckbarkeit der Papieroberfläche. Stärkederivate werden auch als Flockungsmittel in der Wasseraufbereitung eingesetzt und in der Erdölbohrung für das Abdichten von Bohrwänden, sowie zur Viskositäts-erhöhung von Transport- und Kühlwasser.

Eine besonders umweltfreundliche Einsatzmöglichkeit ist die Herstellung von Verpackungsmaterialien aus einem Stärkeschaum, der zu 100% biologisch abbaubar ist /6/.

## 2.2 KARTOFFELANBAU

In der Bundesrepublik wurden 1998 11,3 Mio. t Kartoffeln angebaut, das entspricht 298.000 ha landwirtschaftlich genutzter Kartoffelfläche. Der Anteil an Stärkekartoffeln hieran waren 3,2 Mio. t (25%). Damit steht Deutschland, welches innerhalb der Europäischen Union zu den drei größten Agrarproduzenten gehört, hier zusammen mit Milch (24%), Schweinefleisch (22%) und Kartoffeln (25%) an erster Stelle /7/.

Seit 1995 gilt EG-weit die Kartoffelstärkequote, sie umfaßt für die Kartoffelstärkefabriken in der EG für 1996/97 einen Ertrag von 1,9 Mio. t Kartoffelstärke, hiervon beträgt der Anteil für die Bundesrepublik 696.000 t Stärke, was einer Kartoffelmenge von 3,2 Mio. t netto entspricht.

Ausgehend von der für die Emsland-Stärke Emlichheim zugewiesenen EG-Handelsstärkequote von 175.000 t Kartoffelstärke, ergibt sich für die Kampagne 1996/97, eine Verarbeitung von 876.000 t Kartoffeln in der Emsland-Stärke.

Das bedeutet bei einem Kartoffelfruchtwasser-Anteil von 76% des Rohstoffgewichts 606.000 m<sup>3</sup> original Fruchtwasser (kKFW) aus der Kartoffel.

Die Stärkekartoffel besteht aus /8/:

- 17,4 % Stärke-Trockenmasse,
- 1,8 % Fasern und
- 76,4 % Kartoffelfruchtwasser (KFW) mit**
  - 2,5 % Rohprotein,
  - 1,3 % Salzen,
  - 0,5 % Kohlenhydraten,
  - 0,1 % Fett

Man muß sich bewußt machen, daß das Ausgangsprodukt für die Stärkegewinnung bereits rund 76% Wasser enthält, welches zumindest einen Teil des Verarbeitungsprozesses durchläuft. Außerdem enthält es, nachdem es von den festen Bestandteilen getrennt wurde, alle löslichen Bestandteile der Kartoffel. Es liegt auf der Hand, daß dadurch in der Kartoffelstärke-Industrie große Mengen stark belasteter Abwässer anfallen.

Aufgrund der insgesamt großen umgesetzten Volumenströme (6400 t Kartoffeln/Tag in 1998/99), können sich selbst geringfügig erscheinende Verbesserungen der einzelnen Anlagen günstig auf die Gesamtbilanz auswirken.

### 2.3 PRODUKTIONSPROZESSE IN DER EMSLAND-STÄRKE

Die Kartoffelstärke-Gewinnung beruht auf der Zerstörung des Rohstoffes Kartoffel durch mechanische Zerkleinerung (Reiben) und der physikalischen Trennung der Stärke von löslichen und unlöslichen Begleitstoffen der Kartoffel. Die Hauptaufgabe dabei ist das Herauslösen der Stärkekörner aus den Zellen der Kartoffeln und die Trennung dieser Stärkekörner von den übrigen Kartoffelinhaltsstoffen.

Aus verfahrenstechnischer Sicht ist die Gewinnung von Stärke ein relativ einfacher Prozeß. Dazu sind die Grundoperationen Zerkleinern, Zentrifugieren, Sieben und Trocknen notwendig.

Der Prozeß der Gewinnung gliedert sich bei der Emsland-Stärke folgendermaßen:

1. Waschen der Kartoffeln
2. Zerkleinern mit Ultrareiben (Rohstoffaufbereitung)
3. Zentrifugieren (Trennung von Stärke und Fasern vom Kartoffelfruchtwasser)

4. Extraktion (Trennung der Stärke von Fasern und Entwässerung)
5. Zweistufige Raffination der Kartoffelstärke, bestehend aus Auswaschung und Aufkonzentrierung der Stärkemilch

Die Probleme im Produktionsverlauf bestehen zwischen Punkt zwei und vier. Hier gilt es große Volumenströme mit organisch hoch belastetem Wasser handzuhaben. Es handelt sich einerseits um das vom Reibsel, also den Feststoffen in der Kartoffel, abgetrennte konzentrierte Kartoffelfruchtwasser (kKFW) und das bei der Stärkegewinnung aus dem Reibsel frei werdende sogenannte Prozeßwasser (PW). Dieses Prozeßwasser besteht aus dem vom Reibsel gebundenen KFW, welches bei der Stärkeauswaschung frei wird. Es ist bezüglich seiner Zusammensetzung verdünntem KFW gleichzusetzen.

Das kKFW gelangt im Werk Emlichheim in die Umkehrosmose-Anlage-I (UO-I), dort erfolgt eine Aufkonzentrierung durch Membrantrenn-Verfahren. Diese Membrantrennanlagen sind jedoch empfindlich gegenüber einer Sekundärmembran-Bildung durch Gelschichtbildung und Biofouling.

Mit Hilfe von Enzymen soll nun die Sekundärmembran-Bildung unterdrückt werden, so daß sich die Kapazität der UO-I und die Standzeiten der Membranen verbessern, eine gezielte Verwendung von Pektinasen soll die Gelschichtbildung durch Pektine verhindern.

Das Blockschaltbild (Abb. 2-1) beschreibt schematisch die Stärkefabrikation in der Emsland-Stärke GmbH Emlichheim /9/.

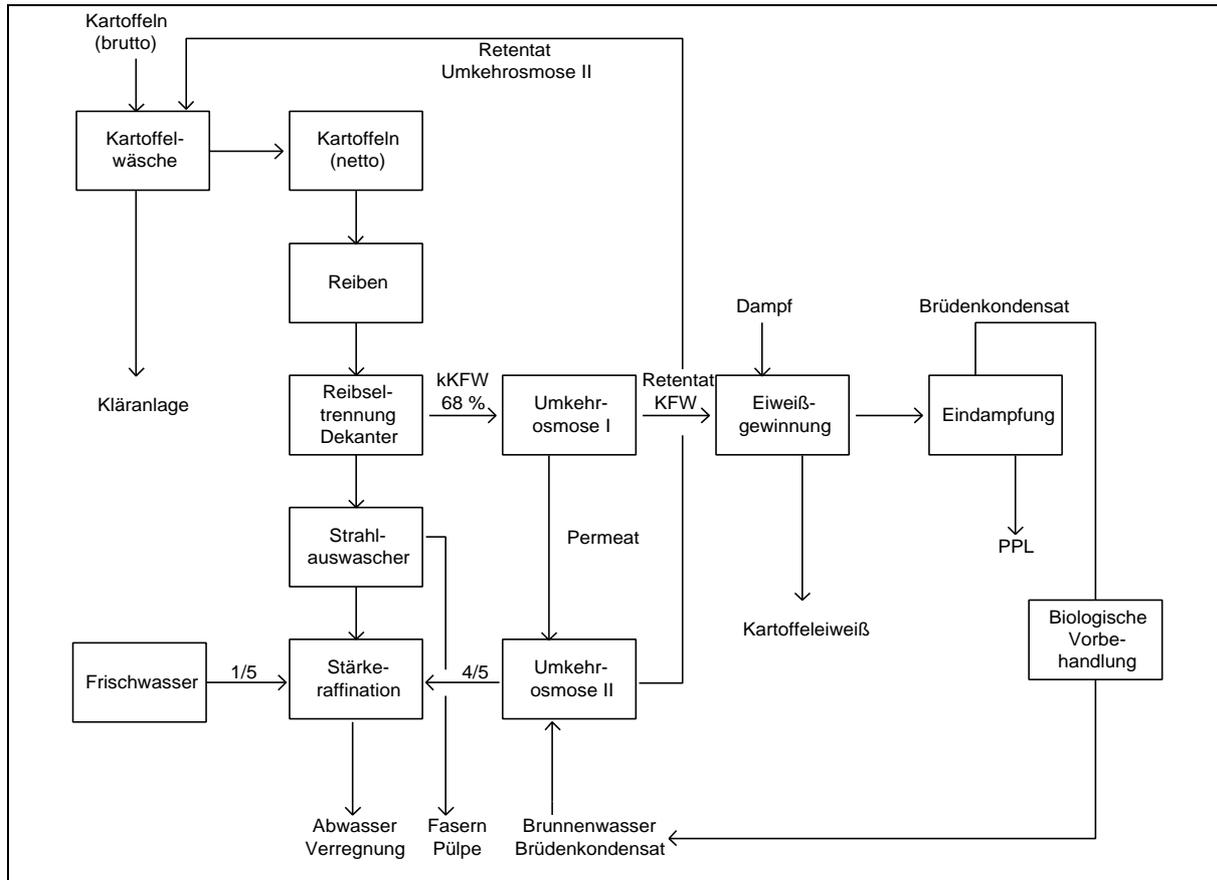


Abbildung 2-1 Blockschaltbild Schema Stärkefabrikation der Emsland-Stärke GmbH Emlichheim

Die Abbildung 2-2 bezeichnet das Reststoffverwertungskonzept der Volumenströme 1998/99, die Angaben bestehen in Tagesmengen /10/.

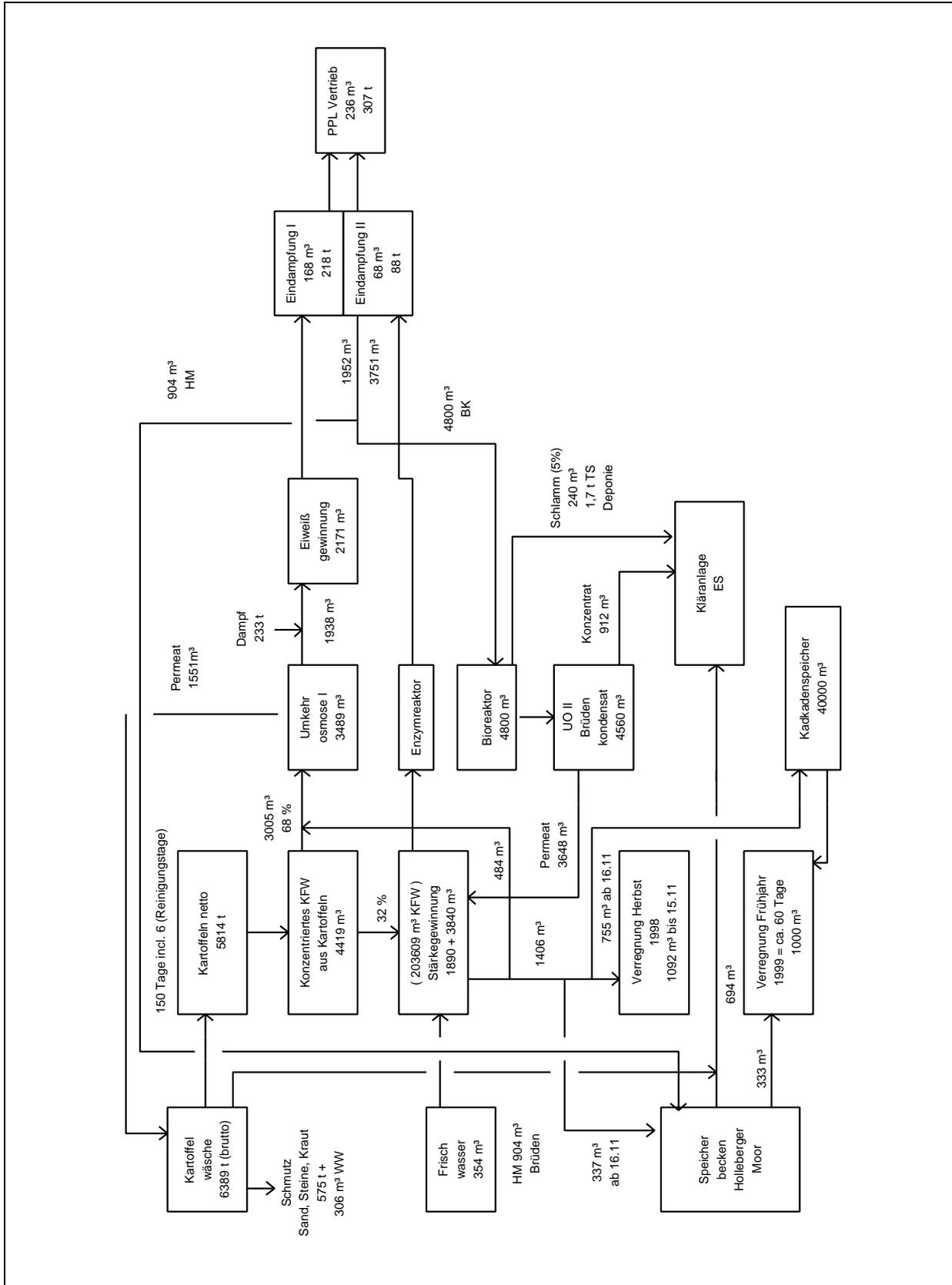


Abbildung 2-2 Reststoffverwertungskonzept der Volumenströme 1998/99 Tagesmengen

Die Grafik 2-3 beinhaltet das Reststoffverwertungskonzept der Volumenströme der Kampagne 1998/99 /11/.

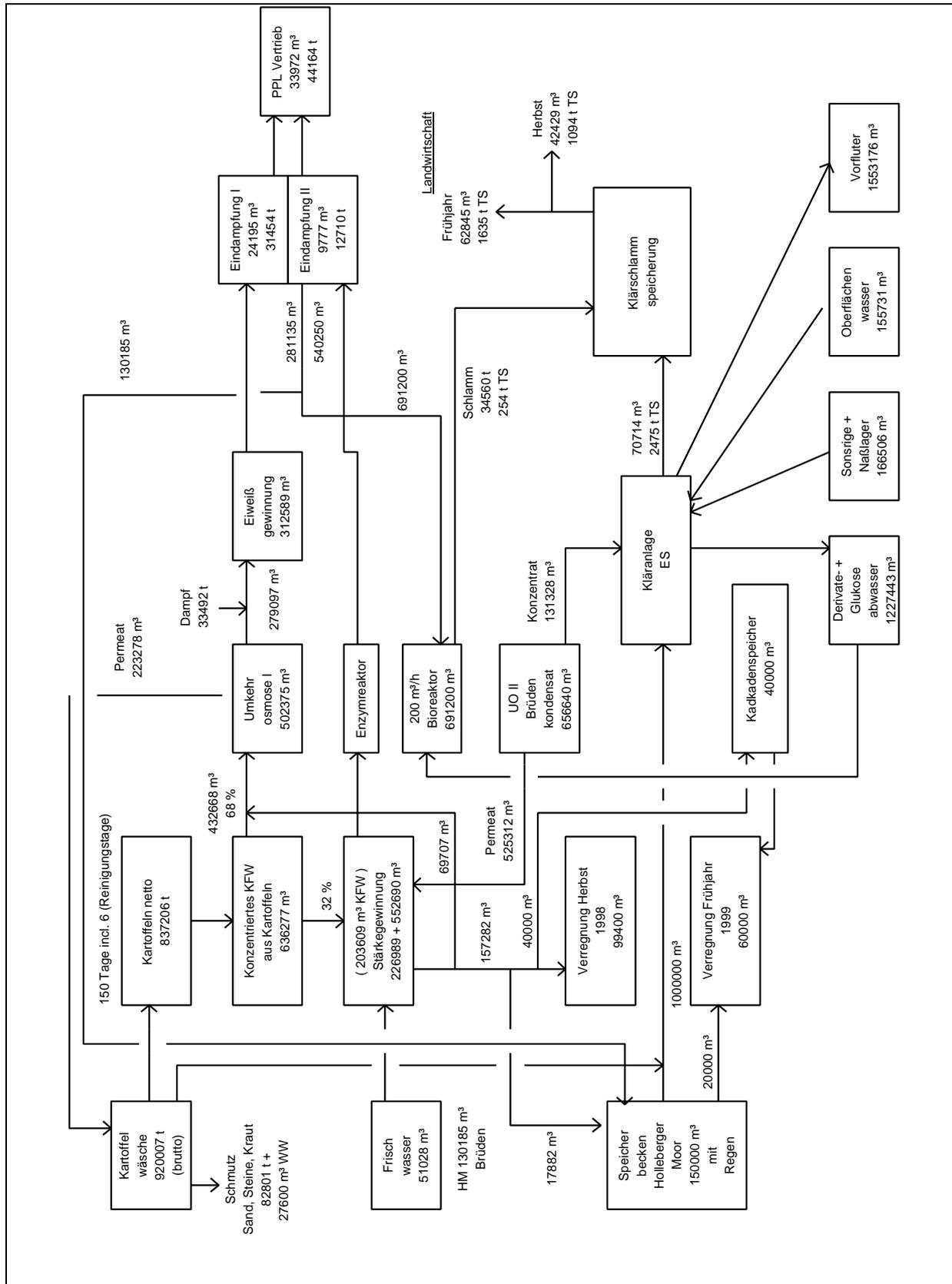


Abbildung 2-3 Reststoffverwertungskonzept der Volumenströme 1998/99

***Betrachtet man nun die Kartoffelstärke-Gewinnung exemplarisch im Werk der Emsland-Stärke Emlichheim, beschreibe die Kartoffel folgenden Weg:***

### 2.3.1 KARTOFFELREINIGUNG

Die angelieferten Kartoffeln werden über Schwemmrinnen aus dem Kartoffelbunker der Kartoffelwäsche zugeführt und dabei grob gereinigt. Bevor die Kartoffeln die Wäsche erreichen, werden über Kraut- und Steinfänger grobe Verschmutzungen, Steine und Pflanzenreste abgetrennt. Die Reinigung in der Kartoffelwäsche beruht auf der gegenseitigen Reibung der Kartoffeln aneinander, erzeugt durch das im Gegenstrom fließende Waschwasser.

Für die Stärkegewinnung werden zur Reinigung der Kartoffeln 0,25 m<sup>3</sup> Waschwasser/t Kartoffeln und für den Prozeß der Stärkegewinnung 0,4 m<sup>3</sup> Frischwasser/t Kartoffeln eingesetzt.

Zusammen mit den 76% Kartoffelfruchtwasser des Rohstoffes entstehen insgesamt 1,41 m<sup>3</sup> belastetes Betriebswasser/t Kartoffeln durch den Verarbeitungsprozeß. Um die Wasserbilanz des Verfahrens zu verbessern, werden die Wasserströme schon jetzt nach Wasserqualität getrennt behandelt und eingeteilt in:

1. Kartoffelwaschwasser für klärtechnische Verfahren,
2. Kartoffelfruchtwasser für die Proteingewinnung und Eindampfung nach Vorkonzentrierung durch die Umkehrosmose,
3. Prozeßwasser aus der Stärkegewinnung zur landwirtschaftlichen Verregnung.

### 2.3.2 KARTOFFELZERKLEINERUNG

Die gereinigten Kartoffeln gelangen über eine Förderstrecke zu den Reibenstationen. Die Zerkleinerung erfolgt auf die Sägeblattreiben (Ultrareiben, Abb. 4-2) /12/, wobei es darauf ankommt, möglichst alle stärkehaltigen Zellen zu öffnen und dabei das Schalen- und Zellwandmaterial nicht allzu stark zu zerkleinern, zumal sonst bei der Stärkeauswaschung Schwierigkeiten auftreten.

Dem so entstehenden Reibsel wird Natriumbisulfit-Lösung zugesetzt. Dies dient der Hemmung des bakteriellen Wachstums und zur Unterdrückung der Wirksamkeit oxidativer Enzyme (Tyrosinase), welche eine Verfärbung (Melanin-Bildung) und damit eine Minderung der Produktqualität bewirken. Auch die Bildung blauschwarzer Verbindungen zwischen

Tyrosin und Eisen wird dadurch unterbunden.

Der Wirkungsgrad der Zerkleinerung wird durch den Zerkleinerungsgrad (R) bestimmt, der Anteil an auswaschbarer Stärke soll  $> 90\%$  betragen. Das zerkleinerte Gut wird nach unten über eine Siebplatte abgeführt. Die Leistung einer Reibe beträgt ca. 20 t Kartoffeln/h bei 100 U/min Rotorgeschwindigkeit.

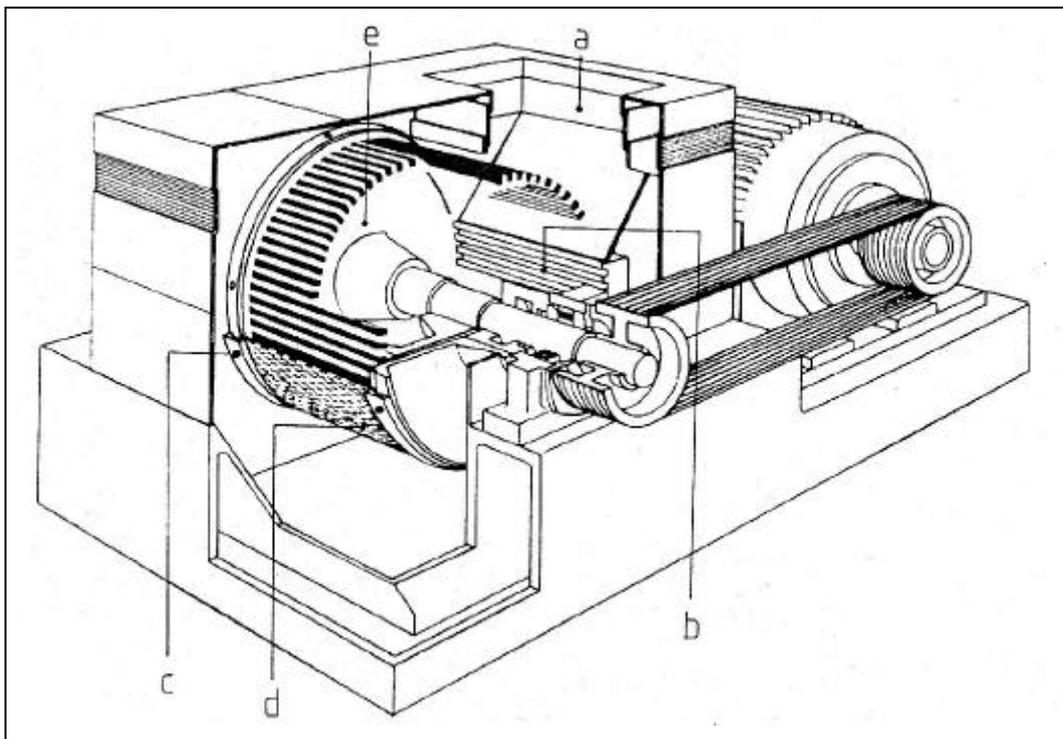


Abbildung 2-4 Ultra Reibe

Mit: a Zufuhröffnung; b Reibeklotz; c Schnellklemmen für die Siebplatte; d Siebplatte; e Rotor

### 2.3.3 FRUCHTWASSERABTRENNUNG

Nach der Zerkleinerung folgt die Kartoffelfruchtwasser-Abscheidung, welche bei der Emsland-Stärke durch Dekanter (Abb.2-5) erreicht wird. Dekanter sind horizontal gelagerte Vollmantelzentrifugen für die kontinuierliche Abscheidung von Feststoffen aus Suspensionen. Die unlösliche Stärke- und Faserfraktion scheidet sich an der Trommelwand ab. Durch die Transportschnecke wird der Feststoff in Konusrichtung ausgetragen, die somit weitgehend von Feststoffen getrennte Flüssigkeit, das kKFW, fließt gegenüberliegend ab /13/.

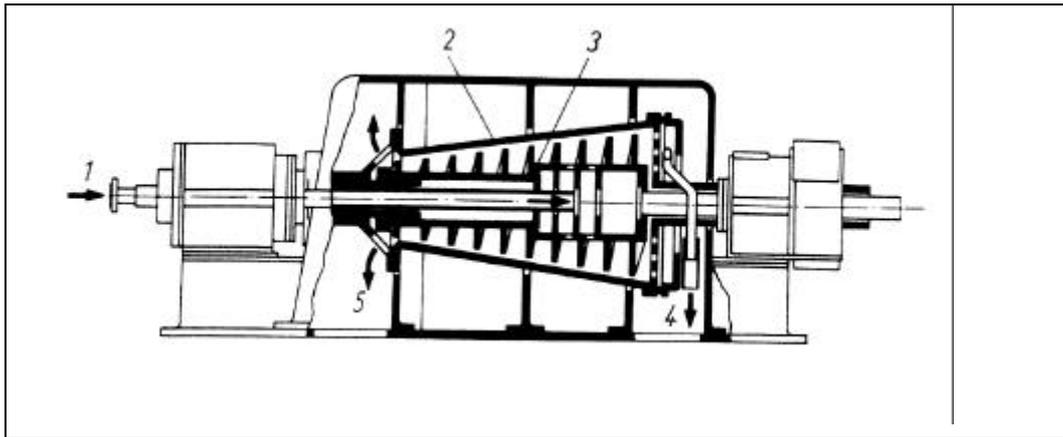


Abbildung 2-5 Dekanter zur Fruchtwasserabtrennung

Mit: 1 Suspensionseintritt; 2 Kegeltrommel; 3 Schnecke; 4 Klarflüssigkeit (kKFW); 5 Feststoff (Reibsel);

Das kKFW kann hiermit insgesamt zu 68% aus dem Reibsel abgetrennt werden, Stärke und Fasern zeigen nur 38-40% Trockensubstanzgehalt. Das bedeutet, daß das entwässerte Reibsel aus 35% Kartoffelstärke und 3% Fasern besteht. Diese 35% Kartoffelstärke binden 29% des KFW, von den 3% Fasern werden 33% des KFW gebunden.

Folglich besteht das Reibsel nach dem Dekanter aus 38% Trockensubstanz (jenen 35% Kartoffelstärke und 3% Fasern) und 62% KFW.

Eine derartig hohe Wasserbindungs-Kapazität ist eine typische Eigenschaft des KFW, sie wird verursacht durch Inhaltsstoffe der Kartoffel, wie z.B. Pektine. Im weiteren Verlauf der Arbeit wird jene Besonderheit näher erläutert.

#### 2.3.4 EXTRAKTION

Bei der Extraktion erfolgt die Trennung von Stärke und Fasern. Beim Auswaschen durch Naßsieden soll möglichst viel Fasermaterial von der Stärke abgetrennt werden, gleichzeitig sollen Ausbeuteverluste vermieden werden.

Die Stärke wird aus dem Reibsel im Gegenstromverfahren ausgewaschen. Im Strahlauswascher (Zentrifugalsieb, Abb. 2-6 /14/) wird das über die konische Siebtrommel geleitete Reibsel mit Wasser aus Düsen aufgeschwemmt und dadurch besonders intensiv ausgewaschen. Man erhält eine Stärkefraktion und eine Fasernfraktion, die auch als Pülpe bezeichnet wird (Kartoffelfasern = Pülpe).

Bei der Stärkefraktion handelt es sich um eine Suspension von Stärke in Wasser, die sogenannte Stärkemilch, die entweder der Modifizierung zugeführt oder nach Entwässerung mit Vakuumdrehfiltern getrocknet und gelagert wird.

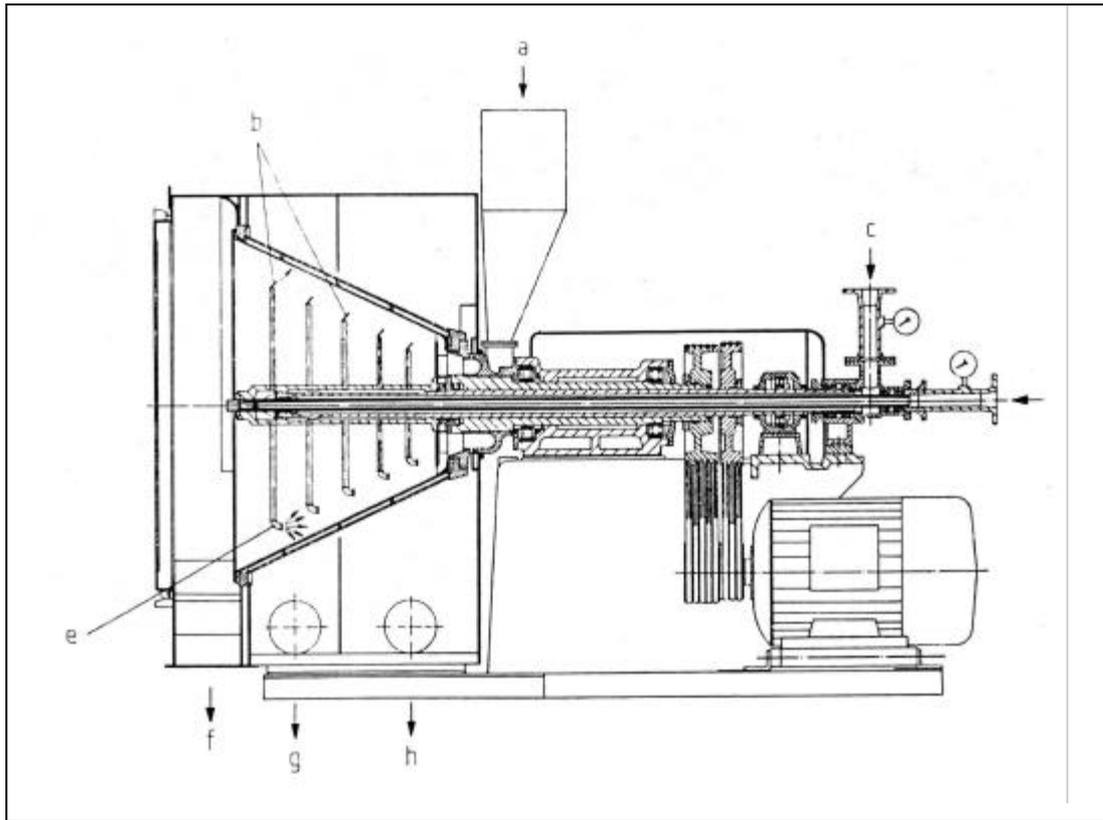


Abbildung 2-6 Strahlauswascher zur Abtrennung von Stärke und Fasern

Mit: a Zulauf; b Düsen für Auswaschgut; c Zulauf für Auswaschgut; d Zulauf für Waschwasser; f Faseraustrag; g Austrag der dünnen Milchphase; h Austrag der dicken Milchphase

Die Anlage zur Strahlauswaschung ist in der Emsland-Stärke vierstufig aufgebaut. Die extrahierten Suspensionen der 3. und 4. Stufe dienen als Düsenwasser der ersten Stufen, ebenso wie verdünntes KFW der Konzentratseparatoren.

Die gereinigte Pülpe wird durch Dekanter entwässert, das abgetrennte Wasser wieder der Stärkeextraktion zugeführt, z. Zt. liegt die Trennleistung des Dekanters bei 129 m<sup>3</sup>/h KFW.

Die Pülpe enthält in der Frischmasse 17% Trockensubstanz, 1,4% Rohprotein, 7% Rohstärke, 3,5% Rohfaser, 0,6% Rohasche /15/.

Im getrockneten Zustand enthält die Pülpe 30% Stärke, 33,5% andere Gerüstpolysaccharide, 14% Rohfaser, 13% Restfeuchte, 4% Protein, 2% Asche und 0,5% Fett. Pülpe wird als Viehfutter-Zusatzstoff kommerziell verwertet /16/.

### 2.3.5 RAFFINATION

Nach der Extraktion folgt eine zweistufige Raffination der Kartoffelstärke, bestehend aus Auswaschung und Aufkonzentrierung der Stärkemilch. Dazu wird die Stärkefraktion mit

mehreren hintereinander geschalteten Düsenseparatoren (Abb. 2-7) im Gegenstrom vom restlichen Fruchtwasser getrennt und eingedickt /17/.

Dieses restliche Fruchtwasser, das durch Zugabe von  $0,4 \text{ m}^3$  Frischwasser/t Kartoffeln in den Stärkegewinnungs-Prozeß verdünnt ist, stellt die größte anfallende Abwassermenge dar und wird als sogenanntes Prozeßwasser (PW) weiter verwertet.

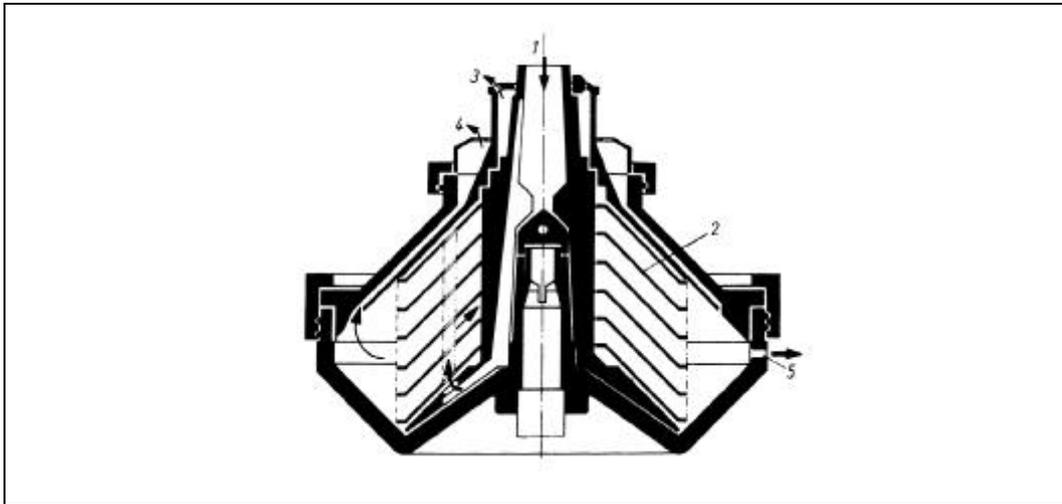


Abbildung 2-7 Schnitt durch eine Separatortrommel mit Wascheinrichtung

Mit: 1 Zulauf (Stärkemilch); 2 Tellersatz; 3, 4 geklärte Flüssigkeitskomponente (PW); 5 Austritt des Konzentrats

Die Raffination erfolgt in der Emsland-Stärke in drei parallelen, vierstufigen Separatorenkaskaden. Die Stärke wird von gelösten Anteilen freigewaschen, indem u.a. das UO-Permeat aus dem Brüdenkondensat der Eindampfungsanlage, sowie Fruchtwasser-Permeat nach biologischer Vorbehandlung und entmineralisiertes Brunnenwasser, eingesetzt wird. Man erkennt daran die bestehende intensive Vernetzung der einzelnen Volumenströme, sowie deren mannigfaltige Aufarbeitung und Wiederverwertung.

Dies wird in den Abbildungen 2-1, 2-2 und 2-3 deutlich. Dennoch bestehen auf dem Sektor der Reststoffverwertung der Volumenströme große Probleme, mit denen sich diese Arbeit im weiteren Verlauf noch beschäftigt.

### 2.3.6 KARTOFFELFRUCHTWASSER-BEHANDLUNG

Die Zielsetzung dieser Arbeit besteht darin, durch eine enzymatische Beeinflussung der Sekundärmembran die Trennleistung unterschiedlicher Filtrationsanlagen zu optimieren. Dies soll unter besonderer Berücksichtigung der bestehenden Problematik, beruhend auf dem zu trennenden Medium KFW geschehen, weswegen die in der Emsland-Stärke praktizierte Kartoffelfruchtwasser-Behandlung ausführlich dargestellt wird.

### ***Trennaufgabe und Massenbilanzen***

Membrantrenn-Verfahren werden in der Kartoffelstärke-Gewinnung bei der Emsland-Stärke eingesetzt, um den Volumenstrom oder die Inhaltsstoffe des zu behandelnden Kartoffelfruchtwassers zu reduzieren oder zu verlagern und auf diese Weise bei den nachfolgenden Aufbereitungsmaßnahmen elektrische, wie thermische Energie einzusparen. Dabei kommt es im Falle des Einsatzes der Umkehrosmose zu einer Aufkonzentrierung der Kartoffelfruchtwasser-Inhaltsstoffe, im sogenannten Retentat, für die Kartoffeleiweiß-Gewinnung und stellt die Vorbehandlung zur Restfruchtwasser-Verdampfung dar.

Das bedeutet, das kKFW geht in die Umkehrosmoseanlage, wird dort aufkonzentriert zum KFW, dem Retentat der UO-I, welches in die Eiweißgewinnung gelangt. Dort werden die Proteine nach Frischdampfinjektion als festes Kartoffelprotein abgeschieden, der Reststrom das Restkartoffelfruchtwasser (RKFW) gelangt in die Eindampfung, mit Hilfe derer das PPL, also das flüssige Kartoffelprotein, gewonnen wird.

Das Permeat der UO-I, also der von Inhaltsstoffen befreite Volumenstrom, wird als Waschwasser der Kartoffelwäsche zugeführt.

Die Kartoffelfruchtwasser-Vorkonzentrierung mittels Umkehrosmose wurde in den Jahren 1990/93 bei Emsland-Stärke untersucht. Durch die Vorkonzentrierung des KFW durch die Umkehrosmose werden stündlich 140 m<sup>3</sup> Kartoffelfruchtwasser in 80 m<sup>3</sup>/h Retentat (Konzentrat) und 60 m<sup>3</sup>/h Permeat aufgetrennt und ergeben für die Kartoffeleiweißgewinnung eine stündliche Primärenergie/Dampfeinsparung von 7,2 t/h = 173 t/Tag x 30 DM/t Dampf = 5.290 DM/Tag und 40% Dekanterkapazität für die Eiweißabtrennung. Durch die Eiweißgewinnung von täglich 37 t verringert sich der CSB-Wert <sup>1</sup> des Kartoffelfruchtwassers von ursprünglich 120.000 mg/l auf 60.000 mg/l im RKFW nach Umkehrosmose-Vorbehandlung.

---

<sup>1</sup> CSB = Chemischer Sauerstoffbedarf

Nach Abscheidung von Stärke und Fasern errechnen sich die Reststoffe im Kartoffelfruchtwasser aus der Analyse 1996/97 für 1997 wie folgt (bei 144 + 6 Kampagnetagen):

Substanz	Analyse 1996/97 [%]	Tagesmenge Zulauf UO-I 2.978 m <sup>3</sup>	Kampagne Zulauf UO-I 428.832 m <sup>3</sup>
Trockenmasse	5,4	160,8 t	23.155,2 t
organische Anteile	4,1	122,1 t	17.582,4 t
mineralische Anteile	1,3	38,7 t	5.572,8 t
Gesamtstickstoff TKN	0,38	11,3 t	1.627,2 t
Phosphoroxid P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	0,12	3,6 t	518,4 t
Kaliumoxid K <sub>2</sub> O	0,7	20,9 t	3.006,1 t

Tabelle 2-1 Zusammensetzung des original Kartoffelfruchtwassers (kKFW) nach Reibseldekanter

Das Permeat der UO-I vermindert das kKFW Gesamtvolumen somit um 44,5%  $\cong$  191.000 m<sup>3</sup> während das Konzentrat anschließend durch Direktampf Erhitzung auf 110° C der Eiweißgewinnung zugeführt wird.

### ***Membrantrenn-Verfahren***

Die Aufkonzentrierung des Kartoffelfruchtwassers vor der Weiterverarbeitung über Umkehrosmose-Membranen erfordert den Einsatz pH-neutraler mikrobiologischer Inhibitoren, Natriumbisulfit-Lösung, sowie eine mechanische Entschäumung.

### ***Die UO-I eine Rohrmodulanlage zur Kartoffelfruchtwasser-Vorkonzentrierung***

In der UO-I der Emsland-Stärke kommen Rohrmodule zum Einsatz. Diese zeichnen sich besonders aufgrund ihrer Unempfindlichkeit gegenüber Verstopfung durch Feststoffe im Zulauf aus. In einem späteren Kapitel wird darauf näher eingegangen.

Es werden heute, aufgrund der komplexen Zusammensetzung der Prozeßströme ohne Vorfiltration, 14 mm Rohrmodule mit einer Celluloseacetat Membranfläche von insgesamt 5.472 m<sup>2</sup> eingesetzt, um konstant 140 m<sup>3</sup>/h bzw. 3.360 m<sup>3</sup>/d Kartoffelfruchtwasser in 80 m<sup>3</sup>/h Retentat und 60 m<sup>3</sup>/h Permeat zu zerlegen.

Diese Vorbehandlung wirkt sich erheblich auf die Direktampfinjektionsmenge und Betriebsgröße der nachfolgenden thermischen Fruchtwasser-Behandlung (110 °C) mit Proteinabscheidung (Anzahl der Dekanter), als auch auf die Größe der nachfolgenden

Eindampfanlage aus.

Die vollautomatische Anlage der Emsland-Stärke besteht aus acht Blöcken, 16 Stufen, zwei Stufen pro Block, 10 Module parallel pro Stufe und 18 Module in Serie pro Stufe. Die Modullänge beträgt 6 m. Es resultiert mit einer Membranfläche je Modul von 1,9 m<sup>2</sup> eine gesamte Membranfläche von 5.472 m<sup>2</sup>.

Das Kartoffelfruchtwasser wird aus 3 Entschäumungs-/Puffertanks den Hochdruckpumpen zugeführt, die die 8 Blöcke mit 140 m<sup>3</sup>/h kKFW und einem Betriebsdruck von max. 35 bar versorgen. Es folgt die Aufkonzentrierung um den Faktor 1,8. Jede Stufe besitzt eine Umwälzpumpe, die eine definierte Strömungsgeschwindigkeit entlang den Membranen garantiert. Das Permeat wird über den Spültank zum Permeatsammeltank geleitet.

Einmal pro Tag werden die 8 Blöcke gereinigt, jeder Block separat, während die 7 restlichen Blöcke Produkt verarbeiten. Zu Beginn der Reinigung wird der Inhalt des Blocks mit Permeat ausgepreßt. Der Block wird mit Reinigungsmittel 1,5 Stunden unter vermindertem Druck gespült und das Spülmittel zwecks Stapelreinigung gesammelt.

Dem Reinigungsgang folgt die Desinfektion, dann geht der Block wieder in Produktion. Während der Desinfektion wird ein Reinwasserwert gemessen, um die Reinigung der Membran zu dokumentieren.

Bei jedem Start der Anlage erfolgt eine Entlüftung der Module, um Membranschäden zu unterbinden. Um die Reinigungslösungen optimal zu nutzen, wird eine Stapelreinigung durchgeführt. Hierunter versteht man die mehrfache Nutzung der Phosphat-/Tensidmischung unter Ergänzung der enzymatischen Komponente. Da die Anlage den optimalen Permeatflux bei 30 °C zeigt, werden Wärmetauscher eingesetzt, um den Zulauf zu temperieren. Die Reinigung der Wärmetauscher wird im Reinigungszyklus integriert. Die Hochdruckpumpen werden manuell gereinigt.

Um die genannten Vorteile der Umkehrosmose auch optimal ausnutzen zu können, ist es notwendig die Membrantrennleistung auf einem Optimum zu halten.

Ein Hauptgrund für das Absinken der Trennleistung ist die Verschmutzung der Membranen. Die Verschmutzungen entstehen in den meisten Fällen durch Niederschlagsbildung, infolge von Übersättigung und Ausfällen einer Komponente in der Grenzschicht von Membran zu Fluid, durch Sedimentation suspendierter Stoffe oder die Belegung der Membran z.B. durch Mikroorganismen oder Gelschichten.

Deshalb ist die tägliche Reinigung der gesamten Membranfläche für den optimalen Betrieb unerlässlich, sowie eine wöchentliche Reinigung aller Pumpen, Leitungen und Sammel tanks.

Jegliche Verbesserung der Standzeiten der Anlage, durch eine verminderte Sekundärmembran-Bildung, würde sich bei den oben genannten Prozeßschritten positiv auf die Gesamtbilanz auswirken. Für die Reinigung müßten weniger Zeit, Energie und Chemikalien aufgewendet werden.

### ***Membrantrennleistung***

Die Stoffrückhaltung ist eine spezifische Membraneigenschaft und wird gezielt auf den Verwendungszweck hin ausgewählt. In der Emsland-Stärke werden asymmetrische Celluloseacetat-Membranen eingesetzt, da sie für Kartoffelfruchtwasser die besten Rückhaltleistungen (Tab. 2-2) bei guten Fluxeeigenschaften zeigen.

Bestandteil	Fruchtwasser	Permeat	Rückhaltung [%]
Trockensubstanz [g/l]	50,8	0,45	99,1
Mineralstoffe [g/l]	12,7	0,2	98,0
Kjeldahl-N [g/l]	4,78	< 0,1	98,7
org. Säuren [g/l]	3,20	0,39	87,8
Natrium [mg/l]	396	4,5	98,8
Kalium [mg/l]	5.510	95	98,2
Ammonium [mg/l]	206	15	99,3
Chlorid [mg/l]	800	4,1	94,8
Sulfat [mg/l]	1.830	95	94,8
Phosphat [mg/l]	667	1,3	99,8
LF [ $\mu$ s/cm]	12.000	284 - 500	97,6

Tabelle 2-2 Trennleistung Celluloseacetat Membran WFR 0950

Durch die Permeat-Abscheidung aus dem Fruchtwasser mit der UO-I-Anlage werden die nachfolgenden Produktionsschritte Koagulation bzw. Verdampfung um den Faktor des geringeren Erhitzungsvolumens bzw. Verdampfungsvolumens vermindert.

Immerhin hat das Fruchtwasserkonzentrat nach der UO-I ein um 44,5% geringeres Volumen, welches erhitzt werden muß, und dabei steigt der Gesamtenergiebedarf durch die UO-I selbst nur geringfügig. Hieraus folgt, daß jegliche Verbesserung der Trennleistung der UO-I-Anlage

den spezifischen Primärenergiebedarf der Reststoffbehandlung senkt, da mit einem erheblich geringeren Volumen in die energetisch aufwendigen nachfolgenden Produktionsschritte gefahren wird.

Betrachtet man die Energiebilanz mit und ohne UO-I-Anlage für das Werk Emsland-Stärke in Emlichheim, so ergibt sich eine erforderliche zusätzliche elektrische Energie für das Verfahren Umkehrosmose-Vorkonzentrierung von Kartoffelfruchtwasser mit 103 MJ/t Kartoffelprotein. Der Dampfbedarf zur Vorwärmung auf 30 °C ist zu vernachlässigen.

Der spezifische Primärenergieeinsatz für die Gewinnung der Nebenprodukte der Kartoffelstärke-Gewinnung mit Umkehrosmose-Anlage beträgt 23.224 MJ/t, ohne UO-I würden 43.840 MJ/t benötigt. Folglich beträgt die Einsparung an spezifischer Primärenergie 20.616 MJ/t, was einer Minderung von  $\cong 47\%$  entspricht. Daß dies sowohl ökonomisch als auch ökologisch sinnvoll ist, liegt auf der Hand.

### 2.3.7 KARTOFFELPROTEIN-GEWINNUNG

Das Rententat aus der UO-I-Anlage wird bei der Emsland-Stärke der Kartoffelprotein-Gewinnung zugeführt. Dazu wird das KFW durch eine Sattdampf-injektion auf 110 °C erhitzt, wodurch das Protein koaguliert. Es wird anschließend über Dekantierzentrifugen vom sogenannten Restkartoffelfruchtwasser (RKFw) abgetrennt und durch Stromtrockner auf eine Restfeuchte von 11% getrocknet /18/.

Die durch die Dampf-injektion eingebrachte Wärme wird teilweise zurück gewonnen, indem man den entstehenden Abdampf im Gegenstrom durch die Vorwärmer leitet, die das KFW vorwärmen.

Das anfallende Kartoffelprotein zeichnet sich durch einen hohen Gehalt an essentiellen Aminosäuren aus, es enthält hauptsächlich die Proteine Albumin und Globulin. Die Verwertbarkeit für den Menschen geht aber bei diesem Verfahren verloren /19/.

### 2.3.8 PPL-GEWINNUNG (POTATO-PROTEIN-LIQUID)

Das Restkartoffelfruchtwasser enthält nach dem Abtrennen der koagulierten Proteine immer noch wertvolle Inhaltsstoffe, die durch Eindampfung aufkonzentriert werden. Die Eindampfung erfolgt mit Fallstromverdampfern, die das RKFw auf einen Trockensubstanzgehalt von 55% aufkonzentrieren. Das erhaltene Konzentrat wird als Potato-Protein-Liquid (PPL) bezeichnet und als Mischfutterkomponente verwendet.

---

Um den spezifischen Dampfverbrauch zu senken, wird der entstehende Brügendampf mit als Heizdampf verwendet. Das Brüdenkondensat, das mit flüchtigen organischen Verbindungen belastet ist, wird anschließend in einem Bioreaktor gereinigt, dann von der entstandenen Biomasse getrennt und über eine zweite Wickelmodulanlage gefahren. Das dabei anfallende Permeat wird bei der Stärkeseparation als Frischwasserersatz eingesetzt und das Konzentrat (Retentat) findet bei der Kartoffelwäsche Einsatz.

### 3 EINSATZ VON MEMBRANTECHNIKEN

Bei der unter Punkt 2.3.6 vorgestellten Aufarbeitung von KFW kommen in der UO-I der Emsland-Stärke Rohrmodule zum Einsatz, sie zeichnen sich besonders aufgrund ihrer Unempfindlichkeit gegenüber Verstopfung durch Feststoffe im Zulauf aus.

Ein weiterer Vorteil von Rohrmodulen liegt in den günstigen Eigenschaften des Energieeintrags in die sich während der Filtration ausbildende Deckschicht auf der Membran, damit verbunden ist die einfache Reinigung der Module. Rohrmodule haben im Vergleich zu anderen Modulen, wie z. B. Wickelmodulen einen geringeren Druckverlust.

Die Nachteile eines Rohrmoduls, wie z.B. das im Verhältnis zur Membranfläche große Apparatevolumen oder das große umzuwälzende Retentatvolumen, können für die Verwendung beim KFW vernachlässigt werden.

Ein charakteristisches Problem *aller* Membranfiltrations-Verfahren ist die Ausbildung einer Sekundärmembran. Diese zusätzliche Schicht verursacht einen nachlassenden Permeatfluß. Ziel dieser Arbeit ist eine positive Beeinflussung der Trennleistung der Umkehrosmoseanlage auf der Basis einer verminderten Sekundärmembran-Bildung. Jegliche Optimierung der Membrantrenn-Verfahren wirkt sich positiv auf weite Teilbereiche der gesamten Stärkeproduktion aus. Dazu wurden im Rahmen dieses Vorhabens, sowohl an einer Ultra- als auch an einer Mikrofiltrationseinheit, Versuche durchgeführt. In diesem Zusammenhang erfolgt eine Einführung zur Membrantechnik.

#### 3.1 ALLGEMEINE UND THEORETISCHE GRUNDLAGEN ZUR MEMBRANTECHNIK

##### 3.1.1 MEMBRANFILTRATION

Die Membrantrenntechnik mit ihrem heutigen Stand der wissenschaftlichen und industriellen Reife hat Einsatzgebiete in der Wasseraufarbeitung, Lebensmittelindustrie, Medizintechnik, chemischen Industrie und der Biotechnologie /20/ /21/ /22/. Den größten Anteil auf dem Membranmarkt besitzen die USA mit 35%. Die Bundesrepublik hat einen Anteil von 7% /23/.

Die Entwicklung der Membrantechnik läßt sich wie folgt zurückverfolgen /24/:

- Entdeckung der Osmose durch Nollet (1748).
- Mattheucci und Cima erkennen 1845 die anisotrope Natur von Membranen.

- 1865 erste synthetische Membran auf Nitrocellulosebasis.
- Bechholt entwickelt 1902 Methoden zum fertigen definierter Porengrößen.
- 1877-1922 Theorien von van't Hoff und Gibbs zur Thermodynamik.
- 1963 Entwicklung asymmetrischer Membranen durch Sourirajan.

Eine Einteilung der Membrantrenn-Verfahren wird meist hinsichtlich der Trenngrenzen vorgenommen (Abb. 3-1) /25/.

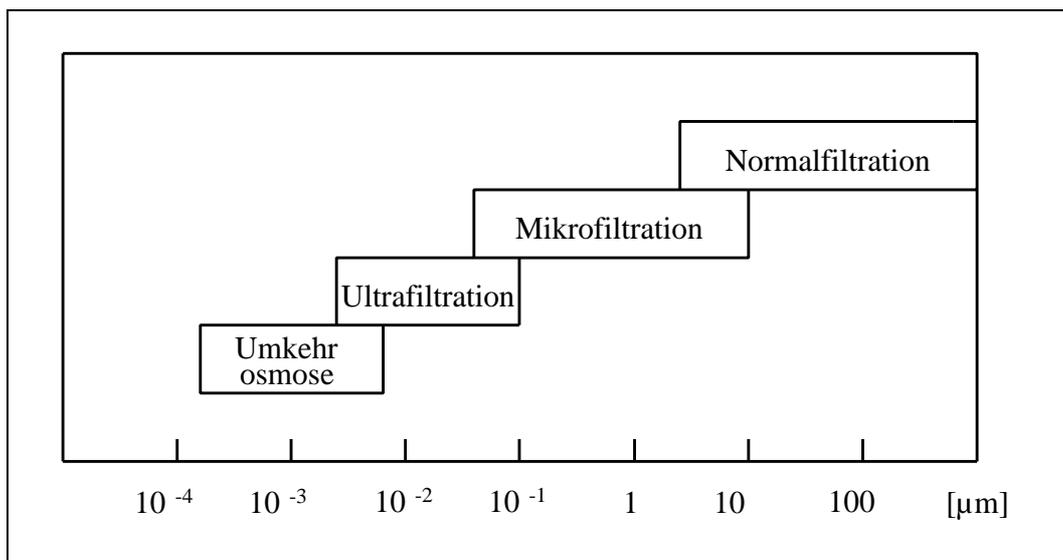


Abbildung 3-1 Trenngrenzen unterschiedlicher Membrantrenn-Verfahren

Die Entwicklung neuer Membrantechniken zeigt, daß diese Unterteilung durchaus nicht immer zutreffend ist. Dazu zählen insbesondere Prozesse, in die Medien im gasförmigen Aggregatzustand involviert sind. Genannt seien hier die Pervaporation, die Gaspermeation und die Perstraktion, bei denen gaselektive Polymermembranen zur Gastrennung, z.B. von Ethanol-Wasser-Gemischen, verwendet werden /26/ /27/ /28/.

### Umkehrosmose

Die Umkehrosmose ist die Umkehrung des osmotischen Verdünnungsbestrebens einer Lösung an einer für gelöste Stoffe teilweise permeablen Membran /29/ /30/. Technisch geschieht das in einer Weise, daß der osmotische Druck einer Lösung durch Anwenden von hydrostatischem Druck überwunden wird, so daß das Lösungsmittel aus der Lösung diffundiert und die dadurch zurückgehaltenen gelösten Stoffe konzentriert werden (Abb. 3-2). Der erzeugte hydrostatische Druck muß größer sein als der osmotische Druck. Für das Konzentrieren niedermolekularer Stoffe sind im Verhältnis zum Konzentrieren

hochmolekularer Stoffe bei gleicher Konzentration größere Drücke erforderlich /31/.

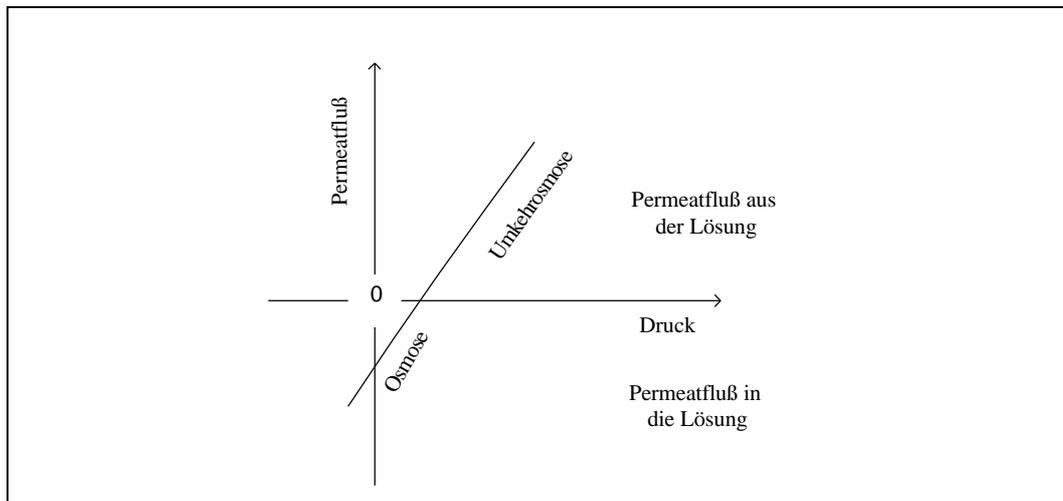


Abbildung 3-2 Prinzip der Umkehrosmose

### Ultrafiltration

Die Ultrafiltration ist hauptsächlich ein Trennprozeß nach Molekülgröße, der mit sehr feinporigen Membranen durchgeführt wird und deshalb als Molekülsiebprozeß angesehen werden kann. Kolloidal oder echt gelöste Moleküle werden auf Grund unterschiedlicher Molekulargewichte bzw. verschiedener Molekülstruktur durch die Membran getrennt.

Die Trenncharakteristik wird vor allem durch die Größe und Form ihrer Poren bestimmt. Da der hydraulische Widerstand dieser porösen Membranen klein ist und auch die osmotische Druckdifferenz vernachlässigt werden kann, beträgt der erforderliche Arbeitsdruck im allgemeinen weniger als 10 bar.

#### 3.1.2 STOFFTRANSPORT DURCH MEMBRANEN

##### Das Lösungs-Diffusions-Modell

Der Stofftransport durch die Membranen wird durch das Lösungs-Diffusions-Modell beschrieben. Folgende grundlegende Annahmen liegen diesem Modell zugrunde:

- Die Membran wird als homogenes, porenfreies Medium betrachtet.
- Alleiniger Transportmechanismus durch die Membran ist die Diffusion.
- Gültigkeit des 1. Fick'schen Gesetzes, d.h. es wird ein linearer Konzentrationsgradient in der Membran vorausgesetzt.
- Gleichheit der chemischen Potentiale an den Phasengrenzflächen.



### Das Porenmodell

Im Porenmodell wird die Membran als ein von Kanälen durchzogenes Gebilde betrachtet. Ein Vergleich zur Strömung in Rohren ist also angebracht. Die Widerstandscharakteristik im laminaren Bereich ist hier durch das Hagen-Poiseuillesche Gesetz gegeben.

$$\mathbf{x} = \frac{64}{\text{Re}} \quad \text{Gleichung 6}$$

$\mathbf{x}$ : Widerstandsbeiwert                      Re: Reynolds-Zahl

Berücksichtigung der Verhältnisse von Strömungen in Schüttschichten erfordert die Einführung eines sogenannten Labyrinthfaktors  $\mu$  und der Porosität  $\mathbf{e}$  und liefert die Carman-Kozeny-Beziehung Gl. (7), die die Abhängigkeit des Filtratflusses von Druck und Membranparametern im laminaren Bereich beschreibt.

$$V_0 = \frac{\Delta p \mathbf{e}^3}{\mathbf{h} (1 - \mathbf{e})^2 F_V^2 2 \mathbf{m}} H \quad \text{Gleichung 7}$$

$V_0$ : Filtratfluß	$p$ : Druck
$\mathbf{e}$ : Porosität	$\mathbf{h}$ : dynamische Viskosität
$F_V$ : spezifische Oberfläche	$\mathbf{m}$ : Labyrinthfaktor
H: Kanalhöhe	

#### 3.1.3 THEORETISCHE ASPEKTE VON KONZENTRATIONSPOLARISATION UND FOULING

Die Problematik des Stoffübergangs an Membranen läßt sich weitestgehend auf die bekannten fluiddynamischen Gesetzmäßigkeiten und die des Wärmeüberganges zurückführen. Im einfachsten Fall, ohne Bildung einer Deckschicht auf der Membran, läßt sich aus der allgemeinen Stoffbilanzgleichung (8)

$$\frac{dc}{dt} = - \text{div} (c \vec{v}) + \text{div} D \text{ grad } c + r \quad \text{Gleichung 8}$$

Gl. (9) entwickeln. Sie gilt bei stationärem Betrieb unter Vernachlässigung des Quellterms  $r$  für die chemische Reaktion, sowie für sich orthogonal zur Membran ändernde Konzentrationen.

$$0 = - v_y \frac{dc}{dy} + D \frac{d^2c}{dy^2} \quad \text{Gleichung 9}$$

Die Differentialgleichung läßt sich unter Berücksichtigung der Randbedingungen, daß der Hintransport des gelösten Stoffes an die Membranoberfläche konvektiv, der Rücktransport diffusiv erfolgt, lösen (Gl. 10).

$$\frac{c_2 - c_3}{c_1 - c_3} = e^{\frac{J \cdot d}{D}} \quad \text{Gleichung 10}$$

Für Gleichung (8) bis (10) gilt:

c:	Konzentration	t:	Zeit	v:	Geschwindigkeit
r:	Reaktionsterm	y:	y-Koordinate	<b>d</b> :	Grenzschichtdicke
J:	Permeatfluß	D:	Diffusionskoeffizient		

Der Quotient  $D/\delta$  im Exponentialterm von Gl. (10) wird Stoffübergangskoeffizient  $k$  genannt. Man erkennt, daß die Konzentrationsüberhöhung exponentiell mit dem Permeatfluß zunimmt. Der Permeatfluß wiederum hängt bei Lösungen mit vernachlässigbar kleinem osmotischen Druck bis zur Gelschichtbildung nur vom Widerstand der Membran ab und steigt linear zum hydrostatischen Druck an.

Abb. 3-3 veranschaulicht das mit Gl. (10) beschriebene Konzentrationsprofil. Die Konzentrationsüberhöhung an der Membranoberfläche ist nur vom Permeatfluß  $J$  und dem Strömungszustand abhängig.

Der Permeatfluß ist, neben der Trenncharakteristik und der Lebensdauer der Membranen, ein wichtiger Parameter für den Einsatz von Membranfiltrations-Anlagen, da er die Prozeßkosten wesentlich mitbestimmt. Je größer der Permeatfluß ist, desto kleiner kann für die Prozeßwasserfiltration die erforderliche Membranfläche gewählt werden. Die Filtrationsleistung der Anlage wird jedoch von vielen Faktoren beeinflusst, dazu gehören neben dem Membranaufbau besonders die Zusammensetzung der Lösung, also des aufzuarbeitenden Mediums /34/.

Im Idealfall einer streng semipermeablen Membran tritt nur das Lösungsmittel unter der treibenden Kraft des hydrostatischen Druckes durch die Membran hindurch, während sich die zurückgehaltenen gelösten Inhaltsstoffe an der Membranoberfläche anreichern. Diffusionskräfte versuchen dieses Konzentrationsgefälle abzubauen. Nach kurzer Zeit stellt sich ein Gleichgewichtszustand unter Ausbildung eines Konzentrationsprofils ein, in dem der konvektive Transport der gelösten Komponenten zur Membran gleich dem entgegengesetzt

verlaufendem Diffusionsstrom ist (Abb. 3-3). In Abhängigkeit von der Molekülgröße der gelösten Stoffe wird dann der Permeatfluß unterschiedlich beeinflusst.

Bei der Membranfiltration von niedermolekularen Stoffen führt die Konzentrationsüberhöhung an der Membranoberfläche zu einem entsprechenden Anstieg des osmotischen Drucks. Bei gleichbleibendem Arbeitsdruck wird dadurch die effektive Druckdifferenz verringert, so daß der Permeatfluß absinkt. Gleichzeitig steigt die Stoffkonzentration im Permeat an, da der Fluß der gelösten Komponenten durch die Membran direkt proportional zur Konzentrationsdifferenz zwischen Konzentrat und Permeat ist.

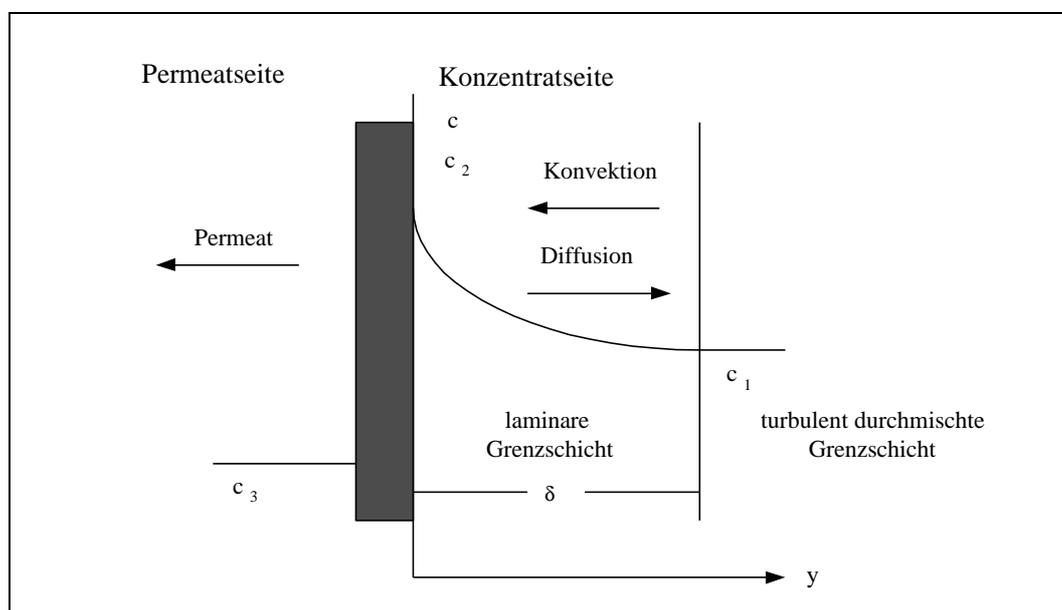


Abbildung 3-3 Konzentrationsprofil an der Membran

Die Konzentrationsüberhöhung kann bei höhermolekularen und kolloiden Substanzen eine Überschreitung ihrer Löslichkeit bewirken, so daß sie ausfallen und auf der Membranoberfläche eine gelartige Schicht bilden (Abb. 3-4). Dieser Belag wirkt dann wie eine zweite Membran, eine Sekundärmembran. Durch diese Sekundärmembran wird die Trenncharakteristik der ursprünglichen Membran verändert und gleichzeitig der Permeatfluß behindert /35/. Die Permeabilität einer solchen Gelschicht ist eine komplexe Funktion von Feststoffkonzentration, Größe, Gestalt und Aggregatzustand der Moleküle in der aufzubereitenden Lösung /36/.

Da die Dicke der Gelschicht von der Rückwanderung der Stoffe in das Retentat abhängt, kann sie vor allem durch die Wahl geeigneter Strömungs- und Diffusionsverhältnisse beeinflusst werden. Durch günstige Membran- und Modulgestaltung, sowie durch Erhöhen der

Strömungsgeschwindigkeit zur Erziehung von Turbulenz, wird versucht die Sekundärmembran abzubauen. Trotzdem bleibt auch bei stark turbulenter Strömung an der Grenzschicht zur Membran immer eine dünne Schicht mit laminarer Strömung bestehen, so daß eine vollständige Beseitigung der Gelschicht nicht möglich ist. Hinzu kommt, daß ein Erhöhen der Strömungsgeschwindigkeit einen Druckabfall bewirkt, der durch Erhöhen des Arbeitsdruckes ausgeglichen werden muß /37/ /38/.

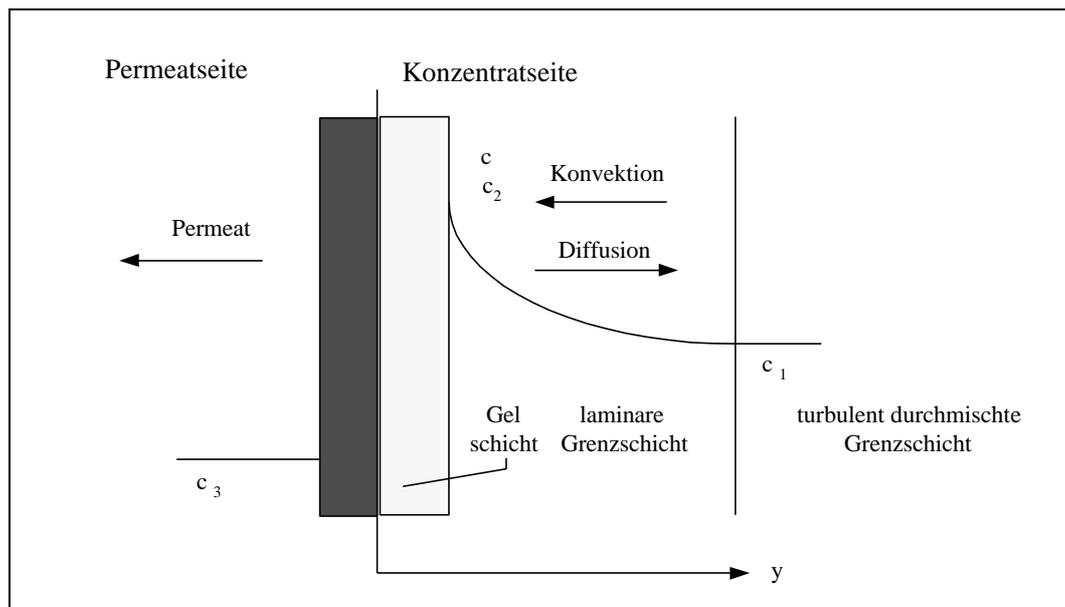


Abbildung 3-4 Gelschichtbildung und Konzentrationsprofil an der Membran

Der Stoffaustausch läßt sich aus Ähnlichkeitstheoretischen Überlegungen heraus beschreiben. Das führt zu den Stoffübergangsgesetzen, die in Abhängigkeit von der Geometrie und dem Strömungszustand aufgestellt werden. Die Beschreibung durch dimensionslose Zahlen für ein turbulent durchströmtes Rohr bei erzwungener Konvektion ist mit Gl. (11) gegeben.

$$\text{Sh} = 0,04 \text{Re}^{1/4} \text{Sc}^{1/3}$$

Gleichung 11

Sh: Sherwood-Zahl      Re: Reynolds-Zahl      Sc: Schmidt-Zahl

Führt die Konzentrationspolarisation zur Überschreitung des Löslichkeitsproduktes eines Stoffes, kommt es zum Ausfallen der Komponente auf der Membranoberfläche. In der Deckschicht baut sich ein weiteres Konzentrationsprofil auf. Der Stoffaustausch ist dann meist deckschichtkontrolliert .

Bei der Ultrafiltration bestimmt die Siebwirkung der Porenmembranen den Stofftransport (Porenmodell). Für die Porenströmung gelten, abhängig von mittlerem Porendurchmesser  $d$

und mittlerer freier Molekülweglänge  $\Lambda$ , im Falle  $d \gg \Lambda$  die Carman-Kozeny-Filtriergleichung der Hagen-Poiseuille-Porenströmung, bei  $d \approx \Lambda$  die Gleichung der Knudsen-Strömung.

#### 3.1.4 PRAKTISCHE ASPEKTE VON KONZENTRATIONSPOLARISATION UND FOULING

Im Bereich der Membrantrenntechnik spielt das Membranfouling und dessen Verhindern oder Beseitigen eine entscheidende Rolle. Die meisten Foulingphänomene lassen sich dabei auf das Ausfällen bestimmter Komponenten (Präzipitationsfouling) und die Belegung der Membranen mit Mikroorganismen (Biofouling) zurückführen /39/ /40/.

Das Präzipitationsfouling ergibt sich aus der Konzentrationspolarisation, wenn das Löslichkeitsprodukt einer Komponente überschritten wird. Es ist reversibel, außer wenn damit gravierende Veränderungen der Komponente verbunden sind, wie z.B. das Denaturieren von Proteinen. Eine Einteilung in drei Kategorien ist möglich /41/:

##### **Fouling durch anorganische Komponenten (Scaling)**

Hier neigen insbesondere die Oxide, Sulfate und Carbonate von Calcium, Magnesium oder Silicium durch ihre Schwerlöslichkeit zum Ausfallen auf der Membran. Die Beseitigung der Niederschläge ist im Falle der Carbonate von Calcium und Magnesium leicht durch Säure oder bei Sulfaten durch Polyhexametaphosphat möglich. Die Löslichkeit von Silicium hängt im besonderen vom Kristallisationszustand ab. Amorphes Silikat besitzt eine 10-fach höhere Löslichkeit gegenüber Quarz /42/.

Qualitative Untersuchungen des Scalings zeigten bei Verwendung von KFW neben erheblichen Mengen Calciumcarbonat auch Calciumoxalat und Sand ( $\text{SiO}_2$ ) /43/. Auch hier zeigt sich die Komplexität des Mediums KFW.

##### **Fouling durch kolloidale oder suprakolloidale Feststoffe**

Ein Maß für die Stabilität von Kolloiden ist das Zetapotential, das mit zunehmender Stabilität negative Werte annimmt. Kolloide können sowohl foulingverringend als auch verstärkend wirken.

Im ersten Fall wird dies meistens dem „Tubular-Pinch-Effekt“ zugeschrieben, d.h. die Kolloide prallen innerhalb der turbulenten Strömung auf die Membran und induzieren so einen mechanischen Abrieb der bestehenden Sekundärmembran /44/ /45/.

Der Pinch-Effekt beschreibt auch eine Modellvorstellung, die auf ein bekanntes Phänomen

der Fluidmechanik zurückgeführt wird, den sog. Magnus-Effekt. Demzufolge erfährt eine rotierende Kugel, wenn sie parallel angeströmt wird, einen Auftrieb senkrecht zur Anströmrichtung. Dies würde übertragen auf ein Teilchen, nahe der Membran, bedeuten daß es weg von der Membran in Richtung Kernströmung oder aber näher zur Membran hintransportiert wird. In der Praxis wird beobachtet, daß sich suspendierte Teilchen, aufgrund des Geschwindigkeitsgradienten in Wandnähe, meist von der Membran wegbewegen /46/.

### **Fouling durch organische Inhaltsstoffe**

Besonders bei der Ultrafiltration führt Fouling durch organische Inhaltsstoffe oft zu rapidem Sinken der Flußraten. In der Mehrzahl der Fälle sind dabei Proteine involviert. Verschiedene Faktoren, z.B. pH-Wert, können den Permeatfluß beeinflussen /47/. Die Ultrafiltration von Molke zeigt, daß durch Hitzebehandlung oder Zugabe von Calcium Veränderungen im Permeatfluß erzielt werden können /48/ /49/.

Auch kann sich die Rückhaltung für bestimmte Inhaltsstoffe drastisch ändern. In diesem Zusammenhang stellt sich meist die Frage, ob es sich dabei um Membran/Protein-Interaktionen handelt oder den „Donnan-Effekt“ /50/ /51/. Diese Bezeichnung beschreibt das Gleichgewicht, das sich einstellt, wenn zwei Lösungen mit verschiedenen Ionensorten und gleichem Lösungsmittel durch eine semipermeable Membran getrennt werden, die für eine Ionenart, z.B. kolloide Polyelektrolyte, wie Proteinate, undurchlässig ist. Die dadurch eintretende Ladungstrennung bewirkt das Auftreten des sog. Donnan-Potentials.

Alle Medien in der Lebensmittelverarbeitung sind ideale Nährmedien und fördern, wenn nicht unter sterilen Bedingungen gearbeitet werden kann, das Wachstum von Mikroorganismen. Das führt dazu, daß bei der Membranfiltration Beeinträchtigungen der Leistung, die durch Biofouling hervorgerufen werden, häufig zu beobachten sind. Unterschiede in der Neigung zum Biofouling bestehen sowohl beim Membranmaterial als auch bei der Art der Mikroorganismen /52/ /53/.

Biofouling läßt sich durch die Zugabe eines Desinfiziens unterdrücken. Meist wird dabei Chlor oder Schwefeldioxid verwendet. Allerdings sind membranschädigende Eigenschaften zu berücksichtigen, die den Einsatz einschränken /54/. Ebenfalls zu berücksichtigen gilt, daß schließlich Lebensmittel produziert werden.

Der Wasserfluß der Membranen, bei der UO-I, ist bei 30 °C größer als bei niedrigen Temperaturen, deswegen wird das Kartoffelfruchtwasser nach Entschäumung und

Bisulfitzugabe vorgewärmt. Ein erhöhtes mikrobiologisches Wachstum, und somit gravierendes Biofouling ist hierbei nicht auszuschließen und muß beherrscht werden.

Als weitere Ursache einer Sekundärmembran-Bildung müssen noch die Pektine erwähnt werden. Dieser Baustein von Pflanzenzellen zeichnet sich durch seine Fähigkeit Gele zu bilden aus und führt daher gerade bei der Verarbeitung von Obst und Gemüse zu Problemen bei Filtrationsprozessen (vergl. Kap. 6).

### 3.1.5 BEURTEILUNG VON MEMBRANFOULING HINSICHTLICH DES MEDIUMS KFW

Die vorangegangenen theoretischen Überlegungen erlauben für die Filtration inhomogen zusammengesetzter Lösungen, wie z.B. das KFW, keine mathematische Ableitung aus den Stofftransportvorgängen. Auf Grund der komplexen Strukturierung realer Matrixen sind nur Aussagen über experimentell ermittelte Stofftransportvorgänge möglich.

Das bedeutet in der Praxis, daß z.B. die für die Kartoffelfruchtwasser-Verarbeitung, am besten geeignete Membran experimentell ermittelt wird. Im Werk der Emsland-Stärke Emlichheim, in der UO-I, ist eine asymmetrische Zelluloseacetatmembran in Betrieb.

Durch gezielte Einstellung des Substitutions- und Polymerisationsgrades lassen sich gewünschte Eigenschaften der Membran erzeugen. So senkt sich bei einer Steigerung des Acetylgehaltes die Permeabilität für Wasser und steigt die Salzurückhaltung rapide. Durch Erhöhen der Kettenlänge des Polymers läßt sich die mechanische Stabilität vergrößern, während die Leistung nur gering beeinflußt wird. Die Nachteile dieses Membrantyps liegen im engen pH-Bereich, etwa 3-7 (kurzzeitig 2 bis 8), und in der geringen Chlorbeständigkeit (unter 50 ppm kurzzeitig). Da das Membranmaterial naturverwandt ist, wird die Angreifbarkeit durch Mikroorganismen gefördert.

Als Modultyp werden bei der Emsland-Stärke Rohrmodule verwendet (Abb. 3-5). Mehrere dieser Rohre sind zu Einheiten zusammengefaßt. Sie zeichnen sich durch hohe Toleranz gegenüber gröberen Partikeln im Fluid aus, was bei einem Trockensubstanzgehalt von 5–7% beim KFW nicht unerheblich ist. Bei den verwendeten Rohrmodulen kommen die optimalen Strömungsbedingungen zur Anwendung. Eine Veränderung der Strömungsbedingungen (z.B. über Druck, Temperatur, Filtrationsdauer und Strömungsgeschwindigkeit) läßt keine

Verbesserung der Permeatleistung erwarten. Eine Optimierung der Trennung muß auf anderem Wege erfolgen.

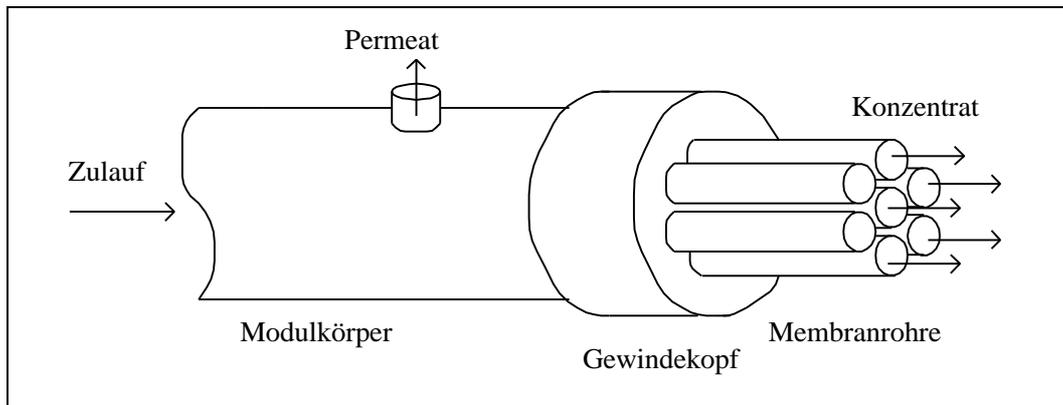


Abbildung 3-5 Rohrmodul

Um also die Ausbildung der Sekundärmembran, hinsichtlich einer gesteigerten Permeabilität zu beeinflussen, kommt im weiteren Verlauf dieser Arbeit, eine enzymatische Behandlung des KFW zum Einsatz. Dazu werden Versuche an einer Ultra- sowie an einer Mikrofiltrationseinheit durchgeführt.

### 3.2 EINSATZ DER ULTRAFILTRATION

Die Ultrafiltration ist ein spezielles Verfahren der Filtration. Der Trennprozeß nach Molekülgröße wird mit sehr feinporigen Membranen durchgeführt.

Durch die Ultrafiltration wird eine Aufteilung der Inhaltsstoffe in Permeat und Konzentrat erreicht. Die Ultrafiltrationsmembranen halten Partikel von rund 0,005 Mikron (Molekulargewicht > 1000 Dalton) und größer zurück. Niedermolekulare Stoffe, wie Zucker und Salze, werden nicht zurückgehalten und passieren die Membran. Die Ultrafiltration wird intensiv verwendet bei der Konzentration von Milch- und Molke-Proteinen /55/.

Durch Permeation des Lösungsmittels reichern sich an der Oberfläche der Membran die zurückgehaltenen Stoffe an. Diese höhermolekularen und kolloidalen Substanzen (wie z.B. Proteine, Pektine, neutrale Polysaccharide) bilden durch Überschreitung des Löslichkeitsproduktes eine Sekundärschicht, die schnell die Membran belegt. Die Permeabilität dieses Gels ist eine komplexe Funktion von Feststoffkonzentration, Größe, Gestalt und Aggregatzustand der Partikel oder Moleküle.

Ultrafiltrationsanlagen müssen regelmäßig, chemisch-thermisch gereinigt werden, um die sich aufbauende Kolloidschicht (Sekundärmembran) auf der Oberfläche zu entfernen.

Durch Einsatz von Enzymen soll die Kapazität einer Ultrafiltrationsanlage erhöht werden, indem die Ausbildung der Sekundärmembran unterbunden wird auf diese Weise lassen sich Investitionen in mehr Membranoberfläche, dem kostspieligsten Teil der Anlage, umgehen.

Es werden überwiegend pektolytische Enzympräparate (Enzyme: Pektinesterase, Pektinase, endo-Polygalakturonase, im Nebenaktivitätsspektrum: Zellulase, Hemizellulase, Protease) verwendet. Das Wirkungsoptimum dieser Enzyme liegt bei pH-Werten von 2,5-6,5 und Temperaturen von 45 bis 60 °C.

Eine Funktionsbeschreibung der Ultrafiltrationsanlage mit dem Fließbild erfolgt in Kapitel 13.

### 3.3 EINSATZ DER QUERSTROM FILTRATIONSANLAGE „KONTI“

Bei der Querstrom-Filtrationsanlage „Konti“ handelt es sich um eine Mikrofiltrationsanlage. Die Vorteile bei der Verwendung von Mikrofiltrationsanlagen mit Keramikmembran liegen in der chemischen Stabilität des Membranmaterials, was besonders pH-Werte und gängige Desinfektionsmittel betrifft. Auch zeichnen sie sich durch eine lange Lebensdauer und eine hohe mechanische Stabilität aus. Die Anfälligkeit bei Temperaturschwankungen allerdings ist bei der Reinigung von Nachteil /56/ /57/ 58/.

Die Membranen werden hergestellt aus Metalloxiden, am gebräuchlichsten sind die Oxide von Zirkonium, Silicium und Aluminium /59/. Sie finden am häufigsten Verwendung in der Milchindustrie, zur Abtrennung von Bakterien /60/ /61/ und der Aufarbeitung städtischer Abwässer /62/.

Im weiteren Verlauf dieser Arbeit wurde untersucht, inwiefern sich eine Keramikmembran für die Aufkonzentrierung von KFW eignet, die Pilotanlage „Konti“ sollte zunächst mit KFW und im weiteren Verlauf mit enzymatisch behandeltem KFW betrieben werden.

Leider konnte ein kontinuierlicher Betrieb in der Praxis mit KFW nicht realisiert werden. Die Ergebnisse der Versuche der Querstromfiltrationsanlage mit KFW belegen nur die vielfältigen Probleme beim Verarbeiten dieses komplexen Stoffgemisches.

Eine Anlagenbeschreibung, das Fließbild und die Ergebnisse der Versuche eines kontinuierlichen Betriebs der Querstromfiltrationsanlage mit KFW erfolgt im Anhang unter Punkt 16.6.

## 4 DIE KARTOFFEL

### 4.1 INHALTSSTOFFE DER KARTOFFEL

In der Zusammensetzung der Kartoffelknolle bestehen große qualitative und quantitative Unterschiede. Sie sind sortentypisch, stehen in Abhängigkeit von Boden, Klima und anderen Faktoren und erfahren von der Ernte bis zum Verbrauch beträchtliche Veränderungen. Die Prozesse, die während der Lagerung verlaufen, führen ebenfalls zu Veränderungen in der chemischen Zusammensetzung der Knolle /63/ /64/ /65/.

Der Hauptbestandteil ist Wasser, die Trockensubstanz der Kartoffel wird von mehr als 200 Stoffen gebildet /66/.

Über den Mengenanteil der wichtigsten Substanzen in der Kartoffel gibt nachstehende Tabelle Auskunft /67/.

Inhaltsstoffe	Mittelwerte [%]	Schwankungsbreiten [%]
Wasser	75	63-87
Stärke	19	8-30
Rohprotein	2	0,7-4,7
Rohfaser	1,6	1,6
Asche	1,2	0,15-2,0
Lösl. Kohlenhydrate	1,1	1,1
Fettsubstanzen	0,15	0,15

Tabelle 4-1 Inhaltsstoffe der Kartoffel

Die Tabelle 4-1 zeigt, daß nach Wasser die Kohlenhydrate den Hauptbestandteil der Trockensubstanz ausmachen. Außer Stärke sind eine Anzahl von Zuckern, Pektinstoffen und Zellulose nachzuweisen. Das Rohprotein liegt zum Teil als hochwertige Eiweißsubstanz (Tuberin) zum anderen als Eiweißbaustoffe (Aminosäuren und Amide) vor. Das Rohfett setzt sich vornehmlich aus Palmitin-, Myristin-, Linol- und Linolensäure, sowie Glycerin zusammen. Der Trockensubstanz weist einen Aschengehalt von 4-5% auf, welcher folgende Mineralstoffe und Spurenelemente enthält:

Mineralstoffe [%]		Spurenelemente		
K <sub>2</sub> O	50-60	Fe	Zn	Br
Na <sub>2</sub> O	2-5	Cu	B	Mn
CaO	2-3	F	J	Li
MgO	3-5	Al	As	Mo
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	12-16	Co	Ni	Hg
SO <sub>3</sub>	5-10	Pb	Ti	Ra
Cl	4-8			
SiO <sub>2</sub>	2-3			

Tabelle 4-2 Aschengehalt der Kartoffel

Andere wichtige Stoffe sind die Vitamine, außer Vitamin C enthält die Kartoffel noch die Vitamine B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, H, K und A. Daneben spielen Enzyme und Wuchs- und Hemmstoffe eine wichtige Rolle. An organischen Säuren, die bei Stoffwechselprozessen als Puffersubstanzen wirken sind u. a. Äpfel-, Milch-, Bernstein-, Wein-, Zitronen-, und Oxalsäure zu nennen. Die Farbe der Knolle wird vornehmlich durch Flavine, Xanthine, Carotinoide bzw. Anthozyane bedingt. Ebenfalls erwähnt werden sollte das Solanin /68/, welches sich in den Keimen und grünen Stellen der Knolle anreichert. Außer  $\alpha$ -Solanin enthalten Kartoffeln weitere Solanum-Alkaloide, welche sich durch ihren Anteil an glykosidisch gebundenen Zuckern unterscheiden. Solanin hat Saponin-Eigenschaften und hemmt Acetylcholinesterase.

#### 4.1.1 WEITERE INHALTSSTOFFE DER KARTOFFEL

Obwohl der pH-Wert der Kartoffel mit 5,8 relativ niedrig ist, sind die bakteriellen Verunreinigungen zahlreich, man findet Sporenbazillen (*B. subtilis*), coliartige und indogene Bakterien, Saprophyt-Streptokokken und Pilze.

Die angelieferten Kartoffeln weisen schon eine starke bakterielle Belastung auf (vergl. Tab. 4-3). Das ist nicht ungewöhnlich, denn die Kartoffeln gelangen direkt aus dem Erdreich in die Produktion /69/. Diese anfängliche Belastung mit Mikroorganismen wird durch die anschließenden Produktionsschritte maximiert, die Vergrößerung der Oberfläche durch die Zerkleinerung der Kartoffel, und besonders die bei 30 °C verlaufenden Prozeßströme tragen dazu bei.

Alle für Mikroorganismen notwendigen Nährstoffe sind in der Kartoffel in ausreichender Menge verfügbar. Auch das KFW bietet einen idealen Lebensraum, es kommt zu einem exponentiellen Bakterien- und Hefenwachstum. Innerhalb der Herstellung von Enzymen findet das KFW als Nährmedium für Pilze Verwendung /70/.

Keime / [g]	Kartoffelsorte		
		„Elkana“	„Produzent“
Keimzahl	37 °C	$7 \cdot 10^4$	$1,3 \cdot 10^6$
	21 °C	$9 \cdot 10^4$	$207 \cdot 10^7$
Keimarten /[g]			
Hefen	37 °C	n. n.	n. n.
Pseudomonaden	37 °C	n. n.	10
Enterokokken	37 °C	10	n. n.
Enterobakterien (coliforme)	37 °C	$10^4$	$10^4$
Pseudomonaden	21 °C	$10^4$	$10^3$
Hefen	21 °C	10	10

Tabelle 4-3 Keimbelastung der Kartoffeln

#### 4.1.2 INHALTSSTOFFE DES KARTOFFELFRUCHTWASSERS

Mit dem Aufreißen der Zellwände beginnt die katalytische Wirkung der kartoffeleigenen Enzyme und damit eine Veränderung der Inhaltsstoffe, z.B. erfolgt ein rascher Abbau der polaren Lipide durch Acylhydrolasen und Lipasen. Auch der Angriff von Luftsauerstoff auf ungesättigte Fettsäuren und empfindliche Proteinbestandteile, wie Tyrosin wird enzymatisch katalysiert.

Einige Inhaltsstoffe verursachen bekanntermaßen Probleme bei der Aufarbeitung. Es kommt durch Oxalat zu einem Scaling und durch Proteine und Kolloide zu einem Fouling bei Membrantrennprozessen, Bakterien und Hefen verursachen ein Biofouling.

Die oxidativen, kartoffeleigenen Enzyme, wie Tyrosinase verursachen eine Verfärbung, die Melanin-Bildung, und damit eine Minderung der Produktqualität und es kommt zur Entstehung blauschwarzer Verbindungen zwischen Tyrosin und Eisen.

---

Es muß betont werden, daß im Kartoffelfruchtwasser ein Gemisch aller physiologisch wirksamen löslichen Bestandteile der Kartoffel vorliegt: Proteine, Pektine, Lipide, Kohlenhydrate, Mineralstoffe und Biokatalysatoren hoher Aktivität „eine in sich höchst instabile Komposition“, die unverzüglich verarbeitet werden muß, wenn die Proteine in hochwertiger Qualität gewonnen werden sollen /71/.

## 5 ENZYME

### 5.1 ANWENDBARKEIT VON ENZYMEN ZUR PROZESSOPTIMIERUNG

Das Kartoffelfruchtwasser nimmt als größter Teil der anfallenden Produktionsabwässer eine zentrale Bedeutung ein. Aus diesem Grund ist es sinnvoll die Entsorgungskosten für das Koppelprodukt Kartoffelfruchtwasser zu senken.

Umweltverträglich und ökonomisch sinnvoll kann dies geschehen, indem der Wasseranteil der Kartoffel durch ein Wasserrecycling weitestmöglich erschlossen wird. Sowohl Forderungen nach Ökonomie, durch eine Verringerung des Primärenergiebedarfes, als auch nach produktionsintegriertem Umweltschutz durch Ressourcenschonung können damit erfüllt werden.

Die UO-I zerlegt zum gegenwärtigen Zeitpunkt konstant 140 m<sup>3</sup>/h bzw. 3.360 m<sup>3</sup>/d Kartoffelfruchtwasser in 80 m<sup>3</sup>/h Retentat und 60 m<sup>3</sup>/h Permeat, es soll untersucht werden ob die Kapazität der UO-I erhöht werden kann.

Die verwendeten Celluloseacetat-Membranen und die angewandten Strömungsparameter erlauben ein Arbeiten unter optimalen Betriebsbedingungen, an dieser Stelle sind Änderungen der Prozeßparameter nicht erfolgsversprechend.

Pektine sind mit ihrer besonderen Fähigkeit zur Ausbildung von Gelen maßgeblich an der Sekundärmembran-Bildung beteiligt, es soll untersucht werden, ob sich diese Membranbelegung durch Verwendung von Enzymen verhindern läßt.

Durch eine enzymatisch induzierte hydrolytische Spaltung der Pektin-Gele soll die Sekundärmembran-Bildung vermindert werden, die theoretischen Hintergründe zu Enzymen, Pektinen und besonders Pektinasen werden in den Kapiteln 6 und 6.3 vorgestellt.

#### 5.1.1 HISTORISCHER EXKURS

Fermentative Prozesse, wie die alkoholische Gärung oder das Sauerwerden der Milch, sind von historischer Bedeutung.

Das Fachgebiet der Enzymologie entwickelte sich im 19. Jahrhundert aus Untersuchungen von Fermentation und Verdauung. Den Beginn sehen viele im Jahre 1810, als Joseph Gay Lussac Ethanol und Kohlendioxid als Hauptprodukte des Zuckerabbaus durch Hefe ermittelte. Berzelius prägte 1837 den Begriff Katalyse, auch und gerade im Hinblick auf die Reaktion im

lebenden Organismus /72/. Um die Mitte des vorletzten Jahrhunderts etablierte Pasteur die Vorstellung, daß alle Gärungs- und Fermentationsprozesse nur in lebenden Zellen ablaufen können. Für diese nahm Pasteur an, daß sie als lebende Systeme mit einer „Lebenskraft“ ausgestattet seien, die es ihnen erlaubte, den Naturgesetzen zu entgehen, die die unbelebte Materie lenken. Andere jedoch, allen voran Justus Liebig, postulierten, daß biologische Vorgänge durch chemische Substanzen verursacht würden, die man „Fermente“ nannte. Tatsächlich wurde der Name „Enzym“ (griechisch *en*, in und *zyme*, Hefe) 1878 von Friedrich Wilhelm Kühne geprägt, um hervorzuheben, daß es etwas in der Hefe gäbe, das die Fermentationsreaktionen katalysiert. Trotzdem konnte Eduard Buchner erst 1897 einen zellfreien Hefeextrakt gewinnen, der die Synthese von Ethanol aus Glucose durchzuführen vermochte.

Die chemische Struktur von Enzymen wurde aber bis weit ins 20. Jahrhundert nicht erkannt. James Sumner, der mit der Schwertbohnen-Urease zum ersten Mal ein Enzym kristallisierte, zeigte 1926, daß die Kristalle aus Proteinen bestehen.

Ohne moderne Trennungs- und Analysetechniken sind Isolierung und Charakterisierung eines Enzyms kaum zu bewältigen. Erst 1963 wurde die erste Aminosäure-Sequenz eines Enzyms, der Rinderpankreas Ribonuclease A in ihrer Gesamtheit bekannt.

Seither sind fast 2000 Enzyme zumindest weitgehend gereinigt und charakterisiert worden, wobei die Fortschritte bei diesen Arbeiten aufgrund verbesserter Methoden ständig zunehmen /73/.

## 5.2 ALLGEMEINE EIGENSCHAFTEN VON ENZYMEN

Enzyme sind eine Untergruppe der Proteine und als biologische Katalysatoren an fast allen chemischen Reaktionen in einer lebenden Zelle beteiligt. Enzyme nehmen als Katalysatoren nicht an der eigentlichen chemischen Reaktion teil. Ihre Wirkung beruht auf einer signifikanten Herabsetzung der Aktivierungsenergie der Reaktionspartner, was zu einer erheblichen Beschleunigung der katalysierten Reaktion führt.

Enzyme zeichnen sich durch mehrere besondere Eigenschaften aus:

1. Sie sind hochspezifisch für eine bestimmte Reaktion, d.h. sie können sehr gut, jedoch nicht absolut zwischen strukturell ähnlichen Verbindungen unterscheiden.

2. Sie beschleunigen chemische Reaktionen  $10^3$  bis  $10^6$ -fach im Vergleich zur freien Reaktion in Wasser durch Herabsetzung der Aktivierungsenergie der Substrate.
3. Im Gegensatz zu nichtkatalysierten Reaktionen sind die Ausbeuten enzymatischer Reaktionen fast immer vollständig. Es entstehen in der Regel keine Nebenprodukte.
4. Enzyme arbeiten normalerweise
  - bei niedrigen Temperaturen (20-40 °C)
  - unter physiologischen pH-Bedingungen (pH 6-8)
  - in wäßrigen Systemen
5. Die katalytische Aktivität von Enzymen ist in vielen Fällen regulierbar.
6. Das Spektrum der umgesetzten Moleküle (Substrate) reicht von sehr kleinen Verbindungen wie z.B. Kohlendioxid (Molekülmasse 44 /74/) bis zu Makromolekülen wie Amylose (Molekülmasse 40500-162000 /75/ oder 5000 bis 500000 /76/).

### 5.3 ENZYMKINETIK

#### 5.3.1 AKTIVIERUNGSENERGIE

Der energetische Ablauf aller chemischen Reaktionen beruht auf den drei Hauptsätzen der Thermodynamik.

Die Änderung der Freien Enthalpie  $\Delta G$  ist das entscheidende Kriterium ob eine Reaktion spontan abläuft oder ob Energie zugeführt werden muß. Die thermodynamische Funktion

$$\Delta G = \Delta H - T \Delta S \qquad \text{Gleichung 12}$$

stellt eine Kombination des ersten und zweiten Hauptsatzes dar ( $\Delta H$  = Reaktionsenthalpie;  $\Delta S$  = Entropie) und wurde 1878 von dem Physiker J. W. Gibbs aufgestellt. Aus der obigen Gleichung ergeben sich folgende Aussagen:

1. Eine Reaktion kann nur dann spontan ablaufen, wenn  $\Delta G$  negativ ist (exergone Reaktion).
2. Die Reaktion läuft nicht spontan ab, bei positivem  $\Delta G$ , dann ist Zufuhr von freier Energie notwendig (endergone Reaktion).
3. Wenn  $\Delta G$  Null ist, befindet sich das System im Gleichgewicht.
4. Der  $\Delta G$ -Wert einer Reaktion hängt nur von der Differenz der Freien Energie der Produkte und der Edukte (Substrate) ab.

5. Die Änderung der Freien Energie einer Reaktion ist vom Weg und vom molekularen Mechanismus der Umwandlung unabhängig.
6. Der  $\Delta G$ -Wert selbst sagt nichts über die Geschwindigkeit einer Reaktion aus.
7. Enzyme können aus thermodynamischen Gründen *nicht* das Gleichgewicht einer Reaktion verschieben.

Die Beziehung zwischen der Veränderung der Freien Enthalpie und der Gleichgewichtskonstanten einer Reaktion zeigt, daß Enzyme die Einstellung dieses Gleichgewichtes beschleunigen. Entscheidend für die Geschwindigkeit einer Reaktion ist die freie Aktivierungsenthalpie  $\Delta G^\ddagger$ , also der Energieunterschied zwischen dem Grundzustand des Substrates und dem Übergangszustand. Das  $\ddagger$  bezeichnet hierbei eine thermodynamische Größe des Übergangszustandes. Eine chemische Reaktion des Substrates zum Produkt verläuft also über einen Übergangszustand  $S^\ddagger$ , der eine höhere freie Energie besitzt als Substrat oder Produkt. Das Substrat muß also erst unter Energieaufwand in den Übergangszustand gebracht werden, in dem dann die Bindungen gebrochen und neu geknüpft werden. Die hierzu notwendige Energie wird Aktivierungsenergie genannt. Die Freie Aktivierungsenthalpie  $\Delta G^\ddagger$  ist die Differenz zwischen der Freien Enthalpie des Übergangszustandes und der des Substrates (Abb. 5-1).

$$\Delta G = G_s^\ddagger - G_s \quad \text{Gleichung 13}$$

Reaktionsgleichgewichte sind unlösbar mit  $\Delta G$ , und Reaktionsgeschwindigkeiten mit  $\Delta G^\ddagger$  verbunden. Zum Verständnis der Wirkungsweise von Enzymen werden nun die thermodynamischen Zusammenhänge beschrieben. Das Gleichgewicht zwischen Substrat und Produkt wird durch eine Gleichgewichtskonstante  $K_{eq}$  formuliert:

$$K_{eq} = \frac{[P]}{[S]} \quad \text{Gleichung 14}$$

Thermodynamisch gilt folgende Beziehung zwischen  $K_{eq}$  und  $\Delta G$

$$\Delta G = - RT \ln K_{eq} \quad \text{Gleichung 15}$$

mit der Gaskonstante  $R$  und der absoluten Temperatur  $T$ . Die Gleichgewichtskonstante ist der Gesamtänderung der Freien Enthalpie der Reaktion direkt proportional. Ein hoher  $\Delta G$ -Wert spiegelt ein günstiges Reaktionsgleichgewicht wieder, bedeutet aber nicht, daß die Reaktion mit hoher Geschwindigkeit ablaufen wird.

Die Reaktionsgeschwindigkeit  $V$  hängt von der Konzentration der Reaktanden und von einer

Geschwindigkeitskonstante  $k$  ab.

Aus der Theorie des Übergangszustandes läßt sich folgende Beziehung zwischen Geschwindigkeitskonstante und Aktivierungsenergie ableiten:

$$k = \frac{\mathbf{k} T}{h} e^{-\Delta G^\ddagger / RT} \quad \text{Gleichung 16}$$

In diesem Ausdruck ist  $\mathbf{k}$  die Boltzmann-Konstante und  $h$  das Plancksche-Wirkungsquantum. Geschwindigkeitskonstante  $k$  und Freie Aktivierungsenergie  $\Delta G^\ddagger$  stehen in umgekehrt-reziproker und exponentieller Beziehung zueinander.

Aus diesen Gleichungen geht hervor, daß eine Verminderung der Aktivierungsenergie direkt zu einer Beschleunigung der Reaktion führt. Exakt dies ist die Wirkung von Enzymen.

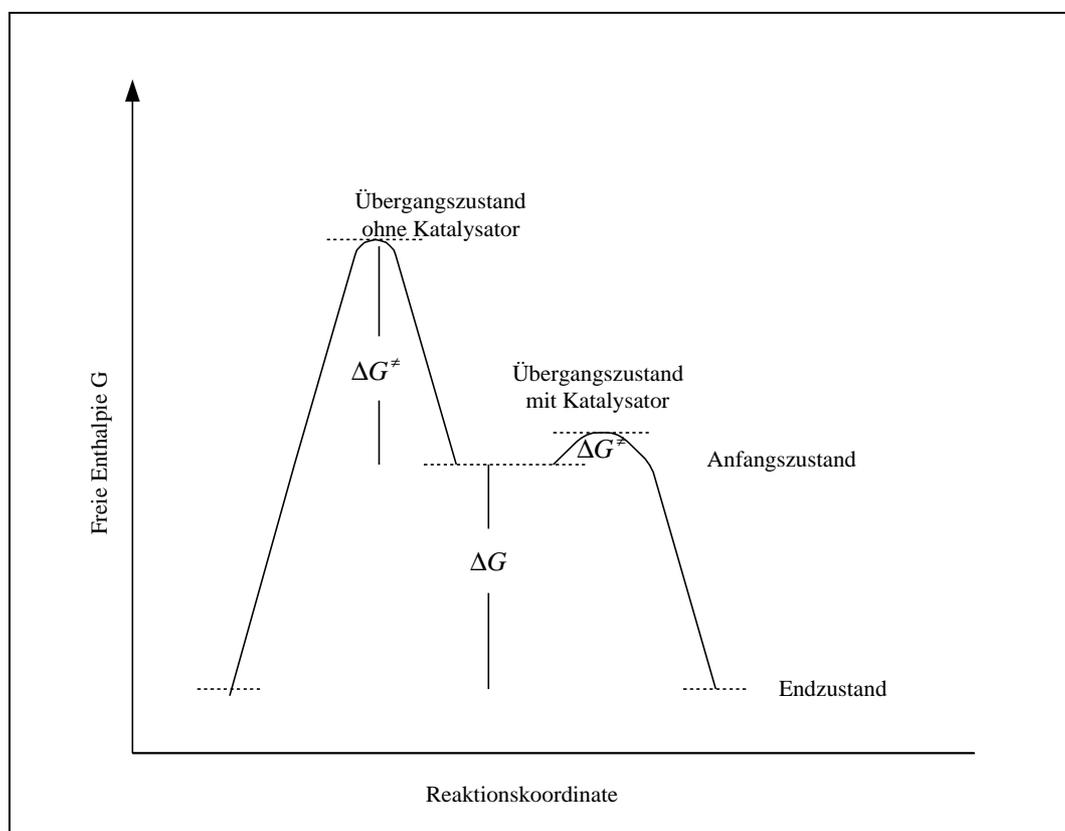
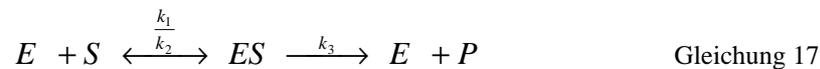


Abbildung 5-1 Herabsetzung der Aktivierungsenergie durch Enzymkatalyse

### 5.3.2 REAKTIONSGESCHWINDIGKEIT

Das einfachste kinetische Modell zur Beschreibung enzymkatalysierter Reaktionen wurde 1913 von L. Michaelis und M. Menten vorgeschlagen. Der entscheidende Punkt ihrer Betrachtungen war, daß sie ein spezifisches Zwischenprodukt, den Enzym-Substrat-Komplex ES postulierten, der mit der Geschwindigkeitskonstanten  $k_1$  gebildet wird. Dieser Enzym-

Substrat-Komplex kann mit  $k_2$  wieder in Enzym E und Substrat S zerfallen oder mit der Konstanten  $k_3$  zum Produkt weiterreagieren, wobei das Enzym wieder freigesetzt wird.



$$K_M = \frac{(k_3 + k_2)}{k_1} \quad \text{Gleichung 18}$$

Bei den meisten Enzymen variiert die Reaktionsgeschwindigkeit mit der Substratkonzentration, wobei V als die Anzahl der pro Sekunde entstehenden Mole des Produktes definiert ist. Die nachfolgende Abbildung zeigt den typischen Verlauf der Katalysegeschwindigkeit eines Enzyms, das der Michaelis-Menten Kinetik folgt /77/.

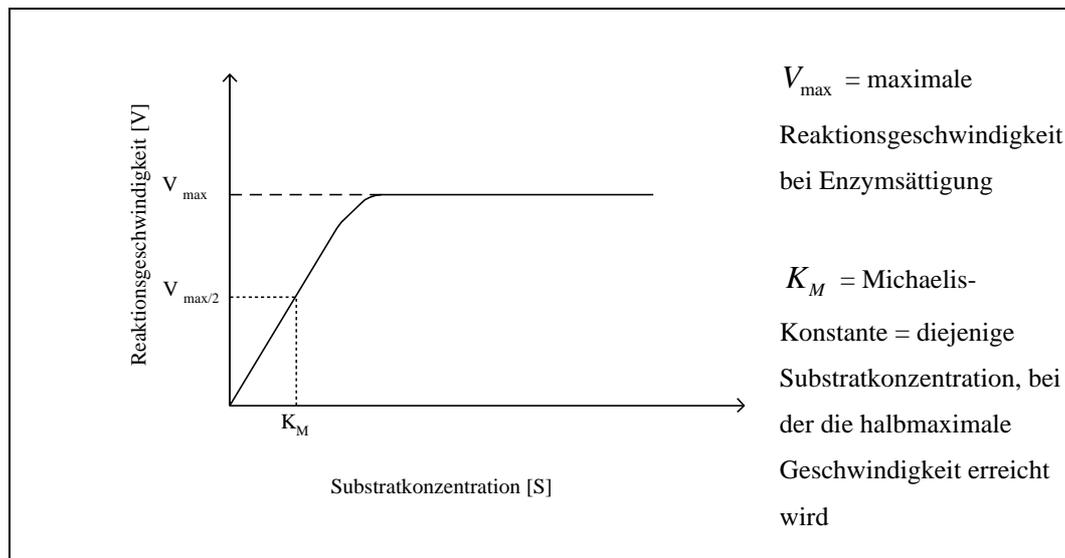


Abbildung 5-2: Reaktionsgeschwindigkeit einer enzymkatalysierten Reaktion

Der  $K_M$ -Wert eines Substrates ist eine „Stoffkonstante“ des jeweiligen Substrates. Ist der  $K_M$ -Wert hoch, so wird das Substrat schlecht an das Enzym gebunden, ist der  $K_M$  niedrig, ist die Affinität des Substrates zum Enzym groß.

### 5.3.3 ENZYMAKTIVITÄT

Enzymaktivität bedeutet Umsatzrate pro Zeiteinheit, z.B. die Menge gebildeten Produktes pro Minute, unter klar definierten Standardbedingungen. Enzyme arbeiten nur unter ganz bestimmten Bedingungen bestmöglich:

1. Enzyme benötigen ein optimales Substratangebot, der Zustand der

Substratsättigung muß erreicht sein.

2. Ein ständiger, ungehinderter Kontakt zwischen Enzym und Substrat ist notwendig, dies ist nur der Fall, wenn Enzym und Substrat in verdünnter Lösung vorliegen.
3. Jedes Enzym arbeitet mit konstanter Leistung, solange sich die Arbeitsbedingungen nicht ändern. So benötigt jedes Enzym einen bestimmten pH-Wert oder pH-Bereich für den optimalen Umsatz. Gleiches gilt für die Temperatur, die Leistung eines Enzymes verdoppelt sich bei einer Erhöhung der Temperatur um 10 °C, dies gilt im Bereich von etwa 10 bis 40 °C.

Die Umsatzrate wird vermindert, wenn für die Sättigung des Enzyms nicht mehr ausreichend Substrat vorhanden ist oder das Enzym inaktiviert wird.

Die Enzymaktivität hat die Dimension einer Geschwindigkeit:  $dP/dt$  oder  $-dS/dt$ .

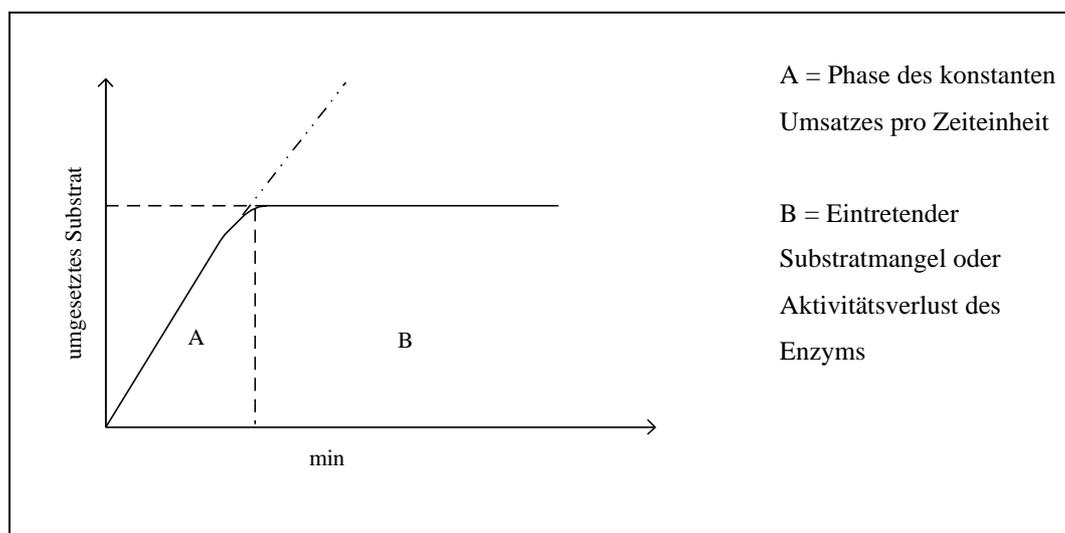


Abbildung 5-3 Produktbildung in Abhängigkeit von der Zeit

Diese optimalen Bedingungen können in der Praxis oft nicht realisiert werden. Es liegt auf der Hand, daß ein Einstellen des pH-Wertes von KFW in den optimalen Wirkungsbereich jeweiliger Enzyme, bei den vorhandenen Volumenströmen nicht realisierbar ist. Ebenso ist ein Erhöhen der Temperatur des KFW nicht sinnvoll, da das bakterielle Wachstum gefördert würde, was u.a. zu einer Qualitätsminderung der Kartoffeleiweißprodukte führen würde.

#### 5.3.4 ENZYMINHIBITOREN

Ein besonderes Merkmal enzymatischer Prozesse ist ihre Empfindlichkeit gegenüber bestimmten im Reaktionsgemisch vorhandenen Stoffen, den Inhibitoren oder Hemmstoffen,

diese setzen die Reaktionsgeschwindigkeit herab. Inhibitoren können entweder irreversibel oder reversibel mit dem Enzymmolekül in Wechselwirkung treten.

Ein **irreversibler Inhibitor** dissoziiert nur sehr langsam von dem betroffenen Enzym, da er sehr fest, entweder kovalent oder nichtkovalent gebunden wird. Die Bindung erfolgt an eine reaktive Gruppe, wie  $-SH$  oder  $-COOH$ . Ein Beispiel für diese Art der Hemmung ist die Wirkung von Nervengasen auf das Enzym Acetylcholinesterase, das eine wichtige Rolle bei der Weiterleitung von Nervenimpulsen spielt.

Die **reversible Hemmung** ist durch eine schnelle Dissoziation des Enzym-Inhibitor-Komplexes gekennzeichnet.

Bei der **kompetitiven Hemmung** kann das Enzym das Substrat oder den Inhibitor binden, aber niemals beide. Viele kompetitive Inhibitoren ähneln dem Substrat und werden vom aktiven Zentrum des Enzyms gebunden. Dies verhindert die Bindung des Substrates an das aktive Zentrum. Ein kompetitiver Inhibitor vermindert die Katalysegeschwindigkeit, indem er den Anteil der Enzymmoleküle mit gebundenem Substrat verringert.

Bei **nichtkompetitiver Hemmung**, die ebenfalls reversibel ist, können Inhibitor und Substrat gleichzeitig von demselben Enzymmolekül gebunden werden, das bedeutet, daß ihre Bindungszentren nicht identisch sind. Ein nichtkompetitiver Inhibitor wirkt durch eine Erniedrigung der Wechselzahl eines Enzyms und nicht dadurch, daß er den Anteil der Enzymmoleküle mit gebundenem Substrat verringert. Die nichtkompetitive Hemmung läßt sich, anders als die kompetitive Hemmung, nicht durch Erhöhung der Substratkonzentration aufheben. Kompliziertere Verhältnisse treten bei der gemischten Hemmung auf, wenn der Inhibitor sowohl die Substratbindung als auch die Wechselzahl eines Enzyms beeinträchtigt /78/.

Die **Wechselzahl** (engl. turnover number) gibt an, wie viele Moleküle Substrat vom aktiven Zentrum eines Enzymmoleküls je Zeiteinheit umgesetzt werden können. Man erhält sie durch Bestimmung von  $V_{\max}$  dividiert durch die totale Enzymmenge (mol) im Test, sie hat die Dimension  $\text{sec}^{-1}$ . Die Wechselzahl wird auch als die molekulare Aktivität bezeichnet. Eine hohe Wechselzahl bedeutet, daß die katalysierte Reaktion rasch verläuft. Besonders hohe Werte findet man z.B. für Katalase ( $5 \cdot 10^6 \text{ min}^{-1}$ ) oder Acteylcholinesterase ( $3 \cdot 10^6 \text{ min}^{-1}$ ).

## 5.4 TECHNISCHE ANWENDUNG VON ENZYMPRÄPARATEN

Technische Enzympräparate kommen vielerorts zum Einsatz. Nachfolgend werden einige dieser Anwendungsmöglichkeiten vorgestellt:

Man benötigt Enzyme für die Herstellung von Käse /79/ /80/, Bier /81/, Wein /82/, Backwaren /83/ /84/, Waschmitteln /85/ /86/, Leder /87/ /88/ und vielem mehr.

Ebenfalls finden Enzympräparate Einsatz bei der Unterstützung technischer Produktionsprozesse, z.B. wird die Wirkung von Enzymen genutzt als Prozeßhilfsmittel zur Trennung von Weizenmehl in Stärke und Gluten, man erreicht einen Anstieg der Ausbeute an Stärke /89/ /90/.

In der Fruchtsaftindustrie werden unter anderem Enzyme verwendet, um die Preßbarkeit, also die Filtrierbarkeit, von Säften zu erhöhen und zum Abbau von gelöstem und ungelöstem Pektin, um die Viskosität der Säfte zu senken.

Diese Wirkung der Pektinase soll untersucht werden, bezüglich der bestehenden Problematik der durch Pektine gebildeten Sekundärmembranen, bei der Verarbeitung von KFW. Bei den durchgeführten Versuchen wurde ausschließlich auf Enzyme aus der Fruchtsaftindustrie zurückgegriffen, diese werden hier näher erläutert.

### 5.4.1 DIE INDUSTRIELLE HERSTELLUNG VON FRUCHTSÄFTEN

Die industrielle Herstellung von Fruchtsäften hat in den letzten Jahrzehnten stark an Bedeutung gewonnen. Die Weltproduktion wird heute auf ca. 23 Mio. Hektoliter geschätzt, der Hauptanteil hieran wird von Zitrus Säften gebildet. Von den Deutschen wurden 1999 Pro-Kopf 40,5 Liter an Fruchtsaft konsumiert /91/.

Während aus Zitrusfrüchten bevorzugt trübe Säfte und Konzentrate hergestellt werden, wird der überwiegende Teil von anderem Obst zu klarem Saft und Konzentrat verarbeitet. Grund hierfür ist nicht nur das entsprechende Aussehen, sondern auch die bessere Stabilität klarer Säfte /92/.

Etwa 1934 wurden die ersten Pektinasepräparate zur Klärung von Fruchtsäften und zur Verbesserung der Preßbarkeit von Trauben verwendet.

Wesentliche Probleme bei der Gewinnung von Fruchtsäften sind durch den Pektingehalt der Früchte gegeben, wobei neben dem reinen Pektin auch andere, als Schleimstoffe bezeichnete Polymere, wie Arabane und Galaktane, vorkommen können. Die Pektine liegen in Früchten,

sowohl in wasserunlöslicher Form als Protopektine der primären Zellwand und der Mittellamelle, als auch in löslicher Form, vor. Die Protopektine tragen zur festen Struktur der Früchte bei und binden die flüssigen Inhaltsstoffe der Zellen. Während der Reife, bzw. beim Lagern von Früchten, findet ein Übergang vom unlöslichen zum löslichen Pektin statt. Die wasserlöslichen, meist hochveresterten Pektine, zeichnen sich durch hohe Viskosität aus und erschweren die Filtration der Säfte.

Pektinasen werden einerseits bei der Maischebehandlung, die vor allem bei Stein- und Beerenobst eine Rolle spielt, zur Erhöhung der Preßbarkeit zugesetzt und andererseits bei der Klärung der Säfte /93/. Die abgepreßten Säfte enthalten aus Zelltrümmern bestehende feine Trübstoffe. Die z. T. hohe Viskosität der Säfte und die Stabilisierung der Trübstoffe durch Pektine verhindern die Flockung, durch die Behandlung mit Pektinasen sinkt die Viskosität rasch ab /94/ /95/.

#### 5.4.2 DATEN ZU TECHNISCHEN ENZYMEN

Die Tabellen 5-1 bis 5-5 enthalten einige Angaben zu kommerziell verwendeten technischen Enzymen /96/.

Typ	Volumen [t]	Preis [\$/kg]
Analytisch	$10^{-3} - 1$	$10^6 - 10^9$
Pharmazeutisch	$1 - 10^2$	$10^2 - 10^5$
Spezialität	$1 - 10^2$	$10^2 - 10^5$
Großindustrie	$10^2 - 10^4$	10 - 50

Tabelle 5-1 Unterteilung von kommerziell vorhandenen Enzymen

Enzym	Anwendung	Preis [\$/kg]
$\alpha$ - Amylase	Verflüssigung von Stärke	5
Amyloglukosidase	Verzuckerung von Dextrinen	3
Pektinase	Saftverarbeitung	25
Invertase	Herstellung von Invertzucker	6
$\beta$ -Galaktosidase	Hydrolyse von Milchzucker	25

Tabelle 5-2 Richtpreis von Industrieenzymen

Merkmale von Industrieenzymen
hohe spezifische Aktivität
hohe Stabilität
Reinheit: 2 – 10 % <sup>2</sup>
Dosierung: 0,05 – 0,5 % pro kg Substrat
Entwicklungskosten: 10 <sup>6</sup> – 20 10 <sup>6</sup> \$
Anwendungskosten: 2 – 4 % der Wertschöpfung

Tabelle 5-3 Merkmale von Industrieenzymen

Substrat	Enzym	Produkt	Preis [\$/t Prod.]
Stärke	$\alpha$ -Amylase	Dextrin	2 - 3
Dextrin	Amyloglukosidase	Glukose	2
Glukose	Glukose Isomerase	Fruktose	3 - 4
Apfelpulpe	Pektinase / Zellulase	Soft	4 - 10
Laktose	$\beta$ -Galaktosidase	Glukose / Galaktose	200

Tabelle 5-4 Kosten der Enzyme im Prozeß

## Weltweiter Verkauf von Industrieenzymen von 1966 – 1990 /97/

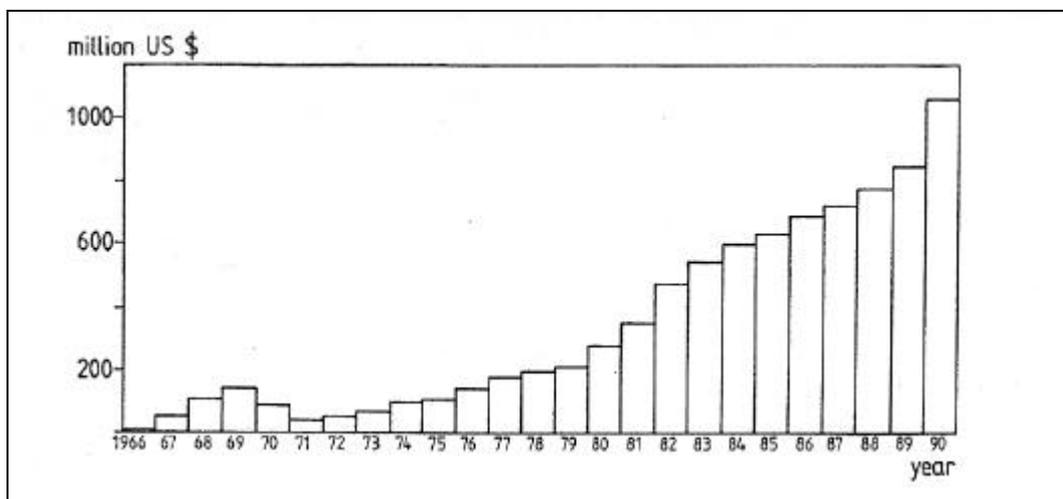


Tabelle 5-5 Weltweiter Verkauf von Industrieenzymen von 1966 – 1990

<sup>2</sup> Die niedrigen Reinheiten sind üblicherweise absichtlich, da Füllstoffe und Stabilisatoren zur Vergrößerung des Volumens zugefügt werden.

## 6 PEKTIN

Die Membranverschmutzungs- oder Fouling-Prozesse sind ein Problem, das praktisch alle Membrantrennprozesse berührt. Die Verschmutzungen entstehen in den meisten Fällen durch Niederschlagsbildung infolge von Übersättigung und Ausfällen einer Komponente in der Grenzschicht von Membran zu Fluid (Präzipitationsfouling, z.B. durch Proteine), durch Sedimentation suspendierter Stoffe (sog. Scaling, z.B. durch Sand) oder die Belegung der Membran durch Mikroorganismen (Biofouling). Bei der Verarbeitung von Obst und Gemüse kommt es zu einer Sekundärmembran durch gelbildende Pektine.

Die Membranbelegung hat in jedem Fall eine Flußabnahme zur Folge und unter Umständen eine Veränderung der Selektivität der Membran. Die Möglichkeiten auf diese Parameter Einfluß zu nehmen sind begrenzt, so wird sich ohne drastische Maßnahmen die Keimbelastung des KFW nicht reduzieren lassen, ebenso ist die Einflußnahme auf dessen Inhaltsstoffe schwierig.

Dennoch soll im Verlauf dieser Arbeit das Pektin, welches bei der Aufarbeitung von Kartoffelfruchtwasser als gelbildende Substanz für die Membranbelegung verantwortlich gemacht wird, durch pektinolytisch wirkende Enzyme abgebaut werden.

Ziel dieses enzymatischen Abbaus ist die drastische Erhöhung der Permeatleistung von Membrantrennanlagen, mit Kapitel 6 folgt eine Darlegung zu den Pektinen.

### 6.1 VORKOMMEN VON PEKTIN

Pektin, auch Pektine oder Pektinstoffe, auch Galakturonan oder Rhamnogalakturonan genannt, ist ein Sammelbegriff für Heteropolysaccharide, welche hauptsächlich aus Polygalakturonsäure bestehen /98/ /99/.

Der Name Pektin (griech. = erstarrt) stammt von Braconnot, der 1825 diesen Stoff als erster eingehend beschrieb /100/.

Pektin nimmt unter den Polysacchariden der pflanzlichen Zellwände eine besondere Stellung ein und unterscheidet sich vor allem in seinem Aufbau und seinen Eigenschaften beträchtlich von den übrigen Zellwandpolysacchariden, der Zellulose und den Hemizellulosen.

Die Pektine sind zunächst komplexe, saure Polysaccharide (sog. Polyuronide), welche am Aufbau der meisten pflanzlichen Zellwände beteiligt sind. Sie sind vor allem in der Region vorhanden, wo benachbarte Zellwände zusammentreffen, also in der sogenannten

---

Mittellamelle. Dort bilden sie den Kitt, der das Zellgewebe zusammenhält, deshalb werden Pektine auch als Kittsubstanz bezeichnet.

Die Pektine finden sich auch in den dünnen Primärwänden, die von jungen wachsenden Zellen angelegt werden. Hier bilden sie mit den Hemizellulosen die sog. Matrix, in welcher die Zellulosefibrillen eingebettet sind und zusammengehalten werden. Die dickeren Sekundärwände, die erst später angelagert werden, bestehen vorwiegend aus Zellulose, Hemizellulosen (Xylane, Mannane, usw.) und Lignin. Pektine finden sich daher reichlich in jungen, wachsenden Pflanzengeweben, während in älteren lignifizierten meist nur sehr wenige vorhanden sind, da dort die dicken Sekundär- und Tertiärwände mengenmäßig stark überwiegen.

Die Lokalisation der Pektine in den Zellwänden weist bereits auf ihre große Bedeutung für den Zusammenhalt des Pflanzengewebes hin. Ein Abbau dieser Stoffe hebt die Kittwirkung auf, die Zellen können sich gegeneinander verschieben, das wird ersichtlich am Weichwerden von Früchten, oder das Gewebe kann ganz Zerfallen (Mazeration). Die nativen Pektinstoffe sind daher für die Textur von Früchten und Gemüse von entscheidender Bedeutung /101/. Gelingt ein enzymatischer Angriff auf die Zellwände, so ist eine Erhöhung der Stärkeausbeute nicht unwahrscheinlich, denn durch einen erhöhten Zellaufschluß steigt auch der Anteil an auswaschbarer Stärke im Verarbeitungsprozeß.

Die Lokalisation der Pektine in den Zellwänden wird zur Veranschaulichung (Abb. 6-1) schematisch dargestellt /102/.

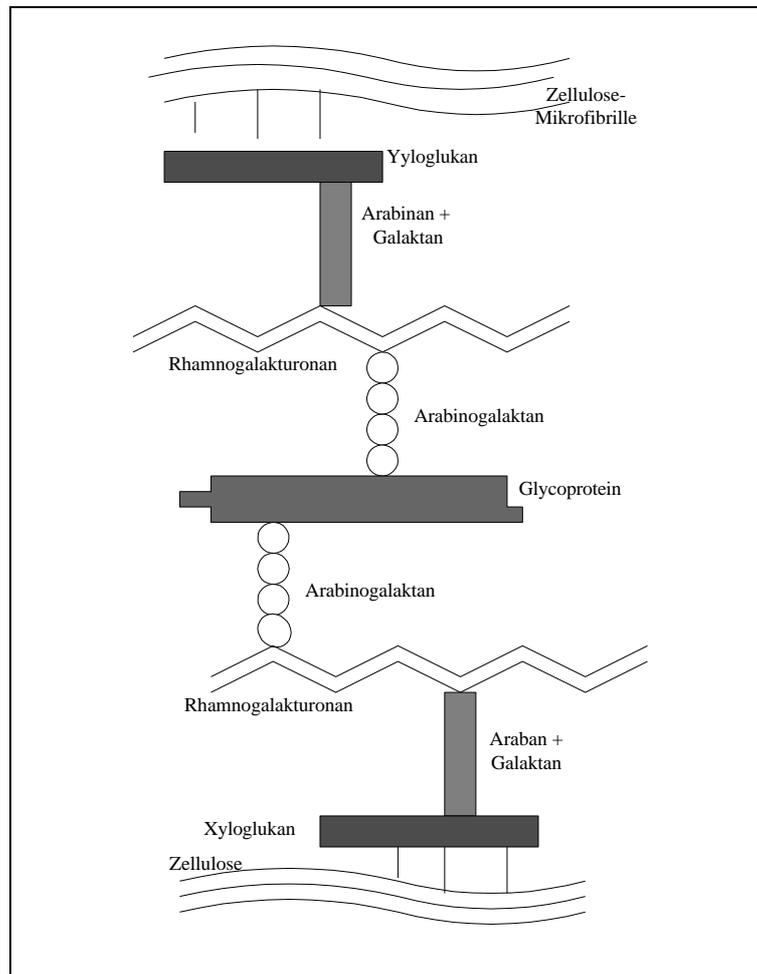


Abbildung 6-1 Schematischer Aufbau der pflanzlichen Zellwand

In allen höheren Landpflanzen kommt Pektin vor, ergo ist es auch ein Bestandteil aller pflanzlichen Lebensmittel und spielt in dieser Technologie eine wichtige Rolle. Kartoffeln und deren Verarbeitung betrifft es auch, in Tabelle 6-1 sind einige Pektingehalte von Pflanzenmaterialien angegeben /103/.

Pflanzenmaterial	Pektin [%] Frischmasse
Apfel	0,5 – 1,6
Aprikosen	0,7 – 1,3
Beeren (Johannis- oder Stachel-)	0,9 – 1,5
Grapefruit	1,6 – 4,5
Tomate	0,2 – 0,5
Kartoffeln	0,4 – 0,7
Karotten	0,8 – 2,2

Tabelle 6-1 Pektingehalte verschiedener Pflanzenmaterialien

## 6.2 STRUKTUR VON PEKTIN

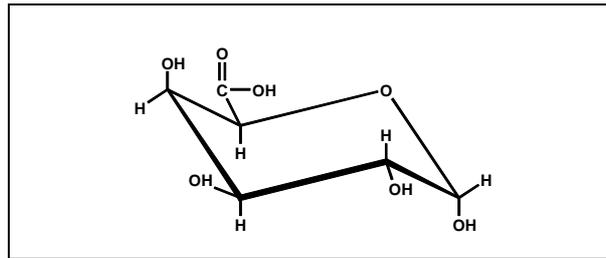
Chemisch gesehen sind Pektine keine einheitlichen Substanzen, sondern sehr heterogene Mischungen aus Polysacchariden mit unterschiedlichem Molekulargewicht und Veresterungsgrad.

Die Hauptbausteine sind unveresterte oder mit Methanol veresterte Galakturonsäureeinheiten, die  $\alpha$ -1,4-glykosidisch miteinander zu einem Polysaccharid, der Polygalakturonsäure, verknüpft sind /104/ /105/ /106/.

Mit ihnen verbunden sind Blöcke von rhamnosereichen Regionen mit Seitenketten, die aus Arabinose, Galaktose und Xylose bestehen. Sie werden begleitet von Hemizellulosen, wie Arabanen und Galaktanen /107/ /108/.

Die Molekularmasse extrahierter Pektine kann nur statistisch gesehen werden und erreicht im Mittel etwa 100.000, wobei Molgewichte von 30.000 bis 300.000 gemessen werden.

Die Gelierfähigkeit der Pektine ist mit einem ausreichend hohen Polymerisationsgrad verknüpft, ein Grenzwert hierfür ist jedoch nicht existent. Bedenkt man die vielen Variationsmöglichkeiten in Bezug auf Polymerisationsgrad, Veresterung, Acetylierung, Gehalt an Neutralzucker und an die Verteilung der Substituenten entlang dem Polygalakturonsäure-Skelett, so wird ersichtlich, daß in einem Pektin-Präparat kaum identische Moleküle vorliegen. Abb. 6-2 beschreibt die Galakturonsäure, den Grundbaustein aller Pektine.

Abbildung 6-2 C1-Konformation der  $\alpha$ -D-Galakturonsäure

Die Monomeren haben C1-Konformation, wodurch eine diaxial glykosidische Bindung entsteht.

Die Carboxylgruppen sind teilweise mit Methanol verestert und in der Pflanze ganz oder teilweise neutralisiert. Bei den hochveresterten Pektinen ist mehr als die Hälfte der Carboxylgruppen verestert. Bei weniger als 50% Veresterung spricht man von niederverestertem Pektin.

Wenn maximal noch 10% der Carboxylgruppen verestert sind, spricht man von Pektinsäure (sog. Pektat). Die diaxial glykosidische Bindung, der Galakturonsäure-Einheiten und ihrer Ester sind in Abb. 6-3 dargestellt.

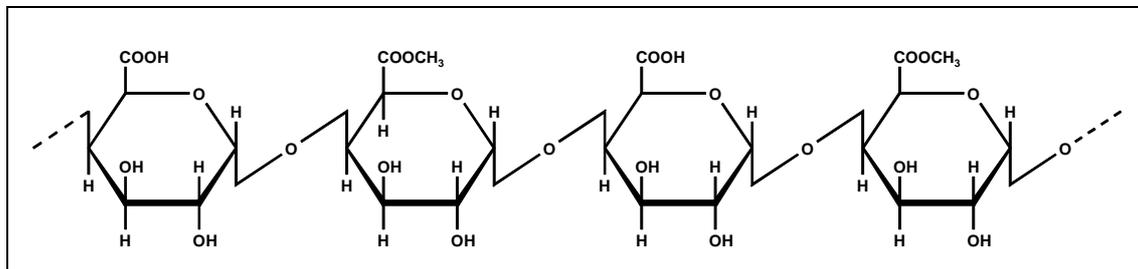


Abbildung 6-3 Polygalakturonsäure, Veresterungsgrad 50%

Der heteropolysaccharide Charakter von Pektinen leitet sich von der Tatsache ab, das hauptsächlich Xylose als Monomer und Galaktose sowie Arabinose als Oligosaccharide kovalent über die C<sub>2</sub>- oder C<sub>3</sub>-Atome der Monomeren mit der Hauptkette verknüpft sind. Ferner kann die Hauptkette Rhamnose (L-Rhamnosylpyranose) in 1-2-Bindung eingebaut sein, welche ebenfalls Seitenketten tragen können. Daneben sind oft neutrale Polysaccharide wie Galaktane, Arabane und Stärke Begleitstoffe von aufgearbeitetem Pektin.

Die Abbildung 6-4 veranschaulicht, wie es in der Polygalakturonsäure-Kette zur Ausbildung von Seitenketten durch Einbau von Rhamnose kommt /109/ /110/ /111/.

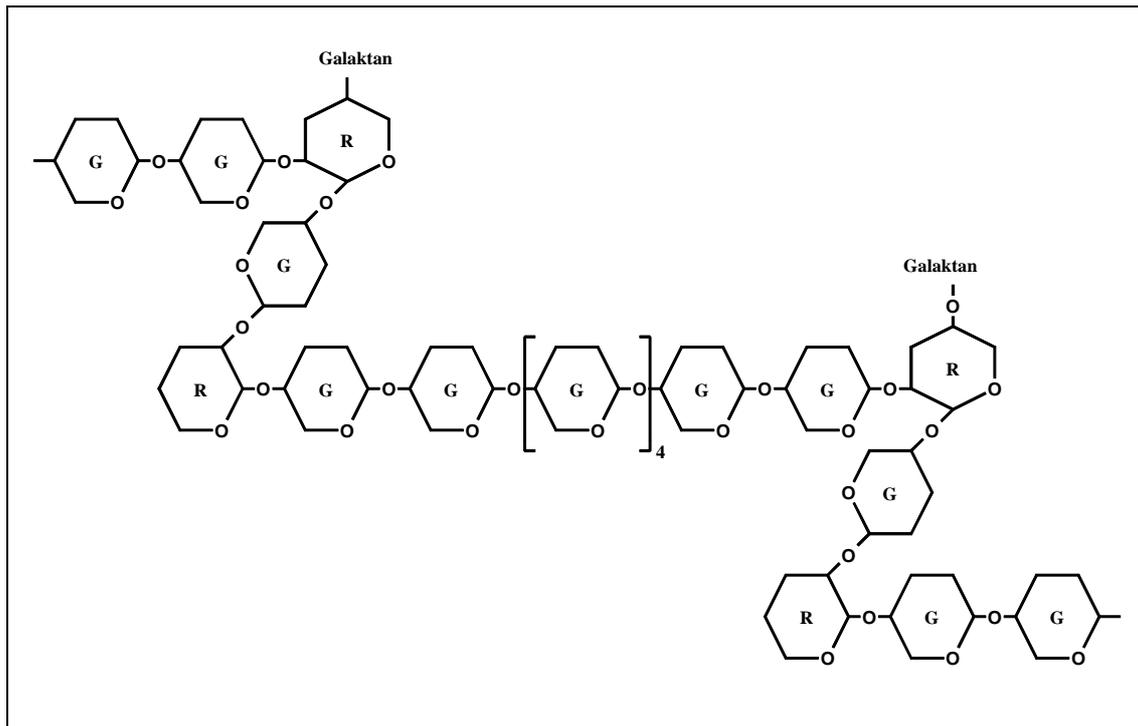


Abbildung 6-4 Struktur von Rhamnogalakturonan

Mit: G: Galakturonsäure, R: Rhamnose

### 6.2.1 EIGENSCHAFTEN VON PEKTINEN

Pektine sind wasserlöslich, die wässrige Lösung der sauren Form generiert einen pH-Wert von 2,6–3,2, abhängig vom Veresterungsgrad.

Stark verseifte Präparate hingegen lösen sich erst nach teilweiser Neutralisation. Die Löslichkeit in Wasser nimmt mit steigendem Veresterungsgrad und abnehmender Kettenlänge zu. Allerdings neigen Pektine wegen des starken Quellvermögens zur Klumpenbildung.

Die Viskosität der wässrigen Lösung ist vor allem von der Molekularmasse abhängig, sie wird aber in komplizierter Weise von zahlreichen anderen Faktoren, wie Veresterungsgrad, pH-Wert (Dissoziation) und Elektrolytkonzentration beeinflusst.

Die Titrationskurven von Pektin-Lösungen gleichen denen von schwachen monobasischen Säuren. Als typische Polyelektrolyte haben Pektine aber nur scheinbare Dissoziationskonstanten (pK-Werte zwischen 3 und 5; D-Galakturonsäure hat einen pK-Wert von 3,5). Dieser Wert nimmt mit fallender Pektin-Konzentration, mit zunehmendem Neutralisations- und abnehmendem Veresterungsgrad ab.

Pektin-Lösungen sind bei pH 3–4 am stabilsten, wobei die Temperatur eine untergeordnete Rolle spielt. Bei sauren pH-Werten und in der Kälte werden die Estergruppen und die

Hemizellulose-Seitenketten hydrolysiert. Bei steigender Temperatur laufen diese Reaktionen rascher ab und es kommt eine hydrolytische Spaltung der glykosidischen Bindungen dazu, die bei höheren Temperaturen überwiegt.

### 6.2.2 GELIEREIGENSCHAFTEN VON PEKTINEN

Im Hinblick auf die Filtrationsvorgänge im Produktionsprozeß der Stärke ist die Ausbildung von Gelen wohl die interessanteste Eigenschaft von Pektinen.

Die im Prozeß auftretende Membranbelegung bei den Filtrationsvorgängen wird durch die Ausbildung von Gelen durch Pektine begünstigt. Daraus folgt, daß sich jegliche Verminderung dieser Sekundärmembran-Bildung positiv auf die Energie- und Stoffbilanzen bei den Filtrationsprozessen auswirkt.

Die Gele entstehen dadurch, daß regelmäßig geordnete Zonen von Kettenmolekülen zu Haftzonen zusammentreten. Unregelmäßigkeiten im Molekül sorgen dann dafür, daß solche regelmäßigen Zonen nur kurz und daneben freie Kettenstücke vorhanden sind.

Zu den Unregelmäßigkeiten im Molekül gehören Stellen, wie eine Veränderung der Verteilung der Methoxygruppen, eine Acetylgruppe, ein Rhamnose-Molekül oder eine Seitenkette. Auf diese Weise entstehen keine unlöslichen Micellen wie z.B. bei der Retrogradation von Stärke, sondern ein Netz mit elastischen Eigenschaften (Abb. 6-5).

Pektin ist ein Beispiel dafür, wie sich steife geknickte Ketten unter den Bedingungen einer extensiven Hydratation zusammen lagern können.

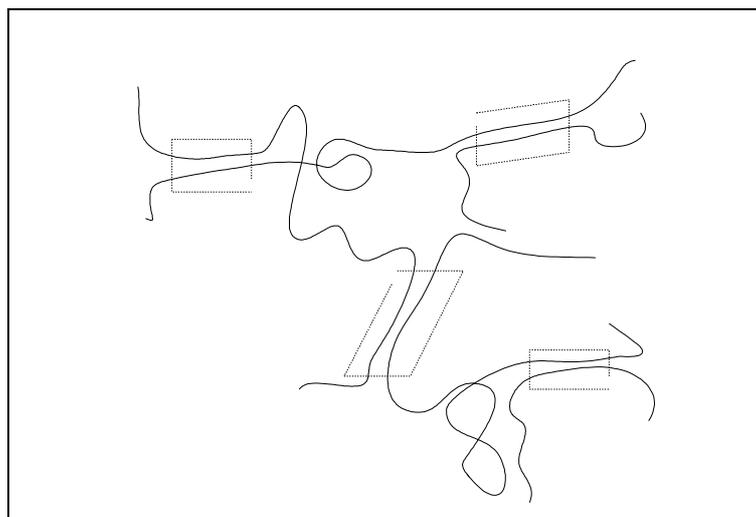


Abbildung 6-5 Die Haftzonen im Netzwerk eines Pektin Gels

Es gibt mehrere Typen von Kettenassoziationen, die durch das Ausmaß der Methylveresterung bestimmt werden. Diese unterschiedlichen Kettenassoziationen bieten biologische Möglichkeiten für die Variation der Sekundär- und Tertiärstrukturen der gebildeten Gele.

Bei den niedrig veresterten Pektinen kommen die Haftzonen zustande, da die wegen der axial-axial glykosidischen Bindung in Zickzack-Ketten vorliegenden Polygalakturonsäure-Einheiten einander gegenüber liegen können /112/ /113/ /114/.

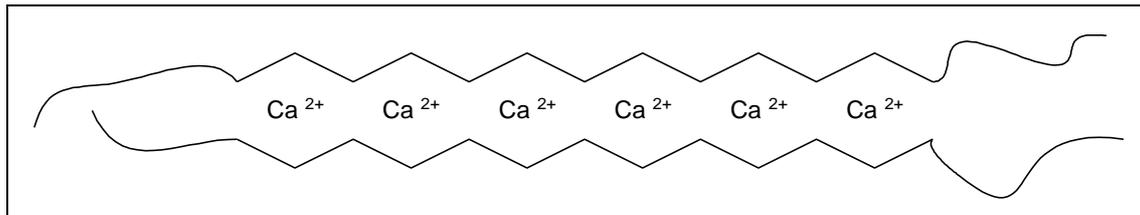


Abbildung 6-6 Assoziation von Polygalakturonsäure-Sequenzen durch Chelatisierung von  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionen

Diese Anordnung wird dann durch  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionen, welche Bindungen mit den Carboxyl- und den Hydroxylgruppen eingehen, fixiert (Abb. 6-6 und 6-7; bildlich ein Eierkarton). Das Ende einer Haftzone bei diesen sogenannten Calciumpektat-Gele kann wiederum eine Rhamnose-Einheit in der Kette, eine Seitenkette oder eine Acetatgruppe sein /115/ /116/.

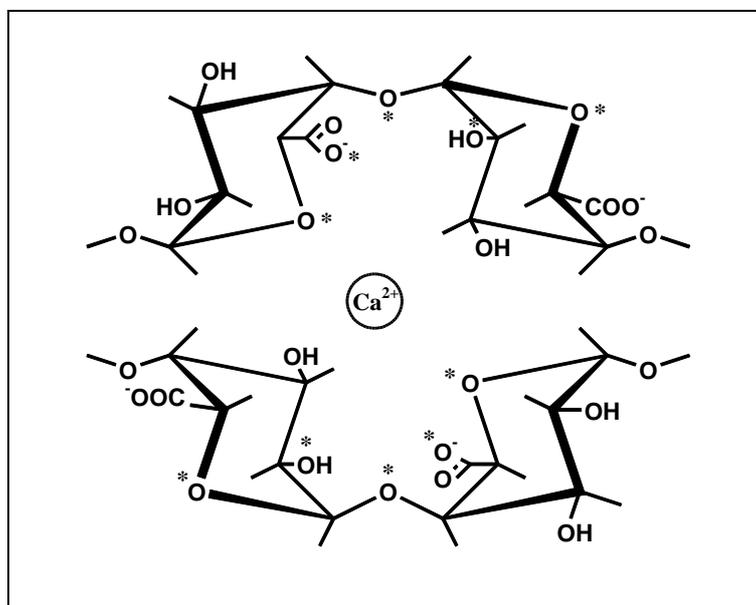


Abbildung 6-7 Assoziation durch Komplexbildung mit  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionen

Die mit \* gekennzeichneten Sauerstoffatome binden das Calcium koordinativ.

Bei stärker methylveresterten Pektinen sind die Wechselwirkungen mit Kationen relativ schwach, da die Ketten keine Ladungen tragen. Die Gelbildung erfolgt deswegen nicht unter

den gleichen Bedingungen wie beim Polyanion. Die Bindung zwischen den Ketten wird durch Wasserstoff-Brücken verursacht, während die freien Kettenstücke stark hydratisiert sind. Zugabe eines gelösten Stoffes, z.B. Saccharose, verringert die Aktivität des Wassers im System, wodurch die Neigung zu Polymer-Polymer-Wechselwirkung im Vergleich zu Polymer-Lösemittel-Wechselwirkung begünstigt wird.

Unabhängig von der Art des Pektins und der damit hergestellten Gele gilt, daß die Gelfestigkeit mit der Pektin-Menge und bei gleicher Pektin-Menge mit dem Polymerisationsgrad zunimmt.

### 6.3 PEKTINSPALTENDE ENZYME

Die Bildung von Gelen durch Pektine ist eine Funktion ihres Polymerisationsgrades. Durch hydrolytische Spaltung der Polygalakturonsäure-Ketten kann die durch Pektine erzeugte Sekundärmembran abgebaut werden. Die bei der Filtration von KFW auftretende Gelbildung kann durch gezielte Zugabe von Pektinasen verhindert werden, nachfolgende Ausführungen zu Vorkommen, Eigenschaften und Wirkung der wesentlichen pektinspaltenden Enzyme erläutern dieses.

#### 6.3.1 BIOCHEMIE DER PEKTINASEN

Pektinasen sind pektinspaltende Enzyme. Sie bilden eine Gruppe aus Esterasen, Glykosidasen und Lyasen. Sie katalysieren die Abbaureaktionen an den heterogenen zusammengesetzten Pektinpolysacchariden der Mittellamelle und der Primärwand höherer Pflanzen oder an isolierten Pektin- und Pektinsäure-Substraten mit unterschiedlichem Veresterungsgrad.

Während ursprünglich die pektinspaltenden Enzyme gemäß ihren Hauptwirkungen der Pektinentesterung und Pektinhydrolyse lediglich in *Pektinesterasen* (Pektasen, Pektinmethylesterasen, Pektindemethoxylasen) und *Pektindepolymerasen* (Pektinasen, Pektin glykosidasen) unterteilt wurden, zeigte sich, daß eine weitere Differenzierung, besonders der Pektindepolymerasen, notwendig ist. So führt die Auffindung von Enzymen, welche die Galakturonan-Hauptkette nach einem  $\beta$ -Eliminierungs-Mechanismus spalten, zur Klassifizierung der *Pektindepolymerasen* in Polygalakturonasen, Pektinlyasen und Pektatlyasen. Die wesentlichen Unterteilungsmerkmale ergeben sich nach dem Spaltungsmechanismus, Hydrolyse oder  $\beta$ -Elimination, der Wirkungsweise bzw. dem

Polymerisationsgrad der entstehenden Spaltprodukte in der Anfangsphase, Endo-Mechanismus oder Exo-Mechanismus. Unterschieden wird auch nach dem bevorzugten Substrat, Pektin oder Pektinsäure, und nach dem Angriffsort, also dem reduzierenden oder nichtreduzierenden Kettenende des Substrates.

In der jetzt gültigen Enzym-Nomenklatur (EC Nummer) sind die in nachfolgender Tabelle 6-2 ausgewiesenen Pektinenzyme aufgeführt /117/.

EC-Nummer	Empfohlener Name	Systematischer Name	Wirkung
Esterasen			
3.1.1.11	Pektinesterase	Pektin-Pektyl-hydrolase	Hydrolyse der Methyl-esterbindungen von Pektin
Glykosidasen			
3.2.1.15	Polygalakturonase	Poly(1,4- $\alpha$ -D-galakturonid)-Glykanohydrolase	Hydrolyse von Pektat (Endo-Mechanismus)
3.2.1.67	Galakturan-1,4- $\alpha$ -Galakturonidase	Poly(1,4- $\alpha$ -D-galakturonid)-Galakturono-hydrolase	Hydrolyse von Pektat (Abspaltung von Monogalakturonsäure vom nicht-reduzierenden Ende her)
3.2.1.82	Exo-Poly- $\alpha$ -Galakturosidase	Poly(1,4- $\alpha$ -D-galaktosiduronat)-Digalakturono-hydrolase	Hydrolyse von Pektat (Abspaltung von Digalakturonsäure vom nicht-reduzierenden Ende her)
Lyasen			
4.2.2.2	Pektat-Lyase	Poly(1,4- $\alpha$ -D-galakturonid)-Lyase	eliminative Spaltung von Pektat (Endo-Mechanismus)
4.2.2.9	Exo-Polygalakturonat-Lyase	Poly(1,4- $\alpha$ -D-galakturonid)-Exolyase	eliminative Spaltung von Pektat (Freisetzung von $\Delta$ -4,5-ungesättigter Digalakturonsäure vom reduzierenden Ende her.)
4.2.2.10	Pektin-Lyase	Poly (methoxyl-L-galakturonid)-Lyase	eliminative Spaltung von Pektin (Endo-Mechanismus)

Tabelle 6-2 Klassifizierung der Pektinenzyme gemäß Enzym-Nomenklatur

Nicht näher behandelt werden die in der Enzym-Nomenklatur noch genannten Pektinenzyme

Polygalakturonat-4- $\alpha$ -Galakturonosyltransferase (EC 2.4.1.43) und Galakturonokinase (EC 2.7.1.44).

Bestimmte Substratparameter beeinflussen prinzipielle Eigenschaften von pektinspaltenden Enzymen. Dazu können Molekülmasse bzw. der Polymerisationsgrad, der Veresterungsgrad und die Verteilung der freien Carboxylgruppen, eine natürliche Derivatisierung, z.B. eine Acetylierung an den C-Atomen C2 oder C3 der Galakturonsäure-Einheiten bzw. Amidierung an den Carboxylgruppen oder eine anderweitige Modifizierung, gehören.

Deswegen wurde von Pilnik et al. /118/ /119/ eine abgewandelte Klassifizierung der Depolymerasen vorgeschlagen (Tabelle 6-3), da bestimmte Pektatlyasen niederveresterte Pektine mit höherer Geschwindigkeit als Pektinsäure spalten können.

	Enzym	EC-Nomenklatur
Glykosidasen	Endo-Polygalakturonase	EC 3.2.1.15
	Endo-Polygalakturonase	EC 3.2.1.67
Lysasen	Endo-LM-Pektinlyase	EC 4.2.2.2
	Exo-LM-Pektinlyase	EC 4.2.2.9
	Endo-Pektinlyase	EC 4.2.2.10

Tabelle 6-3 Klassifizierung der Pektinenzyme nach Pilnik et al.

### 6.3.2 KLASSIFIZIERUNG DER PEKTINENZYME

Es sind zwei verschiedene Spaltungsmechanismen bekannt, die hydrolytische Spaltung der Glykosidbindung und die transelemative Spaltung. Die Spaltungsweise von Pektin durch die wichtigsten pektinspaltenden Enzyme veranschaulicht die Abbildung 6-8. In der ersten Reaktionsgleichung wird die hydrolytische Spaltung durch Polygalakturonase dargestellt, bei den Reaktionsgleichungen zwei und drei handelt es sich um eine transelemative Spaltung durch Pektatlyase bzw. Pektinlyase. Die letzte Gleichung beschreibt die Entesterung durch Pektin Esterase /120/.

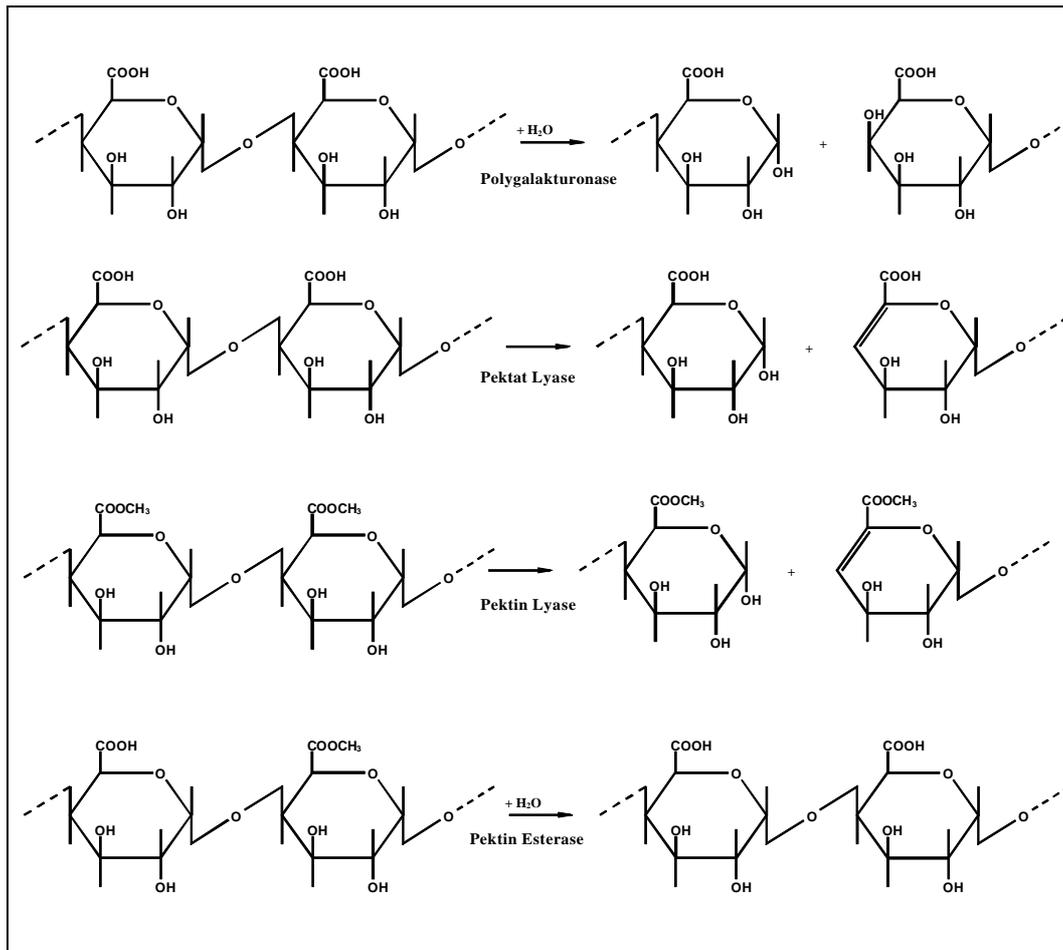


Abbildung 6-8 Entesterung und Depolymerisation von Pektin

### 6.3.3 ESTERASEN

#### *Pektinesterase*

Pektinesterase (E.C. 3.1.1.11) ist für die Abspaltung der Methylestergruppen verantwortlich. Sie kommt in höheren Pflanzen weit verbreitet vor. Einige Früchte (Orangen, Tomaten) sind besonders reich an Pektinesterase. Daneben werden Pektinesterasen in Schimmelpilzen, Hefen und Bakterien gefunden /121/ /122/ /123/.

Das Enzym wirkt sehr spezifisch auf Pektinsubstrate, insbesondere die Homogalakturonan-Sequenzen. Unterhalb einer Viskositätszahl  $[\eta]$  von 100 ml/g Galakturonan vermindert sich die Aktivität, wobei die Viskosität ein Maß für die Substratkonzentration darstellt /124/. Methylester von Mono- bis Tri-Galakturonsäure werden praktisch nicht mehr hydrolysiert /125/ /126/.

Pektinesterasen können Pektin nur bis zu einem Restveresterungsgrad von etwa 5-10% entestern, dies ist durch Unregelmäßigkeiten im Pektinmolekül zu erklären /127/.

Durch die Entesterung geliert das gelöste Pektin in Gegenwart von  $Ca^{2+}$ -Ionen /128/ (vergl.

---

### Kapitel 6.2.2).

Pflanzliche Pektinesterasen benötigen NaCl, teilweise auch CaCl<sub>2</sub>, als Aktivatoren. Als Inhibitoren wirken Tanninsäure und andere polyphenolische Verbindungen, einige Zucker, mehrvalente Kationen, sowie Jod /129/ /130/ /131/.

Pektinesterase aus Pflanzen werden durch ihr Reaktionsprodukt, die Pektinsäure, kompetitiv gehemmt. Die pH-Optima pflanzlicher Pektinesterase liegen zwischen 6,0 und 8,5, während die Enzyme aus *Aspergillus sp.* solche bei pH 4,5 aufweisen. Es gibt jedoch auch mikrobielle Pektinesterase mit pH-Optima > 6. Die Temperaturoptima befinden sich bei 40–45 °C (mikrobielle Pektinesterase) bzw. bis zu 60 °C (pflanzliche Pektinesterase).

Die relativen Molekülmassen liegen in den meisten Fällen zwischen 24.000 und 37.000. Es werden mehrere multiple Formen nachgewiesen /132/.

Bei der Entesterung von Pektin durch pflanzliche Pektinesterase sowie durch Pektinesterase aus *Trichoderma reesei* /133/ kommt es zu einer blockweisen Anordnung freier Carboxylgruppen im Substrat, während Pektinesterase aus *Aspergillus sp.* mehr oder weniger nach einem statistischen Mechanismus entestern /134/ /135/.

Die Aktivitätsbestimmung der Pektinesterase erfolgt zumeist durch Titration der freigesetzten Carboxylgruppen bei konstantem pH-Wert, an 0,5 bis 1 %igen Pektinlösungen als Substrat, in Gegenwart von 50 bis 200 mM NaCl, ferner gaschromatographisch oder colorimetrisch über das freigesetzte Methanol.

Schließlich kann man die Pektinesterase-Aktivität spezifisch über die Farbreaktion des Pektins mit Hydroxylamin zu Hydroxamsäure-Fe<sup>3+</sup>-Komplexen ermittelt werden /136/. Bei kurzem Erhitzen auf 75 °C wird die Esterase vollständig inaktiviert /137/.

### 6.3.4 GLYCOSIDASEN

#### **Polygalakturonase**

Polygalakturonase (EC 3.2.1.15) ist das lebensmitteltechnologisch bedeutsamste pektinspaltende Enzym. Es wird durch verschiedene Mikroorganismen und höhere Pflanzen, aber auch von bestimmten niederen Tieren gebildet. Polygalakturonase wird bei der Pektinspaltung durch Pektinesterase kooperativ unterstützt /138/.

Über den Wirkungsmechanismus der Polygalakturonase liegen bisher nur wenig Befunde vor. Nach den an einer gereinigten Endo-Polygalakturonase aus *Aspergillus niger* gewonnenen

Ergebnissen /139/ wird angenommen, daß zwei Carboxylgruppen der Pektinsäurekette von den Bindungszentren des Enzyms gebunden werden. Diese beiden Haftstellen müssen vom aktiven Zentrum durch drei und sechs Galakturonsäure-Einheiten getrennt sein (Abb. 6-9), da der enzymatische Abbau von Pektinsäure zur zwischenzeitlichen Anhäufung von Hexa-Galakturonsäure-Einheiten führt, die nachfolgend zu Tri-, Di- und wenig Mono-Galakturonsäure-Einheiten zerlegt werden. Die Tri-Galakturonsäure-Einheiten können nicht weiter abgebaut werden. Eine Endo-Polygalakturonase aus *Aspergillus niger* besitzt eine Haftregion mit vier Haftstellen, und die Spaltung erfolgt zwischen Haftstelle eins und zwei /140/.

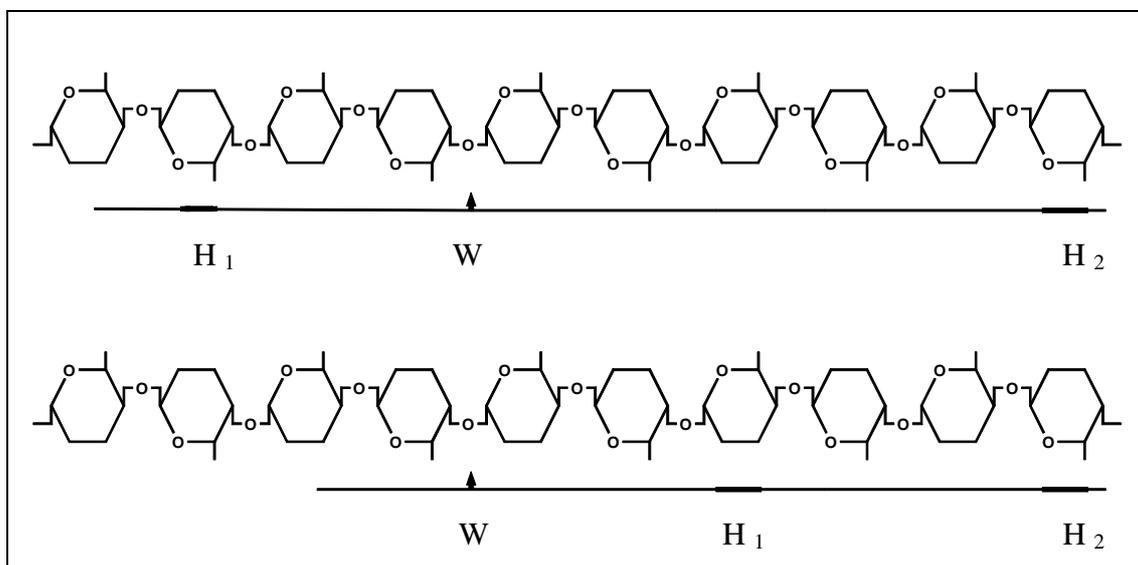


Abbildung 6-9 Darstellung von zwei möglichen Enzym/Substrat-Komplexen

Mit: H<sub>1</sub> Haftstelle 1; H<sub>2</sub> Haftstelle 2; W Wirkgruppe des aktiven Zentrums

Die Aktivität der Polygalakturonase vermindert sich, wenn abgebaute, besonders oligomere Substrate, eingesetzt werden /141/. Di-Galakturonsäure ist durch Polygalakturonase nicht spaltbar. Die Aktivität erhöht sich mit verringertem Veresterungsgrad des Pektins. Beim Abbau von Pektinsäuren, den bevorzugten Substraten der Polygalakturonase, treten zunächst makromolekulare Bruchstücke auf, während als Endprodukte des Abbaues schließlich Mono- bis Tri-Galakturonsäure-Einheiten anfallen. Nach der Wirkungsweise gegenüber Oligogalakturonsäuren können die Polygalakturonasen in verschiedene Untergruppen eingeteilt werden /142/.

Polygalakturonasen werden durch Tannine und Polyphenole, verschiedene Schwermetallkationen, höhere Salzkonzentrationen oder Harnstoff gehemmt. Die pH-Optima

liegen zwischen 4,0 und 5,5. Die Aktivitäts- und Stabilitätsoptima befinden sich in den meisten Fällen im gleichen pH-Bereich. Eine Endo-Polygalakturonase aus *Aspergillus niger* verliert innerhalb von 30 min etwa 70% ihrer Aktivität, wenn sie auf 80 °C erhitzt wird /143/ /144/. Die relativen Molekülmassen liegen in den meisten Fällen zwischen 30.000 und 46.000. Es werden auch relative Molekülmassen > 80.000 gefunden /145/. Von verschiedenen Polygalakturonasen sind multiple Formen bekannt.

### **Exo-Polygalakturonase**

Exo-Polygalakturonase (EC 3.2.1.67) wird von zahlreichen Mikroorganismen und höheren Pflanzen gebildet. Sie ist auch Bestandteil von Pektinasepräparaten, besonders von Maische- und Klärenzymen. Exo-Polygalakturonasen spalten vom nichtreduzierenden Kettenende des Galakturonanmoleküls her Galakturonsäure ab. Sie können, im Gegensatz zur Endo-Polygalakturonase, auch Di-Galakturonsäure hydrolysieren. Pektinsäure wird jedoch nicht vollständig zu Galakturonsäure abgebaut. Das pH-Optimum liegt in den meisten Fällen um 5,0; teilweise erfolgt eine Aktivierung durch  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionen, aber auch durch andere zweiwertige Ionen. Sehr unterschiedlich ist der bevorzugte Polymerisationsgrad des Substrates bei Enzymen verschiedener Herkunft. Eine gereinigte Exo-Polygalakturonase aus *Geotrichum Lactis* besitzt z.B. eine Molekulargewicht von 53.000 (Gelfiltration),  $K_m$ -Werte von 0,09 bzw. 0,49 mg/l (Pektat und Pektin, Veresterungsgrad von 64%), ein pH-Optimum von 5,0 sowie ein Temperaturoptimum von 40 °C und ist ein Glykoprotein /146/ /147/ /148/.

Im Intestinaltrakt von Insekten wird eine Exo-Polygalakturonase nachgewiesen, die vom nichtreduzierenden Substratende her Galakturonsäure freisetzt /149/. Exo-Enzyme, welche Di-Galakturonsäure vom nichtreduzierenden Ende her abtrennen, sind in der Enzymnomenklatur gesondert aufgeführt (EC 3.2.1.82).

Zum Nachweis von Isoenzymen der Endo-Polygalakturonase in Pektinasepräparaten nach Elektrophorese können chromogene Substrate eingesetzt werden /150/. Die Bestimmung der Aktivität von Endo- und Exo-Polygalakturonase erfolgt über die Zunahme der reduzierenden Endgruppen, z.B. durch jodometrische Titration /151/ oder mit 2-Cyanoacetamid /152/.

Um zwischen Endo- und Exo-Wirkung unterscheiden zu können, wird zusätzlich der Viskositätsverlust des Substrates unter genormten Bedingungen erfaßt. Beim 50%igen Viskositätsverlust ist eine Bindungsspaltung von < 2% für eine Endo-Polygalakturonase

typisch, während für die Exo-Polygalakturonase eine Bindungsspaltung bis zu 45% zu erwarten ist.

### **Pektin-Lyase**

Pektin-Lyase (EC 4.2.2.10) wird nur durch Schimmelpilze und einige *Erwinia-Stämme* gebildet. Sie ist Bestandteil verschiedener handelsüblicher Pektinasepräparate. Das Endo-Enzym spaltet bevorzugt hochveresterte Pektine unter Freisetzung ungesättigter veresterter Oligogalakturonide. Di- und teilweise Tri-Galakturonsäure-Einheiten werden nicht hydrolysiert.

Der optimale pH-Wert liegt im Bereich um 5,0, in Gegenwart von  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionen zusätzlich im Bereich von 7,5-8,5. Die relative Molekülmasse beträgt etwa 34.000 /153/. Pektinlyasen vermögen als einzige Enzyme hochveresterte Pektine vollständig zu Oligogalakturonsäuren abzubauen /154/ /155/.

### **Pektat-Lyase**

Pektat-Lyase (EC 4.2.2.2) spaltet bevorzugt Pektinsäuren und niederveresterte Pektine nach dem Endo-Mechanismus und wird von Bakterien und einigen phytopathogenen Schimmelpilzen synthetisiert. Wesentlich sind das hohe pH-Optimum von 8 bis 10 und die unbedingt notwendige Anwesenheit von  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionen als Aktivatoren. Es werden solche glykosidischen Bindungen im Pektin gespalten, die sich neben freien Carboxylgruppen befinden; Di-Galakturonsäure wird nicht angegriffen. Als Endprodukte des Abbaus von Pektinsäure werden Di- und Tri-Galakturonsäure-Einheiten gefunden. Es werden Molekulargewichte zwischen 30.000 und 45.000 sowie Temperaturoptima um 45 °C ermittelt /156/ /157/.

Auf Grund ihres breiten Wirkungsbereiches bei neutralen und schwach sauren pH-Werten sind Pektat-Lyasen bei der industriellen Verarbeitung bestimmter Gemüsearten einsetzbar.

### **Exo-Polygalakturonat-Lyase**

Exo-Polygalakturonat-Lyase (EC 4.2.2.9) werden von verschiedenen Mikroorganismen gebildet und spalten vom reduzierenden Substratende her ungesättigte Di-Galakturonsäure ab. Die optimalen pH-Werte betragen 8,0-9,5, teilweise erfolgt eine Aktivierung durch  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionen und es werden relative Molekülmassen von bis zu 400.000 gefunden /158/ /159/.

Die Aktivitätsbestimmung aller pektinspaltenden Lyasen kann durch Messung der Zunahme der Extinktion bei 235 nm erfolgen, man erfaßt dabei die Bildung einer Doppelbindung

zwischen den C-Atomen vier und fünf der Galakturonsäure-Einheiten. Zur Bestimmung der ungesättigten Galakturonsäure wird die Reaktion mit Thiobarbitursäure empfohlen, da sie sich umlagert.

### 6.3.5 WEITERE ENZYME MIT PEKTINSUBSTRAT-WIRKUNG

#### **Rhamnogalakturonase**

Rhamnogalakturonase (EC trotz intensiver Recherche nicht bekannt) besitzt eine relative Molekülmasse von 63.000 und ist im pH-Bereich 4-5 optimal aktiv. Es bewirkt, anders als die üblichen Pektindepolymerasen, eine Spaltung in den Rhamnose reichen Sequenzen der Pektinsubstrate. Als Hydrolyseprodukte entstehen aus Galakturonsäure, Rhamnose und Galaktose, zusammengesetzte Oligomere mit Rhamnose am nichtreduzierenden Ende. Die Aktivität des Enzyms wird durch Methylester- und Acetylgruppen, sowie Arabinan Seitenketten im Substrat vermindert /160/ /161/.

#### **Zellulasen**

Der Abbau von Zellulose-Fibrillen wird durch drei Enzyme katalysiert, die als Zellulase-Komplex bezeichnet werden. Die technisch relevanten Zellulasen werden meist aus *Trichoderma reesei* und *Aspergillus species* hergestellt. Sie werden als Zusätze in Futtermitteln, für Silage-Gräser, zum Abbau von Hemizellulosen bei der Stärkeproduktion sowie bei der Frucht- und Gemüseverarbeitung eingesetzt. Der Komplex zeigt drei unterschiedliche Aktivitäten, die für die Hydrolyse von Zellulose zu Glukose notwendig sind /162/ /163/.

Exo-Zellulase	Exobiohydrolase	EC 3.2.1.91
Endo-Zellulase	Endoglukanase	EC 3.2.1.4
β-Glukosidase	Zellobiase	EC 3.2.1.21

Die Zellulose-Fibrillen werden durch die Endo-Glukanase aufgespalten, dann erfolgt die Abspaltung der Zellobiose von nichtreduzierenden Ende der Glukanketten durch die Exobiohydrolase. Die Zellobiose wird durch die β-Glukosidase zu Glucose-Monomeren gespalten /164/.

Die kommerziellen Produkte unterscheiden sich in der Zusammensetzung der verschiedenen Zellulase-Aktivitäten und den weiteren im Rohgemisch enthaltenen Enzyme, wie Xylanasen, Pektinasen, Glukosidasen oder Proteasen, die teilweise von Hersteller zu Hersteller

verschieden sind. Konkrete Anwendungen sind zum Beispiel die Verbesserung der Filtrierbarkeit von Getreidehydrolysaten in Brennereien oder Brauereien oder die Verbesserung der Pektinasen Wirkung bei der Obst- oder Gemüseverarbeitung /165/ /166/ /167/.

### **Hemizellulasen**

In Pflanzen sind neben der Zellulose noch weitere heteropolymere Kohlenhydrate enthalten, die als Hemizellulosen bezeichnet werden. Die Hemizellulosen zeigen teilweise einen sehr komplexen Aufbau aus unterschiedlichsten Monomeren in verschiedenen Verknüpfungsmustern. Zu ihnen zählen die  $\beta$ -Glukane, Pentosane und Xylane von Getreide oder die Pektine in Früchten und Gemüse.

Die Enzyme gehören zur Gruppe der Glukanasen, von denen es drei unterschiedliche Typen gibt: Endo-1,4- $\beta$ -Glukanase, Endo-1,3- $\beta$ -Glukanase, Endo-1,6- $\beta$ -Glukanase. Die technischen Präparate werden meist aus *Bacillus subtilis*, aus *Aspergillus* spezieis oder *Trichoderma* spezieis hergestellt. Die Enzyme aus den verschiedenen Organismen unterscheiden sich in ihrer Spezifität, dem Wirkungsbereich, der Stabilität, sowie durch ihre pH- und Temperaturoptima /168/ /169/.

#### 6.3.6 ENZYMANALYSE UND ENZYMEINHEITEN

Um die Effektivität von Enzymen zu beurteilen wird ihre Aktivität bestimmt. Es gibt in der Praxis verschiedene Methoden, bei denen man als Substrate meist natürliche Polymere verwendet. Es sind dieselben, auf die die Enzyme in der Praxis tatsächlich einwirken sollen, sie sind oft uneinheitlich bezüglich ihrer chemischen Zusammensetzung und ihres Molekulargewichtes.

Die Definition enzymatischer Aktivität mit Hilfe natürlicher Polymere bereitet folglich mehr Schwierigkeiten als die Verwendung von definierten niedermolekularen Substraten. Diese sind jedoch weit von der Praxis der Anwendung entfernt also werden die Probleme, die mit der Definition der Aktivität über natürliche Polymere verbunden sind, in Kauf genommen.

Das hat aber dazu geführt, daß es nur wenige international anerkannte Methoden zur Aktivitätsbestimmung für z.B. die Hydrolasen gibt. Die meisten Methoden sind firmenspezifisch, es ist deshalb schwierig die verschiedenen Aktivitätsangaben zu vergleichen.

Die verschiedenen Enzympräparate unterschiedlicher Firmen müssen in der Praxis auf ihre tatsächliche Effektivität untersucht werden, um so die tatsächliche Nutzbarkeit für das jeweilig bestehende Anwendungsgebiet zu ermitteln. Um nun die Effektivität von Pektinasen auf die im KFW enthaltenen Pektine zu ermitteln, wurde im Rahmen dieser Arbeit eine Methode entwickelt.

### **Enzymeinheiten**

Nachfolgend werden einige Methoden zur Aktivitätsbestimmung aufgeführt, die international für technische Enzympräparate verwendet werden. Aufgrund von verschiedenen Reaktionsbedingungen liefern sie oft unterschiedliche Ergebnisse, so daß man bei Vergleichen kritisch sein muß.

Es existieren zahlreiche Methoden, die auf der Viskositätssenkung einer Pektin-Lösung oder auf der völligen Depektinisierung von Apfelsaft beruhen /170/.

- PGU: Eine Polygalakturonase-Unit ist definiert durch die Enzymaktivität, welche die Viskosität  $\eta$  einer Standard-Pektinlösung um  $1/\eta_{\text{spezifisch}} = 0,000015$  unter Standardbedingungen senkt /171/.
- PA-Einheiten (nach Röhm): Bezogen auf Protein besitzen Gemische von Pektinasen maximal ca. 1500 PA-Einheiten/g, das heißt, daß mit 1g eines solchen Präparates 1500 l Apfelsaft unter Standardbedingungen depektinisiert werden können /172/.
- AJDU: Eine „Apple juice depectinization unit“ ist die Enzymmenge, welche einen Liter eines Standard-Apfelsaftes unter Standardbedingungen völlig depektinisiert.
- PE: Eine Pektinesterase-Einheit ist die Enzymmenge, die 1  $\mu\text{mol}$  titrierbarer Carboxylgruppen pro min unter Standardbedingungen freisetzt.
- PTE-U: Pektintranseleminase Einheiten werden durch Abbau von Pektin und Messung der Bruchstücke bei 235 nm bestimmt /173/.

### 6.3.7 BEURTEILUNG DER VERSCHIEDENEN PEKTINASEN HINSICHTLICH DER ANWENDBARKEIT ZUR KARTOFFELFRUCHTWASSER-BEHANDLUNG

Allein die Kenntnis des Enzymspektrums läßt oftmals noch keine eindeutige Aussage über die erwünschte Wirkung beim Einsatz von Enzympräparaten in der obst- und gemüseverarbeiteten Industrie zu.

Ursachen sind hierfür u.a. die Variabilität der umzusetzenden Substrate, sowie der Einfluß von in Obst und Gemüse vorkommenden Pektinase-Inhibitoren. Entscheidend für die Wirkung der Enzympräparate sind insbesondere ihre Endo-Polygalakturonase- und Endo-Pektinlyase-Aktivität sowie ihr Endo-Polygalakturonase/Pektinesterase Aktivitätsverhältnis.

Endo-Polygalakturonasen entfalten ihre optimale Wirkung bei gleichzeitiger Anwesenheit von Pektinesterasen, wobei die zuletzt genannten mikrobieller wie auch pflanzlicher Herkunft sein können. Demgegenüber sind die Exo-Pektinenzyme (z.B. Exo-Polygalakturonase) hauptsächlich für den Endabbau der Pektinspaltprodukte entscheidend /174/ /175/.

Weiter ist zu beachten, daß es sich bei den Handels-Enzympräparaten meist um rohe bzw. nur teilweise gereinigte Präparate handelt, denn die Reinigung von Pektinasepräparaten mikrobieller Herkunft bereitet besondere Schwierigkeiten durch die gleichzeitige Anwesenheit anderer Pektinenzyme /176/.

Für einen erfolgreichen Abbau von Pektinen steht ein breites Spektrum verschiedener Enzyme zur Verfügung (Kapitel 6.3). Die Wirksamkeit der einzelnen Enzyme, bezüglich ihrer Temperatur und pH-Optima, ist nicht nur substratspezifisch, sondern unter anderem auch von ihrem Ursprung (mikrobiell oder pflanzlich) abhängig.

Die Konzentrations-Verhältnisse der Enzyme zueinander beeinflussen zusätzlich ihre Aktivität (Kapitel 6.3.3). Auch die Probleme bei der Bestimmung der Enzymeinheiten, die zu firmenspezifischen Angaben führt (Kapitel 6.3.6) erlauben keine Prognose bezüglich der Wirksamkeit von technischen Enzympräparaten auf Kartoffelfruchtwasser. Zumal aus firmenpolitischen Gründen gewöhnlich keine Angaben zu den im Enzymgemisch vorliegenden Enzymen gemacht werden (Anhang 16.2).

Die Praxis zeigt, daß Enzympräparate, die in einem Jahr erfolgreich eingesetzt wurden, im nächsten Jahr wesentlich schlechtere Ergebnisse liefern oder umgekehrt. Wahrscheinlich deshalb, weil die pflanzlichen Gewebe der Rohwaren wegen unterschiedlicher

---

Wachstumsbedingungen von Jahr zu Jahr einen abweichenden Aufbau aufweisen können.

Aus diesen Gründen war es notwendig, eine Methode zu entwickeln, die es erlaubt, enzymatische Vorversuche durchzuführen, mit welchen der Einfluß einzelner Enzyme auf die Matrix Kartoffelfruchtwasser quantifiziert werden kann, um so die jeweilige optimale Enzymkombination ermitteln zu können.

## 7 GALAKTURONSÄURE

Nicht alle pektinspaltenden Enzyme bauen Pektin enthaltende Substrate zu mono-Galakturonsäure ab, letztendlich bestehen Pektine aber zu über 90% aus dem Baustein Galakturonsäure.

Die Enzyme aus der Gruppe der Polygalakturonasen, die lebensmitteltechnologisch zu den bedeutendsten pektinspaltenden Enzymen gehören, bilden u.a. mono-Galakturonsäure-Einheiten. Für die durchgeführten Versuche werden nur Präparate verwendet, die aus einem komplexen Enzymgemisch bestehen.

Folglich kann der Anteil an Galakturonsäure als Maß für einen erfolgten Pektinabbau herangezogen werden. Hierin besteht die Möglichkeit einen spezifischen Nachweis in einer komplexen Matrix durchzuführen. Die Aufgabe besteht darin, die Galakturonsäure im KFW erst qualitativ, dann quantitativ zu bestimmen. Die Quantifizierung erlaubt quasi als kinetische Kontrolle über das hydrolytische Spaltprodukt Aussagen über die Effektivität verschiedener Enzyme.

In der Literatur werden Uronsäuren nach einer von Blumenkrantz und Asboe-Hansen (1973) entwickelten Methode bestimmt. Diese Methode kommt bis heute zur Anwendung /177/. Hierbei wird die Uronsäure enthaltende Probe mit konzentrierter Schwefelsäure und Natriumtetraborat versetzt, eingefroren in zerstoßenem Eis, geschüttelt, 5 min auf 100 °C erhitzt, abgekühlt und mit m-Hydroxydiphenyl-Lösung versetzt. Die photometrische Bestimmung erfolgt bei 520 nm.

Der Vorteil dieser Methode liegt darin, daß die m-Hydroxydiphenyl-Lösung spezifisch mit Uronsäuren reagiert, andere in der Probe vorliegende Zucker reagieren nicht.

Bei diesem Nachweis wird die Probe zunächst mit konzentrierter Schwefelsäure versetzt, es ist eine aufwendige Probenvorbereitung notwendig. Die in der Literatur beschriebenen Aufarbeitungsmethoden verlaufen nach folgendem Muster /178/ /179/ /180/:

- *Probenvorbehandlung/Herstellen des Ethanol-unlöslichen Extraktes.*

Aus dem Obst- oder Gemüsematerial wird eine repräsentative Probe entnommen und bis hin zu einer halbflüssigen Konsistenz zerkleinert. Die Probe wird mit

Ethanol ( 96%, 1:2, w/v) versetzt, 20 min bei 80 °C unter Rückfluß erhitzt. Nach Verdampfen unter Vakuum wird der Rückstand gewaschen anschließend bis zur Gewichtskonstanz (100 °C / 2h) getrocknet.

- *Pektinextraktion*

Der Ethanol-unlösliche Extrakt wird mit einer 0,25%igen (w/v) Ammoniumoxalat in Oxalsäure-Lösung (pH 2,5) extrahiert, anschließend zentrifugiert, die Extraktionslösung wird 1 h unter Rückfluß gekocht, abgekühlt, zentrifugiert und dekantiert.

Zur Entesterung des Pektins wird der Extrakt mit EDTA versetzt, und der pH mit Natronlauge auf 11,5 eingestellt. Nach 25 min wird mit Eisessig bis pH 5,5 angesäuert. Dieser Extrakt wird zur quantitativen Bestimmung herangezogen.

Die in der Literatur erwähnten Vorschriften zur Bestimmung von Pektin gehen alle nach dieser Methode vor, extrahieren, entestern und hydrolysieren der Pektine mit anschließender Bestimmung der Galakturonsäure nach der Methode von Blumenkranz.

Diese Form der Probenvorbereitung kann auf die vorliegende Problematik (Galakturonsäure in KFW) nicht angewandt werden, da nur die enzymatisch erfolgte Hydrolyse von Pektinen bestimmt werden soll. Demzufolge muß eine neue Probenvorbereitung entwickelt werden, oder ein anderer Nachweis für die Galakturonsäure. Hiermit wird sich diese Arbeit im weiteren Verlauf beschäftigen.

### 7.1.1 PHYSIKALISCH-CHEMISCHE EIGENSCHAFTEN VON GALAKTURONSÄURE

#### **D (+)-Galakturonsäure-Monohydrat**

Synonym:	$\alpha$ -D-Galactopyrano Acid
Molekulargewicht:	212,16 g/mol
Molekular Formel:	$C_6 H_{10} O_7 \cdot H_2 O$
Form:	weißer Feststoff
Löslichkeit:	leicht löslich in Wasser, heißem Methanol und heißem Ethanol
Cas-Nr.:	[91510-62-2]
Merk Index	12: 4354

/181/ /182/

## 8 DETEKTION

### 8.1 HPLC

Eine HPLC Anlage wurde verwendet, um eine Möglichkeit zu erhalten, die Galakturonsäure in den zu untersuchenden flüssigen Proben empfindlich und reproduzierbar identifizieren und quantifizieren zu können. HPLC ist die Abk. für engl.: High Performance oder High Pressure Liquid Chromatographie = Hochleistungs- oder Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie.

Man arbeitet bei der HPLC mit erheblich feinerem Material (Kieselgel, 3-10  $\mu\text{m}$ ) als bei der Gelchromatographie (35-75  $\mu\text{m}$ ) oder der Säulenchromatographie (120-200 $\mu\text{m}$ ). Die Feinteiligkeit der Trennmaterien erfordert allerdings die Anwendung hoher Drücke (bis zu 400 bar), was mit technischem Aufwand verbunden ist. Trotz diesen Aufwands und der damit verbundenen Kosten hat sich die HPLC in vielen Gebieten durchgesetzt.

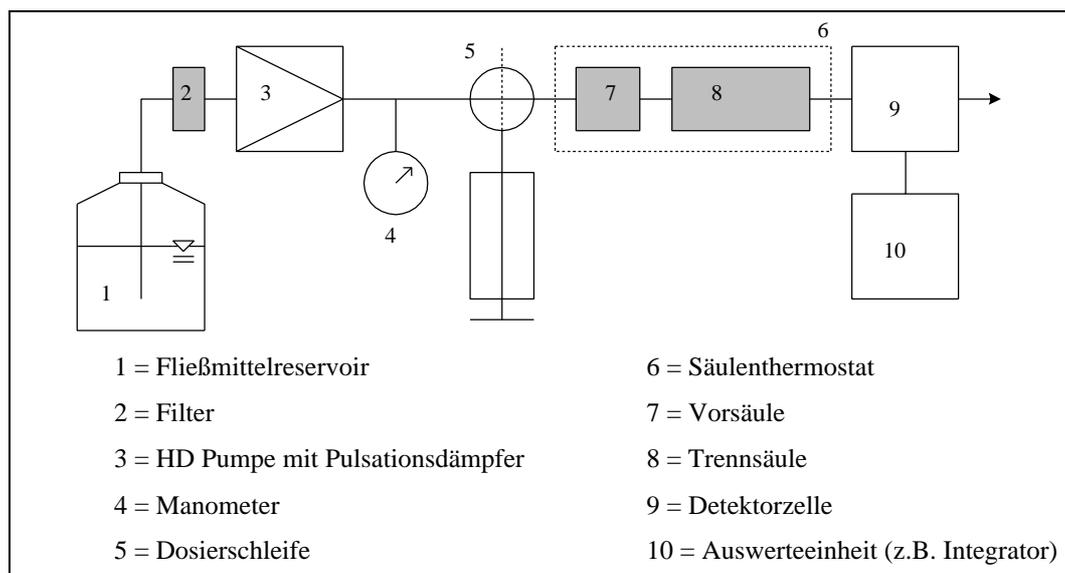


Abbildung 8-1 Schema einer isokratischen HPLC Apparatur

Eine HPLC-Apparatur (Abb. 8-1) /183/ besteht in einfachsten Fall aus einer Pumpe mit Elutionsmittelreservoir, dem Probenaufgabe-Ventil, der Trennsäule, dem Detektor und schließlich einer Auswerte-Einheit. Die Säulen sind zwischen 5 und 100 cm lang mit einem Innendurchmesser von 1-25 mm. Mit Kieselgel oder ähnlich porösem Material von 10  $\mu\text{m}$  oder weniger gefüllt, kann eine 2 cm lange Säule 5000 Böden (theoret. Trennstufen) aufweisen, selbst Bodenzahlen von 65000/m sind möglich. Neben mit polaren funktionellen

Gruppen modifizierten Kieselgelen haben sich unpolare stationäre Phasen (Umkehrphasen, reversed) durchgesetzt (RP-HPLC).

Die Elution kann im einfachsten Fall mit einem Lösungsmittel oder einem konstanten Lösungsmittelgemisch isokratisch erfolgen. Schwierige Trennprobleme verlangen dagegen die lösungsmittelintensive Gradientenelution. Lösungsmittelgradienten aus zwei oder drei Komponenten können niederdruckseitig mit einem Gradientenmischer und einer Pumpe bewerkstelligt werden, wie bei in dieser Arbeit benutzten Anlage. Bei hochdruckseitiger Mischung benötigt man mindestens zwei Pumpen. Niederdruckseitige Gradientenmischung beinhaltet jedoch immer das Problem der Ausgasung von im Lösungsmittel gelösten Gasen beim Durchlaufen der Trennsäule. Durch den dort herrschenden niedrigeren Druck entstehen Luftblasen, welche im ungünstigsten Fall eine Messung bzw. die erhaltenen Peaks vollständig überlagern können, auf jeden Fall wird dadurch eine Erhöhung des Grundrauschens erzeugt, somit wird die Messung in jedem Fall negativ beeinflusst. Man verhindert dies, indem ein chromatographischer Lauf z.B. isokratisch „gefahren“ wird, dabei tritt dann dieses Problem nicht auf. Des Weiteren kann man die Lösungsmittelreservoirs ständig mit Helium begasen, welches sich nicht in der flüssigen Phase löst und man kann gleichzeitig enthaltene gelöste Gase mechanisch austreiben (Ultraschall) /184/ /185/ /186/.

Wichtige Parameter für die qualitative Auswertung sind die Totzeit ( $t_0$ ), die Nettoretentionszeit ( $t_r$ ) sowie die daraus resultierende Gesamtretentionszeit ( $t_g$ ), die über die Volumen-Geschwindigkeiten mit den entsprechenden Retentionsvolumina verknüpft ist. Die weitere quantitative Auswertung erfolgt über die Peakflächen. Als Detektor wird wegen seiner leichten Handhabbarkeit überwiegend ein UV-Detektor eingesetzt, welcher, abhängig von der zu erkennenden Substanz, bei der dafür empfindlichsten Wellenlänge betrieben wird. Dieser Schritt stellt einen zusätzlichen Arbeitsschritt innerhalb einer Methodenentwicklung dar, denn neben der Auswahl der geeigneten Phasen müssen, um eine optimale Empfindlichkeit des Systems zu gewährleisten, von den Peaks einer jeden detektierten Substanz UV-Spektren aufgenommen werden.

Mit Hilfe dieser Ergebnisse müssen die Einstellungen der Anlage dann für jedes neue Trennproblem passend modifiziert werden. Ist ein erhaltenes UV-Spektrum qualitativ gut, kann dieses sogar parallel zu der Retentionszeit als zusätzliche Möglichkeit zur Identifikation von Substanzen herangezogen werden. Durch diese zwei voneinander unabhängigen

Identifikationsmöglichkeiten ist die HPLC anderen chromatographischen Methoden gegenüber im Vorteil. Je nach Problemstellung werden aber auch andere Detektoren, wie Refraktionsindex-, Fluoreszenz- oder Leitfähigkeitsdetektoren verwendet. Oft ist eine Detektion analog zu der in der GC erst nach einer Derivatisierung mit z.B. Pentafluorbenzylbromid möglich, wird aber möglichst umgangen.

### 8.1.1 THEORIE, GERÄTE UND GERÄTEPARAMETER

Die physikalischen Grundlagen der Flüssigkeitschromatographie sollen hier nicht eingehender erläutert, jedoch sollen die Folgen, welche sich aus der Anwendung der chromatographischen Prinzipien auf die HPLC geben, kurz tabellarisch und graphisch (Abb. 8-2) aufgeführt werden.

Durch folgende Parameter und deren Variation wird eine mögliche Trennung vorteilhaft beeinflusst:

- Am stärksten wird eine Trennung durch den Selektivitätsfaktorm  $k'$  beeinflusst, d.h. durch die geeignete Auswahl eines Phasensystems.
- Durch Erhöhen des Kapazitätsfaktors  $k'$  kann eine Verbesserung der Auflösung erreicht werden. Jedoch nimmt der Gewinn der Auflösung mit ansteigendem  $k'$  Wert immer langsamer zu. Es ist darauf zu achten das beste Trennvermögen bei vertretbarem Zeitaufwand zu erreichen.

$V_s$  = spez. Oberfläche stat. Phase

$$k' = \frac{V_s}{V_m} K$$

$V_m$  = Totvolumen

$K$  = Verteilungskoeffizient Analyt

- Eine Verdoppelung der Säulenlänge erhöht die chromatographische Auflösung um den Faktor  $\sqrt{2}$ .
- Wichtig ist, daß die theoretische Bodenhöhe  $H$  gering gehalten wird. Dies geschieht durch die Verwendung von Säulen mit kleinen Teilchen, die gut gepackt sind und möglichst die gleiche Größe haben.
- Gemäß der van-Deemter-Funktion soll das Eluens mit einer optimalen Geschwindigkeit durch die Säulenfüllung fließen, einen möglichst großen Diffusionskoeffizient  $D$  und eine niedrige Viskosität  $\eta$  haben.

- Das injizierte Probenvolumen sollte möglichst klein, d.h. die Probe möglichst konzentriert und Laufmittel und Probenlösungsmittel ineinander löslich sein.

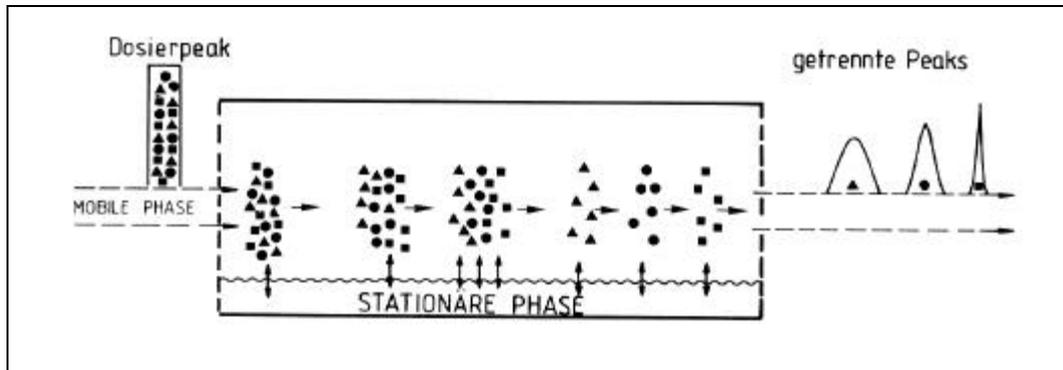


Abbildung 8-2 Schema eines Trennvorgangs

## 9 PROBLEMSTELLUNG UND ZIELSETZUNG

Im Rahmen der derzeitigen Kartoffelstärke-Produktion in der Emsland-Stärke nimmt das Kartoffelfruchtwasser als größter Teil der anfallenden Produktionsabwasser eine zentrale Bedeutung ein. In Anbetracht eines anzustrebenden, möglichst umweltverträglichen und ökonomisch sinnvollen Produktionsablaufes hat folglich die Vorkonzentrierung von Kartoffelfruchtwasser einen hohen Stellenwert.

Zur Zeit werden von der UO-I konstant 140 m<sup>3</sup>/h Kartoffelfruchtwasser in 80 m<sup>3</sup>/h Retentat und 60 m<sup>3</sup>/h Permeat zu zerlegt. Hierbei kommt es zu einer Ausbildung einer Sekundärmembran, die im Falle von KFW durch Pektine generiert wird. Zur Verbesserung der Kapazität der Membrantrennanlagen sollen wie schon beschrieben, diese Pektine enzymatisch abgebaut werden.

In diesem Zusammenhang ist es erforderlich den Abbau der Pektine analytisch zu prüfen. Es wird eine einfache, schnelle und empfindliche Methode benötigt, um über die Bestimmung der Galakturonsäure, die Kontrolle des enzymatischen Abbaus quantifizieren zu können. Diese Methode muß zunächst noch entwickelt werden.

Das Gewebe der Kartoffel besteht aus komplexen Strukturen und weist von Jahr zu Jahr aufgrund unterschiedlicher Wachstumsbedingungen einen abweichenden Aufbau auf. Der variierenden Aufbau des Kartoffelgewebes und andere Parameter, z.B. der Beginn der Frostperiode, welche sich im Verhalten des KFW widerspiegeln, lassen erkennen, daß die Notwendigkeit besteht ein optimal anwendbares Enzymgemisch immer wieder den veränderten Ausgangsbedingungen anzupassen.

Das Hauptproblem bei der quantitativen Bestimmung bildet das KFW als Matrix, es handelt sich hierbei um ein komplexes Substanzgemisch aller Bestandteile der Kartoffel, wie Proteine, Pektine, Lipide, Kohlenhydrate und Mineralstoffe. Außerdem Biokatalysatoren hoher Aktivität, vielfältige Bakterien und Hefen; folglich ist das KFW eine in sich höchst instabile Komposition /187/ wie schon in Kapitel 4 erläutert.

Diese Matrix erschwert eine Einzelstoffanalytik erheblich. In demselben Maße können die bestehenden Methoden zur Bestimmung von Uronsäuren nicht zur Anwendung kommen. Dazu gehört die Bestimmung von Uronsäuren nach Blumenkranz /188/, wobei zunächst mit konz. Schwefelsäure/Tetraborat später mit m-Hydroxydiphenyl-Lösung versetzt wird. Daß die

---

Zugabe von konz. Schwefelsäure zu KFW zu keiner klaren Lösung führt liegt auf der Hand. Aus ähnlichen Gründen können die Methoden von Bach /189/ und Meseguer /190/ für die Bestimmung von Galakturonsäure in KFW nicht erfolgreich zur Anwendung kommen.

Mit der hier vorgestellten Methode (Kapitel 12.4) ist die Bestimmung von Galakturonsäure in KFW erstmals im Labormaßstab einfach und schnell durchführbar.

Es wurde zunächst versucht eine geeignete Probenvorbereitung und Stoffanalytik zu entwickeln, hierbei kamen die Festphasenextraktion und HPLC zum Einsatz.

## 10 PROBENVORBEREITUNG

### 10.1 BEURTEILUNG DER ZU LEISTENDEN TRENNAUFGABE

In der heutigen Spurenanalytik ist die Probenvorbereitung hinsichtlich der Qualität des Meßergebnisses oft schwieriger zu ergründen als die eigentliche instrumentelle Analytik. Dies trifft besonders bei der Bestimmung von Spuren Mengen in komplex zusammengesetzten Proben, wie Kartoffelfruchtwasser zu.

Ziel ist es die Möglichkeit zu erhalten innerhalb der komplexen Matrix des KFW eine Einzelsubstanz, die Galakturonsäure, nachweisen zu können, dazu wird nach folgendem Schema vorgegangen:

- Das enzymatisch behandelte KFW wird auf 96 °C erhitzt.
- Es wird zentrifugiert (20 min / 8000 U/min) und der Überstand über 0,45 µm filtriert. Auf diese Weise werden die Proteine abgeschieden, desgleichen die Mikroorganismen, sowie die vorhandenen Feststoffe.
- Die kartoffeleigenen Enzyme und die der Mikroorganismen werden durch das Erhitzen inaktiviert.
- Auf diese Weise erhält man eine hellbraune klare Lösung, in der alle wasserlöslichen Inhaltsstoffe der Kartoffel enthalten sind, diese Lösung soll nun der Festphasenextraktion zugänglich gemacht werden.
- Um diese KFW-Lösung von den lipophilen Inhaltsstoffen zu befreien wird eine Umkehrphase (RP 18) verwendet.
- Mit Hilfe von Ionentauschern sollen die Aminosäuren als Kationen ab pH 4 von den Zuckern abgetrennt werden oder, falls dies besser gelingt, erfolgt eine Abtrennung der Aminosäuren bei pH 9 als Anionen.
- Eine Trennung von den Carbonsäuren soll durchgeführt werden, gleichermaßen unter Verwendung von Ionentauschern.
- Die Zucker, zu denen die Galakturonsäure gehört, sollen in einem weiteren Analytikschritt aufgetrennt werden.

## 10.2 ANWENDBARKEIT DER FESTPHASENEXTRAKTION AUF DIE MATRIX KFW

Die Versuchsdurchführung, sowie die Vorteile und Möglichkeiten der Festphasenextraktion sind dem Anhang (16.1) zu entnehmen.

Es wurden die unterschiedlichsten Versuche mit den verschiedenen Festphasen durchgeführt, wobei jeweils die pH-Werte der Probe variiert wurden, ebenso die aufgegebenen Probenvolumina, in Analogie dazu wurden zur Elution der Säulen die verschiedensten pH-Werte und Puffer verwendet.

Trotz der vielfältigen Möglichkeiten, die die Festphasenextraktion bietet, um eine Probe aufzuarbeiten und der im reichlichen Ausmaße erfolgten Experimente hierzu, konnte keine befriedigende Methode zur Probenaufarbeitung für KFW ermittelt werden. Es ist nicht auszuschließen, daß es durch die vorliegenden vielfältigen Inhaltsstoffe einfach zu einer „Überladung“ der Festphasen gekommen ist. Die durch „konditionieren“, „waschen“ und „eluiieren“ nicht zu handhaben ist.

Bedenkt man, daß im weiteren Verlauf dieser Arbeit eine Trennung der Galakturonsäure von anderen KFW Inhaltsstoffen an einer HPLC Spezialsäule gelingt, dieses aber nur möglich ist bei einer Säulentemperatur von oberhalb 80 °C mit Schwefelsäure als Elutinsmittel, dann ist das möglicherweise die Ursache für eine unzureichende Auftrennung bei der SPE.

## 11 DETEKTION

### 11.1 HPLC

Eine HPLC-Anlage wurde verwendet, um eine Möglichkeit zu erhalten, die Galakturonsäure in den zu untersuchenden flüssigen Proben, empfindlich und reproduzierbar identifizieren und quantifizieren zu können.

#### **Säule, Säulenparameter, Meßbedingungen**

Für die in dieser Arbeit vorgenommene qualitative und quantitative Analytik der Galakturonsäure innerhalb der verschiedenen Meßreihen wurde eine HPLC-Anlage der Firma Merck/Hitachi verwendet. Die HPLC-Anlage, welche mit einem Integrator D-7500, einem programmierbaren UV Detektor L-4250 UV/VIS, einem Autosampler AS 2000 und einer programmierbaren Doppelkolben-Pumpe mit niederdruckseitigem ternären Gradientensystem ausgestattet war, gestattete einen zumeist störungsfreien Betrieb über die Zeit der vorgenommenen Messungen. Als Trennsäule kam zunächst eine LichroCart RP 18 125/4 Säule zum Einsatz, welche im Betrieb durch eine entsprechende 4 µm RP 18 Vorsäule geschützt wurde. Obwohl diese Säule bei 80% aller Trennprobleme die geeignete ist, gelang in diesem Fall keine Trennung.

Nachfolgend wurde mit anderen Packungsmaterialien experimentiert. Zum Einsatz kamen folgende Säulen: die LiChrospher 100 NH<sub>2</sub> 125/4, diese Modifikation enthält eine Aminofunktion und ist vielseitig anwendbar, u.a. für wäßrig organische Eluentensysteme zur Normalphasen-Chromatographie von polaren Verbindungen wie Kohlenhydraten, dann die Polyspher OA KC 300/7,8, eine Fertigsäule, Polymerphase, zur Bestimmung organischer Säuren.

Abschließend wurde die Polyspher OA HY 300/7,8 verwendet. Es handelt sich hier auch um eine Fertigsäule zur Bestimmung organischer Säuren, aber auch von Gemischen, die organische Säuren, Kohlenhydrate und Alkohole enthalten, wie es beim KFW gegeben ist /191/. Mit dieser Säule konnte eine erfolgreiche Trennung durchgeführt werden. Alle Säulen wurden von der Firma Merck bezogen.

Die Messungen wurden bezüglich der Säulentemperatur zunächst variiert, später konstant bei 80 °C gefahren. Durch diese Temperaturerhöhung von Raumtemperatur auf 80 °C kommt ein

---

ausreichender Trenneffekt erst zustande. Die Temperatur wurde mittels eines Säulenofens geregelt. Es ist notwendig Schwefelsäure (9,38 mmol; pH 1,9) als Elutionsmittel zu verwenden.

Nur mit der Kombination Spezialsäule (Polyspher OA HY 300/7,8), 80 °C Messtemperatur und Schwefelsäure (pH 1,9) als Elutionsmittel gelingt eine Differenzierung der Galakturonsäure von den anderen Bestandteilen des KFW. Dies ist das Ergebnis vieler aufwendiger Versuchsreihen bei variierenden Temperaturen, Elutionsmitteln und Trennsäulen.

Die Lösungsmittelqualität wurde in dieser Versuchsanordnung der Empfindlichkeit des Detektors, d.h. der dazu entsprechenden Wellenlänge  $\lambda$  angepaßt. Bei Messungen im Wellenlängenbereich von  $\lambda < 225$  nm wurden qualitativ hochwertiges Wasser verwendet, „Lichrosolv“ Wasser für die Chromatographie der Fa. Merck. Mit diesem Wasser wurde eine 9,38 mmol Schwefelsäure hergestellt, diese wurde als Laufmittel verwendet.

Alle in dieser Arbeit vorliegenden Chromatogramme wurden bei einer Wellenlänge von 210 nm aufgenommen.

## 12 VERSUCHE IM LABORMASSTAB

### 12.1 EICHREIHE DES GALAKTURONSÄURE-STANDARDS

Nach Abschluß der Methodenentwicklung wurde zunächst eine Eichreihe, zur Ermittlung der verschiedenen Galakturonsäure-Konzentrationen in Wasser, erstellt. Ein Konzentrationsbereich von 15 bis 600 mg/l Galakturonsäure wird erfaßt.

Die Proben wurden mittels Autosampler, die Proben der nachfolgenden HPLC Anlage zugeführt, es wurde jeweils 5 mal injiziert. Die statistischen Daten der linearen Regression beziehen sich auf den Mittelwert der Messungen.

HPLC-Parameter für alle nachfolgenden Messungen:

- Verwendete Säule: Polyspher OAHY
- Elutionsmittel: 9,38 mmol Schwefelsäure
- Druck: 63-64 psi
- Temperatur: 80°C
- Injektionsvolumen: 10 µl
- Flow: 1,0 ml/min
- Wellenlänge UV Detektor: 210 nm

Die erhaltenen Chromatogramme wurden von dem Chromato-Integrator D-2500 der Fa. Merck ausgegeben. Die in den folgenden Tabellen wiedergegebenen Werte, sind die gemessenen Flächen (Area) des Galakturonsäure Peaks.

Konz. [mg/l]	Messung 1	Messung 2	Messung 3	Messung 4	Messung 5	M W 1-5
15,0	1441	1481	1425	1468	1449	1453
29,8	2736	2788	2739	2771	2710	2749
44,6	4011	4065	4013	4075	4052	4043
59,5	5406	5463	5406	5438	5413	5425
74,3	6547	6615	6566	6588	6555	6574
89,1	7956	8117	8053	8085	8006	8044
103,9	9161	9335	9247	9289	9248	9256
118,7	10476	10632	10551	10493	10559	10542
133,6	11871	11839	11874	11896	11861	11868
148,4	13071	13047	13168	13026	13162	13095
222,5	19892	19984	19987	19838	19960	19932
296,6	26428	26532	26406	26337	26368	26414
370,7	32554	32660	32405	32625	32486	32546
444,8	38880	39197	39244	39074	38894	39058
518,9	46095	45935	46063	46382	46279	46151
593,0	52131	52272	52192	52201	51911	52141

Tabelle 12-1 Meßergebnisse Eichreihe, Galakturonsäure in Wasser

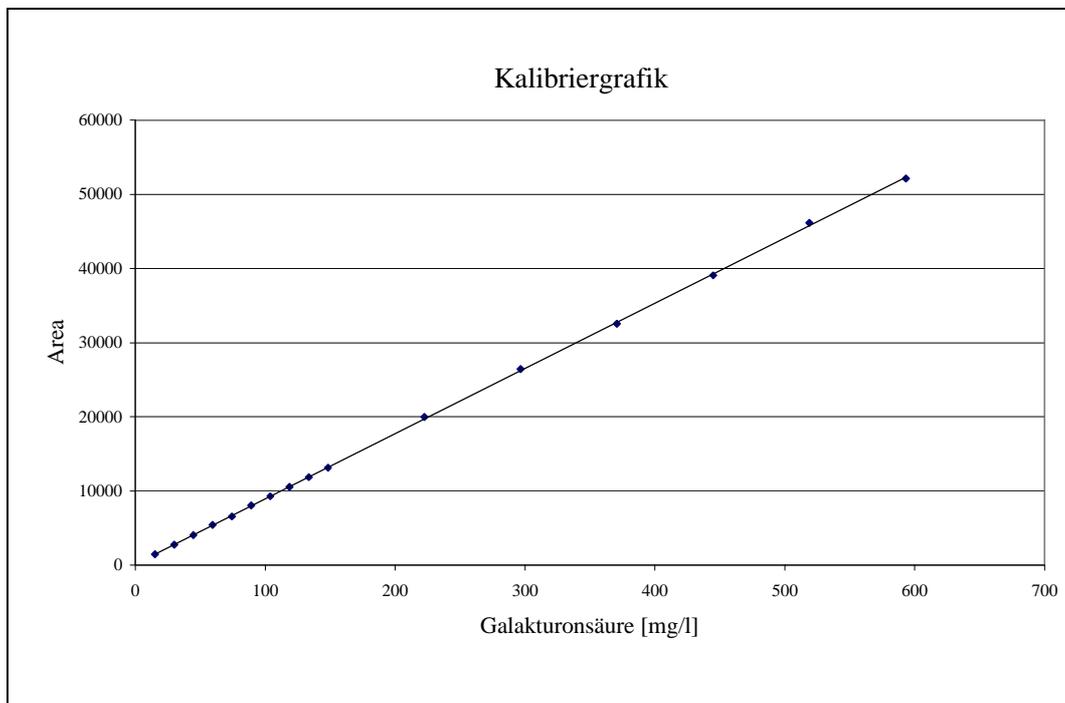


Abbildung 12-1 Grafik der linearen Regression; Galakturonsäure in Wasser

## Statistische Daten der linearen Regression

$$f(x): y = m * x + b$$

Parameter	Wert	Stdabw.
b	136,89	60,6
m	87,97	0,22

Anzahl der Werte:	16
Reststandardabweichung:	159,94
Verfahrensstandardabweichung:	1,8181
Variationskoeffizient:	0,89%

Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze nach DIN 32645 /192/

Signifikanzniveau:	0,95
Kritischer Wert der Meßgröße:	438,2
Nachweisgrenze:	3,42 mg/l
Erfassungsgrenze:	6,85 mg/l
Bestimmungsgrenze:	12,46 mg/l

## 12.2 STANDARDADDITION VON GALAKTURONSÄURE IN KFW

Die Eichreihe der Galakturonsäure kann für die Versuche mit dem Pektinstandard herangezogen werden. Bei Anwenden dieser Eichreihe auf Proben aus KFW kommt es zu Problemen.

Bei den Realproben wird der Galakturonsäure Peak nicht sauber zur Basislinie (engl.: Baseline Baseline: BB) getrennt, sondern er erscheint zunächst nur als Schulter, d.h. als ein Aufsetzer-Peak (TBB; Tailing), was, bedenkt man die Matrix, nicht weiter verwundert. Bei steigender Konzentration trennt sich der Aufsetzer-Peak weiter auf zum unaufgelösten Peak VV (engl.: Valley to Valley), wobei „Valley“ das Tal zwischen zwei Peaks ist, welches nicht die Basislinie erreicht.

Bei der vom Integrator automatisch vorgenommen Integration der Peaks kommt es dazu, daß bei den unaufgelösten Peaks (VV) die Fläche unter dem Peak bis zur Basislinie berechnet wird. Aber bei einem Aufsetzer-Peak (TBB), der auf einem Tailing des Hauptpeaks liegt, wird bis zur Tangentenlinie der Flanke berechnet. Dies wird in Abb. 12-2 veranschaulicht.

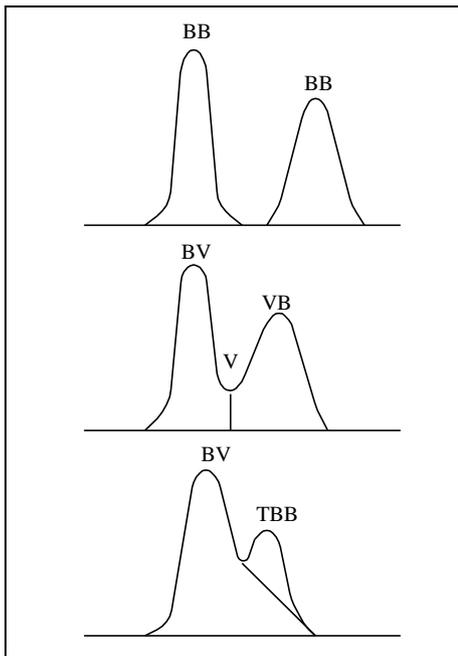


Abbildung 12-2 Beschreibung der Peak Integration

Aufgrund dieser Integrationsproblematik besteht die Notwendigkeit zwei Meßreihen in verschiedenen Konzentrationsbereichen mit Galakturonsäure in KFW vorzunehmen. Auf diese Weise wird die höhere Basislinie exakt berücksichtigt, welche dadurch entsteht, dass nun nicht der reine Standard gemessen wird, sondern eine reale Matrix.

Gleicherweise wird berücksichtigt, daß bei Erhöhung der Konzentration aus einem Aufsetzer-Peak (TBB) ein unaufgelöster Peak (VV) wird. Die dabei zwischen der Tangentenlinie und der Basislinie nicht mitintegrierten Fläche wird einberechnet.

Es wurde eine Eichreihe aus Galakturonsäure in KFW mittels Autosampler jeweils 5 mal injiziert. Die berechneten statistischen Daten der linearen Regression beziehen sich auf den Mittelwert der Messungen.

Die erhaltenen Chromatogramme wurden von dem Chromato-Integrator D-2500 der Fa. Merck ausgegeben. Die in den folgenden Tabellen wiedergegebenen Werte, sind die gemessenen Flächen (Area) des Galakturonsäure-Peaks.

### 12.2.1 ERSTELLEN EINER EICHREIHE FÜR GALAKTURONSÄURE IN KFW

Gemessen wird im Konzentrationsbereich von 30 bis 110 mg/l.

Konz. [mg/l]	Messung 1	Messung 2	Messung 3	Messung 4	Messung 5	MW 1-5
32,0	1201	1240	1163	1170	1241	1203
39,1	1744	1782	1705	1696	1733	1732
46,2	2238	2303	2214	2234	2276	2253
53,3	2811	2806	2723	2773	2777	2778
60,5	3375	3421	3325	3310	3364	3359
67,6	3957	3997	3895	3869	3957	3935
74,7	4442	4542	4386	4383	4457	4442
81,8	4956	5007	4925	4906	4981	4955
88,9	5549	5603	5497	5464	5542	5531
96,0	6093	6143	6026	6002	6086	6070
103,1	6665	6733	6603	6551	6658	6642
110,2	7190	7247	7128	7089	7186	7168

Tabelle 12-2 Meßergebnisse Eichreihe Galakturonsäure in KFW, Teil 1

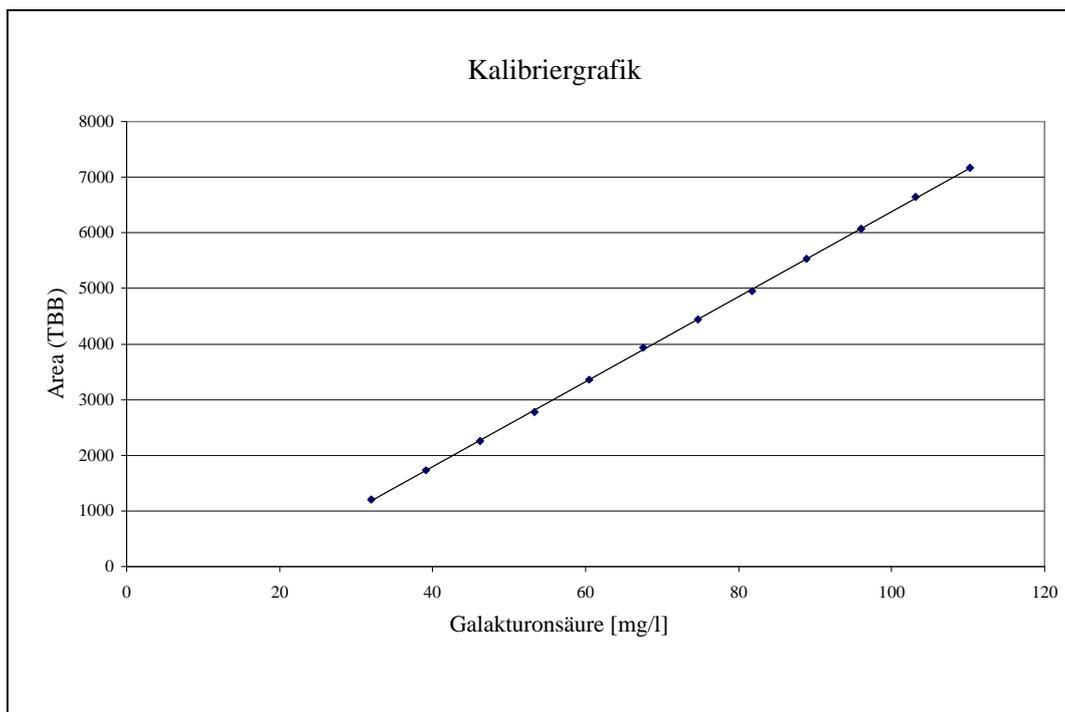


Abbildung 12-3 Grafik der linearen Regression Galakturonsäure in KFW, Teil 1

### Statistische Daten der linearen Regression

$$f(x); \quad y = m * x + b$$

Parameter	Wert	Stdabw.
b	- 1265,99	22,06
m	76,45	0,30975

Anzahl der Werte:	11
Reststandardabweichung:	23,10
Verfahrensstandardabweichung:	0,3021
Variationskoeffizient:	0,45 %

Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze nach DIN 32645

Signifikanzniveau:	0,95
Kritischer Wert der Meßgröße:	-1207
Nachweisgrenze:	0,7657 mg
Erfassungsgrenze:	1,531 mg
Bestimmungsgrenze:	2,785 mg

### 12.2.2 ERSTELLEN EINER EICHREIHE FÜR GALAKTURONSÄURE IN KFW

Gemessen wird im Konzentrationsbereich von 90 bis 600 mg/l.

Konz. [mg/l]	Messung 1	Messung 2	Messung 3	Messung 4	Messung 5	MW 1-5
88,9	17723	17717	17672	17642	17669	17685
103,8	19199	19191	19278	19148	19141	19191
118,6	20526	20414	20414	20384	20413	20430
133,4	22153	22137	21950	22121	22136	22099
148,2	23179	23061	23186	23157	23158	23148
222,2	30812	30877	30867	30739	30770	30813
296,4	37535	37694	37548	37721	37541	37608
370,5	44978	44910	44929	45103	45093	45003
444,6	51511	51427	51810	51785	51705	51648
518,8	58744	58934	58791	59076	58916	58892
592,9	66126	66060	66272	66449	66028	66187

Tabelle 12-3 Meßergebnisse Eichreihe: Galakturonsäure in KFW, Teil 2

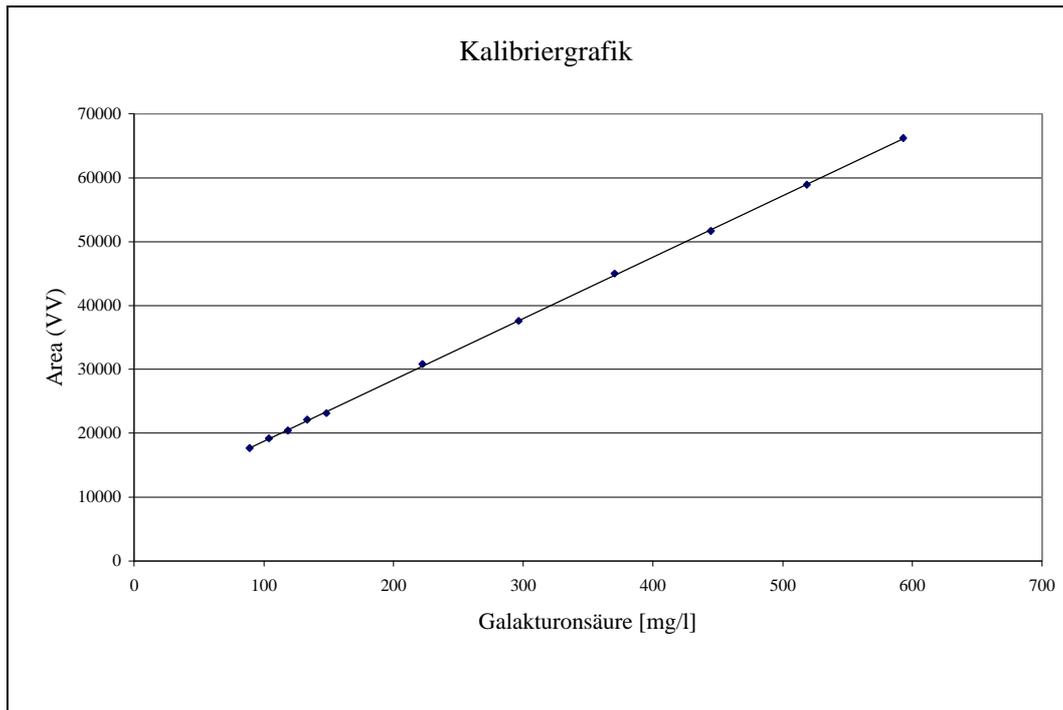


Abbildung 12-4 Grafik der linearen Regression Galakturonsäure in KFW, Teil 2

### Statistische Daten der linearen Regression

$$f(x) \quad y = m * x + b$$

Parameter	Wert	Stdabw.
b	9193,83	119,596
m	95,92	0,419

Anzahl der Werte:	11
Reststandardabweichung:	194,76
Verfahrenstandardabweichung:	2,0303
Variationskoeffizient:	0,83%

### Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze nach DIN 32645

Signifikanzniveau:	0,95
Kritischer Wert der Meßgröße:	9619
Nachweisgrenze:	4,43 mg/l
Erfassungsgrenze:	8,816 mg/l
Bestimmungsgrenze:	16,27 mg/l

## 12.3 ENZYMATISCHE VERSUCHE AM PEKTINSTANDARD

### 12.3.1 ERSTELLEN EINER MODELLÖSUNG ZUR METHODENENTWICKLUNG

Um eine möglichst große Analogie zu den in der Emsland-Stärke vorherrschenden Prozeßparametern, bezüglich des KFW, zu erhalten wurde zunächst eine Modellösung entwickelt, im weiteren Verlauf wird dann mit dem Realmedium selbst gemessen.

Bei dieser Modellösung handelt es sich um eine Pektinstandard-Lösung, welche für die nachfolgend vorgenommenen Versuche zur Effektivitätsermittlung von Enzympräparaten verwendet wird.

Diese Pektinlösung ist 0,5%ig und der pH-Wert wurde mit Natronlauge auf 5,8–6,0 eingestellt. Dies geschieht um eine möglichst große Analogie zum Kartoffelfruchtwasser zu erhalten, dessen Pektingehalt mit 0,4–0,7% Pektin in der Frischmasse angegeben wird.

Die Verschiebung des pH-Wertes geschieht in ebenfalls in Einklang mit dem pH-Wert des KFW in der Emsland-Stärke. Bei Volumenströmen von 140 m<sup>3</sup>/h KFW zur Umkehrosmose ist klar ersichtlich, daß ein Einstellen des pH-Wertes in den optimalen Wirkungsbereich von Enzymen ohne weiteres nicht durchführbar ist. Als Folge der Pufferwirkung des KFW würden dazu hohe Mengen an Säure bzw. Lauge benötigt, was wiederum eine finanzielle Belastung darstellt.

Zusätzlich dazu wird nicht im Temperaturoptimum der jeweiligen Enzyme gearbeitet, sondern knapp unterhalb von 30 °C, der Temperatur mit der das KFW nach den Wärmetauschern in die Umkehrosmoseanlage fließt.

Es soll durch Zugabe von Pektinasen ein Abbau des Pektins bis hin zur Monogalakturonsäure erreicht werden. Durch diesen Abbau der Polygalakturonsäure-Ketten wird die gelbildende Eigenschaft von Pektinen minimiert. Die Monogalakturonsäure ist oft das Endprodukt des enzymatischen Abbaus von Pektinen, es entstehen ebenfalls vielfältige poly- und oligomere Bruchstücke, ebenfalls werden veresterte Galakturonsäure-Einheiten entstehen. Da aber die Galakturonsäure der Grundbaustein aller Pektine ist, kann man bei zunehmender Konzentration an Galakturonsäure davon ausgehen, daß es zu einer erfolgreichen Hydrolyse der Pektine gekommen ist.

Die zum Einsatz kommenden Enzyme entstammen alle dem Technischen Bereich, es ist nicht bekannt welche Enzyme in diesen „hochwirksamen Enzymgemischen“ enthalten sind,

folglich ist eine analytische Kontrolle der Effektivität über die quantitative Bestimmung der Galakturonsäure zweckmäßig.

Diese Unkenntnis über das vorliegende pektinolytische Spektrum macht es notwendig, daß die auf dem Markt bestehenden Enzympräparate auf KFW angewendet werden, um so das für diesen speziellen Pektinaufbau effektivste Enzym zu ermitteln.

### 12.3.2 VERSUCHSDURCHFÜHRUNG

Es soll ermittelt werden, welche Enzyme besondere Effektivität aufweisen, bezüglich einer hydrolytischen Spaltung von Pektinen und die dazu notwendige Konzentration an Enzym soll gefunden werden.

Mit der Modellösung, dem 0,5%igen Pektinstandard, werden die enzymatischen Versuche durchgeführt.

Zu jeweils 200 ml des Pektinstandards wurden die verschiedenen Enzyme zugegeben, in Konzentrationsbereichen zwischen 10 und 250 ppm, die Verdünnungen erfolgen mit Leitungswasser. Anschließend wurde „über Kopf geschüttelt“, nach definierten Zeiträumen (z.B. 10, 20, 30, 90 Minuten), wurde eine Probe entnommen, diese auf 96°C erhitzt, dabei werden die Enzyme inaktiviert. Dann wurde die Probe filtriert (0,45µm), verdünnt und mit Hilfe der HPLC analysiert. Die Galakturonsäure, als Reaktionsprodukt des Pektinabbaus, wurde bei 80°C über eine Spezialsäule abgetrennt und mit einer Retentionszeit von 3,96 Minuten bei 210 nm zur quantitativen Kontrolle herangezogen.

Eine Reaktionszeit von 90 Minuten ist eine angemessene Dauer für eine enzymatische Hydrolyse. Innerhalb dieses Zeitrahmens steht die benötigte Enzymkonzentration in einem optimalen Verhältnis zur benötigten Reaktionszeit. Die notwendige Verweilzeit läßt sich in der Praxis mit Hilfe eines „Enzymreaktors“, quasi eines zwischengeschalteten Volumens erreichen.

Die Einwaagen für die einzelnen Maßlösungen erfolgten mit Hilfe einer Mikrowaage (Mettler M3; +/- 0,001 mg), die jeweiligen wäßrigen Lösungen wurden dosiert mittels kalibrierter Eppendorf® Pipetten.

### 12.3.3 EINZELERGEBNISSE AUS DEN ENZYM VERSUCHEN AM PEKTINSTANDARD

In nachfolgenden Diagrammen wird dargestellt, welche Menge an freier Galakturonsäure von den jeweiligen Enzymen in Abhängigkeit von der Reaktionsdauer, gebildet wurde. Diese wird als Maß für den erfolgten Pektinabbau herangezogen. Innerhalb einer natürlichen Matrix zeigen Enzyme kein ideales Verhalten, die Produktbildung verläuft nicht zwangsläufig linear. Durch Inhibitoren oder Aktivatoren kann es zu einer zeitabhängigen Produktbildung kommen, d.h. es ist möglich, daß ein Enzym innerhalb kurzer Zeit viel Produkt bildet, die Umsatzrate bald abfällt, z.B. durch Wechselwirkungen mit bestimmten Ionen (vergl. Kapitel 5.3.4), von denen ein anderes Enzym weniger inaktiviert wird. Dieses Verhalten ist den folgenden Abbildungen zu entnehmen.

In nachfolgender Grafik (12-5) ist die gebildete Menge an Galakturonsäure zu erkennen, die aus dem Pektinstandard nach Zugabe von jeweils 200 ppm der Enzyme entstand. Der unterschiedliche Effekt der Enzyme auf den Pektinstandard ist deutlich zu sehen. Pektinase 1 erreicht nach 90 Minuten mit 308 mg/l Galakturonsäure einen doppelt so hohen Wert an Produkt wie Fructozym M mit 153 mg/l d.h., daß von Pektinase 1 durch Hydrolyse des Pektins doppelt so viel Monomer gebildet wurde, wie durch Fructozym M.

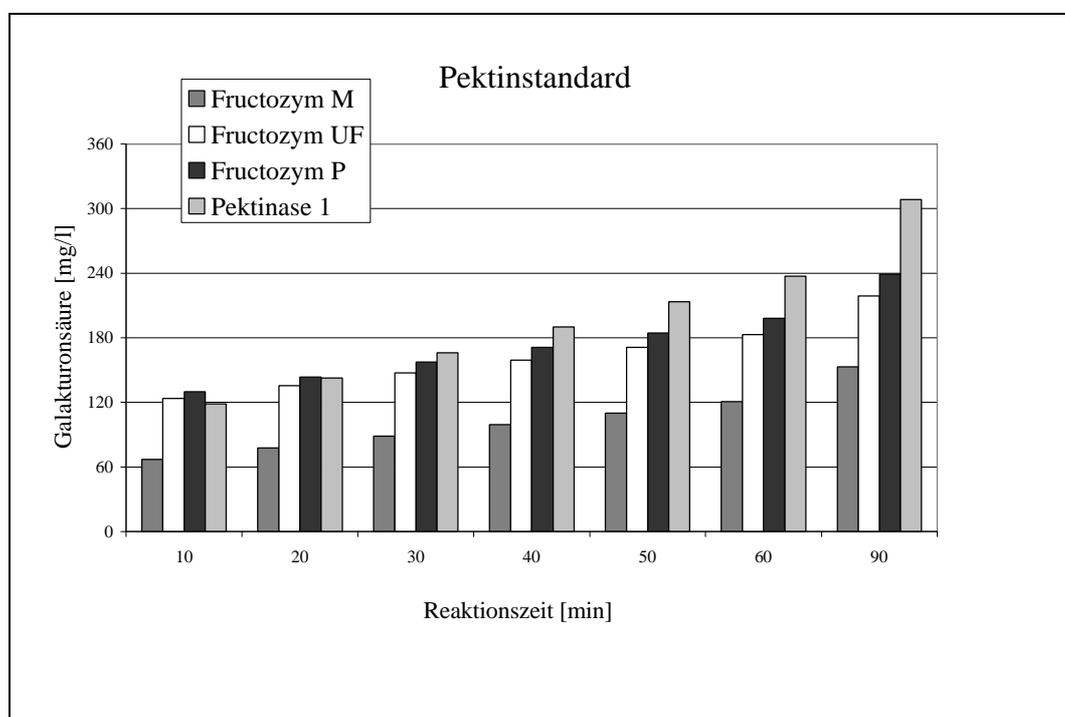


Abbildung 12-5 Enzymkonzentration 200 ppm zum Pektinstandard.

Die Ergebnisse aus einer Zugabe von jeweils 100 ppm der Enzyme Rohapect, Pektinase 2 und Fructozym M zu dem Pektinstandard sind in Grafik (12-6) dargelegt.

Beachtet man die Werte für Galakturonsäure nach einer Einwirkzeit von 30 min, so erkennt man daran das jeweils nur ca. 30 mg/l gebildet wurden, daß sich diese Enzyme nicht so gut für den Abbau von Pektin eignen. Der weitere Verlauf der Versuchsreihe bestätigt dieses, nach 90 min bilden die drei Enzyme mit 65, 72 bzw. 90 mg/l Galakturonsäure nur wenig Produkt.

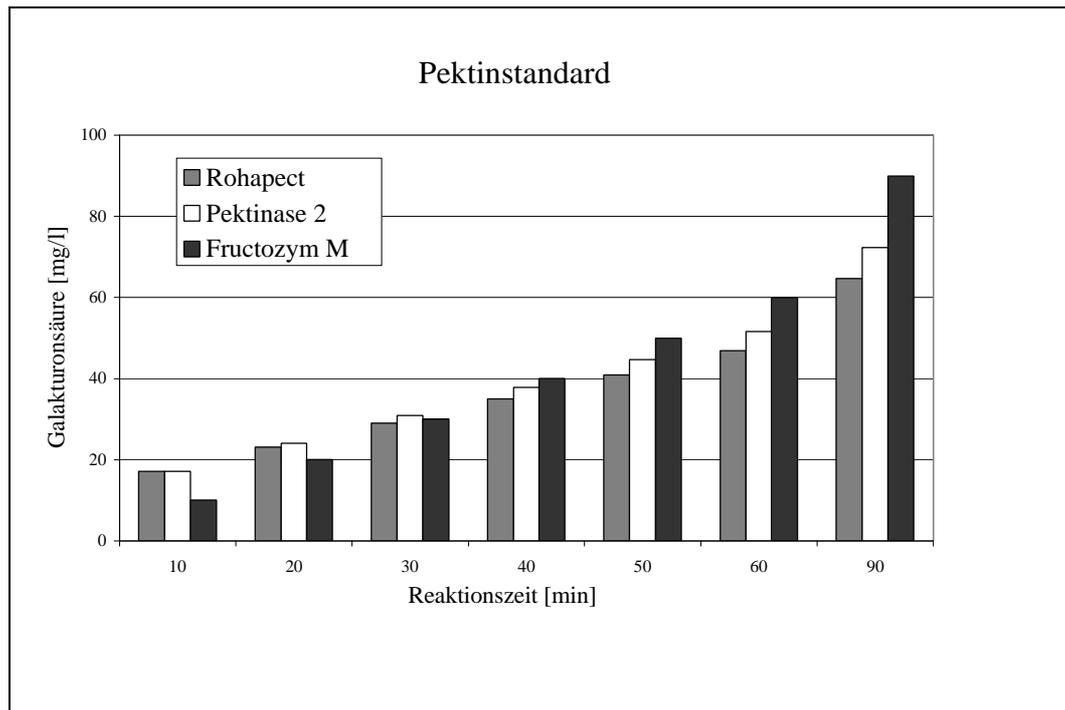


Abbildung 12-6 Enzymkonzentration 100 ppm zum Pektinstandard

Die Abbildung (12-7) dokumentiert die Ergebnisse nach Zugabe von jeweils 100 ppm der Enzyme. Beachtet man die gebildete Produktmenge nach 30 min Einwirkdauer, so erkennt man, daß 82 mg/l Galakturonsäure von Pektinase 6 gebildet wurden, von Fructozym UF, Pektinase 1 und Fructozym P je 94, 101 und 118 mg/l. Von den Enzymen Rohapect, Pektinase 2 und Fructozym M wurden in der gleichen Zeit 30 mg/l gebildet (Abb. 12-6). Anhand diese Zahlen kann die variierende Wirksamkeit verschiedener Enzyme auf den Pektinstandard gut dokumentiert werden.

Im weiteren Verlauf bilden nach 90 min Reaktionszeit die Enzyme Rohapect, Pektinase 2 und Fructozym M mit 65, 72 bzw. 90 mg/l Galakturonsäure, die Gruppe mit der kleinsten Produktmenge (Abb. 12-6). Fructozym UF ist mit 138 mg/l im mittleren Bereich zu finden,

von Pektinase 6, Fructozym P und Pektinase 1 wurde mit Mengen von 148, 162 und 174 mg/l Galakturonsäure doch erheblich mehr Hydrolyseprodukt gebildet.

Demzufolge wird nach 30 min durch Fructozym UF mehr Produkt gebildet als von Pektinase 6. Bei einer Reaktionszeit von 90 min ist es anders, dann ist von Pektinase 6 mehr Galakturonsäure gebildet worden als von Fructozym UF. Dieser Effekt ist auch bei Fructozym P und Pektinase 1 zu beobachten. Ein solches Verhalten wird verursacht durch Aktivatoren oder Inhibitoren und ist typisch bei enzymatischen Reaktionen in einer Realmatrix. Diese zeitabhängige Umsatzrate macht es notwendig eine geeignete Methode zu entwickeln mit der abgeschätzt werden kann, in welchem Zeitrahmen von den jeweiligen Enzymen die optimale Produktmenge gebildet wird. Bei einer technischen Umsetzung in der Emsland-Stärke in einen Maßstab mit Volumenströmen von 140 m<sup>3</sup>/h KFW, ist eine benötigte Behandlungszeit von 90 Minuten durchführbar, eine längere Einwirkzeit ist nicht sinnvoll. Der bakterielle Wachstum wäre nicht mehr handzuhaben und würde die Produktqualität mindern.

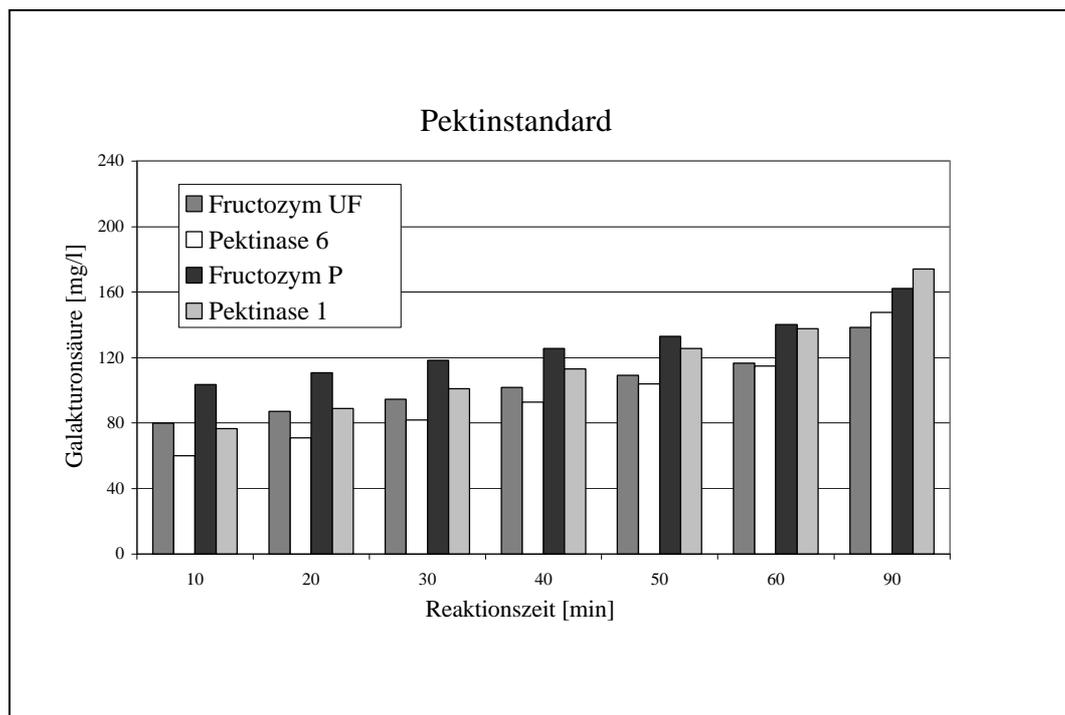


Abbildung 12-7 Enzymkonzentration 100 ppm zum Pektinstandard

Nicht aufgeführt sind Spirizym FM Top mit 424 mg/l, sowie Pektinase 5 mit 493 mg/l Galakturonsäure, diese Werte beschreiben das zu erreichende Maximum und darauf wird im weiteren Verlauf der Arbeit noch eingegangen (Kapitel 12.4.4).

Die erreichbaren maximalen Produktwerte liegen je nach verwendetem Enzym zwischen 460 und 500 mg/l Galakturonsäure bei Verwendung des Pektinstandards, höhere Werte können nicht gebildet werden. Wird die maximale Produktmenge gebildet, so ist es sinnvoll die zugegebene Enzymkonzentration zu reduzieren, um auf diese Weise die optimalen Parameter für den Pektinabbau zu ermitteln.

Die Abb.12-8 beschreibt die Produktbildung aus dem Pektinstandard, nachdem dieser mit jeweils 50 ppm der Enzyme versetzt wurde. Nach einer Reaktionsdauer von 30 min beträgt die Produktbildung durch Pektinase 6, Fructozym P und Pektinase 1 jeweils 64, 76 und 80 mg/l Galakturonsäure. Im weiteren Verlauf bilden nach 90 min Pektinase 6, Fructozym P und Pektinase 1 101, 108 und 124 mg/l Produkt. Die maximal zu erreichende Produktmenge liegt bei 460–500 mg/l Galakturonsäure, die bei einer Konzentration von 50 ppm Enzym erreichten Werte von 100-124 mg/l Galakturonsäure sind ein akzeptables Ergebnis.

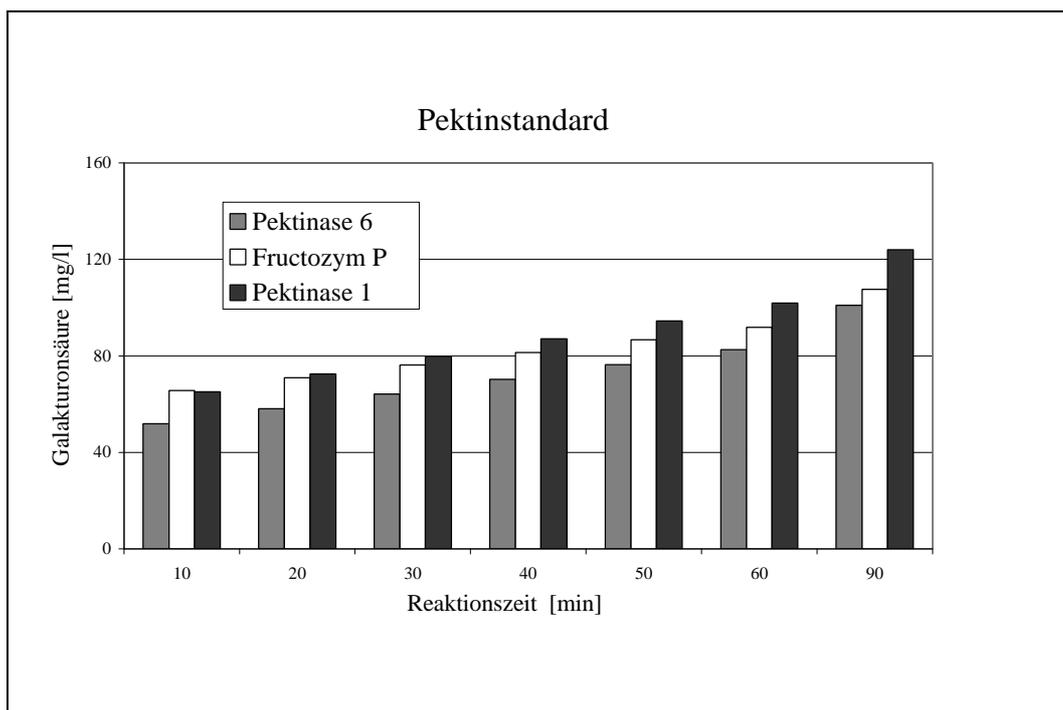


Abbildung 12-8 Enzymkonzentration 50 ppm zum Pektinstandard

Weitere Resultate einer Enzymzugabe von jeweils 50 ppm zu dem Pektinstandard beschreibt Grafik (12-9). Nach einer Einwirkzeit von 30 min entstehen 198 mg/l durch Pektinase 5 und 165 mg/l Galakturonsäure durch Spirizym FM Top. Von Pektinex und Ultrazym werden mit 280 und 313 mg/l Galakturonsäure sehr hohe Produktwerte erreicht.

Im weiteren Verlauf bilden nach 90 min die Enzyme Spirizym FM Top 292 mg/l und Pektinase 5 425 mg/l Galakturonsäure. Die signifikante Produktbildung durch Pektinase 5 ist gut zu erkennen. Von den Enzymen Pektinex und Ultrazym werden, trotz der geringen Enzymkonzentration von 50 ppm, mit 499 und 463 mg/l Galakturonsäure schon die maximal erreichbaren Produktmengen gebildet.

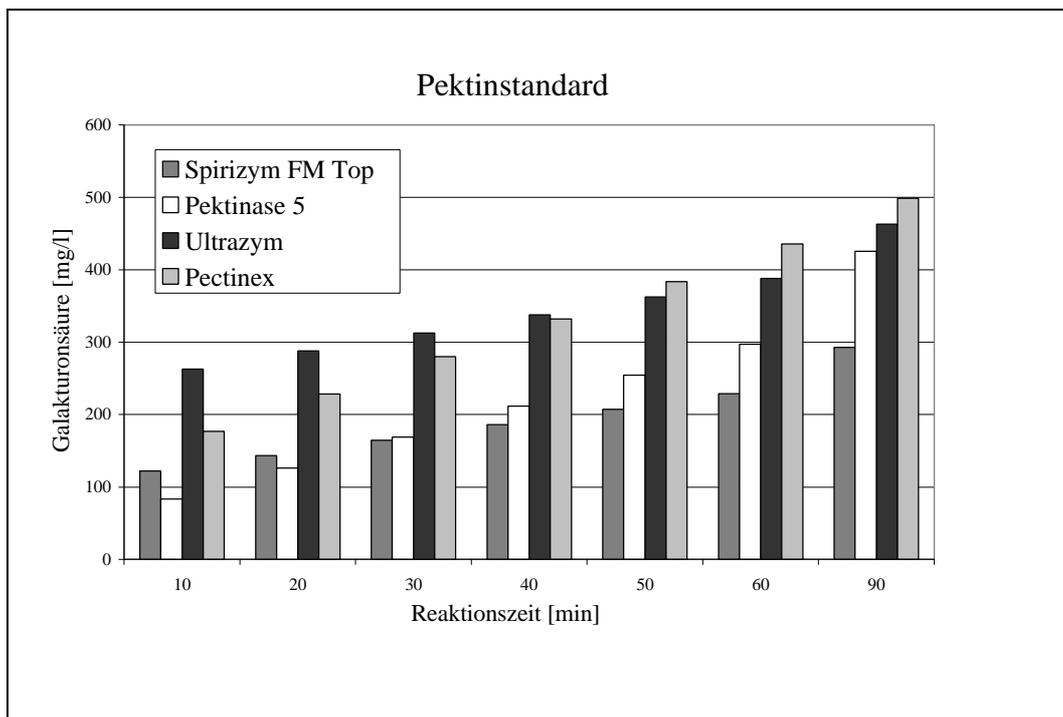


Abbildung 12-9 Enzymkonzentration 50 ppm zum Pektinstandard

Die anschließende Abb. 12-10 legt dar, wie sich einige besonders erfolgreiche Enzyme bei der sehr niedrigen Konzentration von 25 ppm verhalten. Auf diese Weise läßt sich die für den Pektinabbau optimale Enzymmenge ermitteln, auch kann man so die enzyspezifische Abhängigkeit der Produktbildung von der Zeit gut erkennen.

Betrachtet man die ansteigende Konzentration an Galakturonsäure, so wird deutlich, daß Sprizym FM Top schon bei kurzer Einwirkung gute Abbauraten von Pektin erzielt, mit 106 mg/l gegenüber 71 mg/l von Pektinase 5 nach 20 min. Im weiteren Verlauf wird von Pektinase 5 mehr Produkt gebildet und nach 90 min liegt Sprizym FM Top mit 180 mg/l gegenüber Pektinase 5 mit 252 mg/l um 40 % zurück.

Pektinex läßt hier besonders seine gute Verwendbarkeit erkennen, sowohl mit guten Ergebnissen im frühen Reaktionsstadium, als auch nach 90 min.

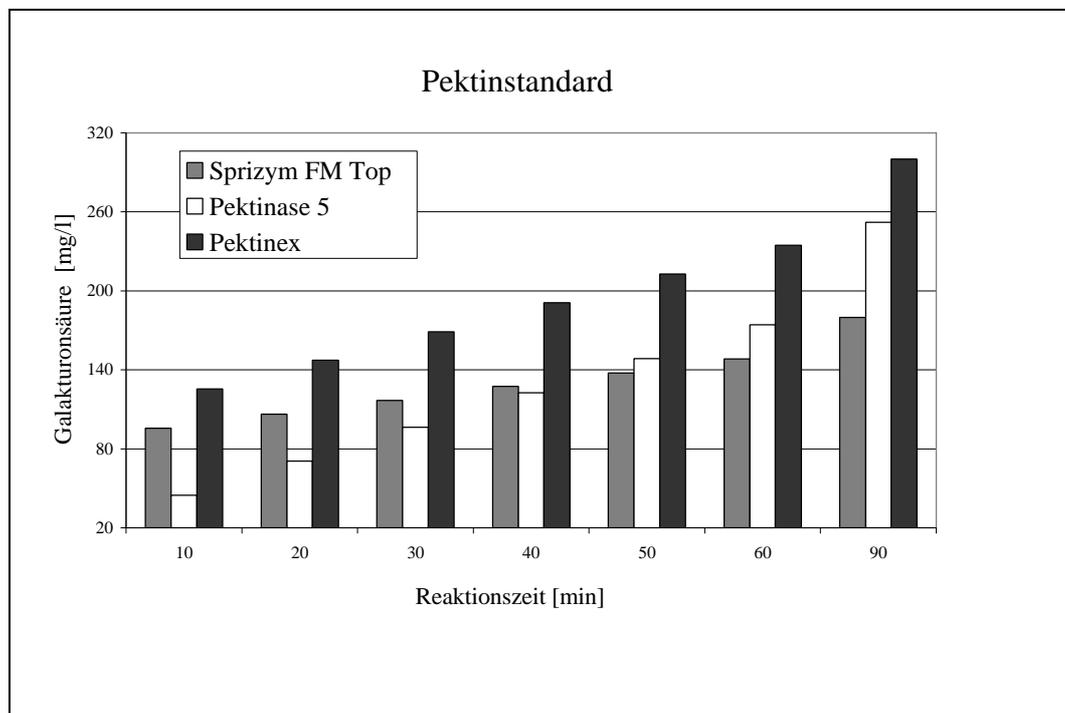


Abbildung 12-10 Enzymkonzentration 25 ppm zum Pektinstandard

Die Grafik 12-11 beschreibt das Entstehen des Abbauproduktes aus Pektin bei einer Enzymkonzentration von 10 ppm.

Bei dieser mit 10 ppm sehr geringen Enzymkonzentration ist Pektinase 5 mit 14 mg/l nach 20 und 112 mg/l Galakturonsäure nach 90 min deutlich besser geeignet zur Hydrolyse des Pektinstandards als Spirizym FM Top. Pektinex lässt hier wieder seine besonders gute Befähigung erkennen, sowohl mit guten Ergebnissen im frühen Reaktionsstadium, 56 mg/l nach 20 min, als auch noch nach 90 min mit 129 mg/l ist es von allen in der Versuchsreihe verwendeten Enzymen das mit der größten Abbaurrate für den Pektinstandard.

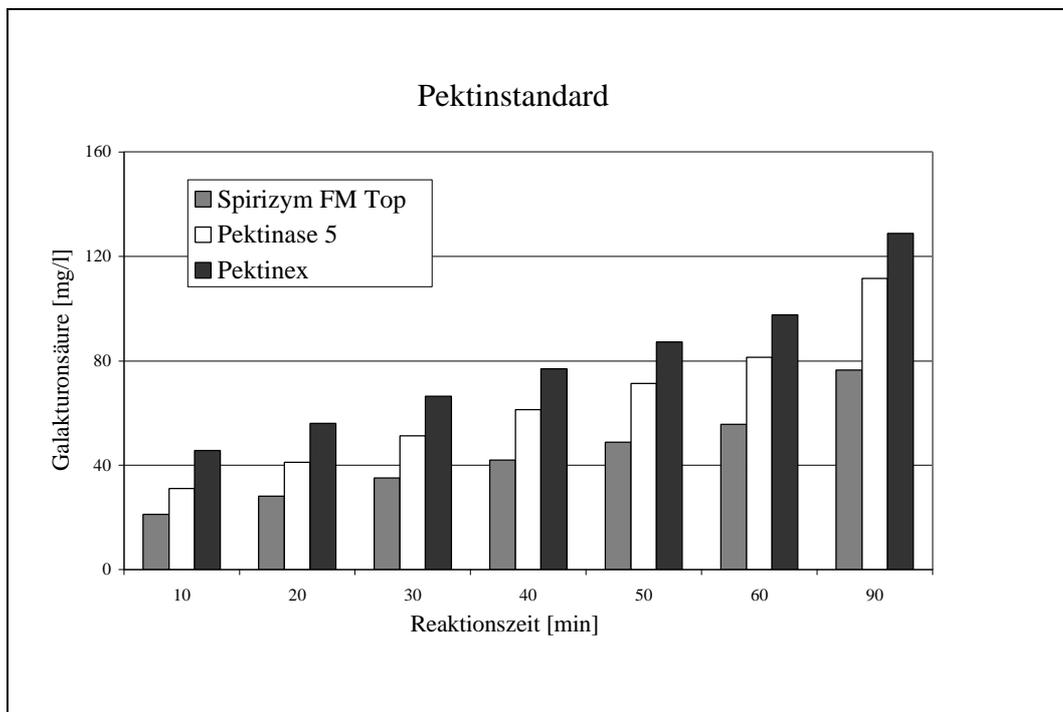


Abbildung 12-11 Enzymkonzentration 10 ppm zum Pektinstandard

In Abb. 12-12 wird dargestellt, wie sich die Abhängigkeit der Produktbildung als Funktion der Reaktionsdauer zeigt. Dieses Verhalten ist enzymespezifisch und muß für jede Matrix experimentell ermittelt werden. Aufgetragen sind einige Ergebnisse der Enzyme Pektinex, Pektinase 5 und Spirizym FM Top, jeweils nach 30, 60 und 90 Minuten Reaktionsdauer, bei Enzymkonzentrationen von 10 bis 35 ppm.

Pektinex und Pektinase 5 zeigen deutlich eine gute Produktbildung für die Galakturonsäure, sie sind von allen in der Versuchsreihe verwendeten Enzymen die mit der höchsten Fähigkeit zur Hydrolyse des Pektinstandards.

Es ist zu erkennen, daß sich die Reaktionszeit, die Enzymkonzentration und gebildete Menge an Galakturonsäure nicht direkt proportional zueinander verhalten, da die Umsatzraten von Enzymen in einer realen Matrix von vielen Faktoren beeinflusst werden (vergl. Kapitel 5.3.4).

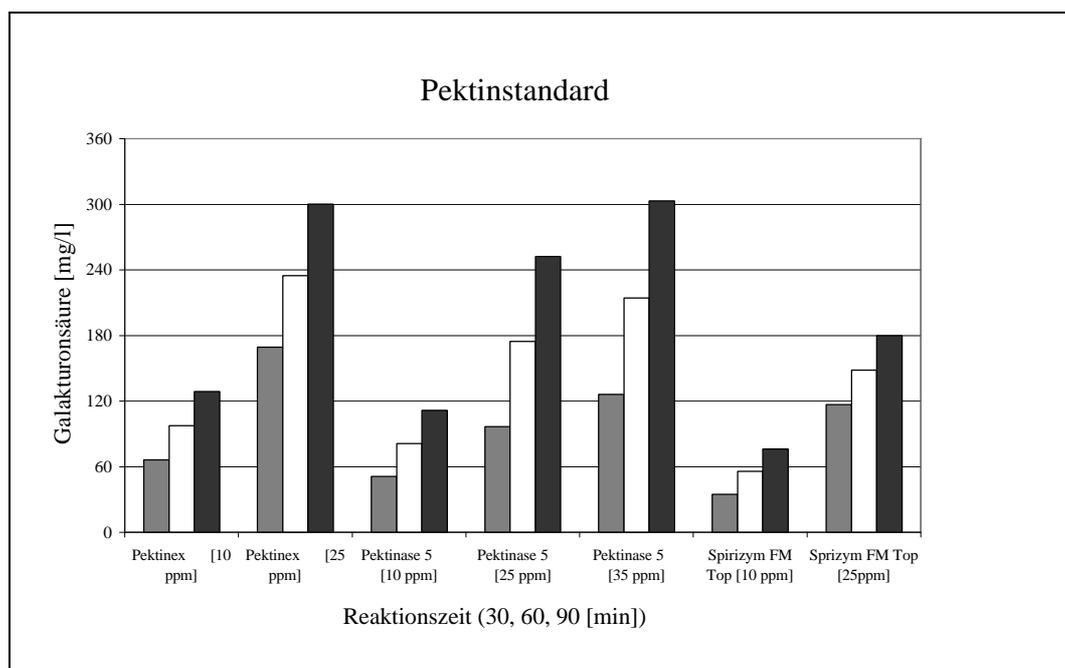


Abbildung 12-12 Produktbildung aus dem Pektin Standard als Funktion der Enzymkonzentration

## 12.4 ENZYMATISCHE VERSUCHE AN KARTOFFELFRUCHTWASSER

Im Anschluß an die erfolgte Methodenentwicklung unter Verwendung einer Modelllösung, wurden die enzymatischen Versuche an der realen Matrix KFW durchgeführt. Die Notwendigkeit besteht, da es sich beim KFW um eine belebte natürliche Matrix mit allen unbekanntem Eigenschaften handelt, weshalb man keine Voraussagen bezüglich der hydrolysierenden Wirkung von Enzymen zu treffen kann. Zunächst wurden einige Parameter des KFW festgelegt, so soll zumindest eine eingeschränkte Standardisierung dieser Matrix ermöglicht werden.

### 12.4.1 AUSWAHLKRITERIEN DER MATRIX KARTOFFELFRUCHTWASSER

Für die Laborversuche, die innerhalb der kampagnefreien Zeit der Kartoffelstärke-Produktion stattfanden, wurde zunächst das original Kartoffelfruchtwasser aus der Emsland-Stärke verwendet, welches eingefroren gelagert wurde. Im weiteren Verlauf der Arbeit wurde auf das original KFW verzichtet, da innerhalb des Zeitraumes zwischen der Probennahme und dem vollständigen Gefrieren und während des Auftauens die mikrobielle Aktivität im KFW nicht vollständig zum Stillstand gebracht werden konnte. Auch erfolgt durch das Gefrieren ein weiterer Zellaufschluß durch die Bildung von Eiskristallen, dadurch kommt es ebenfalls zu veränderten Inhaltsstoffen, z.B. durch die Freisetzung gewebeeigener Enzyme.

Von der Einlagerung der Stärkekartoffeln wurde aus diesen Gründen ebenfalls Abstand genommen, da auch hier durch Entwässerung, Verzuckerung, mikrobielle Aktivität und Pilzbefall eine Veränderung der Inhaltsstoffe unumgänglich ist.

Aufgrund dieser Verhältnisse wurde, außerhalb der Kampagne, auf die Verwendung handelsüblicher Kartoffeln (z.B. der Marken: Nicola /193/, Premiere /194/) zurückgegriffen, die mit einem Haushaltsentsafter (Mulinex) entsaftet wurden. Das daraus gewonnene Fruchtwasser wurde für die weiteren Versuche verwendet.

Im Hinblick auf die normalen innerhalb einer Kampagne üblichen Schwankungen hinsichtlich der Zusammensetzung des original KFW fällt nicht ins Gewicht, daß keine Stärke- sondern Speisekartoffeln für die Versuche genutzt wurden. Der Unterschied zwischen Stärke- und Speisekartoffeln besteht im Gehalt an Stärke, man kann davon ausgehen, daß eine Analogie zwischen dem KFW aus Speise- und Stärkekartoffeln besteht. Bei dem KFW der Emsland-Stärke handelt es sich um den Volumenstrom, der nach den Dekantern der Reiben von der

Stärke und den Fasern abgetrennt wurde, folglich kann der bei Stärkekartoffeln höhere Stärkeanteil nicht ausschlaggebend für die Zusammensetzung des KFW sein.

Die Laborversuche mit KFW wurden bei Raumtemperatur durchgeführt. Die Temperatur des KFW beträgt nach den Wärmetauschen 30°C, es wird so in die Umkehrosmoseanlage I gepumpt, da bei dieser Temperatur die Trennleistung von den Membranen am besten ist.

Alle Versuche mit Kartoffelfruchtwasser und Enzymen wurden bei einem pH-Wert von 5,8 bis 6,0 durchgeführt, dieser entspricht dem pH-Wert des KFW in der Emsland-Stärke. Ein Arbeiten im Enzymoptimum kann nicht durchgeführt werden, bei den bestehenden Kapazitäten in der Emsland Stärke wären die Kosten für die Säuern und Laugen für eine pH-Verschiebung zu hoch.

#### 12.4.2 VERSUCHSDURCHFÜHRUNG

Es soll untersucht werden, von welchen Enzymen, im KFW mit seinen internen Wechselwirkungen und unter Berücksichtigung der in der Emsland-Stärke herrschenden Rahmenbedingungen, die höchsten Abbauraten für Pektine induziert werden. Auch sollen auf diese Weise die optimale Enzymkonzentration und Reaktionszeit ermittelt werden.

Aus handelsüblichen Kartoffeln wurde das Fruchtwasser mit Hilfe eines Haushaltsensafters gewonnen und täglich frisch zubereitet. Zu 200 ml dieses KFW wurden jeweils die verschiedenen Enzyme gegeben, in Konzentrationsbereichen von 10 bis 250 ppm, die Verdünnungen dafür erfolgten mit Leitungswasser.

Anschließend wurde „über Kopf geschüttelt“, nach definierten Zeiträumen (z.B. 10, 20, 30, 90 Minuten), wurde eine Probe entnommen, diese auf 96°C erhitzt, so konnten die Enzyme inaktiviert und die Proteine gefällt werden. Die Probe wurde filtriert (0,45µm), verdünnt und mit Hilfe der HPLC analysiert.

Das geschieht über die Galakturonsäure, die als Reaktionsprodukt des Pektinabbaus, bei 80°C über eine Spezialsäule getrennt und mit einer Retentionszeit von 3,96 Minuten bei 210 nm zur quantitativen analytischen Kontrolle herangezogen wird.

Die Einwaagen für die einzelnen Maßlösungen erfolgten mit Hilfe einer Mikrowaage (Mettler M3; +/- 0,001 mg), die jeweiligen wässrigen Lösungen wurden dosiert mittels kalibrierter Eppendorf® Pipetten.

### 12.4.3 EINZELERGEBNISSE AUS DEN ENZYM-VERSUCHEN AM KARTOFFELFRUCHTWASSER

Die hier nachfolgenden Versuche verlaufen analog den enzymatischen Versuchen am Pektinstandard (Kapitel 12.3.2). Der einzige Unterschied besteht darin, daß bei den Versuchen mit KFW eine reale Matrix verwendet wird.

In dem Bewußtsein um die Problematik der Probenaufarbeitung von KFW waren die Versuche mit dem Pektinstandard als Modellösung zur Methodenentwicklung unerlässlich. Diese Modellösung hat aufgrund ihrer homogenen Beschaffenheit das Ermitteln einer chromatographischen Methode vereinfacht (Anhang Beispielchromatogramme 16.3.4).

Diese chromatographische Methode muß nun auf die Matrix KFW angewandt werden, um den Einfluß der Inhaltsstoffe des KFW auf die Eigenschaften der Enzyme beurteilen zu können. Durch die im KFW enthaltenen Hemmstoffe und Inhibitoren ist eine geringere Bildung an Galakturonsäure als beim Pektinstandard zu erwarten. Die Chromatogramme (Anhang Beispielchromatogramme 16.3.5) verdeutlichen die Komplexität der Lösung, jedoch ist ein sicheres Quantifizieren des Galakturonsäure-Peaks realisierbar.

Die folgenden Abbildungen lassen erkennen, welche Enzyme in Abhängigkeit von der Zeit, die größere Menge an freier Galakturonsäure bilden. In diesen Versuchen entsteht die Galakturonsäure ausschließlich aus der Hydrolyse des kartoffeleigenen Pektins. In verschiedenen Versuchsreihen wurden jeweils zwischen 10 bis 250 ppm der Enzyme zugegeben.

Zu dem KFW wurden jeweils 250 ppm der Enzyme gegeben, die folgende Grafik 12-13 beschreibt die Ergebnisse.

Signifikant sind die verschiedenen Umsatzraten der Enzyme:

Fructozym UF erreicht nach 90 Minuten mit 145 mg/l Galakturonsäure einen vier mal so hohen Wert wie Rohapect mit 35 mg/l. Die Enzyme Rohapect, Fructozym M und Pektinase 2 sind die bezüglich des Pektinabbaus im KFW die am wenigsten erfolgreichen Enzyme. Von Fructozym P und Fructozym UF wird mit 79 mg/l und 145 mg/l eine signifikante Menge an Galakturonsäure freigesetzt.

Diese Ergebnisse bestätigen die aus den Versuchen mit dem Pektinstandard gewonnenen Erkenntnisse (vergl. Abb.12-7), daß die Enzyme mit einer geringen depektinisierenden Wirkung auf den Pektinstandard auch auf das Pektin im KFW keine bedeutende Wirkung ausüben. Die Auswahl der Modellmatrix wird durch diese Resultate bestätigt, im Hinblick auf die im KFW vorliegenden Inhibitoren ist ein Überprüfen der Enzyme in der Realmatrix sinnvoll und wird in den im weiteren dargestellten Grafiken dokumentiert.

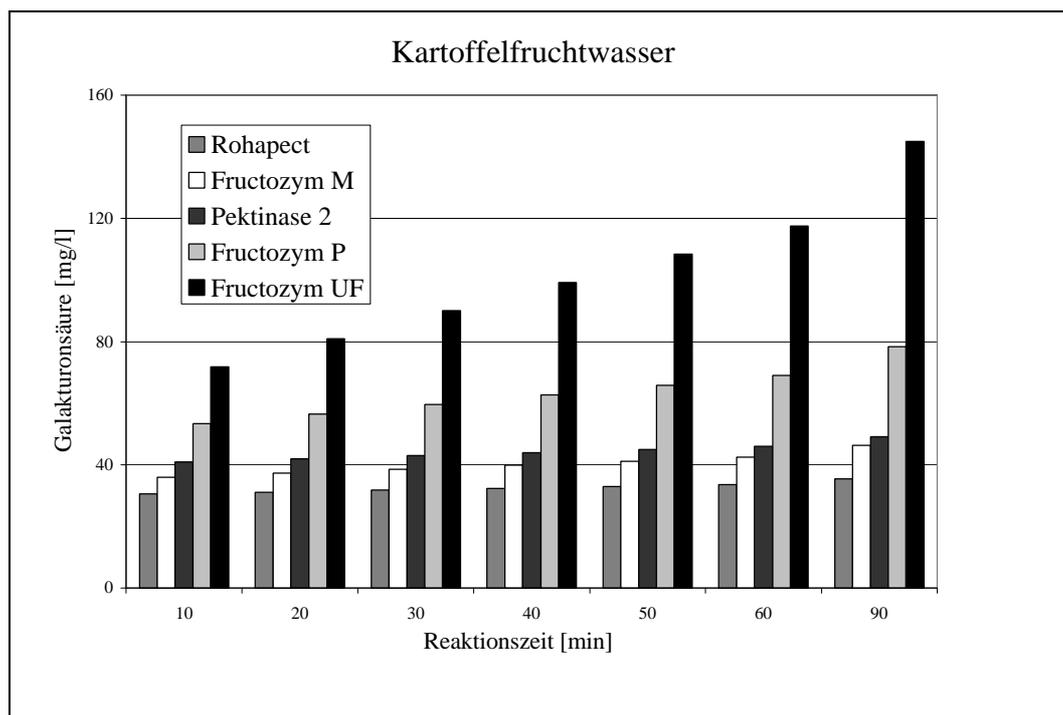


Abbildung 12-13 Enzymkonzentration 250 ppm in KFW

Die Abbildung 12-14 läßt erkennen, wieviel Galakturonsäure bei einer Enzymkonzentration von 200 ppm zu dem KFW gebildet wird:

Wieder wird von den Enzymen Rohapect Fructozym M und Pektinase 2 deutlich weniger Hydrolyseprodukt gebildet als durch Fructozym P und Fructozym UF. Damit werden die bei einer Enzymkonzentration von 250 ppm gewonnen Kenntnisse bestätigt. Da von Rohapect Fructozym M und Pektinase 2 nach 90 min im Reaktionsdauer mit 28, 27 und 31 mg/l Galakturonsäure nur wenig Hydrolyseprodukt gebildet wurde, wird darauf verzichtet diese Enzyme bei einer geringeren Dosierung zu messen.

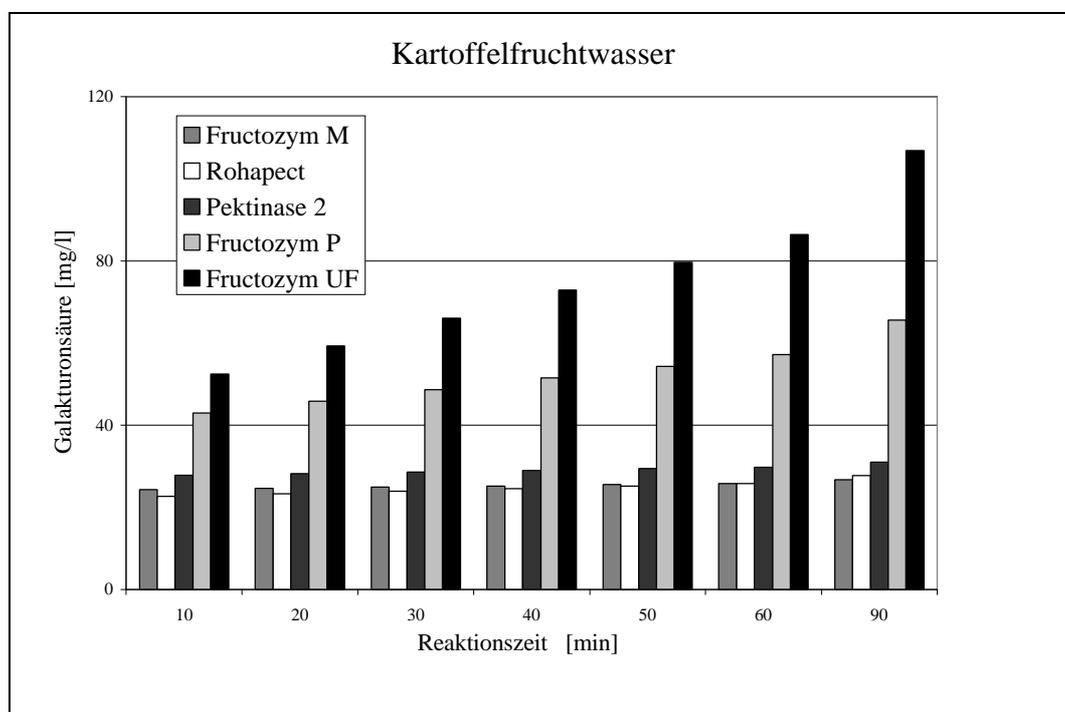


Abbildung 12-14 Enzymkonzentration 200 ppm in KFW

Die Abb. 12-15 dokumentiert wieviel Galakturonsäure bei einer Enzymkonzentration von 100 ppm zum KFW gebildet wird:

Charakteristisch sind die ausgebildeten Differenzen der Abbauraten durch die verschiedenen Enzyme. Beachtet man die Produktbildung nach 30 min Reaktionsdauer, so bilden Pektinase 6 und Pektinase 1 mit 18 respektive 34 mg/l Galakturonsäure wenig Produkt. Von Pektinex und Ultrazym werden mit 113 mg/l mit 135 mg/l Galakturonsäure induziert. Im weiteren Verlauf bilden nach 90 min die Enzyme Pektinase 6 und 1 mit 37 bzw. 96 mg/l, Pektinex und Ultrazym liegen bei 167 sowie 235 mg/l Galakturonsäure.

Pektinase 6 hat bei dieser Verdünnung die Grenze seiner Wirksamkeit erreicht, bei Pektinase 1 erhöht sich zeitabhängig die Produktbildung, wobei hingegen von Pektinex sofort gute Abbauraten erreicht werden, die aber im weiteren Verlauf nicht wie erwartet ansteigen. Ultrazym besticht durch seine depektinisierende Wirksamkeit.

Setzt man die bei den Versuchen mit dem Pektinstandard, von dem jeweiligen Enzym erzielte Mengen an Galakturonsäure gleich 100%, so werden im KFW von Pektinase 1 noch 55% von Pektinase 6 hingegen nur 26% der theoretisch möglichen Menge gebildet, das wiederum bedeutet das Pektinase 6 bezüglich einer Inaktivierung durch die KFW Inhaltsstoffe stärker betroffen ist. Solche Ergebnisse können durch diese neue Labormethode schnell und einfach ermittelt werden.

Von Pektinex und Ultrazym wurde die maximale Produktbildung schon mit 50 ppm Enzym erreicht.

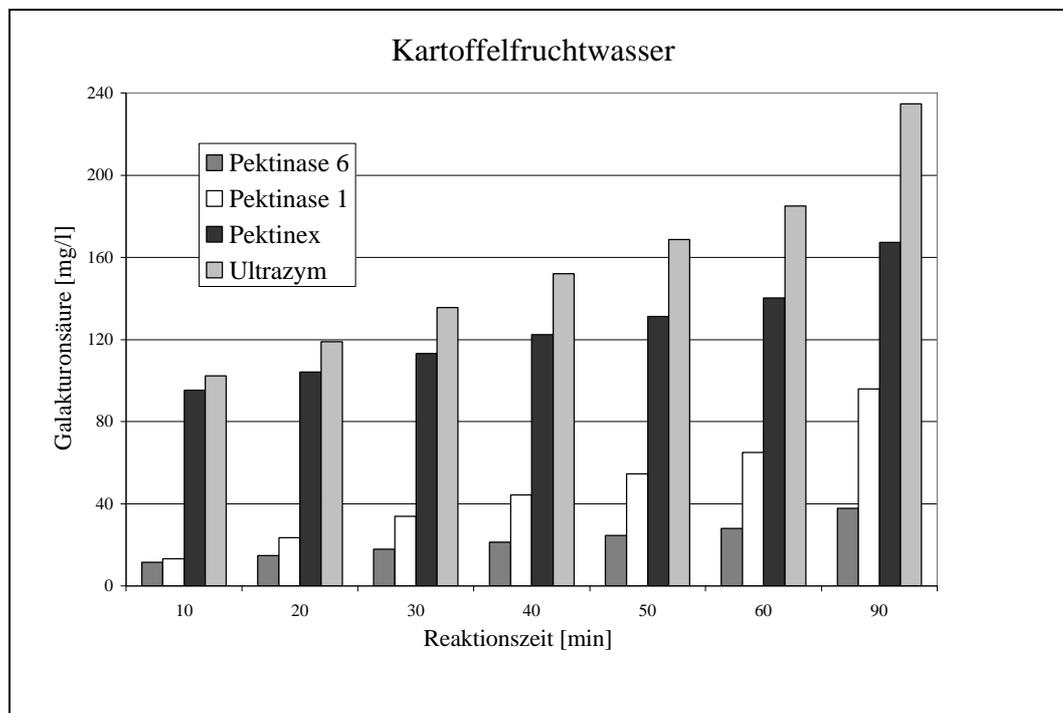


Abbildung 12-15 Enzymkonzentration 100 ppm in KFW

Es wurde zum KFW nur noch jeweils 50 ppm der Enzyme addiert. In Grafik 12-16 sind die Ergebnisse abgebildet:

Die Abbaurrate von Pektinase 1 und Spirizym FM Top beträgt nach 90 Minuten 24 mg/l und 72 mg/l Galakturonsäure, somit ist diese Enzymkonzentration für diese Enzyme zu gering um eine adäquate Umsatzrate innerhalb eines Zeitrahmens von 90 min zu erreichen.

Im weiteren erkennt man, daß die herausragende Wirksamkeit von Pektinex und Ultrazym noch übertroffen wird von Pektinase 5, somit sind die drei am besten auf KFW anzuwendenden pektinolytischen Enzyme ermittelt.

Zwar wird nicht wie beim reinen Pektinstandard die maximale Produktbildung erreicht, was aufgrund der vorhandenen, sowie sich bildenden Inhibitoren auch nicht zu erwarten wäre, aber die erreichten Werte betragen nach 90 Minuten 126, 156 und 166 mg/l Galakturonsäure für Pektinex, Ultrazym und Pektinase 5. Das sind 30% von der mit einem Pektinstandard maximal erreichbaren Produktmenge, innerhalb einer realen Matrix unter Prozeß-Bedingungen.

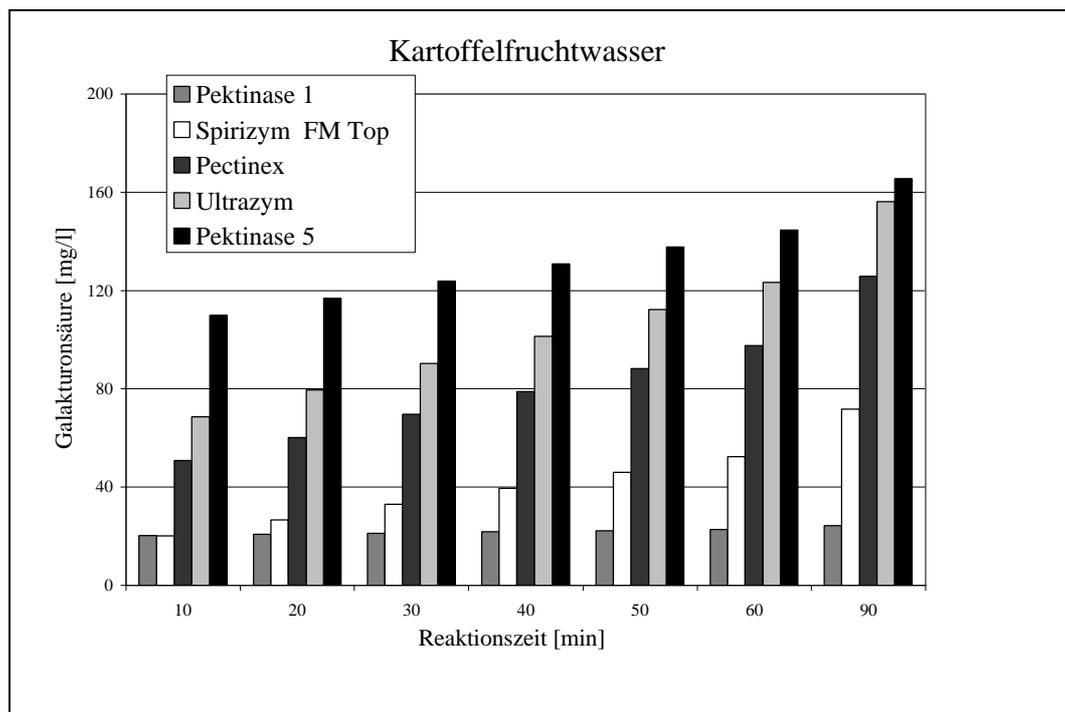


Abbildung 12-16 Enzymkonzentration 50 ppm in KFW

Die Darstellung 12-17 beschreibt, wie sich eine Zugabe von Pektinase 5 und Ultrazym in sehr geringer Konzentration zum KFW auswirkt. Besonders gut wird die enzymespezifische Zeit-Abhängigkeit der Produktbildung demonstriert:

Die Produktbildung und die eingesetzte Enzymmenge verhalten sich nicht linear zueinander. Es gibt für jede Ausgangssituation auch eine optimale Enzymkonzentration, dieses Verhalten ist enzymespezifisch und kann für reale Matrices nur durch Versuche ermittelt werden. Die Konzentrationen kleiner 50 ppm führen zu geringeren Umsatzraten, die Enzyme liegen in zu großer Verdünnung vor.

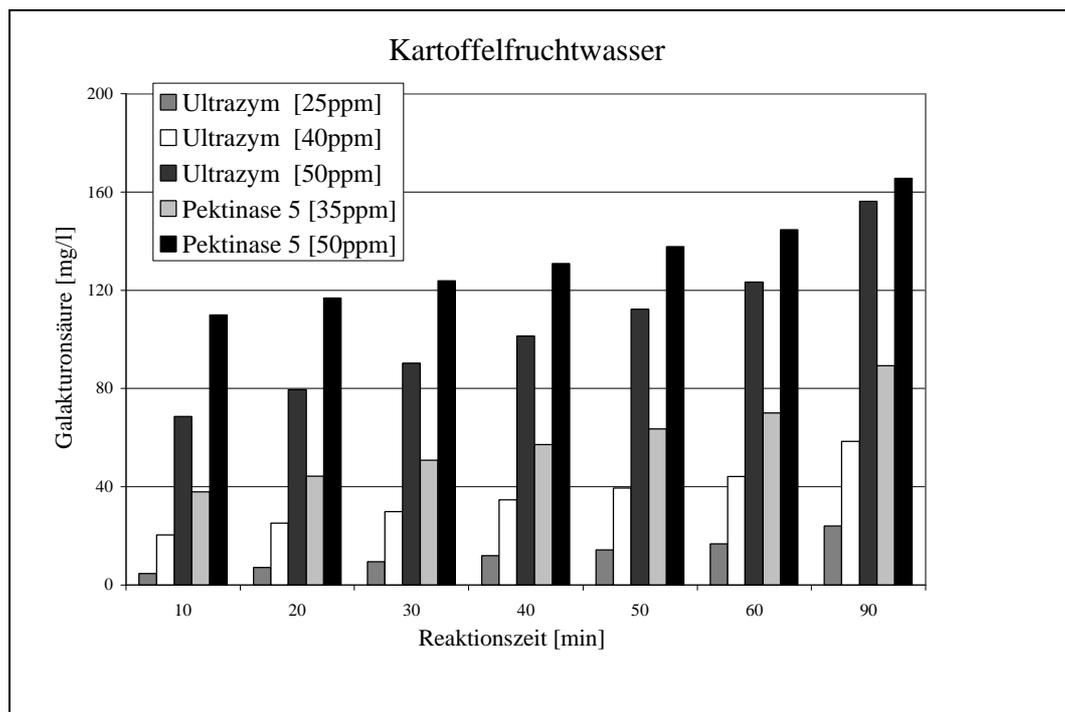


Abbildung 12-17 Enzymkonzentration kleiner 50 ppm in KFW

#### 12.4.4 ERREICHEN DER MAXIMALEN PRODUKTMENGE BEI EINWIRKUNG VON ENZYMEN AUF DEN PEKTINSTANDARD

Enzyme arbeiten mit konstanter Leistung, das heißt, daß in der doppelten Zeit die doppelte Menge an Produkt gebildet wird, sofern sich die Arbeitsbedingungen nicht ändern (vergl. 5.3.3).

Aus der Praxis (Kapitel 5.3.4) geht hervor, daß es bei der enzymatischen Hydrolyse, in Abhängigkeit von der Zeit, häufig zu einer Inaktivierung der Enzyme und damit zur Ausbildung eines Produktmaximums kommt.

Dieser Aktivitätsverlust der Enzyme kann vielerlei Ursachen haben. Dazu zählen unter anderem eine Absenkung des pH-Wertes, mikrobielle Aktivitäten, die Bildung von Inhibitoren, z.B. Oxidationsprodukte (Harnsäure, Milchsäure) oder Ionen ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ )

oder eine Verminderung der Konzentration an Substrat. Die Hauptursachen des Verlustes an Aktivität sind sicherlich der fallende pH-Wert des KFW, sowie einige Endprodukte des mikrobiellen Stoffwechsels.

Um wirtschaftlich, d.h., bei vollständiger Ausnützung einer Enzymaktivität zu arbeiten, muß der Aktivitätsverlust der Enzyme unter Produktionsbedingungen innerhalb der Realmatrix bekannt sein. Zu diesem Zweck, zur Bestimmung der optimalen Enzymkonzentration bzw. Einwirkzeit wird in den folgenden vier Diagrammen die maximale Produktbildung in Abhängigkeit von der Zeit dargestellt. Die Durchführung der Versuche verläuft analog wie unter 12.3 beschrieben.

Grafik 12-18 beschreibt das Erreichen der maximalen Produktbildung bei Zugabe von je 200 ppm Pektinex, Pektinase 1 und Ultrazym zum Pektinstandard:

Man erkennt, daß die maximale Produktmenge von Pektinex und Ultrazym nach 35 bzw. 45 Minuten erreicht wird, dies entspricht auch einem in die Praxis gut umzusetzenden Zeitrahmen. Hingegen wird von Pektinase 1 die maximale Produktbildung erst nach 140 Minuten Reaktionsdauer erreicht und ist auch mit 403 mg/l Galakturonsäure nicht so ausgeprägt. Pektinex und Ultrazym erreichen Werte von 473 und 498 mg/l Galakturonsäure.

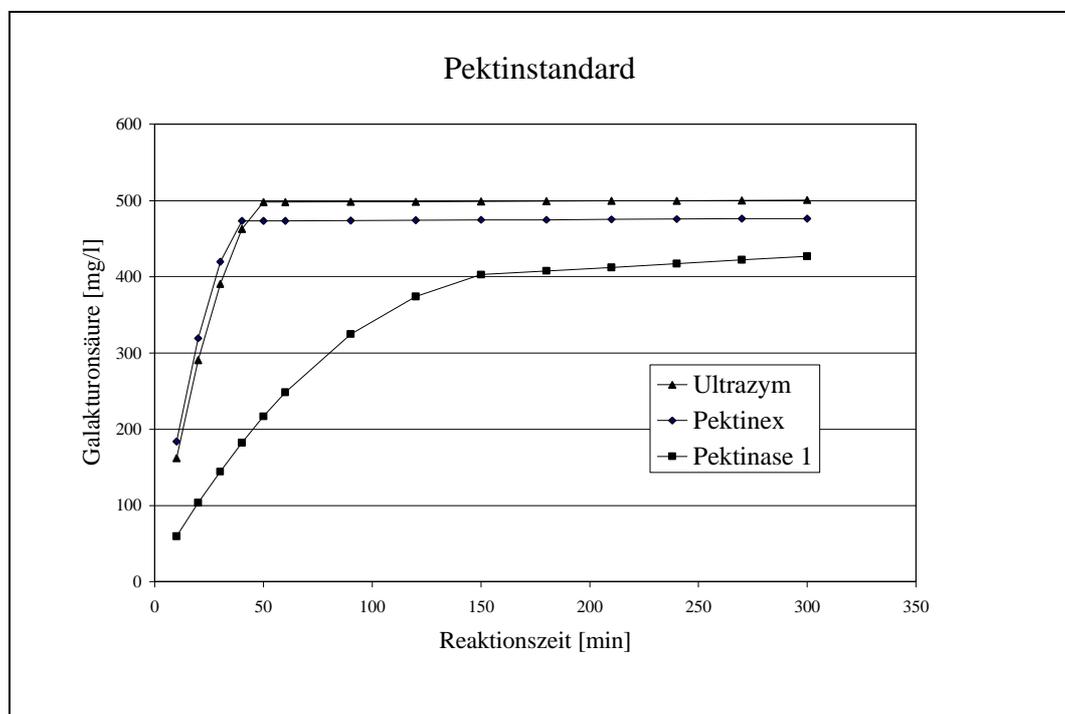


Abbildung 12-18 Erreichen der maximalen Produktbildung

Mit 200 ppm Enzym zum Pektinstandard.

Die Ausbildung der maximalen Produktmenge bei Zugabe von je 100 ppm Pektinase 5 und Spirizym FM Top wird in Bild 12-19 beschrieben:

Es ist zu sehen, daß der Maximalwert von Pektinase 5 mit 492 mg/l Galakturonsäure nach 70 Minuten erreicht wird. Spirizym FM Top erreicht nach 120 Minuten den Wert 441, bildet aber weiterhin langsam Produkt, so daß es nach 300 Minuten auch bei 493 mg/l Galakturonsäure liegt.

Eine Reaktionszeit von fünf Stunden erscheint zunächst unsinnig und ist in der Emsland-Stärke auch keinesfalls praktikabel. In anderen Bereichen der Obst- und Gemüse-Verarbeitung ist eine mehrstündige Reaktionszeit nicht unüblich. Bei Anwendung von z. B. Rohapect zum Pektinabbau auf Saft aus Kirschen, Erdbeeren oder Himbeeren empfiehlt der Hersteller eine Behandlungszeit von bis zu sechs Stunden /195/.

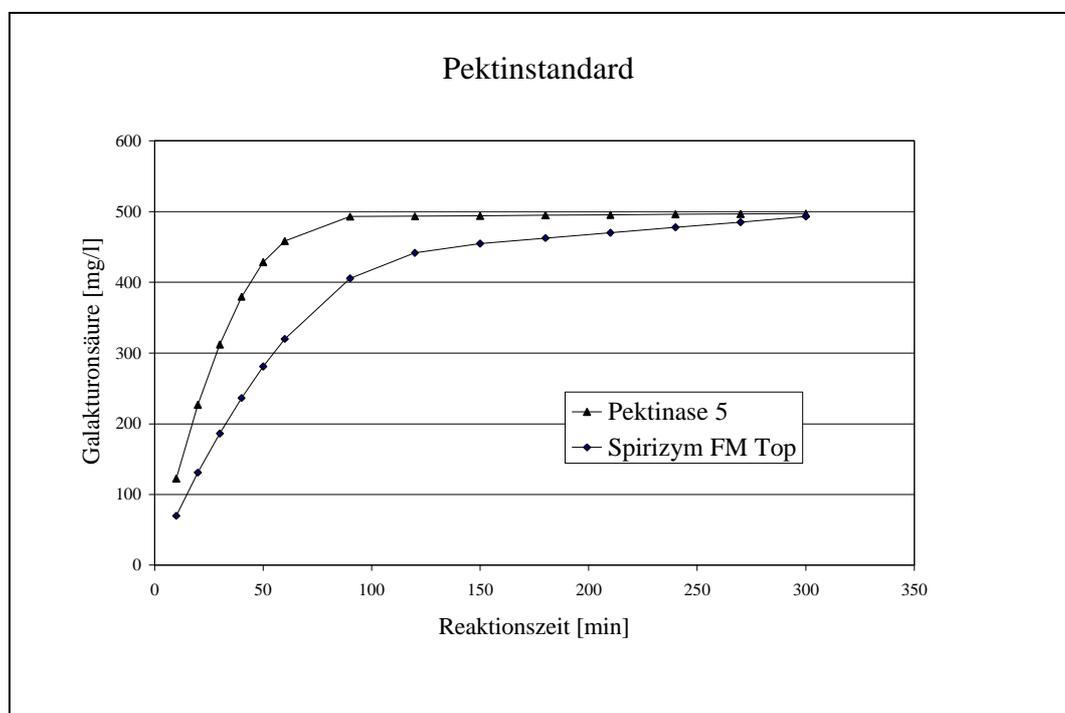


Abbildung 12-19 Erreichen der maximalen Produktbildung

Mit 100 ppm Enzym zum Pektinstandard.

In der Abbildung 12-20 ist die Produktbildung aus dem Pektinstandard heraus bei Enzymkonzentrationen von 50 bzw. 35 ppm Pektinase 5 sowie 25 ppm Pektinex zu sehen: Man erkennt einen nahezu linearen Anstieg innerhalb der ersten 100 Minuten. Mit einer Konzentration von 25 ppm Pektinex werden nach 150 Minuten 415 mg/l Galakturonsäure gebildet, und im weiteren Verlauf findet eine stetige Annäherung an das Maximum statt. Für Pektinase 5 ergibt sich bei 50 ppm Enzym-Zugabe, das Erreichen des Maximums nach 100

Minuten mit 495 mg/l Galakturonsäure, bei 35 ppm hingegen wird nach 150 Minuten mit 454 mg/l Galakturonsäure der Maximalwert gebildet.

Eine Menge von 300 mg/l Galakturonsäure wird von Pektinase 5 nach 60 Minuten erreicht, mit einer Konzentration von 50 ppm, bei Verwendung von 35 ppm Enzym werden dazu 87 Minuten benötigt, die Reaktionszeit ist somit um den Faktor 1,5 höher.

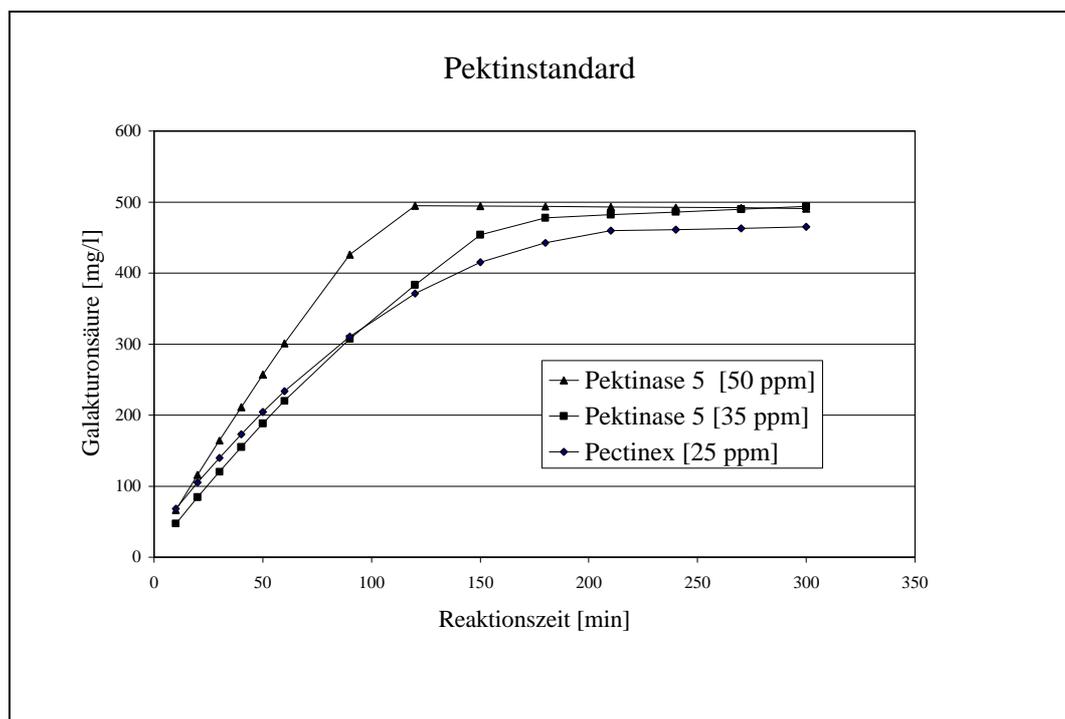


Abbildung 12-20 Erreichen der maximalen Produktbildung  
Mit 25, 35, 50 ppm Enzym zum Pektinstandard.

#### 12.4.5 ERREICHEN DER MAXIMALEN PRODUKTMENGE BEI EINWIRKUNG VON ENZYMEN AUF KFW

Im Vergleich zum Pektinstandard kommt es beim Kartoffelfruchtwasser mit seinen vielfältigen Inhaltsstoffen und der belebten Materie bestehend aus Hefen, Pilzen und Bakterien, sehr viel früher zu einer Inaktivierung von Enzymen. Die Enzyme müssen noch auf die Matrix KFW angewendet werden. Die Durchführung der Versuche verläuft analog wie unter 12.4 beschrieben.

Die Darstellung 12-21 beschreibt die Produktbildung in Abhängigkeit von der Zeit, bei Verwendung von KFW unter Zugabe von Pektinex, Pektinase 5 und Ultrazym in variierender Konzentration. Es werden folgende Maximalwerte erreicht:

419 mg/l Galakturonsäure durch 200 ppm Pektinase 5 sowie 397 und 332 mg/l Galakturonsäure von 100 bzw. 50 ppm Ultrazym. Pektinex hingegen erreicht mit 100 und 50 ppm 308 und 294 mg/l Galakturonsäure.

Der vom Pektinstandard her zu erwartende Maximalwert von knapp 500 mg/l Galakturonsäure wird nicht erreicht, die Ursachen dafür liegen in der Matrix selbst.

Die Bildung von 200 mg/l Galakturonsäure nimmt bei Verwendung von 200 ppm Pektinase 5 48 Minuten in Anspruch. Bei Ultrazym mit 100 ppm 63 Minuten bzw. 123 Minuten, bei 50 ppm. Pektinex bildet innerhalb von 117 Minuten (100 ppm) und 165 Minuten (50 ppm) 200 mg/l Galakturonsäure.

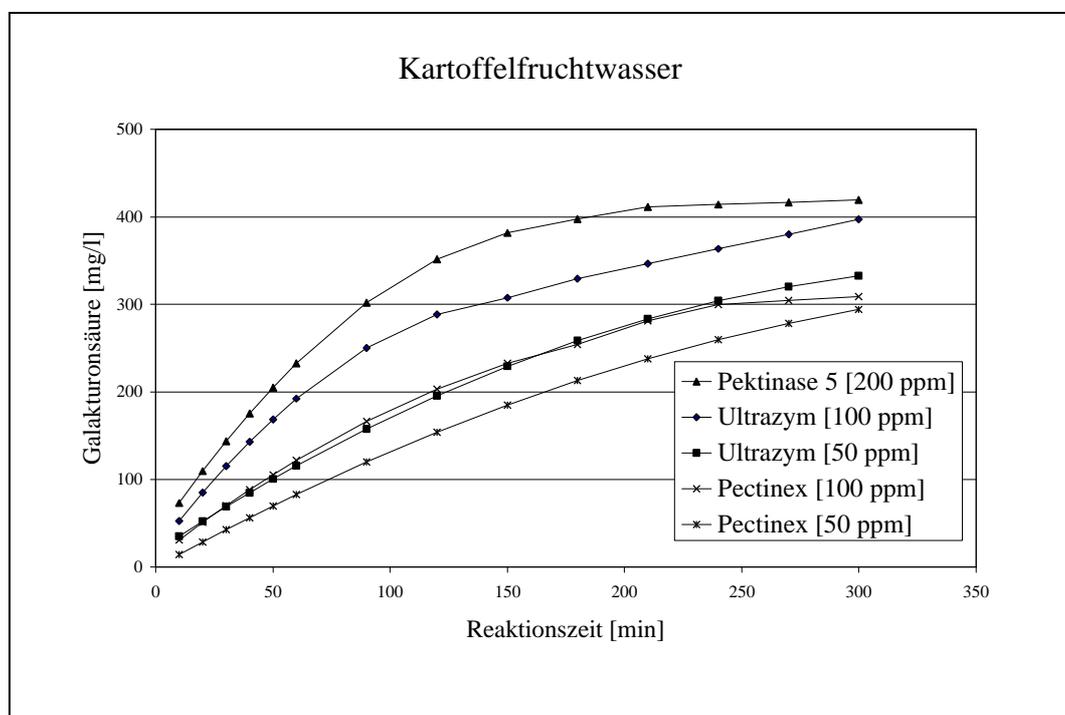


Abbildung 12-21 Erreichen der maximalen Produktbildung in KFW

Durch die analytische Kontrolle des Pektinabbaus über die Quantifizierung der Galakturonsäure, sowohl im Pektinstandard als auch im KFW, wird es möglich die Effektivität von Enzymen abzuschätzen. Die unter Kapitel 12.3 und 12.4 vorgestellten Methoden und die daraus erhaltenen Ergebnisse ermöglichen eine schnelles, einfaches und preisgünstiges Verfahren, mit Hilfe dessen das jeweils zweckmäßigste Enzymgemisch für den Produktionsbetrieb ermittelt werden kann.

Ebenfalls bestimmt werden kann die maximal zu erreichende Menge an Galakturonsäure, welche als Maß für die Hydrolyse von Pektinen herangezogen wird.

---

Mit diesen Kenntnissen lassen sich die Trennprozesse an Membrantrennanlagen optimieren, ohne Notwendigkeit aufwendiger Versuche im Technikumsmaßstab.

### 13 EINSATZ DER ULTRAFILTRATION

Die Ultrafiltration ist ein spezielles Verfahren der Filtration. Der Trennprozeß nach Molekülgröße wird mit sehr feinporigen Membranen durchgeführt.

Durch die Ultrafiltration wird eine Aufteilung der Inhaltsstoffe in Permeat und Konzentrat erreicht. Die Ultrafiltrationsmembranen halten Partikel von rund 0,005 Mikron (Molekulargewicht > 1000 Dalton) und größer zurück. Niedermolekulare Stoffe, wie Zucker und Salze, werden nicht zurückgehalten und passieren die Membran.

Aufgrund seiner Molekülgröße ist das Wasser in der Lage, die Poren in der Membran zu durchqueren, daher reichern sich an der Oberfläche der Membran die zurückgehaltenen Stoffe an. Diese höhermolekularen und kolloidalen Substanzen, wie z.B. Proteine, Pektine oder neutrale Polysaccharide, bilden durch Überschreitung des Löslichkeitsproduktes eine Sekundärschicht, die schließlich die Membran belegt. Die Permeabilität dieses Gels ist eine komplexe Funktion von Feststoffkonzentration, Größe, Gestalt und Aggregatzustand der Partikel oder Moleküle.

Ultrafiltrationsanlagen müssen regelmäßig chemisch thermisch gereinigt werden, um diese sich aufbauende Kolloidschicht auf der Oberfläche der Membran zu entfernen. In der Anlage zirkuliert dann eine 80 °C heiße Reinigungslösung in welcher sich die Verunreinigungen lösen.

Durch Einsatz von Enzymen soll die Kapazität einer Ultrafiltrationsanlage erhöht werden, indem von den Enzymen eben genau diese Sekundärmembran aufgelöst wird. Dabei ist es von Vorteil, wenn ein Enzym in möglichst geringer Konzentration möglichst viel Pektin abbaut. Es werden Pektinasen verwendet, da Pektine, wie schon in Kapitel 6.2.2 beschrieben, eine ausgeprägte Fähigkeit zur Bildung von Gelen besitzen.

Der Abbau von Pektinen zur Galakturonsäure, und somit eine Verminderung der Gelbildung und der Sekundärmembran, kann die Kapazität einer Filtrationsanlage verbessern, ohne daß Investitionen in mehr Membranoberfläche, dem kostspieligsten Teil der Anlage, notwendig sind.

Die Versuche zur Verbesserung der Kapazität von Membrantrenn-Anlagen wurden in der Emsland-Stärke an einer dort vorhandenen Ultrafiltrationseinheit durchgeführt. Dabei wurden

überwiegend technische pektolytische Enzympräparate aus der obst- und gemüse-verarbeitenden Industrie verwendet.

### 13.1 ANLAGENBESCHREIBUNG

Bei der verwendeten Ultrafiltrations-Einheit (Abb. 13-1) handelt es sich um Rohrmodule, die für eine zweistufige Konzentrierung ausgelegt sind. Die vier, sechs Meter langen Module pro Stufe beinhalten eine Gesamtmembranfläche von 15,2 m<sup>2</sup>. Die Modulausführung in Edelstahl erlaubt einen Betrieb bis zur maximal membranverträglichen Temperatur von 85°C. Zwei mit je einem 7,5 kW Elektromotor angetriebene Kreiselpumpen ermöglichen eine Membranüberströmung von bis zu 5 m/s. Der Druckverlust über die Module beträgt beim Betrieb mit Wasser 200 kPa. Durch Schließen der Ventile V3 und V4 ist ein einstufiger Betrieb möglich.

Der für die Ultrafiltration erforderliche Druck von 600 kPa wird durch die Speisepumpe P10 erzeugt. Sie wird durch einen 5,5 kW Drehstrommotor angetrieben und besitzt eine maximale Fördermenge von 20 m<sup>3</sup>/h. Sämtliche Pumpen sind mit Gleitringwellenabdichtungen versehen, die einen Betrieb ohne Sperrflüssigkeit möglich machen.

Die Einspeisung mit Medium geschieht über Tank 20 (Fassungsvermögen 1000 l). Zur Reinigung ist es möglich, Konzentrat und Permeat über T20 via Zirkulationsleitung (PZL) und (KZL) zu kreisen. Beim Öffnen der Ventile V2 und V6 wird die Anlage mit der maximalen Fördermenge von 20 m<sup>3</sup>/h ausgepreßt, um Medien- oder Reinigungsmittelrückstände möglichst vollständig zu entfernen. Zur Einstellung des pH-Wertes kann mit einer elektrischen Pumpe Säure oder Lauge dosiert werden.

Die Kontrolle der anlagerelevanten Daten erfolgt alle zwei Stunden. Die Volumenströme der Permeate beider Stufen (F1 und F2), des Zulaufs (F3), des Konzentrats (F4) und der Zirkulation in den Stufen (F5 und F6) werden durch induktive Strömungsmesser aufgenommen. Das sich daraus ergebende Flußverhältnis kann manuell mittels V1 und V5 nachreguliert werden. Der Einlaufdruck (P1 und P2) und der Auslaufdruck (P3) werden durch Manometer angezeigt. P3 schaltet die Anlage beim Über- oder Unterschreiten von Grenzwerten mittels Magnetspringkontakt aus. Zwei Bimetall-Zeiger-Thermometer (T1 und T2) erlauben eine Temperaturkontrolle.

#### 13.1.1 FLIESSBILD DER ULTRAFILTRATIONS-ANLAGE

Der Zulauf erfolgt über den Tank (T20), die Membranmodule ermöglichen eine Aufteilung

des Volumenstroms in Konzentrat und Permeat.

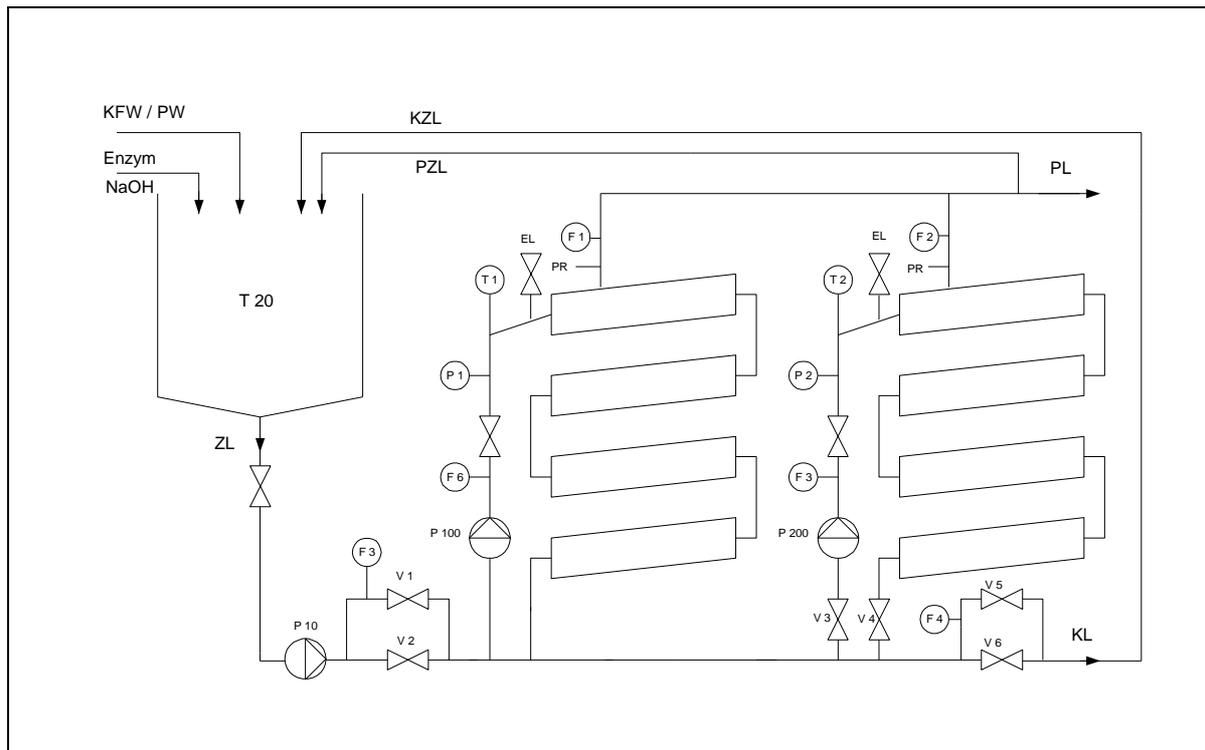


Abbildung 13-1 Fließbild der Ultrafiltrations-Anlage

#### Legende zur Abbildung

F 1 / F 2	Permeatmengenmessung	ZL	Zulaufleitung
F 3- F 6	Durchflußmessung	PL	Permeatleitung
P 10	Speisepumpe	KL	Konzentratleitung
P 100 / P 200	Zirkulationsmessung	PZL / KZL	Zirkulationsleitung
P 1 / P 2 / P 3	Druckmessung	PR	Probennahme
T 1 / T 2	Temperaturfühler	T 20	Tank
V 1 / V 6	Ventile	EL	Entlüftung

### Ultrafiltrations-Membranen

Das Membranmaterial besteht z. Z. aus Polysulfon für das der Hersteller folgende Angaben macht:

Membrantyp	WFB; Stufe 2	WFS; Stufe 1
Membranwerkstoff	HPS (hydrophil.Polysulfon)	PS (Polysulfon)
Mem.eigenschaftskode	'0125'	'8015'
Durchflußmenge (l/m <sup>2</sup> h)	> 100	30 - 50
Trenngrenze (kD)	50	100
pH-Bereich	2-11	2-11
Max. Temp. (°C)	85	85
Max. Druck (bar)	10	10

Tabelle 13-1 Membrankenndaten der Ultrafiltrationsanlage

Die Membran vom Typ WFB 0125 wurde vom Hersteller derart modifiziert, daß sie im Gegensatz zu den sonst hydrophoben Polysulfon-Membranen, hydrophile Eigenschaften annimmt. Von dieser Veränderung verspricht man sich verbesserte Leistungsdaten, aufgrund einer qualitativ anderen Membran-Deckschicht-Wechselwirkung. Die chemische Beständigkeit bezüglich der Reinigung ist identisch.

In Tabelle 13-2 sind die Betriebsdaten der Ultrafiltrations-Anlage mit Reinwasser und KFW dargelegt. Die Reinwasserwerte entsprechen den Betriebsdaten nach erfolgter Reinigung mit Wasser, sie dokumentieren den Erfolg der Reinigung und den Status der Membranen.

	Reinw.	KFW
Druck Zulauf [bar]	4	3,9
Zulauf Menge [l/h]	2190	354
Druck Umlauf St. 1 [bar]	6	6,1
Druck Umlauf St. 2 [bar]	6	6,0
Permeat 1 Menge [l/h]	720	56,9
Permeat 1 Menge [l/m <sup>2</sup> h]	94,7	7,5
Permeat 2 Menge [l/h]	1050	41,9
Permeat 2 Menge [l/m <sup>2</sup> h]	138,2	5,5
Konzentrat Menge [l/h]	234	244

Tabelle 13-2 Betriebsdaten der Ultrafiltrationsanlage mit Reinwasser und KFW

## 13.2 BETRIEB DER ULTRAFILTRATIONS-ANLAGE MIT KARTOFFELFRUCHTWASSER

Der Betrieb der Ultrafiltrationsanlage unterteilt sich in zwei Phasen:

**Produktion:** Die Einspeisung mit KFW geschieht über den Vorratstank (T20), eine Auftrennung des KFW in Permeat und Konzentrat erfolgt über die Membran durch Anreicherung der Partikel im Konzentrat. Eine kontinuierliche Einspeisung von KFW führt so zu einer stetigen Bildung von Konzentrat (Produkt) und Permeat.

Diese Phase dauert ca. 20-24 Stunden. Neben den Anlageparametern Druck, Temperatur, Zu- und Ablaufmengen, werden in dieser Zeit die Qualitäten von KFW, Konzentrat und Permeat alle zwei Stunden dokumentiert. Dazu gehören die Messung der pH-Werte, des Brix<sup>3</sup> und der Leitfähigkeit von Zulauf, Permeat und Konzentrat. In größeren Abständen werden die Proben analytisch betreut, dazu gehören Summenparameter wie: Gesamtstickstoff (Kjeldahl), CSB, Asche, Trockensubstanzgehalt u. ä.

**Reinigung:** Im Anschluß an die Produktionsphase wird die Anlage mit Wasser gespült und anschließend ca. 20 h mit einem Reinigungsmittel (Ultrasil 11, bei pH 12, Fa. Henkel) zirkuliert. Während dieser Zeit erwärmen sich die Volumenströme auf ca. 70°C. Diese Temperaturerhöhung beinhaltet ebenfalls einen Reinigungseffekt. Der nach der Reinigung gemessene Fluß mit Wasser, der sog. Reinwasserfluß, wird auf 25°C und 100 kPa normiert.

### 13.2.1 VERSUCHSDURCHFÜHRUNG MIT KFW IM KONTINUIERLICHEN BETRIEB

Bei dieser Form der Aufarbeitung gelangt das KFW, das zu trennende Gemisch, in die Anlage, der Volumenstrom in Permeat und Konzentrat getrennt wird. Die Konzentratmenge ist konstant, demnach wird die Zulaufmenge durch das abfließende Permeatvolumen bestimmt. Je durchlässiger die Membran ist, desto mehr Permeat entsteht, das bedeutet auch, daß um so mehr Zulauf verarbeitet werden kann, was einer Erhöhung der Kapazität entspricht.

Die Volumenströme sollen zunächst im Betrieb mit KFW, dann mit enzymatisch behandeltem KFW gemessen werden. Anhand der Volumenströme wird die Veränderung durch enzymatische Aktivität dokumentiert. Das bedeutet, daß die Ultrafiltrationsanlage anfangs kontinuierlich mit KFW gefahren wurde. Dazu gelangt über Tank 20 stetig frisches KFW als

---

<sup>3</sup> Eine in der Zuckertechnologie gebräuchliche Methode um mit einem Refraktometer den Trockensubstanz-Gehalt einer Lösung zu bestimmen.

---

Zulauf in die Anlage. Mit einer Mikroliterpumpe wurde in weiteren Versuchen das jeweilige Enzym (in Konzentrationen von 50-100 ppm) kontinuierlich in Tank 20 zugegeben.

Die Anlage läuft 20 bis 24 Stunden auf Produktion und ebenso lange auf Reinigung. Die Temperatur wird mit Hilfe einer Wasserkühlung bei 38°C gehalten, um ein Ausflocken der Proteine zu verhindern.

Das Diagramm 13-2 beschreibt den typischen Verlauf der Volumenströme der Ultrafiltrations-Anlage bei kontinuierlichem Betrieb, unter Verwendung von KFW:

Die Verwendung von einwandfreiem, frischem KFW, das einen pH-Wert zwischen 5,8 und 6,0 besitzt und über den charakteristischen Kartoffelgeruch verfügt, ist notwendig um eine Reproduzierbarkeit der nachfolgenden Ergebnisse zu gewährleisten. Die Kurvenverläufe der Volumenströme sind typisch, es kommt zunächst zu einem exponentiellen Abfall des Permeatvolumens in Abhängigkeit von der Zeit, und nähert sich dann nach 20 h asymptotisch dem Wert von 40 l/h Permeat.

Die zu Beginn bei Null Betriebsstunden gemessenen Reinwasserwerte werden aus Gründen der Skalierung nicht in das Diagramm aufgenommen und betragen für das Konzentrat 240 l/h, für das Permeat 730 l/h und den Zulauf 1080 l/h. Unter Berücksichtigung dieser Zahlen verdeutlicht sich die typische exponentielle Abnahme der Permeatleistung zu Beginn einer Filtration.

Im weiteren erkennt man einen konstanten Konzentratablauf (ca. 240 l/h), dieser wird durch eine Lochscheibe erzeugt, und bestimmt dadurch, über die abgehende Permeatmenge, den Zulauf. Der Permeatstrom verringert sich von 220 l/h (nach 2 Betriebsstunden) auf 40 l/h nach 21,5 Stunden, für den Zulauf bedeutet das ein Absinken von 500 auf 290 l/h.

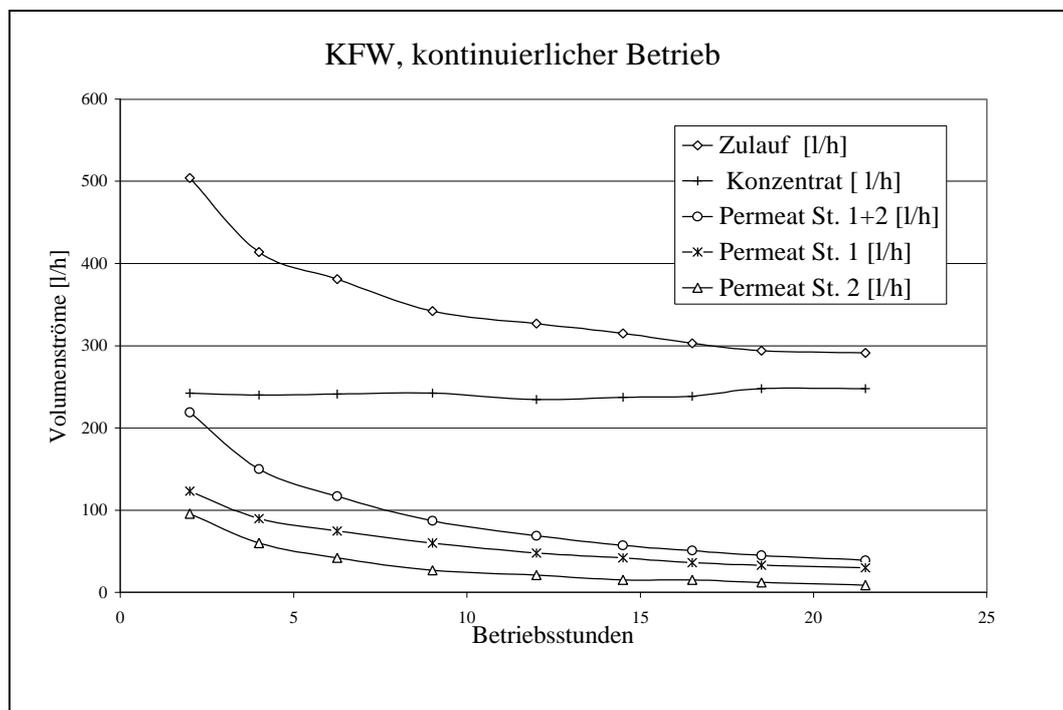


Abbildung 13-2 Volumenströme, kontinuierlicher Betrieb mit KFW

Die Abbildung 13-3 legt den normalen Verlauf der Meßparameter pH-Wert, Brix und Leitfähigkeit, bei kontinuierlichem Betrieb mit KFW dar. Sie beschreiben die Qualität der Stoffströme, der pH-Wert ist ein wesentliches Kriterium für die KFW-Qualität. Mikrobielle Aktivitäten führen zu niedrigeren Werten. Der Brix beschreibt den Gehalt an Feststoffen und die Leitfähigkeit schildert die Größenordnung der vorliegenden Ionenkonzentration.

Anhand des pH-Wertes sind die erkennbaren Schwankungen der Werte besonders gut zu sehen, sie haben ihre Ursache in normalen stets auftretenden Änderungen im Produktions-Prozeß.

Beim kontinuierlichen Betrieb zeigt der Einsatz von Enzymen keinerlei Auswirkungen auf pH-Wert, Brix und Leitfähigkeit, darum wird hier stellvertretend für alle kontinuierlichen Versuche mit KFW ein typischer Verlauf dargestellt. Für den Zulauf, das Konzentrat und das Permeat betragen die Werte durchschnittlich beim pH-Wert: 5,7; 5,0; und 5,7. Für den Brix 6,2; 6,3 und 2,9 [%], und bei der Leitfähigkeit 13,19; 13,34 und 11,84 [mS/cm].

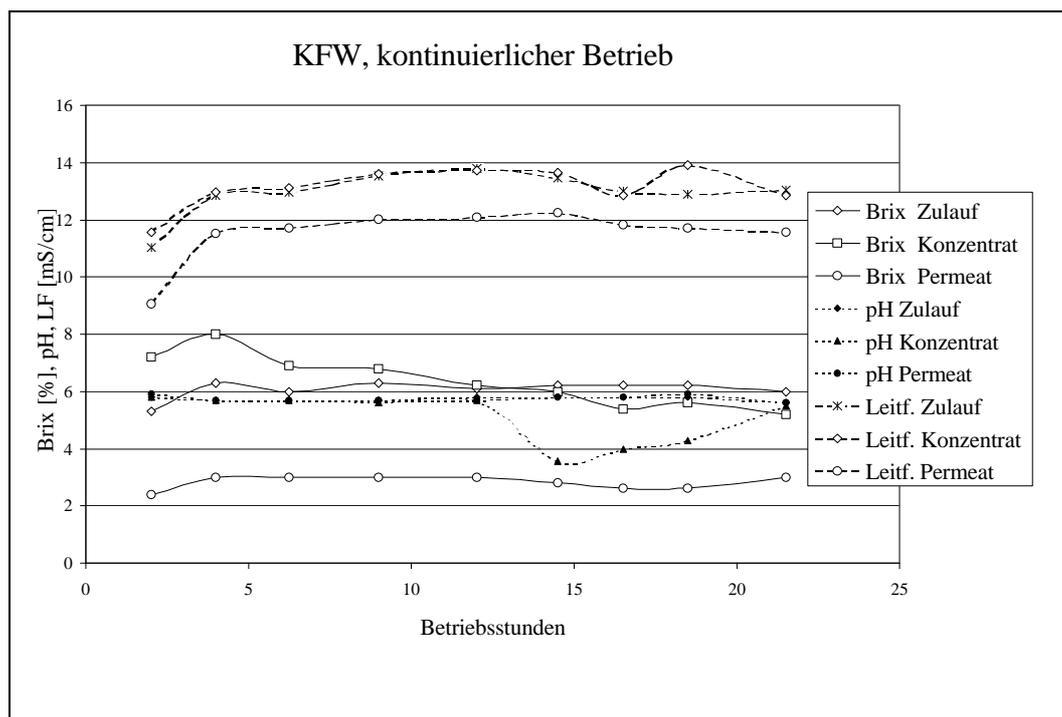


Abbildung 13-3 Brix, pH-Wert, LF mit KFW im kontinuierlichen Betrieb

Um die erhaltenen Volumenströme aus den Versuchen mit behandeltem KFW beurteilen zu können wird der Konzentrierungsfaktor  $KF$  eingeführt.

Dieser beschreibt das Verhältnis von Permeat- zur Konzentratmenge, das heißt, je größer der Konzentrierungsfaktor ist, desto höher ist die erhaltene Permeatmenge im Produktionsprozeß.

In der Abbildung 13-4 sind Beispiele für die verschiedenen Konzentrierungsfaktoren aus den enzymatischen Versuchen gegen die Betriebszeit aufgetragen:

Es ist zu sehen, daß es bei Verwendung von Fructozym BE zu einer Erhöhung der Permeatmenge kommt. Nach einer Betriebsdauer von 12 Stunden liegt hier der KF mit 0,44 um 152 % über dem von 0,29 der mit KFW erreicht wird.

Bei Einsatz von Pektinase 6 werden, sogar nach einer Betriebszeit von 22 Stunden, mit einem KF von 0,39 gegenüber dem von 0,16 beim KFW um 244% bessere Resultate erzielt.

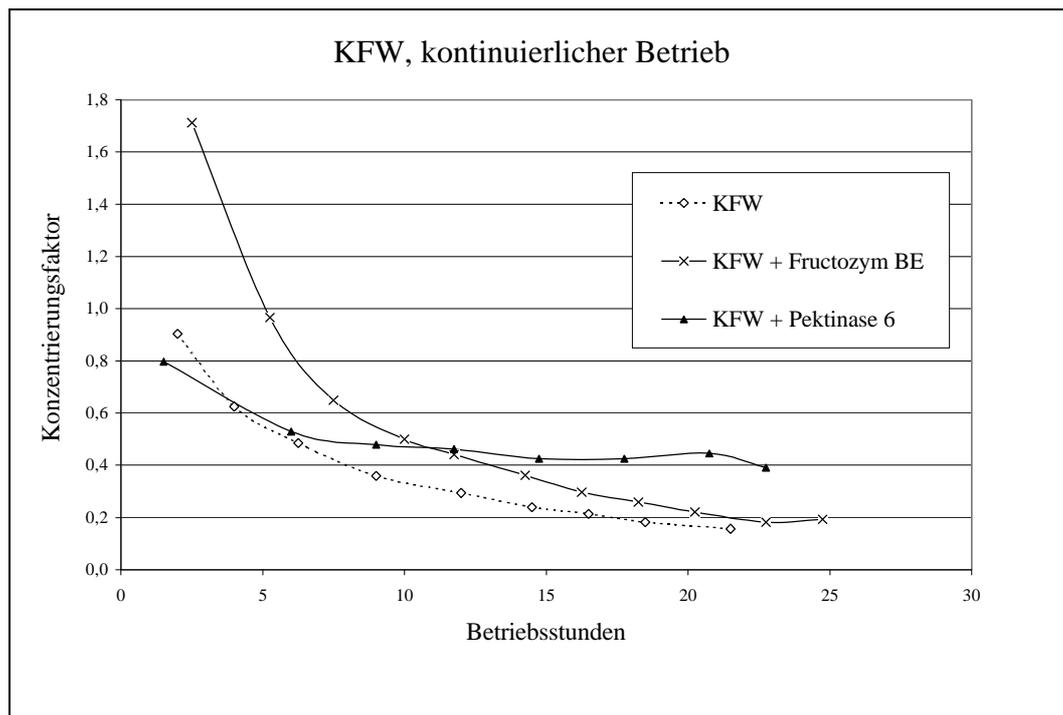


Abbildung 13-4 Konzentrierungsfaktor, KFW im kontinuierlichen Betrieb enzymatisch behandelt

Die Versuche, die mit Kartoffelfruchtwasser im kontinuierlichen Verfahren unter Verwendung von Enzymen durchgeführt wurden, liefern vielversprechende Ergebnisse.

Da bei dieser Form der kontinuierlichen Versuchsdurchführung das originale frische KFW der Emsland-Stärke zum Einsatz kommt sind bezüglich der Parameter, pH-Wert, Brix, Temperatur, Inhaltsstoffe und mikrobieller Belastung keine weiteren Matrixeffekte zu erwarten.

Die Nachteile bei dieser Methode zur Ermittlung des optimalen Enzyms, zur Verminderung der Sekundärmembran, liegt im Apparativen. So werden nicht nur viel Zeit (2 Tage pro Enzym) und Arbeitskraft benötigt, sondern auch eine enorme Menge an Rohstoffen, z.B. durchschnittlich 7788 l frisches KFW pro Versuch, überdies Reinigungsmittel, Wasser und Strom. Diese Argumente lassen eine Methode im Labormaßstab sinnvoll erscheinen. Aus denselben Gründen wurden weitere Versuche an der Ultrafiltrationseinheit mit Prozesswasser

---

im Batch-Verfahren durchgeführt, die Durchführung und die Ergebnisse sind dem Anhang unter 16.5 zu entnehmen.

## 14 DISKUSSION DER ERGEBNISSE

Es war Ziel der vorliegenden Arbeit, ein Verfahren zu entwickeln, mit dessen Hilfe die tatsächliche pektinolytische Aktivität kommerzieller Enzymgemische anhand von Vorversuchen eingeschätzt werden konnte. Ein derartiges Verfahren wurde – einschließlich der notwendigen analytischen Verfahren – entwickelt.

Im Folgenden werden die Ergebnisse der Anwendung dieses Verfahrens am Beispiel der Anwendung einer Reihe kommerziell verfügbarer Enzymgemische auf einen Pektinstandard und auf Kartoffelfruchtwasser dargestellt und diskutiert.

Die Ergebnisse aus dem enzymatischen Pektinabbau, am Pektinsstandard und an KFW werden vergleichend beurteilt. Die nachfolgenden drei Abbildungen zeigen die verschiedenen spezifischen Aktivitäten der eingesetzten Enzyme, indem die gebildete Menge an Galakturonsäure nach einer Reaktionsdauer von 90 Minuten dargestellt wird.

Die aus dem Modellmedium Pektinstandard (helle Säulen) und die aus KFW (dunkle Säulen), erzeugte Produktmenge wird aufgetragen. Es ist zu beachten, daß verschiedene Enzymkonzentrationen verwendet wurden. Beim Einsatz auf KFW werden höhere Konzentrationen an Enzym benötigt, bzw. die gebildete Menge an Galakturonsäure ist geringer, da im KFW Inhibitoren vorhanden sind. Dazu zählen für Polygalakturonase, z.B.  $Mn^{2+}$ ,  $Hg^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$  usw. /196/ /197/ /198/.

Anhand dieser Darstellung soll verdeutlicht werden, in wie weit Aussagen über die pektinolytischen Fähigkeiten ausgewählter Enzyme vom Pektinstandard direkt auf das KFW übertragbar sind.

Um das Verhältnis der Produktbildung in den beiden Matrices vergleichen zu können, wird die bei Einwirken von 100 ppm des jeweiligen Enzyms gebildete Menge an Galakturonsäure aus dem Pektinstandard als 100% gesetzt. Die in der Realmatrix KFW tatsächlich erhaltene Menge an Galakturonsäure liegt immer niedriger, da im KFW inhibitorische Einflüsse wirken. Die Darstellung 14-1 beschreibt die Produktbildung bei Anwendung der Enzyme Rohapect, Fructozym M, Fructozym P und Fructozym UF nach 90 min Umsatzzeit für die beiden Matrices Pektin und KFW für verschiedene Enzymkonzentrationen.

Setzt man die Menge an Galakturonsäure die aus dem Pektinstandard heraus gebildet wird gleich 100%, so folgt für die Enzyme Rohapect und Fructozym M eine Bildung an Galakturonsäure in KFW von 21,4% und 20,8%, d. h. daß im KFW die Wirkung der Enzyme nur noch ~ 20%, verglichen mit der im Pektinstandard, beträgt. Es ist gut zu erkennen, daß

mit 64,6 mg/l und 89,9 mg/l Galakturonsäure durch Rohapect und Fructozym M im KFW nur wenig Produkt gebildet wurde.

Für Fructozym P und Fructozym UF beträgt die spezifische Enzymaktivität im KFW 20,2% und 38,6%, jedoch ist hier die insgesamt gebildete Produktmenge mit 162,1 und 106,9 mg/l Galakturonsäure höher, weil auch in der Matrix Pektinstandard schon höhere Ausbeuten an Galakturonsäure erzielt wurden. Bemerkenswert ist, daß Fructozym UF im Pektinstandard (bei gleicher Enzymkonzentration) pektinolytisch weniger aktiv ist als Fructozym P, im KFW aber höhere Ausbeuten an Galakturonsäure erzielt als Fructozym P. Fructozym UF wird also wegen der Enzymspezifität der Inhibition durch die Inhaltsstoffe im KFW weniger gehemmt als Fructozym P.

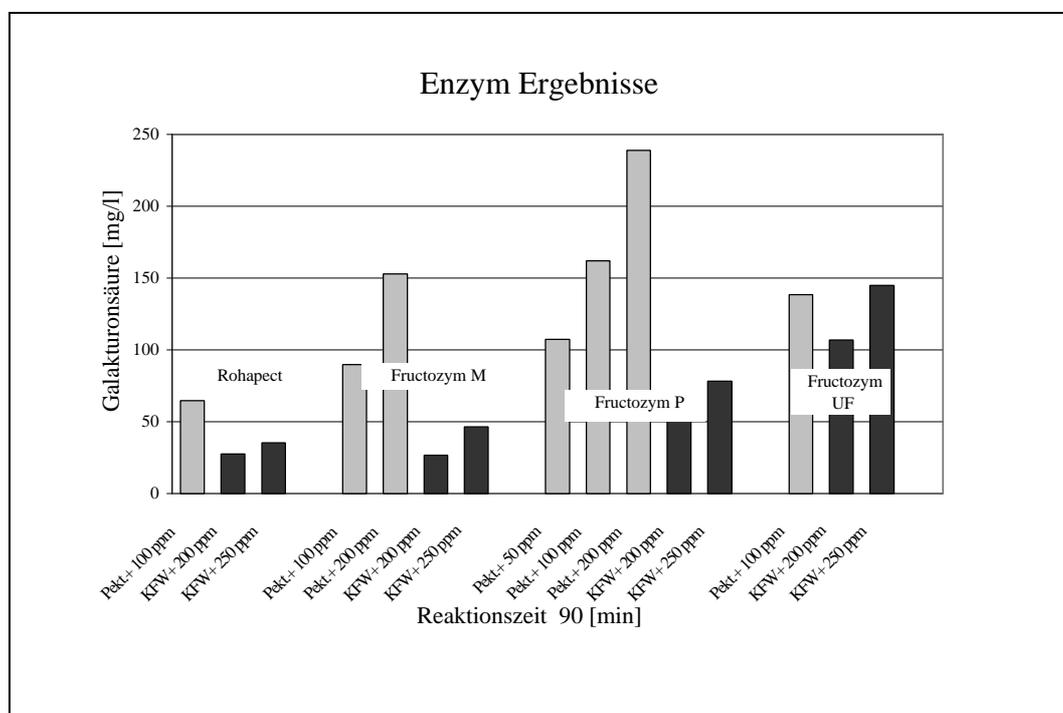


Abbildung 14-1 Produktbildung (Galakturonsäure) aus dem Pektinstandard bzw. aus KFW für die Enzyme Rohapect, Fructozym M, Fructozym P und Fructozym UF

Die Grafik 14-2 zeigt die Ergebnisse für Pektinase 1, Pektinase 2, Pektinase 6, und Spirizym FM Top. Wie zuvor wird die nach 90 min Umsatzzeit aus dem Pektinstandard und aus KFW gebildete Produktmenge (Galakturonsäure) dargestellt.

Von den Enzymen Pektinase 1 und 2 werden bei Anwendung von 100 ppm des Enzyms 174 bzw. 72 mg/l Galakturonsäure gebildet. Betrachtet man dazu die aus KFW entstehende Produktmenge, so ergibt sich in der Realmatrix eine Produktbildung von 55% für Pektinase 1

und 24% bei Pektinase 2. Damit wird belegt, daß Pektinase 1 nur wenig Hemmung durch Kartoffelfruchtwasser-Inhaltsstoffe erfährt.

Für Pektinase 6 und Spirizym FM Top liegen diese Ausbeuten bei 26% und 17%, aber die im Pektinstandard erreichten Konzentrationen sind mit 148 und 424 mg/l Galakturonsäure sehr hoch, das heißt daß bei Ausbeuten von ~20% auch im KFW mehr Galakturonsäure gebildet wird als von den Enzymen, die schon im Pektinstandard weniger Hydrolyseprodukt erzeugen.

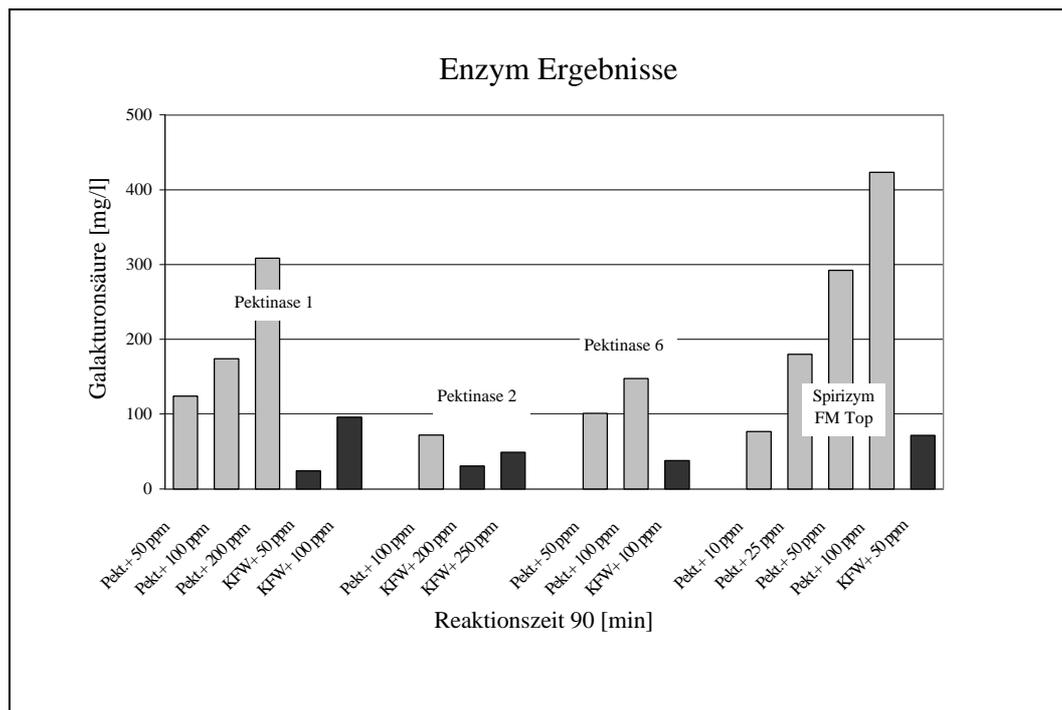


Abbildung 14-2 Produktbildung (Galakturonsäure) aus dem Pektinstandard bzw. aus KFW für die Enzyme Pektinase 1, 2, 6, und Spirizym FM Top.

Die Ergebnisse der Enzyme Pektinase 5, Ultrazym und Pektinex sind in Diagramm 14-3 dargestellt. Bezogen auf den Pektinstandard werden mit einer Konzentration von 50 ppm mit diesen Enzymen Ausbeuten von 40,1%, 25,2% und 33,7% im KFW erreicht.

Signifikant ist das Erreichen der maximalen Produktbildung durch Pektinase 5 (100 ppm), Ultrazym (200 ppm) und Pektinex (50, 200 ppm), bei Einwirken auf den Pektinstandard. Werte über 500 mg/l gebildete Galakturonsäure hinaus konnten nicht beobachtet werden.

Diese drei Enzyme zeigten hinsichtlich ihrer pektinolytischen Aktivität auch auf KFW die größten Erfolge. Die besten Ergebnisse wären mit einer Enzymzugabe von 100 bis 200 ppm zum KFW nach den Reiben zu erwarten. Hohe Enzymkonzentrationen sind aber aus Gründen der Wirtschaftlichkeit nicht zu realisieren (zu hohe Betriebskosten aufgrund hoher Preise für die Enzyme).

Eine ausreichende hydrolytische Aktivität ist bei geringerer Enzymkonzentration durchaus gegeben, jedoch spielt auch die damit zwangsläufig länger notwendige Reaktionszeit (für gleiche Ausbeuten) im Produktionsprozeß eine wichtige Rolle.

Ist die Konzentration zu niedrig, so sind Umbaumaßnahmen zu Kreislaufführung des KFW notwendig, um einen ausreichend langen Umsatzzeitraum zu gewährleisten.

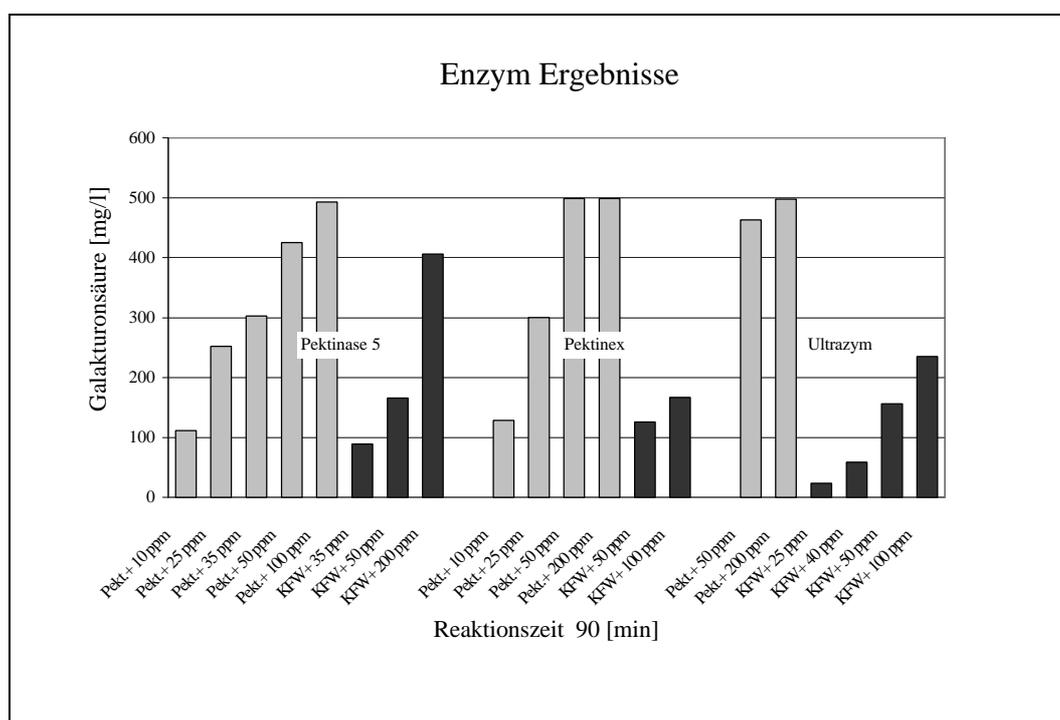


Abbildung 14-3 Produktbildung (Galakturonsäure) aus dem Pektinstandard bzw. aus KFW für die Enzyme Pektinase 5, Pektinex und Ultrazym.

An dieser Stelle ist darauf hinzuweisen, daß über eine Erfassung der gebildeten Galakturonsäure die Minderung der Sekundärmembran-Bildung nur unvollständig beschrieben wird: Die oligo- und polymeren Bruchstücke des Pektinabbaus werden durch das analytische Verfahren nicht erfaßt, sondern nur die Galakturonsäure als Endprodukt der Hydrolyse. Da aber auch ein partieller Abbau der Galakturon-säureketten die Fähigkeit der Pektine zur Gelbildung verringert, wird die Ausbildung der Sekundärmembran in höherem Maße behindert, als sich dies aufgrund der analytisch bestimmbaren Galakturonsäure-Ausbeute darstellen lässt.

---

#### 14.1 ERFAHRUNGEN MIT DEM EINSATZ KOMMERZIELL VERFÜGBARER ENZYMEN AUF KARTOFFELFRUCHTWASSER IN HALBTECHNISCHEN VERSUCHEN MIT DER ULTRAFILTRATIONSANLAGE.

Die Versuche, die in der Ultrafiltrations-Anlage mit Kartoffelfruchtwasser im kontinuierlichen Verfahren (vergl.13.2.1), unter Verwendung von Enzymen durchgeführt wurden, liefern vielversprechende Ergebnisse. Die Permeatmenge erhöht sich bei Verwendung von Fructozym BE. Nach einer Betriebsdauer von 12 Stunden liegt der Konzentrierungsfaktor um 152% über der Permeatmenge, die ohne Enzymzugabe mit Kartoffelfruchtwasser erreicht wird. Bei Einsatz von Pektinase 6 werden sogar nach einer Betriebszeit von 22 Stunden um 244% bessere Resultate erzielt. Eine erfolgreiche Verwendung von Pektinasen zur Verminderung der Sekundärmembran und einer damit verbundenen Optimierung von Membrantrennanlagen ist somit auch im halbtechnischen Versuch nachgewiesen.

## 15 ZUSAMMENFASSUNG

Die Frage nach einem produktionsintegriertem Umweltschutz innerhalb der industriellen Produktion von Kartoffelstärke, bildet den Rahmen für diese Arbeit. Um der innerbetrieblichen Schließung der Wasserkreisläufe nahezukommen und so den Bedarf an Wasser und Energie signifikant zu verringern, wurde die Möglichkeit einer Verbesserung der Vorkonzentrierung von Kartoffelfruchtwasser über Membranverfahren durch den Einsatz von Enzymen untersucht.

Die Verwendung pektinolytisch wirkender Enzyme soll die Ausbildung einer Sekundärmembran beim Einsatz von membrantechnischen Anlagen, wie Mikrofiltration, Ultrafiltration und Umkehrosmose, möglichst unterbinden und die bestehenden Filtrationsanlagen dadurch in ihrer Leistungsfähigkeit nachdrücklich verbessern.

Die in Kapitel 12 beschriebene Methode wurde als Möglichkeit entwickelt, die pektinolytische Wirkung von Enzymen auf KFW beurteilen zu können, ohne Versuche im technischen Maßstab durchzuführen.

Die Grundlage des Verfahrens bildet die analytische Kontrolle über die Bestimmung der Galakturonsäure, dem Produkt des enzymatischen Abbaus der Pektine. Es wird über Laborversuche ermittelt durch welche Enzyme die größere Menge an freier Galakturonsäure gebildet wird. Aus der gebildeten Menge an Galakturonsäure lässt sich auf den Grad des Abbaus der Pektine schließen. Die Abhängigkeit der Reaktion von Enzymkonzentration und Zeit ist dabei zu beachten.

Das Hauptproblem bei der analytischen Bestimmung der Galakturonsäure bildet das KFW als Matrix. Es handelt sich beim KFW um ein komplexes Substanzgemisch aller Bestandteile der Kartoffel, wie Proteine, Pektine, Lipide, Kohlenhydrate und Mineralstoffe. Außerdem sind Biokatalysatoren hoher Aktivität, vielfältige Bakterien und Hefen enthalten. Folglich ist das KFW eine in sich höchst instabile Komposition, wie in Kapitel 4.1.2 näher erläutert wird. Dadurch wird eine Einzelstoffanalytik erheblich erschwert. Ebenso können bestehende Methoden (Blumenkranz) zur Bestimmung von Uronsäuren nicht zur Anwendung kommen.

Um eine möglichst große Analogie zu den in der Emsland-Stärke vorherrschenden Prozessparametern bezüglich des KFW zu erhalten, wurde zunächst eine Modelllösung entwickelt. Hierbei handelt es sich um eine Pektinstandard-Lösung, welche bei den

vorgenommenen Versuchen zur Effektivitätsermittlung von Enzympräparaten verwendet wird.

Beim Kartoffelbruchwasser mit seinen vielfältigen Inhaltsstoffen und der belebten Materie bestehend aus Hefen, Pilzen und Bakterien, kommt es sehr viel eher zu einer Inaktivierung von Enzymen, als im Pektinstandard. Deswegen wurden die verschiedenen Enzyme auch in der Anwendung auf die Realmatrix KFW vermessen. Dies gelingt nur mit der unter 12.4.2 vorgestellten Methode. Nur die Kombination aus Probenaufarbeitung und Nachweismethode erlaubt eine Bestimmung der Galakturonsäure in KFW.

Die Enzyme Pektinase 5, Ultrazym und Pektinex zeigten hinsichtlich ihrer pektinolytischen Aktivität auf KFW die höchsten Ausbeuten. Die besten Ergebnisse wären mit einer Enzymzugabe von 100 bis 200 ppm, zum KFW zu erwarten.

Mit dieser Methode wird es möglich, schnelle kampagnebegleitende Tests durchzuführen. Die Pektine der Kartoffel weisen aufgrund unterschiedlicher Wachstumsbedingungen von Jahr zu Jahr einen abweichenden Aufbau auf, da sie aus komplexen Strukturen des pflanzlichen Gewebes der Kartoffel bestehen. Auch äußere Faktoren, wie der Beginn der Frostperiode, wirken sich auf das Verhalten der Pektine im KFW aus. Deswegen muß das optimal abbauende Enzymgemisch immer wieder erneut ermittelt werden.

Die zum Einsatz kommenden Enzyme entstammen alle dem technischen Bereich. Es ist nicht bekannt welche Enzyme in diesen „hochwirksamen Enzymgemischen“ im einzelnen enthalten sind. Die daraus folgende Unkenntnis über das vorliegende pektinolytische Spektrum macht es notwendig, dass die auf dem Markt verfügbaren Enzympräparate auf KFW angewendet werden, um so das für diese Problematik effektivste Enzym zu ermitteln.

Folglich ist eine analytische Kontrolle der pektinolytischen Effektivität der kommerziell verfügbaren, enzymatisch wirkenden Produkte über die quantitative Bestimmung der Galakturonsäure ein problemlösender Schritt.

## 16 ANHANG

### 16.1 FESTPHASENEXTRAKTION

In den letzten Jahren hat sich die Festphasenextraktion (engl.: Solid Phase Extraktion), kurz SPE genannt, als alternative Probenvorbereitungsmethode für die „Targetanalytik“ etabliert /199/ /200/ /201/. Voraussetzung für diese Art der Probenvorbereitung ist, daß ein Polaritätsunterschied zwischen den zu trennenden Probesteilen besteht und die Proben „uniform“ sind. Die SPE ist heute Standard und ihre Eignung ist in einem breiten Anwendungsgebiet, wie z.B. der pharmazeutischen, biochemischen, der Lebensmittelanalytik, in der organischen Chemie und in der Umweltanalytik anerkannt /202/ /203/.

#### **Vorteile der Festphasenextraktion**

Die SPE ist eine bequeme, preiswerte und zeitsparende Alternative zur Flüssig Flüssig Extraktion, der klassischen Methode zur Reinigung und Konzentration von Proben. Zusätzlich reduziert die SPE Methode signifikant die Mengen an chlorierten und nicht chlorierten organischen Lösungsmitteln, die bei einer herkömmlichen Aufarbeitungsmethode gebraucht werden /204/. Es besteht ein breites Angebot an Kieselgel und anderen Sorbentien als Packungsmaterialien für die SPE, um den Anforderungen von möglichst jedem Matrix/Analyt System zu entsprechen.

#### **Überblick über die angebotenen Phasen und ihre Wirkungsweise**

Von den meisten Festphasenherstellern werden drei Gruppen von Sorbentien angeboten, unterteilt nach ihren primären Wechselwirkungen mit den aus der Probe zurückzuhaltenden Molekülen. Man unterscheidet unpolare, polare Wechselwirkungen und den Ionenaustausch. Zusätzlich werden von einigen Firmen noch sogenannte Kombinationssäulen angeboten.

#### Unpolare Phasen

Das klassische Beispiel einer unpolaren Phase ist das Octadecyl-modifizierte Kieselgel (C<sub>18</sub>) oder Octyl-derivate (C<sub>8</sub>), welche jedoch noch freie Silanolgruppen enthält, die polar sind. Bei diesen Phasen sind noch zusätzlich sekundäre Wechselwirkungen durch restliche Silanolgruppen vorhanden. Bei manchen Sorbentien sind diese freien Silanolgruppen zusätzlich mit kurzen Alkylketten abgedeckt, so daß diese „endcapped“ Phasen die

„stärksten“ unpolaren Wechselwirkungen zeigen. Die unpolaren Wechselwirkungen beruhen hauptsächlich auf der Art Van-der-Waals-Wechselwirkungen, die zwischen den CH-Bindungen des Sorbens und den Probemolekülen auftreten.

Da diese Modifizierungen die eigentliche Polarität des Kieselgels umkehren, bezeichnet man sie auch als Umkehrphasen (Reversed Phase, RP). RP-Phasen zeigen besonders starke Wechselwirkungen zu unpolaren Gruppen (Alkylketten, aromatische Ringsysteme) in polaren Lösungsmitteln, vor allem in Wasser.

### Polare Phasen

Bei polaren Phasen beruht die Retention auf Wasserstoffbrückenbindungen, Dipol-Dipol Wechselwirkungen und  $\pi$ - $\pi$ -Bindungswechselwirkungen zwischen den polaren Gruppen des Sorbens und den funktionellen Gruppen der Probenmoleküle, wobei es sich vor allem um Sauerstoff- und Stickstoffgruppen handelt.

Diese Phasen zeigen auch geringe unpolare Wechselwirkungen, weil sie über einen unpolaren Spacer an die Kieselgelmatrix gebunden werden. Ob diese sekundäre Wechselwirkung zum Tragen kommt, entscheidet die Umgebung.

### Ionenaustausch

Geladene Probenmoleküle können je nach vorhandener oder durch pH-Wert beeinflusster Ladung über einen Kationen- oder Anionenaustauscher aus der Probe isoliert werden. Beispiele dafür sind Benzolsulfonsäurederivate (Kationenaustauscher), quaternäre Amine (Anionenaustauscher) und Aminopropyllderivate (schwache Kationenaustauscher) /205/.

### Kombinationsphasen

Diese speziell für die Arzneianalytik entwickelte Phasen besitzen zwei oder mehr unterschiedliche primäre Retentionsmechanismen.

Eine typische SPE-Extraktionsmethode umfaßt folgende sechs Schritte:

- Probenvorbehandlung
- Solvatisieren der Extraktionssäule (sog. Konditionieren)
- Vorequilibrieren der Extraktionssäule
- Probenaufgabe

- Waschen der Extraktionssäule (Elution von Interferenzen)
- Elution des Analyten von der Extraktionssäule

### **Grundprinzip der Festphasenextraktion**

Das Prinzip der Retention des Analyten innerhalb der Festphasenadsorption besteht darin, einen Analyten aus einer möglicherweise mit Matrixstoffen belasteten, flüssigen Probe zu isolieren und geeignet anzureichern. Dabei soll der Analyt an der Festphase adsorbiert und die Störkomponenten, ohne mit der stationären Phase in Wechselwirkung zu treten, durch die Säule gespült werden.

Grundlagen dieser Verhältnisse sind dabei verschiedene, intermolekulare Wechselwirkungen (Anziehungs- und Abstoßungskräfte), welche sich energetisch z.T. stark unterscheiden. Aufgrund der energetischen Heterogenität der Wechselwirkungen sind diese Verhältnisse unterschiedlich stark beeinflussbar.

Die tatsächlich stattfindenden Wechselwirkungen sind von unterschiedlicher Art. Sie hängen nicht nur von der Natur des Sorbens ab, sondern auch von allen anderen beteiligten Molekülen, wie Lösungsmittel, Matrix, pH, usw. Ein Beispiel dafür, wie viele unterschiedliche Wechselwirkungen eine Phase eingehen kann ist die Aminopropylphase. Primär zeigt sie stark polare Eigenschaften, vor allem in mittel- bis unpolarer Umgebung. In stark polaren Lösungsmitteln können die unpolaren Eigenschaften zur Geltung kommen und in protoniertem Zustand ist ein Anionenaustausch möglich. Üblicherweise will man die primären Wechselwirkungen ausnutzen, die sekundären sind meist unerwünscht.

#### 16.1.1 PROBENAUFARBEITUNG VON KFW MIT HILFE DER FESTPHASENEXTRAKTION

Die Auswahl der einzelnen Festphasen ist nicht stoffspezifisch zu betrachten sondern gruppenspezifisch, da ja die im KFW vorhandenen Zucker von anderen Inhaltsstoffen abgetrennt werden sollen.

Es wurden drei käufliche Festphasen ausgewählt:

1. C 18, C 8 (Supelclean LC-18; Supelclean LC-8; Fa. Supelco)
2. SAX Phase ( Supelclean LC-SAX; Fa. Supelco; Chromabond SB; Fa. Macherey Nagel)
3. SCX Phase ( Supelclean LC-SCX; Fa. Supelco Chromabond SA; Fa. Macherey Nagel))

Nach Behandlung des KFW Proben mit verschiedenen Enzymen, wurden diese erhitzt (96°C) und filtriert. Die so gewonnenen Lösung wurde zunächst über eine C18 bzw. eine C8 Festphase gegeben. Auf diese Weise sollte die Probe von lipophilen Substanzen befreit werden.

Anschließend wurde die Probe über eine SAX oder SCX Festphase gegeben, das geschah z.B. nach folgenden Applikationen:

- |                                   |   |
|-----------------------------------|---|
| • Vorbereiten der Probe:          | Probe auf pH 4 einstellen               |
| • Konditionieren der Säule (SCX): | 1. n-Hexan, 2. Methanol, 3. dest.Wasser |
| • Probenaufgabe:                  | 10 ml KFW                               |
| • Waschen der Säule:              | ein Säulenvolumen Wasser pH 4           |
| • Elution der Säule:              | 2 * 500 µl Phosphatpuffer pH 7          |
|                                   |   |
| • Vorbereiten der Probe:          | Probe auf pH 7 einstellen               |
| • Konditionieren der Säule (SAX): | 1. n-Hexan, 2. Methanol, 3. dest.Wasser |
| • Probenaufgabe:                  | 10 ml KFW                               |
| • Waschen der Säule:              | ein Säulenvolumen Wasser                |
| • Elution der Säule:              | 2 * 500 µl 0,1 n Salzsäure              |
|                                   |   |
| • Vorbereiten der Probe:          | Probe auf pH 7,5 einstellen             |
| • Konditionieren der Säule:       | 1. 2* Methanol, 2. 2* dest.Wasser       |
| • Probenaufgabe:                  | 10 ml KFW                               |
| • Waschen der Säule:              | zwei Säulenvolumen Wasser               |
| • Elution der Säule:              | 2 * 2,5 ml 1,5 m Natronlauge            |

### **Anwendbarkeit der Festphasenextraktion auf die Matrix KFW**

Es wurden die unterschiedlichsten Versuche mit den verschiedenen Festphasen durchgeführt, wobei jeweils die pH-Werte der Probe variiert wurden, ebenso die aufgegebenen Probenvolumina. In Analogie dazu wurden zur Elution der Säulen die verschiedensten pH-Werte und Puffer verwendet.

Trotz der vielfältigen Möglichkeiten, die die Festphasenextraktion bietet, um eine Probe aufzuarbeiten und der im reichlichen Ausmaße erfolgten Experimente hierzu, konnte keine befriedigende Methode zur Probenaufarbeitung für KFW ermittelt werden.

Bedenkt man, daß im weiteren Verlauf dieser Arbeit eine Trennung der Galakturonsäure von anderen KFW Inhaltsstoffen an einer HPLC Spezialsäule gelingt, dieses aber nur bei einer Säulentemperatur von oberhalb 80 °C, dann ist hierin möglicherweise die Ursache für eine unzureichende Auftrennung bei der SPE zu suchen.

## 16.2 HERSTELLERANGABEN ZU DEN VERWENDETEN ENZYMEN

### **ROHAPECTÒ D5L SPEZIAL /206/**

#### **Beschreibung und Spezifikation**

##### Eigenschaften

ROHAPECT® D5L SPEZIAL ist ein pektolytisches Enzympräparat zur universellen Anwendung bei der Fruchtsaft- und Weinherstellung.

Es hat folgende Merkmale:

- flüssiges Produkt
- braune Farbe und aromatischer Geruch
- Dichte: ca. 1,18 g/ml
- Enzymaktivität: >160 PA<sup>4</sup>

##### Anwendung

ROHAPECT® D5L SPEZIAL ist universell einsetzbar und spaltet sowohl lösliches als auch unlösliches Pektin. In der Fruchtverarbeitung ist es zur Viskositätssenkung, zur Extraktion, zur Maische- und Saftbehandlung, zur Klärung und zum totalen Pektinabbau geeignet.

##### Dosierung

Anwendung	Reaktionsbedingungen	Dosage
<u>Kernobstsaft</u>	20-45°C / 30-60 min	20-50 g/1000 l
	20-30°C / 1-3 h	40-60 g/1000 l
<u>Trauben, weiß</u>		
Maischebehandlung	15-20°C / 1-2 h	30-50 g/t
Mostbehandlung	15-20°C / 1-2 h	15-20g/1000 l
<u>Trauben, rot</u>		
Maischegärung	18-24°C / 2-3 Tage	20-30 g/t

<sup>4</sup> Die PA ist der reziproke Wert der Enzymmenge in Kilogramm, die benötigt wird um 100 Liter Standard-Apfelsaft unter Standardbedingungen (50°C, pH 3,2, 1 Std.) zu depektinisieren.

Thermovinifikation	45 °C / 1-2 h	15-20 g/t
Himbeeren, Erdbeeren, Maische	20-45°C /1-3 h	100-300 g/t
Brom-, Johannisbeeren, Kirschen	Saft: 20-45°C /1-6 h	50-200 g/1000 l
<u>Tropische Früchte</u>	je nach Verarbeitung	50-100 g/t
Guava, Banane, etc.	20-45°C /1-3 h	

### Herstellung

Die Pektinase wird mit Hilfe eines gentechnisch modifizierten Organismus (*Aspergillus niger* ar. *Foeditus*) gewonnen. Die Kultivierung der Mikroorganismen erfolgt mit Hilfe von natürlichen Substraten. Nach der Fermentation werden die Enzyme mit Wasser extrahiert, gereinigt, konzentriert und standardisiert.

- IUB-Nr.: 4.2.2.10
- CAS-Nr.: 9033-35-6

### Spezifikation

Das Präparat entspricht den FAO/WHO Empfehlungen des „Joint Expert Committee for Food Additives“ (JECFA) und des „Food Chemical Codex“ (FCC).

Arsen:	< 3 ppm
Blei:	< 5ppm
Schwermetalle	< 30ppm
Mycotoxine: <sup>5</sup>	negativ (Patterson & Roberts, 1979) /207/
Antibakt. Akt.:	negativ (JECFA method FNP 19, 1981)

### Mikrobiologische Reinheit

Coliforme:	< 30 pro g
E. Coli:	negativ in 25 g
Salmonellen:	negativ in 25 g
Gesamtkeimzahl:	< 5 x 10 <sup>4</sup> pro g

### Lagerung

Bei kühler Lagerung (4°C) beträgt der Aktivitätsverlust pro Jahr weniger als 10 %.

---

<sup>5</sup> Nur für Pilzenzyme

**Pektinase 1**

Konzentrierte Pektinase Kombination mit hohem Pektinesterase- und Pektinlyasegehalt und schmalem Nebenaktivitätsspektrum. Aktivität wie bei Fructozym P /208/.

Der wirksame pH-Bereich erstreckt sich von 2-6, das Optimum liegt bei pH 4,5. Der wirksame Temperaturbereich erstreckt sich von 15-70°C, das Optimum reicht von 50-60°C, wobei die höchste Temperaturstabilität des Enzyms bei < 40°C liegt.

**Pektinase 2**

Das Mazerationsenzym Fructozym M, ist eine reine Polygalakturonase ohne Pektinesteraseaktivität. Nebenaktivitäten hauptsächlich Cellulase und Hemicellulase.

Das Mazerationsenzym wirkt im pH-Bereich von 3-7, das Optimum liegt bei pH 5. Der wirksame Temperaturbereich reicht von 20-70°C, das Optimum liegt bei 45°C, wobei die höchste Temperaturstabilität des Enzyms bei < 30°C liegt.

**Pektinase 3**

Eine reine Pektinesterase. Der wirksame pH-Bereich erstreckt sich von 2-6, das Optimum liegt bei pH 4,5. Der wirksame Temperaturbereich erstreckt sich von 15-70°C, das Optimum reicht von 50-60°C, wobei die höchste Temperaturstabilität des Enzyms bei < 40°C liegt.

**Pektinase 4**

Eine niedrig konzentrierte Pektinase mit breitem Nebenaktivitätsspektrum, vor allem Cellulase. Pektinaseaktivität ca. 1/20 der von Fructozym P. Der wirksame pH-Bereich erstreckt sich von 2-6, das Optimum liegt bei pH 4,5. Der wirksame Temperaturbereich erstreckt sich von 15-70°C, das Optimum reicht von 50-60°C, wobei die höchste Temperaturstabilität des Enzyms bei < 40°C liegt.

**Pektinase 5**

Eine konzentrierte Pektinasekombination mit breitem Hemicellulase-Nebenaktivitätsspektrum. Aktivität wie bei Fructozym P. Der wirksame pH-Bereich erstreckt sich von 2-6, das Optimum liegt bei pH 4,5. Der wirksame Temperaturbereich erstreckt sich von 15-70°C, das Optimum reicht von 50-60°C, wobei die höchste Temperaturstabilität des Enzyms bei < 40°C liegt.

## **Pektinase 6**

Konzentrierte Pektinase mit ausgeglichenem Spektrum aller pektinolytisch wirkender Fraktionen Pektinesterase, Polygalakturonase und Pektinlyase. Aktivität wie bei Fructozym P. Der wirksame pH-Bereich erstreckt sich von 2-6, das Optimum liegt bei pH 4,5. Der wirksame Temperaturbereich erstreckt sich von 15-70°C, das Optimum reicht von 50-60°C, wobei die höchste Temperaturstabilität des Enzyms bei < 40°C liegt.

## **Fructozym P**

### Produkterläuterung

Fructozym P ist ein flüssiges, hochkonzentriertes pektolytisches Enzympräparat zum raschen und vollständigen Pektinabbau in Fruchtmaischen und –säften. Zulässig nach den derzeit gültigen Gesetzen und Verordnungen. Fachlaborgeprüft auf Reinheit und Qualität.

### Behandlungsziel /209/

- Rascher Abbau von Pektinstoffen in Fruchtmaischen zur Verbesserung der Preßbarkeit und zur Freilegung wertgebender Inhaltsstoffe.
- Vollständiger Pektinabbau im Saft und damit Schaffung der Voraussetzung für gute Klärung und Filtrierbarkeit.

### Produkt und Wirkung

Fructozym P kann aufgrund seiner ausgewogenen Zusammensetzung an pektinspaltenden Hauptaktivitäten (Pektinesterase, Pektinlyase, endo-Polygalakturonase) und eines vielseitigen Spektrums nützlicher Nebenaktivitäten universell bei der modernen Fruchtsaftherstellung eingesetzt werden (Ausnahme: Kernobstmaischen):

Beeren und Steinobstmaischen werden durch Fructozym P optimal aufgeschlossen. Der rasche Pektinabbau bewirkt eine drastische Reduzierung der Maischeviskosität und damit gute Preßbarkeit, hohe Saftausbeute und Steigerung wertgebender Saftinhaltsstoffe.

Im Saft bewirkt Fructozym P eine Zerstörung des trubstabilisierenden Pektingerüsts und schafft somit die Voraussetzung für gute Klärung und Filtrierbarkeit. Insbesondere für die spätere Konzentratherstellung ist der Pektinabbau unerlässlich. Die in Fructozym P enthaltene Arabanase-Nebenaktivität schützt sicher vor eventuellen Arabantrübungen bei der ASK-Herstellung.

**Kombination mit Amylase:** In Kernobstsäften verursacht Stärke häufig Klär und Filtrationsschwierigkeiten. Mit Hilfe des Jodtests (Durchführung siehe Erbslöh-Sümo TEST) kann der notwendige Bedarf an Amylase aus unserer leistungsfähigen „Fructamyl“-Reihe

ermittelt werden. Fructozym P wird sowohl alleine als auch in Kombination mit Amylase im Temperaturbereich von 20-55°C angewendet.

### Anwendung

Fructozym P in kaltem Leitungswasser zu einer 5-10% igen Lösung verdünnen. Die Dosage erfolgt bei Buntsaftmischern entweder direkt in die Maischeleitung nach dem Erhitzer oder wird in den Maischetank vorgelegt. Vollständige Depektinisierung erfolgt durch eine zweite Dosage zum Saft.

Bei der Kernobstverarbeitung empfehlen wie Fructozym MA zur Maischeenzymierung einzusetzen und Fructozym P für die Saftbehandlung. Dabei wird Fructozym P entweder zum Frischsaft dosiert oder nach der Aromalage in den Schönungstank vorgelegt bzw. beim Befüllen kontinuierlich zudosiert.

### Dosage

Enzymdosagen sind abhängig von der Rohware, Reifezustand, Temperatur und Einwirkzeit. Bei Kaltfermentierung, bei thermisch behandeltem Saft und bei der Verwendung von überlagertem und säurearmem Tafelobst ist der Bedarf entsprechend höher.

Richtwerte bei 45-55 °C und einer Einwirkzeit von 1-2 Stunden:

Früchte	[ml/1000 kg] Maische	[ml/1000 l] Saft
Äpfel (10-15°Bx)	---	5-15
Äpfel (20-25°Bx)	---	15-50
Johannisbeeren	50-200	20-80
Sonstige Beeren	30-120	15-60
Steinobst	20-80	10-40

### Lagerung

Bitte kühl lagern. Anbruchpackungen dicht verschließen und zum baldigen Verbrauch vorsehen.

## **Spirizym FM TOP**

### Produkterläuterung

Spirizym FM TOP ist ein flüssiges hochkonzentriertes pektolytisches Enzympräparat mit verstärkter mazerierender Wirkung für den optimalen Aufschluß von Brennmaischen aus

hartfleischigen Früchten wie Topinambur. Zulässig nach den derzeit gültigen Gesetzen und Verordnungen. Fachlaborgeprüft auf Reinheit und Qualität.

### Behandlungsziel

- Lockerung und Auflösung des Fruchtzellenverbandes durch Mazeration des Fruchtgewebes bei gleichzeitig raschem Abbau aller Pektinstoffe, dadurch schnelle Maischeverflüssigung.
- Bessere Pump- und Rührfähigkeit der Maische.
- Leichtere An- und verbesserte Durchgärung der Maische, dadurch optimale Alkoholausbeute.
- Freilegung wertvoller Inhaltsstoffe der Früchte und Steigerung des Fruchtaromas.

### Produkt und Wirkung

Spirizym FM TOP ist ein Pektinasepräparat mit verstärkter mazerierender Aktivität, speziell mit guter verflüssigender Wirkung bei hartfleischigen bzw. trockenen Früchten.

Spirizym FM TOP lockert den Fruchtzellverband bis hin zur völligen Auflösung des Fruchtgewebes und baut alle Pektinstoffe rasch ab, was zu einem drastischen Viskositätsabfall und einer schnellen Maischeverflüssigung führt. Die ohne Enzymanwendung notwendige Wasserzugabe wird in der Menge deutlich verringert oder entfällt sogar vollständig. Die Maische läßt sich leichter umrühren und pumpen. Durch den intensiven Maischeaufschluß werden wertvolle Inhaltsstoffe freigelegt und der Gehalt an Bukett und Aroma gesteigert.

Maischeverflüssigung und Maischeaufschluß erleichtern die Angärung, verbessern die Durchgärung der Maische und führen dadurch zu optimalen Alkoholausbeuten. Gleichzeitig verringern sie die Gefahr des Anbrennen beim Brannt.

Für die Enzymanwendung ist ein Säurezusatz zur Maische nicht unbedingt erforderlich. Aus mikrobiologischen Gründen (sog. Säureschutz) aber wird bei Maischen mit hohem pH-Wert (um pH 6) eine Säurekorrektur durch Zugabe von Boerovin-Mostmilchsäure® empfohlen.

### Anwendung

Spirizym FM TOP wird in kaltem Leitungswasser zu einer 5-10 %igen Lösung verdünnt und am besten direkt beim Einmaischen in die Mühle dosiert. Wird die Enzymlösung in den Maischebehälter vorgelegt oder im Nachhinein zugegeben, muß das Enzym durch kräftiges

Rühren gut eingemischt werden. Wiederholtes kurzes Rühren in den ersten Stunden fördert den Maischeaufschluß.

### Dosage

Enzymdosagen sind abhängig von Rohware, Reifezustand, Temperatur und Einwirkzeit. Die nachstehend aufgeführten Dosagewerte beziehen sich auf eine Behandlungstemperatur von 15°C.

Früchte	[ml/100 kg] Maische
Topinambur	20-30
Sonstige Knollen/Wurzeln	10-20
Äpfel/Quitten	5-8
Birnen	4-6

### Lagerung

Gekühlt lagern. Anbruchpackungen sofort wieder dicht verschließen und zum baldigen Verbrauch vorsehen.

## **Fructozym M**

### Produkterläuterung

Fructozym M ist ein Pektinase Spezialprodukt mit hervorragenden Mazerationseigenschaften. Es wurde speziell zur Herstellung trubstabiler Säfte oder Pulpen aus Obst und Gemüse entwickelt. Zulässig nach den derzeit gültigen Gesetzen und Verordnungen. Fachlaborgeprüft auf Reinheit und Qualität.

### Behandlungsziel

Herstellung trubstabiler Säfte oder Pulpen aus Obst und Gemüse.

### Produkt und Wirkung

Fructozym M bewirkt durch Abbau des unlöslichen Zellwandpektins eine völlige Auflösung des Zellgewebes bis hin zu einzelnen freien Zellen, ohne das im Saft gelöste, veresterte Pektin zu hydrolysieren, wodurch die natürliche Saftviskosität erhalten bleibt und Trubstabilität ohne Zusatz von Stabilisatoren gewährleistet wird. Eine weitergehende Verflüssigung, ohne Beeinträchtigung der Trubstabilität, ist mit pektinasefreien Cellulasen möglich. Eine gezielte

Absenkung der Serumviskosität kann mittels spezieller Pektinasen, welche eine relativ niedrige Pektinesterase Aktivität in Relation zur Endo-Polygalakturonase-Aktivität besitzen, erreicht werden. Die erforderliche Dosagemenge muß durch einen Vorversuch ermittelt werden. Nach Erreichen des gewünschten Viskositätsniveau wird die Enzymierung durch Kurzzeiterhitzung abgebrochen.

### Anwendung

Rohstoffe blanchieren und fein zerkleinern, pH-Wert, falls erforderlich, mit Wasser oder Säurezusatz auf pH 4 bis pH 5, sowie die Temperatur entsprechend nachfolgender Tabelle einstellen. Eine pH-Korrektur bei Obst und Gemüse ist nicht unbedingt erforderlich, kann jedoch durchgeführt werden. Der wirksame Bereich erstreckt sich von pH 2,5 bis pH 6,5. Die optimale Temperatur liegt bei 40-50°C. Niedrige Temperaturen bis zu 15°C können durch längere Reaktionszeiten und/oder höhere Dosage ausgeglichen werden. Fructozym M in wenig kaltem Wasser vorlösen und zugeben. Während der Reaktionszeit ständig rühren (anfangs langsam, später kann schneller gerührt werden). Die Verarbeitung wird nach Ablauf der Reaktionszeit mit der Steinentfernung durch grobes Sieben, gefolgt von Passierung und Homogenisierung fortgesetzt, und mit der KZE-Behandlung (Enzyminaktivierung) abgeschlossen.

**Wichtig:** Bei oxidationsempfindlichen Frucht- und Gemüsesorten (Erdbeeren, Birnen, Rote Beete) ist eine Inaktivierung der fruchteigenen Oxidationsenzyme nach dem Zerkleinerungsprozeß unbedingt erforderlich. Bei Verarbeitung von Früchten oder Gemüsen mit hoher fruchteigener Pektinesteraseaktivität (Tomaten, Citrus) ist eine Inaktivierung durch Blanchieren zur Erhaltung der Trubstabilität ratsam.

### Dosage

Enzymdosagen sind abhängig von Rohware, Reifezustand, Temperatur und Einwirkzeit.  
Richtwerte:

Gemüse/Obst	Fructozym M [g/100 kg]	Temperatur [°C]	Reaktionszeit [min]
Tomaten	15-30	45	30-60
Paprika	50-70	45	60
Sellerie	60-80	45	60-90

Karotten	60-80	45	60-90
Kartoffeln	60-80	45	60-90
Erdbeeren	15-30	25	45-60
Pfirsiche	30-50	45	60-80
Aprikosen	30-50	45	60-80
Citrusshalen	15-30	45	60-120

### Lagerung

Gekühlt lagern. Anbruchpackungen sofort wieder dicht verschließen und zum baldigen verbrauchen vorsehen.

### **Fructozym UF**

#### Produkterläuterung

Fructozym UF ist ein flüssiges, hochkonzentriertes pektolytisches Enzympräparat zur Steigerung der Fluxrate bei Ultrafiltrationsanlagen. Zulässig nach den derzeit gültigen Gesetzen und Verordnungen. Fachlaborgeprüft auf Reinheit und Qualität.

#### Behandlungsziel

- Verbesserung der Filtrierbarkeit von Säften.
- Steigerung der Fluxleistung von UF Anlagen und der Standzeit der Membranen zwischen zwei Reinigungszyklen.

#### Produkt und Wirkung

Fructozym UF besitzt neben seiner wirksamen Pektinase-Hauptaktivität zusätzliche Enzymfraktionen, die speziell zur Entfernung filtrationshemmender polymerer Saftkolloide erforderlich sind und die mit normalen Pektinasen nicht abgebaut werden können.

Am wirkungsvollsten wird Fructozym UF dabei in Kombination mit Pektin- und stärke-spaltenden Klär- und Filtrationsenzymen schon bei der Saftbehandlung verwendet, kann aber auch allein im Anschluß an die übliche Saftenzymierung eingesetzt werden. Dann wird die Enzymlösung in den Pufferbehälter der UF Anlage dosiert (Einwirkzeit einhalten).

### Anwendung

Fructozym UF wird in kaltem Leitungswasser zu einer 5-10%igen Lösung verdünnt. Die Dosage erfolgt direkt in die Saftleitung nach der Aromaanlage oder wird in die Enzymierungstanks bzw. Pufferbehälter der UF-Anlage vorgelegt.

### Dosage

Enzymdosagen sind abhängig von Rohware, Reifezustand, Temperatur und Einwirkzeit. Richtwerte bei 45-55°C und einer Einwirkzeit von 30-60 min.

Früchte	[ml/1000 l] Saft
Äpfel (10-15°Bx)	50-80
Äpfel (20-25°Bx)	120-150
Trauben (weiß)	150-200

### Lagerung

Gekühlt lagern. Anbruchpackungen sofort wieder dicht verschließen und zum baldigen Verbrauch vorsehen.

## **Pectinex<sup>®</sup> Ultra SP-L**

Das erste Maischeenzym /210/

### Beschreibung

Pectinex Ultra SP-L ist ein hochaktives pektolytisches Enzympräparat, das hauptsächlich für die Maischebehandlung von Äpfeln und Birnen eingesetzt wird.

### Produktspezifikation

- Aussehen: Das Enzym wird durch einen selektionierten Stamm der *Aspergillus niger* Gruppe produziert und weist pektolytische sowie hemizellulolytische Aktivitäten auf. Es hat die Fähigkeit, pflanzliches Zellwandmaterial aufzulösen und Pektinstoffe abzubauen.
- Produkt-Typ: Pectinex Ultra SP-L ist eine braune Flüssigkeit mit dem leicht typischen Geruch fermentierter Produkte mit einem pH-Wert von ca. 4,5.
- Aktivität: 26.000 PG (pH 3,5). Aktivitätsbestimmung: Die Standard-Aktivität wird bestimmt durch Messung der Viskositätsreduktion einer Pektinsäurelösung bei pH 3,5 und 20°C.

- Löslichkeit: Eine gelegentlich vorkommende leichte Trübung des Produktes hat keinen Einfluß auf die Aktivität oder die Handhabung. Die aktiven Komponenten von Pectinex Ultra SP-L sind praktisch in jedem Verhältnis in Wasser löslich.
- Vorsichtsmaßnahmen: Pectinex Ultra SP-L ist nicht brennbar und vollständig mit Wasser mischbar. Unnötiger Kontakt mit dem Produkt sowie das Einatmen von Staub aus getrocknetem Enzym soll vermieden werden. Bei Kontakt mit der Haut oder den Augen muß gut mit Wasser gespült werden.
- Andere Eigenschaften: Das Produkt entspricht den Spezifikationen von FAO/WHO/JECFA und FCC für Enzyme in der Lebensmittelindustrie. Pectinex Ultra SP-L wird nach der Sterilfiltration aseptisch abgefüllt und ist daher praktisch keimfrei.
- Lagerhaltung: Wenn Pectinex Ultra SP-L bei einer Temperatur von 20°C gelagert wird, hält sich die deklarierte Aktivität während 3 Monaten. Bei längerer Lagerung kann die Aktivität um 1-2% pro Monat abnehmen. Bei Lagerungstemperatur von 5-10°C wird die deklarierte Aktivität während eines Jahres ohne Verlust beibehalten.
- Anwendung: Pectinex Ultra SP-L wurde speziell für die Behandlung von Fruchtmaischen entwickelt und zur Mazeration von Pflanzengewebe. Außerdem eignet sich dieses Produkt ebenfalls zum Abbau von gelöstem und ungelöstem Pektin. Ferner werden Trübungen verursachende Polysaccharide wirkungsvoll abgebaut.
- Pectinex Ultra SP-L auf Fruchtmaischen eingesetzt führt zu stark erhöhten Presskapazitäten und erhöhten Saftausbeuten.

### **Ultrazym<sup>®</sup> AFP-L 2**

Ein Spezialenzym für die Maischebehandlung und Maischeverflüssigung /211/

#### Beschreibung

Ultrazym AFP-L 2 ist ein hochaktives pektolytisches Enzympräparat, das hauptsächlich für die Maischebehandlung von Äpfeln und Birnen entwickelt wurde. Ultrazym AFP-L 2 hat ein einzigartiges Spektrum von pektolytischen sowie hemizellulolytischen Enzymen. Die hohe Aktivität bewirkt eine hochaufgelöste Maische bis hin zur Maischeverflüssigung. Die starke pektolytische Aktivität sichert eine Zersetzung des Pektins und führt so zu einer optimalen Reduktion der Viskosität. Das Enzym wird durch einen selektionierten Stamm der *Aspergillus niger* Gruppe produziert.

Aktivität: Ultrazym AFP-L 2 ist standardisiert auf: 5000 FDU 55°C/ml

### Produktspezifikation

- Produkt-Typ: Ultrazym AFP-L 2 ist eine braune Flüssigkeit mit dem leicht typischen Geruch fermentierter Produkte. Das Produkt entspricht den Spezifikationen von FAO/WHO/JECFA und FCC für Enzyme in der Lebensmittelindustrie. Ultrazym AFP-L 2 wird nach der Sterilfiltration aseptisch abgefüllt und ist daher praktisch keimfrei.
- Anwendung: Das Produkt ist speziell zugeschnitten auf die Behandlung vom Maischen aus Äpfeln oder Birnen bei hohen Temperaturen (oberhalb 50 °C), aber es erzielt ebenfalls gute Ergebnisse bei Umgebungstemperatur. Ultrazym AFP-L 2 auf Fruchtmaischen eingesetzt führt zu stark erhöhten Presskapazitäten und erhöhten Saftausbeuten.
- Der optimale pH-Bereich entspricht dem von Äpfeln und Birnen. Das Temperaturoptimum liegt bei 40-50 °C, aufgrund der hohen Aktivität werden exzellente Ergebnisse auch bei Umgebungstemperatur erreicht.

### Dosage

Die optimale Dosage wird in Vorversuchen ermittelt. Wir empfehlen mit Dosagen von 50-150 ml Ultrazym AFP-L 2 pro Tonne Apfel- Birnenmaische.

Früchte	Temperatur [°C]	Dosage [ml/1000 kg]
Apfel/Birne	20-30	500-700
Apfel/Birne	40-50	300-500

Löslichkeit: Eine gelegentlich vorkommende leichte Trübung des Produktes hat keinen Einfluß auf die Aktivität oder die Handhabung. Die aktiven Komponenten von Ultrazym AFP-L 2 sind praktisch in jedem Verhältnis in Wasser löslich.

Vorsichtsmaßnahmen: Ultrazym AFP-L 2 ist nicht brennbar und vollständig mit Wasser mischbar. Unnötiger Kontakt mit dem Produkt sowie das Einatmen von Staub aus getrocknetem Enzym soll vermieden werden. Bei Kontakt mit der Haut oder den Augen muß gut mit Wasser gespült werden.

Lagerhaltung: Wenn Ultrazym AFP-L 2 bei einer Temperatur von 20 °C gelagert wird, hält sich die deklarierte Aktivität während 3 Monaten. Bei längerer Lagerung kann die Aktivität um 1-2% pro Monat abnehmen. Bei Lagerungstemperatur von 5-10°C wird die deklarierte Aktivität während eines Jahres ohne Verlust beibehalten.

## 16.3 BEISPIELCHROMATOGRAMME

### 16.3.1 BEISPIELCHROMATOGRAMME DER EICHREIHE MIT GALAKTURONSÄURE

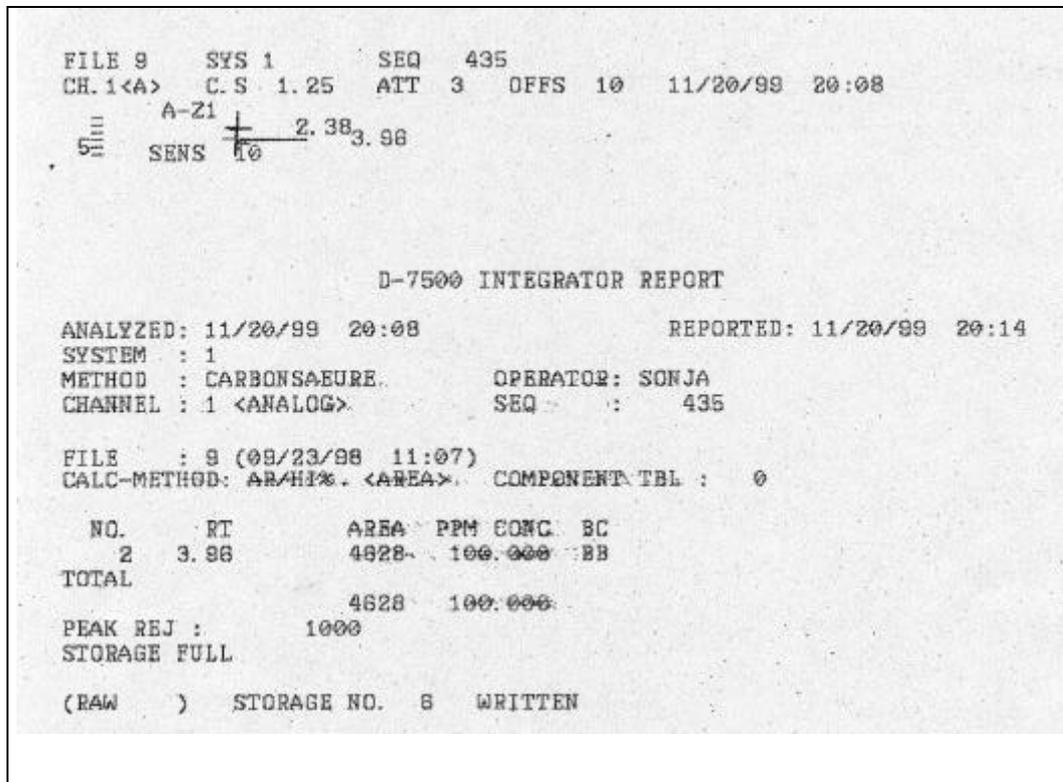


Abbildung 16-1 Beispiel HPLC Chromatogramm für die Eichgerade der Galakturonsäure

Mit Area = 4628  $\equiv$  51 [mg/l] Galakturonsäure



16.3.2 BEISPIELCHROMATOGRAMME DER STANDARDADDITION IN KFW TEIL 1

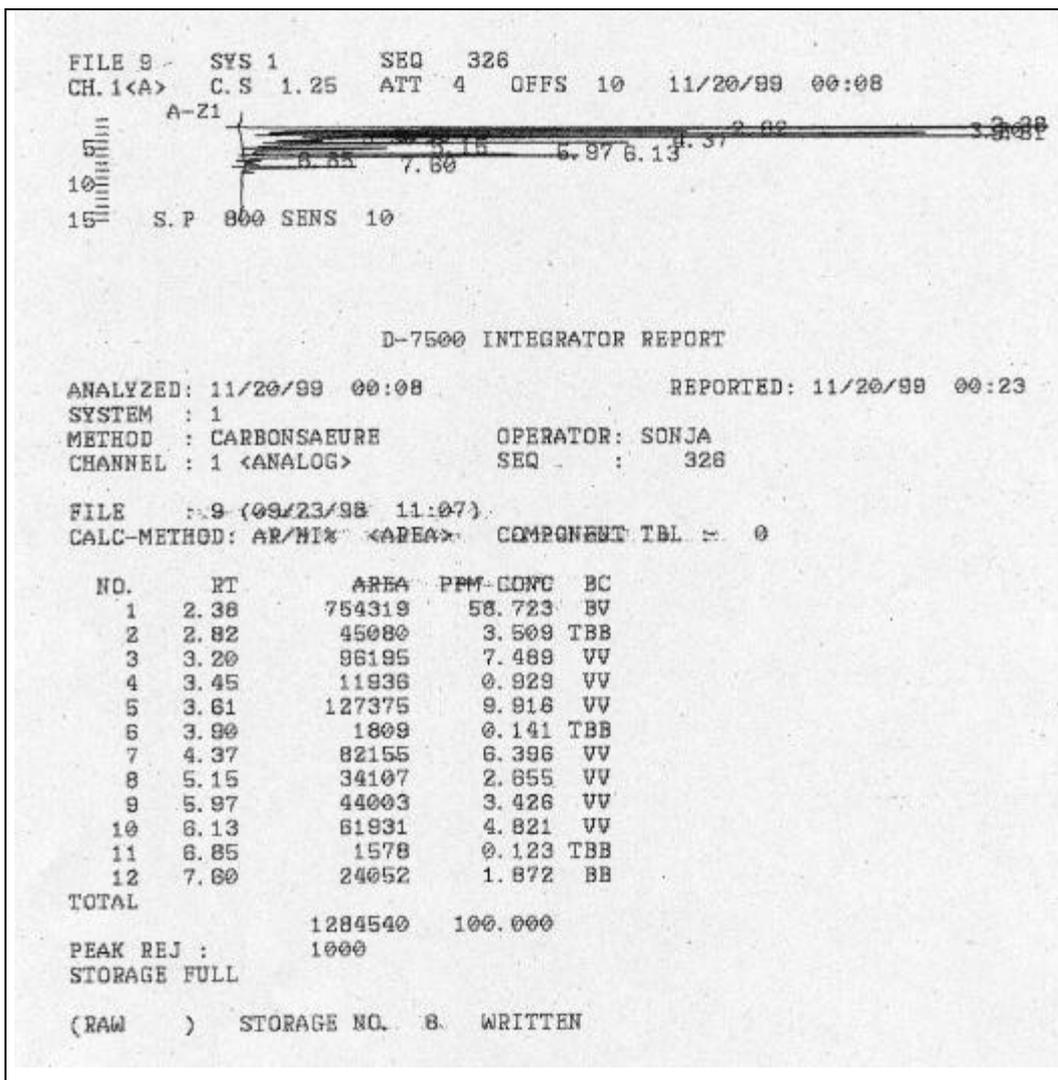


Abbildung 16-4 Beispiel HPLC Chromatogramm für die Standardaddition in KFW (TBB)

Mit Area = 1809 TBB  $\equiv$  40 [mg/l] Galakturonsäure

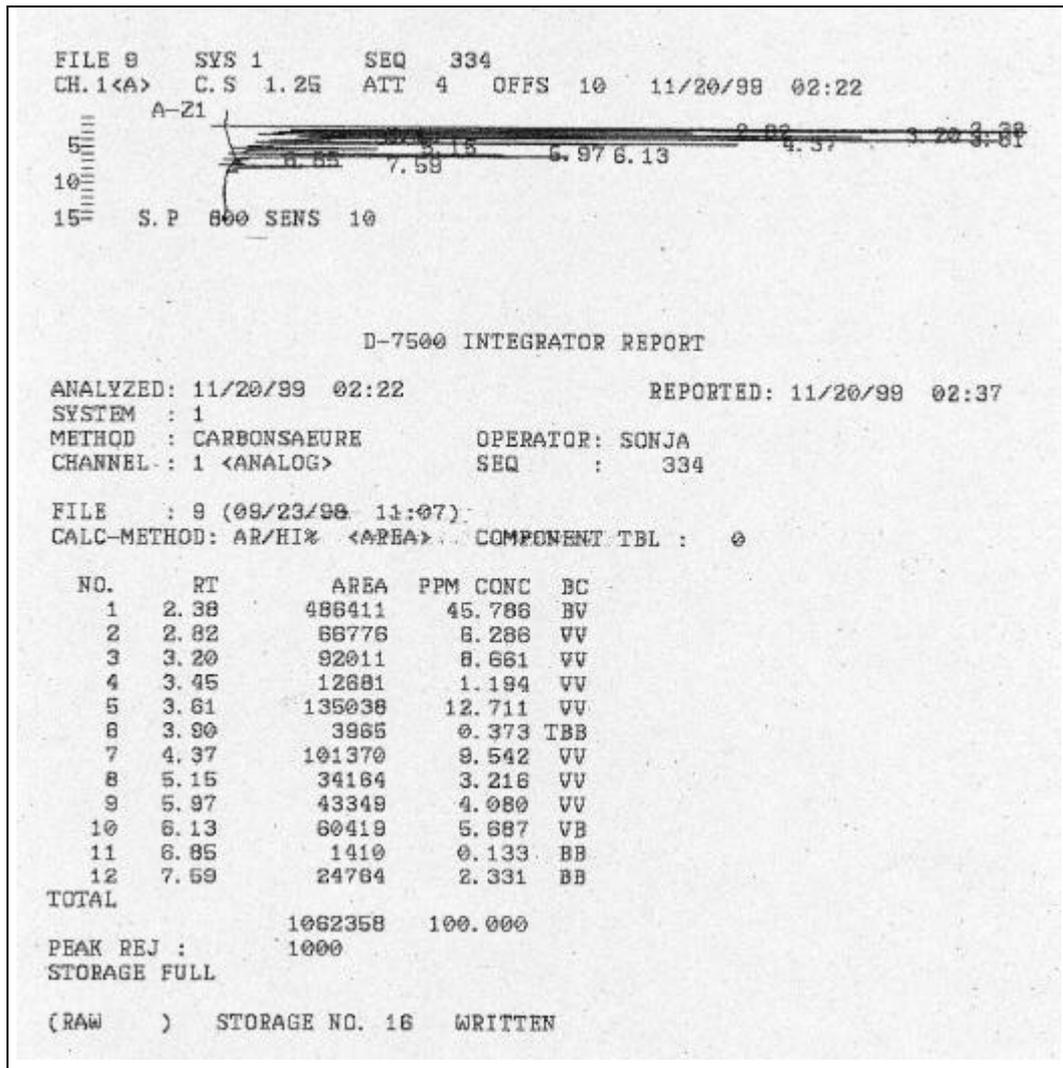


Abbildung 16-5 Beispiel HPLC Chromatogramm für die Standardaddition in KFW (TBB)

Mit Area = 3965 TBB  $\equiv$  68 [mg/l] Galakturonsäure

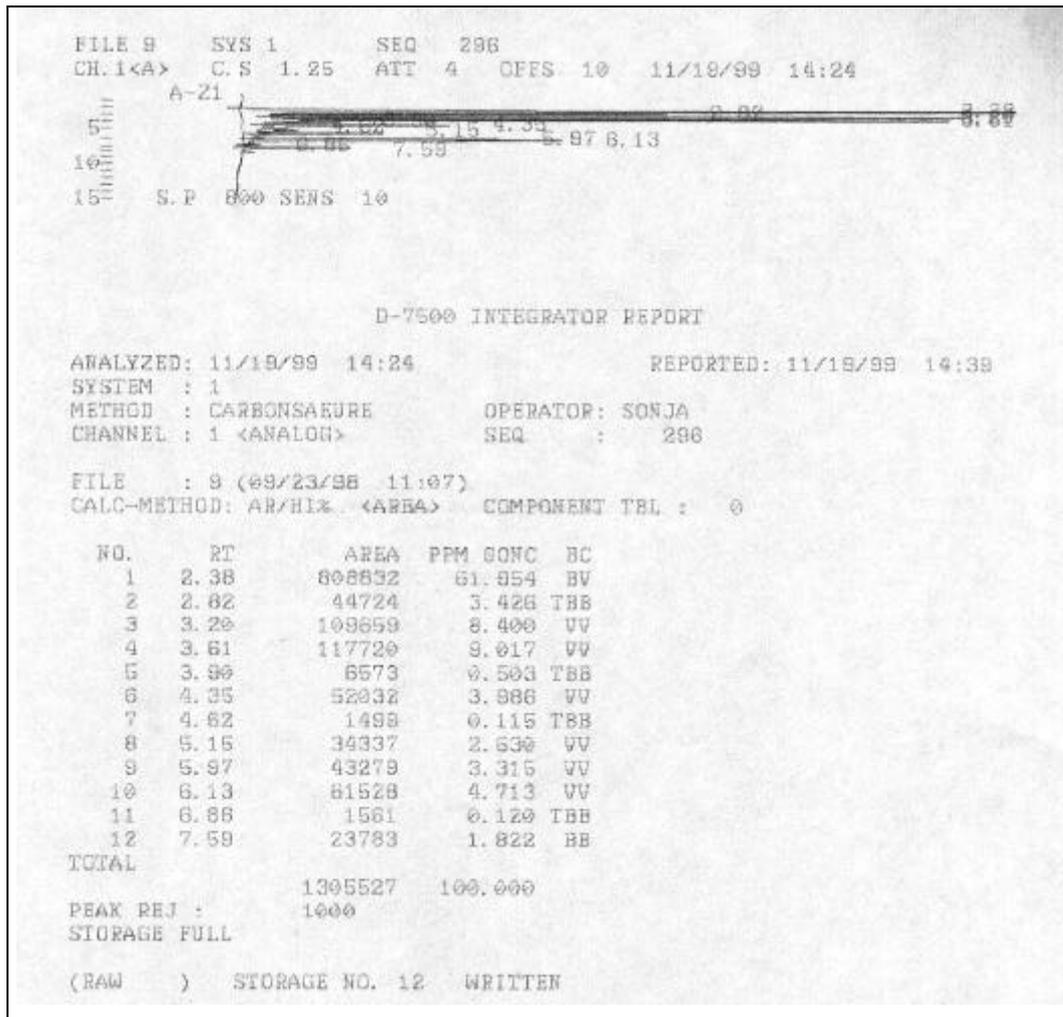


Abbildung 16-6 Beispiel HPLC Chromatogramm für die Standardaddition in KFW (TBB)

Mit Area = 6573 TBB  $\equiv$  103 [mg/l] Galakturonsäure

## 16.3.3 BEISPIELCHROMATOGRAMME DER STANDARDADDITION IN KFW TEIL 2

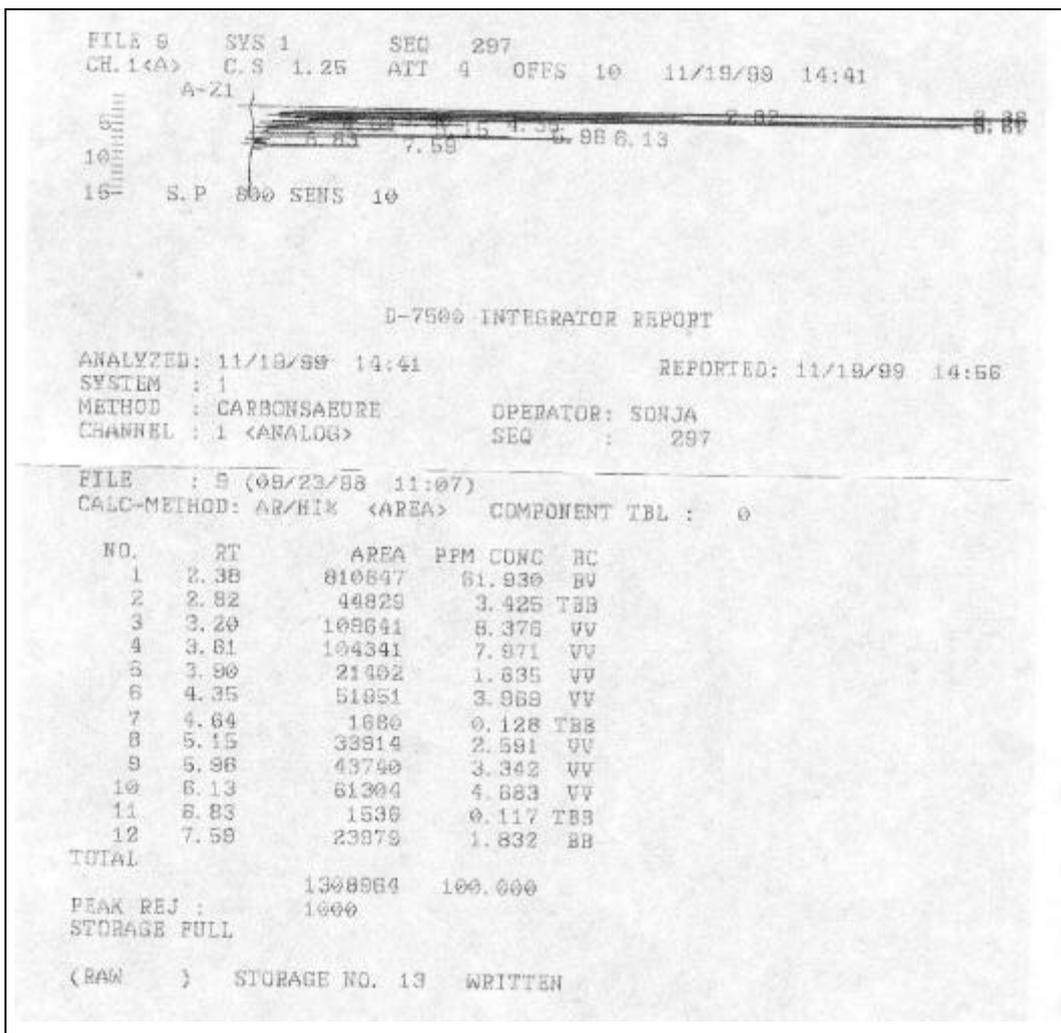


Abbildung 16-7 Beispiel HPLC Chromatogramm für die Standardaddition in KFW (VV)

Mit Area = 21402 VV  $\equiv$  127 [mg/l] Galakturonsäure

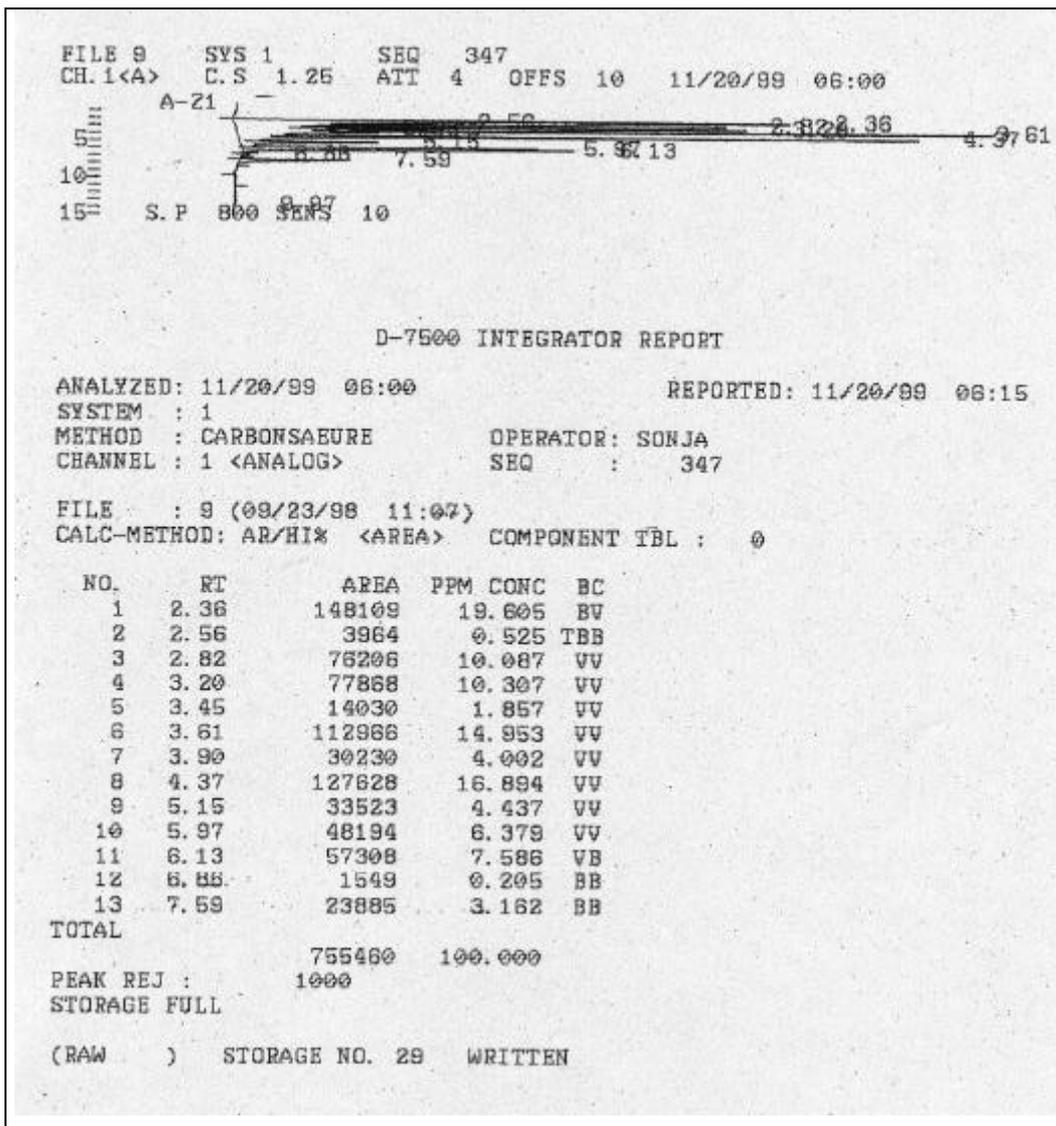


Abbildung 16-8 Beispiel HPLC Chromatogramm für die Standardaddition in KFW (VV)

Mit Area = 30236 VV  $\equiv$  219 [mg/l] Galakturonsäure

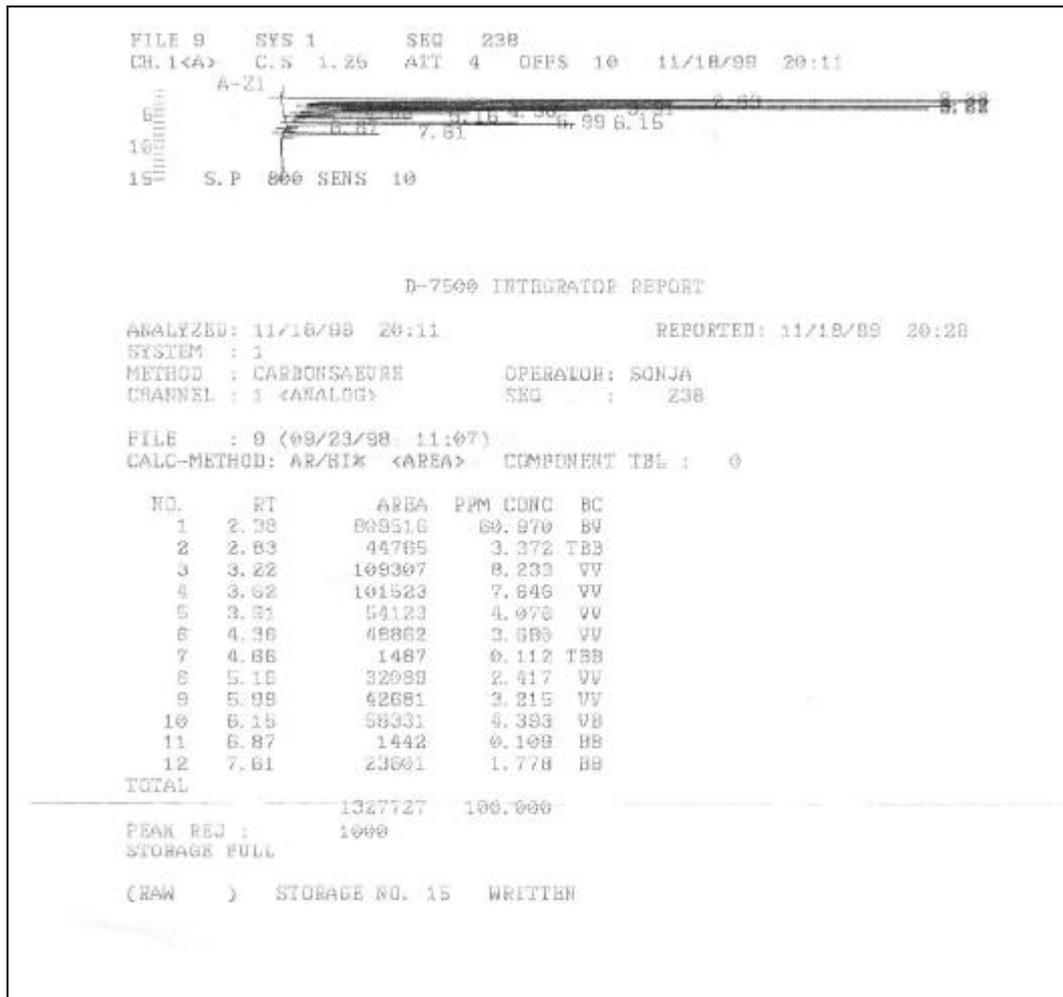


Abbildung 16-9 Beispiel HPLC Chromatogramm für die Standardaddition in KFW (VV)

Mit Area = 54123 VV  $\equiv$  468 [mg/l] Galakturonsäure

## 16.3.4 BEISPIELCHROMATOGRAMME FÜR ENZYMATISCH BEHANDELTEN PEKTINSTANDARD



Abbildung 16-10 Beispiel HPLC Chromatogramm für den enzymatisch behandelten Pektinstandard  
 Ohne Enzymzugabe

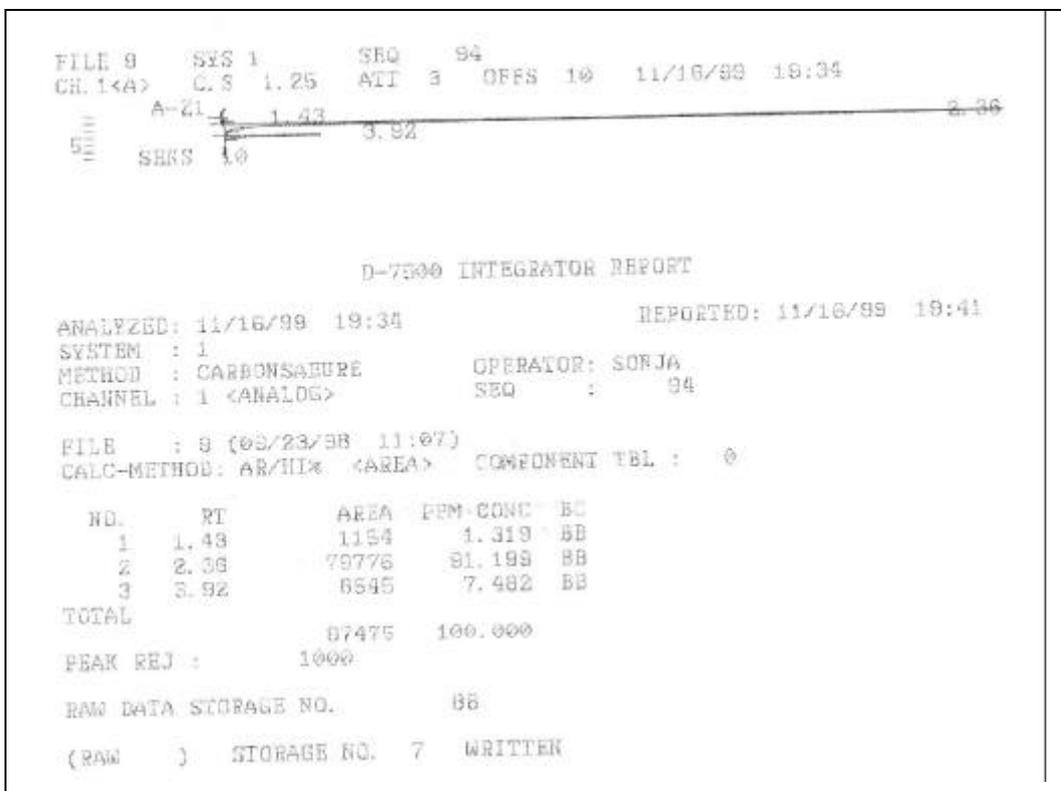


Abbildung 16-11 Beispiel HPLC Chromatogramm für den enzymatisch behandelten Pektinstandard  
 Mit 10 ppm Pektinase 5, Reaktionsdauer 56 min, Area = 6545 BB  $\approx$  73 [mg/l] Galakturonsäure

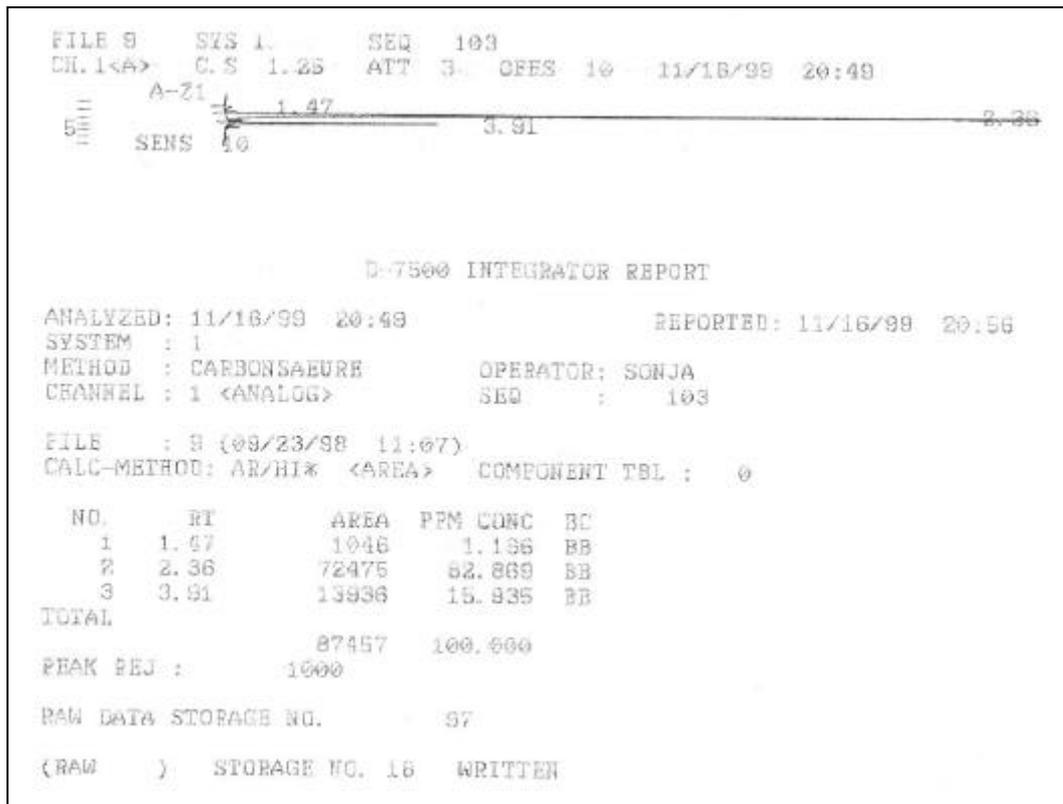


Abbildung 16-12 Beispiel HPLC Chromatogramm für den enzymatisch behandelten Pektinstandard  
 Mit 10 ppm Pektinase 5, Reaktionsdauer 131 min, Area = 13936 BB  $\equiv$  157 [mg/l] Galakturonsäure

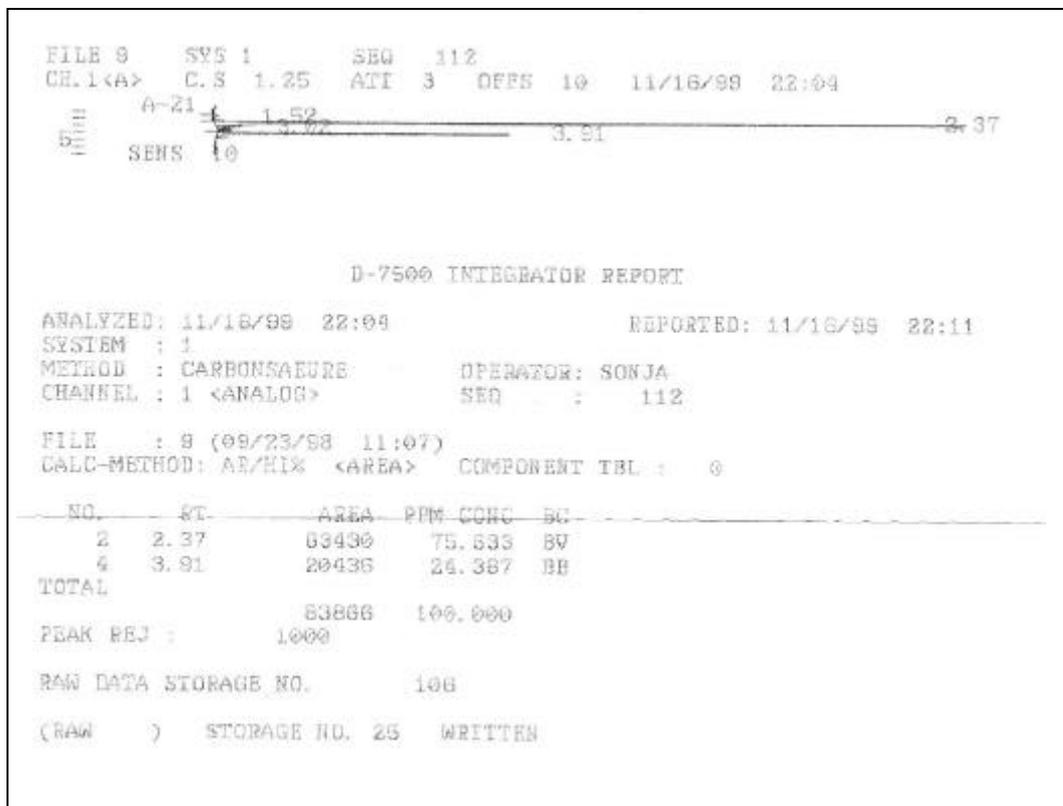


Abbildung 16-13 Beispiel HPLC Chromatogramm für den enzymatisch behandelten Pektinstandard  
 Mit 10 ppm Pektinase 5, Reaktionsdauer 206 min, Area = 20436 BB  $\equiv$  231 [mg/l] Galakturonsäure

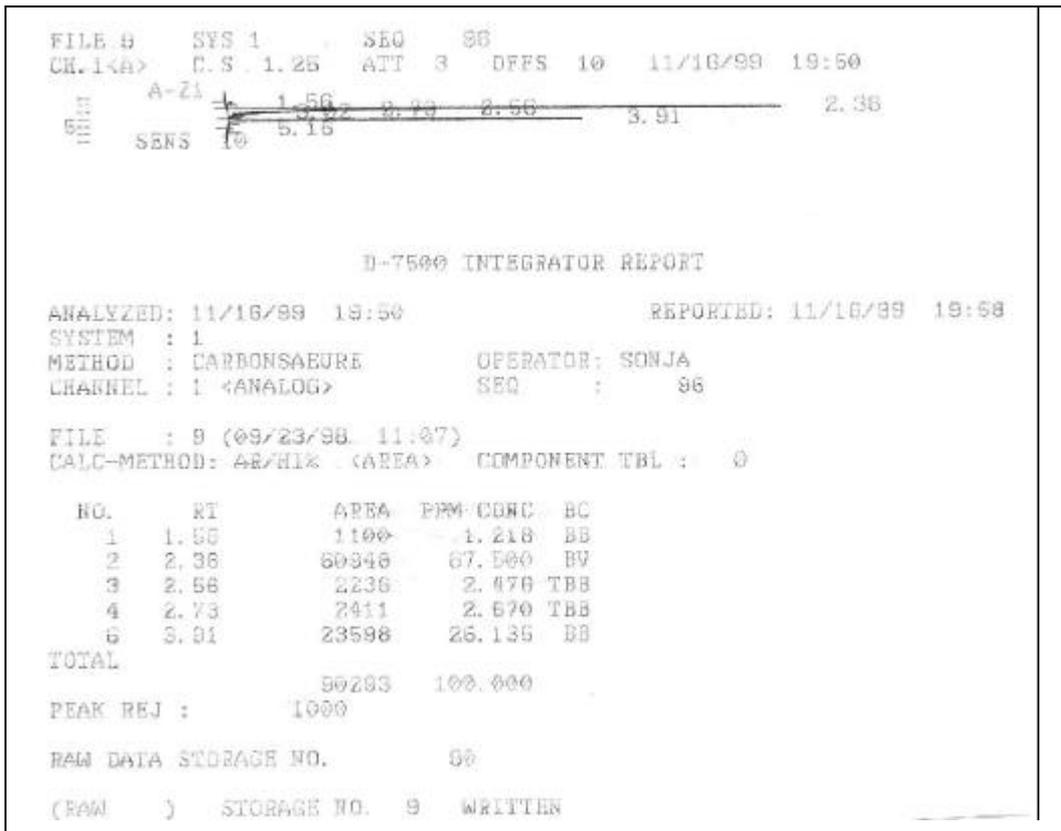


Abbildung 16-14 Beispiel HPLC Chromatogramm für den enzymatisch behandelten Pektinstandard  
 Mit 50 ppm Pektinex, Reaktionsdauer 72 min, Area = 23598 BB  $\equiv$  267 [mg/l] Galakturonsäure

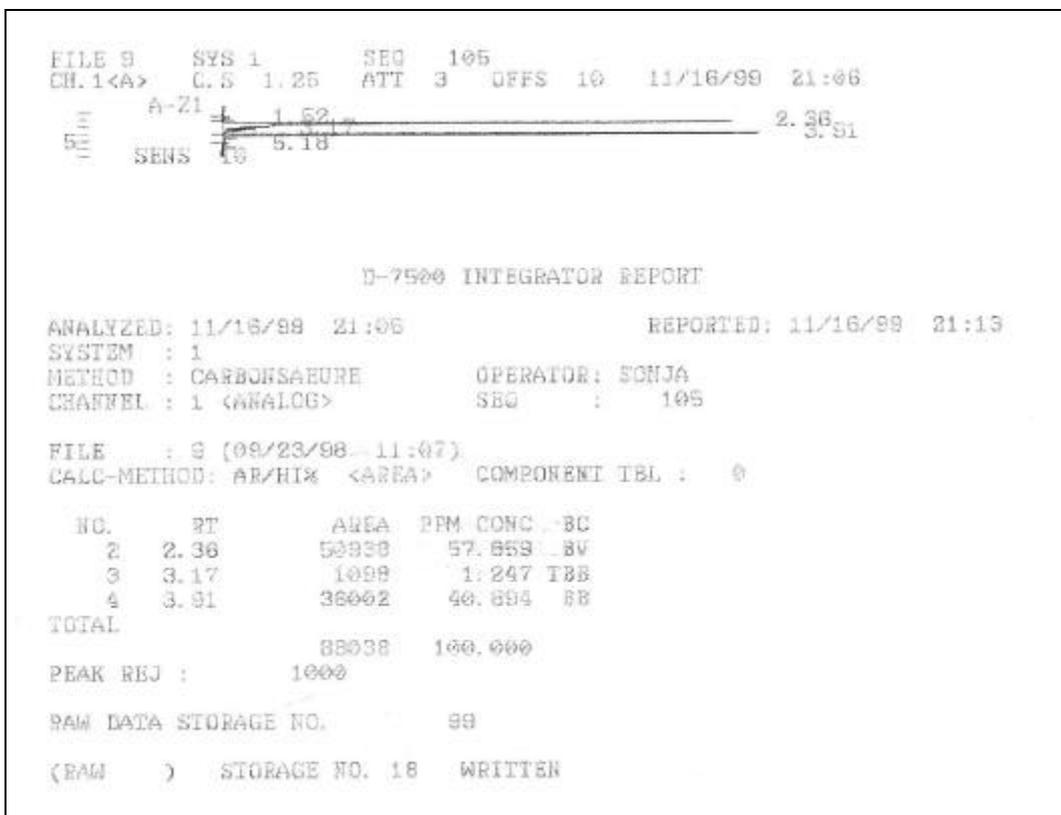


Abbildung 16-15 Beispiel HPLC Chromatogramm für den enzymatisch behandelten Pektinstandard  
 Mit 50 ppm Pektinex, Reaktionsdauer 148 min, Area = 36002 BB  $\equiv$  408 [mg/l] Galakturonsäure

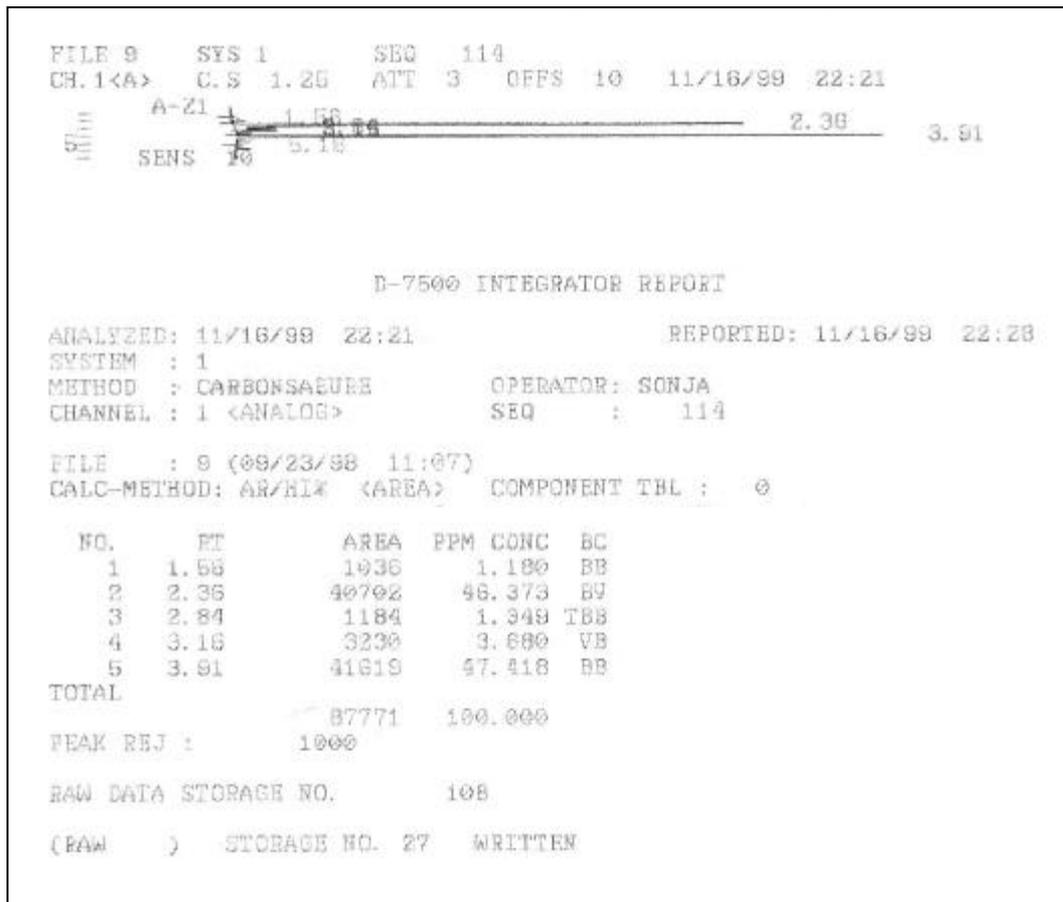


Abbildung 16-16 Beispiel HPLC Chromatogramm für den enzymatisch behandelten Pektinstandard  
 Mit 50 ppm Pektinex, Reaktionsdauer 223 min, Area = 41691 BB  $\equiv$  471 [mg/l] Galakturonsäure

16.3.5 BEISPIELCHROMATOGRAMME FÜR ENZYMATISCH BEHANDELTES  
KARTOFFELFRUCHTWASSER

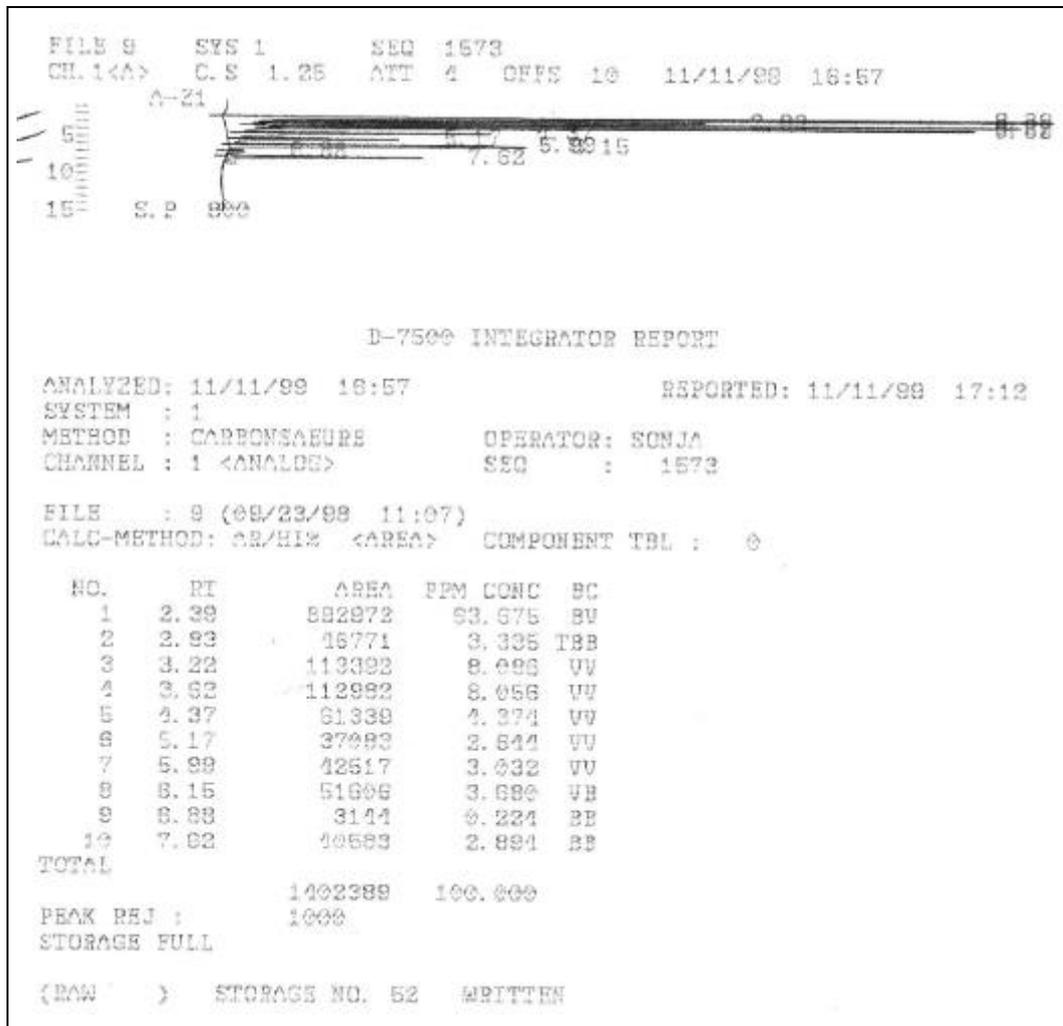


Abbildung 16-17 Beispiel HPLC Chromatogramm für Kartoffel Fruchtwasser ohne Enzymzugabe

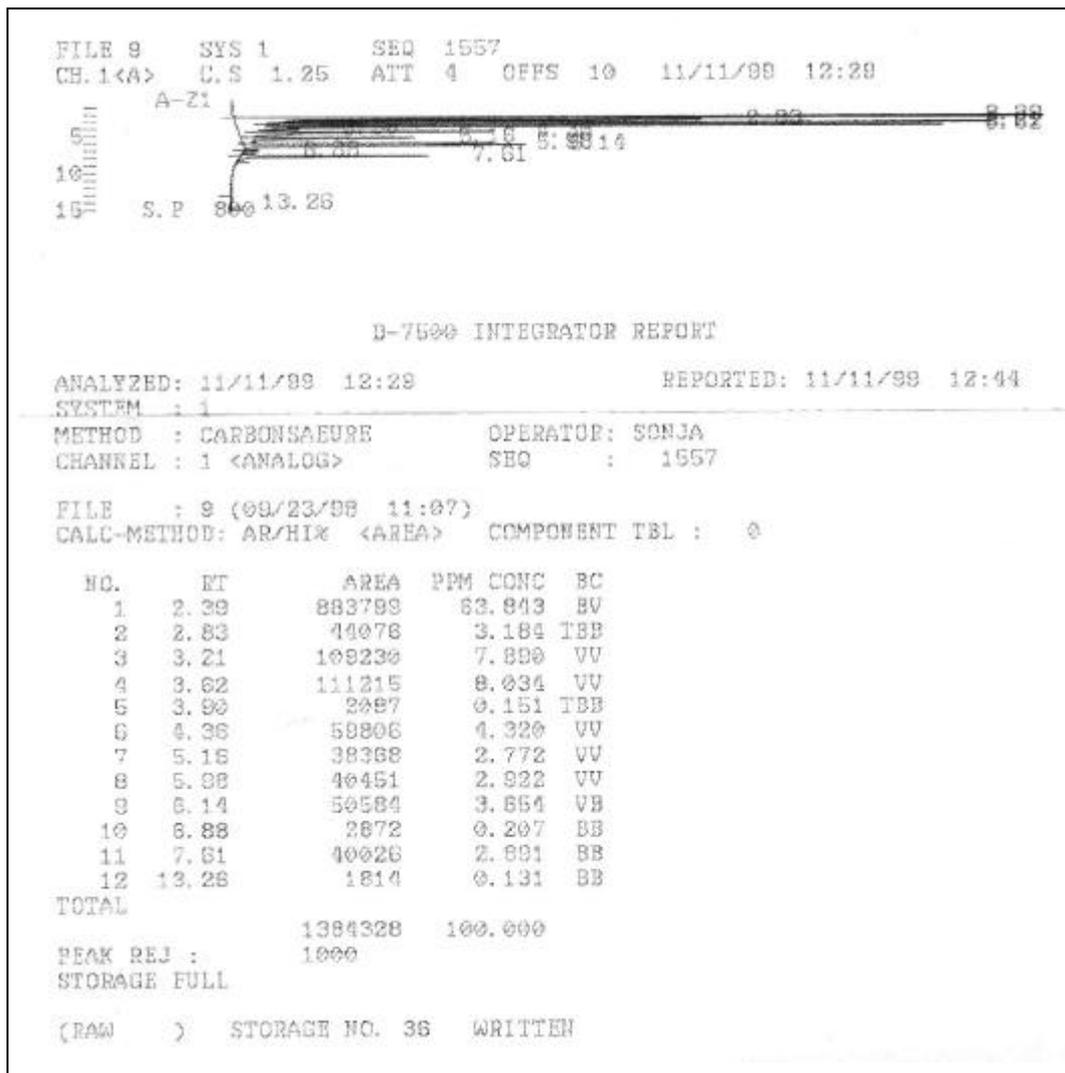


Abbildung 16-18 Beispiel HPLC Chromatogramm für enzymatisch behandeltes KFW

Mit 250 ppm Fructozym UF, Reaktionsdauer 24 min, Area = 2087 TBB  $\approx$  44 [mg/l] Galakturonsäure

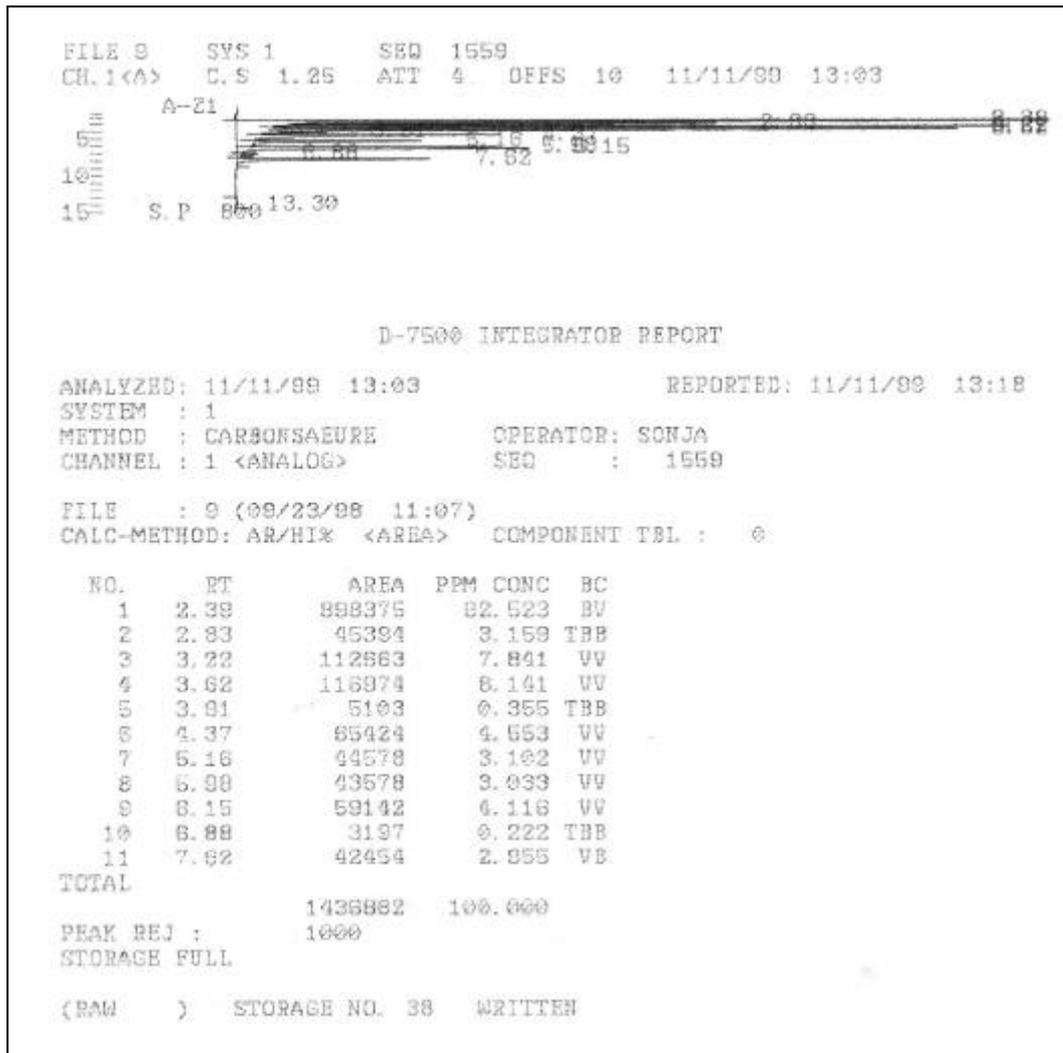


Abbildung 16-19 Beispiel HPLC Chromatogramm für enzymatisch behandeltes KFW

Mit 250 ppm Fructozym UF, Reaktionsdauer 58 min, Area = 5103 TBB = 83 [mg/l] Galakturonsäure

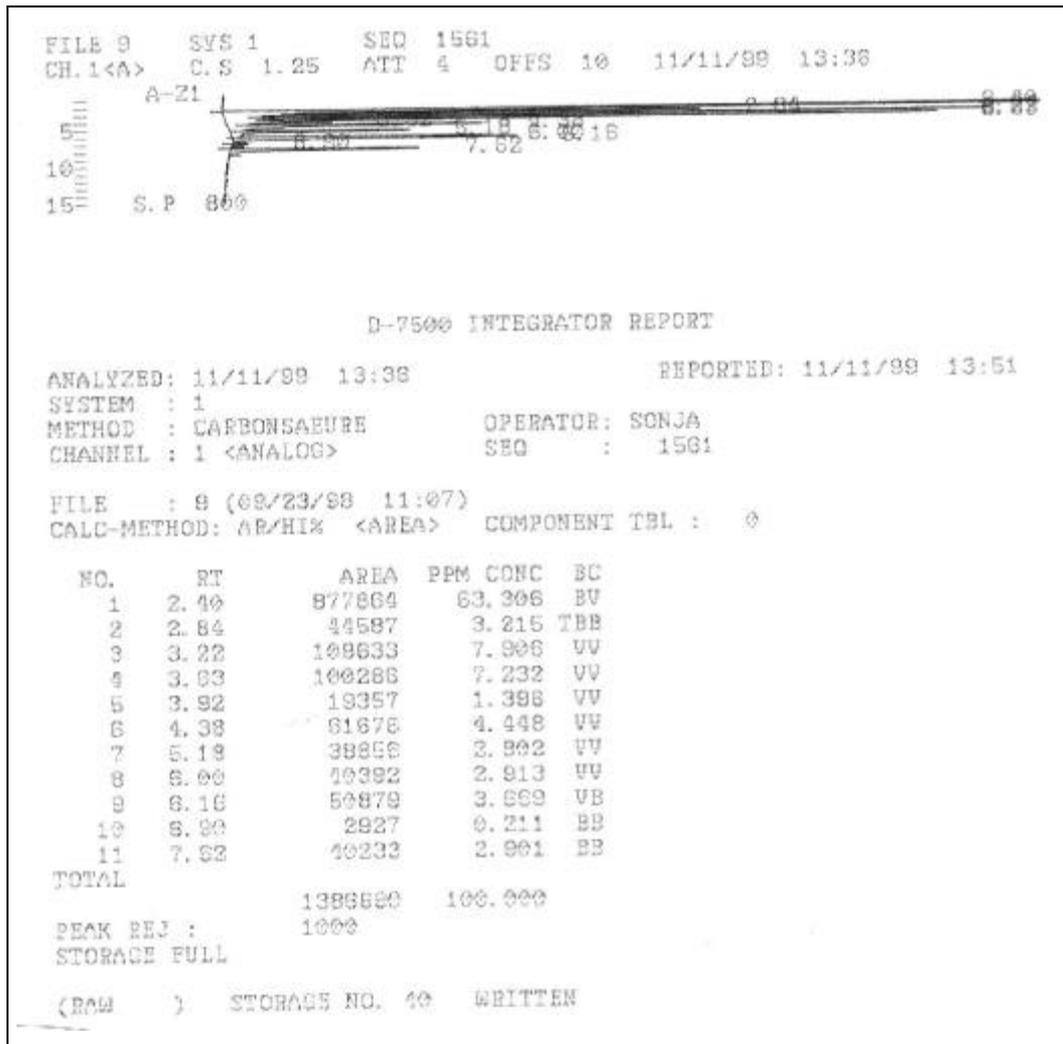


Abbildung 16-20 Beispiel HPLC Chromatogramm für enzymatisch behandeltes KFW

Mit 250 ppm Fructozym UF, Reaktionsdauer 91 min, Area = 19357 VV  $\equiv$  106 [mg/l] Galakturonsäure

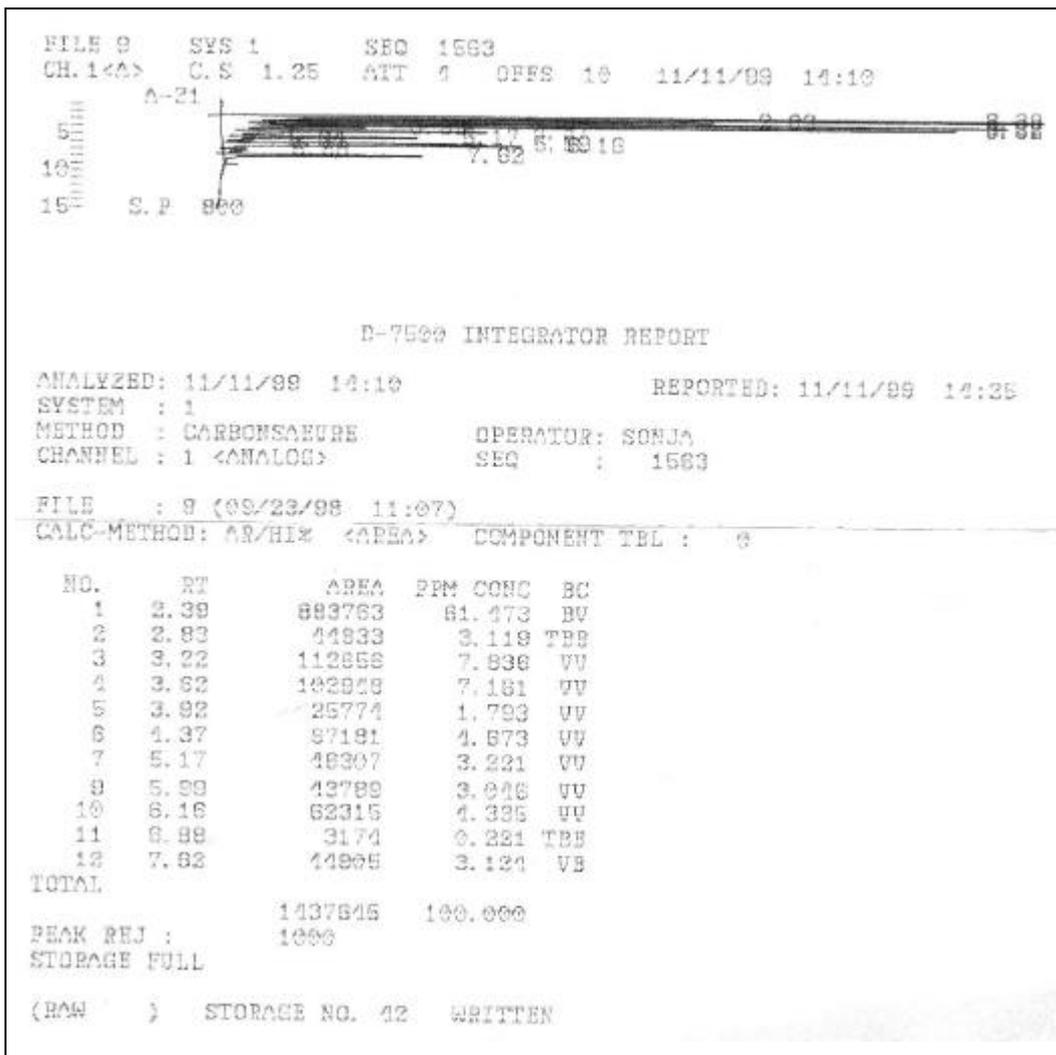


Abbildung 16-21 Beispiel HPLC Chromatogramm für enzymatisch behandeltes KFW  
 Mit 250 ppm Fructozym UF, Reaktionsdauer 125 min, Area = 25774 VV  $\equiv$  173 [mg/l] Galakturonsäure

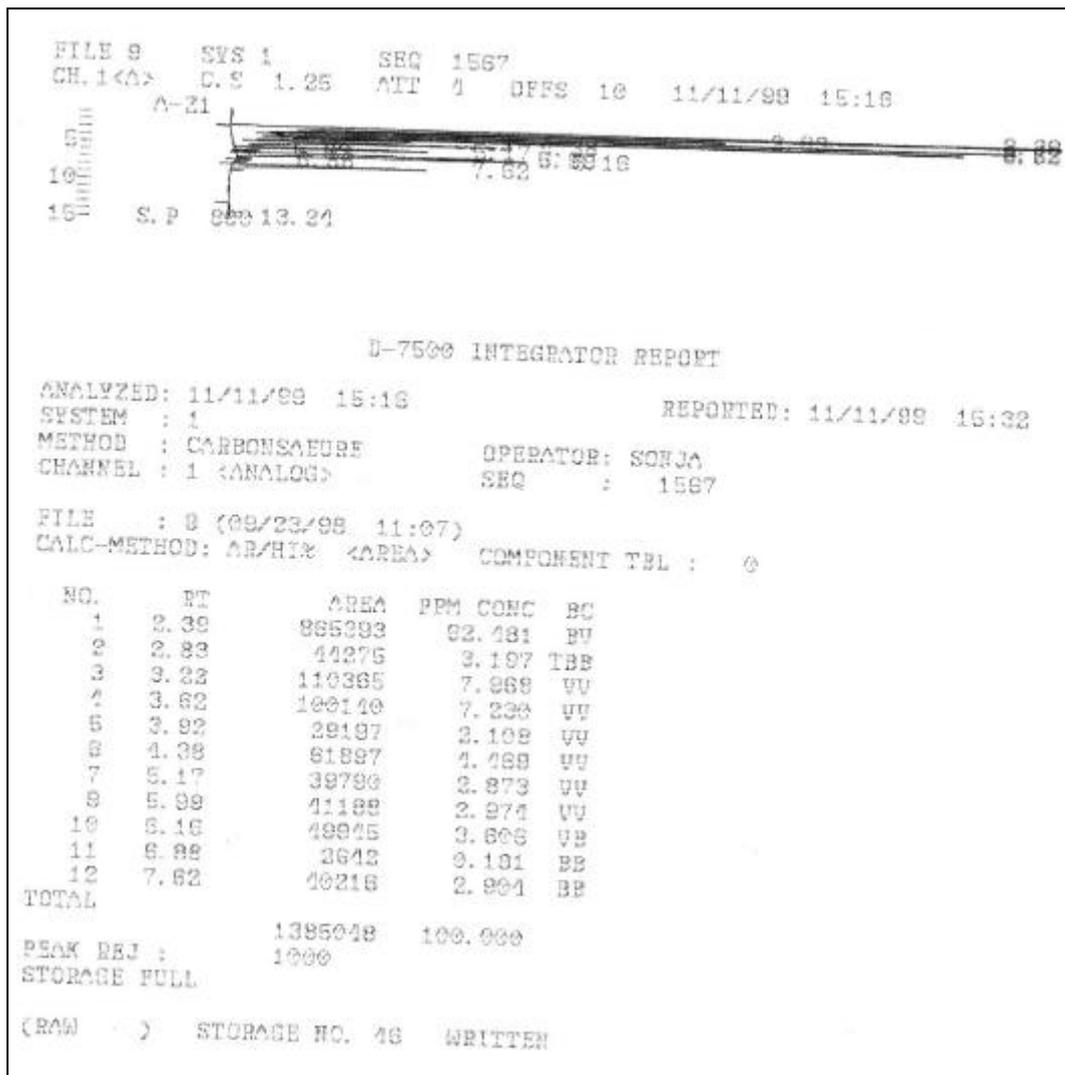


Abbildung 16-22 Beispiel HPLC Chromatogramm für enzymatisch behandeltes KFW

Mit 250 ppm Fructozym UF, Reaktionsdauer 191 min, Area = 29197 VV  $\approx$  209 [mg/l] Galakturonsäure

## 16.4 VERSUCHE AN DER ULTRAFILTRATIONS-ANLAGE

Die Methode der kontinuierlichen Prozessführung der Ultrafiltrationseinheit mit KFW zur Ermittlung eines optimalen Enzyms beinhaltet einige Nachteile (vergl. Kapitel 13.2.1).

Aus diesen Gründen wurden weitere Versuche an der Ultrafiltrationseinheit mit Prozesswasser im Batch-Verfahren durchgeführt, die Durchführung und die Ergebnisse sind den folgenden Ausführungen zu entnehmen.

### 16.4.1 VERSUCHSDURCHFÜHRUNG MIT PROZESSWASSER IM BATCH-BETRIEB

Prozeßwasser ist das Kartoffelfruchtwasser, welches zusammen mit dem Reibsel in die Stärkeauswaschung gelangt. Dort wird es an den Strahlauswaschern von der Stärke und den Fasern abgetrennt (vergl. Kapitel 2.3.3 und 2.3.4). Bei dem Prozeßwasser handelt es sich um verdünntes KFW, der Gehalt an Trockensubstanz liegt zwischen 1,7 und 2,2 %.

Im Betrieb der Anlage ist es nicht gegeben, daß das Konzentrat und das Permeat der Ultrafiltrationseinheit dem Produktionsprozeß wieder zugefügt werden. Somit wurde das in der Versuchsreihe unter Punkt 13.2.1 aufgearbeitete KFW als Abfall der Kläranlage zugeführt. Es werden durchschnittlich 354 l KFW/h benötigt, das sind bei 22 Betriebsstunden 7788 l frisches KFW pro Versuch, damit diese nicht ungenutzt entsorgt werden und um die benötigte Menge an Enzymen zu reduzieren werden die nachfolgenden Versuche im Batch-Verfahren ausgeführt.

Bei diesem Verfahren handelt es sich um eine Kreislaufführung, dazu werden die Stoffströme Konzentrat und Permeat über die Zirkulationsleitungen (PZL und KZL) in den Tank (T20) zurückgeführt, auf diese Weise zirkuliert derselbe Ansatz (800 l) Prozeßwasser während der gesamten Versuchsdauer.

Unter diesen Bedingungen, Temperatur von 38°C und im KFW reichlich vorhandenen Nährstoffen kommt es zu einem Anwachsen der Populationen von Mikroorganismen.

Die Stoffwechselprodukte der Bakterien und Hefen verursachen ein Abfallen des pH-Wertes. Um dem entgegenzuwirken sollte der pH-Wert mit Natronlauge auf 6,3-6,5 (KFW pH 5,6-5,8) eingestellt werden. Diese Maßnahme soll das Ausfallen der Proteine am isoelektrischen Punkt (pH kleiner 4,8) verhindern.

Das Einstellen des pH-Wertes mit Natronlauge erfolgte zunächst manuell, so daß bezogen auf die gesamte Versuchsdauer kein konstanter Wert vorlag.

Weiter handelt es sich bei dem verwendeten Prozeßwasser nicht um das original Prozeßwasser aus der Stärkeauswaschung, vielmehr wird dieses PW modelliert aus mit Wasser verdünnten KFW (3:1). Die Verdünnung ist bei den verschiedenen Versuchen nicht exakt zu reproduzieren, der Gehalt an Trockensubstanz im Zulauf schwankt daher zwischen 1,8 und 3,2 [%] Brix.

Zur Versuchsdurchführung werden ca. 800 l verdünntes KFW, also PW, in den Tank (T20) vorgelegt, das jeweilige Enzym wird in Konzentrationen von 50-100 ppm zugegeben, es erfolgt ein Einstellen des pH mit Natronlauge auf 6,3-6,5. Die Temperatur wird mit Hilfe einer Wasserkühlung bei 38°C gehalten um ein Ausflocken der Proteine zu verhindern. Als Referenzmessung erfolgt ein Versuch ohne Enzymzugabe.

Eine Versuchsdauer beträgt 20-24 Stunden. In dieser Zeit werden die Anlageparameter wie Druck, Temperatur, Zu- und Ablaufmengen, und die Qualitäten von PW, Konzentrat und Permeat alle 2 Stunden dokumentiert. Dazu gehören die Messung der pH-Werte, des Brix und der Leitfähigkeit von Zulauf, Permeat und Konzentrat.

In den drei folgenden Grafiken (16-23–16-25) ist der pH-Wert auf der Primär- und der Konzentrierungsfaktor auf der Sekundärachse gegen die Betriebsstunden aufgetragen.

Es soll der Zusammenhang zwischen den pH-Werten des Zulaufes und dem Konzentrierungsfaktor, und damit der Trennleistung, im Zusammenhang mit pektinolytisch wirkenden Enzymen ermittelt werden.

Wird auf Zugabe von Natronlauge verzichtet, so fällt der pH des Prozeßwassers innerhalb von neun Stunden von 6,1 auf 3,6 ab, Ursache sind die Stoffwechselendprodukte der vorhandenen Mikroorganismen deren Gesamtkeimzahl zu Versuchsbeginn  $1,1 \cdot 10^8$  beträgt /212/. Diese Absenkung führt auch zu einem Ausfallen der Proteine, was sich nachteilig auf die Trennleistung von Membranen auswirkt.

Aus Abb. 16-23 geht hervor, daß es bei der Versuchsreihe PW mit Pektinase 1 nach 6,5 Betriebsstunden zu einer Erhöhung des pH-Wertes im Zulauf auf 9,5 kommt, durch manuelle Zugabe von Natronlauge. Innerhalb von 16,5 Betriebsstunden ist dieser Wert auf 7,8 abgefallen. Parallel dazu verhält sich der Konzentrierungsfaktor. Er beträgt nach 6,5 Betriebsstunden, vor Anhebung des pH, 1,1 nach 8,5 h, 2,9 und nach 16,5 h nur noch 1,4. Der Konzentrierungsfaktor ist somit eindeutig abhängig vom pH-Wert des Zulaufs.

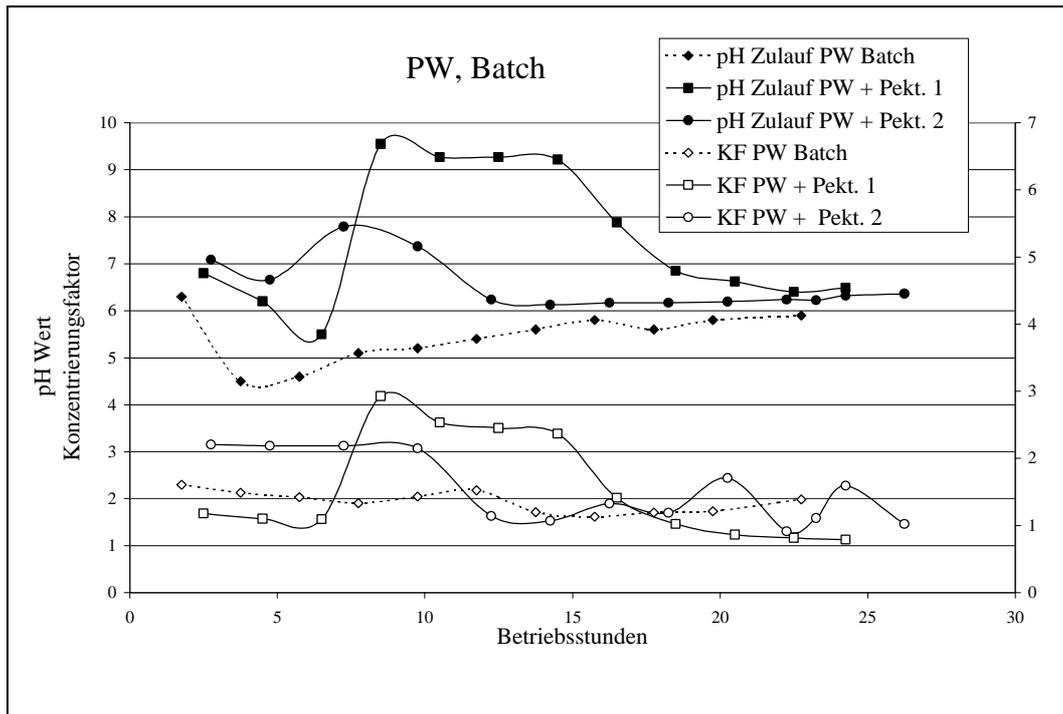


Abbildung 16-23 pH-Wert und KF von PW im Batch-Betrieb enzymatisch behandelt.

Die Darstellung 16-24 läßt erkennen, daß beim PW ohne Enzym die größeren KF erreicht werden, obwohl der pH des Zulaufes mit 5,4 unterhalb dem der Versuchen mit Pektinase 3 und Pektinase 5 mit 6,2 und 5,8 ist. Der Grund dafür liegt darin, das bei dem Batch-Versuch der Brix im Zulauf mit 2,3 [%] tiefer ist als bei dem Versuch mit Pektinase 5 mit 3,3 [%] Brix.

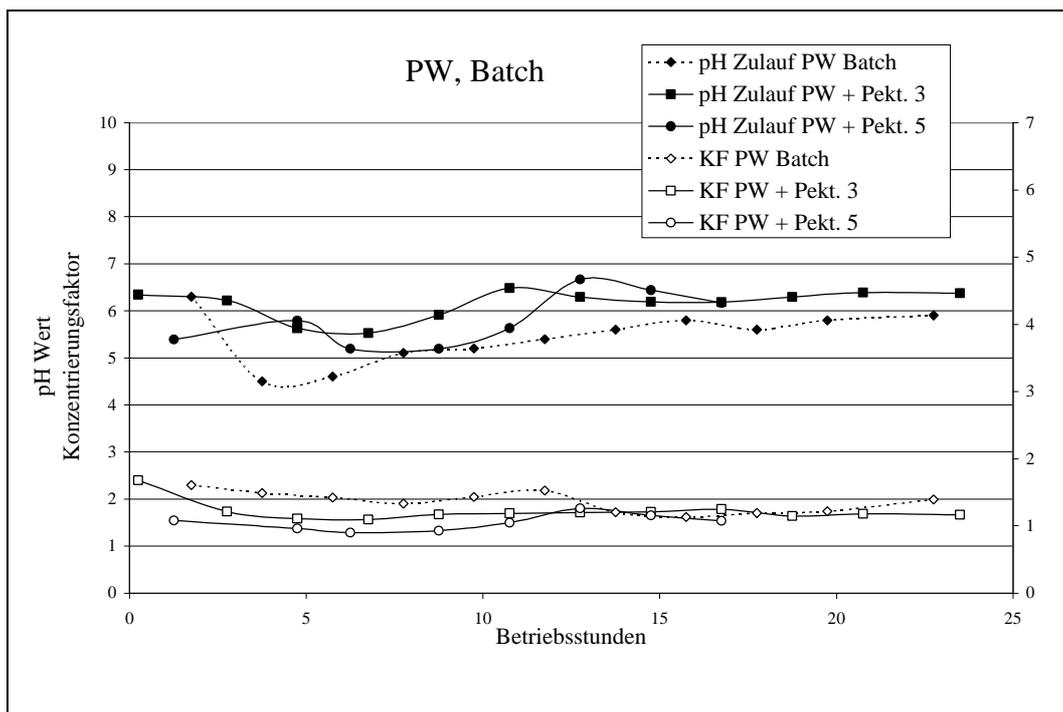


Abbildung 16-24 pH-Wert und KF von PW im Batch-Betrieb enzymatisch behandelt

Darstellung 16-25 enthält gleichermaßen die pH-Werte und Konzentrierungsfaktoren weiterer enzymatischer Versuche an PW im Batch-Verfahren. P3 Ultrasil ist das Enzym welches bei der Reinigung der UO-I in der Emsland-Stärke zum Einsatz kommt. Bei Verwendung von Fructozym P läßt sich innerhalb er ersten 10 Betriebsstunden gut die Abhängigkeit des KF von dem pH des Zulaufes erkennen.

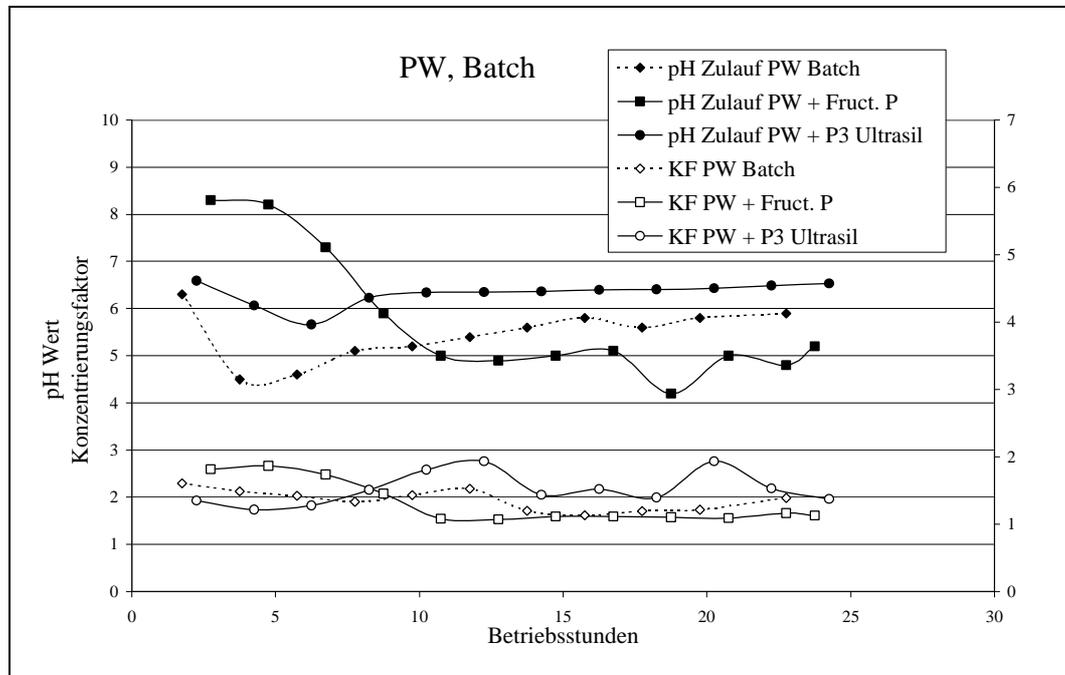


Abbildung 16-25 pH-Wert und KF von PW im Batch-Betrieb enzymatisch behandelt

Die variierenden Parameter bei den Versuchen im Batch-Verfahren nehmen Einfluß auf den Konzentrierungsfaktor, der die Leistungsfähigkeit einer Trennanlage, beschreibt. Aufgrund dessen werden in den drei weiteren Abbildungen (16-26 bis 16-28) der Brix auf der Primär- und der Konzentrierungsfaktor auf der Sekundärachse gegen die Betriebsstunden aufgetragen.

Man erkennt in Abb. 16-26 ein KF Maximum mit 2,9 beim Versuch mit Pektinase 1, dieses ist auf den pH-Anstieg von 5,5 auf 9,5 zurückzuführen. Aus dieser Darstellung kann man entnehmen, das sich jegliche Veränderung der Prozeßparameter, nur bei Berücksichtigung der normalen Prozeßschwankungen, beurteilen lassen. Bei dem Versuch mit Pektinase 2 fällt der KF nach 10 Betriebsstunden von 2,2 auf 1,1, wie auch der pH des Zulaufes (von 7,4 auf 6,2), da es nach einer Betriebsdauer von 17 Stunden zu einer Absenkung des Brix (von 3,4 auf 1) im Zulauf kommt, steigt in der folge auch wieder der KF an.

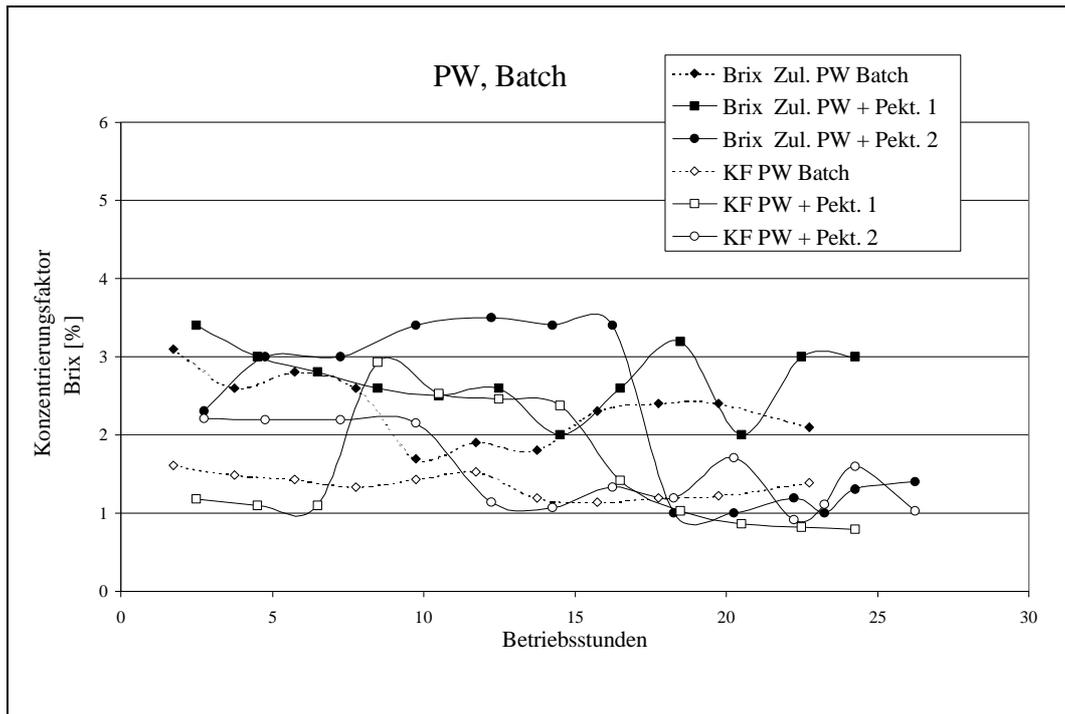


Abbildung 16-26 Brix im Zulauf und KF von PW im Batch-Betrieb enzymatisch behandelt

Weitere Ergebnisse der Batch-Versuche mit den Enzymen Pektinase 3 und 5 werden in Grafik 16-27 vorgestellt. Es ist zu erkennen, daß Bei dem Versuch mit Pektinase 5 der Brix um 1% höher liegt, als bei dem Versuch ohne Enzym, folglich ist auch der Konzentrierungsfaktor geringer.

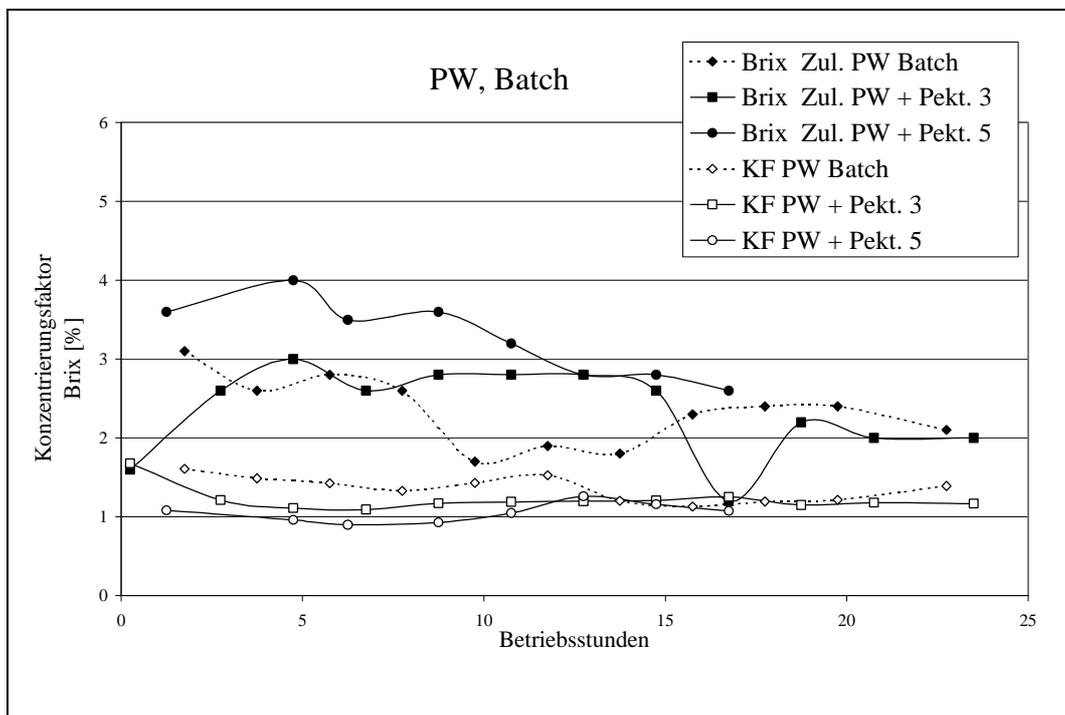


Abbildung 16-27 Brix im Zulauf und KF von PW im Batch-Betrieb enzymatisch behandelt

In Zeichnung 16-28 lassen sind weitere Ergebnisse dargestellt. Zum Einsatz kamen hier die Enzyme Fructozym P und P3 Ultrasil, welches bei der Reinigung der UO-I zum Einsatz kommt. Die Abbildung veranschaulicht die Schwankungsbreiten der Meßparameter, die sich im normalen Anlagenbetrieb ergeben. So variiert der Brix im Zulauf um 1,4 der pH um 1,7 beim Versuch ohne Enzym.

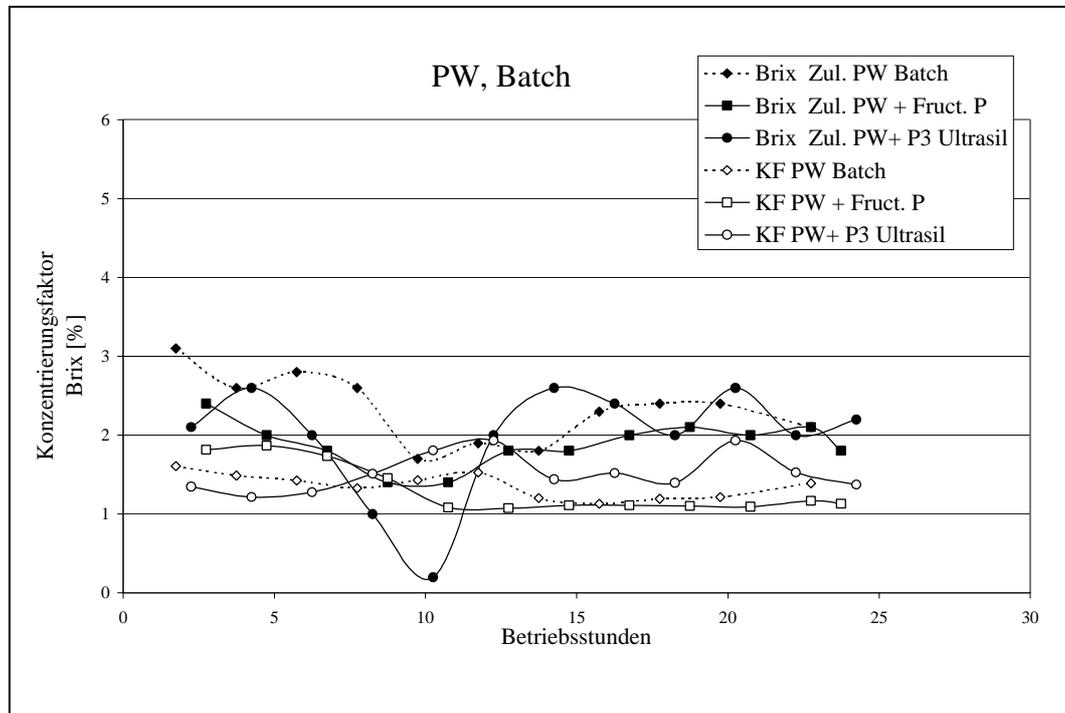


Abbildung 16-28 Brix im Zulauf und KF von PW im Batch-Betrieb enzymatisch behandelt

Aufgrund der Schwankungen der Meßwerte Brix, pH und LF im Zulauf können die KF der einzelnen Versuche nicht unmittelbar miteinander verglichen werden. Doch unter Berücksichtigung der verschiedenen Parameter gelingt eine Einschätzung zur Wirksamkeit der verschiedenen verwendeten Enzyme. Deshalb werden die Mittelwerte der Meßreihen in einem Diagramm aufgetragen.

In Grafik 16-29 werden die Mittelwerte von pH und Brix [%] im Zulauf und der Konzentrierungsfaktor gegen die einzelnen Versuchsreihen aufgetragen.

Für den Versuch mit PW im Batch, welcher als Bezugspunkt verwendet wird, ergibt sich ein Konzentrierungsfaktor von 1,36 bei einem Brix von 2,3 im Zulauf und einem pH-Wert von 5,4. Man erkennt, daß bei dem Versuch mit Pektinase 1 der KF mit 1,55 deutlich erhöht ist, allerdings ist auch der pH mit 7,5 klar über dem angestrebten pH von 5,8 bis 6,0. Die ebenfalls guten Konzentrierungsfaktoren bei Verwendung von Pektinase 2 und Ultrasil P 3 werden bei niedrigen Brix im Zulauf erhalten. Bei Verwendung von Pektinase 5 ist zu

berücksichtigen, daß der Versuch mit einem Brix im Zulauf von 3,3 stattfand, der pH bei 5,8 lag und somit der KF von 1,05 höher zu bewerten ist. In dieser Versuchsreihe zeigen sich die Enzyme Pektinase 3 und Fructozym P wenig wirksam, obwohl der pH oberhalb dem im Batch-Versuch liegt sind hier die KF geringer.

Nicht berücksichtigt wird hier der Reinwasserwert und die variierende Betriebsdauer (18-24 h). Der Reinwasserwert beschreibt die Qualität der vorangegangenen Reinigung der Ultrafiltrationsanlage, der Permeatstrom der Stufen 1+2 liegt dann im Mittel bei 2000 l/h kann aber auch 1300 bzw. 2500 l/h betragen.

Bei längerer Betriebsdauer sind in den Mittelwerten weitere Meßreihen mit den geringeren Permeatmengen zu Ende des Versuches enthalten, welche sich negativ auf den KF auswirken.

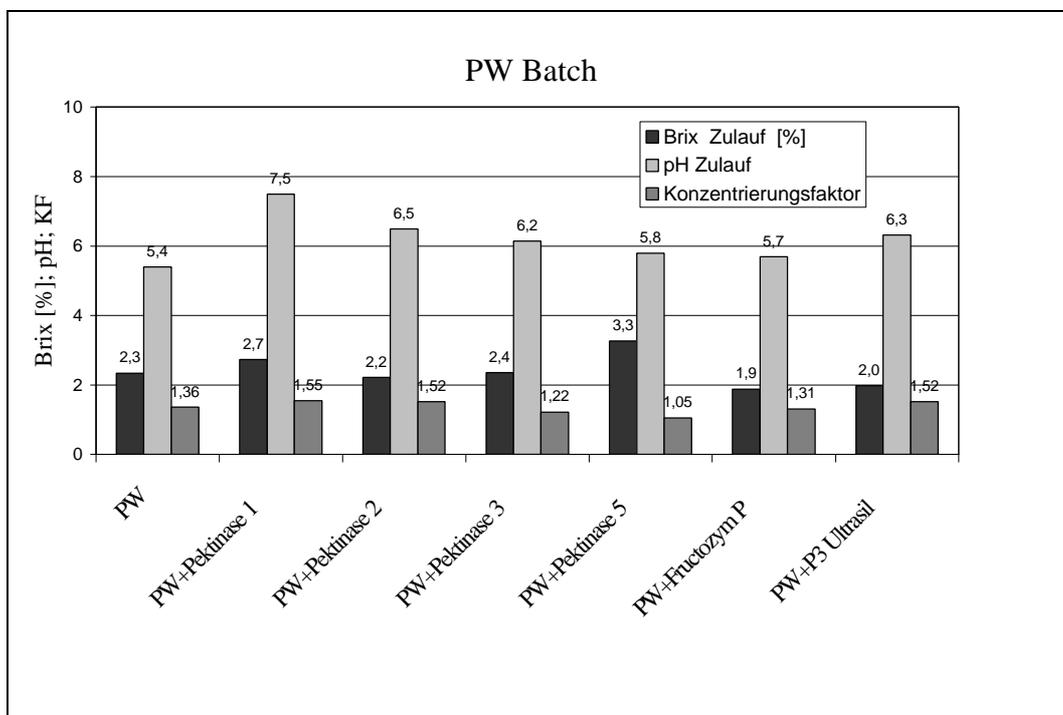


Abbildung 16-29 Mittelwerte; Brix, pH-Wert, KF von enzymatisch behandeltem PW im Batch-Betrieb

### 16.4.2 VERSUCHSDURCHFÜHRUNG MIT PROZESSWASSER IM BATCH-BETRIEB; TEIL ZWEI

(bei veränderter Pumpenleistung)

Die drei folgenden Versuche wurden analog den vorherigen Messungen unter Punkt 16.4.1 durchgeführt, allerdings kommt es durch eine andere Pumpe (Speisepumpe: 3,8 bar, Umwälzpumpe 1; 6,0 bar und Umwälzpumpe 2; 5,8 bar) zu neuen Werten. Daher ist eine neue Bezugsmessung notwendig.

Die anschließende Grafik 16-30 beschreibt den pH im Zulauf auf der Primär- und der Konzentrationsfaktor auf der Sekundärachse gegen die Betriebsstunden aufgetragen. Verwendet wurden die Enzyme Fructozym UF und Spirizym FM Top, obwohl der KF und der Brix beim Versuch mit Spirizym FM Top am geringsten sind lässt sich eine deutliche Erhöhung des KF im Vergleich mit dem Batch-Versuch nicht eindeutig erkennen. Es ist gut zu sehen, in welchem Bereich die normalen Schwankungen innerhalb einer Meßreihe liegen.

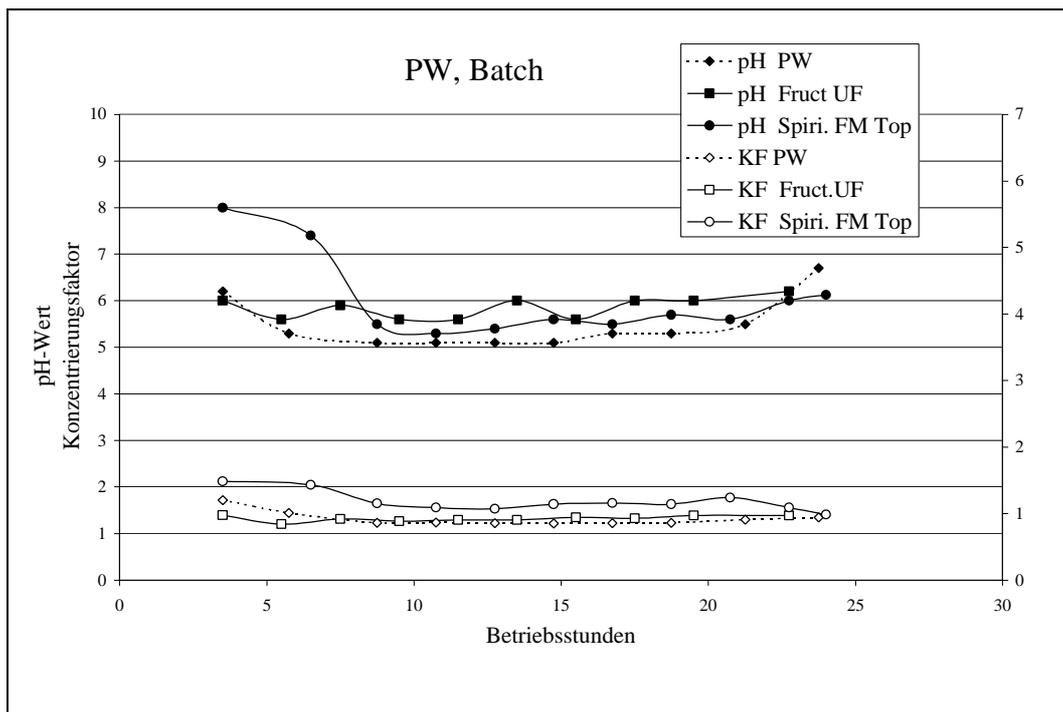


Abbildung 16-30 pH des Zulauf und KF, PW im Batch-Betrieb enzymatisch behandelt

Der Brix im Zulauf auf der Primär- und der Konzentrierungsfaktor auf der Sekundärachse, werden in Abb. 16-31, gegen die Betriebsstunden aufgetragen. Die Werte für den Brix im Zulauf betragen 0,92; 0,92 und 1,18 sowie beim KF 0,83; 0,99 und 1,12 bei den Versuche ohne Enzym und mit Fructozym UF und Spirizym FM Top, eine signifikante Steigerung des KF ist nicht zu ermitteln.

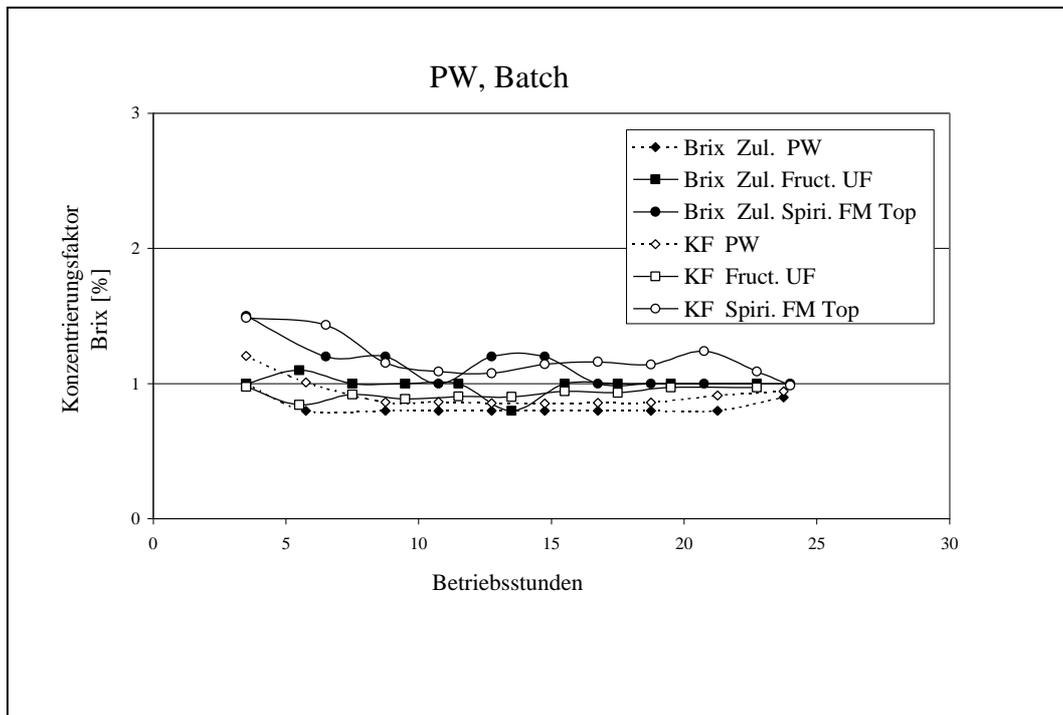


Abbildung 16-31 Brix des Zulauf und KF, PW im Batch-Betrieb enzymatisch behandelt

Um nun möglichst viele Parameter zu berücksichtigen, werden in der Abbildung 16-32 die Mittelwerte von Brix und pH im Zulauf und wie auch der KF dargestellt. Für den Versuch mit PW im Batch, welcher als Bezugspunkt verwendet wird, ergibt sich ein Konzentrierungsfaktor von 0,92 bei einem Wert von 0,83 Brix im Zulauf und einem pH-Wert von 5,5. Man erkennt, daß beim Versuch mit Spirizym FM Top der KF mit 1,18 erhöht ist, bei einem pH von 6,0. Der Reinwasserwert und die variierende Betriebsdauer (18-24 h) werden hier nicht berücksichtigt

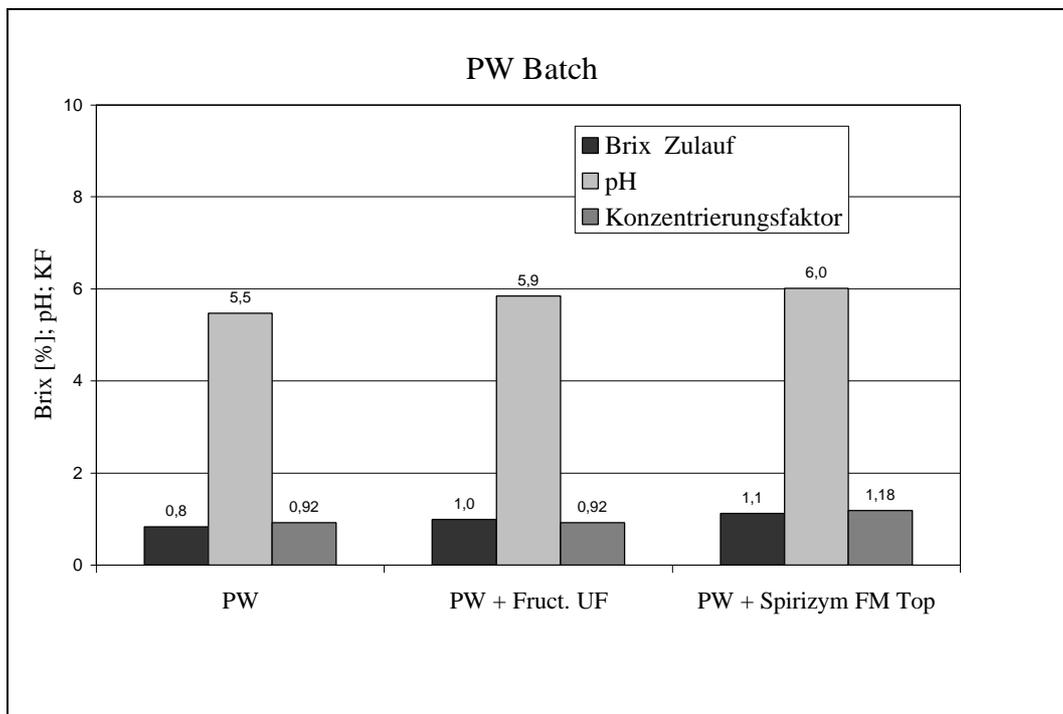


Abbildung 16-32 Mittelwerte; Brix, pH, KF von enzymatisch behandeltem PW im Batch-Betrieb

#### 16.4.3 VERSUCHSDURCHFÜHRUNG MIT PROZESSWASSER IM BATCH-BETRIEB ZUR ERMITTLUNG DER pH-ABHÄNGIGKEIT BEZÜGLICH DER TRENNLEISTUNG

Aus den Versuchen unter Punkt 16.4.2 geht eine eindeutige Abhängigkeit vom pH-Wert des zu trennenden Mediums auf die Trennleistung der Ultrafiltrationsanlage hervor.

Um diesen Effekt qualitativ besser beurteilen zu können wurde nun versucht einige Versuchsreihen bei definierten pH-Werten (pH 5-9), im Batch-Betrieb durchzuführen. Es wurden sechs Versuche durchgeführt, sie erfolgten analog denen unter Kapitel 16.4.2, nur wurden keine Enzyme verwendet. Den vier nachfolgenden Diagrammen ist zu entnehmen, das

dieses mit einigen technischen Problemen verbunden war. So wurde das Einstellen des pH durch dosieren von 40%iger Natronlauge von Hand, in den 1000 l Tank, vorgenommen und das Nachdosieren erfolgte ebenfalls alle 2 h manuell. Zusätzlich wird das Einstellen eines bestimmten pH-Wertes in die zu Versuchsbeginn vorliegenden 800 l PW erschwert durch die enorme Pufferkapazität des KFW.

Grafik 16-33 zeigt den Verlauf der pH-Werte der Versuche 1 bis 6. Bei den Versuchen 2 und 5 in pH 8 Bereichen, gelang ein konstantes Einstellen des pH im PW. Bei den Versuchen 1, 3 und 6 in pH-Bereichen zwischen 5 und 7 ist das Einstellen eines gleichbleibenden Wertes nicht gelungen, die Ursache dafür liegt in der Pufferkapazität der KFW.

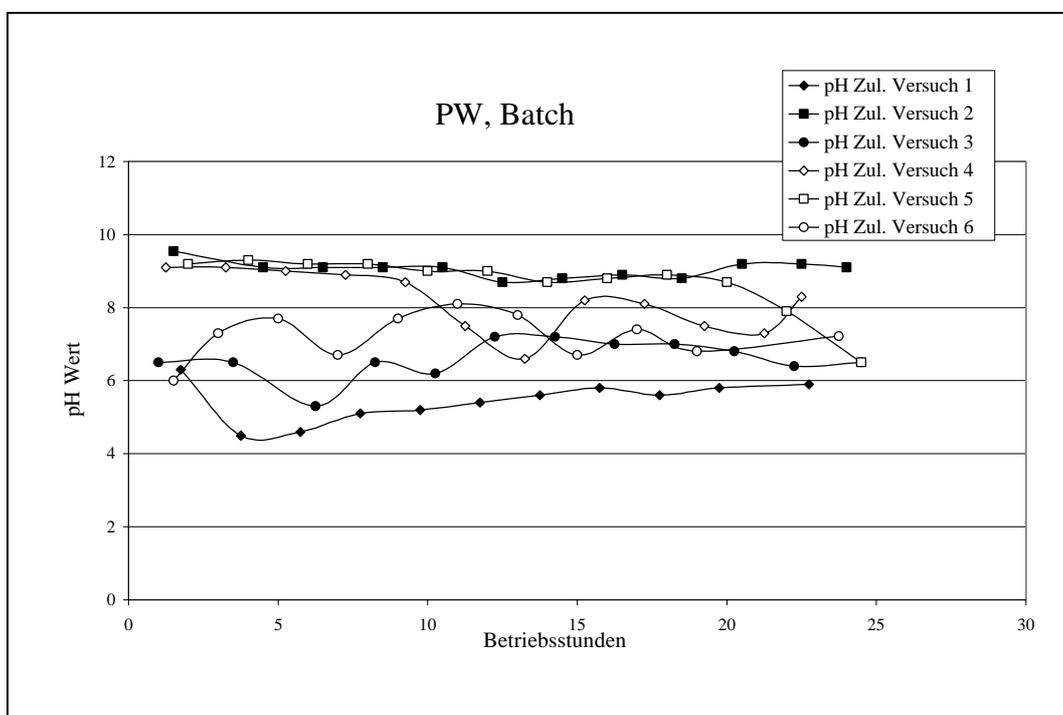


Abbildung 16-33 pH im Zulauf der Versuche mit PW im Batch-Betrieb

Diagramm 16-34 beschreibt den Brix im Zulauf der Versuche 1 bis 6. Wie es im Batch-Betrieb zu derartigen Schwankungen der Werte kommen kann ( $\pm 1$  Brix) ist nicht durch mikrobielle Aktivitäten zu erklären, da durch einen mikrobiellen Abbau der Feststoffe der Brix abfallen, aber nicht ansteigen würde. Gleichwohl handelt es sich um ein immer wieder auftretendes Phänomen. Die Messungen werden durch eine parallel erfolgte Bestimmung der Trockensubstanz nach der DIN Methode /213/ bestätigt.

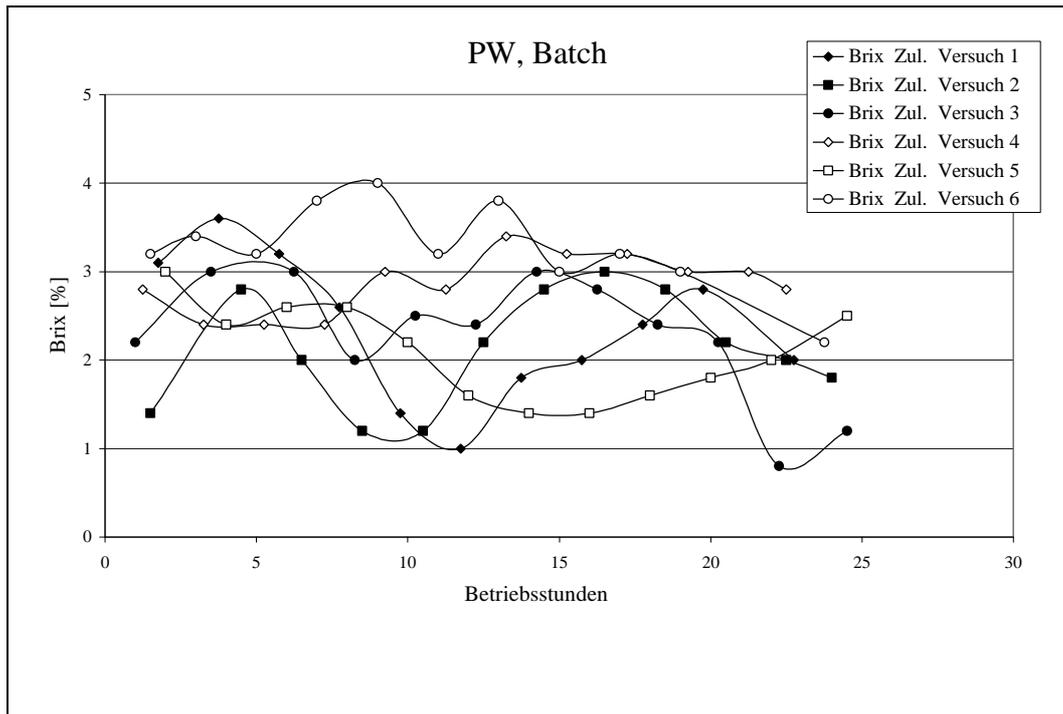


Abbildung 16-34 Brix im Zulauf der Versuche mit PW im Batch-Betrieb

Die Abbildung 16-35 veranschaulicht die Konzentrierungsfaktoren der Versuche 1 bis 6. Der herausragende Wert von 4,6 für den KF bei Versuch 5 nach 12 Betriebsstunden ist nicht nur auf den hohen pH-Wert (9) zurückzuführen, sondern auch auf ein zeitgleich auftretendes Minimum der Brix (1,6) Werte im Zulauf.

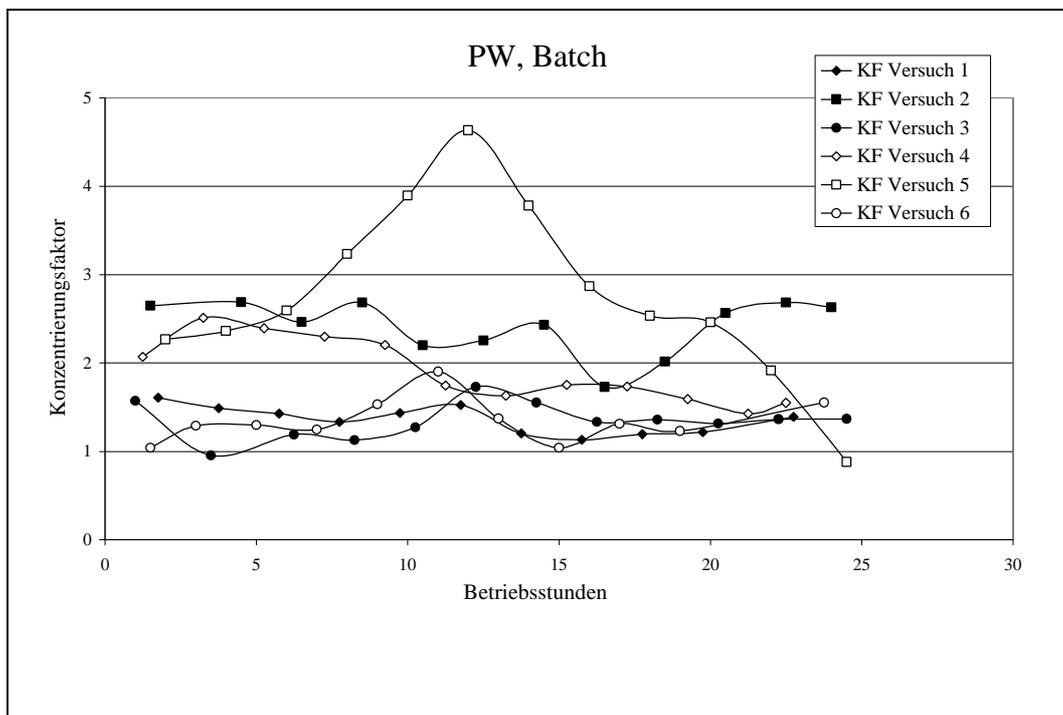


Abbildung 16-35 Konzentrierungsfaktor der Versuche mit PW im Batch-Betrieb

Die Mittelwerte von Brix und pH im Zulauf und der KF werden in Abbildung 16-36 dargestellt, damit möglichst viele Parameter erfaßt werden.

Man erkennt den Einfluß des pH sowie des Brix auf den KF. Betrachtet man die Versuche 1 und 6 mit einem KF von 1,36 und 1,35 so stellt man fest, daß bei Versuch 1 der Brix mit 2,4 um fast 1% unter dem von Versuch 6 mit 3,3 liegt, der pH hingegen mit 5,4 gegenüber 7,2 deutlich geringer ausfällt. Die höchsten Werte mit KF von 2,2 und 2,6 haben hohe pH-Werte mit 8,3 und 7,9, bei Brix um 2,0 und 1,8. Bei Versuch 3 mit einem pH von 6,1 wie er auch beim KFW bzw. PW vorkommt und einem Brix mit 2,1% wird ein Konzentrierungsfaktor von 1,21 generiert. Der Reinwasserwert und die variierende Betriebsdauer (18-24 h) werden hier nicht berücksichtigt.

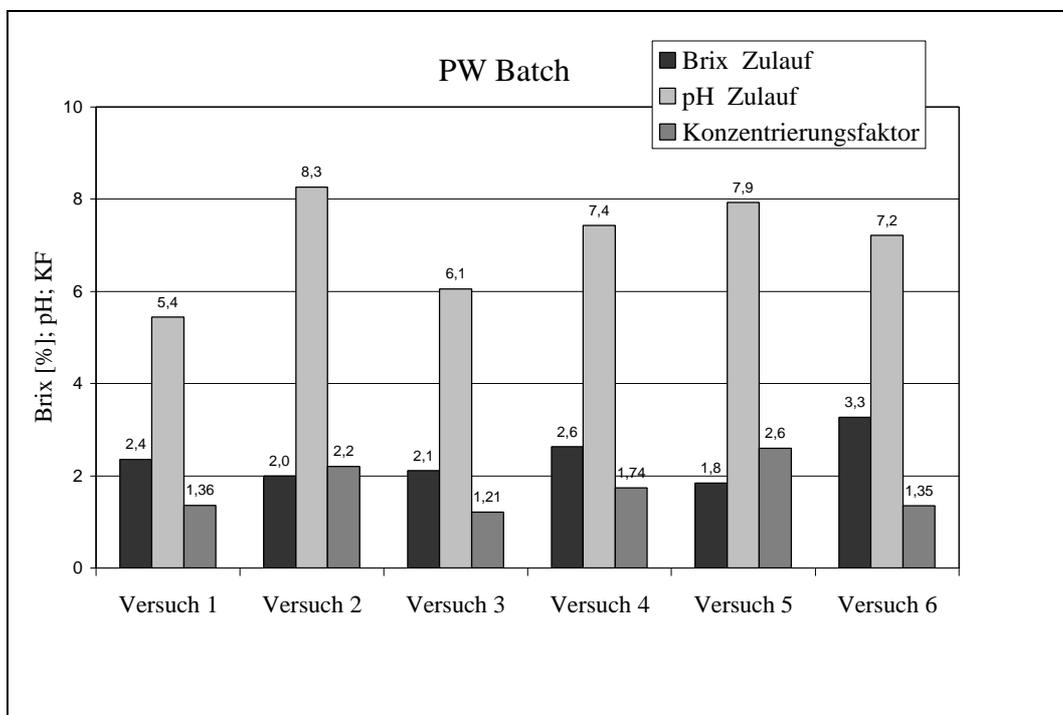


Abbildung 16-36 Mittelwerte; Brix, pH, KF; Versuche PW im Batch-Betrieb

## 16.5 ERGEBNISSE DER VERSUCHE AN DER ULTRAFILTRATIONSANLAGE

Aus den Versuchen mit PW im Batch-Verfahren geht hervor, daß es mit erheblichen Problemen verbunden ist verschiedene Versuche unter den gleichen Parametern (konstante, reproduzierbare Werte für pH und Brix) durchzuführen. Insofern sind die Ergebnisse der Batch-Versuche mit Vorbehalt zu betrachten. Auch mit den pH-Versuchen konnte eine Abhängigkeit der verschiedenen Parameter pH und Brix auf die Trennleistung und somit auf den Konzentrationsfaktor nicht quantitativ ermittelt werden.

## 16.6 EINSATZ DER MIKROFILTRATION

### Prinzip der Querstromfiltration

Wie die Ultrafiltration ist die Mikrofiltration ein spezielles Verfahren, das vor allem vorteilhaft zum Abtrennen molekular gelöster Stoffe eingesetzt werden kann /214/ /215/. Sie unterscheidet sich von anderen Filtrationen durch die Größe der abzutrennenden Partikel und den Trennvorgang.

#### 16.6.1 FUNKTIONSBESCHREIBUNG DER QUERSTROMFILTRATIONS-ANLAGE „KONTI“

Für die Trennversuche mit KFW im Mikrofiltrationsbereich wurde eine Querstromfiltrations-Anlage der Fa. Umsicht (Oberhausen) zur Verfügung gestellt. Dabei handelt es sich um Rohrmodule die aus Aluminiumoxyd ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) Membranen bestehen. Entsprechend der Porösität ( $0,05\mu\text{m}$ ) dieser Membranen gelangen, über ein rein mechanisch physikalisches Trennverfahren, niedermolekulare Stoffe wie Ionen, Aminosäuren usw. durch den Membrankörper, während Makromoleküle z.B. Bakterien, Proteine, Feststoffe etc. zurückgehalten werden.

Die Wirkungsweise der Anlage wird im folgenden und mit Hilfe des Verfahrensfließbildes (Abb. 16-37) erklärt.

Aus einem Vorlagebehälter (VB), der das aufzuarbeitende Medium KFW enthält, wird der Arbeitsbehälter (B1) mittels einer Befüllpumpe (P4) befüllt.

Erreicht das Flüssigkeitsniveau im Arbeitsbehälter die maximale Füllhöhe (LS  $1\equiv 200$  l), die durch einen Schwimmerschalter fixiert ist, beginnt die Anlage automatisch mit der Filtration.

Die Umwälzpumpe (P1) fördert das KFW aus dem Arbeitsbehälter durch die Membranelemente, die sich im Mikrofiltrationsmodul (M1 und M2) befinden. Die Membranelemente werden dabei tangential von dem KFW durchströmt. Die Überströmung beträgt 8000 l/h das entspricht einer Lineargeschwindigkeit von 1,78 m/s.

Aufgrund ihrer Molekülgröße sind kleine Teilchen in wässrigen Lösungen in der Lage, durch die Membranschicht hindurchzuwandern, während die größeren Teilchen zurückgehalten werden. Auf diese Weise können Lösungen von den Verunreinigungen getrennt und über den Filtratausgang (= Permeat) einer weiteren Verwendung zugeführt werden.

---

Das Konzentrat (= Retentat; das mit Verunreinigungen angereicherte Medium), welches die Module durch den Retentatausgang verläßt, wird wieder dem Arbeitsbehälter (Kreislaufführung) oder einer weiteren Verwendung zugeführt.

Durch die kontinuierliche Abführung von Permeat sinkt das Flüssigkeitsniveau im Arbeitsbehälter immer weiter ab und konzentriert sich mit Verunreinigungen auf. Erreicht das Niveau im Arbeitsbehälter die minimale Höhe (LS 2≅36 l), die ebenfalls durch einen Schwimmerschalter fixiert ist, erhält die Befüllpumpe ein Signal und beginnt erneut, den Arbeitsbehälter zu füllen. Der Filtrationsvorgang beginnt von neuem. Da das Konzentrat zwischen den Filtrationszyklen im Arbeitsbehälter verbleibt, steigt die Konzentration an Verunreinigungen mit zunehmender Zahl von Zyklen immer weiter an.

Während der Filtrationsvorgänge wird in periodischen Abständen ein Druckluftstoß (back-flashing) auf die Permeatseite des Filtrationsmoduls gegeben. Dadurch wird das gereinigte Wasser (Permeat) durch die Membrane hindurch auf die Seite des verunreinigten Mediums gedrückt. Auf diese Weise werden Ablagerungen auf der Membran abgesprengt und eine höhere Permeatleistung erzielt. Die Rückspülung erfolgt manuell ca. alle 2 Stunden, da der periodische „backflash“ nicht automatisch stattfindet. Ein positiver Effekt der Rückspülung auf die Permeatmenge konnte nicht festgestellt werden.

Die Anzahl von Filtrationsvorgängen kann an einem Display am Schaltschrank eingestellt werden. Die Anlage wurde mit P3 Ultrasil 11 manuell gereinigt (Natronlauge, Na- Salze, mehrbasische Carbonsäuren). Die Anlage wird mit einem mittleren Druck von 2,5 bar betrieben.

### Fließbild der Querstromfiltrationsanlage „Konti“

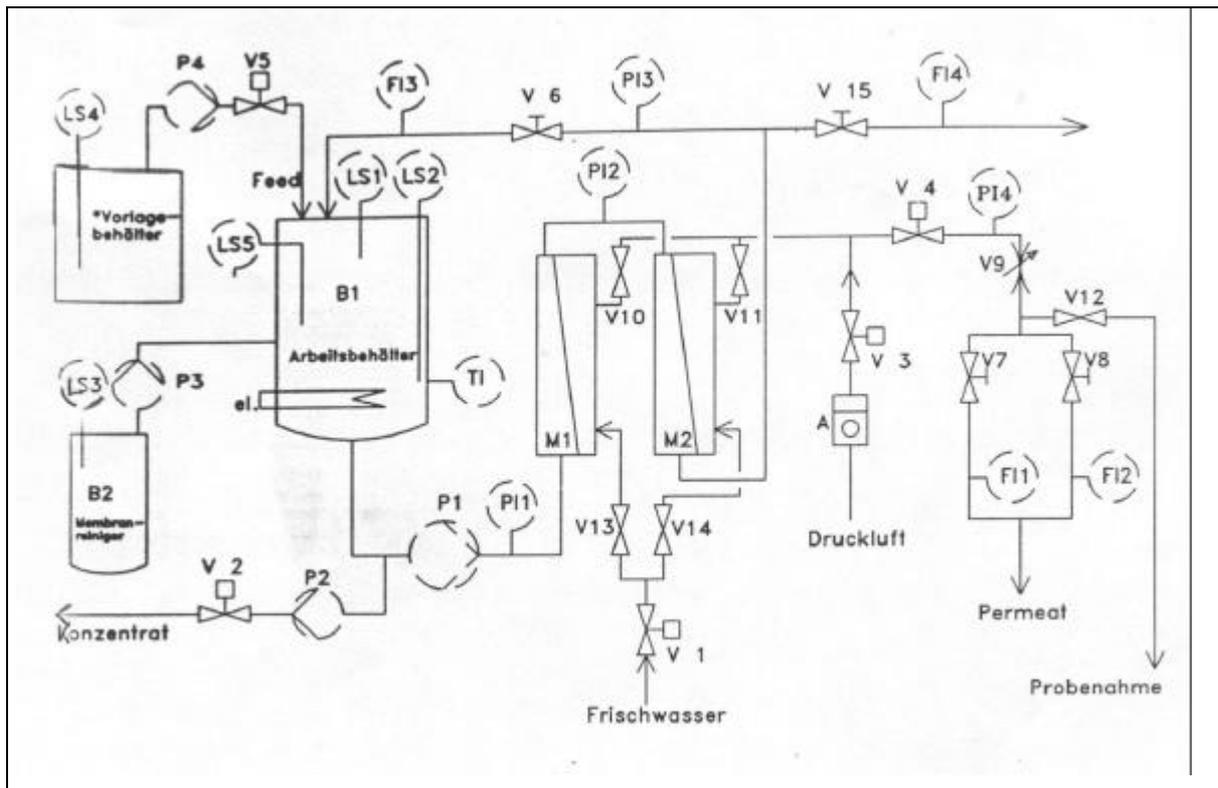


Abbildung 16-37 Fließbild der Mikrofiltrationsanlage

Legende:

B1	Arbeitsbehälter	M 1-2	Module
B2	Membranreinigerbehälter	LS 1,2,5	Füllstandgrenzschalter
P1	Umwälzpumpe	LS 3,4	Schwimmerschalter
P2	Ablaufpumpe	PI	Druckmanometer
P3	Dosierpumpe	TI	Thermometer
P4	Befüllpumpe	FI1	Durchflußmesser
FI2	Durchflußmesser	V1-V5	2/2-Weg-Sitzventil
FI3	Durchflußmesser	V6-V15	Kugelhahn
FI4	Durchflußmesser	A	Drucklufteinheit (mit Druckschalter)
el.	Heizung		

Folgende Tabelle (16-1) legt die im Produktionsprozeß auftretenden Betriebsdrücke der Mikrofiltrations-Anlage dar.

	Reinwasser	Beginn	Ende	Max.
Eingangsdruck [bar]	3	3,2	3,5	3,9
Zwischendruck [bar]	2	2	2,1	1,6
Ausgangsdruck [bar]	1	0,7	0,7	0,6
Permeatdruck [bar]	0,2	0	0	0
Mittlerer Druck [bar]	2	2,5	2,8	3,3

Tabelle 16-1 Betriebsdruck der Mikrofiltrationsanlage

Tabelle 16-2 enthält die Membrankenndaten der Mikro- und Ultrafiltrations-Anlage aufgeführt. Der Hauptunterschied besteht im Membranmaterial selbst. Trotz Angabe gleicher Porengröße kommt es zu verschiedenen Rückhaltungsvermögen (vergl. Tab.16-3).

	UF	UF	MF
Membrantyp	WFB‘0125’	WFS‘8015’	
Membranwerkstoff	HPS	PS	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>
Trenngrenze [Dalton]	50000	100000	
Porengröße [µm]	0,025	0,05	0,05
Max. Temp. [°C]	85	85	70
Max. Druck [bar]	10	10	10
pH - Bereich	2-11	2-11	1-14

Tabelle 16-2 Membrankenndaten der Mikro- und Ultrafiltrations-Anlage

### 16.6.2 VERSUCHSDURCHFÜHRUNG

Die Mikrofiltrations-Anlage sollte hinsichtlich ihrer Anwendbarkeit auf die Aufarbeitung von KFW begutachtet werden. In einem folgenden Schritt sollte die Wirkung pektinolytischer Enzyme auf die Trennleistung ermittelt werden. Dazu wurde die Anlage ausschließlich mit KFW betrieben. Es ergaben sich zwei mögliche Verfahrensbedingungen, der Zyklbetrieb sowie der Parallelbetrieb.

#### **Zyklbetrieb**

Aus einem Vorlagebehälter (VB, 1000 l), der das KFW enthält, wird der Arbeitsbehälter mittels einer Befüllpumpe befüllt. Erreicht das Flüssigkeitsniveau im Arbeitsbehälter die maximale Füllhöhe von 200 l, die durch einen Schwimmerschalter fixiert ist, beginnt die Anlage automatisch mit der Filtration.

Eine Umwälzpumpe fördert das KFW aus dem Arbeitsbehälter durch die Membranelemente, die sich im Mikrofiltrationsmodul befinden. Die Membranelemente werden dabei tangential von dem KFW durchströmt. Auf diese Weise wird das Permeat von den Inhaltsstoffen des KFW getrennt und verläßt die Anlage über den Permeatausgang.

Das Konzentrat, welches die Module durch den Retentatausgang verläßt, wird wieder dem Arbeitsbehälter, Kreislaufführung, zugeführt. Durch diese kontinuierliche Abführung von Permeat sinkt das Flüssigkeitsniveau im Arbeitsbehälter immer weiter ab und konzentriert sich mit Verunreinigungen auf. Erreicht das Niveau im Arbeitsbehälter die minimale Höhe von 36 l, die ebenfalls durch einen Schwimmerschalter fixiert ist, erhält die Speisepumpe ein Signal und beginnt erneut, den Arbeitsbehälter zu füllen. Der Filtrationsvorgang beginnt von neuem. Da das Konzentrat zwischen den Filtrationszyklen im Arbeitsbehälter verbleibt, steigt die Konzentration an Verunreinigungen mit zunehmender Zahl von Zyklen immer weiter an.

### **Beurteilung des Zyklensbetriebes unter Verwendung von KFW**

Beim Zyklensbetrieb reichert sich, durch die kontinuierlich abgehende Permeatmenge, Konzentrat im Arbeitsbehälter an.

Durch dieses Konzentrat kommt es zu Ablagerungen von Kartoffelprotein und Zellulose in Form eines festen Schaumes auf der Oberfläche des unteren Füllstandsgrenzschalters. Dieser Schalter reagiert mit fortlaufender Betriebsdauer nicht mehr. Aus diesem Grund wird der Arbeitsbehälter nicht von neuem mit frischem KFW befüllt.

Das bedeutet das diese 36 l Konzentrat von der Anlage bei fortlaufender Aufkonzentrierung weiter zirkuliert werden. Durch diese stetige Umwälzung kommt es zu einer Erwärmung der Module auf ca. 70 °C, die Temperaturerhöhung induziert ein Ausfallen der Proteine, welche als schnittfeste Masse die komplette Anlage ausfüllen.

Deshalb wird der Arbeitsbehälter, wenn sich dieser auf 1/3 bis 1/4 des Gesamtvolumens geleert hat, manuell wieder gefüllt. Der für KFW charakteristische Schaum erschwert auch diese Vorgehensweise, in der Art, daß die Füllhöhe im Arbeitsbehälter nicht exakt zu erkennen ist. Die Pumpen verfügen über keinen Trockenlaufschutz.

Im Hinblick auf die Problematik, der beständigen Aufkonzentrierung des im AB befindlichen KFW, ohne eine reproduzierbare Zugabe von frischem KFW, wurde versucht kontinuierlich Konzentrat abzulassen. Dieserart soll ein zu starkes Eindicken des in der Anlage

verbleibenden Konzentrates unterbunden werden. Dazu wurde über Ventil V2 und mit Hilfe einer Lochscheibe versucht kontinuierlich Konzentrat abzulassen, es gelang nicht eine definierte Volumenmenge zeitlich konstant einzustellen. Auch bei dieser Verfahrensvariante bestand die Notwendigkeit die Anlage manuell mit KFW zu füllen. Ein positiver Einfluß bzw. irgendein Einfluß der Rückspülung auf die Permeatmenge konnte nicht beobachtet werden.

### Ergebnisse der Versuche im Zyklbetrieb

Bei den acht Versuchen im Zyklbetrieb ist die Mikrofiltrationsanlage nicht vollautomatisch diskontinuierlich gelaufen. Veränderungen am Anlagebetrieb (manuelles Befüllen, Ablassen eines Teiles des Konzentrates) führen dazu, daß die Volumenströme von Zulauf und Konzentrat nicht bekannt sind.

Die nachfolgenden Diagramme 16-38 und 16-39 beschreiben die so erhaltenen Meßwerte. Die Abb. 16-38 beinhaltet die erhaltenen Permeatmengen der Versuche 1 bis 8 an der gegen die Betriebsstunden aufgetragen. Bei den Versuchen eins, zwei und acht ist ein starker Leistungseinbruch nach ca. 8 Betriebsstunden zu erkennen, die Permeatmenge fällt hier um 29,6 [l/m<sup>2</sup> h]. Eine Zwischenreinigung könnte da Abhilfe schaffen.

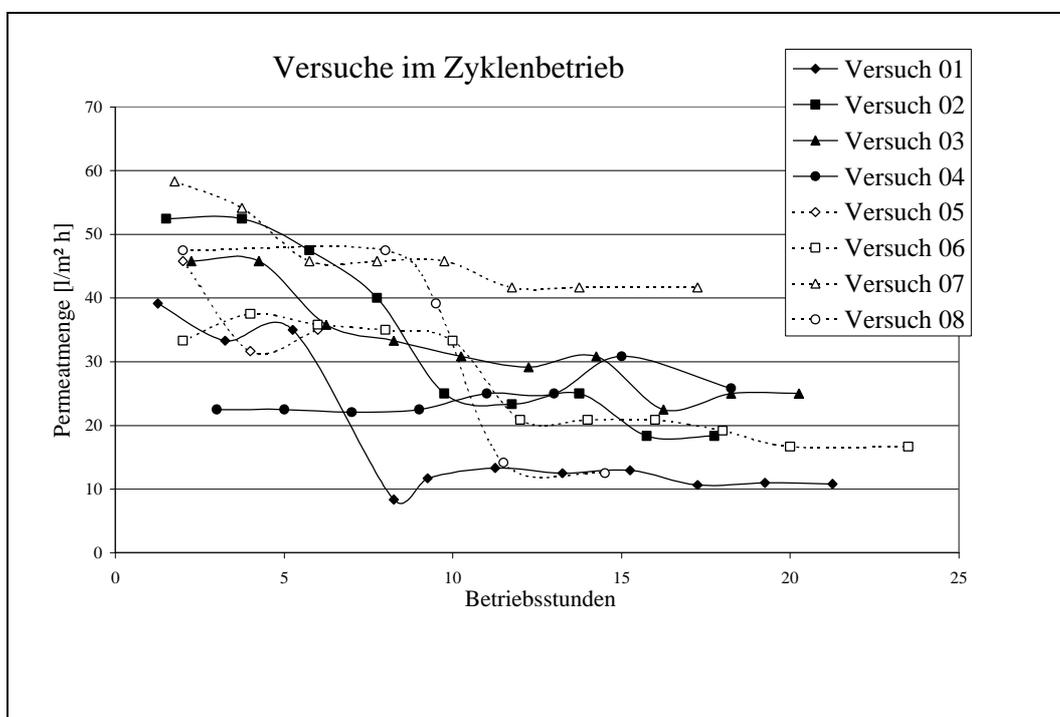


Abbildung 16-38 Permeatmengen der Versuche 1 bis 8 an der Mikrofiltrationsanlage

In Grafik 16-39 ist die Brix-Differenz der Stoffströme, Konzentrat minus Zulauf zur Membran, also dem Inhalt der Arbeitsbehälters, gegen die Betriebsstunden abgebildet. Da das Konzentrat im Kreis geführt wird, soll auf diese Weise der ständig variierende Brix im Zulauf dokumentiert werden.

Gut zu erkennen ist, bei den Versuchen 1 und 3 die Erhöhung des Brix nach 15 bis 20 Betriebsstunden, welche durch ein Festfahren der Anlage durch ausfallende Proteine generiert wird. Ebenfalls ist die diskontinuierliche Arbeitsweise der Anlage zu erkennen. Eine Erhöhung des Brix um 1,5% zwischen Zulauf und Konzentrat ist im Mittel gegeben.

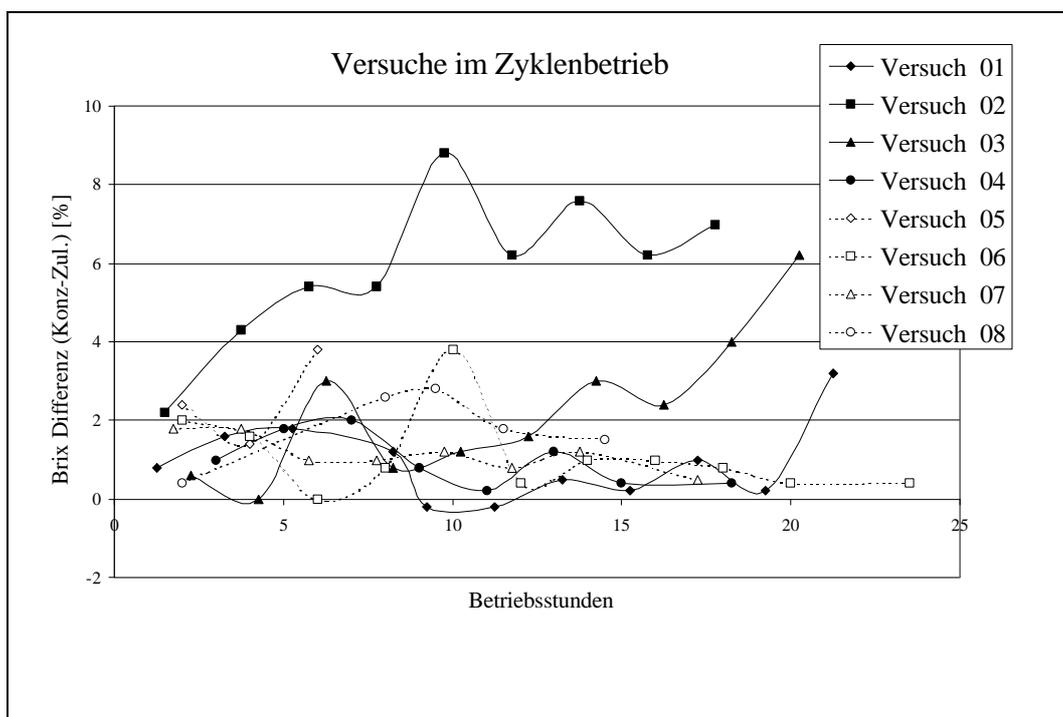


Abbildung 16-39 Differenz des Brix in den Stoffströmen der Versuche 1 bis 8 an der MF

### **Betrieb der Mikrofiltrations-Anlage mit parallel geschaltetem Arbeits- und Vorratsbehälter**

Grundsätzlich erfolgt der Betrieb wie unter Punkt 16.6.2 beschrieben. Jedoch wird wegen der bei Verwendung von KFW unbrauchbaren Füllstandsgrenzschar, welche die notwendige Befüllung des Arbeitsbehälters mit KFW verhindern, folgende Maßnahme getroffen:

In zwei Versuchen wird die Mikrofiltrationsanlage mit KFW unter Umgehung der Füllstandsgrenzschar betätigt. Hierzu werden durch Öffnen der Ventile V2 und V5 der Arbeits- und der Vorratsbehälter parallel geschaltet. Infolgedessen sind die Volumenströme von Zulauf und Konzentrat nicht bekannt.

## Ergebnisse der Versuche mit KFW im Parallelbetrieb

In den nachfolgenden Abbildungen sind die Meßdaten der Versuche mit parallel geschaltetem Arbeits- und Vorratsbehälter an der Mikrofiltrationsanlage dargestellt.

Grafik 16-40 enthält die Werte der Volumenströme von Permeat und Konzentrat auf der Primär-, sowie den Konzentrierungsfaktor auf der Sekundärachse, aufgetragen gegen die Betriebsdauer. Der Konzentrierungsfaktor wird gebildet aus dem Verhältnis Permeat zu Konzentrat. Die starken Variationen der Meßwerte haben ihre Ursache in der jeweiligen Füllhöhe des Arbeitsbehälters sowie in der nicht kontinuierlich einstellbaren Ablaufmenge des Konzentrats. Es ergeben sich Permeatmengen von 38-46 [l/m<sup>2</sup>h] bei Konzentratmengen von 20- 82 [l/h]. Das entspricht im Mittel einem Konzentrierungsfaktor von 1,07 bzw. 1,55.

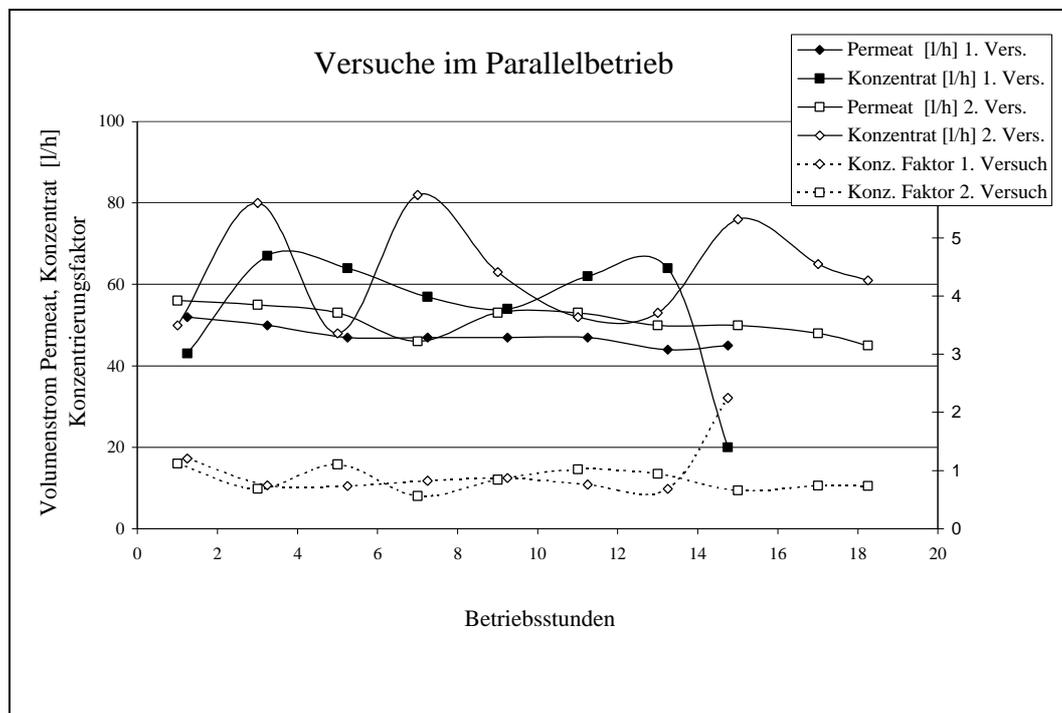


Abbildung 16-40 Stoffströme der Versuche AB und VB parallel an der MF

In Grafik 16-41 wird der Brix der Stoffströme gegen die Betriebsdauer dargestellt. Auch hier sind die prozeßbedingten Schwankungen der Meßparameter gut zu erkennen. Die Mittelwerte liegen bei 6,9 Brix für den Zulauf, bei 8,2 Brix für das Konzentrat und betragen 4,1 Brix für das Permeat. Unter diesen Bedingungen beträgt die Erhöhung des Brix im Konzentrat 1,3[%].

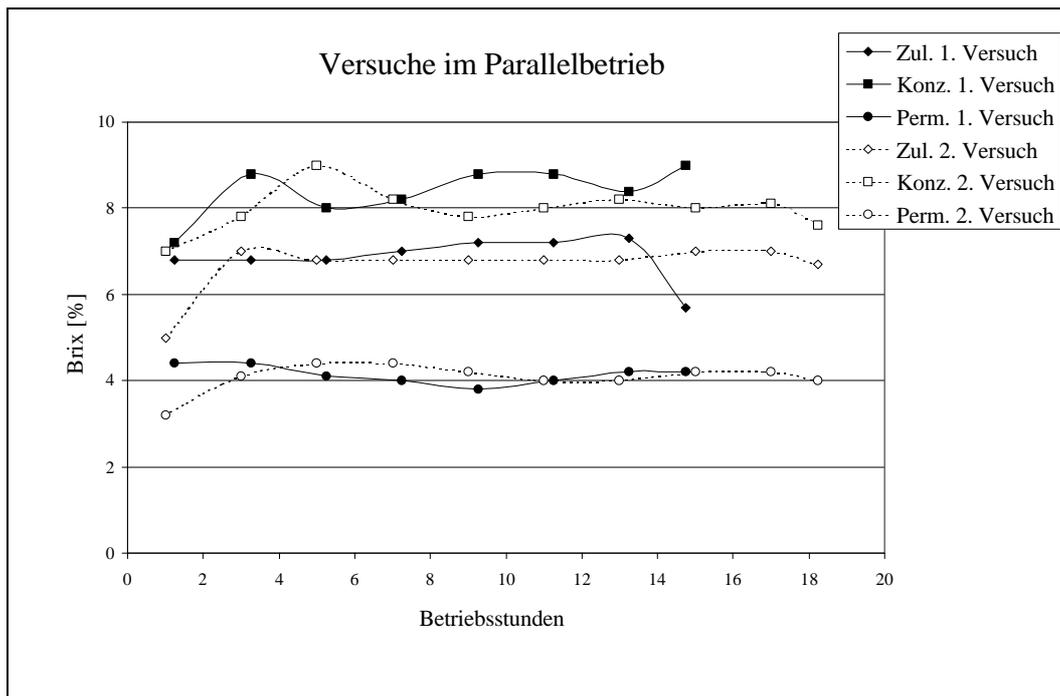


Abbildung 16-41 Brix der Stoffströme, der Versuche AB und VB parallel, an der MF

**Analytik**

Die Tabelle 16-3 enthält die Mittelwerte der Meßparameter der Permeate gewonnen aus der Mikro- und Ultrafiltration.

	KFW	Perm. MF	Rückhaltung [%]	Perm. UF	Rückhaltung [%]
Brix [%]	6,6	4,2	36,36		
	6,2			2,8	54,84
Leitfähigkeit [mS/cm]	13,18	14,34		12,08	
pH	5,8	5,8		5,8	
TS [%]	5,93	3,92	33,9		
	4,87			2,46	49,5
N (Kjeldahl)[%]	0,474	0,2463	48,04		
	0,4497			0,1307	70,94
CSB [mg/l]	56835	38880	31,59	23471	58,70
Kalium [g/l]		10			

Tabelle 16-3 Summenparameter der Permeate der Mikro- und Ultrafiltration.

Das bei der Mikrofiltration im Vergleich zur Ultrafiltration geringere Rückhaltevermögen kommt aufgrund der verschiedenen Membranen zustande. Das wird am deutlichsten belegt durch den Brix des Permeates, der 4,2 bei der Mikrofiltrationsanlage und beim Permeat der

---

Ultrafiltrationseinheit 2,8 beträgt. Obwohl von den Herstellern bezüglich der Porengröße die gleichen Angaben gemacht werden.

### 16.6.3 BEURTEILUNG DER VERSUCHE AN DER MIKROFILTRATIONSANLAGE UNTER VERWENDUNG VON KFW

Grundsätzlich ist zunächst notwendig die Mikorfiltrationsanlage kontinuierlich oder diskontinuierlich vollautomatisch zu betreiben. Um auf diese Weise ein Aufstellen von Stoff- und Energiebilanzen zu ermöglichen und eine Reproduzierbarkeit zu erlangen.

Die diskontinuierliche Arbeitsweise der Konzentratzirkulation hat sich aufgrund des geringen Anlagevolumens und der damit verbundenen Konzentrationsschwankungen als nicht sinnvoll erwiesen. Generell entstand der Eindruck, daß eine Anlage die auf größere Volumen ausgelegt ist, mit KFW weitgehend störungsfreier und kontinuierlicher gelaufen wäre.

Prinzipiell erscheint eine Permeatleistung von 25-40 [l/m<sup>2</sup>h] auch bei längerem Betrieb mindestens möglich zu sein.

---

## 17 LITERATURVERZEICHNIS

1 **Mittenzwey, R.; Seidenstücker, T.; Fritz, H.-G.; Süßmuth, R.:** Stuttgart (Deutschland): Prüfung der Umweltverträglichkeit neu entwickelter Polymerwerkstoffe auf der Basis nachwachsender Rohstoffe durch ein einfaches Testsystem; *Starch/Stärke* 50 (1998); Nr. 10; 438–443

2 **Kremser, Dipl.-Chem. Ulrich:** Einsatz der Membranfiltrationsverfahren Umkehrosmose und Ultrafiltration zur Konzentrierung und Stofftrennung von Prozeß- und Abwasser der Stärkeindustrie; Dissertation Universität Hannover, Fachbereich Chemie; (1990)

3 **Sarathi Reddy, O. V.; Basappa, S. C.:** Mysore (India); Selection and Characterisation of *Endomycopsis fibuligera* Strains for One- Step Fermentation of Starch to Ethanol; *Starch/Stärke*; V 45; Nr. 5; (1993); 187–194

4 **Maurer, H. W.; Laurel, Kearney, R. L.; Rapids C.:** IA (USA); Opportunities and Challenges for Starch in the Paper Industrie; *Starch/Stärke*; V 50; Nr. 9; (1998); 396–402

5 **Potente, H.; Schöppner, V.; Rücker, A.:** (Paderborn); Verarbeitung von Kartoffelstärke auf Kunststoff-Verarbeitungsmaschinen; *Starch/Stärke*; V 43; Nr. 6; (1991); 231-235

6 **Fritz, H.-G.; Widmann, B.:** Stuttgart (Deutschland); Der Einsatz von Stärke bei der Modifizierung synthetischer Kunststoffe; *Starch/Stärke*; V 45; Nr. 9; (1993); 314–322

7 Statistisches Bundesamt; Pressestelle; Gustav-Stresemann-Ring 11; 65189 Wiesbaden; 5.: Deutsche Agrarproduktion; Landwirtschaft und Ernährung; Tabelle Nr. 92 und 94; (2000);

8 **van der Zaag, D. E.:** Entwicklungstendenzen in der Stärke und Zuckerindustrie in Abhängigkeit vom Rohstoff; *Starch/Stärke*; V 30; Nr. 12; (1978); 409-413

9 **Seekamp, Dr. M.:** Emsland-Stärke GmbH; interne Mitteilung; 14.04.97

- 
- 10 **Seekamp, Dr. M.; Sielker, M.:** Emsland-Stärke GmbH; interne Mitteilung; 16.09.97
- 11 **Seekamp, Dr. M.; Rakers, M.:** Emsland-Stärke GmbH; interne Mitteilung; 16.09.97
- 12 **Ullmanns Enzyklopädie der technischen Chemie;** 4., neubearbeitete und erweiterte Auflage; Verlag Chemie Weinheim; Band 22; Stärke; (1982); 177
13. **Vauck, W. R. A:** Grundoperationen chemischer Verfahrenstechnik; 10. Auflage; Leipzig, Stuttgart; Dt. Verlag für Grundstoffindustrie; (1994); 239
- 14 **Ullmanns Enzyklopädie der technischen Chemie;** 4., neubearbeitete und erweiterte Auflage; Verlag Chemie Weinheim; Band 22; Stärke (1982); 179; Abb.: 22
- 15 Landwirtschaftskammer Weser-Ems; Jägerstr. 23-27; 26121 Oldenburg; Analysennummer: 7277; 13.10.95;
- 16 **Seekamp, Dr. M.:** Interne Mitteilung Emsland-Stärke; 14.04.97
- 17 **Vauck, W. R. A:** Grundoperationen chemischer Verfahrenstechnik; 10. Auflage; Leipzig, Stuttgart; Dt. Verlag für Grundstoffindustrie; (1994); 241
- 18 **Steegmans, Dipl.- Ing. Robert:** Bericht zum Forschungsvorhaben 02-WA 8912/8 Verbundprojekt Stärkeabwasser; Teil 2: Protein- und Mineräldüngerrückgewinnung bei der Abwasserentsorgung; Forschungsinstitut für Wasser- und Abfallwirtschaft an der RWTH Aachen; (1993)
- 19 **Kremser, Dipl.-Chem. Ulrich:** Einsatz der Membranfiltrationsverfahren Umkehrosmose und Ultrafiltration zur Konzentrierung und Stofftrennung von Prozeß- und Abwasser der Stärkeindustrie; Dissertation Universität Hannover, Fachbereich Chemie; (1990)
- 20 **Clever, M.; Knauf, R.; Rübiger, N.:** Aufbereitung von Oberflächenwasser durch die Kombination Ultrafiltration/Umkehrosmose; Chemie Ingenieur Technik; 72; 9; (2000); 1087-1088

- 
- 21 **Slominska, L.; Grajek, W.; Grzeskowiak, A.:** Enzymatic Starch Saccharification in an Ultrafiltration Membrane Reactor; *Starch/Stärke*; 50; 9; (1998); 390-396
- 22 **Goers, B.; Schreiner, A.; Wiesmann, U.; Wozny, G.:** Kombination von Ultrafiltration und biologischer Behandlung zur Produkt- und Prozeßwasserückgewinnung; *Chemie Ingenieur Technik*; 72; 5; (2000); 516-521
- 23 **Strathmann, H.; Rautenbach R.:** Stand der Membrantechnik in der Bundesrepublik Deutschland; *Chemie-Technik*; 16; (1987); 58-68
- 24 **Ph. D. Munir Cheryan:** Ultrafiltration Handbook; Technomic Publishing Co.; Lancaster; (1986)
- 25 **Oostra, J. R.; Weijnen, Ir. D. C.:** Aufbereitung von Abwässern mittels Umkehrosiose und Ultrafiltration; *Technische Mitteilung*; 78; (1985); 37
- 26 **Yeom, C. K.; Lee, K.-H.:** Characterization of sodium alginate and poly (vinyl alcohol) blend membranes in pervaporation separation; *Journal of Applied Polymer Science*; V 67; I 5; (1998); 949-959
- 27 **Hoshi, M.; Ieshige, M.; Saitoh, T.; Nakagawa, T.:** Separation of aqueous phenol through polyurethane membranes by pervaporation. II. Influence of diisocyanate and diol compounds and crosslinker; *Journal of Applied Polymer Science*; V 71; I 3; (1999); 439-448
- 28 **Maier, G.:** Polymermembranen zur Gastrennung; *Angewandte Chemie*; 110; 21; (1998); 3128-3143
- 29 **Steiner, R.; Zibinski, E.:** Reverse Osmose als verfahrenstechnische Grundoperation, *Verfahrenstechnik*; 7; (1973); 337-342
- 30 **Walch, A.:** Reverse Osmose; Verfahren, Wirkungsmechanismus und Membranentwicklung; *Chemie-Technik*; 2; (1973); 7-11

- 
- 31 **Meuser, F.; Smolnik, H. D.:** Anwendung der Membranfiltrationstechnik zur Aufarbeitung des Prozeßwassers bei der Weizenstärkegewinnung; Institut für Lebensmitteltechnologie–Getreidetechnologie-; Berlin (1979); 27ff
- 32 **Rautenbach, R.; Albrecht, R.:** Membrantrennverfahren; Salle und Sauerländer; (1981); 37
- 33 **Rautenbach, R.; Rauch, K.:** Ultrafiltration und Umkehrosmose, Grundlagen und Technologie; Chem. Ing. Technik; 49; (1977); 223-231
- 34 **Lübbecke, S.:** Niedrig-Energie-Membransystem für die biologische Abwasserreinigung; Chemie Ingenieur Technik; V 72; I 5; (2000); 521-525
- 35 **Hanemaaijer, J. H.; Robbertsen, T.; Boomgaard, Th. Van den; Gunnink J. W.:** Fouling of Ultrafiltration Membranes. The Role of Protein Adsorption and Salt Precipitation; Journal of Membran Science; V 40; (1989); 199-217
- 36 **Rosenwinkel, K.-H.; Wagner, J.; Nagy, J.:** Membranverfahren in der industriellen Abwasserbehandlung; Chemie Ingenieur Technik; V 72; I 5; (2000); 433-440
- 37 **Harris-, J. L.:** Influence of Gel Layer Rheology on Ultrafiltration Flux of Wheat Starch Effluent; Journal of Membran Science; V 29; (1986); 97-109
- 38 **Belfort, G.:** Fluid Mechanics in Membran Filtration: Recent Developments; Journal of Membran Science; V 40; (1989); 123-147
- 39 **Fane, A. G.; Fell, C. J. D.; Suki, A.:** The Effect of pH and Environment on the Ultrafiltration of Protein Solutions with Retentive Membranes; Journal Membran Science; 16; (1983); 195-210

---

40 **Palecek, S. P.; Zydney, A. L.:** Hydraulic permeability of protein deposits formed during microfiltration: effect of solution pH and ionic strength; *Journal Membran Science*; 95; (1994); 71-81

41 **Potts, D. E.; Ahlert, R. C.; Wang, S. S.:** A Critical Review of Fouling of Reverse Osmosis Membranes; *Desalination*; 36; (1981); 235-264

42 **Allard, J. H.; Ravel, J. M.; Teille, R.:** Before RO-Pretreatment; *Water & Sewage Works*; 126; (1979); R-102

43 Fa. Henkel Hygiene; Bonner Straße 117; Düsseldorf-Holthausen; Untersuchungen und Reinigungsversuche auf der Wickelmodulmembran; an Fa. Emsland-Stärke Emlichheim z. Hd. Dr. Seekamp; interne Untersuchungsergebnisse;

44 **Belfort, G.:** Fluid Mechanics in Membrane Filtration; Recent Developments; *Journal Membran Science*; 40; (1989); 123-147

45 **Hinze, F.; Ripperger, S.; Stintz, M.:** Charakterisierung von Suspensionen nanoskaliger Partikel mittels Ultraschallspektroskopie und elektroakustischer Methoden; *Chemie Ingenieur Technik*; 72; 4; (2000); 322-332

46 **Schock, G.:** Mikrofiltration an überströmten Membranen; Dissertation RWTH Aachen; (1985)

47 **Fane, A. G.; Fell, C. J. D.; Suki A.:** The Effect of pH and Ionic Environment on the Ultrafiltration of Protein Solutions with Retentive Membranes; *Journal Membran Science*; 16; (1983); 195-210

48 **Hickey, M. W.; Hill, R. D.; Smith, B. R.:** Investigations into the Ultrafiltration and Reverse Osmosis of Weys; *New Zealand J. Dai. Sci. Techn*; 15; (1980) 109

49 **Metthews, M. E.:** Advances in Whey Processing; Ultrafiltration and Reverse Osmosis; *New Zealand J. Dai. Sci. Techn*; 14; (1979); 86

- 
- 50 **Hanemaaijer, J. H.; et al.:** Fouling of Ultrafiltration Membranes. The Role of Protein Adsorption and Salt Precipitation; *J. Membr. Sci.*; 40; (1989); 199-217
- 51 **J. Thode et al.:** Donnan Effect or Protein Interference in Ionised Calcium Measurement; *Ann. Clin. Biochem.*; 20; (1983); 271-273
- 52 **Flemming, H. C.; Schaule, G.:** Biofouling on Membranes; A Mikrobiological Approach; *Desalination*; 70; (1988); 95-119
- 52 **Ridgway, H. F.; et al.:** Biofilm Fouling of RO Membranes; Its Nature and Effekt on treatment of Water for Reuse; *J. Am. Wat. Works Assc.*; 6; (1984); 94-102
- 53 **Causserand, C.; Nyström, M.; Aimar, P.:** A study of steaming potentials of clean and fouldrd ultrafiltration membranes; ; *Journal of Membran Science*; V 88; (1994); 211-222
- 54 **Ridgway, H. F.; et al.:** Biofilm Fouling of RO Membranes; Its Nature and Effekt on treatment of Water for Reuse; *J. Am. Wat. Works Assc.*; 6; (1984); 94-102
- 55 **Berre, O. Le; Daufin, G.:** Fouling and selectivity of membranes during separation of  $\beta$ -casein; ; *Journal of Membran Science*; V 88; (1994); 263-270
- 56 **Filippov, A.; Starov, V. M.; Lloyd, D. R.:** Sieve mechanism of microfiltration; *Journal of Membran Science*; V 89; (1994); 199-213
- 57 **Cabral, J. M. S.; Best, D.; Boross, L.; Tramper, J.:** *Applied Biocatalysis*; Harwood Academic Publishers; (1994) S:31ff
- 58 **Rosenwinkel, K.-H.; Wagner, J.; Nagy, J.:** Membranverfahren in der industriellen Abwasserbehandlung; *Chemie Ingenieur Technik*; V 72; I 5; (2000); 433-440

---

59 **Pouliot, M.; Pouliot, Y.; Britten, M.; Ross, N.:** Effects of pH and ionic environment on the permeability and rejective properties of an alumina microfiltration membrane for whey proteins; *Journal of Membran Science*; V 95; (1994); 125-134

60 **Merin, U.; Daufin, G.:** Crossflow Mikrofiltration in the dairy industrie: state-of-the-art; *Lait*; 70; (1990); 281-291

61 **Kersten, M.:** Proteinfractionierung durch Mikrofiltration-Einflüsse der einzelnen Milchkomponenten; *Chemie Ingenieur Technik*; V 72; I 9; (2000); 1078-1079

62 **Gan, Q.; Allen, S. J.:** Crossflow microfiltration of a primary sewage effluent-solids retention efficiency and flux enhancement; *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*; V 74; I 7; (1999); 693-699

63 **Golachowski, A.; Wroclaw** :(Polen); Eigenschaften der Stärke aus den gammabestrahnten und bei verschiedenen Temperaturen gelagerten Kartoffelknollen; *Starch/Stärke*; V 43; Nr. 5; (1991); 176-179

64 **Bock, W.; Ohm, G.:** Einfluß der gewachsenen biologischen Struktur auf die Wasserbindungskapazität ausgewählter Obst- und Gemüsepräparate; *Nahrung*; 27; (1983); 205-210

65 **Fischer, M.; Amado, R.:** Changes in the pectic substances of apples during development and postharvest ripening. Part 1: Analysis of the alcohol-insoluble residue; *Carbohydrate Polymers*; 25; (1994); 161-166

66 **Wermke, M.:** Die Kartoffelknolle als Forschungsobjekt; *Kartoffelbau*; V 7; (1956); 197-199

67 **Tegge, G.:** Stärke und Stärkederivate; Hamburg Behr`s Verlag; (1984); 141 ff

68 **Herder:** Lexikon der Biologie; Spektrum Akademischer Verlag GmbH; Heidelberg-Berlin-Oxford; Band 4; (1994); 440

- 
- 69 **Bockhorst, Dr. W.:** interne Untersuchungsergebnisse; (27.04.1998)
- 70 **Trojanowski, J.; Kharazipour, A.; Arnsberg; Mayer F.:** Göttingen (Deutschland); Verwendung von Kartoffelpülpe und Kartoffelfruchtwasser als Nährmedium zur Aufzucht von Laccase produzierenden Pilzen; Starch/Stärke; V 47; Nr. 3; (1995); 116-118
- 71 **Wilhelm, E.; Kempf, W.:** Detmold; Fortschritte bei der Separation und Stabilisierung von Kartoffelprotein; Starch/Stärke; V 33; Nr. 10; (1981); 338–342
- 72 **Karlson, P.:** Biochemie; Georg Thieme Verlag Stuttgart; (1988); 57 ff
- 73 **Voet, D.; Voet, J. G.:** Biochemie; VCH Verlagsgesellschaft; (1994); 311–312
- 74 Periodensystem der Elemente; VCH Verlagsgesellschaft; Weinheim; (1989)
- 75 **Husemann, E.; Bartelt, H.:** Makromolekular. Chem; 18-19; 342; (1956)
- 76 **Lehninger, A.; Nelson, D.; Cox, M.:** Prinzipien der Biochemie; Spektrum Akademischer Verlag; Heidelberg, Berlin, Oxford; (1994); 356
- 77 **Styrer, R.:** Biochemie; Verlag Spektrum der Wissenschaften, Heidelberg; (1990)
- 78 **Styrer, L.:** Biochemie; Spektrum der Wissenschaft Verlagsgesellschaft; (1990); 201
- 79 **Moskowitz, G. J.; Noelck, S.; Suellen, S.:** Enzyme-modified cheese technologie; J. Dairy. Sci.; V 70; 8; (1987); 1761
- 80 **Cheeseman, G. C.:** Rennet and cheesmaking. In: Birch; Blakebrough; Paker (eds.); Enzymes and food processing; Appl. Science Publishers Ltd.; London ;(1981); 195 ff
- 81 **Mc Cleary, B.; Nurthen, E.:** Measurement of (1→3)(1→4)-β-D-Glucan in Malt, Wort and Beer; Journal of the Institute of Brewing; V 92; 2; (1986);168-173

- 
- 82 **Dubourdiou, D.; Fournet, B.; Riberau-Gayon:** Structure of the extracellular  $\beta$ -D-glucan from *Botrytis cinera*; Carbohydrate Research; V 93; (1981a); 294-299
- 83 **Cauvain, S. P.:** Effects of some enzymes on loaf volume in the Chorleywood Bread Process; FMBRA Bulletin; V 1; (1985); 11
- 84 **Mc Cleary, B. V.:** Enzymatic modification of Plant polysaccharides; Int. J. Biol. Macromol.; V 8; (1986); 349
- 85 **Bahn, M.; Schmid, R.-D.:** Waschmittelenzyme; Labor 2000; (1986); 16
- 86 **Nielsen, M. H.; Jepsen, J. S.; Outtrup, H.:** Enzymes for low temperature washing; J. Am. Oil Chem. Soc.; V 58; (5); (1981); 644
- 87 **Pfleiderer, E.; Reiner, R.:** Mikroorganismen in der Verarbeitung von Leder; In: Rehm, H.-J.; Reed, G. (ed.): Biotechnology; V 6b; (1988); 730
- 88 **Taeger, T.:** Enzyme in der Lederindustrie; In: Präve, P. (Hrsg.): Jahrbuch Biotechnologie; Carl Hanser Verlag; München (1986)
- 89 **Weegels, P. L.; Marseille, J. P.; Hamer, R. J.:** Zeiast (The Netherlands); Enzymes as a Processing Aid in the Separation of Wheat Flour into Starch and Gluten; Starch/Stärke; V 44; Nr. 2; (1992); 44-48
- 90 **Tegge, G.; Richeter, G.:** Enzymatic conversion of starch in food processing. In Biotechnology and Food Industrie; Proc. Int. Symp.; Budapest; 1988
- 91 Verband der deutschen Fruchtsaft-Industrie e.V. (VdF), Klaus Sondhauß, Mainzer Straße 253, 53179 Bonn, (2000)
- 92 **Bock, W.; Schawaller, H.-J.; Flemming, Ch.; Gabert, A.:** Kontinuierliche enzymatische Behandlung pektinhaltiger Flüssigkeiten; DD-PS; (1983)

- 
- 93 **Lozano, P.; Manjon, A.; Romojaro, F.; Iborra, J. L.:** Properties of pectolytic enzymes covalently bound to nylon for apricot juice clarification; *Process Biochem*; 23; (1988); 75-78
- 94 **Maurer, R.:** Einsatz pektinspaltender Enzyme; *Weinwirtschaft-Technik*; 125; H. 5; (1989); 60-69
- 95 **Pifferi P. G.; Lanzarini, G.:** Immobilized polygalacturonase trials in apple juice clarification; *Ber. Int. Fruchtsaft-Union*; 19; (1986); 493-501
- 96 **Poldermann, B.:** Commerciele enzymen en koolhydraten: toekomstverwachting; *Carbohydrates in Netherlands*; Aug.; (1989); 25-28
- 97 **Riisgaard, S.:** The enzyme industry and modern biotechnology; In *Proceedings 5th European Congress on Biotechnology*; Copenhagen; Munksgaard; 1990; July 8-13; Vol. 1; (1990); 31-40
- 98 **Rombouts, F. M.; Pilnik, W.:** Enzymes in fruit and vegetable juice technology; *Process Biochem.*; 13, 8; (1978); 9-13
- 99 **Whitaker, J. R.:** Pectic substances, pectic enzymes and haze formation in fruit juices.; *Enzyme Microb. Technol.*; 6; (1984) ;341
- 100 **Braconnot, H.:** Recherches sur un nouvel Acide universellement repandu dans tous les vegetaux; *Annales de Chimie et de Physique*; Ser. II; 28; (1825); 173-178
- 101 **Neukom, H.; Amado, R.; Pfister, M.:** Neuere Erkenntnisse auf dem Gebiet der Pektinstoffe; *Lebensm. Wiss. U. Technol.*; 13; (1980); 1-6
- 102 **Talmadge, K. W.; Keegstra, K.; Bauer, W. D.; Albersheim, P.:** The structure of Plant Cell Walls; *Plant. Physiol.*; 51; (1973); 158-173

- 
- 103 **Fogarty, W. M.; Kelly, C. T.:** In: Microbial enzymes and biotechnology; Appl. Science Publ.; London ;(1983); 131-173
- 104 **Kertesz, Z. I.:** The pectic substances; Interscience Publishers, New York; (1951);
- 105 **Fry, C. S.:** Analysis of cross linking of matrix in the growing cell walls of *angiosperms*; Ann. Rev. Plant Physiol.; 37; (1986); 165-186
- 106 **de Vries, J. A.; Rombouts, F. M.; Voragen, A. G. J.; Pilnik, W.:** Distribution of Methoxyl Groups in Apple Pectic Substances; Carbohydrate Polymers; 3; (1983); 245-258
- 107 **Schmolck, W.; Mergenthaler E.:** Beiträge zur Analytik von Polysacchariden, die als Lebensmittelzusatzstoffe verwendet werden; Z. Lebensm. Unters. Forsch.; 152; (1973); 87-99
- 108 **Aspinall, G. O.:** Chemistry of cell wall polysaccharides: In: Preiss, J. (Ed.): The Biochemistry of Plants. A Comprehensive Treatise; Carbohydrates: Structure and Funktion; New York, London, Toronto, Sydney, San Francisco; Academic Press; Vol. 3; (1980); 473-500
- 109 **Albersheim, P.:** In: The walls of growing plant cells; Scientific American; (1975); 81
- 110 **Pilnik, W.; Voragen, A. G. I.:** Pektine und Alginate; in: Neukom, H.; Pilnik, W.; Geling and Thickening Agents in Foods; LWT Edition 5 (1980); Forster Verlag AG / Forster Publishing Ltd.; Ottikerstrasse 59; CH-8033 Zürich/Switzerland; (1980); 67-94
- 111 **de Vries, J. A.; den Uijl, C. H.; Voragen, A. G. J.; Rombouts, F. M.; Pilnik, W.:** Structural Features of the Neutral Sugar Side Chains of Apple Pectic Substances; Carbohydrate Polymers; 3; (1983); 193-205
- 112 **Pilnik, W.; Voragen, F.:** Pektin (Polysaccharide); Ullmanns Enzyklopädie der technischen Chemie; Verlag Chemie Weinheim; New York; 19; (1981); 237-244

- 
- 113 **Matthew, J. A.; Howson, S. J.; Keenan, M. H. J.; Belton, P. S.:** Improvement of the Gelation Properties of Sugarbeet Pectin following Treatment with an Enzyme Preparation Derived from *Aspergillus niger*- Comparison with a Chemical Modification; Carbohydrate Polymers; 12; (1990); 295-306
- 114 **Rees, D. A.; Welsh, J. E.:** Secondary and tertiary structure of polysaccharides in solutions and gels; Angew. Chemie (Int. Ed.); 16; (1977); 214-224
- 115 **Smidsrod, O.; Haugh, A.:** Dependence Upon the Gel-Sol State of the Ion Exchange Properties of Alginates; Acta. Chem. Scand.; 26; (1972); 2063
- 116 **Grant, G. T.; Morris, E. R.; Rees, A. D.; Smith, P. J. C.; Thom, D.:** FEBS Lett.; 32; (1973); 195
- 117 **Schomburg, D.; Salzmann, M.:** (Eds); GBF-Gesellschaft für Biotechnologische Forschung; Enzym Handbook; Springer Verlag Berlin Heidelberg; (1991)
- 118 **Pilnik, W.; Rombouts, F. M.; Voragen, A. G. J.:** On the classification of pectin depolymerases: Activity of Pectin depolymerases on glycol esters of pectate as a new classification criterion; Chem. Mikrobiol. Technol. Lebensmittel.; 2; 122-128; (1973)
- 119 **Schomburg, D.; Salzmann, M.:** (Eds); GBF-Gesellschaft für Biotechnologische Forschung; Enzym Handbook; Springer Verlag Berlin Heidelberg; (1991)
- 120 **Pilnik, W.; Rombouts, F. M.:** Pectic Enzymes; In: Birch, G. G.; Blakebrough, N.; Parker, K. J. (Eds); Enzymes and Food Processing; London: Applied Science Publishers (1981), 105-128
- 121 **Matthew J. A.; Howson S. J.; Keenan M. H. J.; Belton P. S.:** Improvement of the gelation properties of sugar-beet pectin following treatment with an enzyme preparation derived from *Aspergillus niger*. Comparison with a chemical modification. Carbohydr. Polym.; 12; (1990); 295-303

- 
- 122 **Call, H. P.; Emeis, C. C.:** Pektinolytische Aktivitäten von Laktose und Milchsäure assimilierenden Hefen. I. Screening auf Pektinolytische und mazerierende Aktivitäten; Chem. Mikrobiol. Technol. Lebensm.; 5; 137-142; (1978)
- 123 **Veersteg, C.:** Pectinesterase from the orange fruit –Their purification, general characteristics and juice cloud destabilizing properties; Dissertationsschrift, Wageningen / Niederlande; (1979)
- 124 **Dongowski, G.; Bock W.:** Zum Einfluß makromolekularer Parameter der Pektinsubstrate auf die Aktivität von Pektinesterasen aus *Aspergillus niger* und höheren Pflanzen; Nahrung; 28;(1984); 507-516
- 125 **Markowic, O.; Machova, E.; Slezarik, A.:** The action of tomato and *Aspergillus foetidus* pectinesterase on oligomeric substrates esterified with diazomethane; Carbohyd. Res.; (1983); 105-111
- 126 **Voragen, A. G. J.; Pilnik, W.:** Pektindepolymerase I / Einteilung der Pektinsäuredepolymerasen nach ihrer Wirkung auf oligomere Galakturonsäuren; Z. Lebensm. Unters. Forsch.; 142; (1969); 346-359
- 127 **Cros, S.; Garnier, C.; Alexos, M. A. V.; et. al.:** Solutions conformations of pectin polysaccharides: Determination of chain characteristics by small angle neutron scattering, viscometry and molekular modeling; Biopolymrs; Volume 39; Issue 3;(1996); 339-351
- 128 **Lee, M.; Macmillian, J. D.:** Mode of Action of Pectic Enzymes. III. Site of Initial Action of Tomato Pectinesterase on Highly Esterified Pectin; Biochemistris; V 9; (1970); 1930
- 129 **Denes, J.-M.; Baron, A.; Drilleau, J.-F.:** Purification, properties and heat inactivation of pectin methylesterase from apple; Journal of the Science of Food and Agriculture; Vol 80; Issue 10; (2000); 1503-1509

- 
- 130 **Rexova-Benkova, L.; Markovic, O.:** Pectic enzymes. In: Advances in carbohydrate chemistry and biochemistry; R. S. Tipson & D. Horton (Eds); Acad. Press New York; 33, (1976); 323-385
- 131 **Veersteg, C.:** Pectinesterase from the orange fruit –Their purification, general aspects and juice cloud destabilizing properties; Dissertationsschrift, Wageningen / Niederlande; (1979)
- 132 **Lim, J. Y.; Fujio, Y; Ueda, S.:** Purification and Characterisation of Pectinesterase and Pectin Lyase from *Aspergillus oryzae* A-3; Journal of Applied Biochemistry; 5; (1983); 91-98
- 133 **Markovic, O.; Kohn, R.:** Mode of deesterification by *Tricoderma reesei* pectinesterase; Experientia; 40; (1984); 842-843
- 134 **Ishi, S.; Kiho, K.; Sugiyama, S.; Sugimoto, H.:** Low-methoxyl pectin prepared by pectinesterase from *Aspergillus niger*; J. Food Sci; 44; (1977); 611-614
- 135 **Kohn, R.; Dongowski, G.; Bock, W.:** Die Verteilung der freien und veresterten Carboxylgruppen im Pektinmolekül nach Einwirkung von Pektinesterase aus *Aspergillus niger* und Orangen; Nahrung; 29; (1985); 75-85
- 136 **Rombouts, F. M.; Pilnik, W.:** Pectic enzymes; In: Rose, A. H. (Ed); Economic Mikrobiologie. Vol. 5; Microbial Enzymes and Bioconversions. London, New York, San Francisco: Academic Press; (1980); 227-282
- 137 **Macdonald, Helen, Evans, Roger:** Purifications and Properties of Apple Pectinesterase; Journal of the Science of Food and Agriculture; Vol 70; Issue 3; (1996); 321-326
- 138 **Errington, N.; Tucker, G. A.; Mitchell, J. R.:** Effect of genetic down-regulation of polygalacturonase and pectin esterase activity on rheology and composition of tomato juice; Journal of the Science of Food and Agriculture; Vol 76; Issue 4; (1998); 515-519

- 
- 139 **Koller, A.; Neukom, H.:** Untersuchungen über den Abbaumechanismus einer gereinigten Polygalakturonsae aus *Aspergillus niger*; Eur. J. Biochem; 7; (1969) 485-489
- 140 **Rexova-Benkova, L.; Markovic, O.:** Pectic enzymes. In: Advances in carbohydrate chemistry and biochemistry; R. S. Tipson & D. Horton (Eds); Acad. Press New York; 33, (1976); 323-385
- 141 **Dongowski, G.; Anger, H.; Bock, W.:** Einfluß molekularer Parameter des Galakturonansubstrates auf die Aktivität und Wirkung von Polygalakturonasen aus *Aspergillus niger*; Nahrung; 27;(1983); 817-829
- 142 **Rexova-Benkova, L.:** The Size of the Substrate-Binding Site of an *Aspergillus niger* Extracellular Endopolygalacturonase; Eur. J. Biochem; 39; (1973); 109-115
- 143 **Mill, P. J.; Isobe, K.; Swada, Y.:** Method for producing candied fruits.; US-PS 3 615 687; (1971)
- 144 **Reed, G. :** Enzymes in Food Processing.; Acad. Press; New York–London; (1966)
- 145 **Rombouts, F. M.; Pilnik, W.:** Pectic enzymes. In Rose, A. H. (Ed); Economic Mikrobiologie. Vol. 5; Microbial Enzymes and Bioconversions. London, New York, San Francisco: Academic Press; (1980); 227-282
- 146 **Rexova-Benkova, L.; Markovic, O.; Foglietti M. J.:** Separation of pectic enzymes from Tomatoes by affinity chromatographie on cross-linked pectic acid; Collect. Czech. Chem. Commun.; 42; (1977); 1736-1741
- 147 **Pardo, C.; Lapena, M. A. ;Gacto, M. :** Purification and characterization of an exopolygalakturonase from *Geotrichum lactis*; Canad. J. Microbiol.; 37; (1992); 974-977
- 148 **Dörreich, K.; Omran, H.; Gierschner, K.:** Einige Ergebnisse der Auftrennung eines Handels-Pektinenzympräparates in diskrete Enzyme. I Isolierung, Reinigung und

Charakterisierung einer *exo*-Oligogalacturonase; Lebensm.- Wiss.- u.- Technol.; 19; (1986); 457-463

149 **Foglietti, M. J.; Levadtion, V.; Courtois, J.-E.; Chararas, C.:** Pectinases from xylophagus insect *Rhagium inquisitor.*; Compt. Rend. Soc. Biol.; 165; (1971); 1019-1022

150 **Markovic, O.; Mislovicova, D.; Biely, B.; Heinrichova, K.:** Chromogenic substrates for endo-polygalacturonase detection in gels; J. Chromatogr.; 603; (1992); 243-246

151 **Voragen, A. G. J.; Rombouts, F. M.; Hooydonk, M. J.; Pilnik, W. :** Comparison of end group methods for the pectin degradation; Lebensm. Wiss.Technol.; 4; (1971); 7-11

152 **Bach, G.; Schollmeyer, E.:** An ultraviolet-spectrometric method with 2-cyanoacetamide for the determination of the enzymatic degradation of reducing polysaccharides; Analyt. Biochem.; 203; (1992); 335-339

153 **Lim, J. Y.; Fujio, Y; Ueda, S.:** Purification and Characterisation of Pectinesterase and Pectin Lyase from *Aspergillus oryzae* A-§; Journal of Applied Biochemistry; 5; (1983); 91-98

154 **Rexova-Benkova, L.; Markovic, O.:** Pectic enzymes. In: Advances in carbohydrate chemistry and biochemistry; R. S. Tipson & D. Horton (Eds); Acad. Press New York; 33, (1976); 323-385

155 **Moharib, S. A.; El-Sayae, S. T.; Jwanny, E. W.:** Evaluation of enzymes produced from yeast; Nahrung/Food; Vol. 44; Iss. 1; (2000); 47-51

156 **Ito, K.; Kobayashi, R.; Nikaido, N.; Izaki, K.:** DNA-structure of pectatlyase I gene cloned from *Erwinia carotovora.*; Agric. Biol. Chem.; (1988); 479-487

157 **Shamara, A.; Joseph, R.:** Studies on the Application of cell wall degrading enzymes from *Aspergillus terreus* and *Neurospora crassa*; Biotechnol. Lett.; 5; (1983); 481-486

158 **Rexova-Benkova, L.; Slezarik, L. & A.:** Isolation of extracellular pectolytic enzymes produced by *Aspergillus niger*; Collect. Czech. Chem. Commun.; 31; (1966); 1122-129

159 **Rombouts, F. M.; Pilnik, W.:** Pectic enzymes. In Rose, A. H. (Ed); Economic Mikrobiologie. Vol. 5; Microbial Enzymes and Bioconversions. London, New York, San Francisco: Academic Press; (1980); 227-282

160 **Voragen, A. G. J.; Pilnik, W.:** Pectin-degrading enzymes in fruit and vegetable processing; In: Whitaker, J. R.; Sonnet, P. E. (Eds): Biocatalysis in Agricultural Biotechnology; ACS Symp.; Ser: 389; (1989); 93-115

161 **Voragen, A. G. J.:** Food Enzymes: Prospects and limitations; Int. Food Ingredients; H. 1; (1990); 18-31

162 **Wood, T. M.; Mc Crea, S. I.; Wilson, C. A.; Bhat, K. M; Gow, L. A. :** Aerobic and anaerobic fungal cellulases with apécial references to their mode of attack on crystalline cellulose; In: Aubert, J. P.; Beguin, P.; Millet, J. (Eds); Biochemistry and Genetics of Cellulose Degradation; Academic Press; London; (1988)

163 **Wood, T. M.; Bhat, M.:** Methods for measuring cellulase activities; Methods Enzymol.; 160; (1988); 87-112

164 **Enari, T. M.:** Cellulases; In: Fogarty, W. M. (Ed.); Microbial Enzymes and Biotechnology; Applied Science Publishers; London; (1983); 183-216

165 **Aubert, J. P.; Beguin, P.; Millet, J.:** (Eds.); Biochemistry and Genetics of Cellulose Degradation; London; San Diego; New York; Boston; Sydney; Tokyo; Toronto; Academic Press ; (1988)

166 **Reese, E. T.:** Advances in Enzymic Hydrolysis of Cellulose and related materials. Pergamon Press; Oxford; (1963)

- 
- 167 **Johann, P.:** Besonderheiten bei der Verarbeitung von tropischen Früchten; Flüssiges Obst; 54; (1987); 430-434
- 168 **Bhat, K. M.; Wood, T. M.:** Multiple forms of endo-1,4- $\beta$ -D-glucanase in the extracellular cellulase of *Penicillium pinophilum*; Biotechnol. Bioeng; 33; (1989); 1242-1248
- 169 **Biely, P.:** Microbial xylanolytic systems; Trends Biotechnol.; 3; (1985); 286-290
- 170 **Uhlig, H.:** Enzyme arbeiten für uns: technische Enzyme und ihre Anwendung; Carl Hanser Verlag München Wien; (1991); 20ff
- 171 **Spröbler, B.:** Tätige Makromoleküle; Röhm Spectrum; 21; (1978); 12-15
- 172 **Spröbler, B.:** Tätige Makromoleküle; Röhm Spectrum; 21; (1978); 12-15
- 173 **Albersheim, P.; Killias, U.:** Biochem. Biophys.; 97; (1962); 107
- 174 **Voragen, A. G. J.; Wolters, H.; Verdonschot-Kroef, T.; Rombouts, F. M.; Pilnik, W.:** Effect of juice-releasing enzymes on juice quality; Ber. Int. Fruchtsaft-Union; 19; (1986); 453-462
- 175 **Tableros, M. A.; Endress, H.-U.; Bannert, E.; Finger, C.; Shen, Z.; Gierschner, K.:** Bestimmung verschiedener glykosidischer Aktivitäten in Enzympräparaten des Handels; Ber. Int. Fruchtsaft-Union; 19; (1986); 463-477
- 176 **Dörreich, K.; Omran, H.; Gierschner, K.:** Einige Ergebnisse der Auftrennung eines Handels-Pektinenzympräparates in diskrete Enzyme. II Isolierung, Reinigung und Charakterisierung der Pectinesterase; Lebensm.- Wiss.- u.- Technol.; 19; (1986); 464-468
- 177 **Blumenkrantz, N.; Asboe-Hansen, G.:** New Method for Quantitative Determination of Uronic Acids; Analytical Biochemistry; 54; (1973); 484-489

---

178 **Meseguer, I.; Aguilar, V.; Gonzalez, J.; Martinez, C.:** Extraction and Colorimetric Quantification of Uronic Acids of the Pectic Fraction in Fruits and Vegetables; *Journal of Food Composition and Analysis*; 11; (1998); 285-291

179 **Dekker, R. F. H.; Richards, G. N.:** Determination of pectic substances in plant material; *J. Sci. Food Agric.*; 23; (1972); 475-483

180 **Neukom, H.; Amado, R.; Pfister, M.:** Neuere Erkenntnisse auf dem Gebiet der Pektinstoffe; *Lebensm.-Wiss. U. Technol.*; 13; (1980); 1-6

181 Merck; Chemikalien, Reagentien; Katalog (1999); 689

182 **Hecht, S. M.:** ed.; in *Bioorganic Chemistry: Carbohydrates*; Oxford University Press; New York; p. 48;

183 **Unger, K. K.; Weber, E.:** *Handbuch der HPLC*; GIT Verlag, Darmstadt; (1995); 26

184 **Aced, G.; Möckel, H. J.:** *Liquidchromatographie*; VCH Verlag; Weinheim(1991)

185 **Hamilton, R. J.; Sewell, P. A.:** *Introduction to High Performance Liquid Chromatographie*; John Wiley & Sons; New York; (1977)

186 **Gottwald, W.:** *RP-HPLC für Anwender*; Verlag Chemie Weinheim; (1992)

187 **Wilhelm, E.; Kempf, W.:** *Detmold; Fortschritte bei der Separation und Stabilisierung von Kartoffelprotein*; *Starch/Stärke*; V 33; Nr. 10; (1981); 338–342

188 **Blumenkranz, N.; Asboe-Hansen, G.:** New Method for Quantitative Determination of Uronic Acids; *Analytical Biochemistrrie*; 54; (1973); 484-489

189 **Bach, E.; Schollmeyer, E.:** An ultraviolet-Spectrophotometric Method with 2-Cyanoacamide for the Determination of the Enzymatic Degradation of reducing Polysaccharides; *Analytical Biochemistry*; 203; (1992); 335-339

---

190 **Meseguer, I.; Aguilar, V.; Gonzales, J.; Martinez, C.:** Extraction and Colorimetric Quantification of Uronic Acids of the Pectic Fraction in Fruit and Vegetables; Journal of Food Composition and Analysis; 11; (1998); 285-291

191 **Benson, J. R.; Woo, D. J.:** Polymeric Columns for Liquid Chromatography, Journal of Chromatographic Science; V 22; 9; (1984); 386-399

192 Bundes- Bodenschutz- und Altlastenverordnung (BBodSchV); 4.2 Probenvorbereitung und Analytik; DIN 32645:05.94: es sind für angewendeten Untersuchungsverfahren die Nachweis und Bestimmungsgrenzen anzugeben; (30.04.99)

193 „Speisefrühhkartoffeln“; Helma-Kartoffelvertriebsgesellschaft mbH; Wense-Heeslingen

194 „Speisefrühhkartoffeln“;RVB Frankenthal eG.; 67259 Beindersheim

195 ROHAPECT D 5L SPEZIAL; Beschreibung und Spezifikation; Röhm Enzyme GmbH; Kirschenallee 45 D-64293 Darmstadt; (1997)

196 **Manachini, P. L.; Fortina, M. G.; Parini, C.:** Purification Properties of an Endopolygalacturonase produces by *Rhizopus Stolonifer*; Biotechnol. Letters; 9; (1987); 219-224

197 **Miyairi, K.; Okuno, T.; Sawai, K.:** Purification and Properties of Endopolygalacturonase I from *Stereum purpureum*, a Factor Inducing Silver-leaf Symptoms on Apple Trees; Agric. Biol. Chem.; 49; (1985); 1111-1118

198 **Trescott, A. S.; Tampion, J.:** J. Gen. Microbiol.; 80; (1974); 401-409

199 Probenvorbereitung; Festphasenextraktion und Membranfiltration; Fa. MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG; D 52313 Düren; Eigener Druck; 4; (1998)

---

200 Katalog ; Produkte und Zubehör für die Festphasenextraktion; Fa. ICT GmbH 61352 Bad Homburg; Eigener Druck; (1994)

201 SPE Applikations Handbuch; Fa. MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG; D-52313 Düren; Eigener Druck; 11; (1995)

202 **Reupert, R.; Brausen, G.; Schuster, R.:** Bestimmung von Pflanzenbehandlungsmitteln in Wasser durch Online-Fest-Flüssig-Extraktion und HPLC-DAD; Acta hydrochima et hydrobiologica; 26; 6; (1998); 318-329

203 **Wennrich, L.; Efer, J.; Müller, S.; Engewald, W.:**Bestimmung von Trichlorofon in Trinkwasser mittels Festphasenextraktion und On-Column-Kapillar-GC. Zu Problemen der Realprobenanalytik; Vom Wasser; 82; (1994); 281-288

204 **Mora, J. I.; Goicolea, M. A.; Barrio, R. J.; Balugera, Z. G.:** Determination of Nematicide Aldicarb and its Metabolites Aldicarb Sulfone in Solids and Potatoes by Liquid Chromatography with Photodiode Array Detection; Journal of Liquid Chromatography; 18; 16; (1995); 3243-3256

205 **Romani, A.; Baldi, A.; Tattini, M.; Vincieri, F. F.:** Extraction, Purification Procedures and HPLC-RI Analysis of Carbohydrates in Olive (*Olea europaea* L.) Plants; Chromatographia; 39; 1-2; (1994); 35-39

206 Röhm Enzyme GmbH; Kirschenallee 45; D-64293 Darmstadt

207 Journal Ass. Anal. Chem. 62. 1265 (1991)

208 Pektinasen 1 bis 6: ERBSLÖH GEISENHEIM Getränke-Technologie GmbH &Co. KG; Erbslöhstraße 1; D-65366 Geisenheim

209 ERBSLÖH GEISENHEIM Getränke-Technologie GmbH &Co. KG; Erbslöhstraße 1; D-65366 Geisenheim

---

210 Novo Nordisk Ferment Ltd.; Neumatt; 4243 Dittingen; Switzerland

211 Novo Nordisk Ferment Ltd.; Neumatt; 4243 Dittingen; Switzerland

212 **Bockhorst, Dr. W.; Holte, F.:** Einfluß enzymatischer Vorbehandlung auf die Abscheidung und die Inhaltsstoffe von Kartoffelfruchtwasser; Zwischenbericht, April;(1998);21

213 Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung; (DIN S 2 38414-2); Bestimmung des Trockensubstanzgehaltes; Deutsche Norm; Februar 1981;

214 **Kelly, S. T.; Zydney, A. L.:** Protein fouling during microfiltration: Comparative behavior of different model proteins; Biotechnology and Bioengineering; 55; 1; (1997); 91-100

215 **Liew, M. K. H.; Fane, A. G.; Rogers, P. L.:** Fouling of microfiltration membranes by broth-free antifoam agents; Biotechnology and Bioengineering; 56; 1; (1997); 89-98

**Versicherung:**

Hiemit versichere ich,  
daß ich diese Arbeit selbständig angefertigt  
und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel  
verwendet habe.

Oldenburg, 13. Dezember 2001

.....

## Lebenslauf

**Name:** Stroot

**Vorname:** Sonja

**Geburtsdatum:** 25.06.1969

**Geburtsort:** Nordhorn

**Familienstand:** ledig

**Schulbildung:** 1975 – 1979 Grundschule Süsteresch Schüttorf  
1979 – 1981 Orientierungsstufe Schüttorf  
1981 – 1985 Realschule Schüttorf  
1985 – 1986 Berufsfachschule Hauswirtschaft Nordhorn  
1986 – 1989 Fachgymnasium Hauswirtschaft Nordhorn  
Abschluß: Abitur

**Hochschulstudium:** 10.1989 – 7.1996 Diplomstudiengang Chemie an der  
C. v. O. Universität Oldenburg  
Abschluß: Diplom

**Aufbaustudium:** seit 1997 C. v. O. Universität Oldenburg