

Inhaltsverzeichnis

1	EINLEITUNG	1
2	ZIELSETZUNG	5
3	THEORIE UND STAND DER TECHNIK	7
3.1	Taxonomie und Kultivierung	7
3.2	Chemische Zusammensetzung von <i>Fucus vesiculosus</i> und <i>Laminaria digitata</i>	8
3.2.1	<i>Fucus vesiculosus</i>	8
3.2.2	<i>Laminaria digitata</i>	10
3.3	Charakterisierung des Fucoidans.....	11
3.4	Bioaktivität	14
3.5	Degradation der Fucoidane	14
3.5.1	Chemische und physikalische Methoden	15
3.5.2	Enzymatische Hydrolyse	16
3.6	Konventionelle Extraktions- und Aufreinigungsmethoden	18
4	THEORETISCHE GRUNDLAGEN	23
4.1	Statistische Methoden	23
4.1.1	Statistische Versuchsplanung	24
4.1.1.1	Einführung	24
4.1.1.2	Auswahl des Versuchsplanes und der Regression	26
4.1.2	Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze.....	28
4.2	Metachromasie und Charge-Transfer-Komplexe	30
4.2.1	Einführung in die Grundlagen der Charge-Transfer-Theorie.....	30
4.2.2	Evaluierung spektroskopischer und thermodynamischer Größen des Charge-Transfer-Komplexes	32
4.3	Adsorptions und Extraktionskinetik.....	35
4.3.1	Adsorptionskinetik.....	35
4.3.2	Weber-Morris-Plot.....	37
4.4	Adsorptionsisotherme	38

4.5	Lichtstreuendetektion	38
4.6	Chromatographie.....	40
4.6.1	Bestimmung von Säulencharakteristika	41
4.6.2	Analyse von Durchbruchkurven mittels Standardabweichungsmethode	43
4.6.3	Charakterisierung der Gelpermeationschromatographie	44
4.7	Mössbauer-Spektroskopie.....	45
5	SPEZIFISCHE DETEKTION SULFATIERTER POLYSACCHARIDE	49
5.1	UV/Vis-Spektren der Polysaccharid-Toluidinblau-Komplexe	50
5.2	Erfassungs-, Nachweis-, und Bestimmungsgrenzen.....	55
5.3	Bestimmung thermodynamischer und spektroskopischer Größen des Komplexes	57
5.3.1	Molare Absorptivität, Assoziationskonstante, Übergangsdipolmoment und	
	Oszillatorstärke mittels UV/Vis-Spektroskopie	58
5.3.2	Bestimmung der Stöchiometrie des Komplexes.....	62
5.3.3	Interaktion des Toluidinblaus mit anderen Stoffen	64
6	FUCOIDANEXTRAKTION UND –AUFREINIGUNG.....	69
6.1	Vorbereitung des Algenmaterials	69
6.2	Vorbehandlung	71
6.2.1	Extraktion von Chlorophyll mit Aceton.....	73
6.2.1.1	Extraktionskinetik.....	73
6.2.1.2	Bestimmung des optimalen Flottenverhältnisses	76
6.2.1.3	Kontinuierliche Chlorophyllextraktion	78
6.2.2	Detektion der Fettsäuren aus der Hexan/Isopropanol-Fraktion	80
6.2.3	Mannitolgewinnung aus der Ethanolvorbehandlung und Polymerisation	
	der Polyphenole.....	82
6.2.4	Zusammenfassung der optimierten Vorbehandlung	83
6.3	Bestimmung der Molekülmasse verschiedener Fucoidanfraktionen	84
	mittels Laserlichtstreuung.....	84
6.3.1	Präzipitationsausbeuten	84
6.3.2	Ergebnisse der Laserlichtstreuendetektion	86
6.4	Mössbauerspektren der Eisen-Fucoidan-Präzipitate.....	92
6.5	Optimierung der Fucoidanextraktion mittels statistischer Versuchsplanung.....	95
6.5.1	Evaluierung der Fucoidanextraktion aus <i>Fucus vesiculosus</i>	96

6.5.1.1	Fucoidangehalt	96
6.5.1.2	Sulfatgehalt	101
6.5.2	Evaluation der Fucoidanextraktion aus <i>Laminaria digitata</i>	105
6.5.2.1	Fucoidangehalt	105
6.5.2.2	Sulfatgehalt	108
6.5.2.3	Zusammenfassung der Ergebnisse der Statistischen Versuchsplanung	112
6.6	Einengung des Parameterbereichs und Einführung der optimierten Vorbehandlung ..	113
6.6.1	Fucoidangehalt	114
6.6.2	Sulfatgehalt.....	117
6.7	Optimales Flottenverhältnis der Fucoidanextraktionen	119
6.8	Konventionelle Fucoidanaufreinigung	122
6.8.1	Enzymatisch gestützte Fucoidanextraktion	122
6.8.2	Biogasproduktion mit Algenmaterial nach Hydrolyse	123
6.8.3	Ammoniumcarbonatpräzipitation	126
6.8.4	Chloroform-/Dichlormethanextraktion.....	127
6.8.5	Cross-Flow-Filtration.....	128
6.8.6	Bleichen des Fucoidans	130
6.8.7	Isopropanolfällung	131
6.8.8	Ionenaustauschchromatographie	132
6.8.8.1	Charakterisierung der Säule.....	132
6.8.9	Adsorption, Durchbruchskurve und Elution	134
6.8.9.1	Beladung der Anionenaustauschersäule.....	134
6.8.9.2	Elution des Fucoidans	136
6.8.10	Gelpermeationschromatographie	138
6.8.10.1	Charakterisierung der Säule.....	138
6.8.10.2	Entsalzung der Fucoidanfraktionen	140
6.8.11	Übersicht über die Aufreinigung	142
6.8.12	Charakterisierung und Bioaktivitätstests des aufgereinigten Fucoidans.....	143
6.8.12.1	Infrarotspektroskopie	143
6.8.12.2	CHNS-Analyse.....	145
6.8.12.3	Antiviralitätstests	146
6.9	Dye Affinity Chromatography.....	148
6.9.1	Optimale Immobilisierungsbedingungen des Farbstoffes bezüglich der Fucoidanbindungskapazität.....	148
6.9.2	Sorptionsisotherme.....	154
6.9.3	Adsorptionskinetik.....	156
6.9.4	Adsorption des Fucoidans aus einem synthetischen Rohextrakt.....	160
6.9.5	Wiederverwendbarkeit des Adsorbers.....	162

7	FUCOIDANIMMOBILISIERUNG AUF TRÄGERMATERIAL	165
8	ABSCHLIEBENDE DISKUSSION	173
9	AUSBLICK	177
10	LITERATUR	181
11	ANHANG	197
11.1	Anhang A: Verwendete Instrumente.....	197
11.2	Anhang B: Verwendete Chemikalien/Materialien	199
11.3	Anhang C: Puffer und Lösungen	202
11.3.1	Verwendete Lösungen.....	202
11.3.2	Mcllvaine-Puffer.....	203
11.4	Anhang C: Versuchsprotokolle.....	205
11.4.1	Evaluation der optimalen Parameter zur Farbstoffimmobilisierung auf Aminosepabeads	205
11.4.2	Herstellung und Ausbeute der sulfatierten Mono- und Oligosaccharide	206
11.4.3	Extraktion des Fucoidans zur Immobilisierung auf Aminosepabeads®	207
11.4.4	Fucoidanextraktion, -hydrolyse und -präzipitation zur Molekulargewichtsanalyse	208
11.4.5	Statistische Versuchsplanung der Fucoidanextraktion.....	208
11.4.5.1	Detektion Fucoidan- und Sulfatkonzentration im Versuch mit <i>Fucus vesiculosus</i> und <i>Laminaria digitata</i>	208
11.4.5.2	Restriktion des Parameterraums und Detektion der optimierten Vorbehandlung... ..	211
11.4.6	Darstellung des Fucoidans und Adsorption aus einem synthetischen Rohextrakt	212
11.5	Anhang D: Assays und Analytik	213
11.5.1	Assays	213
11.5.1.1	Bestimmung Fucoidankonzentration mit dem TB-Test	213
11.5.1.2	Sulfatbestimmung mittels BaSO ₄ -Test	214
11.5.2	Chromatographie	214
11.5.2.1	Fettsäureanalyse mittels GC-MS.....	214
11.5.2.2	Biogasanalyse mittels GC-MS.....	215
11.5.2.3	Bestimmung Fucoidankonzentration mit GPC/SEC	215
11.5.2.4	Polyphenolanalytik.....	216
11.5.2.5	Analytik zur Säuredetektion.....	216
11.5.2.6	Analytik zur Separation der Fucoidane für die Laserlichtstreuung.....	217
11.5.2.7	Analytik zur Monosacchariddetektion	217

11.5.3	Mössbauer-Spektroskopie.....	217
11.5.4	NMR-Spektroskopie.....	218
11.5.4.1	¹ H-NMR Ammoniumcarbonatpräzipitat	219
11.6	Anhang E: Abbildungsverzeichnis	220
11.7	Anhang F: Tabellenverzeichnis.....	229
11.8	Anhang G: Angaben zur Person	232
11.8.1	Betreute Diplom-, Studien- und Forschungsarbeiten	232
11.8.2	Veröffentlichungen.....	233
11.8.3	Tagungsbeiträge.....	234
11.8.3.1	Vorträge	234
11.8.3.2	Poster	234
11.8.4	Lebenslauf	236