

Alternative Prozesskonzepte zur Herstellung von pflanzlichen Extrakten

Vom Fachbereich Maschinenbau und Verfahrenstechnik
der Technischen Universität Kaiserslautern
zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor-Ingenieur (Dr.-Ing.)

genehmigte

Dissertation

Vorgelegt von

Frau

M. Sc. Simone Bachtler

aus Neustadt an der Weinstraße (Geburtsort)

Dekan: Prof. Dr.-Ing. Tilmann Beck

Prüfungskommission:

Prüfungsvorsitzender: Prof. Dr.-Ing. Sergiy Antonyuk

1. Berichterstatter: Prof. Dipl.-Ing. Dr. techn. Hans-Jörg Bart

2. Berichterstatter: Prof. Dr. rer. nat. Roland Ulber

Tag der mündlichen Prüfung: 11.11.2021

Kaiserslautern 2021

D 386

Abstract

The use of solid-liquid extraction to obtain active ingredients from plant material is as old as mankind. Enriched extracts or purified active ingredients related to food technology, biotechnology and pharmacology are used every day. The diffusion as well as the mass transport of the active ingredients are influenced by the biological, chemical and physical characteristics of the plant material and the operational management during the extraction process. This dissertation studies the diffusion behavior of various active substances from different plant materials when promoting the extraction process by microwaves, ultrasound waves or high-voltage pulses. The mass transport is described in single and multiple stages with process engineering models at a fixed temperature.

Unlike previous studies, diverse plant structures are selected in combination with alternative process concepts based on dielectric heating, cavitation bubbles or high-voltage pulses to destroy the cell membrane. These models are inspired by the diverse plant materials such as leaves, flowers, needles, seeds, bark, roots and herbs under the influence of microwaves, ultrasound waves and high-voltage pulses, which contribute to increasing the yield of the active ingredients in the extract. First the properties such as the bulk density, the proportion of volatile constituents, particle size distribution, the influence of the solvent and phase ratio of the selected plant materials are examined. As expected, each plant and its active ingredients show different characteristics that affect the extraction process with alternative process concepts.

Contrary to many assumptions, the microwave-assisted extraction technology by means of dielectric heating achieves the highest yield for all dried plant materials. With the ultrasound-assisted extraction technology, a larger quantity of the active ingredients in the extract is measured at a fixed extraction temperature compared to a stirred batch maceration. The high-voltage pulse-assisted extraction technology with a simple pulse protocol and a moderate electric field strength shows a high yield of active ingredients and a mild warming of the extractant by using freshly harvested or undried plant materials and an aqueous extraction medium with a maximum of 20 vol% ethanol.

The calculations of the rate constants, the resulting activation energies and the effective diffusion coefficients, which are based on the analytical solution of Fick's second law, from the temperature-dependent extraction processes correlate with the established macro and micro properties of the plant materials. Finally, three-stage cross-flow extractions carried out with an automated high-throughput system are modeled on the basis of the mass balances and the actual amounts of extractant used are compared with the calculated amounts of extractant for different plant materials. The active ingredients in wood-like structures and in herbs, due to their swelling behavior, show a mitigated diffusion compared to the leaching of the active ingredients from leafy raw material or spice seeds.

Kurzfassung

Die Verwendung der Fest-Flüssig Extraktion zur Gewinnung von Wirkstoffen aus Pflanzenmaterial ist so alt wie die Menschheit. Es sind daher angereicherte Extrakte oder aufgereinigte Wirkstoffe in der Lebensmitteltechnologie, Biotechnologie und Pharmakologie alltäglich vorzufinden. Die Diffusion sowie der Stofftransport der Wirkstoffe werden durch die biologischen, chemischen, physikalischen Charakteristika des Pflanzenmaterials und durch die Betriebsführung des Extraktionsvorgangs beeinflusst. Diese Dissertation analysiert das Diffusionsverhalten diverser Wirkstoffe aus unterschiedlichen Pflanzenmaterialien mit einer Unterstützung des Extraktionsvorgangs durch Mikrowellen, Ultraschallwellen oder Hochspannungsimpulse. Der Stofftransport wird bei festgesetzter Temperatur mit verfahrenstechnischen Modellen einstufig und mehrstufig beschrieben.

Im Gegensatz zu vorangegangenen Studien werden mannigfaltige Pflanzenstrukturen in Kombination mit alternativen Prozesskonzepten beruhend auf den verschiedenen Wirkmechanismen ausgewählt. Diese Modellierungen sind durch die vielfältigen Pflanzenmaterialien wie Blätter, Blüten, Nadeln, Samen, Rinde, Wurzeln und Kräuter unter der Einwirkung der Mikrowellen, Ultraschallwellen sowie Hochspannungsimpulse, die zur Erhöhung der Ausbeute an den Wirkstoffen im Extrakt beitragen, inspiriert. Zuerst wurden die Eigenschaften wie die Schüttgutdichte, der Anteil an flüchtigen Bestandteilen, Partikelgrößenverteilung, der Lösungsmittel- und Phasenverhältniseinfluss der ausgewählten Pflanzenmaterialien untersucht. Wie erwartet zeigt jede Pflanze und deren Wirkstoffe verschiedene Merkmale, die sich auf den Extraktionsvorgang mit alternativen Prozesskonzepten auswirken.

Entgegen den Vermutungen, erreicht die Mikrowellen-unterstützte Extraktion mittels dielektrischer Erwärmung nach Optimierung der Leistung die höchste Ausbeute für alle ausgewählten Pflanzenmaterialien, wenn diese getrocknet vorliegen. Mit der Ultraschall-unterstützten Extraktionstechnologie wird bei festgesetzter Extraktionstemperatur eine größere Quantität der Wirkstoffe im Extrakt im Vergleich zu einem gerührten Batch gemessen. Die Hochspannungsimpuls-unterstützte Extraktionstechnologie mit einem einfachen Pulsprotokoll und einer moderaten elektrischen Feldstärke zeigt bei frisch geernteten bzw. nicht getrockneten Pflanzenmaterialien und wässrigen Extraktionsmilieu mit maximal 20 Vol% Ethanol eine hohe Ausbeute an Wirkstoffen und eine milde Erwärmung des Extraktionsmittels.

Die Berechnungen der Geschwindigkeitskonstanten, der daraus resultierenden Aktivierungsenergien und der effektiven Diffusionskoeffizienten, die auf der analytischen Lösung des 2. Fick'schen Gesetz basieren, korrelieren mit den festgestellten Makro- und Mikro-eigenschaften der Pflanzenmaterialien. Schließlich werden mit einem automatisierten Hochdurchsatzsystem durchgeführte, dreistufige Kreuzstromextraktionen auf Grundlage der Massenbilanzen modelliert und die tatsächlich eingesetzten mit den berechneten Extraktionsmittelmengen bei unterschiedlichen Pflanzenmaterialien verglichen. Die Wirkstoffe in holzartigen Strukturen und in Kräutern zeigen aufgrund ihres Quellverhalten eine abgeschwächte Diffusion im Vergleich zum Herauslösen der Wirkstoffe aus blättrigem Rohstoff oder Gewürzsaamen.

Danksagung

Nach einer langen Promotion ist die Erstellung einer Dankesliste eine Herkules-Aufgabe, die fast genauso wie die Dissertation selbst ist. Es gab viele Einzelpersonen und Institutionen, die mir wissenschaftliche sowie persönliche Beratung, Unterstützung, Finanzierung und Inspiration gaben. Mein siebartiges Gedächtnis hat sicher nicht alle Namen beibehalten. Ich bedauere, dass ich keine vollständige Liste meiner vielen Quellen der Hilfe erstellen kann. Mein Versagen erinnert mich jedoch daran, dass ich wirklich glücklich bin, so viel Hilfe im Laufe der Jahre erhalten zu haben. Und diejenigen, die Glück haben, müssen sich bedanken!

Ich wäre sehr nachlässig, wenn ich Prof. Dr. Ing. techn. Hans-Jörg Bart nicht dafür danken würde, dass ich an dem teilnehmen durfte, was ich in Betracht zog, ein Teil der Phytoextrakte- und Thermische Verfahrenstechnik-Gruppe mit dem Schwerpunkt Extraktion zu sein. Insbesondere stellte er die Gelegenheit, sich auszutauschen, für viele Ingenieure und Wissenschaftler zur Verfügung. Die Gruppe enthält eine große Anzahl angehender Ingenieure, die nicht durch Hierarchie und Bürokratie belastet sind, denn innerhalb der Gruppe verbreitet sich das Wissen frei. Mit der Anzahl von Wissenschaftlern, die kommen und gehen, ist das Technikum eine wichtige Kreuzung in der Welt der Extraktion sowie thermischen Verfahrenstechnik. Dabei habe ich viel von meinen Laborkollegen gelernt. Ohne meine Kollegen wäre meine Arbeit im Schneckentempo vorangekommen und die Qualität hätte sicher gelitten. Eine Reihe von Kollegen hat zu meiner Arbeit und zu meinem Wachstum als Wissenschaftler beigetragen. Ich werde meinen Kollegen für immer für ihren wissenschaftliche Support dankbar sein. Meist haben sie mehrere Ingenieur- und Wissenschaftsprojekte unter einen Hut brachte und gaben hervorragende Beispiele für weniger erfahrene Ingenieure. Ich bin geehrt und dankbar für ihre Unterstützung über die letzten sechs Jahre. Durch ihre Beispiele und ihre direkten Anleitungen haben sie mir eines der wichtigsten Fähigkeiten beigebracht, die ein Wissenschaftler besitzen kann: die Fähigkeit, Experimente effizient zu entwerfen und zu planen, um die interessantesten Merkmale eines experimentellen Systems aufzudecken. Ich bin auch dankbar für die Hilfe beim Erlernen anderer wichtiger Fähigkeiten wie wissenschaftliches Schreiben und Zusammenarbeit.

Zu guter Letzt danke ich Alexander und Christina für ihre Geduld. Ich bin nicht nur dankbar für ihre Geduld über den langen Promotion-Prozess, sondern auch dass sie mir jedes Mal zuhörten und mich weiter motivierten, nicht auf zugegeben. Alexander tolerierte meine Besprechungen und Konferenzen mit minimaler Beschwerde. Ich danke auch meinen Eltern für meinen Namen, meine Geburt und ihre Unterstützung. Ich bin dankbar, dass sie mir genug lange Leine gelassen haben, um meinen eigenen Weg im Leben zu finden.

Inhaltsverzeichnis

ABSTRACT	II
KURZFASSUNG	III
DANKSAGUNG	IV
TABELLENVERZEICHNIS	VIII
ABBILDUNGSVERZEICHNIS	IX
ABKÜRZUNGS- UND SYMBOLVERZEICHNIS	XIII
1. EINLEITUNG	1
1.1. HISTORIE UND STAND DER TECHNIK BEI PFLANZENEXTRAKTIONEN.....	1
1.2. HERAUSFORDERUNGEN BEI DER STUDIE VON PFLANZENEXTRAKTIONEN	3
1.3. AUFBAU DIESER DISSERTATION	4
2. PROZESSE UND MODELLE BEI PFLANZENEXTRAKTIONEN	6
2.1. DIFFUSIONSMECHANISMEN-STUDIEN.....	7
2.2. ALTERNATIVE PROZESSKONZEPTE	10
2.2.1 MIKROWELLENUNTERSTÜTZENDE EXTRAKTIONSTECHNOLOGIE	11
2.2.2 ULTRASCHALLUNTERSTÜTZENDE EXTRAKTIONSTECHNOLOGIE.....	14
2.2.3 HOCHSPANNUNGSIMPULSUNTERSTÜTZENDE EXTRAKTIONSTECHNOLOGIE	19
2.3. MEHRSTUFIGE FEST-FLÜSSIG EXTRAKTIONEN	29
2.3.1 CHARAKTERISIERUNG DES FESTSTOFFES.....	35
2.3.2 BESTIMMUNG DER GLEICHGEWICHTSPARAMETER.....	35
2.3.3 MODIFIKATION DER MODELLIERUNG	38

3. MATERIALIEN UND METHODEN	41
3.1 VERWENDETE PFLANZEN UND IHRE EIGENSCHAFTEN	41
3.2 PROBENVORBEREITUNG UND LAGERUNG DES PFLANZENMATERIALS	43
3.2.1 ROTES WEINLAUB	43
3.2.2 MELISSE, SÜßHOLZWURZEL, HOLUNDERBAUMRINDE UND ANNATTOSAMEN.....	44
3.2.3 SCHÜTTDICHTER	45
3.2.4 FLÜCHTIGE BESTANDTEILE UND WASSERGEHALT	45
3.2.5 PARTIKELGRÖßENVERTEILUNG	45
3.3 ANALYTIK DER SEKUNDÄREN PFLANZENSTOFFE	46
3.3.1 ROTES WEINLAUB	46
3.3.2 ANNATTOSAMEN.....	47
3.3.3 HOLUNDERRINDE.....	47
3.3.4 MELISSE UND SÜßHOLZWURZEL	48
3.4 FEST-FLÜSSIG EXTRAKTION: PROZESSE UND MODELLE	49
3.4.1 HOCHDURCHSATZSYSTEM LISSY 4G200	50
3.4.2 DOPPELMANTELEXTRAKTOR	54
3.4.3 DURCHFÜHRUNG DER MEHRSTUFIGEN FEST-FLÜSSIG EXTRAKTIONEN	56
3.5 ALTERNATIVE PROZESSKONZEPTE	57
3.6 TOTALGEHALT UND AUSBEUTE	59
3.7 FEHLERBETRACHTUNG	59
4. ERGEBNISSE UND DISKUSSION	60
4.1 EINSTUFIGE PFLANZENEXTRAKTIONEN.....	60
4.1.1 SCHÜTTGUTDICHTER DES PFLANZENMATERIALS.....	60
4.1.2 EINFLUSS DER FLÜCHTIGEN BESTANDTEILE UND DES WASSERGEHALTES	61
4.1.3 VERTEILUNG DER PARTIKELGRÖßE	62
4.1.4 EINFLUSS DES EXTRAKTIONSMITTELS	63
4.1.5 EINFLUSS DES PHASENVERHÄLTNISSSES	64

4.2 ALTERNATIVE PROZESSKONZEPTE	67
4.2.1 EINFLUSS DER TEMPERATUR.....	67
4.2.2 OPTIMIERUNG DER ALTERNATIVEN PROZESSKONZEPTE	68
4.2.3 EINFLUSS DER ALTERNATIVEN PROZESSKONZEPTE.....	73
4.2.4 BESTIMMUNG DER GLEICHGEWICHTSKONSTANTEN.....	76
4.2.5 BESTIMMUNG DES EFFEKTIVEN DIFFUSIONSKOEFFIZIENTEN	81
4.3 MEHRSTUFIGE PFLANZENEXTRAKTIONEN	83
4.3.1 ZUSAMMENSETZUNG DES ROHMATERIALS.....	83
4.3.2 BESTIMMUNG DER GLEICHGEWICHTSPARAMETER.....	84
4.3.3 MODELLIERUNG.....	90
<u>5. ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK.....</u>	<u>94</u>
<u>ANHANG.....</u>	<u>A</u>
A.1. KALIBRIERGERADEN.....	A
A.2. TECHNISCHE DOKUMENTATION.....	C
A.3. MODELLIERUNG	P
A.4. MESSDATEN.....	R
<u>LITERATURVERZEICHNIS.....</u>	<u>V</u>
<u>VERÖFFENTLICHUNGEN</u>	<u>HH</u>
<u>BETREUTE STUDIENARBEITEN.....</u>	<u>HH</u>
<u>LEBENS LAUF.....</u>	<u>II</u>

Tabellenverzeichnis

TABELLE 1: AUFLISTUNG MEHRSTUFIGER PROZESSAUSFÜHRUNGEN ZU „MULTISTAGE SOLID LIQUID EXTRACTION“	31
TABELLE 2: AUFLISTUNG VON HERSTELLERN FÜR EXTRAKTIONSANLAGEN	34
TABELLE 3: MASSENBIANZEN FÜR DIE KREUZSTROMEXTRAKTION.....	38
TABELLE 4: LÖSUNGALGORITHMUS FÜR DIE KREUZSTROMEXTRAKTION	39
TABELLE 5: ÜBERSICHT DER VERWENDETEN STOFFSYSTEME.....	41
TABELLE 6: STOFFDATEN DER VERWENDETEN EXTRAKTIONSMITTEL.....	43
TABELLE 7: ABLAUF DER FOLIN-CIOCALTEU METHODE	46
TABELLE 8: PARAMETER DER ISOKRATISCHEN HPLC-METHODE.....	48
TABELLE 9: PARAMETER DER GRADIENTEN-HPLC-METHODE.....	49
TABELLE 10: KOMPONENTEN DES AUTOMATISIERTEN HOCHDURCHSATZSYSTEMS	51
TABELLE 11: SCHEMA DER EXPERIMENTE ZUR BESTIMMUNG DER GLEICHGEWICHTSPARAMETER.....	56
TABELLE 12: VORGEGEBENE DATEN ZUR MODELLIERUNG.....	57
TABELLE 13: ZUSAMMENSTELLUNG DER VEGETABILEN EIGENSCHAFTEN	67
TABELLE 14: EINFLUSS DER ALTERNATIVEN PROZESSKONZEPTE WÄHREND DER EXTRAKTION VON VERSCHIEDENEN PFLANZENMATERIALIEN: ++ SEHR GUT, + GUT, - SCHLECHT, -- SEHR SCHLECHT.....	76
TABELLE 15: EXTRAKTIONSKINETIKPARAMETER FÜR ROTES WEINLAUB BEI VERSCHIEDENEN TEMPERATUREN.....	78
TABELLE 16: EXTRAKTIONSPARAMETER FÜR HOLUNDERBAUMRINDE BEI VERSCHIEDENEN TEMPERATUREN MIT ALTERNATIVEN PROZESSKONZEPTE	80
TABELLE 17: EXTRAKTIONSKINETIKPARAMETER FÜR ANNATTOSAMEN BEI VERSCHIEDENEN TEMPERATUREN MIT ALTERNATIVEN PROZESSKONZEPTE	81
TABELLE 18: ZUSAMMENSETZUNG DES PFLANZENMATERIALS	83
TABELLE 19: GLEICHGEWICHTSPARAMETER FÜR ROTES WEINLAUB	84
TABELLE 20: GLEICHGEWICHTSPARAMETER FÜR MELISSE	86
TABELLE 21: AUFSTELLUNG DER MASSENBIANZEN FÜR DIE GEGENSTROMEXTRAKTION	P
TABELLE 22: LÖSUNGALGORITHMUS FÜR DIE GEGENSTROMEXTRAKTION NACH CASTILLO-SANTOS ET. AL	Q

Abbildungsverzeichnis

ABBILDUNG 1: ANZAHL DER VERÖFFENTLICHUNGEN: MIKROWELLEN-, ULTRASCHALL- UND HOCHSPANNUNGSIMPULSUNTERSTÜTZENDE EXTRAKTION VON 2005 BIS 2016 (VOLLTEXTSUCHE, (ELSEVIER B.V 2016)	3
ABBILDUNG 2: FLIEßBILD EINER EXTRAKTIONSSTUFE	6
ABBILDUNG 3: MODELL ZUR DARSTELLUNG DER DIFFUSIONSSCHRITTE BEI DER PFLANZENEXTRAKTION	9
ABBILDUNG 4: MIKROWELLENHERD: TECHNISCHE ENERGIEZUFUHR DES MAGNETRONS ÜBER HOHLLEITER AUF DAS DREHENDE ERWÄRMUNGSGUT	12
ABBILDUNG 5: WÄRMETECHNISCHE AUSLEGUNG DES MIKROWELLENOFENS	13
ABBILDUNG 6: AUFBAU EINES STABSCHWINGERS	15
ABBILDUNG 7: KLASSIFIZIERUNG DER ULTRASCHALLWELLEN NACH LEISTUNGSEINTRAG BEZÜGLICH AMPLITUDE UND FREQUENZ (MASON UND LORIMER 2002)	17
ABBILDUNG 8: WIRKUNG EINER IMPLODIERENDER KAVITATIONSBLASE IN DER NÄHE EINER PFLANZENZELLE: DER FLÜSSIGKEITSJET STÖßT DURCH DIE BLASE A); ZERSTÖRUNG DER ZELLENMEMBRAN UND FREISETZUNG DER PFLANZENSTOFFE B)	19
ABBILDUNG 9: ELEKTROPORATION VON ZELLMEMBRANEN BEI VERSCHIEDENEN FELDESTÄRKEN. E: ELEKTRISCHE FELDESTÄRKE; E_k : KRITISCHE ELEKTRISCHE FELDESTÄRKE (JAVIER RASO 2006)	21
ABBILDUNG 10: AUFBAU EINER HOCHSPANNUNGSIMPULSANLAGE ZUR ERZEUGUNG EXPONENTIELLER PULSE	22
ABBILDUNG 11: FLIEßBILD DES KREUZSTROMPROZESSES: A) ERSCHÖPFENDE EXTRAKTION, B) BELADUNG DES EXTRAKTIONSMITTELS	29
ABBILDUNG 12: FLIEßBILD DES GEGENSTROMVERFAHRENS	30
ABBILDUNG 13: ANZAHL DER VERÖFFENTLICHUNGEN ZU „MULTISTAGE SOLID LIQUID EXTRACTION“ VON 2000 BIS 2020 (VOLLTEXTSUCHE MIT „SCIENEDIRECT“)	30
ABBILDUNG 14: SYSTEMATISCHER MODULAUFBAU DES LABORROBOTERS MIT KOMPONENTENTISCH UND BEWEGUNGSARM MIT GREIFER SOWIE MIT PIPETTEN ZUR DOSIERUNG VON FLÜSSIGKEITEN, ZINSSER ANALYTICS GMBH	32
ABBILDUNG 15: AUFBAU VON KARUSSELLEXTRAKTOREN	33
ABBILDUNG 16: AUFBAU DES GROßTECHNISCHEN EXTRAKTORS MIT 2 FÖRDERSCHNECKEN	34
ABBILDUNG 17: CHEMISCHE STRUKTURFORMELN: A) FLAVONOIDE, ANTHOCYANE B) BIXIN C) URSOL- UND OLEANOLSÄURE D) ROSMARINSÄURE E) GLYCYRRHIZINSÄURE	42
ABBILDUNG 18: MIKROSKOPISCHE AUFNAHME VON ANGEFÄRBTEN ROTEM WEINLAUB IM DUNKELFELD	44
ABBILDUNG 19: HPLC-CHROMATOGRAMM ZUR TRENNUNG VON OLEANOL- UND URSOLSÄURE	48
ABBILDUNG 20: MAIN LAYOUT – DARSTELLUNG ALLER KOMPONENTEN DES LABORROBOTERS	50

Alternative Prozesskonzepte zur Herstellung von pflanzlichen Extrakten

ABBILDUNG 21: A) AUSGANGSPOSITION DER PIPETTIERNADELN B) MOMENTAUFNAHME DER FILTRATION	53
ABBILDUNG 22: VERFAHRENSSCHEMATA DES DOPPELMANTELEXTRAKTORS: A) DISKONTINUIERLICH MIT BLATTRÜHRER ODER DREHENDEM SIEBKORB; B) KONTINUIERLICH MIT VERTEILER ÜBER DEM FESTBETT UND UMWÄLZPUMPE V; UT UMWÄLZTHERMOSTAT; WÜ WÄRMEÜBERTRAGER C) SIEBKORB MIT DICHUNGSRING UND STÜTZEN.....	55
ABBILDUNG 23: A) AUFBAU DER ULTRASCHALLSONDE MIT STEUEREINHEIT; B) MIKROWELLENOFEN MIT STEUERBAREM PT 100; C) VERBINDUNGSPLAN DER HOCHSPANNUNGSIMPULSANLAGE.....	58
ABBILDUNG 24: AUFTRAGUNG DER SCHÜTTGUTDICHTUNG FÜR DIE AUSGEWÄHLTEN PFLANZENMATERIALIEN MIT UNTERSCHIEDLICHEN PARTIKELGRÖßEN	61
ABBILDUNG 25: BESTIMMUNG DES GEWICHTS VOR UND NACH DER TROCKNUNG IM TROCKENSCHRANK BEI T=75 °C (T=24 H) VON ETWA 1 G PFLANZENMATERIAL.....	62
ABBILDUNG 26: PARTIKELGRÖßENVERTEILUNG DER BLÄTTRIGEN PFLANZENMATERIALIEN: ROTES WEINLAUB A) UND MELISSE B)	63
ABBILDUNG 27: EINFLUSS DES EXTRAKTIONSMITTELS AUF DIE KONZENTRATION VON BIXIN AUS ANNATTOSAMEN EXTRAHIERT A); OLEANOL- UND URSOLSÄURE AUS HOLUNDERRINDE EXTRAHIERT B); IN BEZUG AUF DIE PARTIKELGRÖßE SOWIE AUF DIE KONZENTRATION DER POLYPHENOLE AUS ROTEM WEINLAUB EXTRAHIERT C)	64
ABBILDUNG 28: EINFLUSS DES EXTRAKTIONSMITTELS ZU PFLANZENMENGENVERHÄLTNISS BEI DER EXTRAKTION VON BIXIN AUS ANNATTOSAMEN A); OLEANOL- UND URSOLSÄURE AUS HOLUNDERRINDE B); ROSMARINSÄURE AUS MELISSE C)	65
ABBILDUNG 29: EINFLUSS DES EXTRAKTIONSMITTELS ZU PFLANZENMENGENVERHÄLTNISS VON GLYCYRRHIZINSÄURE AUS SÜßHOLZWURZEL A); POLYPHENOLEN AUS ROTEN WEINLAUBBLÄTTERN (PARTIKELGRÖßE 200-450 µM) MIT VERSCHIEDENEN EXTRAKTIONSMITTEL BEI T = 35 °C UND T = 60 MIN B)	66
ABBILDUNG 30: ÄNDERUNG DER TEMPERATUR WÄHREND DER MIKROWELLENUNTERSTÜTZENDEN EXTRAKTION A); ULTRASCHALLUNTERSTÜTZENDEN EXTRAKTION B); HOCHSPANNUNGSIMPULSUNTERSTÜTZENDEN EXTRAKTION C) ..	68
ABBILDUNG 31: ERHÖHUNG DER EXTRAKTIONSTEMPERATUR ZUR GEWINNUNG VON POLYPHENOLEN AUS ROTEM WEINLAUB	69
ABBILDUNG 32: VARIATION DER AMPLITUDE WÄHREND DER ULTRASCHALLUNTERSTÜTZENDEN EXTRAKTION A); VARIATION DER LEISTUNG WÄHREND MIKROWELLENUNTERSTÜTZENDEN EXTRAKTION B); VARIATION DES ELEKTRISCHEN FELDDES WÄHREND HOCHSPANNUNGSIMPULSUNTERSTÜTZENDEN EXTRAKTION C).....	71
ABBILDUNG 33: ERHÖHUNG DER EXTRAKTIONSTEMPERATUR ZUR GEWINNUNG VON URSOLSÄURE A); BZW. VON OLEANOLSÄURE B) AUS HOLUNDERBAUMRINDE	72
ABBILDUNG 34: VARIATION DER AMPLITUDE WÄHREND DER ULTRASCHALLUNTERSTÜTZENDEN EXTRAKTION A); VARIATION DER LEISTUNG WÄHREND MIKROWELLENUNTERSTÜTZENDEN EXTRAKTION B)	72
ABBILDUNG 35: VARIATION DER AMPLITUDE WÄHREND DER ULTRASCHALLUNTERSTÜTZENDEN EXTRAKTION A); VARIATION DER LEISTUNG WÄHREND MIKROWELLENUNTERSTÜTZENDEN EXTRAKTION B)	73
ABBILDUNG 36: VERGLEICH DER ALTERNATIVEN PROZESSKONZEPTE FÜR ROTES WEINLAUB	75
ABBILDUNG 37: VERGLEICH DER ALTERNATIVEN PROZESSKONZEPTE FÜR HOLUNDERBAUMRINDE A); ANNATTOSAMEN B) ..	75

Alternative Prozesskonzepte zur Herstellung von pflanzlichen Extrakten

ABBILDUNG 38: LINEARISIERUNG DER EXTRAKTIONS KINETIK VON POLYPHENOLEN AUS ROTEM WEINLAUB A); REZIPROKE DARSTELLUNG DER LOGARITHMIERTEN GESCHWINDIGKEITSKONSTANTE GEGEN DEN KEHRWERT DER TEMPERATUR B)	77
ABBILDUNG 39: LINEARISIERUNG DER EXTRAKTIONS KINETIK VON URSOL- UND OLEANOLSÄURE AUS HOLUNDERBAUMRINDE A); REZIPROKE DARSTELLUNG DER LOGARITHMIERTEN GESCHWINDIGKEITSKONSTANTE GEGEN DEN KEHRWERT DER TEMPERATUR B)	79
ABBILDUNG 40: LINEARISIERUNG DER EXTRAKTIONS KINETIK VON URSOL- UND OLEANOLSÄURE AUS HOLUNDERRINDE A); REZIPROKE DARSTELLUNG DER LOGARITHMIERTEN GESCHWINDIGKEITSKONSTANTE GEGEN DEN KEHRWERT DER TEMPERATUR B)	80
ABBILDUNG 41: EFFEKTIVE DIFFUSIONSKOEFFIZIENTEN IN ABHÄNGIGKEIT DER TEMPERATUR FÜR DIE ROSMARINSÄURE AUS MELISSE; FÜR DIE GLYCYRRHIZINSÄURE AUS DER SÜßHOLZWURZEL; FÜR BIXIN AUS DEN ANNATTOSAMEN; FÜR URSOLSÄURE AUS DER HOLUNDERBAUMRINDE; FÜR DIE POLYPHENOLE AUS ROTEM WEINLAUB	82
ABBILDUNG 42: GLEICHGEWICHTSPARAMETER FÜR ROTES WEINLAUB	85
ABBILDUNG 43: GLEICHGEWICHTSPARAMETER FÜR MELISSE	87
ABBILDUNG 44: SPEZIFISCH ZURÜCKGEHALTENE LÖSUNG <i>M</i> DES ROTEN WEINLAUBS	87
ABBILDUNG 45: SPEZIFISCH ZURÜCKGEHALTENE LÖSUNG <i>M</i> DER MELISSE	88
ABBILDUNG 46: SPEZIFISCH ZURÜCKGEHALTENE LÖSUNG <i>M</i> DER SÜßHOLZWURZEL	88
ABBILDUNG 47: BERECHNETE EXTRAKTIONSMITTELMENGEN FÜR DAS ROTE WEINLAUB	90
ABBILDUNG 48: BERECHNETE EXTRAKTIONSMITTELMENGEN FÜR DIE MELISSE	91
ABBILDUNG 49: KALIBRIERGERADE ZUR BESTIMMUNG DES POLYPHENOLGEHALTES IM ROTEN WEINLAUB EXTRAKT BEZOGEN AUF GALLUSSÄURE-ÄQUIVALENTE	A
ABBILDUNG 50: KALIBRIERGERADE ZUR BESTIMMUNG DER KONZENTRATION AN BIXIN IN DEN ANNATTOSAMEN-EXTRAKTEN A	
ABBILDUNG 51: KALIBRIERGERADE ZUR BESTIMMUNG DER KONZENTRATION AN URSOL- UND OLEANOLSÄURE IN DEN HOLUNDERRINDENEXTRAKTEN	B
ABBILDUNG 52: KALIBRIERGERADE ZUR BESTIMMUNG DER KONZENTRATIONEN AN ROSMARINSÄURE IN DEN MELISENEXTRAKTEN UND GLYCYRRHIZINSÄURE IN DEN SÜßHOLZWURZELEXTRAKTEN	B
ABBILDUNG 53: AUFBAU DER HOCHSPANNUNGSIMPULSANLAGE	C
ABBILDUNG 54: VERBINDUNGSPLAN DER HOCHSPANNUNGSIMPULSANLAGE	D
ABBILDUNG 55: MESSUNG, ERZEUGUNG UND REGELUNG DER HOCHSPANNUNGSIMPULSE	D
ABBILDUNG 56: HOCHSPANNUNGSGENERATOR TREK 610C	E
ABBILDUNG 57: IMPULSMODUS-A	F
ABBILDUNG 58: IMPULSMODUS-B	F
ABBILDUNG 59: IMPULSMODUS-C	G
ABBILDUNG 60: IMPULSGENERATOR HAMEG 8035	G
ABBILDUNG 61: SCHMITT-TRIGGER SCHALTUNG MIT IMPULSMODUS REGLER (4)	H
ABBILDUNG 62: SIGNALVERLAUF DER SCHMITT-TRIGGER SCHALTUNG	I

Alternative Prozesskonzepte zur Herstellung von pflanzlichen Extrakten

ABBILDUNG 63: DIE EINZELNEN BEDIENELEMENTE DES OSZILLOSKOPS SIEMENS D1010	J
ABBILDUNG 64: HOCHSPANNUNGSIMPULS MIT $T_1 = 1 \mu\text{s}$; TTL-SIGNAL (OBEN); SPANNUNGSVERLAUF DES KONDENSATORS (UNTEN)	K
ABBILDUNG 65: A) HOCHSPANNUNGSIMPULS-ZELLE MIT FARADAY'SCHEM KÄFIG UND B) AUFBAU DER VERGLEICHSMESSUNG	L
ABBILDUNG 66: SCHALTPLAN DER SCHMITT-TRIGGER SCHALTUNG	O
ABBILDUNG 67: VERSCHALTUNG DES MODUSREGLERS	O

Abkürzungs- und Symbolverzeichnis

Symbole	Bezeichnungen	Einheiten
A, A'	Wirkstoffe absorptiv in der Pflanzenzelle gebunden, bzw. in der Flüssigphase gelöst	–
A_Q, A_i	Querschnittsfläche der Fläche i	m^2
a	Faktor	–
α	Dämpfungskonstante	$\frac{kg}{s}$
α_T	Temperaturkoeffizient	$\frac{1}{K}$
\vec{B}	Magnetische Flussdichte	T
C	Kapazität	F
c_{Schall}	Schallgeschwindigkeit	$343,2 \frac{m}{s}$
c, c_{GG}, c_t	Konzentration, bzw. im Gleichgewicht, bzw. zum Zeitpunkt t	$\frac{mg}{mL}$
c_p	Spezifische Wärmekapazität	$\frac{J}{kg \cdot K}$
γ	Adiabatenkoeffizient, Isentropenexponent	–
D, D_{eff}	Diffusionskoeffizient, effektiver Diffusionskoeffizient	$\frac{m^2}{s}$
D, D_i, D_d	Diffusionskoeffizient: (i) intakte, (d) zerstörte Zellen	$\frac{m^2}{s}$
\vec{D}	Elektrische Verschiebungsdichte	$\frac{As}{m^2}$
\dot{D}	Getrockneter Rückstand	mg
E	Elastizitätsmodul	Pa
\dot{E}	Extraktstrom	$\frac{kg}{s}$
\vec{E}	Elektrische Feldstärke	$\frac{V}{m}$
\vec{E}_m	Elektrische Feld über die Zellmembran	$\frac{m}{V}$
E_A	Aktivierungsenergie	$\frac{J}{mol}$
ϵ'_r	Dielektrizitätszahl	$\frac{F}{F}$
ϵ''_r	Verlustzahl	–
ϵ^*	Komplexe Dielektrizitätskonstante	$\frac{As}{Vm}$
ϵ_0	Dielektrizitätskonstante	$8,854 \cdot 10^{-12} \frac{As}{Vm}$
\dot{F}	Feed	$\frac{kg}{s}$
ζ	Faktor, Ausdruck für das Transmembranpotential	–
\vec{H}	Magnetische Feldstärke	$\frac{A}{m}$
h	Schichtdicke der Zellmembran	μm

Alternative Prozesskonzepte zur Herstellung von pflanzlichen Extrakten

I, I_0	Schallintensität	$\frac{W}{m^2}$
J	Teilchenstromdichte	$\frac{1}{m^2 s}$
\vec{j}	Elektrische Stromdichte	$\frac{A}{m^2}$
j	Imaginärteil	–
K	Kompressionsmodul	Pa
K_L	Gleichgewichtskonstante nach Langmuir	–
K_{eq}	Gleichgewichtskonstante	–
K_F	Gleichgewichtskonstante nach Freundlich	–
k, k'	Hin-, Rückgleichgewichtskonstante	$\frac{g}{L \cdot min}$
k	Geschwindigkeitskonstante	$\frac{g}{L \cdot min}$
k_0	Temperaturunabhängiger Faktor	–
k_{Faktor}	Faktor	–
k_B	Boltzmann Konstante	$1,381 \cdot 10^{-23} \frac{J}{K}$
κ	Empirischer Exponent	–
\dot{L}	Zurückgehaltene Lösung	mg
$l, \Delta l, l_0$	Länge	m
λ	Wärmeleitfähigkeit	$\frac{W}{m \cdot K}$
\vec{M}	Magnetische Stromdichte	$\frac{A}{m^2}$
\dot{M}	Spezifisch zurückgehaltene Lösung	mg
n	Zahl, Anzahl der Pulse	–
n_p	Dauer der Pulse	–
η	Raumladung	C
$p, \Delta p$	Druck	Pa
p_A	Schalldruck	Pa
p_k	Kritischer Druck	Pa
$P, \Delta P, P_0$	Leistung	W
P_{schall}	Schallleistung	W
$P_{Polarisation}$	Polarisation	–
P_{Grad}	Beschädigungsgrad	–
Q	Energieverbrauch	J
\dot{Q}_E	Eingesetzter Wärmestrom	W
π	Kreiszahl Pi	3,14
\dot{R}	Reststoffstrom, Rückstand (nicht getrocknet)	$\frac{kg}{s}$
R	Gaskonstante	$8,314 \frac{JK}{mol}$
R_C	Ladewiderstand	Ω
R_{zelle}	Zellradius	μm
R_W	Wärmewiderstand	$\frac{K}{W}$
r	Radius	μm
ϱ	Dichte	$\frac{kg}{m^3}$

Alternative Prozesskonzepte zur Herstellung von pflanzlichen Extrakten

\dot{S}	Extraktionsmittelstrom	$\frac{kg}{s}$
θ	Eindringtiefe	mm
$\sigma, \sigma_{in}, \sigma_d$	Elektrische Leitfähigkeit: (in) intakte, (d) zerstörte Zellen	$\frac{S}{m}$
$\sigma_m, \sigma_e, \sigma_i$	Leitfähigkeit der Membran, des extrazellulären Mediums, des Cytoplasmas	$\frac{S}{m}$
σ_{mech}	Mechanische Spannung, Normalspannung	Pa
T	Temperatur	$^{\circ}C, K$
t	Zeit	s
t_p, t_i	Pulsdauer	s
t_{PEF}	Elektroporationszeit	s
t_c, t_c^m	Zeitkonstanten	s
t_c	Aufladezeit der Zellmembran	s
$\tan\delta$	Verlustfaktor	–
τ	Charakteristische Zerstörungszeit	s
τ_m	Lebensdauer	s
τ_{∞}	Faktor	–
\dot{O}	Feststoffphase	mg
u_m	Transmembranpotential	V
u_0	Faktor	–
U_0	Ladespannung, Spannungspotential	V
\hat{u}	Amplitude	m
V_E	Eingesetztes Volumen	m^3
ν	Frequenz	Hz
ϑ	Winkel	$^{\circ}$
W	Arbeit	J
$w_{T,A}$	Masse des Feststoffs vor der Trocknung	mg
$w_{T,E}$	Masse des Feststoffs nach der Trocknung	mg
$w_{L,A}$	Gewicht vor der Extraktion	mg
$w_{L,E}$	Gewicht nach der Extraktion	mg
w	Energiedichte	$\frac{J}{m^3}$
ϖ	Schallschnelle, Schallauslenkung	$\frac{m}{s}$
x	Ort	mm
x_{E2}	Zusammensetzung der Lösung	–
x_{F1}	Anteil der nicht extrahierbaren Stoffe	mg
x_{F2}	Anteil der extrahierbaren Stoffe	mg
x_{F3}	Wasseranteil im Feststoff	mg
x_{O2}	Zusammensetzung der nicht extrahierbaren Stoffe	–
Z	Leitfähigkeitszersetzungsindex	–
z	Schallimpedanz	$\frac{N \cdot s}{m^3}$

1. Einleitung

Eins der ältesten Verfahren der Menschheit zur Gewinnung von Wirkstoffen ist die Extraktion von Pflanzen mittels Dampf oder Flüssigkeiten, wie Wasser, Alkohol oder Ölen, seltener auch Fetten (Blass et al. 1997). Diese vegetabilen Fest-Flüssig-Extraktionsprozesse werden überwiegend in der pharmazeutischen Industrie zur Herstellung von Phytopharmaka angewendet und sind fester Bestandteil in der Forschung: Z. B. weisen Extrakte der Graubehaarten Zistrose mit hochpolymere Polyphenole als Wirkstoffe antivirale Eigenschaften auf (Droebner et al. 2007; Stange und Uehleke 2020), aber auch Extrakte der Süßholzwurzel mit Glycyrrhizin wirken gegen SARS-CoV (Luo et al. 2020; Bailly und Vergoten 2020; Murck 2020; Chrzanowski et al. 2020). Für ihren Kampf gegen Parasiten 2015 ging der halbe Nobelpreis an die Pharmakologin Youyou Tu (Tu 2011). Zur Wachstumshemmung von Plasmodien, welche Malaria auslösen, wurde der sekundäre Pflanzenstoff Artemisinin aus dem einjährigen Beifuß bei niedrigen Temperaturen extrahiert. Im Allgemeinen zeigt sich, dass nicht nur die Suche nach sekundären Pflanzenstoffe, welche zuverlässig gegen Krankheitserreger wirken, notwendig ist, sondern auch wie diese extrahiert werden. Dabei spielt nicht nur die Temperatur eine wichtige Rolle, sondern auch die Ausbeute, die Reinheit, die Raum-Zeit-Ausbeute, die Extraktionskinetik, die Extraktionszeit, die apparativen Anforderungen sowie deren Kosten und Wirtschaftlichkeit. Nicht nur in der Pharmazie, sondern auch in der lebensmitteltechnischen und kosmetischen Industrie werden vegetabile Fest-Flüssig-Extraktionsprozesse vielfältig angewendet. Als Beispiel ist der aus Chilischoten extrahierte Pflanzenstoff Capsaicin zu nennen, welcher den Stromverlust innerhalb der Perowskit-Solarzelle vermindert und somit den Wirkungsgrad aber auch die Umweltfreundlichkeit sowie Nachhaltigkeit im Gegensatz zur Verwendung von Blei erhöht (Xiong et al. 2021).

1.1. Historie und Stand der Technik bei Pflanzenextraktionen

Zu den ältesten Techniken der Menschheit gehört die wässrige Extraktion von Pflanzen zur Gewinnung von Duftstoffen und pflanzlichen Heilmittel. In Mesopotamien ausgegrabene Gefäße für die Extraktion, wie einen doppelrandigen Tontopf, stammen aus der Zeit um 3500 v. Chr. Tontafeln, auf denen die Sumerer die Gewinnung von Heilmittel erläutern, können auf die Zeit

um 2100 v. Chr. datiert werden. Der chemisch-technische Gewerbezweig der Pharmazie, der Medizin und des Hüttenwesens sowie der Zuckerindustrie, die eine Vielzahl an Extraktionsmitteln verwendeten, entstanden mit dem europäischen Mittelalter und erst im 19. Jahrhundert wurden Extraktionsapparate, ihre Werkstoffe und Betriebsweisen weiterentwickelt. Mit dem Voranschreiten der industriellen Revolution im 20. Jahrhundert wurde die Praxis mit der Theorie verbunden und seitdem wird die Pflanzen- sowie Extraktion stetig ingenieurwissenschaftlich optimiert (Blass et al. 1997).

Diese ingenieurwissenschaftliche Optimierung ist nötig, da vegetabile Fest-Flüssig-Extraktionsprozesse geringe Ausbeuten und niedrige Selektivitäten in Bezug auf die Beschaffenheit der Pflanze und geeignete Auswahl an Extraktionsmittel aufweisen. Im einfachsten Fall wird das Pflanzenmaterial in das Extraktionsmittel für einen längeren Zeitraum eingelegt, wie zum Beispiel beim Ansetzen von Likören (Gallo et al. 2020). Um den Stofftransport zu erhöhen, kann Energie in einfacher Form wie Rühren und/oder Wärme oder aufwendiger mit Druck und/oder als Strömung des Extraktionsmittels über das vegetabile Festbett eingebracht werden (Chemat et al. 2019). Dabei stellt sich immer über die Zeit ein thermodynamisches Gleichgewicht zwischen der Konzentration an Wirkstoff im Pflanzenmaterial und im Extraktionsmittel ein. Um höhere Ausbeuten in Bezug auf das eingesetzte Pflanzenmaterial zu erreichen, können die Extraktionen mehrstufig als Kaskade ausgeführt werden (Castillo-Santos et al. 2016a; Espinoza-Pérez et al. 2007; Kassing et al. 2010a). Alternative Prozesskonzepte neben überkritischen Kohlenstoffdioxid CO₂ als Extraktionsmittel sind das Einbringen von Mikrowellen, Kavitationsblasen erzeugt durch Ultraschallwellen, elektrische Hochspannungsimpulse und Kombinationen der Prozesskonzepte (Azmir et al. 2013). Der Einsatz dieser Technologien und alternativen Prozessmethoden steigert nicht nur die Effizienz und Ausbeute der vegetabilen Fest-Flüssig-Extraktion, sondern trägt auch zur Erhöhung der Diffusionsgeschwindigkeit während des Stofftransports bei.

Die Anwendungen dieser alternativen Prozesskonzepte steigen stetig wie die Anzahl an den Veröffentlichungen im Zeitraum 2005 bis 2016 zeigt (Abbildung 1). Am meisten wird mit der Mikrowellenunterstützten Extraktion geforscht, dagegen wird nur häufig die Ultraschallunterstützte Extraktion eingesetzt. Mit Abstand wird mit der Hochspannungsimpulsunterstützten Extraktion deutlich weniger experimentiert. Diese Reihenfolge korreliert mit der Komplexität der Techniken, wobei die Hochspannungsimpulsunterstützte Extraktionstechnologie am komplexesten sowie ältesten ist.

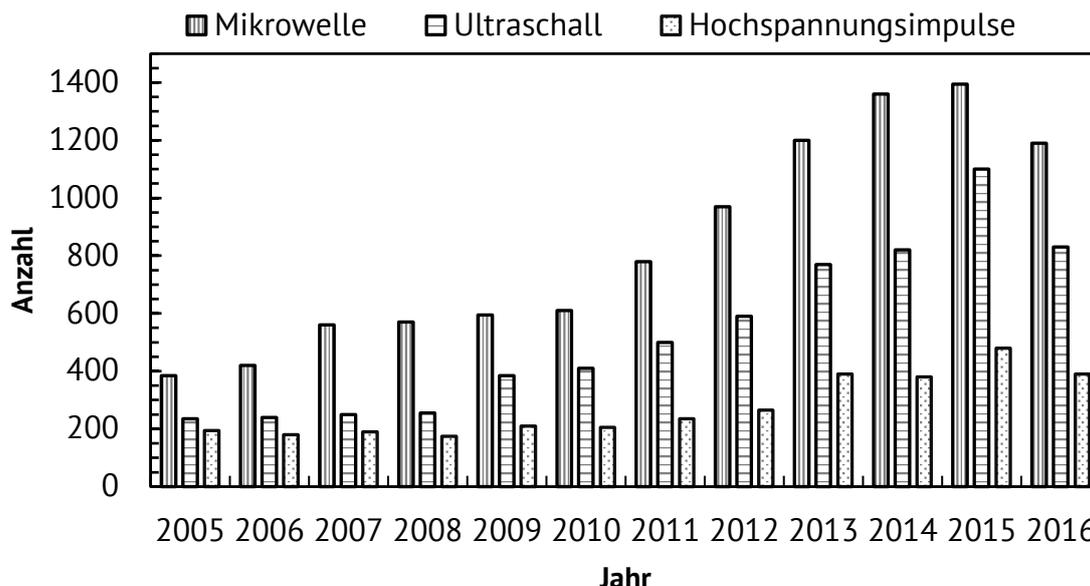


Abbildung 1: Anzahl der Veröffentlichungen: Mikrowellen-, Ultraschall- und Hochspannungsimpulsunterstützte Extraktion von 2005 bis 2016 (Volltextsuche, (Elsevier B.V 2016)

1.2. Herausforderungen bei der Studie von Pflanzenextraktionen

Obwohl die Extraktion von Wirkstoffen aus Pflanzen eins der ältesten Verfahren der Menschheit ist, ist es eine Herausforderung die Diffusion der Wirkstoffe aus der Zelle über die Zellmembran in das Extraktionsmittel zu beschreiben. In situ ist eine Echtzeitdarstellung dieser Diffusionsmechanismen bis jetzt praktisch nicht möglich.

Hinzu kommt, dass ein Teil des Extraktionsmittels adsorptiv an der Zellmembran und in den Zellporen gebunden bleibt. Allgemein gilt für die Fest-Flüssig-Extraktion, dass kein definierter Verteilungskoeffizient zwischen den Phasen besteht. Ein echter Gleichgewichtszustand wird praktisch nie erreicht. Ein pseudo-Gleichgewicht entsteht dadurch, dass im Feststoff immer noch ungelöste Substanzen in den Kapillaren gebunden sind, dass die mit unterschiedlicher Beladung angereicherte Flüssigkeitsphase die Feststoffoberfläche berührt und auch ein Teil der Flüssigkeitsphase adsorptiv an der Feststoffoberfläche gebunden bleibt. Das pseudo-Gleichgewicht kann über folgende Gleichung dargestellt werden:



Die Pflanzenzellen enthalten noch ungelöste Wirkstoffe A in den kapillaren Zellporen. Die Konzentration dieser Wirkstoffe A steht im pseudo-Gleichgewicht mit der Konzentration gelöster Wirkstoffe A' im Extraktionsmittel durch k bzw. k' als Hin- bzw. Rück-Gleichgewichtskonstante. Eine Temperaturerhöhung führt zu einer Begünstigung des Konzentrationsausgleich zwischen den Pflanzenzellen und des Extraktionsmittels sowie der Löslichkeit der Wirkstoffe im Extraktionsmittel.

1.3. Aufbau dieser Dissertation

Diese Dissertation präsentiert Projekte, welche neue Erkenntnisse über alternative Prozesskonzepte für die Pflanzenextraktion und deren Modellierung unter verändernden Bedingungen liefern, die bei früheren Studien nicht erkannt wurden.

Zuerst werden die biologischen, chemischen und physikalischen Eigenschaften von unterschiedlichen Pflanzenmaterialien analysiert, dafür werden holzartige, blättrige und samenartige Pflanzenmaterialien ausgewählt. Neben der Analyse der biologischen, chemischen und physikalischen Eigenschaften dieser Pflanzenmaterialien wird der Effekt der alternativen Prozesskonzepte auf den Extraktionsvorgang untersucht. Die größten Vorteile der alternativen Prozesskonzepte liegen bei einem schnelleren Stofftransport der Wirkstoffe ins Extraktionsmittel und einer höheren Ausbeute, welche durch den Wirkmechanismus des jeweiligen Prozesskonzept gegeben ist. Bislang beschreiben die meisten vorherigen Studien entweder ein Pflanzenmaterial mit der Anwendung von verschiedenen alternativen Prozesskonzepten oder seltener mehrere Pflanzenmaterialien unter der Verwendung einer unterstützenden Extraktionstechnologie. Durch die Wahl verschiedener Pflanzenmaterialien kann die Diffusion unter der Einwirkung der dielektrischen Erwärmung, von Kavitationsblasen oder von Hochspannungsimpulse, um die Zellmembran effektiv zu zerstören, systematisch über die Extraktionszeit bei festgesetzter Temperatur untersucht werden. Zusätzlich wird ein tieferes Verständnis für den Extraktionsvorgang unter der Verwendung dieser alternativen Prozesskonzepte gewonnen. In den Experimenten werden die Leistung der Mikrowelle, die Amplitude der Ultraschallsonde, die elektrische Feldstärke der Hochspannungsimpulse sowie die Extraktionstemperatur variiert. Durch die Optimierung können die alternativen Prozesskonzepte für das jeweilige Pflanzenmaterial untereinander verglichen werden. Der Einfluss der Extraktionszeit bis zum Erreichen des pseudo-Gleichgewichts wird aufgezeigt. Diese Beobachtungen ergeben eine deutliche Relation zwischen verschiedenen Pflanzenmaterialien und unterschiedlichen alternativen Prozesskonzepten.

Danach folgt die Modellierung nach dem zweiten Fick'schen Diffusionsgesetz sowie dem Geschwindigkeitsgesetz zweiter Ordnung. Durch die vorangegangenen Experimente kann eine

Korrelation der Geschwindigkeitskonstante, der Aktivierungsenergie und des effektiven Diffusionskoeffizienten mit dem jeweiligen Pflanzenmaterial erstellt werden. Neben der Beschreibung des einstufigen Extraktionsverfahren wird die Modellierung für den mehrstufigen Kreuzstromprozess basierend auf unterschiedlichen Isothermen überprüft. Dabei werden die Extraktionsmittelmengen, die in einem automatisierten Hochdurchsatzsystem beim Einsatz verschiedener Pflanzenmaterialien verwendet werden, mit den vorhergesagten Werten aus der Modellierung verglichen. Des Weiteren werden durch diese systematische Vorgehensweise weitere Betriebsparameter, welche einen wichtigen Einfluss auf den mehrstufigen Kreuzstromprozess haben, für die Modellierung der Pflanzenextraktionen aufgezeigt.

2. Prozesse und Modelle bei Pflanzenextraktionen

Zur Beschreibung des Fest-Flüssig Extraktionsvorganges werden folgende Bezeichnungen definiert: Der Feed \dot{F} ist die pflanzliche Phase (engl. solute), das Lösungs- oder Extraktionsmittel \dot{S} ist die flüssige Phase (engl. solvent), die Extraktphase \dot{E} entspricht dem Gemisch aus den Wirkstoffen und Extraktionsmittel (engl. extract) und die Reststoffphase \dot{R} ist die an Wirkstoffen verarmte pflanzliche Phase (engl. raffinate), siehe Abbildung 2.

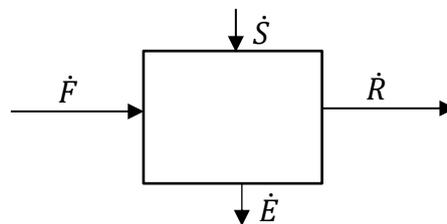


Abbildung 2: Fließbild einer Extraktionsstufe

In der pharmazeutischen Technologie sind für die Zubereitung von Drogenextrakten und Tinkturen aus Heilpflanzen folgende Begriffe etabliert:

- Mazeration sowie Di- bzw. Remazeration als zweifache Mazeration (lat. *macerare* = zermürben, mürbemachen, quälen): Das Einsatzgut wird in einem Lösungsmittel eingeweicht und stehen gelassen, danach erfolgt die Phasentrennung.
- Digestion (lat. *digerere* = (ver-, ein) teilen; verdauen): Mazeration mit Wärmezufuhr bzw. mäßig erhöhter Temperatur.
- Perkolation (lat. *percolare* = durchsickern): Das Lösungsmittel durchströmt das vegetabile Festbett. Dies benötigt keine anschließende Phasentrennung.
- Diakolation bzw. Evakolation: Perkolation mit Druck bzw. mit Sog.

Das Arzneibuch beinhaltet anerkannte pharmazeutische Regeln zur Qualität, Prüfung, Lagerung, Abgabe und Bezeichnung von Arzneimitteln und den bei ihrer Herstellung verwendeten Stoffen wie auch Extraktionsprozesse und ist nach § 55 Arzneimittelgesetz Arzneibuch eine vom Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte im Einvernehmen mit dem Paul-Ehrlich-Institut und dem Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit bekannt gemachte Sammlung.

Vor der Extraktion ist die Probenvorbereitung der Pflanzen der essentiellste Einflussfaktor, wie die Partikelgröße des Einsatzgutes und die Trocknung. Auf welche Art und Weise die Pflanzen zerkleinert und eventuell getrocknet werden beeinflusst maßgeblich die Kinetik des Extraktionsvorgangs. Zur der mechanischen Probenvorbereitung gehören das Schneiden, Raspeln, Zerdrücken und/oder Zerreiben der Pflanzen. Säuren und Laugen sowie Enzyme werden bei der chemischen Probenvorbereitung angewandt. Das Trocknen und/oder Gefrieren, u.a. auch Schockfrostern sind thermische Verfahren zur Probenvorbereitung. Zu den wichtigsten Verfahren zählt das Quellen der Pflanzenstoffe und wird wie die anderen Probenvorbereitungen eingesetzt um den Stofftransportwiderstand während des Extraktionsvorgangs zu erniedrigen. Während der Extraktion sind die Temperatur, die Extraktionszeit, das Extraktionsmittel und bei geschlossenen Systemen der Druck, weitere Einflussfaktoren auf den Diffusionsvorgang. Nach der Extraktion und nach der eventuellen Phasentrennung, wie zum Beispiel Ultra- oder Tangentialfiltration oder zentrifugalen Phasentrennung kann das Extrakt als Flüssigextrakt mit einer Vielzahl an Wirkstoffen, weil das Extraktionsmittel üblicherweise keine hohe Selektivität aufweist, verwendet werden. Mittels chromatografischen Methoden ist eine Aufreinigung des Extraktes und Abtrennung einzelner Wirkstoffe möglich. Zusätzlich zum Flüssigextrakt kann ein Trockenextrakt hergestellt werden, indem das Extraktionsmittel des Flüssigextrakts verdampft wird und das Restgut mit einem anderen Lösemittel vermischt wird. Meist wird so ein unverträgliches oder giftiges Extraktionsmittel durch Wasser und/oder Ethanol gemäß pharmazeutischen und lebensmitteltechnischen Rechtsverordnungen sowie Vorschriften ersetzt. Ein weiteres Aufreinigungsverfahren für den Extrakt ist die Kristallisation. Eine Vielzahl an mathematischen Modellen sind geeignet, um die Makrokinetik der Pflanzenextraktion zu beschreiben. Die Modellgleichungen sind entweder theoretisch abgeleitet oder empirisch formuliert. Für die meisten Extraktionsverläufe sind das bekannte Fick'sche Diffusionsgesetz oder chemische Kinetikgleichungen sowie andere empirische Gleichungen mit zwei Parametern anwendbar.

2.1. Diffusionsmechanismen-Studien

1832 entstand durch erste systematische Untersuchungen und mathematische Beschreibungen der Proportionalität über die Diffusion von Gasen das Graham'sche Gesetz, welches durch den britischen Chemiker Thomas Graham (1805-1854) gefunden wurde. Der Physiologe Adolf Fick (1829-1901) dagegen beschrieb 1855 auf empirischer Basis die beiden Grundgesetze der Diffusion. Erst Anfang des 20. Jahrhunderts leitete Albert Einstein (1879-1955) die Fick'schen Grundgesetze streng aus der Thermodynamik ab und gab diesen ein gesichertes theoretisches Fundament. Beim ersten Fick'schen Gesetz, welches einen zeitlich konstanten Diffusionsfluss

beschreibt, hängt die Teilchenstromdichte J proportional über die Diffusionskonstante D zum Gradienten der Konzentration $\frac{\partial c}{\partial x}$ ab:

$$J = -D \frac{\partial c}{\partial x} \quad 2$$

Beim zweiten Fick'schen Gesetz steht die Änderung der Konzentration c erster Ordnung zu der Zeit t im Verhältnis über den ortsunabhängigen Diffusionskoeffizienten D zur Konzentrationsänderung c zweiter Ordnung bezüglich des Ortes:

$$\frac{\partial c}{\partial t} = -\frac{\partial J}{\partial x} = -D \left(\frac{\partial^2 c}{\partial x^2} \right) \quad 3$$

Die Diffusionsschritte bei einer diskontinuierlichen Pflanzenextraktion sind von zwei Extraktionsmechanismen abhängig: die innere und die äußere Diffusion. Die intrapartikuläre Diffusion der Wirkstoffe ist durch die Konzentrationsdifferenz zwischen der Pflanzenmatrix und dem Pflanzenoberfläche angetrieben (siehe Abbildung 3) und kann mit dem ersten Fick'schen Gesetz beschrieben werden. Bei der äußeren Diffusion verbreiten sich die Wirkstoffe von der externen Oberfläche der Pflanzenmatrix über den Film in den Lösungsmittelbulk. Die Determinierung des geschwindigkeitsbestimmenden Schritts ist für die kinetische Modellierung wichtig, um einen adäquat mathematischen Ansatz für die Pflanzenextraktion festzulegen. Um einen effizienten Extraktionsprozess zu gewährleisten, muss der äußere Stofftransportwiderstand minimiert werden, so dass die Extraktionsgeschwindigkeit nur von der inneren Diffusion der Wirkstoffe abhängig ist.

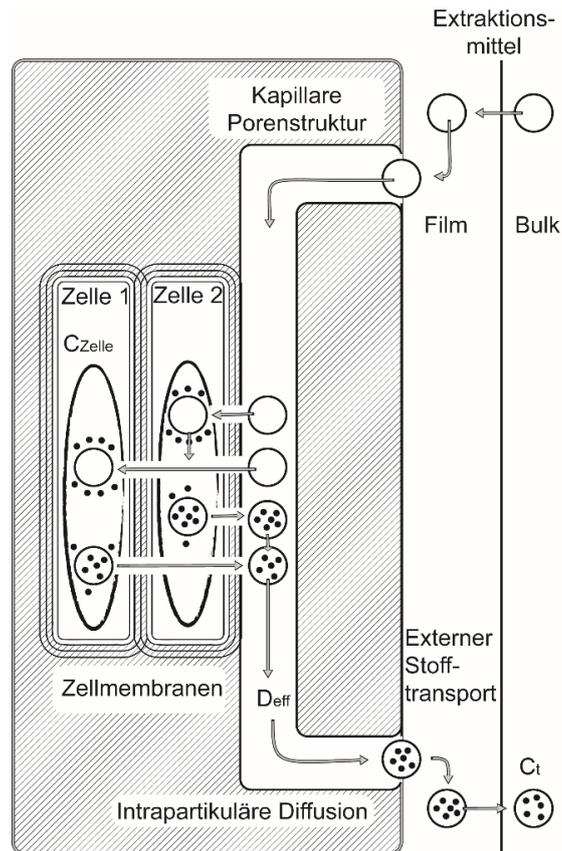


Abbildung 3: Modell zur Darstellung der Diffusionsschritte bei der Pflanzenextraktion

Unter den Annahmen, dass es keine Änderungen der effektiven Diffusion mit der Konzentration des gelösten Pflanzenstoffes gibt, dass das Pflanzenmaterial kugelförmige Partikel sind und dass die Konzentrationsunterschiede nur in radialer Richtung relevant sind, kann das 2. Fick'sche Diffusionsgesetz genommen werden, um die instationäre Diffusion des Pflanzenextraktionsprozesses zu beschreiben. Die analytische Lösung der partiellen Differentialgleichung lautet:

$$\frac{c_{GG}-c_t}{c_{GG}} = \frac{6}{\pi^2} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{1}{n^2} \exp\left(-n^2 \frac{\pi^2 D_{eff} t}{r^2}\right) \quad 4$$

D_{eff} ist der effektive Diffusionskoeffizient, r ist der Partikelradius, c_{GG} ist die Konzentration des Wirkstoffes im pseudo-Gleichgewicht und c_t ist die Wirkstoffkonzentration zum Zeitpunkt t . Entsprechend zu Schwartzberg (Schwartzberg 1975) kann die Lösung des ersten Summenterms mit einem kleinen Fehler benutzt werden, wobei der äußere Widerstand vernachlässigt wird. Im Folgenden kann die Gleichung 4 vereinfacht werden und der effektive Diffusionskoeffizient kann grafisch bestimmt werden:

$$\frac{c_{GG}-c_t}{c_{GG}} = \frac{6}{\pi^2} \exp\left(-\frac{\pi^2 D_{eff} t}{r^2}\right) \quad 5$$

Weitere Annahmen sind, dass die Diffusion in ruhenden Medien stattfindet, dass der Diffusionsvorgang stationär ist und dass keine chemische Neben- sowie Reaktionen erfolgen.

Ein weiteres mathematisch einfaches Modell, welches die Extraktionskinetik der Pflanzenextraktionen beschreibt und die Wirksamkeit der Pflanzenextraktionen quantifiziert, ist das allgemeine Kinetikmodell 2. Ordnung (Cheng und Hong 2018). Dieses Modell ist wie folgt definiert:

$$\frac{dc_t}{dt} = k(c_{GG} - c_t)^2 \quad 6$$

k ist die Geschwindigkeitskonstante, c_{GG} ist die Konzentration im pseudo-Gleichgewichtszustand und c_t ist die Konzentration zu jeder Zeit t . Das integrierte Geschwindigkeitsgesetz für die Extraktion 2. Ordnung unter den Bedingungen: $c_t = 0$ bei $t = 0$ und $c_t = c_t$ bei $t = t$ liefert:

$$c_t = \frac{c_{GG}^2 kt}{1 + c_{GG} kt} \quad \text{oder} \quad \frac{t}{c_t} = \frac{1}{kc_{GG}^2} + \frac{t}{c_{GG}} \quad 7$$

Die Gleichgewichtskonzentration c_{GG} and die Geschwindigkeitskonstante k können berechnet werden, in dem t/c_t gegen t als Lineare aufgetragen wird und die resultierende Steigung ergibt $1/c_{GG}$ sowie der Achsenabschnitt $1/kc_{GG}^2$. Die Geschwindigkeitskonstante k erhöht sich mit der Temperatur und kann mit der Gleichung nach Arrhenius beschrieben werden:

$$k = k_0 \exp\left(-\frac{E_A}{RT}\right) \quad 8$$

k_0 ist der temperaturunabhängige Faktor, $-E_A$ ist die Aktivierungsenergie, R ist die Gaskonstante ($8,314 \frac{J \cdot K}{mol}$) und T ist die absolute Temperatur. Die Linearisierung der Gleichung 8 mit dem $\ln k$ gegen $1/T$ Diagramm ergibt die Aktivierungsenergie und den temperaturunabhängigen Faktor:

$$\ln k = \ln k_0 + \left(-\frac{E_a}{R}\right) \frac{1}{T} \quad 9$$

2.2. Alternative Prozesskonzepte

Das Phasengleichgewicht der festen Phase zur flüssigen Phase bzw. die Löslichkeit fester Stoff in flüssigen Lösungsmitteln hängt von der Temperatur so wie vom Druck ab. Wärme kann konventionell mit Wasser oder Öl in einen Doppelmantel, um das Extraktionsgefäß herum, zu-

und abgeführt werden. Einige weitere Techniken, die die Pflanzenextraktion intensivieren, sind Mikrowellen, Ultraschallwellen und/oder das Anlegen von Hochspannungsimpulsen. Diesen Extraktionstechnologien ist gemeinsam, dass es sich um Wellen handelt, wobei die Ultraschallwelle eine mechanische Welle ist und Mikrowellen sowie Hochspannungsimpulse elektromagnetische Wellen sind. Elektromagnetische Wellen werden mit den Maxwell'schen Gleichungen beschrieben: $\text{rot}\vec{E} = -\frac{\partial\vec{B}}{\partial t} - \vec{M}$; $\text{rot}\vec{H} = \frac{\partial\vec{D}}{\partial t} + \vec{J}$; $\text{div}\vec{D} = \eta$; $\text{div}\vec{B} = 0$.

\vec{E} und \vec{H} bezeichnen die elektrische bzw. magnetische Feldstärke. \vec{D} steht für die elektrische Verschiebungsdichte und \vec{B} für die magnetische Flussdichte. \vec{J} und \vec{M} bezeichnen die elektrische und die magnetische Stromdichte, η steht für die Raumladung.

2.2.1 Mikrowellenunterstützende Extraktionstechnologie

Der US-amerikanische Ingenieur Percy Spencer (1894–1970) beobachtete, dass Nahrung per Mikrowellenstrahlung erwärmt werden kann und baute im Jahre 1946 den ersten Mikrowellenherd (Spencer 1947, 1949, 1942, 1950). Ganzler et al. beschrieben als erste die Extraktion organischer Verbindungen aus Mais, Sojabohnen, Walnüsse, Hefe, Favabohnen und Baumwollsaamen mit Hilfe von Mikrowellenbestrahlung (Ganzler et al. 1986). Sie stellten fest, dass polare sekundäre Pflanzenstoffe, wie Alkaloide, Vicine und Convicine im Gegensatz zu unpolaren Verbindungen, wie Fette effektiver extrahiert wurden als mit der Soxhlet-Apparatur.

Mikrowellen sind elektromagnetische Wellen im Frequenzbereich von 300 MHz bis 300 GHz. Aufgrund internationaler Vereinbarungen wurde die Standard-Mikrowellenfrequenz auf $\nu = 2.455 \text{ GHz}$ bzw. $12,23 \text{ cm}$ für industrielle und medizinische Anwendungen festgelegt. In einem Mikrowellenherd werden die Mikrowellen mittels Magnetrons erzeugt und über einen Hohlleiter in den metallisch abgeschirmten Mikrowellenraum geleitet (siehe Abbildung 4). Im Gegensatz zur konvektiven Erwärmung mit Dampf und Heißluft oder zur Strahlungserwärmung wird die Wärme bei der dielektrischen Erwärmung im Gut selbst erzeugt. Die Umwandlung elektrischer Energie in Wärme geschieht durch dielektrische Verluste des elektrisch nichtleitenden Stoffes, der im Allgemeinen auch ein schlechter thermischer Leiter ist. Bei konvektiver Erwärmung von Stoffen mit schlechter Wärmeleitfähigkeit muss die Oberfläche auf hohe Temperaturen gebracht werden, damit der Temperaturgradient, d.h. der Wärmetransport, möglichst groß ist und für eine rasche Erwärmung des Stoffes sorgt.

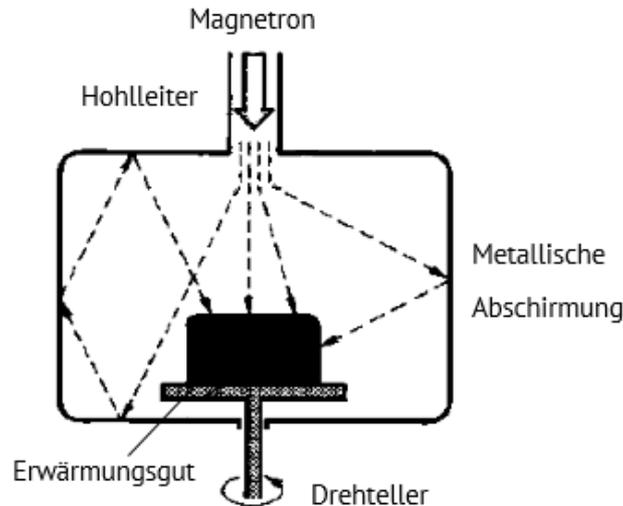


Abbildung 4: Mikrowellenherd: Technische Energiezufuhr des Magnetrons über Hohlleiter auf das drehende Erwärmungsgut

Die dielektrische Erwärmung beruht auf der Wechselwirkung polarer Gruppen von Molekülen nichtleitender Stoffe mit dem elektrischen Wechselfeld der elektromagnetischen Schwingung. Die atomaren Ladungsträger fester und flüssiger Stoffe können sich bei Einwirkung des elektrischen Feldes \vec{E} nicht bewegen, sondern lassen sich lediglich aus ihrer ursprünglichen Lage verschieben. Die ausgeübte Kraft ist der elektrischen Feldstärke proportional, und es entstehen durch die Auslenkung an den Endflächen negative oder positive Oberflächenladungen. Diese Erscheinung wird als Polarisation $P_{Polarisation}$ bezeichnet, die mit dem elektrischen Feld durch die Beziehung: $P_{Polarisation} = (\epsilon'_r - 1)\epsilon_0\vec{E} = \vec{D} - \epsilon_0\vec{E}$ verknüpft ist. Die dielektrische Verschiebung \vec{D} und das elektrische Feld \vec{E} sind phasengleich. Diese Übereinstimmung verschwindet in einem elektrischen Wechselfeld. Die reelle Dielektrizitätskonstante geht in eine komplexe Größe: $\epsilon^* = \epsilon'_r - j\epsilon''_r$ über, womit die im Dielektrikum auftretende Verluste erfasst werden. Aus dieser Beziehung lässt sich der Verlustfaktor ableiten:

$$\tan \delta = \frac{\epsilon''_r}{\epsilon'_r} \quad 10$$

Die Dielektrizitätszahl ϵ'_r (Permittivität) und die Verlustzahl ϵ''_r sind im Allgemeinen frequenz- und temperaturabhängig. Im Falle der Mikrowellenerwärmung ist ein möglichst großer Verlustfaktor erwünscht.

Die Merkmale vom LowTherm-Mirkowellenofen sind:

- Erwärmung wasserhaltiger Materialien (Lebensmittels, Trocknungsprozesse, etc.).
- Erwärmungstemperaturen bis 100 °C.
- Erzeugung der thermischen Energie direkt im Erwärmungsgut.
- Vernachlässigung der Energieverluste durch Temperatenausgleich mit dem Ofenraum.
- Hohe Aufheizgeschwindigkeiten: Sekunden – Minuten.
- Negative Aufheizgradienten $\left. \frac{dT}{dx} \right|_{x=0} < 0$.
- Funktion der Wand: Abschirmung der elektromagnetischen Strahlung.

Für die wärmetechnische Auslegung des Mikrowellenofens ergibt sich folgende Wärmebilanz (siehe Abbildung 5):

$$\dot{Q}_E = \bar{c}_P \cdot \rho V_E + \frac{1}{R_W} (T - T_0) \quad 11$$

\dot{Q}_E ist der eingesetzte Wärmestrom, der das Extraktionsgut mit der Wärmekapazität \bar{c}_P , der Dichte ρ und dem Volumen V_E entgegen dem Wärmewiderstand $R_W = \frac{l}{A\lambda}$ und Temperaturdifferenz $T - T_0$ erwärmt. Der Wärmewiderstand kann bei dem Ofentyp „Quaderofen“ in Schichten durch $R_W = \frac{1}{A_i} \sum_i^n \frac{s_i}{\lambda_n}$ ($i \equiv$ Schichtaufbau) beschrieben werden. Durch Umstellen der Wärmebilanz ergibt sich folgende Differentialgleichung mit Randbedingungen und Lösung:

$$\frac{dT}{dt} = \frac{\dot{Q}_E}{\bar{c}_P} - \frac{1}{R_W \bar{c}_P} T \quad 12$$

$$T(t) = \dot{Q}_E \cdot R_W \left(1 - e^{-\frac{t}{R_W \bar{c}_P}} \right) \quad 13$$

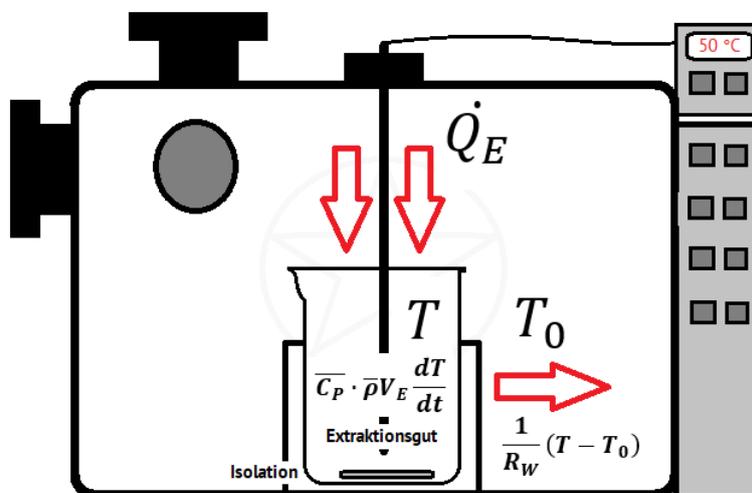


Abbildung 5: Wärmetechnische Auslegung des Mikrowellenofens

Beim Eindringen in ein verlustbehaftetes Dielektrikum wird die Welle gedämpft, und die Leistung P geht nach der Strecke x um

$$\Delta P = P_0(1 - e^{-2\alpha x}) \quad 14$$

zurück, wobei α als Dämpfungskonstante bezeichnet wird. Für kleinere Werte von $\tan \alpha$ geht α in

$$\alpha \approx \frac{\pi \varepsilon_r''}{\lambda_i \varepsilon_r'} \quad 15$$

über. Als Eindringtiefe θ wird die Strecke bezeichnet, nach der die Leistung P_0 auf $\frac{1}{e}$ abgefallen ist.

$$\theta \approx \frac{1}{2} \alpha \quad 16$$

θ nimmt mit wachsender Frequenz ν und Dielektrizitätskonstante ε_r' sowie zunehmenden Verlusten zu. In einem Mischdielektrikum werden die Vorgänge sehr vielfältig, so dass letztlich der Versuch über die tatsächlich vorliegende Eindringtiefe entscheidet.

2.2.2 Ultraschallunterstützende Extraktionstechnologie

Die Historie und die Entdeckung der Ultraschallwellen gehen auf Sir Isaac Newton zurück, der im Jahre 1687 seine Theorie für Schallwellen aufstellt. Im 19. Jahrhundert begannen mit dem Schweizer Physiker Jean-Daniel Colladon und dem Mathematiker Charles Sturm die ersten Messungen der Schallgeschwindigkeit im Wasser. Diese Nachforschungen im Jahre 1826 ebneten den Weg für die Entwicklung des SONAR (Sound Navigation And Ranging). Später im Jahre 1877 veröffentlichte John William Strutt „The Theory of Sound“ als Grundlage für die Wissenschaften des Ultraschalls. Neben den Entwicklungen für kriegerische Zwecke wurden in den späten 1930zigern von dem Psychiater und Neurologe Karl Theodore Dussik als Pionier im medizinischen Ultraschall Nachforschungen, um das menschliche Gehirn zu scannen, angestoßen (Newman und Rozycki 1998). Der erste technische Prozess, der durch den Einsatz von Ultraschallwellen unterstützt wurde, war die Emulgierung. Weitere Entwicklungen für die technischen Prozesse in den Bereichen der Filtration, Gefrierung Trocknung, Extraktion, Kristallisation etc. folgten (Mason et al. 1996). Ab ca. 1950 steigt kontinuierlich die Anzahl der Forschungsarbeiten, um die

Extraktion von Enzymen, Nukleinsäuren, Ölen, Alkaloiden etc. mit Ultraschallenergie zu unterstützen und zu optimieren (Demaggio und Lott 1964).

Schallwellen pflanzen sich in Fluiden als Longitudinalwellen, in festen Medien auch als Transversalwellen fort. Ihre Ausbreitung wird durch die durch die Helmholtz'sche Wellengleichung beschrieben. Der grundlegende Unterschied zwischen Schall- und Ultraschallwellen ist die Frequenz. Im Allgemeinen werden Schallwellen in drei Kategorien eingeteilt (Tiwari 2015):

- Hörbare Wellen im sensitiven Bereich des menschlichen Ohrs (10 Hz – 20 kHz);
- Infraschallwellen mit Frequenzen unterhalb des hörbaren Bereichs (< 16 Hz); und
- Ultraschallwellen mit Frequenzen oberhalb des hörbaren Bereichs (> 20 kHz) und weniger als die Frequenzen von Mikrowellen (bis zu 10 MHz).

Ein Stabschwinger besteht aus dem Transducer, dem Piezoelement, welches die Ultraschallwellen erzeugt, und dem Stufenhorn, welches die Ultraschallwellen abgibt (siehe Abbildung 6). Die Herstellung einer linear konischen Sonotrode ist einfach, erlaubt aber maximal 4-fache Vergrößerung der Schwingungsamplitude. Die kostspielige Herstellung einer exponentiellen Sonotrode rechtfertigt einen Einsatz insbesondere bei Mikroapplikationen, wobei der Vergrößerungsfaktor höher als bei der linear konischen Sonotrode ist. Bei einer gestuften Sonotrode ist aufgrund der Materialspannung in der Sonotrode der potentielle Vergrößerungsfaktor auf den Wert 16 begrenzt. Die Merkmale der Stabschwinger sind:

- Hohe akustische Amplitude (longitudinal, 80-100 μm) der Sonotroden und Boosterhörner.
- Hohe akustische Intensität.
- Fokussierung der Schallenergie auf den Kegel unterhalb der Sonotrode.
- Temperaturkontrolle notwendig.

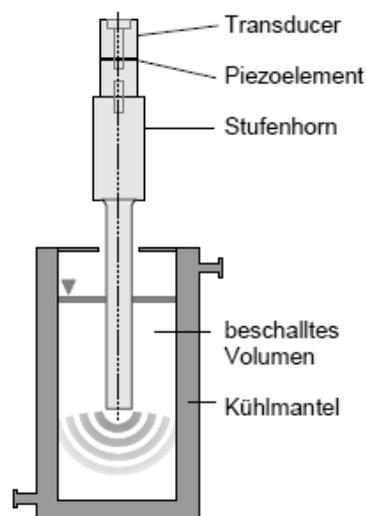


Abbildung 6: Aufbau eines Stabschwingers

Die Schallschnelle ϖ ist definiert über die Amplitude \hat{u} und die Zeit t :

$$\varpi = \frac{d\hat{u}}{dt} \quad 17$$

Die Schallgeschwindigkeit c ist in Feststoffen über das Elastizitätsmodul $E = \frac{\sigma_{mech}}{-\Delta l/l}$, welches das Verhältnis zwischen Spannung σ_{mech} und relativer Auslenkung ist, beschreiben:

$$c = \sqrt{\frac{E}{\rho}} \quad 18$$

In Flüssigkeiten ist die Schallgeschwindigkeit c über das Kompressionsmodul $K = \frac{\Delta p}{-\Delta V/V}$, welches das Verhältnis zwischen Druck Δp und relativer Volumenänderung ist, festgelegt:

$$c = \sqrt{\frac{K}{\rho}} \quad 19$$

Aus diesen Gleichungen ergibt sich der Schalldruck $p_A = v \cdot c \cdot \rho$ mit der Schallimpedanz:

$$z = \frac{p_A}{v} = \rho \cdot c \quad 20$$

Ein weitere akustische Kenngröße ist die Energiedichte w :

$$w = \frac{dE}{dV} = \frac{1}{2} \rho \varpi^2 \quad 21$$

Die Schallintensität I als Leistungsdichte bezeichnet die Arbeit W , die in einer Schallwelle pro Sekunde pro Quadratmeter Fläche A hindurchtransportiert wird:

$$I = \frac{dW}{A dt} = c v = \frac{1}{2} \frac{p_A^2}{c \rho} \quad 22$$

Die Schalleistung P_{Schall} ist über die Schallintensität I und die Fläche A definiert:

$$P_{Schall} = A \cdot I \quad 23$$

Die Schallabsorption erfolgt durch exponentielles Abklingen $I = I_0 e^{-2\alpha x}$ und diese Abschwächung der Schallintensität wird durch Reflexion, Brechung, Beugung und Streuung der Schallwellen verursacht, d.h. die kinetische Energie wird in Wärme umgewandelt. Mechanismen, die additiv für die Gesamtabsorption α_{ges} berücksichtigt werden, sind: Die Stokes'sche Reibung α_s , die Kirchhoff'sche Wärmeleitung α_{th} und die viskose Reibung α_{ex} . Somit kann über die reflektierte, dissipierte und transmittierte Schalleistung bilanziert werden, um die einfallende Schalleistung zu berechnen und den Transmissionsgrad, Reflexionsgrad sowie Absorptionsgrad zu bestimmen.

Für den Zellaufschluss und Extraktion wird Leistungsschall im Bereich von 10 bis 1000 W·cm⁻² mit Niedrig-Frequenz ≤ 0.1 MHz und Hoch-Amplitude im Bereich von 10 bis 500 μm angewendet (siehe Abbildung 7). Auch ohne Kavitation tragen Ultraschallwellen zur Verbesserung des Stofftransports während des Diffusionsvorgang bei. Eine etablierte und standardisierte Methode zum Nachweis von Kavitation existiert gegenwärtig nicht, so dass ein Verfahren Gegenstand der Forschung sind. Die Ziele des experimentellen Nachweises von Kavitation sind die Sicherstellung der Kavitationsschwelle (z.B. Schalldrücke), die Ausbeute an transienten Kavitationsblasen (freigesetzte Energie), die Quantifizierung der freien Radikale (Nachweisreagenz) und die Untersuchung der Oberflächenerosion (z.B. Aluminiumfolie). Die Barrieren sind dabei die Überlagerung verschiedener Effekte auf verschiedenen Längenskalen, die nichtlineare Kopplung von Effekten und die räumliche Inhomogenität von Kavitationsfeldern.

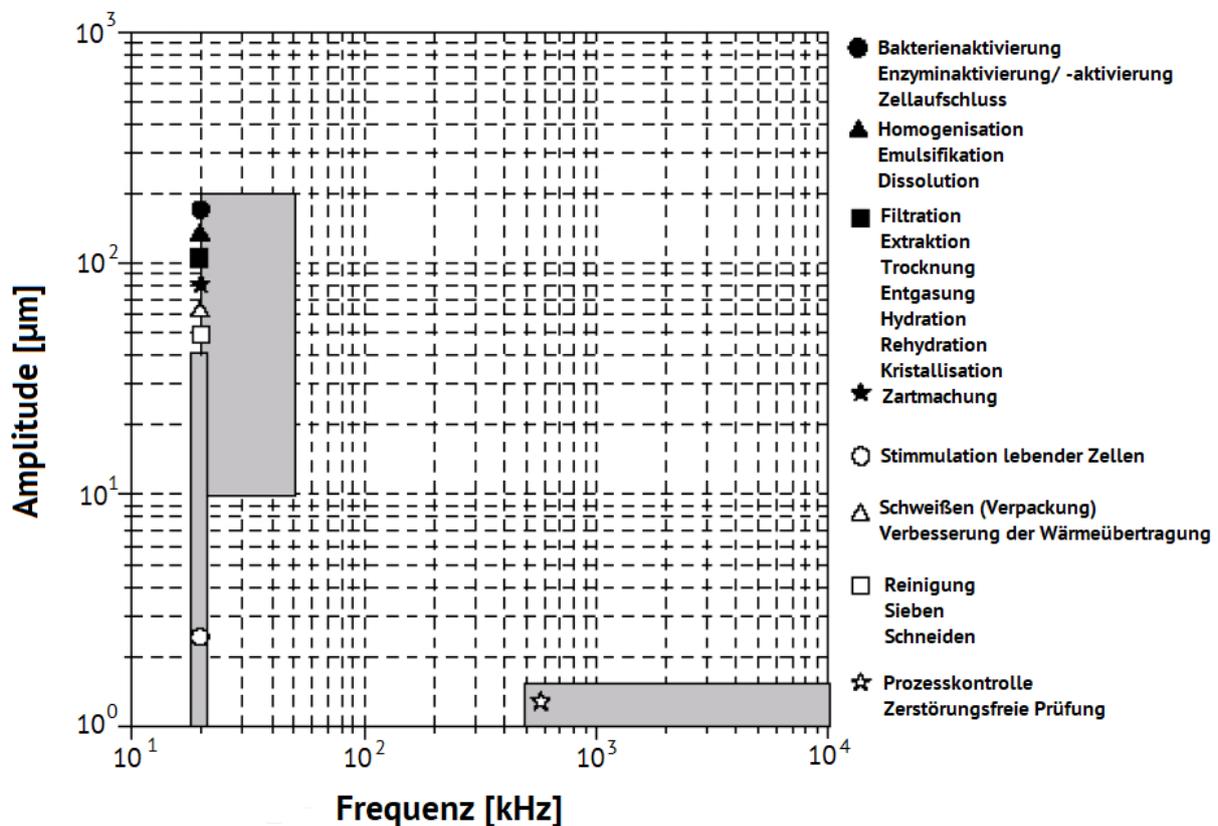


Abbildung 7: Klassifizierung der Ultraschallwellen nach Leistungseintrag bezüglich Amplitude und Frequenz (Mason und Lorimer 2002)

Unter Kavitation wird die Bildung von Blasen und deren Oszillation unter Einfluss von hochfrequenter Druck- bzw. Dichteschwankungen in Flüssigkeiten verstanden. Nichtelastisches Medienverhalten führt zum Aufreißen der kontinuierlichen Fluidphase und zur Bildung von Blasen. Die im Fluid vorhandene Inhomogenität begünstigen die Kavitation. Nach Entstehung der Blasen diffundiert sukzessiv Dampf aus der umgebenden Flüssigkeit oder in der Flüssigkeit

gelöste Gase in die Blase. Bei der „Dampfkavitation“ (harte/transiente Kavitation) implodieren die Blasen bereits nach wenigen Oszillationen unter punktueller Freisetzung hoher Energieintensitäten. Bei der weichen (stabilen) Kavitation verursacht das in vielen Oszillationszyklen in die Blase eindiffundierende Gas den Kollaps. Zwischen diesen beiden grundsätzlich verschiedenen Phänomenen existieren in der Realität zahllose Übergangsformen. Sonokavitation ist die Kavitation, bei der Blasen durch Ultraschallwellen entstehen. Es gibt zwei Hypothesen für das Erreichen der Kavitationsschwelle. Zu einem ist es die homogene Keimbildung, bei Scherkräften zur Überwindung der theoretischen Oberflächenspannung und des hydrostatischen Druckes erzeugt werden und somit eine Berechnung der theoretisch vorhergesagten Kavitationsschwelle erfolgen kann. Für diese Berechnung wird der kritische Druck p_k zur Überwindung der kohäsiven Kräfte sowie zur Erzeugung einer Blase mit Radius r ermittelt. Bei der heterogenen Keimbildung werden durch Phasengrenzen (Partikel, Blasen, Tropfen), durch chemisch stabilisierte Grenzflächen (Mizellen) und durch Gastaschen in Partikeln diese Heterogenität hervorgerufen. Die wichtigsten Einflussfaktoren auf die Kavitationsschwelle ist die Viskosität der Flüssigkeit, die Schallfrequenz und die Temperatur. Die Tendenz eines Blasen kollaps ist umso wahrscheinlicher, je geringer die Schallfrequenz und je länger die Kompressionszeit. Ob eine Blase stabil oszilliert oder in einen transienten Zustand bzw. Kollaps übergeht, hängt von folgenden Faktoren ab:

- Frequenz ν : Mit der Zunahme der Frequenz nimmt die Produktion von Kavitationsblasen und damit die Kavitationsintensität in der Flüssigkeit ab.
- Lösemittel: Bei der Generierung der Blasen im Unterdruckgebiet müssen die kohäsiven Kräfte im Lösemittel überwunden werden. Mit steigender Viskosität und hoher Oberflächenspannung müssen höhere akustische Kräfte erzeugt werden.
- Temperatur T : Die Temperatur beeinflusst sowohl die Dichte, die Viskosität als auch den Dampfdruck des Lösemittels. Mit steigender Temperatur sinkt die notwendige akustische Intensität zur Erzeugung von Kavitation.
- Gasart und -gehalt: Aufgrund der Abhängigkeit vom Adiabatenkoeffizient γ steigen die sonochemischen Effekte mit γ . Darüber hinaus spielt auch die thermische Leitfähigkeit des Gases eine Rolle: Je größer die Wärmeleitfähigkeit, desto mehr Wärme dissipiert über die Phasengrenzflächen ins umgebende Medium. Die Erhöhung des Gasgehaltes führt zu einer Absenkung der Kavitationsschwelle und der Intensität der Schockwelle, die durch den Blasen kollaps entsteht.
- Externer Druck p : Mit Zunahme des externen Druckes steigt die Kavitationsschwelle, aber auch die Intensität des Blasen kollaps. Die Erhöhung des statischen Druckes führt zu schnellerem, aber auch heftigerem Blasen kollaps.
- Akustische Intensität: Grundsätzlich nehmen die sonochemischen Effekte mit einer Zunahme der akustischen Intensität und damit mit einer Zunahme des Schalldruckes p_A zu. Jedoch kann die Wirkung nicht immer weiter gesteigert werden, da die maximale Blasengröße ebenfalls eine Funktion der Druckamplitude p_A ist. Mit einer Steigerung der Druckamplitude wächst die Blasengröße in der Unterdruckphase so stark an, dass die Zeit für den

Blasen kollaps nicht mehr ausreicht und die Blase den kritischen Kollapsdurchmesser überschreitet.

Die Implosion von Kavitationsblasen an oder in der Nähe von festen Grenzflächen führt zur Generierung von Flüssigkeitsjets, die letztlich zu Schockwellen und einer mehr oder starken Erodieren der Feststoffoberfläche führen (siehe Abbildung 8).

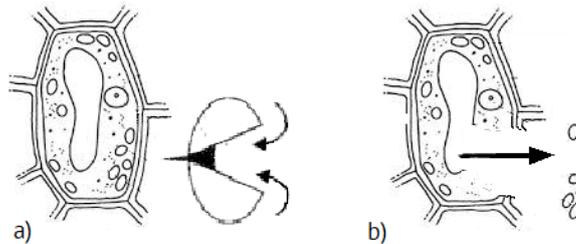


Abbildung 8: Wirkung einer implodierender Kavitationsblase in der Nähe einer Pflanzenzelle: Der Flüssigkeitsjet stößt durch die Blase a); Zerstörung der Zellenmembran und Freisetzung der Pflanzenstoffe b)

2.2.3 Hochspannungsimpulsunterstützte Extraktionstechnologie

Die Historie der Hochspannungsimpulse geht auf die Entdeckung der Lichtenberg-Figuren als Resultat elektrischer Hochspannungsentladung im 18. Jahrhundert zurück (Rolong et al. 2018; Takahashi 1979). Mit dem Verstehen dieses Phänomens und mit der Kontrolle über die Parameter, welche elektrische Felder generieren, wurden die gepulsten elektrischen Felder ab dem Jahre 1940 sehr schnell eingesetzt, um Mikroben in Lebensmittel zu töten und um Wasser zu sterilisieren. Der Einfluss von elektrischen Pulsen hoher elektrischer Feldstärke auf biologisches Material wurde erstmalig von Zimmermann et al. 1976 (Zimmermann et al. 1976) beschrieben und biomedizinische Anwendungen folgen bald darauf, wobei elektrische Felder verwendet werden um die Bewegung von biologischem Material zu kontrollieren: Elektrofusion, Elektrogenherapie und Elektrochemotherapie (Manuela Guderjan 2006). Diese Anwendungen fallen unter in den Bereich der reversiblen Elektroporation, bei dem die Zellenmembran temporär destabilisiert und die Porenbildung elektrisch induziert wird. Bei der irreversiblen Elektroporation ist die eingesetzte Energie viel höher als bei der reversiblen Elektroporation und es wird der Zelltod über unterschiedliche Mechanismen hervorgerufen wird.

Das spezifische Merkmal der Anwendung der Hochspannungsimpulse ist die selektive Zerstörung der biologischen Membranen. Das äußere elektrische Feld \vec{E} induziert ein

Transmembranpotential u_m über die Zellmembran, welche vor allem aus Phospholipiden und Proteinen besteht sowie im Ruhezustand elektrisch nicht leitfähig ist (Barba et al. 2015; Fincan et al. 2004). Wenn das Transmembranpotential einen Durchschnittswert erreicht, typisch sind 0,2 bis 1,0 V, dann verursacht das elektrische Feld einen temporären Verlust der Semipermeabilität der Zellmembran oder deren Zerstörung. Der exakte Mechanismus der Permeabilität ist bis jetzt nicht ins kleinste Detail verstanden, aber es ist akzeptiert, dass die Elektroporation aus verschiedenen Stufen besteht. Diese Phasen sind (Teissie et al. 2005; Teissié et al. 1999; Krassowska und Filev 2007):

- Aufladung und Polarisierung der Zellmembran (Aufladungszeit ca. 1 μ s).
- Temporäre Destabilisierung und Formation der Poren (beobachtet auf einer Zeitskala von 10 ns (Tarek 2005).
- Expansion der Porenradii und Aggregation von verschiedenen Poren (in einem Zeitbereich von 100 μ s).
- Wiederverschließen der Poren und Erinnerungsvermögen (Dauer im Bereich von Sekunden bis zu Stunden).

Vorgeschlagene Theorien weisen die Formation von Poren (Elektroporation) sowie elektromechanische, elektrohydrodynamische, viskoelastische, elektrothermische und elektroosmotische Instabilitäten nach (Ho und Mittal 1996; Weaver und Chizmadzhev 1996; Chen et al. 2006). Ausreichend hohe Hochspannungsimpuls-Exposition (hohe elektrische Felder und lange Behandlungszeit) führt zur Formation von großen Poren, Deformation der Membranen und zur Zelllysis (Pliquett et al. 2007). Andere Möglichkeiten der Zelllysis können durch chemisches Ungleichgewicht, welches aus dem verbesserten Transmembrantransport (Dimitrov und Sowers 1990) und der Joule'schen Überhitzung der Membranoberfläche erklärt werden (Lebovka et al. 2000). Die Reversibilität der Elektroporation hängt unmittelbar mit dem Pulsverfahren zusammen, d.h. die Stärke des elektrischen Feldes, die Form der Pulse, die Pulsdauer und die Intervalle zwischen den Pulsen (Canatella et al. 2004). Die Applikation der Hochspannungsimpulse kann in transiente oder stabile Elektroporation resultieren (vergleiche Abbildung 9).

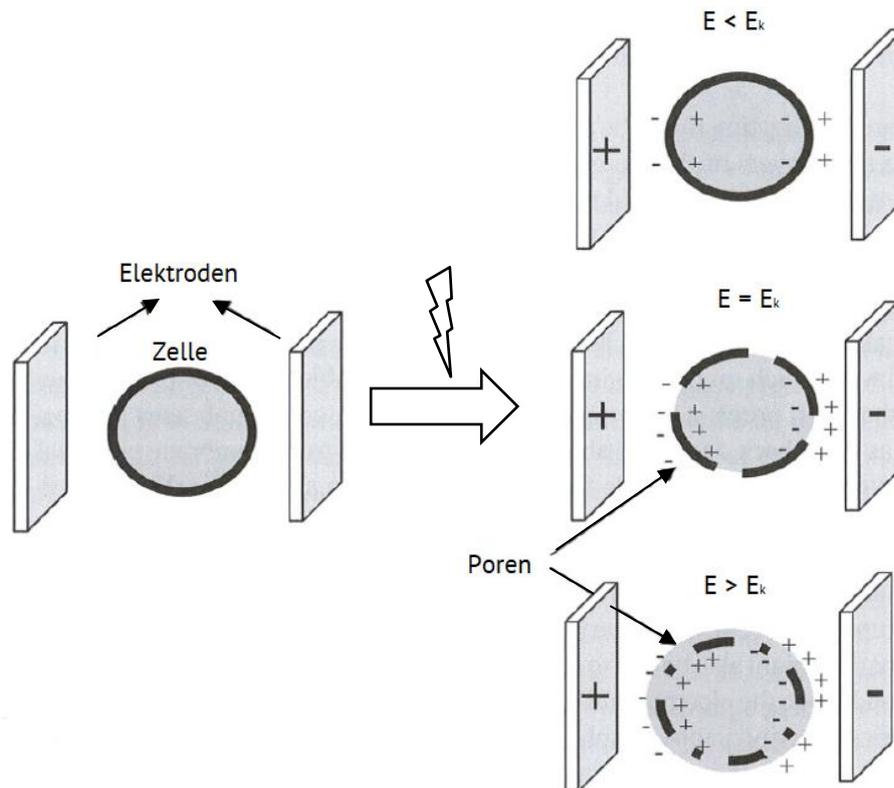


Abbildung 9: Elektroporation von Zellmembranen bei verschiedenen Feldstärken. E: Elektrische Feldstärke; E_k : Kritische elektrische Feldstärke (Javier Raso 2006)

Zur Realisierung von Hochspannungsimpulsen gibt es hauptsächlich fünf elektrotechnische Konzepte (Reberšek und Miklavcic 2011). Hochspannungsimpulse länger als $1 \mu\text{s}$ können mittels einer Entladung eines Kondensators, eines Rechteckgenerators oder eines analogen Signalgenerators erzeugt werden (Reberšek und Miklavcic 2011). Der Blumlein-Generator als pulsformendes Netzwerk oder ein Halbleiteröffnungsschalter bzw. Resonanzladungsgenerator: Diodenöffnungsschaltgenerator können Hochspannungsimpulse kürzer als $1 \mu\text{s}$, bzw. im Nanosekundenbereich generiert werden (Reberšek und Miklavcic 2011). Eine elektrische Hochspannungsimpulsanlage für die Übertragung exponentieller Pulse besteht aus den Hauptkomponenten Hochspannungsgenerator, zur Versorgung der Anlage mit elektrischer Energie bei einer definierten Ladespannung U_0 , parallel geschalteten Kondensatoren der Kapazität C , zur Speicherung der elektrischen Energie, einem Hochspannungsschalter, zur Energieübertragung in den Entladekreis sowie einer Behandlungszelle mit den zwei Metallelektroden, in der die pflanzlichen Zellen einem elektrischen Feld bestimmter Feldstärke \vec{E} ausgesetzt wird (siehe Abbildung 10). Bei geöffnetem Hochspannungsschalter, der durch einen Impulsgeber digital angesteuert wird, werden die Kondensatoren über den Ladewiderstand R_C bis zum Potential U_0 geladen. Wird der Schalter geschlossen, so kommt es zu einem Entladevorgang der elektrischen Energie in den Entladekreis in Form eines exponentiellen Pulses. Der zeitliche Verlauf des Pulses wird dabei vor allem durch Kapazität, Induktivität und Ohm'schen

Widerstand der Leitungen sowie der Behandlungszelle bestimmt. Zur Erfassung von Elektrodenspannung und Impulsform wird ein Oszilloskop eingesetzt.

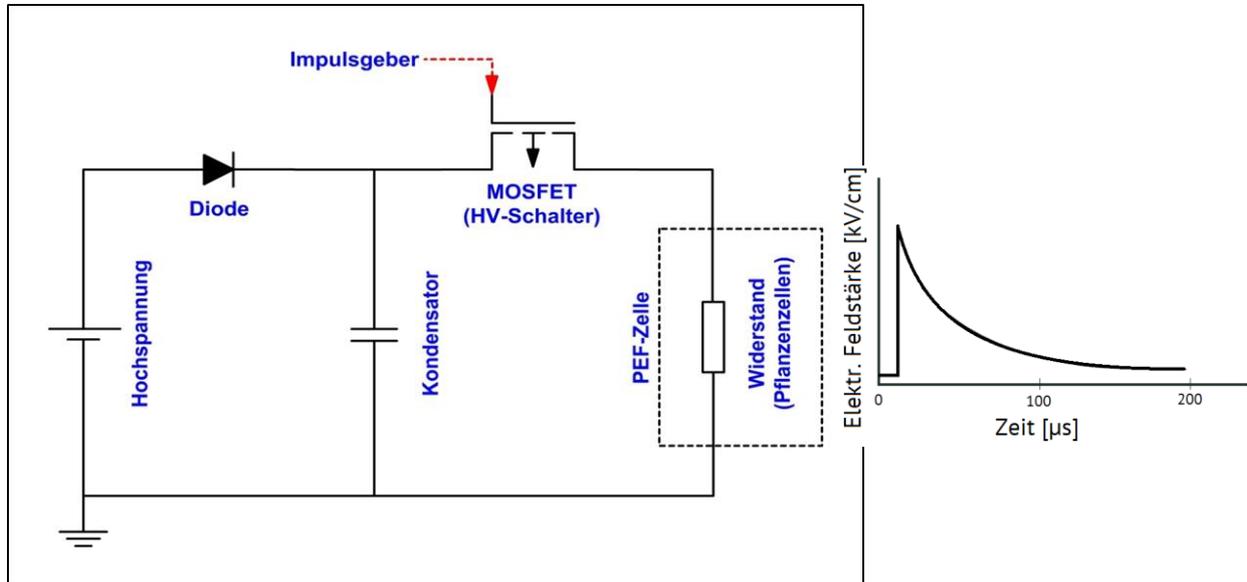


Abbildung 10: Aufbau einer Hochspannungsimpulsanlage zur Erzeugung exponentieller Pulse

Für eine einzelne kugelförmige Zelle ist das Transmembranpotential vom Winkel ϑ zwischen der Richtung des externen Felds \vec{E} und dem Radiusvektor \vec{r} der Membranoberfläche (Schwan 1957) abhängig:

$$u_m = 1,5 R_{Zelle} \cdot E \cos \vartheta \left(1 - \exp\left(-\frac{t}{t_c}\right) \right) \zeta \quad 24$$

Hier ist R_{Zelle} der Zellradius und die Zeitabhängigkeit reflektiert den kapazitiven Membranaufladungsprozess. Die Zeitkonstante t_c ist definiert als (Pauly und Schwan 1959)

$$t_c = t_c^m / (1 + a) \quad 25$$

$t_c^m = \frac{C \cdot h}{\sigma_m}$ ist die spezifische Kapazität der Membran, h ist deren Schichtdicke und $a = \frac{h \cdot \sigma_i \cdot \sigma_m}{1 + \frac{\sigma_i}{\sigma_e}}$. σ_m , σ_e und σ_i beziehen sich auf die Leitfähigkeiten der Membran, des extrazellulären Mediums und das Cytoplasma. Charakteristische Werte von $C = 10^{-2} \frac{F}{m^2}$, $h = 5 \text{ nm}$ und $\sigma_m = 3 \cdot 10^{-7} \frac{S}{m}$ (Kotnik et al. 1998) ergeben $t_c^m = 1,7 \cdot 10^{-4} \text{ s}$. Der allgemeine Ausdruck für ζ ist recht komplex (Kotnik et al. 1998), aber mit der Annahme, dass $\frac{h \cdot \sigma_i}{R \cdot \sigma_m} \gg 1$ (unter den physiologischen

Bedingungen, $\sigma_i \approx 3 \cdot 10^{-1} \frac{S}{m}$, und $R = 100 \mu m$, $\frac{h \cdot \sigma_i}{R \cdot \sigma_m} \approx 50$) ist, ist folgende Vereinfachung möglich:

$$\zeta = 1 - \frac{1}{a} \quad 26$$

Stabilen Bedingungen können realisiert werden, wenn die Pulsdauer t_p genauso lang im Vergleich mit der Zeit ist, welche benötigt wird, um die Membrankapazität aufzuladen. Der Wert von u_m ist proportional zum Zellradius R_{Zelle} . Der höchste Potentialverlust tritt an den Zellpolen auf und erniedrigt sich auf 0 bei $\vartheta = \pm \frac{\pi}{2}$. Dadurch werden größere Zellen vor kleineren beschädigt und die Wahrscheinlichkeit einer Schädigung ist an den Zellpolen maximal. Die Dicke der Membran h ($\approx 5 \text{ nm}$) ist im Vergleich zum Pflanzenzellradius R_{Zelle} ($\approx 100 \mu m$) sehr klein. Die Stärke des elektrischen Feldes, die über die Membran konzentriert ist, kann als $\vec{E}_m = \frac{u_m}{h} \approx \vec{E} \cdot R_{Zelle}/h \sim 2 \cdot 10^4 \vec{E}$ geschätzt werden. In weichem Pflanzengewebe besitzen die Zellen einen ziemlich großen Radius ($R \approx 100 \mu m$) im Vergleich zu mikrobiellen Zellen ($\approx 1 - 10 \mu m$) und das induzierte Transmembranpotential, ebenso wie das Phänomen der aufgeladenen Membran, kann stark durch den Zellradius und dem σ_e/σ_i -Verhältnis beeinflusst werden. Ein unbeschädigtes biologisches Gewebe ist gewöhnlich ein geringes leitfähiges Material, so dass es die Ungleichung $\frac{\sigma_e}{\sigma_i} \ll 1$ erfüllt. Aber es kann angenommen werden, dass der σ_e/σ_i -Wert sich mit dem Verringern der Hochspannungsimpuls-induzierten Beschädigungen und $\sigma_e/\sigma_i \approx 1$ limitiert durch Gewebedesintegration erniedrigt. Für kleine Zellen ($R \approx 1 \mu m$) der Wert ζ ist nahe bei 1 und der Wert von t_c ist geringer als $1 \mu s$. Für große Zellen, wie solche in zellulärem Gewebe, mit $R \approx 100 \mu m$ der Wert von ζ weichen von 1 ab und t_c verringert sich merklich mit kleinen σ_e/σ_i -Werten.

In der Elektroporationstheorie kann die Lebensdauer τ_m der Membran durch folgende Formel geschätzt werden (Weaver und Chizmadzhev 1996):

$$\tau_m = \tau_\infty \exp E_A/k_B T (1 + \left(\frac{u_m}{u_0}\right)^2) \quad 27$$

E_A ist die Aktivierungsenergie zur Beschädigung der Membran, τ_∞ ist ein Parameter, $k_B = 1,381 \cdot 10^{-23} \frac{J}{K}$ ist die Boltzmann Konstante, T ist die absolute Temperatur und u_0 ist ein Parameter, der die Antwort der Elektroporation auf die Membran charakterisiert. Für Lipid-Membranen wurden folgende Abschätzungen der Parameter experimentell festgestellt: $E_A \approx 270 \frac{kJ}{mol}$, $u_0 \approx 0,17 \text{ V}$ und $\tau_\infty = 3,7 \cdot 10^{-7} \text{ s}$ (Lebedeva 1987); dennoch, diese Werte sind von der Struktur und Zusammensetzung der Membranen in Pflanzenzellen abhängig (Lebovka et al. 2007a).

In Zellsuspensionen und in biologischen Geweben ist die Elektroporation eine komplexe Funktion der Zellorientierung sowie der Zellgrößen-Verteilung und kann durch die Aggregation der Zellen, deren Arrangement, die lokale Zelldichte und gelöste Konzentration sowie die Verteilung des lokalen elektrischen Feldes beeinflusst werden (Canatella et al. 2004; Pucihar et

al. 2007; Pavlin et al. 2007). Des Weiteren kann das externe Feld die Orientation (Lebovka und Vorobiev 2007) und die Aggregation (Stefan Töpfl 2006) der Zellen in den Suspensionen beeinträchtigen. Die Umlagerung des lokalen Feldes innerhalb eines biologischen Gewebes ist auch während der Behandlung mit Hochspannungsimpulsen möglich (Lebovka et al. 2000; Lebovka et al. 2001). Der Beschädigungsgrad P_{Grad} kann als Verhältnis der beschädigten Zellen und der Gesamtanzahl der Zellen definiert werden. Eine direkte Abschätzung des Beschädigungsgrad kann durch mikroskopische Betrachtung der Hochspannungsimpuls-behandelten Gewebes (Fincan und Dejmek 2002) gemacht werden, aber dies ist nicht einfach und es ist mehrdeutig. Es ist möglich den Beschädigungsgrad von Messungen des Diffusionskoeffizienten in Hochspannungsimpuls-behandelt biologischen Materialien (Jemai und Vorobiev 2002; Lebovka und Vorobiev 2007):

$$P_{Grad} \approx (D - D_i)/(D_d - D_i) \quad 28$$

D ist der gemessene Diffusionskoeffizient und die Indizes i und d beziehen sich auf die Werte für das intakte beziehungsweise völlig zerstörtes Material. Der Diffusionskoeffizient D kann durch erschöpfende Extraktion oder konvektive Trocknungsversuche bestimmt werden. Unglücklicherweise sind Diffusionsmessungen indirekt und invasiv für biologische Objekte sowie sie können die Struktur des Gewebes auswirken. Zudem ist die Validität der Approximationsgleichung 28 noch umstritten (Vorobiev et al. 2005; Lebovka und Vorobiev 2007). Eine konventionelle Methode, um den Beschädigungsgrad P zu schätzen, basiert auf Messungen der elektrischen Leitfähigkeit. Die lokale elektrische Leitfähigkeit wird in der Nähe von beschädigten Zellen erhöht und die durchschnittliche elektrische Leitfähigkeit erhöht sich während der Beschädigungsgrad wächst. Der Leitfähigkeitszersetzungsindex Z kann wie folgt definiert werden (Rogov and Gorbatov 1974):

$$Z = (\sigma - \sigma_{in})/(\sigma_d - \sigma_{in}) \quad 29$$

σ ist der elektrische Leitfähigkeitswert gemessen bei geringen Frequenzen (1 – 5 kHz) und die Indizes in und d beziehen sich auf die Leitfähigkeiten eines intakten beziehungsweise vollständig zerstörten zellulären System. Diese Gleichung ergibt $Z = 0$ für intaktes Gewebe und $Z = 1$ für völlig zerstörtes Material. Diese Methode ist für Gewebe und kolloidale Biosuspensionen gebräuchlich (Lebovka et al. 2000; Lebovka et al. 2006; El Zakhem et al. 2006a, 2006b). Aber die Bestimmung von σ_d benötigt ergänzende Messungen für maximal zerstörtes Material nach Einfrieren-Auftauen oder starker Hochspannungsimpuls-Behandlung mit hoher elektrischer Feldstärke und lange Laufzeit der Hochspannungsimpuls-Behandlung (Lebovka et al. 2007a).

Eine andere Methode ist auf elektrischen Leitfähigkeitsmessungen bei niedrigen ($\approx 1 \text{ kHz}$) und hohen ($3 - 50 \text{ MHz}$) Frequenzen (Angersbach et al. 2002) basiert:

$$Z = (k\sigma^0 - \sigma_{in}^0)/(\sigma_{in}^\infty - \sigma_{in}^0) \quad 30$$

wo $k = \sigma_{in}^\infty/\sigma^0$ und die Indizes 0 und ∞ sich auf niedrige beziehungsweise hohe Leitfähigkeitsgrenzen beziehen.

Es ist sinnvoll eine charakteristische Zerstörungszeit τ heran zu ziehen, welche als die Zeit definiert ist, die für das Erreichen der Hälfte der maximalen Beschädigung vonnöten ist ($Z \approx 1/2$) (Bazhal et al. 2003). Die Entwicklung der Zerstörung in Gewebe kann durch folgende Umwandlungsfunktion angenähert werden (Bazhal et al. 2003):

$$Z = \left[1 + \left(\frac{\tau}{t}\right)^\kappa\right]^{-1} \quad 31$$

κ ist ein empirischer Exponent. Für die Beschädigung durch Hochspannungsimpuls-Behandlung, die Zeit t korrespondiert mit der gesamten Zeit der Hochspannungsimpuls-Behandlung: $t = t_{PEF} = n \cdot t_p$, wo n die Anzahl der Pulse und t_p die Dauer der Pulse ist. Aus der Gleichung 31 folgt, dass $Z = \frac{1}{2}$ bei $t = \tau$ ist und somit die Definition der charakteristischen Zerstörungszeit τ erwiesen ist. Eine thermisch induzierte Beschädigung benötigt eine lange Zeit und wird beschleunigt, wenn die Temperatur T gesteigert wird. Die Hochspannungsimpuls-induzierte Beschädigung hängt von dem Behandlungsprotokoll ab und lässt sich mit der Erhöhung der elektrischen Feldstärke \vec{E} und der Temperatur T verstärken (Lebovka et al. 2005b; Lebovka et al. 2005a). Je nach verwendeter elektrischer Feldstärke, Temperatur und Gewebeart mit unterschiedlichen Zellgeometrien und -größen zeigt der Zerstörungsindex Z ein Plateau mit Sättigungseffekt (Lebovka et al. 2007a; Lebovka et al. 2001). Bei der Verwendung von hohen Feldstärken und inhomogenen Gewebestrukturen stellt sich kein Plateau-Effekt ein oder eine schrittweise Erhöhung des Zerstörungsindex Z wurde beobachtet (Shynkaryk et al. 2008). Bis jetzt sind diese Hochspannungsimpuls-induzierten, transienten Effekte nicht vollständig verstanden und erfordern weitere Studien in der Zukunft.

Die charakteristische Zerstörungszeit τ ist von der Gewebeart abhängig (Lebovka et al. 2002), dies ist durch Zellgrößenunterschiede, die Natur und Konstitution der Membranen sowie die Gewebeporosität erklärbar. Die charakteristische Zerstörungszeit in den Grenzen eines sehr hohen Feldes τ_∞ reflektiert den Widerstand des Materials zu der Hochspannungsimpuls-Behandlung. Je höher der Wert von τ_∞ desto mehr Behandlungszeit wird benötigt, um das Material zu zerstören (Bazhal et al. 2003; Bazhal et al. 2001). Eine hohe Zerstörung des Gewebes erfordert ausreichend Energieverbrauch in Verbindung mit der Hochspannungsimpuls-Behandlung. Die Volumendichte des Energieeintrags Q während der Hochspannungsimpuls-Behandlung ist gleich mit:

$$Q = \int_0^t \sigma(t) \cdot \vec{E}^2 dt \quad 32$$

Die elektrische Leitfähigkeit des Gewebes σ erhöht sich mit der Zeit t aufgrund der Zerstörung. Der Energieverbrauch Q ist annähernd proportional zu $\tau \cdot \vec{E}^2$ (Lebovka et al. 2002). Wenn $\tau(\vec{E})$ sich mit der Erhöhung der elektrischen Feldstärke \vec{E} verringert, dann geht $\tau \cdot \vec{E}^2$ durch ein Minimum. Der optimale Wert von \vec{E}_0 bei minimalem Energieverbrauch korrespondiert zu dem Minimum von $\tau \cdot \vec{E}^2$. Eine weitere Zunahme von \vec{E} resultiert in eine progressive Erhöhung des Energieverbrauchs, führt aber nicht zu einer zusätzlichen Steigerung des Leitfähigkeitszerstörungsindex Z . Für vegetables und fruchtartiges Gewebe typische Werte für \vec{E}_0 liegen im Bereich von $200 - 500 \frac{V}{cm}$ (Bazhal et al. 2003). Wenn der Strom durch das Gewebe fließt, entwickelt sich Ohm'sche Erwärmung. Dies führt zu einer Temperaturerhöhung, welche durch folgende Differentialgleichung geschätzt werden kann:

$$\frac{dT}{dt} = \frac{\sigma \cdot E^2}{\rho \cdot c_p} \quad 33$$

Hier ist ρ die Dichte und c_p der spezifische Wärmekapazität des Gewebes, ebenso wird angenommen, dass eine adiabatische Betriebsführung einen sehr kleinen thermischen Austausch mit Umgebung impliziert. Weil die Funktion der Zeit t zu der elektrischen Leitfähigkeit σ unbekannt ist, ist die Anwendung der Gleichung 33 für die Schätzung der Temperaturentwicklung $T(t)$ in Gewebe nicht einfach. Die linearen Temperaturabhängigkeiten sind typisch für die elektrische Leitfähigkeit von zerstörten und intakten Gewebematerialien:

$$\sigma = \sigma_0 \left(1 + \frac{\alpha_T(T-T_0)}{1+\alpha_T T_0} \right) \quad 34$$

σ_0 ist die elektrische Leitfähigkeit bei der Referenztemperatur T_0 und α_T ist der Temperaturkoeffizient der elektrischen Leitfähigkeit (Lebovka et al. 2007a). Wenn die elektrische Leitfähigkeit eine lineare Funktion der Temperatur ist, resultiert die Integration der Gleichung 33 in:

$$T = T_0 + \left(\exp\left(\sigma_0 \cdot E^2 \cdot \frac{t}{c} \cdot \rho\right) - 1 \right) / \alpha \quad 35$$

Änderungen in den Gewebestrukturen, welche durch Ohm'sche Erwärmung elektrisch induziert werden, können essentiell sein (Wang und Sastry 2002). Die Ohm'sche Erwärmung bei elektrischen Feldern E in der Größenordnung von $20 - 80 \frac{V}{cm}$ ruft Änderungen der Elektroporationseigenschaften hervor (Lebovka et al. 2005b; Lebovka et al. 2005a). Daher kann die elektrische Leitfähigkeit eine komplexe nichtlineare Funktion der Zeit, Temperatur, elektrischen Feldstärke und des Beschädigungsgrades sein. Eine direkte Kontrolle der Elektroporationsänderungen kann durch experimentelle Messungen der Leitfähigkeitsentwicklung während der Ohm'schen Erwärmung durchgeführt werden. Der Leitfähigkeitszerstörungsindex kann mit Gleichung 29 durch die experimentell gemessenen Temperaturabhängigkeiten der intakten σ_i und völlig zerstörten σ_d Gewebe-Leitfähigkeiten abgeschätzt werden (Lebovka et al.

2007a). Es scheint sehr vielversprechend ein Pulsprotokoll für die Hochspannungsimpuls-Behandlung mit moderatem elektrischem Feld und gleichzeitiger Anwendung der Ohm'schen Erwärmung auszuwählen.

Experimente zeigten, dass die Verwendung der elektrischen Pulse einige verschiedene Effekte auf die Zellmembran ausüben können, diese sind von den unterschiedlichen Pulsparameter abhängig; wie zum Beispiel Amplitude, Form, Dauer t_p , Anzahl der Wiederholungen n , und die Intervalle zwischen den Pulsen Δt (Canatella et al. 2001). Des Weiteren sind weitere Parameter die Behandlungstemperatur und die initiale Ionenstärke. Kriterien, um das Protokoll optimal auszuwählen, können bis jetzt nicht genau nachvollzogen werden.

Hamilton und Sale (Hamilton und Sale 1967) definierten die verwendete elektrische Feldstärke \vec{E} und die gesamte Behandlungszeit $t_{PEF} = n \cdot t_i$ als relevanten Hauptparameter, welche die Effizienz der Hochspannungsimpuls-induzierten Zerstörung festlegen. Höhere elektrische Feldstärke führt zu besserer Effizienz der Beschädigung (Canatella et al. 2001; Toepfl et al. 2007), die optimalen Werte für die elektrische Feldstärke für viele vegetabilen und fruchtartigen Gewebe liegen im Bereich von $\vec{E} = 300 - 500 \frac{V}{cm}$. Die Zeitabhängigkeit des Zerstörungsindex kann ein Plateau bei langen Zeiten mit einer Hochspannungsimpuls-Behandlung bei kleinen elektrischen Felder erreichen. Des Weiteren erhöht sich der elektrische Leistungsverbrauch merklich bei moderatem elektrischem Feld im Bereich von $\vec{E} < 100 \frac{V}{cm}$ (Lebovka et al. 2007b). Die Effizienz korreliert eindeutig auch mit der gesamten Zeit der Behandlung t_{PEF} (Lebovka et al. 2000), aber es ist offensichtlich, dass die wichtigsten Verfahrensparameter \vec{E} und t_{PEF} nicht komplett für die experimentell festgestelltes Verhalten, welches mit den Hochspannungsimpuls-induzierten Effekten zusammenhängen, verantwortlich sind.

Die Pulsformen, welche meist mit Hochspannungsgeneratoren erzeugt werden, sind exponentiell abfallend und rechteckig. Zudem können die Pulsformen entweder monopolar oder bipolar sein. Die Rechteckgeneratoren sind mehr kostenintensiv und benötigen eine komplexere Ausstattung als Generatoren, die exponentiell abfallende Pulse erzeugen. Aber Rechteckgeneratoren haben eine bessere Energieleistung und demonstrieren höhere Effizienz an Beschädigungen in Messungen mit der Inaktivierung von Mikroorganismen (Zhang et al. 1994). Bipolare Pulse haben mehr Vorteile als monopolare Pulse. Aufeinanderfolgende monopolare Pulse können hohe Konzentration der Raumladung in der Nähe der Elektroden aufgrund der Bewegung der Ionen und lebenden Zellen erzeugen. Bipolare Pulse erzeugen zusätzlichen Beanspruchung in der Membranstruktur und verbessern die Effizienz der Beschädigung. Es wird ebenso berichtet, dass bipolare Pulse minimale Energieverbrauch darbringen, mit reduzierter Abscheidung von Feststoffen auf den Elektroden und mit erniedrigter Lebensmittelelektrolyse (Chang 1989; Qin et al. 1994; Wouters und Smelt 1997).

Ein Intervall zwischen den Pulsen Δt zeigte Einfluss auf Effizienz der Beschädigung durch die Hochspannungsimpulse (Lebovka et al. 2001). Ein längeres Intervall stellt eine beschleunigte

Kinetik im Vergleich zu einem kürzeren Intervall bei derselben gesamten Behandlungszeit t_{PEF} dar. Dies ist unerwartet, da der wiederverschließende Prozess die Elektropermeabilität bei langen Intervallen zwischen den Pulsen verbergen kann. Weitere Experimente werden gebraucht, um den Effekt der Intervalle zwischen Pulsen auf die Beschädigungseffizienz zu erklären.

Auch fehlen genügend Informationen bezüglich des Effekts der Pulsdauer auf die Hochspannungsimpuls-induzierten Zerstörung des Gewebes bei einer festgesetzten Behandlungszeit. Einige Forschungsarbeiten diskutieren hauptsächlich den Effekt der Pulsdauer bei inaktivierenden Experimenten mit verschiedenen Mikroorganismen durch Hochspannungsimpulse (Martin-Belloso et al. 1997; Wouters et al. 1999; Raso et al. 2000; Mañas et al. 2001; Aronsson et al. 2001; Abram et al. 2003; Sampedro et al. 2007). Einige Autoren zeigten, dass die Inaktivierung bei höherer Pulsbreite und bei konstanter Quantität der verwendeten Energie effizienter waren (Martin-Belloso et al. 1997; Abram et al. 2003), aber andere nahmen nur einen kleinen Effekt der Pulsbreite auf die Inaktivierung wahr (Raso et al. 2000; Mañas et al. 2001; Sampedro et al. 2007). Der Effekt der Pulsbreite scheint je nach elektrischer Feldstärke zu variieren; dennoch sind die beobachteten Ergebnisse kontrovers (Wouters et al. 1999; Aronsson et al. 2001). Die Theorie sagt eine Geschwindigkeitsabnahme des Membranaufladungsprozess für große Zellen und für das extrazelluläre Medium mit geringer elektrischer Leitfähigkeit voraus (Kotnik et al. 1998). Die Membranaufladungszeit $t_c \approx 10^{-5} - 10^{-4} s$ ist für zelluläres Gewebe mit großen Zellen eher groß. Eine effiziente Hochspannungsimpulsbehandlung erfordert eine lange Pulsdauer t_i im Vergleich zu der Membranaufladungszeit t_c , damit die maximale Transmembranspannung erreicht. Bei größeren Werten der Membranaufladungszeit t_c längere Pulse werden benötigt, um die gewünschte Spannungsamplitude zu erreichen. Deshalb kann höhere Effizienz der Hochspannungsimpulse für längere Pulsbreite t_i bei festgesetzter Gesamtbehandlungszeit und andere Bedingungen erwartet werden. Längere Pulse sind mehr effektiv und ihr Effekt ist besonders ausgeprägt bei Raumtemperatur und moderaten elektrischen Feldern ($\vec{E} = 100 - 300 \frac{V}{cm}$) (Vito et al. 2008). Nichtsdestotrotz eine allgemeine Beziehung zwischen dem Hochspannungsimpulsbehandlungsprotokoll, Art und Qualität des weichen Gewebes, Prozessparameter (Temperatur, Geometrie und Größe der Stichprobe, etc.) sowie der resultierende Umfang der Materialzerstörung sind nicht vollständig klar und weitere Studien sind erforderlich.

2.3. Mehrstufige Fest-Flüssig Extraktionen

Bei mehrstufigen Fest-Flüssig-Extraktionen können die beiden Phasen über verschiedene Betriebsführungen in Kontakt gebracht werden, dazu zählen die Gegenstromextraktion, die Kreuzstromextraktion und die Gleichstromextraktion. Weiterhin reicht ein einstufiger Extraktionsprozess meist nicht aus, um die gewünschte Menge an Wertstoff zu extrahieren. Dies ist darin begründet, dass kein Stoffübergang mehr stattfindet, sobald ein pseudo-Gleichgewichtszustand erreicht ist. Aus diesem Grund werden mehrere Extraktionsstufen hintereinandergeschaltet, um die größtmögliche Ausbeute an Wertstoff zu erzielen (Handa et al. 2008).

Beim Kreuzstrom wird das Pflanzenmaterial als Feed \dot{F} in der ersten Stufe dazu gegeben und in jeder weiteren Stufe wird unbeladenes Extraktionsmittel \dot{S}_n in den Prozess eingebracht. Der Rückstand \dot{R}_n einer Stufe wird als Feed der nächsten Stufe verwendet, wodurch das Pflanzenmaterial erschöpfend extrahiert wird. Eine weitere Variante ist, dass in jeder Stufe Pflanzenmaterial hinzugeben wird und das Extraktionsmittel über jede weitere Stufe bis zur Löslichkeitsgrenze beladen wird, siehe Abbildung 11.

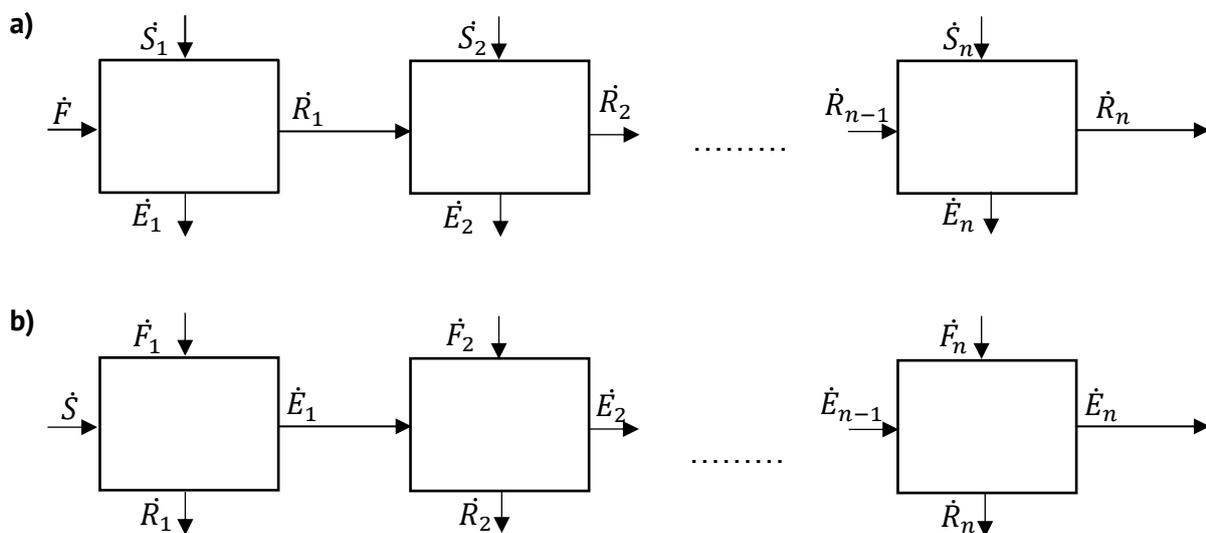


Abbildung 11: Fließbild des Kreuzstromprozesses: a) Erschöpfende Extraktion, b) Beladung des Extraktionsmittels

Im Gegensatz zum Gleichstromverfahren verlaufen bei der Gegenstromextraktion der Rückstandstrom und der Extraktstrom in entgegengesetzte Richtungen (vergleiche Abbildung 12). Der Rückstand \dot{R}_0 , der in die erste Stufe eingeht, entspricht dem Feed \dot{F} . Der Extraktstrom, der in die Stufe n eingeht, entspricht dem unbeladenen Extraktionsmittel \dot{S} . Die Konzentration des

Wertstoffs wird in der Feststoffphase immer geringer, wohingegen sie in der flüssigen Phase immer weiter ansteigt.

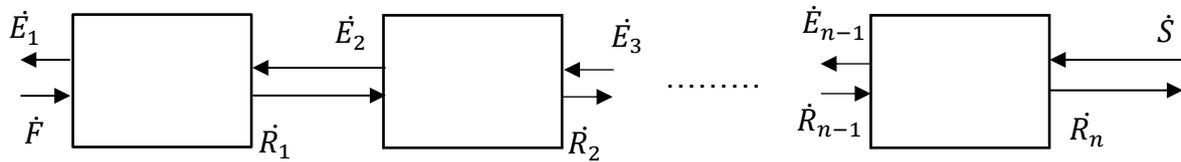


Abbildung 12: Fließbild des Gegenstromverfahrens

Über die zwei Suchmaschinen „Scienedirect“ und „Google Scholar“ wurde nach der Wortfolge „multistage solid liquid extraction“ mit der Angabe des Veröffentlichungszeitraums von 2000-2020 gesucht. Die Recherche ergab mit „Google Scholar“ 852 Ergebnisse und mit „Scienedirect“ 195 Ergebnisse. Es zeigt sich, dass das Interesse an der Forschung und Entwicklung mit mehrstufigen Fest-Flüssig Prozessen in den letzten Jahren stark ansteigt (vergleiche Abbildung 13).

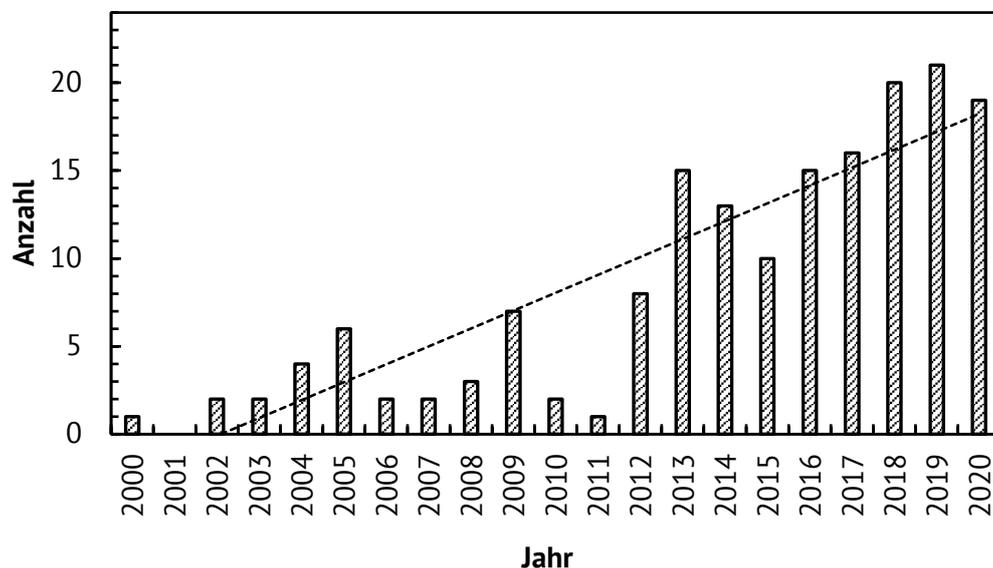


Abbildung 13: Anzahl der Veröffentlichungen zu „multistage solid liquid extraction“ von 2000 bis 2020 (Volltextsuche mit „Scienedirect“)

Tabelle 1 gibt eine Übersicht über verschiedene mehrstufige Prozessausführungen, Stoffsysteme und Lösungsmittel.

Tabelle 1: Auflistung mehrstufiger Prozessausführungen zu „multistage solid liquid extraction“

Autor	Fluss	Rohmaterial	Wertstoff	Lösungsmittel	Quelle
Bessa	Gegenstrom	Reiskleie	Reiskleienöl	Ethanol	(Bessa et al. 2017)
Both	Kreuzstrom	Schwarzer Tee	Polyphenole	Ethanol, Ethanol/Wasser	(Both et al. 2014b)
Castillo-Santos	Gegenstrom	Vanille	Vanillin	Ethanol/Wasser	(Castillo-Santos et al. 2016a)
Diankov	Kreuzstrom	Virginia Tabak	-	Wasser	(Diankov et al. 2008)
Hojnik	-	Brennnesseln	Chlorophyll	Ethanol	(Hojnik et al. 2007)
Jimmy	Kreuzstrom	Wasser- hyanzinte	Schwermetalle	Ethanol/Wasser	(Jimmy et al. 2018)
Li	Gegenstrom, Mikrowellen	Moyeam	Dihydro- myricetin	Wasser, Ethanol, Methanol	(Li et al. 2011b)
Mattos	Kreuzstrom	Trauben- trester	Polyphenole	Ethanol/Wasser	(Mattos et al. 2018)
Meulle-miestre	Kreuzstrom, Ultraschall	Seekiefer, Sägemehl	Polyphenole	Wasser (pH 3,8) Phosphatpuffer	(Meullemiestre et al. 2016)
Mohammed	-	Golftange	Natriumalginat	-	
Parada	Kreuzstrom	Eukalyptus	Polyphenole	Methanol/Wasser	(Parada und Fernández 2017)
Powell	Gegenstrom	Pfeilkresse	Glucoraphanin	Ethanol/Wasser	(Powell et al. 2005)
Saffarzadeh- Matin	-	Granatapfel	Polyphenole	Ethanol/Wasser	(Saffarzadeh-Matin und Khosrowshahi 2017)
Salgado- Roman	Kreuzstrom, Enzymen	Chili Früchte	Carotenoide, Capasaicinoide	Hexan, Ethanol	(Salgado-Roman et al. 2008)
Savova	Kreuzstrom	Traubenkerne	Polyphenole	Ethanol/Wasser	
Senol	Gegenstrom	Tee	Koffein	Wasser, Chloroform	(Senol und Aydin 2006)
Sicaire	Kreuzstrom	Rapsamen	Rapsöl	Hexan	(Sicaire et al. 2016)
Simeonov	Gegenstrom	Storchnabel Tabak	Tannin	Wasser	(E. Simeonov, I. Tsibranska, A. Minchev 1999)
Sivakumar	Kreuzstrom	Rote Bete	Farbstoffe	Ethanol/Wasser	(Sivakumar et al. 2009)
Vázquez-Lèon	Gegenstrom	Meerrettich- baum	Polyphenole	Ethanol/Wasser	(Vázquez-León et al. 2019)
Zalacain	Gegenstrom	Gerber Sumach	Gallotannine	Wasser	(Zalacain et al. 2003)

In Forschungsbereichen wie der Medizin, Pharmazie, Biotechnologie oder Chemie sind eine Vielzahl an Experimenten und Probenahmen üblich, die zudem häufiger Wiederholungen bedürfen (Chapman 2003; Webster 2008). Der Einsatz von automatisierten Systemen wie „Laborrobotern“ als automatisierte Hochdurchsatzsysteme kann eine enorme Zeitersparnis ermöglichen. Dabei liegt der Vorteil nicht nur in den hohen Durchsatz- und Wiederholungsraten, sondern auch in der sichereren Handhabung durch die Möglichkeit den direkten Kontakt zu toxischen oder generell gefährlichen Substanzen auf ein Minimum zu reduzieren (Knebel et al. 1995). Aus diesen Gründen sind automatisierte Hochdurchsatzsysteme aus der Forschung kaum noch wegzudenken (Schmatloch et al. 2003) (vergleiche Abbildung 14).

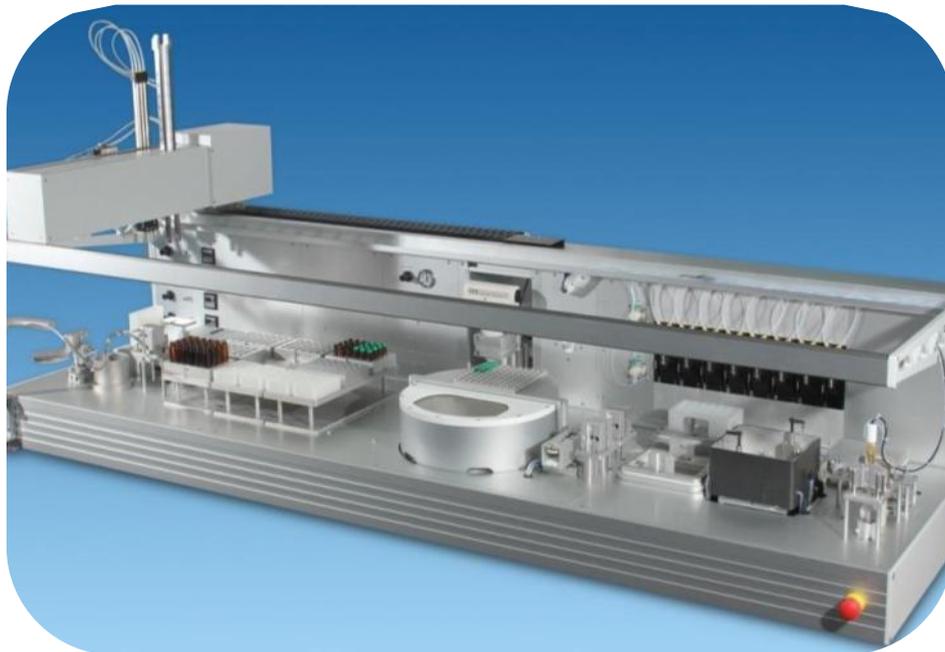


Abbildung 14: Systematischer Modulaufbau des Laborroboters mit Komponententisch und Bewegungsarm mit Greifer sowie mit Pipetten zur Dosierung von Flüssigkeiten, Zinsser Analytics GmbH

Diskontinuierliche Extraktionen sind bei Einsatzmengen von 1000 t und mehr im Jahr sehr oft nicht mehr wirtschaftlich. Für diese großtechnische Fest-Flüssig-Extraktionsverfahren wurden daher schon sehr früh kontinuierliche Gegenstromapparate entwickelt und eingesetzt (Lack 1985). Vom Durchsatz, von der geforderten Extraktionsausbeute und vor allem von der Verweilzeit hängt die apparative Ausführung von Feststoffextraktionsanlagen sehr stark ab. Eine Kaskade aus mehreren hintereinander geschalteten Extraktoren wird bei langen Verweilzeiten, die durch lange Diffusionsstrecken oder kleinen Diffusionsgeschwindigkeiten verursacht werden, verwendet. Da mit der Zahl der Extraktoren die Investitionskosten steigen, ist diese mit etwa 8 Stück begrenzt (Lack 1985). Für den mittleren Verweilzeitbereich (Extraktionszeit zwischen 30 und 90 min) gibt es etwa 20 verschiedene Ausführungen einer Feststoffextraktionsanlage.

Es gibt eine Reihe großtechnisch eingesetzter Feststoffextraktoren (Bart 2011). Ein gängiger Extraktortyp ist ein Karussellextrakteur. Der Karussellextraktortyp ist in mehreren Zellen aufgeteilt, der Boden ist in Form einer Siebplatte ausgebildet und ist sehr universell einsetzbar (siehe Abbildung 15)

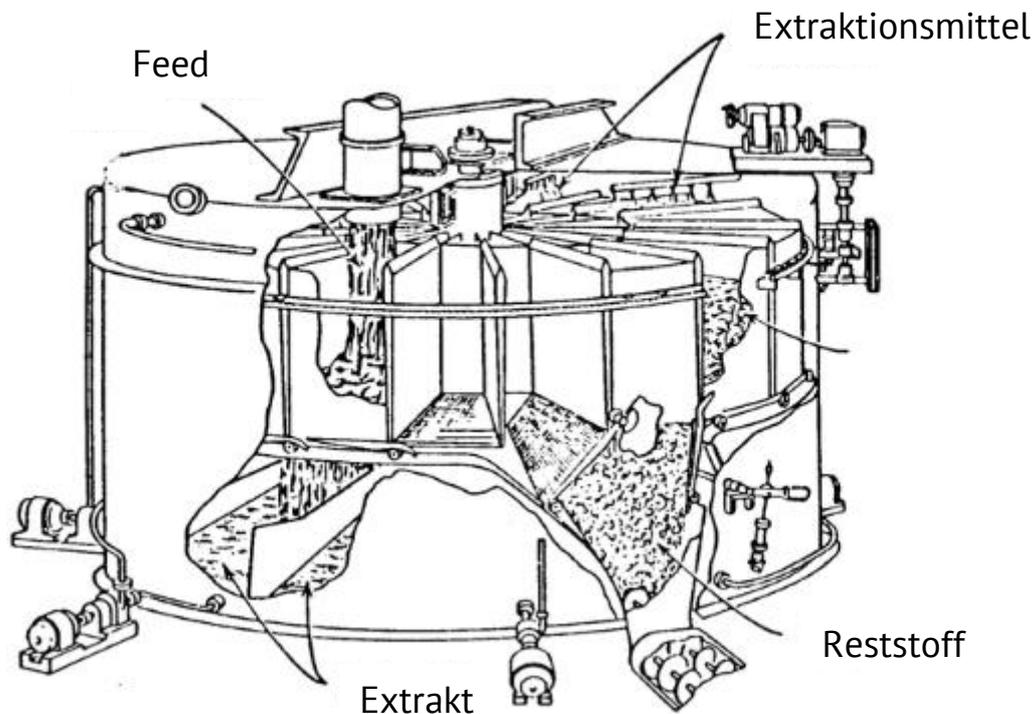


Abbildung 15: Aufbau von Karussellextraktoren

Der ebenfalls vielseitig einsetzbare Schneckenextraktor, der u.a. aus zwei Förderschnecken mit starkem Rühreffekt besteht, eignet sich am besten für grobe feste Einsatzprodukte, die nur einen geringen feinkörnigen Anteil aufweisen. Im Gegensatz zu den Karussellextraktoren fehlt dem Schneckenextraktor der Filtereffekt (vergleiche Abbildung 16). Weitere häufig verwendete Typen sind die (Rahmen-)Bandextrakteure. Bei diesen wird das Einsatzmaterial mittels einer Drehschleuse auf ein Siebplattenband aufgetragen und im Gegenstrom nach dem Perkolationsprinzip extrahiert. In Tabelle 2 sind exemplarisch Hersteller für mehrstufige oder kontinuierliche Extraktionsanlagen sowie Extraktoren, welche für die Fest-Flüssigextraktion eingesetzt werden können, zusammengestellt (Kassing et al. 2010b).

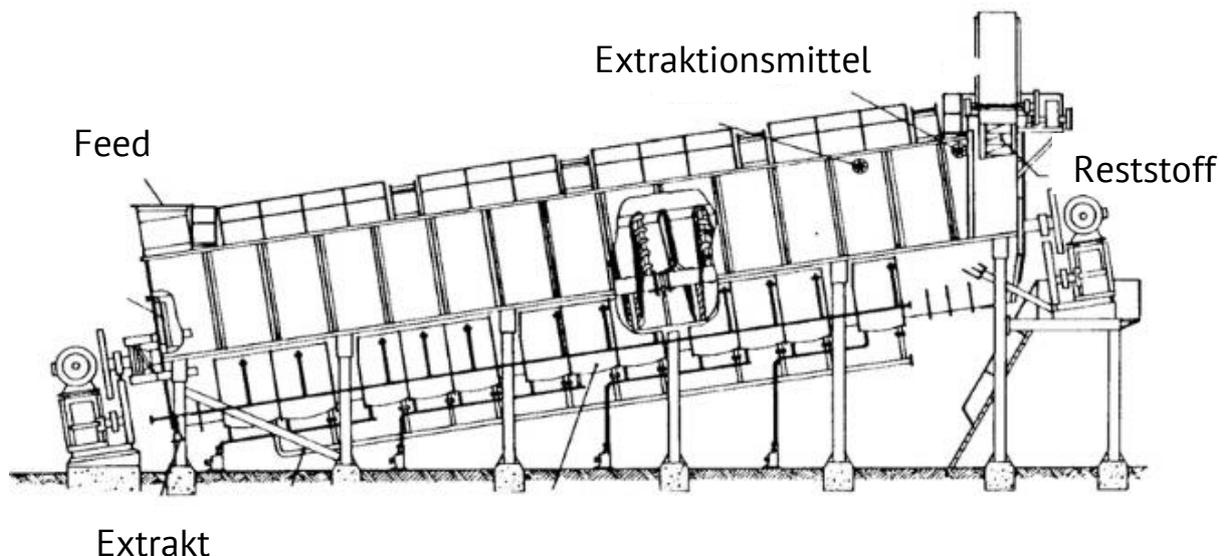


Abbildung 16: Aufbau des großtechnischen Extraktors mit 2 Förderschnecken

Tabelle 2: Auflistung von Herstellern für Extraktionsanlagen

Hersteller	Standorte	Anlagen	Anwendung
BMA Braunschweigische Maschinenbau-anstalt AG	Deutschland	Kontinuierliche Fest-Flüssig-Extraktoren für Zuckerrüben	Produktion
Crown Iron Works	USA	Kontinuierliche Fest-Flüssig-Extraktoren	Produktion
Danco Anlagenbau GmbH	Deutschland	Fest-Flüssig-Extraktionsanlagen	Produktion
De Dietrich Process Systems	Weltweit	Fest-Flüssig-Anlagen mit Durchfluss, mit überflutetem Gefäß oder als Soxhlet-Extraktion	Forschung, Lehre
De Smet	Belgien	Kontinuierliche Fest-Flüssig-Extraktoren	Produktion
DEVEX Verfahrenstechnik GmbH	Deutschland	Mehrstufige Fest-Flüssig-Anlagen	Produktion
EPC Group	Deutschland	Fest-Flüssig-Extraktionsanlagen	Produktion
GEA Niro	Deutschland	Kontinuierliche Fest-Flüssig-Extraktoren	Produktion
Gunt	Deutschland	Mehrstufige Fest-Flüssig-Anlagen	Forschung, Produktion
Harbrug-Freudenberger	Deutschland	Kontinuierliches Fest-Flüssig-Extraktoren	Produktion
Lurgi	Deutschland	Kontinuierliche Fest-Flüssig-Extraktoren	Produktion
Schrader Verfahrenstechnik GmbH	Deutschland	Mehrstufige Fest-Flüssig-Anlagen	Produktion

2.3.1 Charakterisierung des Feststoffes

Zuerst wird der verwendete Feststoff \dot{F} vollständig charakterisiert (Castillo-Santos et al. 2016a). Hierzu kann der Feststoff in nicht extrahierbares Material, extrahierbares Material und Wasser unterteilt werden. Der Wassergehalt des Feststoffs x_{F3} wird bestimmt, indem der Feststoff bis zur Gewichtskonstanz getrocknet wird, so dass der Anteil an Wasser über nachfolgende Gleichung bestimmt werden kann.

$$x_{F3} = \frac{w_{T,A} - w_{T,E}}{w_{T,A}} \quad 36$$

$w_{T,A}$ steht für die Masse des Feststoffs vor der Trocknung, $w_{T,E}$ für die Masse des Feststoffs nach der Trocknung. Der Anteil, der nicht extrahierbaren Stoffe x_{F1} und der extrahierbaren Stoffe x_{F2} wird über ein gemeinsames Verfahren ermittelt. Hierzu wird eine bestimmte Menge an Feststoff so lange extrahiert, bis kein Wertstoff mehr im Extrakt nachweisbar ist. Der Feststoff wird nach dem letzten Extraktionsschritt getrocknet und gewogen. Der Anteil des nicht extrahierbaren Materials wird durch die Gleichung 37 ermittelt.

$$x_{F1} = \frac{w_{L,A}}{w_{L,E}} \quad 37$$

$w_{L,A}$ steht hier für das Gewicht vor dem Extraktionsprozess, $w_{L,E}$ für das Gewicht nach dem Prozess. Da die Summe aller Massenanteile des Pflanzenmaterials den Wert eins ergeben muss, folgt schließlich für die Berechnung des Massenanteils der extrahierbaren Bestandteile x_{F2} des Feststoffs nach Gleichung 38.

$$x_{F2} = 1 - x_{F1} - x_{F3} \quad 38$$

2.3.2 Bestimmung der Gleichgewichtsparameter

Eine Voraussetzung für das Aufstellen des Modells ist die Annahme des eingestellten Gleichgewichts in jeder Stufe. Wichtige Parameter hierfür sind die Gleichgewichtskonstanten sowie die spezifisch zurückgehaltene Lösung \dot{M} (Castillo-Santos et al. 2016a). Zur Bestimmung der Gleichgewichtskonstanten werden einstufige Extraktionen durchgeführt, dabei wird das Verhältnis von Rohmaterial zu Extraktionsmittel variiert. Die Extraktion wird durchgeführt, bis das Extraktionsgleichgewicht erreicht ist. Der feuchte Rückstand \dot{R} wird getrocknet, wobei die

zurückgehaltene Lösung \dot{L} verdampft wird. Der getrocknete Rückstand \dot{D} wird gewogen. Die Bilanzierung des Wertstoffs kann durch die nachfolgende Gleichung beschrieben werden.

$$\dot{E} \cdot x_2 = \dot{F}(x_{F1} + x_{F2}) - \dot{D} \quad 39$$

Der feuchte Rückstand \dot{R} setzt sich gemäß der Gleichung 40 zusammen.

$$\dot{R} = \dot{O} + \dot{L} \quad 40$$

Der getrocknete Rückstand \dot{D} beinhaltet die Feststoffphase \dot{O} , sowie die bereits extrahierten Stoffe, die sich in der im Rückstand zurückgebliebenen Lösung befinden, welche verdampft wurde. Gemäß dem pseudo-Gleichgewicht darf angenommen werden, dass die Lösung, die sich in den Kapillaren des Feststoffs befindet, die gleiche Zusammensetzung x_{E2} hat wie die freie Lösung, welche dem Extrakt entspricht (Sattler 2012). Dieser Zusammenhang findet sich in der Gleichung 41 wieder.

$$\dot{D} = \dot{O} + \dot{L} \cdot x_{E2} \quad 41$$

Die Feststoffphase besteht aus dem nicht extrahierbaren Anteil des Feed $\dot{F} \cdot x_{F1}$ und einem extrahierbaren Anteil $\dot{O} \cdot x_{O2}$, der noch nicht in das Lösungsmittel übergegangen ist.

$$\dot{O} = \dot{F} \cdot x_{F1} + \dot{O} \cdot x_{O2} \quad 42$$

Wird die Gleichung 41 nach O aufgelöst und in Gleichung 40 eingesetzt, folgt die Gleichung 43.

$$\dot{L} = \frac{\dot{R} - \dot{D}}{1 - x_{E2}} \quad 43$$

Durch Experimente sind die im Rückstand befindliche Menge an Lösung \dot{L} , die Masse des feuchten Rückstands \dot{R} sowie die Masse des getrockneten Rückstands \dot{D} gegeben. Durch Umstellen der Gleichung 39 nach x_{E2} kann der Mengenanteil der extrahierten Stoffe im Extrakt bestimmt werden. Dann wird die Feststoffphase \dot{O} des getrockneten Rückstands über die Gleichung 40 bestimmt. Ist dieser Wert bekannt, kann über die Gleichung 41 die zum bereits bestimmten x_{E2} -Wert gehörigen Mengenanteil der noch nicht extrahierten Stoffe in der Feststoffphase x_{O2} ermittelt werden. Die Werte von x_{E2} und x_{O2} , die für verschiedene Feed-Extraktionsmittelverhältnisse bestimmt werden, werden in einem Diagramm aufgetragen. Auf die x -Achse des Diagramms wird x_{O2} aufgetragen, auf die y -Achse der dazugehörige Wert x_{E2} . Die beiden Werte stehen im Gleichgewicht miteinander. Dieses Gleichgewicht kann über verschiedene Ansätze beschrieben werden, so zum Beispiel über das Nernst'sche Verteilungsgesetz, die Langmuir- oder die Freundlich-Isotherme.

Wird der Nernst'sche Verteilungssatz verwendet, wird zur Bestimmung der Gleichgewichtskonstanten eine Ausgleichsgerade durch die bestimmten Datenpunkte gelegt, welche durch den Nullpunkt verläuft. Die Gleichgewichtskonstante K_{eq} entspricht dann der Steigung der Gleichgewichtsgeraden. Für die Darstellung des Gleichgewichts wird eine Gerade gewählt, was bedeutet, dass zwischen x_{O2} und x_{E2} ein linearer Zusammenhang herrscht. Das Gesetz veröffentlichte der Wissenschaftler Werner Hermann Nernst erstmals 1891 und ist der Gleichung 44 zu entnehmen.

$$x_{E2} = K_{eq} \cdot x_{O2} \quad 44$$

Das Gesetz besagt, dass das Verhältnis der Mengenanteile eines Stoffes in zwei nicht ineinander löslichen Phasen für eine bestimmte Temperatur konstant ist. Die bereits beschriebene Ausgleichsgerade stellt daher eine Isotherme dar. Eine Voraussetzung für die Verwendung der Gleichung ist die Gleichheit der Molekulargröße des besagten Stoffes in beiden Phasen (Elias et al. 1992).

Neben dem Nernst'schen Verteilungssatz kann auch die Langmuir-Isotherme zur Beschreibung des Gleichgewichts verwendet werden. Die Isotherme wurde erstmals 1918 von Irving Langmuir beschrieben und es handelt sich um eine nicht-lineare Ausgleichsgerade.

$$x_{E2} = \frac{q_m \cdot x_{O2}}{K_L + x_{O2}} \quad 45$$

Wobei q_m eine empirische Konstante darstellt und K_L die Gleichgewichtskonstante nach Langmuir (Chandrasekhar et al. 2012). Die beiden Parameter werden durch einen passenden Fit ermittelt.

Auch die Freundlich-Isotherme beschreibt das Gleichgewicht. Diese ist nach dem Kolloidchemiker Herbert Max Finlay Freundlich benannt. Bei der Isotherme handelt es sich um eine Ausgleichsgerade, die einer Potenzfunktion folgt.

$$x_{E2} = K_F \cdot x_{O2}^m \quad 46$$

K_F steht für die Gleichgewichtskonstante nach Freundlich, m für eine empirische Konstante. Um zu überprüfen, welche Isotherme das vorhandene Gleichgewicht am besten darstellt, wird die Abweichung der Isotherme zu den Datenpunkten in y -Richtung betrachtet. Die Abweichung X wird berechnet nach Gleichung 47. $x_{E2,Daten}$ entspricht dem durch die experimentellen Bestimmungen berechneten Anteil der extrahierbaren Stoffe im Extrakt, $x_{E2,Isotherme}$ entspricht dem dazugehörigen Anteil, der über die gefittete Isotherme bestimmt wird. Der Parameter n steht für die Anzahl der Datenpunkte.

$$X = \frac{\sum |x_{E2,Isotherme} - x_{E2,Daten}|}{n} \quad 47$$

Neben den Gleichgewichtskonstanten wird auch der Gleichgewichtsparameter \dot{M} benötigt. Dieser beschreibt das im Rückstand zurückgehaltene Lösungsmittel bezogen auf die Menge des nicht extrahierbaren Feststoffs. Dieser kann über die Gleichung 48 dargestellt werden.

$$\dot{M} = \frac{\dot{L}}{\dot{F}x_{F1}} \quad 48$$

Der Wert für \dot{M} wird ebenfalls aus den Daten der einstufigen Extraktionen gewonnen. Dazu wird zunächst \dot{L} über die Gleichung 43 bestimmt. Damit kann \dot{M} berechnet werden, da die Werte von \dot{F} und x_{F1} bereits gegeben sind.

2.3.3 Modifikation der Modellierung

Die Massenbilanzen nach Castillo-Santos et. al. (Castillo-Santos et al. 2016b) werden an eine Kreuzstromextraktion angepasst (siehe Tabelle 3). Mit diesen wird die mehrstufige Extraktion von verschiedenen Pflanzenmaterialien modelliert und die benötigte Menge an Extraktionsmittel bestimmt. Die Genauigkeit der Vorhersage der benötigten Extraktionsmittel wird durch die mittlere relative prozentuale Abweichung der berechneten Extraktionsmittelmengen zu den tatsächlich verwendeten Mengen bewertet.

Tabelle 3: Massenbilanzen für die Kreuzstromextraktion

Zugehörigkeit	Massenbilanz	Gl.
Allgemein	$\dot{R}_{i-1} + \dot{S}_i - \dot{R}_i - \dot{E}_i = 0$	49
Nicht extrahierbar	$\dot{R}_{i-1}x_{Ri-1,1} - \dot{R}_ix_{Ri,1} = 0$	50
Extrahierbar	$\dot{R}_{i-1}x_{Ri-1,2} - \dot{R}_ix_{Ri,2} - \dot{E}_ix_{Ei,2} = 0$	51
Wasser	$\dot{R}_{i-1}x_{Ri-1,3} + \dot{S}_ix_{Si,3} - \dot{R}_ix_{Ri,3} - \dot{E}_ix_{Ei,3} = 0$	52
Ethanol	$\dot{R}_{i-1}x_{Ri-1,4} + \dot{S}_ix_{Si,4} - \dot{R}_ix_{Ri,4} - \dot{E}_ix_{Ei,4} = 0$	53
Rückstand	$\dot{R}_i - \dot{L}_i - \dot{O}_i = 0$	54
Rückstand nicht extrahierbar	$\dot{R}_ix_{Ri,1} - \dot{O}_ix_{Oi,1} = 0$	55
Rückstand extrahierbar	$\dot{R}_ix_{Ri,2} - \dot{O}_ix_{Oi,2} - \dot{L}_ix_{Ei,2} = 0$	56
Rückstand Wasser	$\dot{R}_ix_{Ri,3} - \dot{L}_ix_{Ei,3} = 0$	57
Rückstand Ethanol	$\dot{R}_ix_{Ri,4} - \dot{L}_ix_{Ei,4} = 0$	58
Fester Rückstand	$\dot{O}_i - \dot{F}x_{F1} - \dot{O}_ix_{Oi,2} = 0$	59
Spez. zurückgehaltene Lösung	$\dot{M}(x_{Ei,2}) = \frac{\dot{L}_i}{\dot{F}x_{F1}}$	60
Gleichgewicht	$x_{Ei,2} = f(x_{Oi,2})$	61

Auch hier gilt, dass der eingehende Rückstand \dot{R}_0 dem Feed \dot{F} entspricht. Für $f(x_{Oi,2})$ können die Gleichgewichtsbeziehungen nach Nernst, Langmuir und Freundlich eingesetzt werden. Die Parameter, die vor der Verwendung des Algorithmus bekannt sein müssen, entsprechen denen der Gegenstromextraktion nach Castillo Santos et al. und werden in Anhang A.3. erläutert. Die Menge des eingehenden Feststoffs muss allerdings für alle Stufen bekannt sein, nicht nur für die erste Stufe der Extraktion. Tabelle 4 listet die einzelnen Stufen des Algorithmus für die Kreuzstromextraktion auf.

Tabelle 4: Lösungsalgorithmus für die Kreuzstromextraktion

Stufe	Beschreibung & Gleichung	Formel
1	x_{Oi} berechnen aus 58	$x_{Oi} = \frac{x_{Ei,2}}{f(x_{Ei,2})}$
2	\dot{L}_i berechnen aus 57	$\dot{L}_i = \frac{\dot{F}x_{F1}}{M(x_{Ei,2})}$
3	\dot{O}_i berechnen aus 56	$\dot{O}_i = \frac{\dot{F}x_{F1}}{(1 - x_{Oi,2})}$
4	\dot{R}_i berechnen aus 51	$\dot{R}_i = \dot{L}_i + \dot{O}_i$
5	$x_{Ri,1}$ berechnen aus 47	$x_{Ri,1} = \frac{\dot{F}x_{F1}}{\dot{R}_i}$
6	$x_{Oi,1}$ berechnen aus 52	$x_{Oi,1} = \frac{\dot{R}_i x_{Ri,1}}{\dot{O}_i}$
7	$x_{Ri,2}$ berechnen aus 53	$x_{Ri,2} = \frac{(\dot{L}_i x_{Ei,2} + \dot{O}_i x_{Oi,1})}{\dot{R}_i}$
8	E_i berechnen aus 48	$\dot{E}_i = \frac{(\dot{R}_{i-1} x_{Ri-1,2} - \dot{R}_i x_{Ri,2})}{x_{Ei,2}}$
9	S_i berechnen aus 46	$\dot{S}_i = \dot{R}_i + \dot{E}_i - \dot{R}_i - 1$

Die Berechnung der Parameter $x_{Ei,3}, x_{Ri,3}, x_{Ei,4}, x_{Ri,4}$ erfolgt im Anschluss über die vier Gleichungen 62-65, die ein System aus 4n Gleichungen bilden.

$$x_{Ei,3} = \frac{(\dot{R}_{i-1} x_{Ri-1,3} + \dot{S}_i x_{Si,3})}{(\dot{L}_i + \dot{E}_i)} \quad 62$$

$$x_{Ei,4} = \frac{(\dot{R}_{i-1} x_{Ri-1,4} + \dot{S}_i x_{Si,4})}{(\dot{L}_i + \dot{E}_i)} \quad 63$$

$$x_{Ri,3} = \frac{\dot{L}_i x_{Ei,3}}{\dot{R}_i} \quad 64$$

$$x_{Ri,4} = \frac{\dot{L}_i x_{Ei,4}}{\dot{R}_i} \quad 65$$

Um zu überprüfen, wie gut die Vorhersage der benötigten Extraktionsmittelmenge ist, werden im Vorfeld mehrstufige Extraktionen experimentell durchgeführt und die dabei ermittelten verwendete Menge an Pflanzenmaterial und die bestimmten Werte von $x_{Ei,2}$ werden in die Modellierung eingesetzt. Die berechneten Extraktionsmittelmengen werden nun mit den tatsächlich in den Experimenten eingesetzten Extraktionsmittelmengen verglichen. Dabei ist die mittlere relative prozentuale Abweichung *Abw* der berechneten Mengen von den tatsächlich eingesetzten Mengen ein Maß für die Genauigkeit der Vorhersage der Extraktionsmittelmengen und wird entsprechend der Gleichung 66 berechnet (Kaymak-Ertekin und Sultanoğlu 2001; Boquet et al. 1978; Lomauro et al. 1985).

$$Abw = \frac{100}{n} \cdot \sum_{i=1}^N \frac{|\dot{S}_{i,experimentell} - \dot{S}_{i,berechnet}|}{\dot{S}_{i,experimentell}}$$

66

3. Materialien und Methoden

Im Folgenden werden die Modellpflanzen und ihre Eigenschaften beschrieben sowie auf deren Probenvorbereitung eingegangen. Flüchtige Bestandteile, Wassergehalt, Schüttdichte und Partikelgrößenverteilung zählen zu den wichtigsten Eigenschaften zur verfahrenstechnischen Charakterisierung der Pflanzen. Zur Auswertung und Optimierung der vegetabilen Fest-Flüssig-Extraktionsprozesse wird eine Quantifizierung der Zielsubstanzen mittels instrumentellen Analysemethoden verwendet.

3.1 Verwendete Pflanzen und ihre Eigenschaften

Eine Übersicht über die verwendeten Pflanzen und der darin vorkommenden Zielsubstanzen bietet Tabelle 5.

Tabelle 5: Übersicht der verwendeten Stoffsysteme

Vegetabile Edukte	Rotes Weinlaub	Annattosamen	Holunderbaumrinde
Lateinische Bezeichnung	<i>Vitis vinefera</i>	<i>Bixa orellana</i>	<i>Sambuci cortex</i>
Wirkstoffort	Phyllo	Samen	Periderm
			
Stoffeigenschaften	Weich	Hart	Hart fasrig
Makrostruktur	Flächig	Konisch	Flächig, zylindrisch
Sekundäre Pflanzenstoffe	Polyphenole: Flavonoide Anthocyane	Cis-Bixin, Trans-Bixin (Vitamin E)	Oleanolsäure, Ursolsäure
Extraktionsmittel	Stark polar, pH-Wert	Schwach polar, Unpolar, (Polar)	Stark polar

Vegetabile Edukte	Melisse	Süßholzwurzel
Lateinische Bezeichnung	<i>Melissa officinalis</i>	<i>Glycyrrhiza glabra</i>
Wirkstoffort	Kraut	Wurzel
		
Stoffeigenschaften	Weich	Hart, staubig
Makrostruktur	Flächig	Flächig, holzig
Sekundäre Pflanzenstoffe	Rosmarinsäure, Ätherische Öle	Glycyrrhizinsäure
Extraktionsmittel	Stark polar	Stark polar

Die chemischen Strukturformeln der Zielsubstanzen sind in der folgenden Abbildung 17 zusammengestellt.

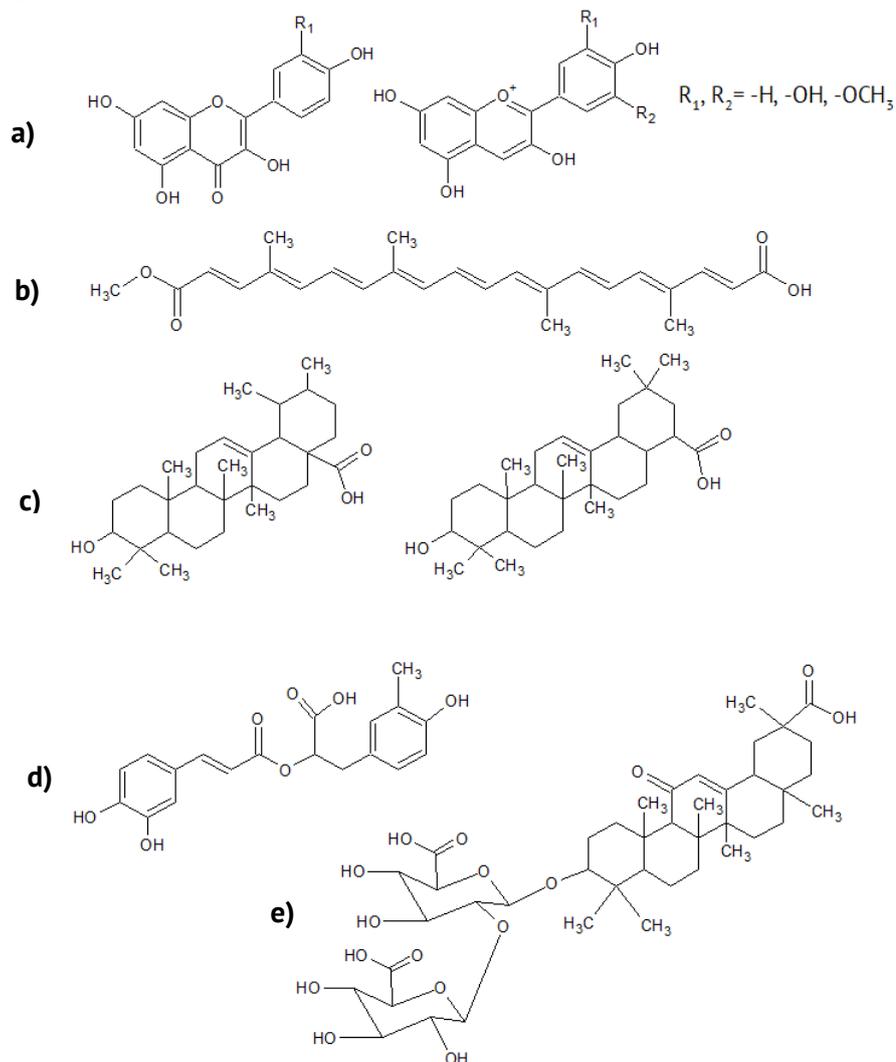


Abbildung 17: Chemische Strukturformeln: a) Flavonoide, Anthocyane b) Bixin c) Ursol- und Oleanolsäure d) Rosmarinsäure e) Glycyrrhizinsäure

Tabelle 6 bietet eine Übersicht verschiedener Stoffdaten der verwendeten Extraktionsmittel.

Tabelle 6: Stoffdaten der verwendeten Extraktionsmittel

Extraktionsmittel	Siedepunkt (°C)	Dichte (gcm⁻³)	Log Kow (-)	Dampfdruck (hPa)	Oberflächen-spannung (mNm⁻¹)	Viskosität (mPas)
Wasser	100	0,9982	-	31	72,75	1,00
Ethanol	78,3	0,7893	-0,31	58	22,55	1,19
Methanol	64,7	0,7914	-0,77	129	22,60	0,59
Aceton	56,0	0,7902	-0,23	246	23,30	0,32
Ethylacetat	77,1	0,9003	0,68	97	24,00	0,44

3.2 Probenvorbereitung und Lagerung des Pflanzenmaterials

Im Folgenden werden die Probenvorbereitung und die Lagerung der verwendeten Pflanzenmaterialien beschrieben.

3.2.1 Rotes Weinlaub

Das Extraktionsgut Rotes Weinlaub (*Vitis vinifera*) wurde von der Firma Böhlinger Ingelheim bereitgestellt und am 03.10.2014 an der Hochschule Geisenheim geerntet. Das Pflanzenmaterial DAKAPO GN7225-8 Deckrot x Portugieser Börner wurde in braunen Schottgläsern gelagert, bzw. ungemessene Proben bei -20 °C im Tiefkühler Siemens AG GS26DN11. Zur extraktiven Verwendung wurde das rote Weinlaub bei T = 75 °C im Trockenschrank Heraeus UT6120 mit Umluft getrocknet sowie mit Mörser und Pistill klein gemahlen.

Zur histologischen Untersuchung und Lokalisation der Polyphenole in rotem Weinlaub wurde aus den Blättern mit einer Rasierklinge ca. 1 cm große, längliche Stücke herausgeschnitten. Diese wurden zur Fixierung in einem Becherglas mit 70 %igem Ethanol über einen längeren Zeitraum eingelegt und anschließend wurden mit Skalpell Dünnschnitte hergestellt. Diese Dünnschnitte wurden in einem Becherglas mit 0,05 % Toluidinblau O-Lösung (Firma VWR International) für 15 Minuten angefärbt (Gutmann 1995; Elwers 2008). Anschließend wurden sie großzügig mit

entionisiertem Wasser abgewaschen. Die angefärbten Dünnschnitte wurden auf einen Objektträger in einen Tropfen Wasser gelegt und mit einem Deckglas verschlossen. Zur Analyse wurde ein Nikon™ Eclipse Ni Fluoreszenzmikroskop verwendet, wobei das Mikroskop über zwei Objektive mit einer Vergrößerung von x10 bzw. x40 verfügt. Abbildung 18 zeigt die mikroskopische Aufnahme der Blattunterseite im Dunkelfeld, so dass die durchsichtigen Teile der Probe vor dem dunklen Hintergrund gut zu untersuchen sind. Die Identifizierung der Blattunterseite lässt sich gut an der deutlichen Spaltöffnung (Stoma) in der linken unteren Ecke erkennen. Die eindeutige dunkle Verfärbungen in vielen der Pflanzenzellen implizieren, dass es sich dabei um kleinere, mit Toluidinblau O angefärbte Polyphenolagglomerationen handelt (Considine und Knox 1979a; Considine und Knox 1979b).

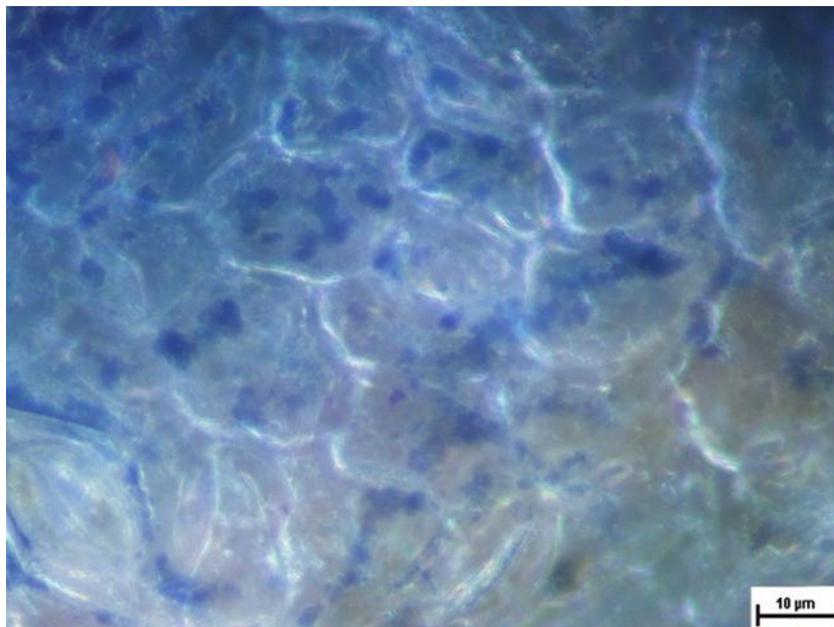


Abbildung 18: Mikroskopische Aufnahme von angefärbtem rotem Weinlaub im Dunkelfeld

3.2.2 Melisse, Süßholzwurzel, Holunderbaumrinde und Annattosamen

Die Pflanzenmaterialien Melisse und Süßholzwurzel wurden von der Firma Steigerwald Arzneimittelwerk GmbH mit einer Partikelgröße von 4 bis 6 mm sowie getrocknet zur Verfügung gestellt. Weitere Fraktionen waren auf eine Partikelgröße von 0,5 mm und 2 mm zerkleinert. Die Holunderrinde wurde bei Naturix24, Dransfeld bestellt und die Annattosamen wurden über Gewürz Mayer, Markthalle Stuttgart bezogen.

3.2.3 Schüttdichte

Die Schüttdichte ist das Verhältnis aus der Masse zu dem eingenommenen Volumen. Die Schüttdichte ist wie folgt definiert:

$$\rho_{sch} = \frac{m_{Pflanzenmaterial}}{V_{Pflanzenmaterial}} \quad 67$$

Die Bestimmung der Schüttdichten erfolgte nach mit der Ergänzungslieferung 2016/2 überarbeiteten DAC-Probe 21, welche an die Schüttdichtebestimmung des Europäischen Arzneibuches angelehnt ist. Hierzu wurde über einen Pulvertrichter eine Pflanzenmenge bis zur 10 mL oder 20 mL Ringmarke des Messzylinders (Western Germany @HERKA; DURAN Germany @Brand) eingefüllt und anschließend die Tara auf der Analysenwaage Sartorius GmbH 1712 ($\pm 0,01$ mg) ausgewogen.

3.2.4 Flüchtige Bestandteile und Wassergehalt

Ein einfaches Essay zur Bestimmung des Wassergehaltes der unterschiedlichen Pflanzenmaterialien wurde eingesetzt: Sechs Gläschen (8 mL Zinsser Analytic GmbH) zur Mehrfachbestimmung wurden mit etwa 1 g Pflanzenmaterial gefüllt und über Nacht bei $T = 75$ °C in den Trockenschrank Heraeus UT6120 mit Umluft gestellt. Das Gewicht der gefüllten Gläschen wird vor der Trocknung und nach der Trocknung auf der Analysenwaage Sartorius GmbH Göttingen 1712 aufgezeichnet. Aus der Gewichts-differenz wird zu einem der Wassergehalt berechnet sowie auch alle flüchtigen Bestandteile bei $T = 75$ °C.

3.2.5 Partikelgrößenverteilung

Zur Messung der Partikelgrößenverteilung steht ein Siebturm Fritsch Analysette 3 PRO zur Verfügung. Die Maschenweite der Siebe beträgt: 200, 450, 630, 1000, 2000 und 4000 μm . Das benötigte Pflanzenmaterial wurde in den Siebturm gegeben und für 10 Minuten bei einer Amplitude von 1,5 gesiebt.

3.3 Analytik der sekundären Pflanzenstoffe

Zur quantitativen Bestimmung der wirkstoffhaltigen Zielsubstanzen diente das UV/Vis-Spektrophotometer UV-mini 1240 Shimadzu Europa GmbH für die Pflanzenmaterialien „Rotes Weinlaub“ und „Annattosamen“ sowie die Hochleistungsflüssigkeitschromatographie Shimadzu Prominence HPLC für die Pflanzenmaterialien Holunderrinde, Melisse und Süßholzwurzel. Die HPLC-Anlage war mit dem Entgaser DGU-20A3, den zwei Pumpen LC-20AD, dem Kommunikationsmodul CBM-20A, dem Autosampler SIL-20AC HT, dem Photodiodenarray SPD-M20A und dem Säulenofen CTO-20AC ausgestattet. Die Kalibrierungen erfolgten jeweils über einen externen Standard und werden in den folgenden Kapiteln beschrieben. Alle Proben wurden vor den Analysen mittels 0,45 µm Spritzenfilters PTFE (VWR International GmbH/ Carl Roth GmbH & Co. KG/Altmann Analytik) filtriert. Alle eingesetzten Eluenten waren in HPLC Qualität. Das entsalzte Wasser wurde der Ionenaustauschanlage Sartorius® arium® Pro entnommen.

3.3.1 Rotes Weinlaub

Zur Quantifizierung der Polyphenole wurde die Folin-Ciocalteu-Methode eingesetzt, die auf dem Protokoll von Ainsworth et al. basiert (Ainsworth und Gillespie 2007). Die Schrittabfolge ist in Tabelle 7 aufgelistet, wobei beispielhaft die Komplexierung der Polyphenole der wässrigen Extrakte aus rotem Weinlaub über die Zeit 0, 1, 5, 10, 15, 30, 60, 90, 120 und 240 min dargestellt ist.

Tabelle 7: Ablauf der Folin-Ciocalteu Methode

Schritt	Beschreibung
1	400 µL des Extraktes in ein leeres Glasfläschen
2	800 µL des 10 %igen Folin-Ciocalteu-Reagenzes (Merck KGaA)
3	2 min intensives Mischen auf dem Vortexer mit 1100 rpm
4	3200 µL 700 mM Natriumcarbonatlösung (Bernd Kraft GmbH)
5	1 h Ruhezeit

Zur Erstellung der Kalibriergerade wurde verschiedene Konzentrationen an Gallussäure (Sigma Aldrich) verwendet und somit der Polyphenolgehalt als Gallussäure-Äquivalente über die Regressionsgerade $y = m \cdot x + b$ berechnet. Die Kalibriergerade ist im Anhang A.1. dargestellt. Die Proben wurden in einer 1 cm Quarzküvette bei der Wellenlänge 765 nm analysiert.

3.3.2 Annattosamen

Quantitative Analysen von Bixin wurden mit Shimadzu UV mini 1240 UV/vis Spektrometer bei den Wellenlängen von 487, 481,5, 455, 453,5 und 425,5 nm durchgeführt (Rahmalia et al. 2014). Für Messungen der Extrakte wurde eine Quarzküvette mit einer Schichtdicke von 1 cm verwendet. Der geschätzte Fehler betrug 1 nm bezogen auf die maximale Bandbreite. Dabei wurde zunächst eine Stammlösung von 50 g/L mit 90 % reinen Bixin der Firma Carbosynth, UK angesetzt. Ausgehend von der Stammlösung wurde eine Verdünnungsreihe von 40, 30, 20 und 10 g/L hergestellt. Mit dem Lambert-Beer Gesetz wurde der Absorptionskoeffizient bestimmt (Swinehart 1962).

3.3.3 Holunderrinde

Zur quantitativen Bestimmung von Ursol- und Oleanolsäure in den Extrakten der Holunderrinde wurde die modulare Shimadzu Prominence HPLC verwendet. Die Parameter der isokratischen HPLC-Methode sind in Tabelle 8 gezeigt. Für die Kalibriergeraden wurden zwei Stammlösungen mit 0,1 mg/mL angesetzt: (1) 70 % Ursolsäure sowie 30 % Oleanolsäure und (2) 99 % Oleanolsäure, dafür wurden jeweils 10 mg der Standards von der Firma Sigma Aldrich in einen 100 mL Schott-Messkolben eingewogen und mit Methanol bis zur Ringmarke aufgefüllt. Ausgehend von den Stammlösungen wurden Verdünnungsreihen mit 0,02, 0,04, 0,06 und 0,08 mg/mL hergestellt. Die Kalibriergeraden für beide Standards sind im Anhang A.1. dargestellt.

Tabelle 8: Parameter der isokratischen HPLC-Methode

Parameter	Beschreibung
Fließgeschwindigkeit	0,8 mL/min
Injektionsvolumen	20 µL
Wellenlänge	210 nm
Temperatur	25 °C
RP-Säule	Waters Sunfire C18 5 µm, 4.6 x 250 nm
Mobile Phase	Methanol-Wasser-Essigsäure-Triethylamin (90:10:0.04:0.02 v/v/v/v)

Die polarste Komponente Oleanolsäure eluiert zuerst von der Säule, gefolgt von der weniger polaren Komponente Ursolsäure. Ein beispielhaftes Chromatogramm, bei dem 3 g Holunderinde in 75 mL Methanol für 120 min bei T = 25 °C extrahiert werden, ist in Abbildung 19 gezeigt.

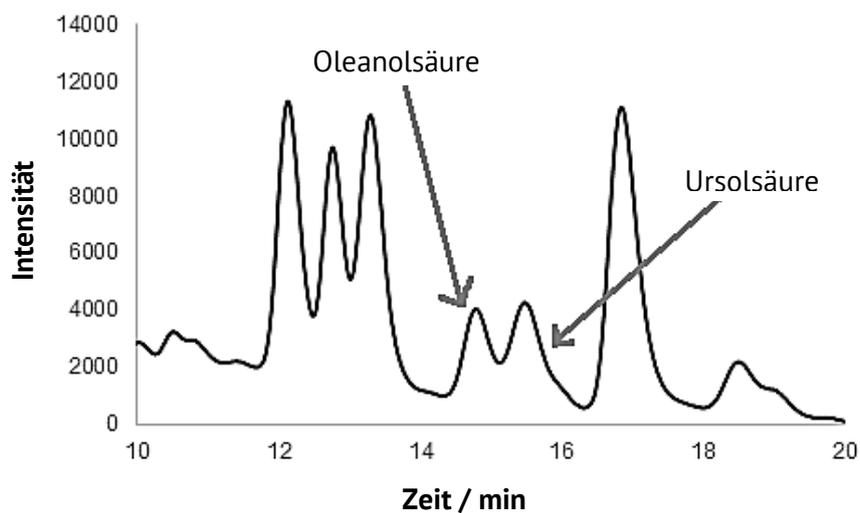


Abbildung 19: HPLC-Chromatogramm zur Trennung von Oleanol- und Ursolsäure

3.3.4 Melisse und Süßholzwurzel

Zur quantitativen Bestimmung der Rosmarinsäure aus den Melisse-Extrakten und der Glycyrrhizinsäure aus den Süßholzwurzel-Extrakten wurde die modulare Shimadzu Prominence HPLC eingesetzt. Die Parameter der Gradienten-HPLC-Methode sind in Tabelle 9 dargestellt.

Ausgehend von einer Stammlösung mit 10 mg Rosmarinsäure (Sigma Aldrich) und 15 mg Glycyrrhizinsäure (CRS Standard), welche in einen 50 mL Schott-Messkolben eingewogen und mit 80 % Methanol bis zur Ringmarke gefüllt wurden, wurden vier Verdünnungen in 10 mL Messkolben angesetzt. Die Kalibriergerade der Form $y = m \cdot x + b$ ist im Anhang A.1. dargestellt.

Tabelle 9: Parameter der Gradienten-HPLC-Methode

Parameter	Beschreibung		
Injektionsvolumen	10 μ L		
Wellenlänge	Rosmarinsäure: 330 nm		
Wellenlänge	Glycyrrhizinsäure: 250 nm		
Temperatur	40 °C		
Säule	Phenomenex Luna 18(2), 3 μ m, 200 x 4.6 mm		
Mobile Phase A	Acetonitril (entgast)		
Mobile Phase B	0,05 M Phosphorsäure (entgast)		
Gradient	0 – 20,1 min	85 % B zu 76 %B	Fluss: 1,0 mL
	20,1 - 30 min	76 % B zu 50 % B	Fluss: 1,0 mL
	30 – 30,1 min	50 % B zu 30 % B	Fluss: 1,0 zu 1,1 mL
	30,1 - 35 min	30 % B	Fluss: 1,1 mL
	35 – 35,1 min	30 % B zu 85 % B	Fluss: 1,1 mL
	35,1 - 40 min	85 % B	Fluss: 1,1 mL
	40 – 40,1 min	85 % B	Fluss: 1,1 zu 1,0 mL
	40,1 - 45 min	85 % B	Fluss: 1,0 mL

3.4 Fest-Flüssig Extraktion: Prozesse und Modelle

Im Folgenden werden das automatisierte Hochdurchsatzsystem Lissy 4G200 der Firma Zinsser Analytics GmbH, der konstruierte Doppelmantelextraktor und die Durchführung der mehrstufigen Fest-Flüssig Extraktionen beschrieben.

3.4.1 Hochdurchsatzsystem Lissy 4G200

Für die mehrstufigen Fest-Flüssig Extraktionen und Aufnahme der Extraktionskinetik kam der Pipettierroboter Lissy 4G200 der Firma Zinsser Analytic GmbH zum Einsatz. Bei diesem Modell handelt es sich um einen Ein-Arm-Roboter. Dieser ist mit vier Zweikanal-Pipettieradeln aus Edelstahl und einem Greifer bestückt. Sowohl der Greifer als auch die Pipettieradeln können sich auf der Arbeitsplattform des Roboters in x, y und z-Richtung bewegen. Die y-Achse des Systems wird dabei durch den Arm repräsentiert. Der Arm selbst kann sich auf der x-Achse des Roboters nach links und rechts bewegen. Auf ihm können sich die Pipettieradeln und der Greifer wiederum nach vorne und hinten in y-Richtung bewegen. Zur Aufnahme von Feststoff oder Flüssigkeiten sowie zum Transport der Vials oder der Racks, kann eine Bewegung des Greifers bzw. der Pipettieradeln in z-Richtung nach unten sowie zurück zur Ausgangsposition erfolge. Die Positionen der Komponenten auf der Arbeitsplattform sind in Abbildung 20 dargestellt und in Tabelle 10 daraufhin aufgelistet.

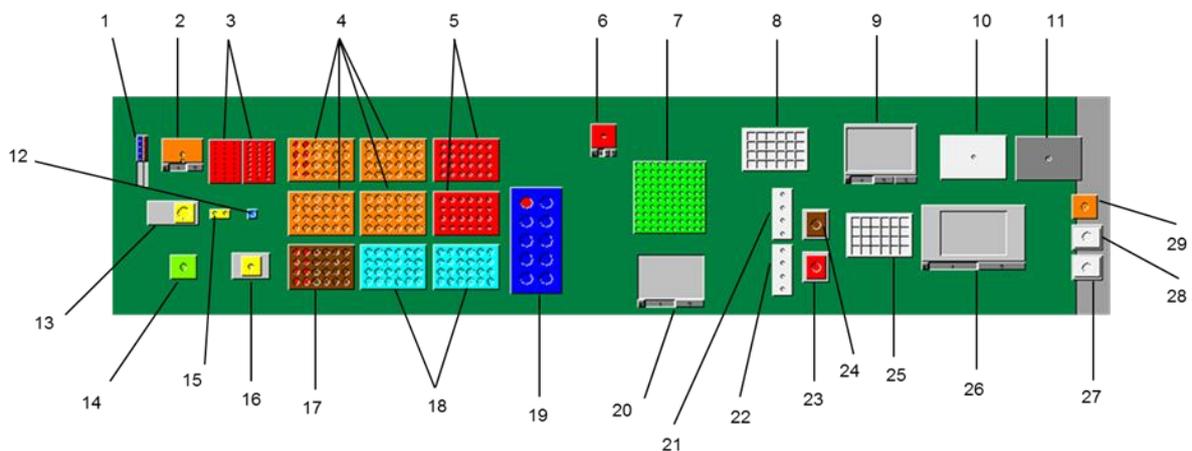


Abbildung 20: MAIN Layout – Darstellung aller Komponenten des Laborroboters

Tabelle 10: Komponenten des automatisierten Hochdurchsatzsystems

Nummer	Komponente
1	Waschstation der Pipettieradeln
2	Tip-Einstell- und Auffangstation
3	Tip-Aufnahmestation
4	Racks für 8 mL Vials
5	Racks für 2 mL Vials
6	Crimper (Verschlusskappen von VWR International GmbH, Darmstadt)
7	Rack für Verschlusskappen
8	Filterplatte (1 μm oder 25-30 μm Maschenweite)
9	Filtrationsstation
10	Abdeckung für Filtration
11	Abdeckung für Schüttler
12	Absaugvorrichtung
13	Feststoffreservoir
14	Wägezelle (5-stellig, Adapter für 8 mL-Vials)
15	Feststoffwippe
16	Feststoffdosierer Redi-Nadel
17	Source-Rack
18	Zentrifugen-Racks (8 mL-Vials)
19	Falcon-Rack
20	Plattenzentrifuge
21	Filtrierstopfen (Spots)
22	Filtrierstopfen (Spots)
23	Greifertool (2 mL-Vials)
24	Greifertool (8 mL-Vials)
25	Filterplatte (1 μm oder 25-30 μm Maschenweite)
26	Temperierter Hochgeschwindigkeitschüttler
27	Parkstation der pH Elektrode (Thermo Scientific)
28	Waschstation der pH Elektrode
29	Titrationstation mit Magnetrührer (pH Messung und Einstellung)

Der im Layout nicht abgebildete Greifer ist von hoher Bedeutung, da dieser den Transport der 2 mL Vials (VWR International GmbH, Darmstadt) und 8 mL Vials (Zinsser Analytics, Frankfurt a. Main), der Verschlusskappen, der Tools sowie der Racks, übernimmt. Die genutzten Racks sind je nach Einsatzbereich aus Kunststoff oder Metall und weisen jeweils 24 Vialpositionen auf. Zu den Tools zählen die mit der Vakuumpumpe (Vacuubrand GmbH+ Co KG, Wertheim) verbundene Redi-Nadel, die zur Aufnahme des Feststoffes aus dem Feststoffreservoir je mit einem Teflon Tip bestückt wird und die pH-Mikroelektrode (VWR International GmbH, Darmstadt). Im Feststoffvorratsbehälter sollte eine minimale Füllhöhe von 1 cm vorliegen, sodass eine effektive

Aufnahme gewährleistet wird. Das Falcon-Rack (A. Hartenstein GmbH, Würzburg) bietet Platz für 10 konische Falcons (Zentrifugenbehälter der Firma VWR International GmbH, Darmstadt) mit einem Innendurchmesser von 2,7 cm und einem Volumen von 50 mL.

Die Pipettieradeln besitzen sowohl einen inneren als auch einen äußeren Kanal. Zum exakten Transferieren von Flüssigkeiten wird der innere Kanal verwendet, wohingegen der äußere Kanal nur bei der Probenverdünnung mit einer beliebigen Flüssigkeit zum Einsatz kommt. Wie zuvor erwähnt, können diese Nadeln in z-Richtung unabhängig voneinander bewegt werden. Der Flüssigkeitssensor an der Spitze einer Pipettieradeln, kann den Flüssigkeitsspiegel einer elektrisch leitfähigen Flüssigkeit im entsprechenden Behälter anhand von Leitfähigkeitsänderungen detektieren und erlaubt die Berechnung der Eindringtiefe der Pipettieradel. Durch den geringen Kontakt zwischen Nadel und Flüssigkeit, wird die Kontamination der Nadeln auf ein Minimum beschränkt. Zudem ermöglicht das Detektieren der Leitfähigkeitsänderung auch ein Nachfahren der Pipettieradel während der Flüssigkeitsaufnahme. Die sich in der Waschstation befindenden Pipettieradeln sind in Abbildung 21 a) gezeigt.

Die vorhandene Ixion Zentrifuge (Zinsser Analytic GmbH) ist auf das Zentrifugieren der beiden Kunststoff Racks für 8 mL Vials ausgelegt. Bei der Anwendung ist die gleichmäßige Gewichtsverteilung sowohl in Bezug auf den Füllstand der Fläschchen als auch auf deren Positionierung im Rack zu beachten. Die zulässige Geschwindigkeit der Zentrifuge liegt zwischen 500 und 4000 rpm.

Beim Hochgeschwindigkeitsschüttler (Zinsser Analytic GmbH) handelt es sich um einen Orbitalschüttler, der mit einem Thermostat (Huber) zur Temperaturregelung verbunden ist. Dieser besitzt eine maximale Drehzahl von 1800 rpm. Wobei darauf geachtet werden muss, dass ab einer Drehzahl von 1200 rpm die Auflage des Rackdeckels und dessen pneumatische Verriegelung durch die Hub-Schwenk-Zylinder beim Schütteln gewährleistet werden.

Für die Filtration stehen zwei Arten der Filterplatten zur Verfügung, beide mit einem Plattenmaterial aus natürlichem Polypropylen und ausgelegt für ein Probenvolumen bis zu 10 mL. Der Unterschied liegt im Filtermaterial und in der Maschenweite. Die eine Möglichkeit besteht im Nutzen des Filtermaterials Polytetrafluorethylen (PTFE) mit einer Maschenweite von 1 μm . Eine andere Möglichkeit bietet das Filtermaterial aus *meltblown* Polypropylen mit einer Maschenweite von 25-30 μm . Bei der *meltblown*-Technologie handelt es sich um ein Verfahren zur Herstellung sehr feiner Fasern und somit einem hoch abscheidender Filtermedium (Podgórski et al. 2006). Die Filtration an sich verläuft mittels Filtrationsdruck, wobei die Filterstopfen, die sich je auf der Spitze der Pipettieradeln befinden abdichtend auf die Filterkammern gepresst und mit Druckluft durchströmt werden. Dieser Schritt ist als Momentaufnahme in Abbildung 21 b) dargestellt. Bei der parallelen Nutzung von zwei Filterstopfen ist zu beachten, dass aufgrund der Stopfengröße keine benachbarten Nadeln genutzt werden können, sondern entweder Nadel 1 und 3 oder Nadel 2 und 4.

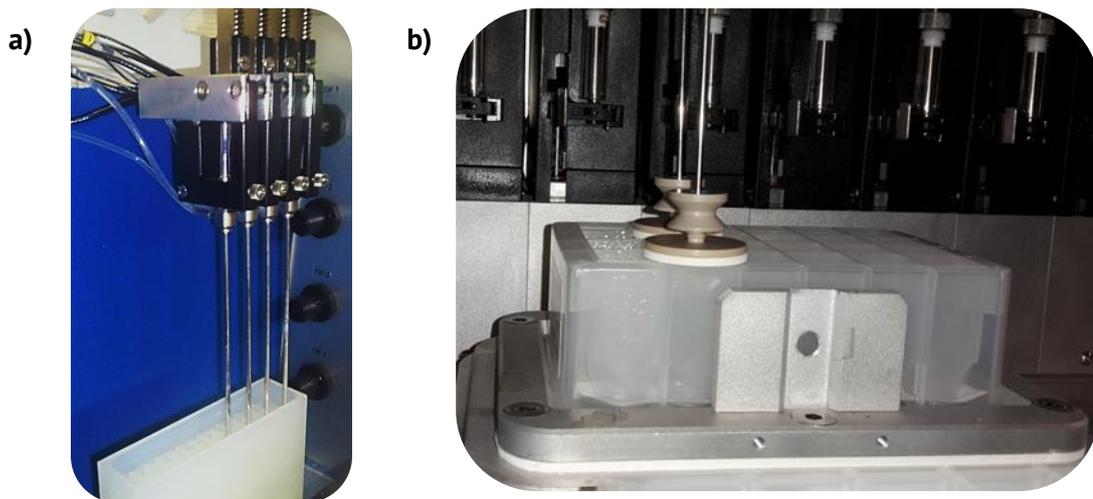


Abbildung 21: a) Ausgangsposition der Pipettieradeln b) Momentaufnahme der Filtration

Zur WinLissy Software zählen die Anwendungen ZADesigner, ZALayouter und ZARunner. Bei allen drei Programmen handelt es sich um die Softwareversion 8.0.3. Der ZADesigner wird verwendet, um Methoden für individuelle Anforderungen zu erstellen oder bestehende Methoden entsprechend anzupassen. Dies ist unter dem Punkt Method Design. Eine Methode besteht dabei aus mehreren Schritten, die wiederum Pipettierschritte oder Aktionen wie bspw. eine Greiferbewegung enthalten können. Zudem können Liquid Handling-Parameter, die die methodenbezogene Handhabung der Flüssigkeiten ermöglichen, geändert oder erstellt werden. Zu beachten ist, dass nur Methoden, deren Layouts zuvor als MAIN gekennzeichnet wurden, ausführbar sind. Weiterhin ermöglicht der ZADesigner unter dem Punkt Run Method die Simulation der auszuführenden Methode. Dies dient vor allem dem Vorbeugen von Komplikationen während der tatsächlichen Durchführung und ermöglicht eine kurze Visualisierung. Unter dem Punkt Import Design ermöglicht das Programm den Import von Daten. Als Datenquelle können Text- oder Excel-Dateien sowie Microsoft Access- oder SQL Data Base Tabellen genutzt werden. Von zentraler Bedeutung ist hier auch der Variablen-Import, der die exakte Zuordnung realer Daten aus den Quelldateien zu den in der Methode verwendeten Variablen ermöglicht. Die definierten Variablen sind Platzhalter, die dazu befähigen Positionen abzufragen, aber auch Rechnungen mit Zahlenwerten aus der Importdatei durchzuführen.

Zweck des ZALayouters ist die Erstellung oder Anpassung verwendeter Layouts in den Methoden, aber auch die Durchführung von Modultests z.B. der Motoren oder Sensoren. Beim Layout selbst handelt es sich um eine individuell angepasste Konfiguration in Form einer zweidimensionalen virtuellen Arbeitsplattform des Roboters. Dieses enthält Informationen über die Eigenschaften der Komponenten wie Größe und Anzahl. Mit Hilfe des Programmes können Positionen z.B. für die Lagerung von Vials oder das Pipettieren durch genaue Angaben der Abmessungen spezifiziert werden.

Der ZARunner wird genutzt um bereits bestehende Methoden auszuführen. Hierbei muss anfangs die durchzuführende Aktion gewählt werden. Es besteht erstens die Möglichkeit aus der Liste aller ausführbaren Methoden die gewünschte auszuwählen und zu starten. Die zweite Möglichkeit besteht in der Wiederholung der vorherigen Methode. Bei Auswahl der dritten Möglichkeit, werden die Pipettiernadeln und das Spritzensystem in der Waschstation sowohl innen als auch außen gespült. Als Spülflüssigkeit wird destilliertes Wasser verwendet. Eine Initialisierung des Systems, d.h. Rückbewegung aller Geräte in ihre Ausgangsposition, stellt die vierte Möglichkeit dar. Hierbei sollte darauf geachtet werden, dass die freie Bewegung des Arms nicht durch Hindernisse eingeschränkt wird. Wird eine Bewegung verhindert, kommt es aus Sicherheitsgründen zur Unterbrechung der Methode und zur Anzeige einer Fehlermeldung. Ein Beispiel hierfür ist ein sich im Greifer befindliches Werkzeug oder Rack. Zudem ist es möglich mit Hilfe des STOP-Buttons eine Durchführung zu unterbrechen bzw. endgültig zu stoppen. Diese zur Systemsoftware zählenden Programme werden durch ein Programm zur Erstellung von Datenbankanwendung, dem Turbo DB Studio, ergänzt. Dieses wird zum Erstellen und Verknüpfen von Datentabellen genutzt sowie um SQL (Structured Query Language) Abfragen auszuführen. Die sogenannten SQL Statements werden dabei zunächst im ZADesigner unter dem Reiter Display Design erstellt und können im Verlauf der Methode vom ZARunner umgesetzt werden.

3.4.2 Doppelmantelextraktor

Die Experimente erfolgen in einem 1 L Doppelmantelextraktor mit aufgeflasschem Drei-Wege Deckel. Für eine Mazeration werden alle zwei Öffnungen mit Stopfen verschlossen und die dritte Öffnung zur Aufnahme von Temperaturmessungen genutzt. Bei der Immersion wird durch den mittleren Schliff im Deckel eine Rührerwelle mit Rührwerk RW 20 DZM Janke & Kunkel Ika-Werk geführt, an der unten statt einem Blattrührer ein Siebkorb angeschweißt ist. Die beiden verbleibenden Öffnungen werden mit Stopfen verschlossen oder eine Öffnung zur Messung der Temperatur genutzt (siehe Abbildung 22 a). Für die Perkolation wird ein Verteiler durch den mittleren Schliff des Drei-Wege Deckels befestigt und eine der beiden verbleibenden Öffnungen wird zur Temperatureaufnahme verwendet, die andere Öffnung wird mit Stopfen verschlossen. Das Extraktionsmittel wird mittels Pumpe der Firma Gather Industrie umgewälzt (vergleiche Abbildung 22 b). Das Austreten von Extrakt wird durch eine Dichtung, welche zwischen dem Extraktor und dem Deckel eingeklemmt wird, verhindert. Der Extraktor ist über den Doppelmantel, der mittels Umwälzthermostat Haake f3 /Haake S betrieben wird, temperierbar. Der Innendurchmesser des Doppelmantelextraktors beträgt 80 mm und die Länge 200 mm, daraus folgt ein Volumen von etwa 1 L. Um das Extraktionsgut zurückhalten, wird ein Siebkorb sowohl für den diskontinuierlichen Betrieb mit oder ohne Blattrührer als auch für den kontinuierlichen Betrieb mit dem Durchmesser 78 mm und einer Länge von 180 mm in den

Extraktor gestellt (siehe Abbildung 22 c). Eine Erweiterung der Anlage ist die Verwendung eines drehenden Siebkorbs, wobei die Rührwelle an den Boden, welcher durch Streben gestärkt wurde, festgeschweißt ist.

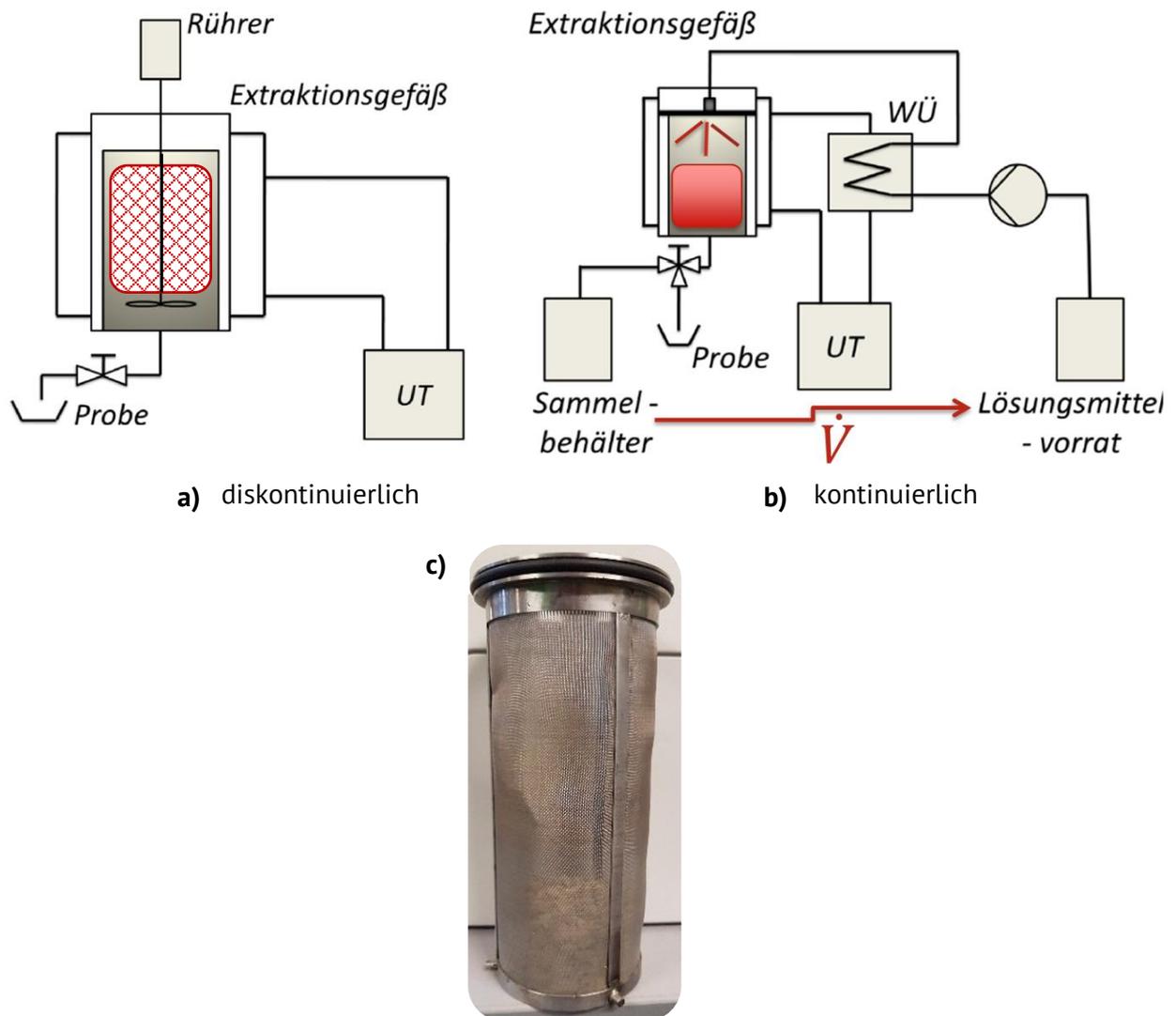


Abbildung 22: Verfahrensschemata des Doppelmantelextraktors: a) diskontinuierlich mit Blattrührer oder drehendem Siebkorb; b) kontinuierlich mit Verteiler über dem Festbett und Umwälzpumpe \dot{V} ; UT Umwälzthermostat; WÜ Wärmeübertrager c) Siebkorb mit Dichtungsring und Stützen

3.4.3 Durchführung der mehrstufigen Fest-Flüssig Extraktionen

Im Folgenden werden die verwendeten Methoden zur Bestimmung der Feststoffzusammensetzung und der Gleichgewichtsparameter als auch der Modellierung des mehrstufigen Kreuzstromextraktionsprozesses aufgezeigt.

Zunächst wird die Feststoffzusammensetzung bestimmt. Dazu wird ein vierstufiger Kreuzstromextraktionsprozess durchgeführt. Es wird davon ausgegangen, dass das gesamte extrahierbare Material während der vier Extraktionen in das Extrakt übergeht. Im Experiment werden für jede Pflanze sechs Proben untersucht. Rotes Weinlaub wird mit einer Partikelgröße kleiner 2 mm verwendet, Süßholz mit einer Partikelgröße kleiner 0,5 mm und Melisse mit einer Partikelgröße kleiner 6 mm. Als Ausgangsmaterial dient jeweils 1 g Pflanzenmaterial, das im Falle von rotem Weinlaub und Süßholzwurzel mit 10 mL Extraktionsmittel versetzt wird, im Falle der Melisse mit 30 mL Extraktionsmittel. Als Extraktionsmittel dient ein Gemisch aus Ethanol und Wasser im Verhältnis 30:70. Die Extraktion verläuft über einen Zeitraum von 24 h. Danach wird das Gefäß zentrifugiert und das Extrakt von dem feuchten Rückstand abgetrennt. Der Rückstand wird erneut mit Extraktionsmittel versetzt. Bei rotem Weinlaub und Süßholzwurzel wird 10 mL Extraktionsmittel dazugegeben, zur Melisse 15 mL. Dieses Verfahren wird insgesamt viermal durchgeführt. Der feuchte Rückstand der vierten Stufe wird bei 75 °C in einem Trockenschrank gelagert und bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

Zur Bestimmung der Gleichgewichtsparameter werden 18 Proben untersucht, von jeder Pflanze sechs. Die verwendeten Mengen an Pflanzenmaterial, Partikelgrößen und Mengen Extraktionsmittel sind der Tabelle 11 zu entnehmen. Im ersten Schritt werden das abgewogene Pflanzenmaterial und das abgemessene Extraktionsmittel in einem Falcon zusammengegeben. Dann erfolgt die Extraktion über eine Dauer von 24 Stunden. Nach dieser Zeit wird das Falcon zentrifugiert. Dann wird das Extrakt von dem Rückstand über eine Einmalspritze abgetrennt. Das Extrakt als auch der Rückstand werden gewogen. Der Rückstand wird in einen Trockenschrank gegeben und bei 75 °C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

Tabelle 11: Schema der Experimente zur Bestimmung der Gleichgewichtsparameter

Probe	Pflanzenmaterial	\dot{F} / mm	\dot{S} / mL
1-3	Rotes Weinlaub	1	10
4-6	Rotes Weinlaub	3	20
7-9	Süßholzwurzel	1	10
10-12	Süßholzwurzel	3	10
13-15	Melisse	1	30
16-18	Melisse	2	30

Die Modellierung der Extraktion erfolgt mit Daten von dreistufigen Extraktionen, die mit dem Laborroboter Lissy 4G200 der Firma Zinsser Analytic GmbH durchgeführt wurden. Die daraus verwendeten Daten werden in Tabelle 12 gezeigt. Für das rote Weinlaub wurde ein Feed \dot{F} von 84,57 mg sowie für die Melisse von 105,15 mg verwendet.

Tabelle 12: Vorgegebene Daten zur Modellierung

		Rotes Weinlaub	Melisse
Feed	x_{F1}	0,65	0,51
	x_{F2}	0,30	0,42
	x_{F3}	0,05	0,07
	x_{F4}	0	0
Extrakt	$x_{Ei,1}$	0	0
	$x_{E1,2}$	$1,47 \cdot 10^{-2}$	$1,96 \cdot 10^{-2}$
	$x_{E2,2}$	$3,75 \cdot 10^{-3}$	$6,07 \cdot 10^{-3}$
	$x_{E3,2}$	$9,49 \cdot 10^{-4}$	$1,83 \cdot 10^{-3}$
Extraktionsmittel	$x_{Si,1}$	0	0
	$x_{Si,2}$	0	0
	$x_{Si,3}$	0,7	0,7
	$x_{Si,4}$	0,3	0,3

Mit Hilfe dieser Daten werden die benötigten Extraktionsmittelmengen berechnet und mit den in den Experimenten eingesetzten Extraktionsmittel verglichen.

3.5 Alternative Prozesskonzepte

Als alternative Prozesskonzepte wurden die Ultraschall-, Mikrowellen- und Hochspannungsimpuls-unterstützte Extraktionstechnologien verwendet. Für die Ultraschallsonde 75043 von Bioblock Scientific (Ilkirch, Frankreich) mit einer Leistung bis zu 750 W, Frequenz von 20 kHz und Spannung von 230 V wurde ein angepasstes Extraktionsgefäß mit definierten Volumen verwendet. Die Temperatur im Extraktionsgefäß wurde mit Hilfe eines PT-100, welcher an den Datenlogger Almemo angeschlossen und kalibriert wurde, überwacht. Das Extraktionsgut wurde mit einem Magnetrührer ohne das Ansaugen von Luft vermischt. Um die Temperatur zu regulieren, wurde ein doppelwandiges Extraktionsgefäß benutzt. Die Ultraschallsonde ist in Abbildung 23 a) abgebildet. Um die Ultraschallsonde auf die Erzeugung von Kavitationsblasen zu testen, wurde eine handelsübliche Aluminiumfolie in das Extraktionsgefäß gegeben und nach dem Vorgang auf den Grad der Zerstörung überprüft. Der Mikrowellenofen war ein MW 4000 HLL Landgraf (Langenhangen, Deutschland) mit einer Kapazität von 220-240 V, 50/60 Hz und bis zu

1500 W, siehe Abbildung 23 b). Die Mikrowelle war gekoppelt mit einem Jumo quantrol LC 100 Thermometer zur Regelung der Temperatur and war mit einem Magnetrührer ausgestattet. In den Mikrowellenraum wurde ein angepasstes Extraktionsgefäß eingebracht. Zusätzlich zur Steuerung der Temperatur wurde die Leistung der Mikrowelle geregelt. Die Anlage zur Erzeugung der Hochspannungsimpulse bestand aus den folgenden Komponenten: Hochspannungsgenerator TREK 610 C, Impulsgenerator Hameg 8035, Schmitt-Trigger-Schaltung mit Einstellung verschiedener Modi, Hochspannungsschalter mit Kondensator und Oszilloskop D1010 von Siemens, siehe Abbildung 23 c). Das Oszilloskop diente zur Einstellung und Überwachung der über den Kondensator entladenen Hochspannungsimpulse, welche über Plattenelektroden in das Extraktionsgefäß abgegeben wurden. Die technische Dokumentation und Betriebsanweisung für die Hochspannungsimpulsanlage befinden sich im Anhang A.2.

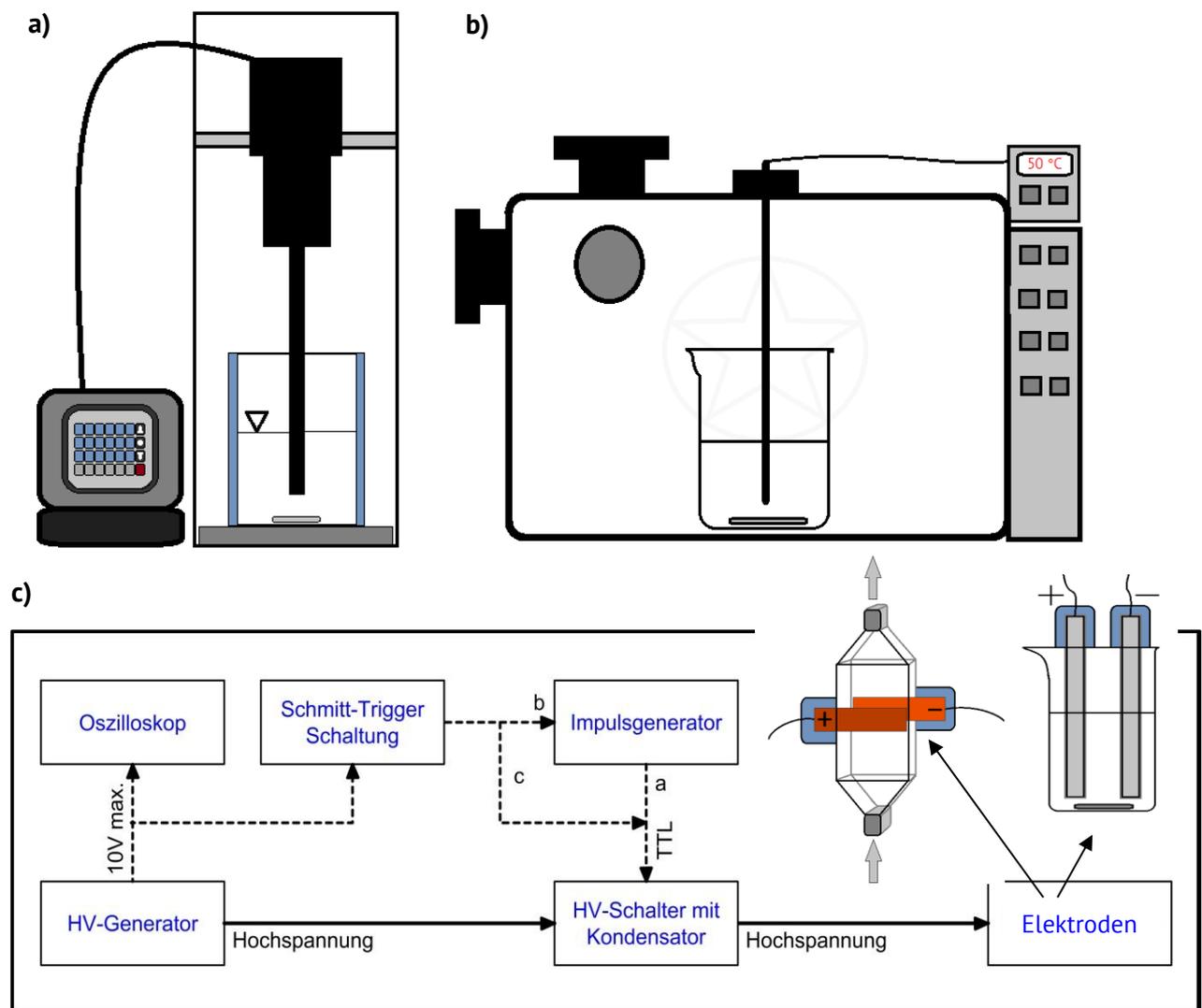


Abbildung 23: a) Aufbau der Ultraschallsonde mit Steuereinheit; b) Mikrowellenofen mit steuerbarem PT 100; c) Verbindungsplan der Hochspannungsimpulsanlage

3.6 Totalgehalt und Ausbeute

Mittels von erschöpfenden Extraktionen wird der Totalgehalt c_{total} des jeweils betrachteten Wirkstoffes bestimmt. Hierbei ist X_W die Beladung des Pflanzenmaterials mit dem jeweiligen Wirkstoff, c_{total} die Konzentration des Wirkstoffes im Extrakt, $V_{Extrakt}$ das Volumen des Extraktes und $m_{Pflanze}$ die Menge des eingesetzten trockenen Pflanzenmaterials. Ist die Extraktion nicht erschöpfend, wird zur Berechnung der Beladung X_i die Konzentration c_t des Wirkstoffes zum Zeitpunkt t verwendet.

$$X_W = \frac{c_{total} V_{Extrakt}}{m_{Pflanze}} \text{ bzw. } X_i = \frac{c_t V_{Extrakt}}{m_{Pflanze}} \quad 68$$

Wird im weiteren Verlauf von Ausbeute gesprochen, so bezieht sich dieser immer auf den maximal möglichen Totalgehalt.

$$Y_W = \frac{X_i}{X_W} \cdot 100 \% \quad 69$$

3.7 Fehlerbetrachtung

Aus mindestens fünf Mehrfachbestimmungen wird aufgrund der repräsentativ-nivellierenden Mittelung das arithmetische Mittel \bar{x} bestimmt:

$$\bar{x} = \frac{1}{n} (x_1 + x_2 + \dots + x_n) = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i \quad 70$$

Durch die gemittelte Abweichung vom Mittelwert wird die Streuung metrischer Daten angegeben und die Fehlerbalken an den Ergebnissen ergeben sich aus der Standardabweichung s , die praktisch gleich der positiven Quadratwurzel aus dem Mittelwert der quadrierten Abweichungen vom Mittelwert ist:

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \quad 71$$

Zur Darstellung des $\bar{x} \pm s$ -Bereichs auf der y -Achse wird das Fehlerbalkendiagramm gewählt, um Mittelwerte aus verschiedenen Stichproben oder zu unterschiedlichen Zeitpunkten sehr übersichtlich vergleichend gegenüber zu stellen (Hedderich und Sachs 2018).

4. Ergebnisse und Diskussion

Im ersten Ergebnisteil wird der Einfluss der mikrowellen-, ultraschall- sowie hochspannungsimpuls-unterstützten Extraktionstechnologie auf den Extraktionsprozess mit den Pflanzenmaterialien, welche unterschiedliche physikalische, chemische und biologische Eigenschaften aufweisen, sorgfältig überprüft. Prinzipiell wurden Bemühungen angestellt, die Frage zu erörtern, welche Extraktionstechnologie in den Bezug auf die unterschiedlichen Pflanzenmaterialien sowie verwendeten Extraktionsmittel die Ausbeute bzw. den Umsatz erhöht und den Stofftransport beschleunigt. Zur Auswertung wird die Bestimmung der temperaturabhängigen Gleichgewichtskonstanten und der temperaturabhängigen Diffusionskoeffizienten hinzugezogen.

4.1 Einstufige Pflanzenextraktionen

Zuerst werden die Stoffeigenschaften, wie die Schüttdichte, den Wassergehalt und die Partikelgrößenverteilung der ausgewählten Pflanzenmaterialien sowie der Einfluss des Extraktionsmittels und des Phasenverhältnisses während der Extraktion zur Charakterisierung analysiert.

4.1.1 Schüttdichte des Pflanzenmaterials

Die Schüttdichte der Holunderrinde ist mit einem Wert über 1 g mL^{-1} am größten. Dies ist darauf zurückzuführen, dass Holunderrinde neben dem staubigen Anteil und den flachen Plättchen sehr lange zylinderförmige sowie stäbchenartige Splitter aufweist. Diese lassen größer ausgeprägtes Hohlvolumen entstehen, warum eine hohe Schüttdichte erreicht wird. Die ganzen Annattosamen liegen um zweidrittel darunter, da diese konisch rund mit einer Durchschnittslänge von 4,36 mm geformt sind. Die übrigen blättrigen Pflanzenmaterialien mit

unterschiedlichen Partikelgrößen schwanken um eine Schüttgutedichte von etwa $0,2 \text{ g mL}^{-1}$, wobei die Schüttgutedichte von der Süßholzwurzel dagegen leicht erhöht ist. Die Partikelform der Süßholzwurzel zeigt im Gegensatz zur Holunderrinde keine stäbchenförmigen Splitter, sondern ist von flachen sowie länglichen Plättchen geprägt. Die Schüttgutedichte für die verschiedenen Pflanzenmaterialien ist in Abbildung 24 aufgetragen.

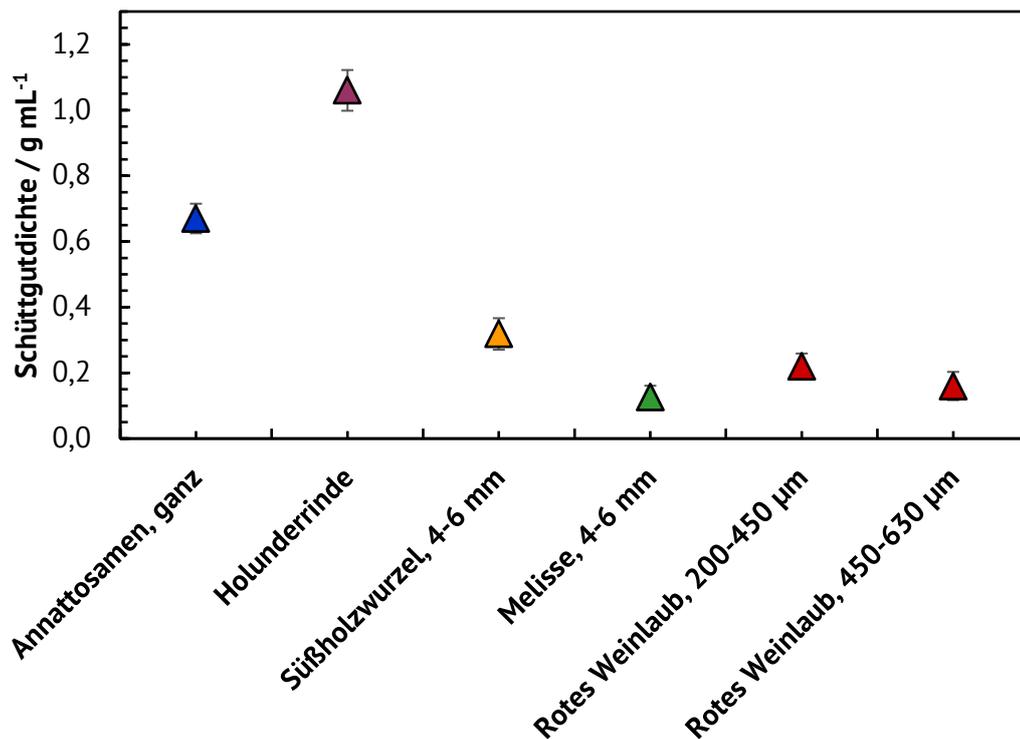


Abbildung 24: Auftragung der Schüttgutedichte für die ausgewählten Pflanzenmaterialien mit unterschiedlichen Partikelgrößen

4.1.2 Einfluss der flüchtigen Bestandteile und des Wassergehaltes

Der Anteil an flüchtigen Bestandteilen wie auch Wasser, das größtenteils in den Vakuolen der Pflanzenzellen gelagert und gebunden ist, ist bei dem geernteten roten Weinlaube in Bezug auf das getrocknete rote Weinlaub mit $78,9 \text{ mg}$ am größten. Ist das rote Weinlaub bereits vorgetrocknet, verlieren ungefähr $1,0 \text{ g}$ rotes Weinlaub im Schnitt 55 mg an flüchtigen Bestandteilen bei einer Temperatur von $T = 75 \text{ °C}$ über eine Zeitspanne von $t = 24 \text{ h}$ im Trockenschrank. Die Melisse mit einer durchschnittlichen Partikelgröße von 4 bis 6 mm war zuvor

getrocknet, so dass der Anteil der flüchtigen Bestandteile mit 53 mg wie das getrocknete rote Weinlaub ausfällt. Bei den holzartigen Pflanzenmaterialien Süßholzwurzel und Holunderrinde sowie bei den Annattosamen machen die flüchtigen Bestandteile auch einen Anteil von etwa 4 bis 8 % aus, siehe Abbildung 25. Liegen trockene oder getrocknete Pflanzenmaterialien vor, ist der Anteil an flüchtigen Bestandteilen im Schnitt mit 6 ± 2 % gleich groß.

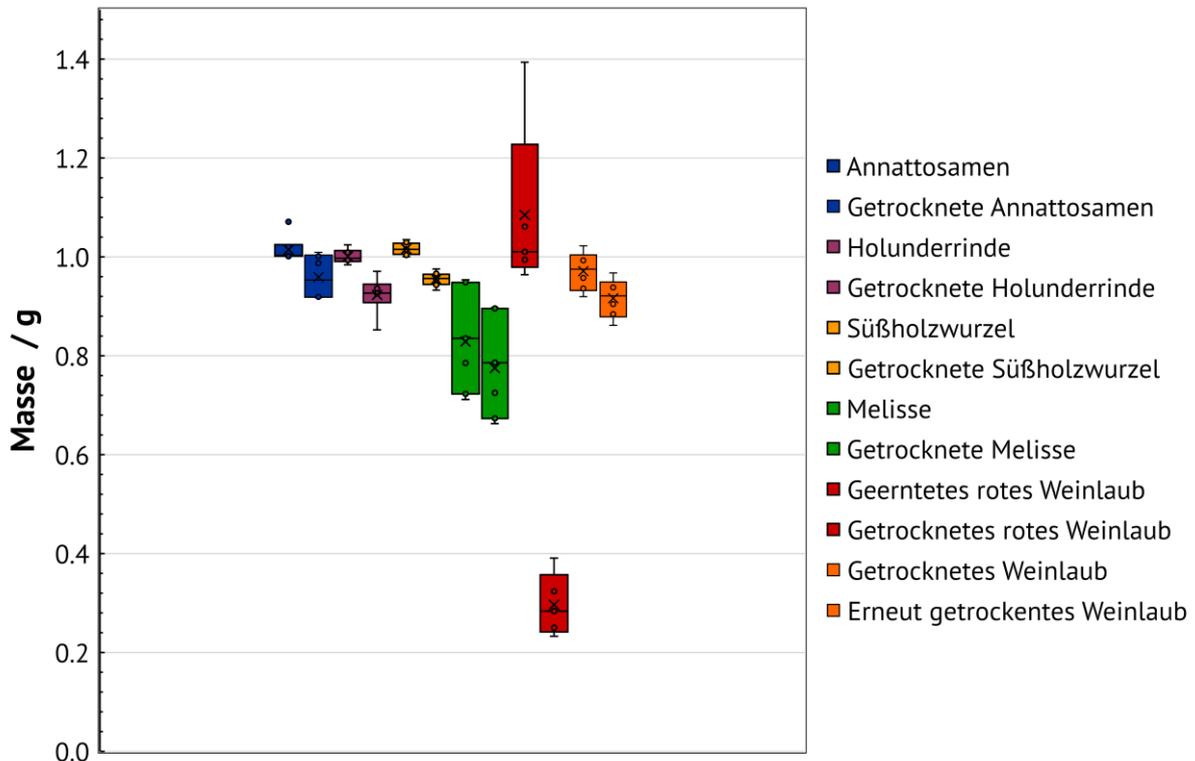


Abbildung 25: Bestimmung des Gewichts vor und nach der Trocknung im Trockenschrank bei $T=75$ °C ($t=24$ h) von etwa 1 g Pflanzenmaterial

4.1.3 Verteilung der Partikelgröße

Bei den blättrigen Pflanzenmaterialien rotes Weinlaub und Melisse ergeben sich verschiedene Partikelgrößenverteilungen. Bei rotem Weinlaub liegen die Partikelklassen 1000 μm und 2000 μm am meisten vor. Im Gegensatz zu Melisse, wo die Partikelklassen 1000 μm , 2000 μm und 4000 μm am höchsten vertreten sind (siehe Abbildung 26). Aufgrund der Staubbildung bei den holzigen Pflanzenmaterialien ist es nicht möglich, eine Partikelgrößenverteilung für die Süßholzwurzel und die Holunderbaumrinde mittels Rüttelsiebe anzugeben. Die Annattosamen liegen mit einer Durchschnittslänge von 4,36 mm vor.

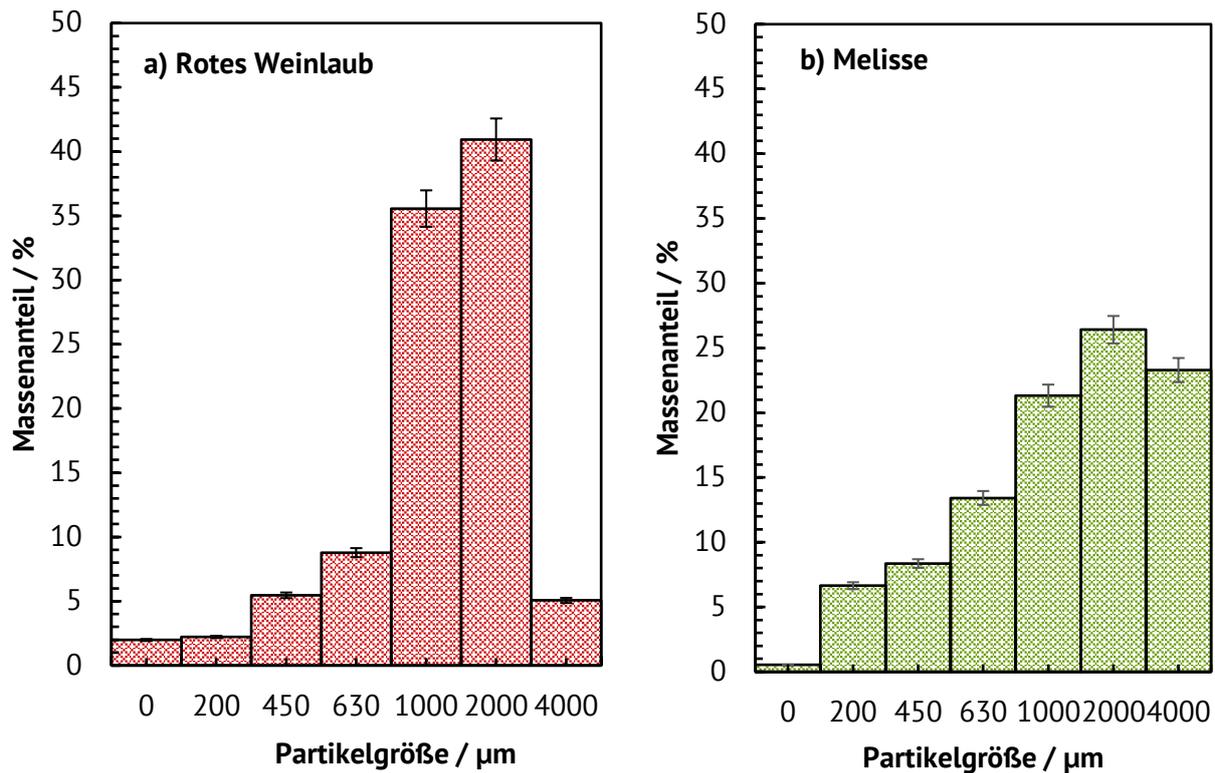


Abbildung 26: Partikelgrößenverteilung der blättrigen Pflanzenmaterialien: Rotes Weinlaub a) und Melisse b)

4.1.4 Einfluss des Extraktionsmittels

Bixin aus den Annattosamen löst sich besser in Ethylacetat als in Aceton. Ursol- und Oleanolsäure sind am höchsten in Methanol nachweisbar. In Ethanol sinkt die Löslichkeit um die Hälfte und in Wasser sind Ursol- und Oleanolsäure aus der Holunderrinde unter der Detektionsgrenze (siehe Abbildung 27). Beim roten Weinlaub lösen sich die Polyphenole am besten auch in Methanol, aber im Gegensatz zu Ursol- und Oleanolsäure folgt danach als weiteres effektives Lösungsmittel Wasser sowie die Löslichkeit sinkt weiter für Ethanol (siehe Abbildung 27). Des Weiteren ist ersichtlich, dass sich für die kleinste Partikelgröße < 200 µm jeweils das höchste Gleichgewicht einstellt und für die höchste Partikelgröße 450 bis 630 µm im Vergleich dazu ein niedriges Gleichgewicht erreicht wird. Für die beiden Pflanzenmaterialien Melisse und Süßholzwurzel wurden keine weiteren Extraktionsmittel außer Wasser:Ethanol im Mischungsverhältnis 70:30 v/v getestet.

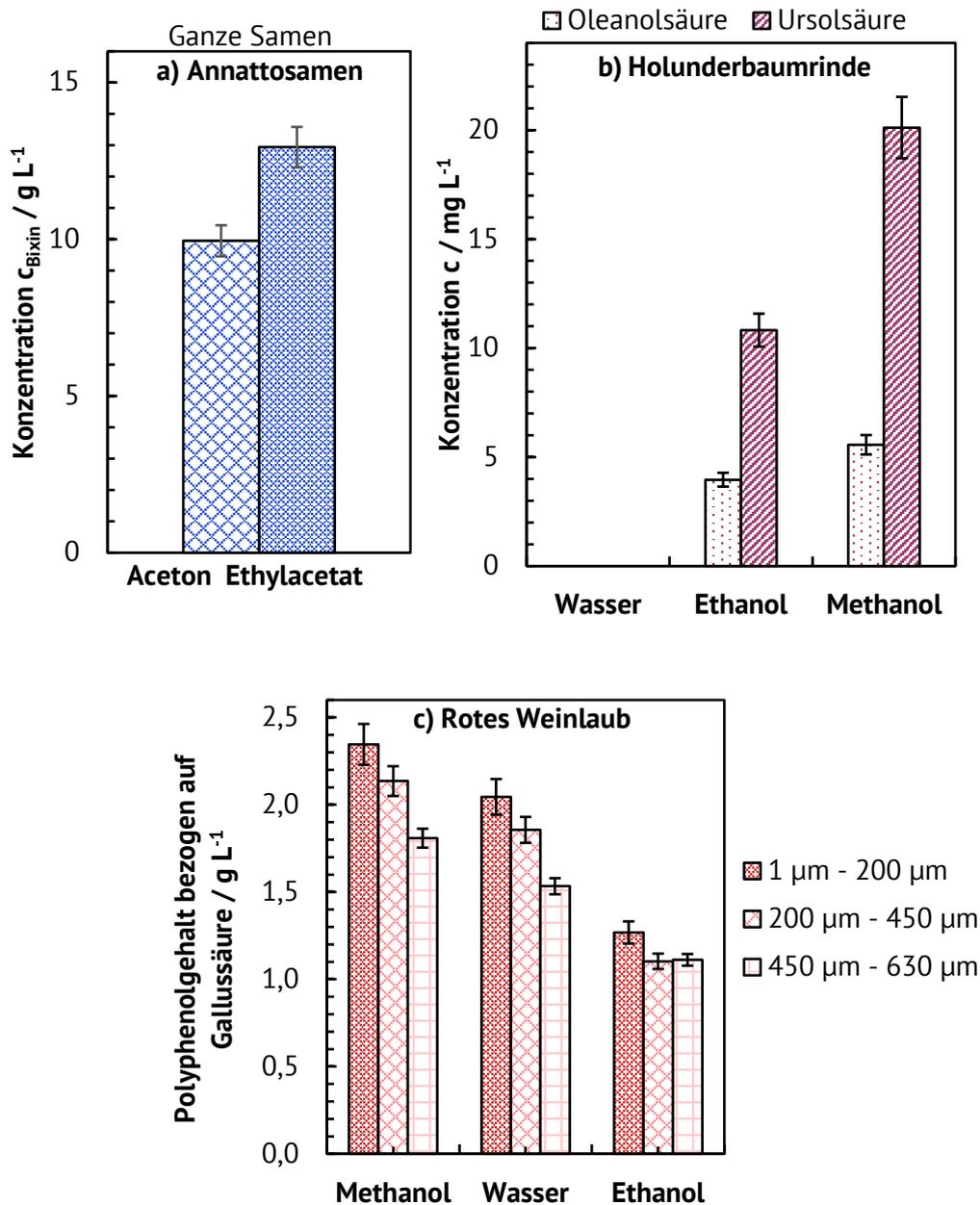


Abbildung 27: Einfluss des Extraktionsmittels auf die Konzentration von Bixin aus Annattosamen extrahiert a); Oleanol- und Ursolsäure aus Holunderrinde extrahiert b); in Bezug auf die Partikelgröße sowie auf die Konzentration der Polyphenole aus rotem Weinlaub extrahiert c)

4.1.5 Einfluss des Phasenverhältnisses

Bei den Auswertungen zum Einfluss des Extraktionsmittels zu Pflanzenmengenverhältnis sind zwei unterschiedliche Ergebnisse entstanden. Das erste Ergebnis zeigt, dass bei den drei

Pflanzenmaterialien: Annattosamen, Holunderrinde und Melisse das Extraktionsmittel zu Pflanzenmengenverhältnis konstant bleibt, wobei bei aus den Annattosamen extrahiertes Bixin kleiner als $0,05 \text{ L g}^{-1}$ die Sättigung erreicht ist (siehe Abbildung 28).

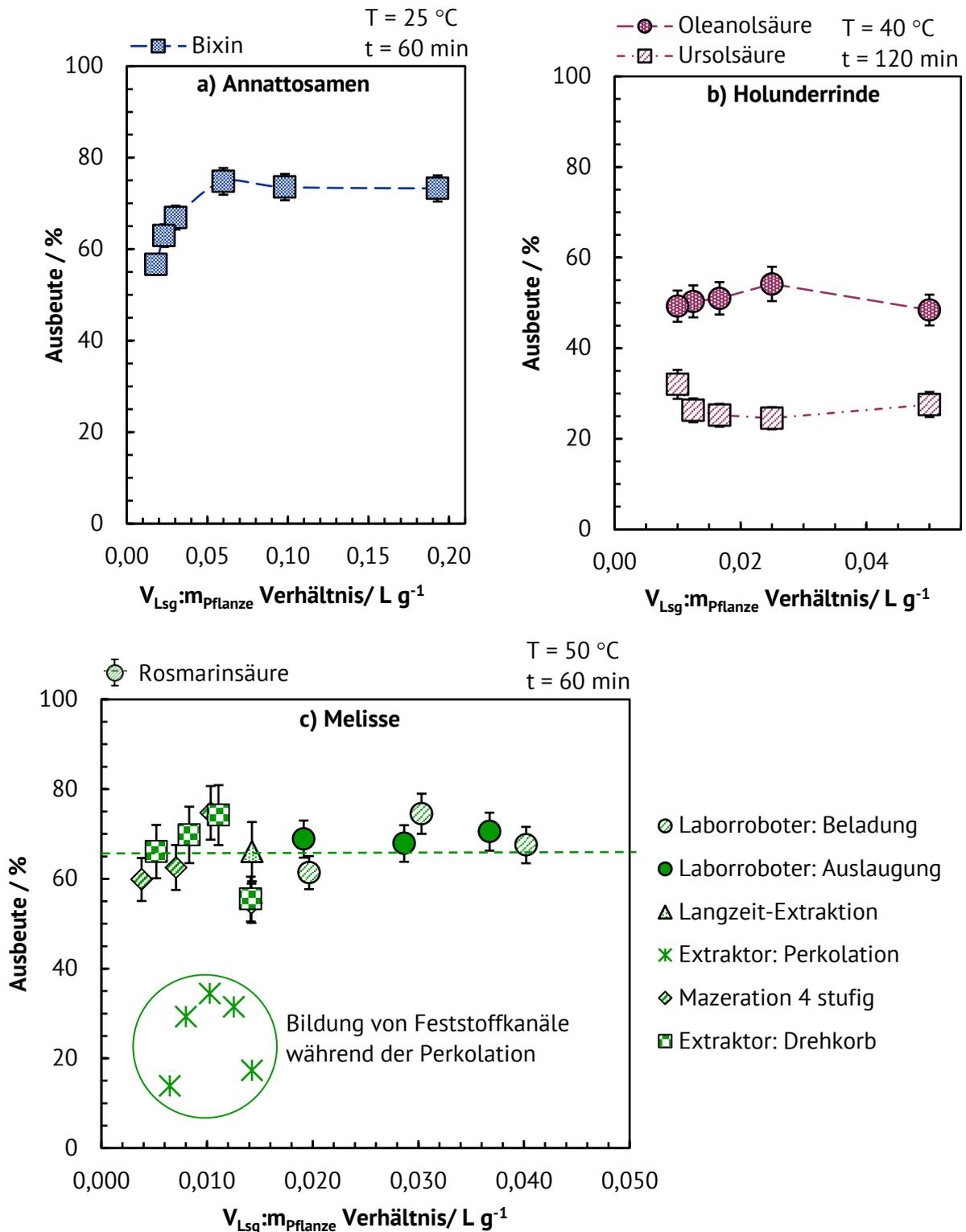


Abbildung 28: Einfluss des Extraktionsmittel zu Pflanzenmengenverhältnis bei der Extraktion von Bixin aus Annattosamen a); Oleanol- und Ursolsäure aus Holunderrinde b); Rosmarinsäure aus Melisse c)

Im Gegensatz dazu steigt bei den beiden Pflanzenmaterialien: Süßholzwurzel und rotes Weinlaub das Extraktionsmittel zu Pflanzenmengenverhältnis linear an (siehe Abbildung 29).

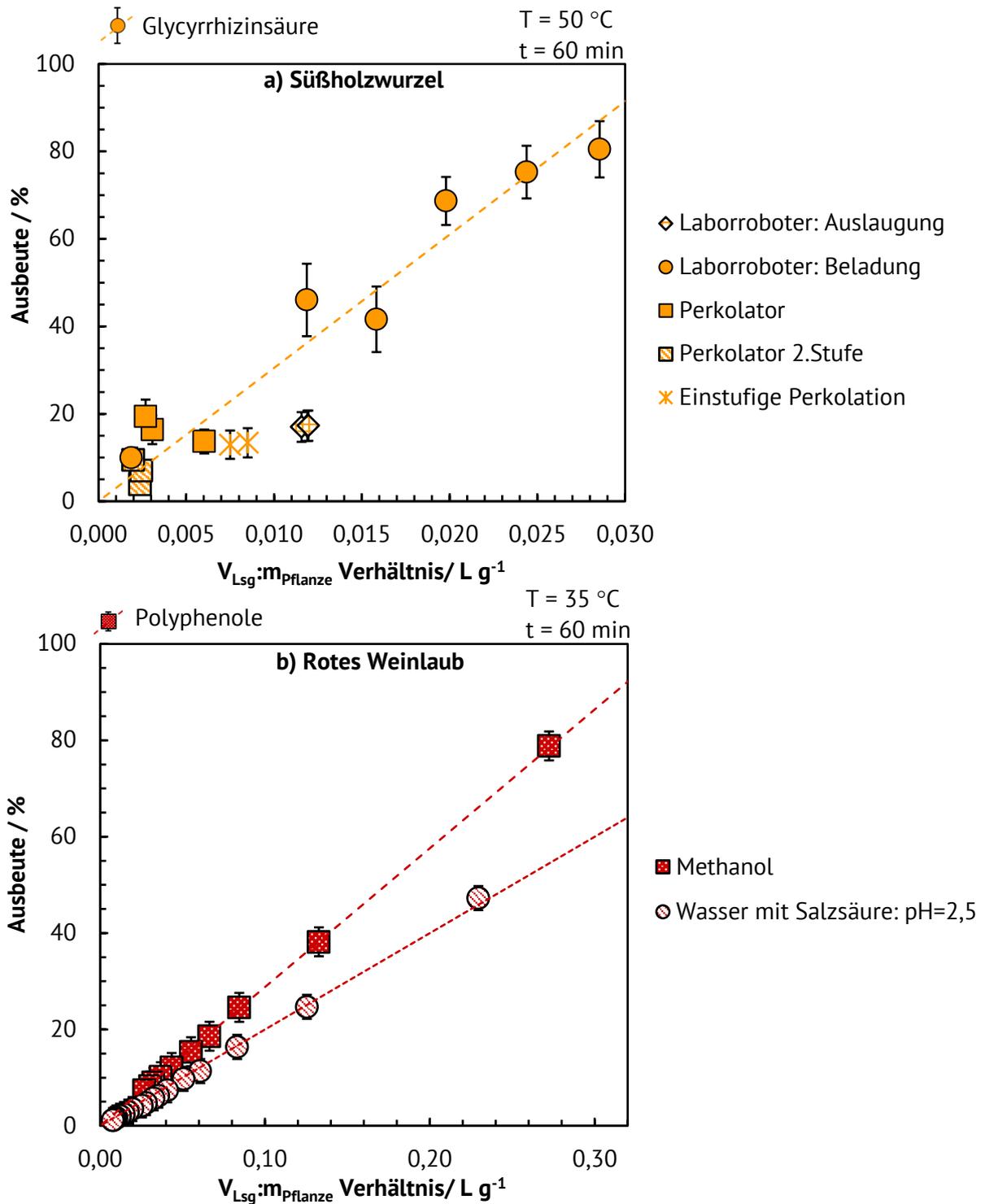


Abbildung 29: Einfluss des Extraktionsmittel zu Pflanzenmengenverhältnis von Glycyrrhizinsäure aus Süßholzwurzel a); Polyphenolen aus roten Weinlaubblättern (Partikelgröße 200-450 µm) mit verschiedenen Extraktionsmittel bei T = 35 °C und t = 60 min b)

Tabelle 13 zeigt die Zusammenfassung der ermittelten Eigenschaften in Bezug auf die unterschiedlichen Pflanzenmaterialien.

Tabelle 13: Zusammenstellung der vegetabilen Eigenschaften

Eigenschaften	Rotes Weinlaub	Annatto-samen	Holunder-rinde	Melisse	Süßholz-wurzel
Schüttgutdichte	0,2 mg L ⁻¹	0,7 mg L ⁻¹	1,1 mg L ⁻¹	0,1 mg L ⁻¹	0,3 mg L ⁻¹
Flüchtige Bestandteile	6 ± 2 %	6 ± 2 %	6 ± 2 %	6 ± 2 %	6 ± 2 %
Partikelgrößenverteilung	1000 µm 2000 µm	Ø l = 4,36 mm	Nicht verfügbar	1000 bis 4000 µm	Nicht verfügbar
Extraktionsmittel	Wasser/HCl pH=2,5	Ethylacetat	Ethanol	Wasser & Ethanol	Wasser & Ethanol
Phasenverhältnis	Linear	Konstant	Konstant	Konstant	Linear

4.2 Alternative Prozesskonzepte

Um den Einfluss auf die Extraktion, während dem Einsatz der alternative Prozesskonzepte zu verstehen, wird zuerst der Temperaturverlauf über die Zeit in der Extraktionssuspension vermessen. Für die Pflanzenmaterialien: Rotes Weinlaub, Holunderbaumrinde und Annattosamen wird der jeweilige Betriebsparameter der alternativen Prozesskonzepte variiert, um das Optimum an Ausbeute zu finden. Da das Extraktionsmittel für Holunderbaumrinde Ethanol und für Annattosamen Ethylacetat ist, kann aufgrund von Überschlügen keine Hochspannungsimpulsbehandlung erfolgen. Aus diesem Grund sind auch keine Mischungen aus Alkohol und Wasser für das Extraktionsmittel, bei denen der Alkoholgehalt höher als 20 % liegt, zu empfehlen. Nach der vergleichenden Zusammenstellung aller alternativen Prozesskonzepte wird die Bestimmung der Geschwindigkeitskonstanten diskutiert.

4.2.1 Einfluss der Temperatur

Beim Einsatz von alternativen Prozesskonzepte wurde der Temperaturverlauf über die Zeit in der Extraktionssuspension mittels Temperaturfühler Pt100 analysiert. Erfolgt der Energieeintrag durch Mikrowellen in das Extraktionsgut, lässt sich die Temperatur durch eine Steuerung der Leistung im Durchschnitt über einen Zeitraum von 150 min. sehr gut konstant

halten. Nichtsdestotrotz ist bei einer hohen Leistung von $P = 800 \text{ W}$ Hotspots zu messen, die sich negativ auf die Ausbeute der Extraktion auswirken können. Wird eine kleinere Leistung gewählt, entstehen keine Hotspots (siehe Abbildung 30 a). Bei der Verwendung von Ultraschallwellen mit der Amplitude von $45,6 \mu\text{m}$ und der Frequenz von 20 kHz , wobei Kavitationsblasen auftreten, ist ein starker Anstieg der Temperatur um $\Delta T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$ innerhalb von 50 min. zu messen. Um einen weiteren Anstieg der Temperatur zu vermeiden, muss die Wärme abgeführt werden. Mit dem Gebrauch eines Doppelmantels kann die Temperatur z.B. $T = 40 \pm 10 \text{ }^\circ\text{C}$ relativ konstant gehalten werden (siehe Abbildung 30 b). Ein anderes Bild zeigt sich bei dem Einsatz von Hochspannungsimpulsen auf die Extraktionssuspension. Bei einem elektrischen Feld $E = 1,7 \frac{\text{kV}}{\text{cm}}$ stieg die Temperatur langsam um $\Delta T = 5 \text{ }^\circ\text{C}$ in einem Zeitraum von 120 min. an. Im Gegensatz dazu ändert sich die Temperatur bei einem höheren elektrischen Feld $E = 3,3 \frac{\text{kV}}{\text{cm}}$ um $\Delta T = 14 \text{ }^\circ\text{C}$ (siehe Abbildung 30 c).

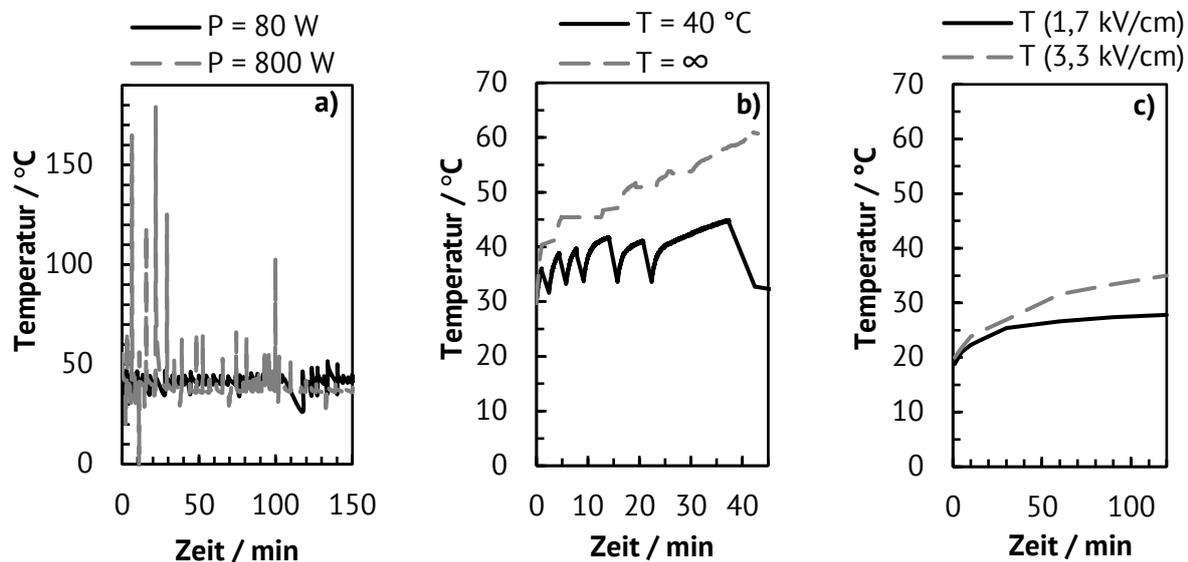


Abbildung 30: Änderung der Temperatur während der Mikrowellenunterstützten Extraktion a); Ultraschallunterstützten Extraktion b); Hochspannungsimpulsunterstützten Extraktion c)

4.2.2 Optimierung der alternativen Prozesskonzepte

Aus der Extraktionskinetik ist ersichtlich, dass die höchste Ausbeute an Polyphenolen aus rotem Weinlaub bei einer Extraktionstemperatur von ca. $50 \text{ }^\circ\text{C}$ bis $55 \text{ }^\circ\text{C}$ nach 60 min. erzielt werden kann. Bis zu dieser Temperatur steigt die Ausbeute mit steigender Extraktionstemperatur und bleibt bei einer Temperatur ab $50 \text{ }^\circ\text{C}$ konstant. Zudem lässt die Extraktionskinetik bei den

hohen Temperaturen einen sehr steilen anfänglichen Anstieg sowie ein schnelles Erreichen des pseudo-Gleichgewichtszustandes erkennen. Anhand der Ergebnisse ist zu schlussfolgern, dass eine Erhöhung der Temperatur die Effizienz der Ausbeute erhöht und gleichzeitig zu einer zeitlichen Verkürzung führt. Diese Erkenntnis wird ebenfalls durch die Literatur unterstützt. So verzeichnet die Studie von Türker et al. ebenfalls bei zunehmender Temperatur eine Konzentrationszunahme (Türker und Erdogdu 2006). Dies stützt er auf die Förderung der Löslichkeit der untersuchten Anthocyane bei Erhöhung der Temperatur. Auch die Studie von Franco et al. unterstützt die erzielten Ergebnisse (Franco et al. 2008). Dieser betrachtete die Extraktion von Polyphenolen aus Traubentrester mit Wasser bei einer Temperatur von 25°C und 50°C. Dabei wurde bei einer Temperatur von 50°C nach 90 min eine über 80 % höher Konzentration als bei einer Temperatur von 25°C verzeichnet (Franco et al. 2008). Die Tendenz dieser Studienergebnisse ist vergleichbar mit den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit. Denn hier wurde mit einer Temperatur von 55°C im Vergleich zur Extraktion bei 30°C nach 90 min eine um 20 % höhere Ausbeute erzielt. Die Temperatur kann jedoch nicht beliebig erhöht werden, da besonders die Anthocyane thermisch sehr instabil sind (Türker und Erdogdu 2006). Eine solche Beobachtung machten auch Cissé et al. in ihrer Studie zur Extraktion von Anthocyanen aus Roselle, afrikanische Malve (Cissé et al. 2012). Bei ihren Extraktionsversuchen zeigte sich ebenfalls oberhalb einer Extraktionstemperatur von 60°C eine starke Abnahme der Extraktkonzentration, die auf die Schädigung der Anthocyane zurückgeführt wird. Es zeigt sich somit, dass die Temperatur von ca. 50 °C den besten Kompromiss zwischen Förderung der Löslichkeit und Vermeidung der Polyphenoldegradation darstellt.

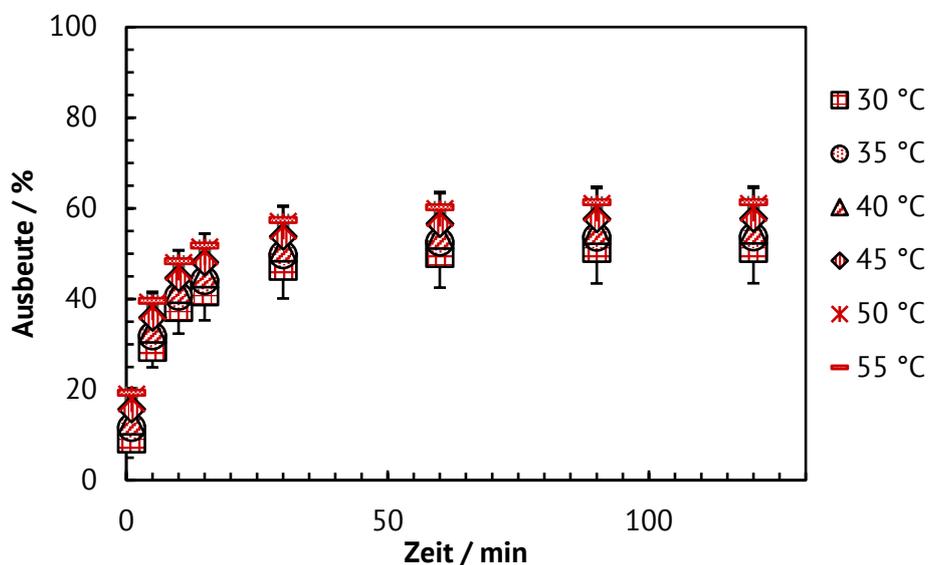


Abbildung 31: Erhöhung der Extraktionstemperatur zur Gewinnung von Polyphenolen aus rotem Weinlaub

Für das Einsatzgut „Rotes Weinlaub“ wurde der Einfluss der Amplitude auf die Effizienz der Ultraschallunterstützten Extraktion, die Variation der Leistung bei der Mikrowellenunterstützten Extraktion sowie die Bedeutung der elektrischen Feldstärke untersucht. Es zeigt sich, dass eine Steigerung der Amplitude um 10 % sich auch die Ausbeute um 10 % von 68,5 % auf 78,1 % bei festgesetzter Temperatur erhöht (siehe Abbildung 32 a). Ummat et al. (Ummat et al. 2020) untersuchten die Auswirkung der Frequenz während der durch Ultraschall unterstützten Extraktion auf die Ausbeute von Polyphenolen aus braunem Seegrass und stellten fest, dass eine Frequenz von 35 kHz bessere Ergebnisse als eine Frequenz von 130 kHz erzeugt. Zusätzlich zur Frequenz testeten Oroian et al. den Einfluss der Amplitude auf die Ultraschallbehandlung zur Gewinnung von Polyphenolen aus Blütenstaub (Oroian et al. 2020), wobei eine Erhöhung der Amplitude (20 %, 60 %, 100 %) die Ausbeute erheblich steigerte. In detaillierteren Studien zeigte eine zu hohe Amplitude kombiniert mit langen Extraktionszeiten aufgrund der zu hohen Temperaturen und Oxidationen eine Degradation der Polyphenole (Luque de Castro et al. 2011; Elez Garofulić et al. 2018). Während der durch Mikrowellen unterstützte Extraktion entwickelte sich die Ausbeute an Polyphenolen bei der Variation der Leistung von 73,3 % bei $P = 80 \text{ W}$ auf 84,6 % bei $P = 800 \text{ W}$ (vergleiche Abbildung 32 b). Dagegen dokumentierten Bia et al. (Bai et al. 2010) eine optimale Mikrowellenleistung von $P = 650,4 \text{ W}$ bei einer Variation von 100 bis 800 W zur Extraktion von Polyphenolen aus industriellem Apfeltrester. Ohne Temperaturkontrolle war der Totalphenolgehalt bei der Mikrowellenunterstützten Extraktion ($P = 300 - 900 \text{ W}$) von Myrte mit einem Leistungseintrag von 500 W am höchsten (Dahmoune et al. 2015). Bei dem ultraschall- und mikrowellenunterstützten Prozess wurde getrocknetes Rohmaterial verwendet, wohingegen aufgrund des Wirkprinzips bei der Hochspannungsimpulsbehandlung neben dem getrockneten roten Weinlaub auch nicht getrocknetes Pflanzenmaterial verwendet wurde. Dadurch wurde festgestellt, dass mit nicht getrocknetem rotem Weinlaube und mit Hochspannungsimpulse eine höhere Ausbeute im Vergleich zu getrocknetem rotem Weinlaube erreicht wird. Eine deutliche Erhöhung der Ausbeute an Polyphenolen kann eine Steigerung der elektrischen Feldstärke von $\vec{E} = 1,7 \frac{\text{kV}}{\text{cm}}$ auf $E = 3,3 \frac{\text{kV}}{\text{cm}}$ erzielt werden (vergleiche Abbildung 32 c). Des Weiteren weisen Luengo et al. (Luengo et al. 2013) nach, dass eine Zunahme der elektrischen Feldstärke von $\vec{E} = 1 \frac{\text{kV}}{\text{cm}}$ über 3 und $5 \frac{\text{kV}}{\text{cm}}$ auf $7 \frac{\text{kV}}{\text{cm}}$ einen deutlichen Anstiegs des Zellzerstörungsindex bei der Gewinnung von Polyphenolen aus Orangenschalen führt. Neben dem Pulsprotokoll variierten Zderic et al. (Zderic und Zondervan 2016) die elektrische Feldstärke $\vec{E} = 0,1; 0,4; 0,6; 0,9; 1,1 \frac{\text{kV}}{\text{cm}}$ bei der Extraktion von Polyphenolen aus frischen bzw. nicht getrockneten Teeblättern. Die hohen elektrischen Feldstärken erhöhten die Extraktionsausbeute um 5 bis 10 % im Vergleich zu den geringen elektrischen Feldstärken. Zudem stellten auch Peiro et al. (Peiró et al. 2019) fest, dass der Zellzerstörungsindex bei der Extraktion von Zitronenrückständen zur Gewinnung von Polyphenolen mit elektrischen Feldstärken von $\vec{E} = 7 \text{ und } 9 \frac{\text{kV}}{\text{cm}}$ im Gegensatz zu elektrischen Feldstärken von $E = 3 \text{ und } 5 \frac{\text{kV}}{\text{cm}}$ Anstieg.

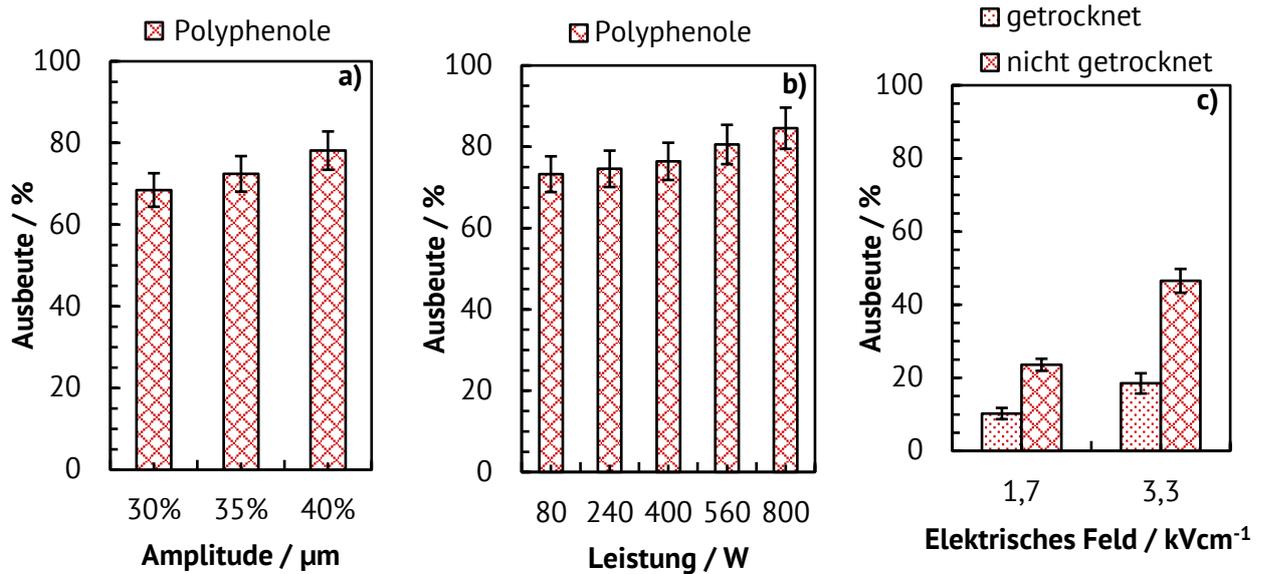


Abbildung 32: Variation der Amplitude während der ultraschallunterstützenden Extraktion a); Variation der Leistung während mikrowellenunterstützenden Extraktion b); Variation des elektrischen Feldes während hochspannungsimpulsunterstützenden Extraktion c)

Eine Erhöhung der Temperatur während der Extraktion von Ursol- und Oleanolsäure von 40 °C auf 55 °C in 5 °C Schritten zeigt die Steigerung der Ausbeute um etwa 20 %. Einen weiteren Anstieg der Extraktionstemperatur auf 65 °C weist keine erneute Steigerung der Ausbeute an Ursol- und Oleanolsäure auf (siehe Abbildung 33). Yang et al. bewiesen auch, dass die Ausbeute von Ursol- und Oleanolsäure sich mit einem Temperaturzuwachs von 30 °C auf 50 °C erhöht sowie eine Verringerung der Ausbeute bei einem weiteren Temperaturanstieg von 55 °C zu 65 °C (Yang und Wei 2015). Zusätzlich dokumentierten Xia et al. einen signifikanten Anstieg der Ausbeute von Ursol- und Oleanolsäure bei Temperaturen von 25 °C auf 40 °C und bei einer weiteren Temperaturerhöhung von 40 °C auf 70°C eine fast unveränderte, konstant bleibende Ausbeute (Xia et al. 2012).

Die Variation der Amplitude, während der Ultraschall-unterstützende Extraktion erreichte einen vernachlässigbar kleinen Einfluss auf die Ausbeute an Oleanol- und Ursolsäure aus der Holunderbaumrinde. Im Gegensatz dazu zeigen verschiedene Leistungen eine erhebliche Einwirkung auf die Effizienz der Mikrowellen-unterstützende Extraktion. Die Ausbeute an Oleanol- und Ursolsäure steigt bei einer Leistungserhöhung von 80 W auf 240 W kontinuierlich auf 80 % an, um bei einer weiteren Leistungssteigerung auf 800 W wieder auf eine Ausbeute von 57,3 % abzufallen. Die Diagramme sind in Abbildung 34 ersichtlich. Die Ergebnisse sind mit den Studien von Fang et al. vergleichbar, bei denen die Ausbeute der Ursol- und Oleanolsäure sich mit der Erhöhung der Mikrowellenleistung von 400 bis 600 W erhöht und bei einer weiteren Erhöhung von 800 auf 1000 W sich wieder erniedrigt (Fang et al. 2010). Es lässt sich nicht bestreiten, dass die Verwendung von hoher Mikrowellenleistung thermische Degradierung und Zerstörung der beiden Wirkstoffe Ursol- und Oleanolsäure induzieren kann.

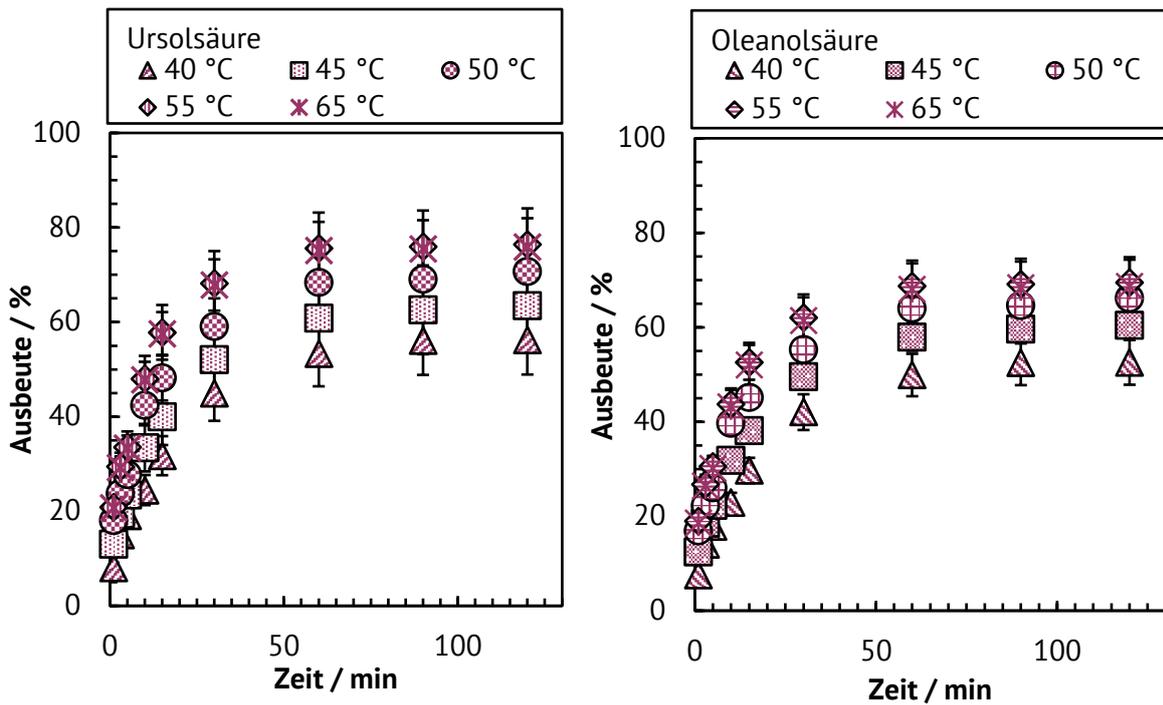


Abbildung 33: Erhöhung der Extraktionstemperatur zur Gewinnung von Ursolsäure a); bzw. von Oleanolsäure b) aus Holunderbaumrinde

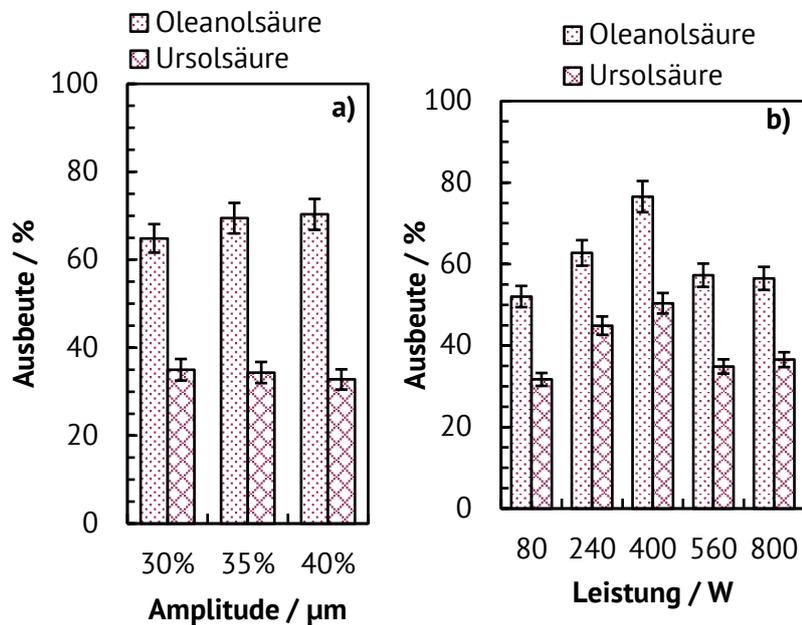


Abbildung 34: Variation der Amplitude während der ultraschallunterstützten Extraktion a); Variation der Leistung während mikrowellenunterstützten Extraktion b)

Für die ultraschallunterstützende Extraktion von Bixin aus Annattosamen erzielt eine Änderung der Amplitude keine Verbesserung der Ausbeute. Darüber hinaus zeigt die Variation der Leistung im Mikrowellenofen einen deutlichen Einfluss (Bachtler und Bart 2021). Im Gegensatz zu rotem Weinlaub und der Holunderbaumrinde sinkt die Ausbeute an Bixin stetig bei der Erhöhung der Leistung P von 80 W auf 800 W ab (vergleiche Abbildung 35).

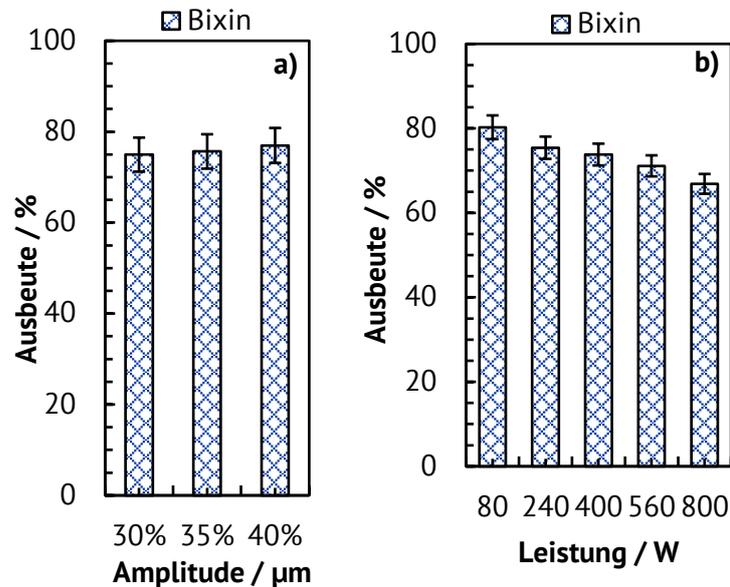


Abbildung 35: Variation der Amplitude während der ultraschallunterstützenden Extraktion a); Variation der Leistung während mikrowellenunterstützenden Extraktion b)

4.2.3 Einfluss der alternativen Prozesskonzepte

Aus den vorangegangenen Optimierungen werden die Ausbeuten über die Zeit während den verschiedenen Wirkprinzipien dargestellt und diskutiert, diese sind in den Abbildung 36 Abbildung 37 ersichtlich. Die höchste Ausbeute, die auch am schnellsten erreicht ist, wird bei rotem Weinlaub durch die dielektrische Erwärmung erzielt. Überdies erzeugen die Ultraschallwellen mit einer Amplitude von 40 % und einer Frequenz von 20 kHz eine leicht geringere Ausbeute. Zudem bringen der gerührte Batch mit getrockneten Blättern und die Hochspannungsimpulsbehandlung mit $E = 3,3 \frac{kV}{cm}$ unter der Verwendung von frischem bzw. nicht getrocknetem rotem Weinlaub im Mittel eine Ausbeute von 55 % Polyphenole hervor. Ein deutlicher Unterschied ist beim Anstieg der Extraktionskinetik in den ersten dreißig Minuten zu beobachten, das durch das Pulsprotokoll mit Pulsen im Bereich von μs bis ms erklärt werden kann. Da bei getrocknetem Pflanzenmaterial keine intakte Zellporen mehr vorliegen, kann mit Hochspannungsimpulsen die geringste Ausbeute erzielt werden. Durch die Anwendung von alternativen Prozesskonzepten kann die Ausbeute um 10 % bzw. um 15 % bei festgesetzter Temperatur erlangt werden (vergleiche Abbildung 36). Diese Ergebnisse können durch diverse

Studien bestätigt werden. Both et al. zeigten, dass die Ausbeute von Polyphenolen aus schwarzen Tee mit Ultraschallbehandlung bei einer Frequenz $\nu = 25 \text{ kHz}$ und Leistung von 150 W um etwa 15 % im Vergleich zur Mazeration mit einer festgesetzten Extraktionstemperatur bei 40 °C anstieg (Both et al. 2014a). Eine weitere Studie zeigt, dass die Ausbeute von Vanillin aus Vanille um ein vielfaches schneller unter der Verwendung von Mikrowellen erreicht und dass im Vergleich zu Ultraschallwellen sowie bei der Mazeration die Ausbeute höher ausfällt (Dong et al. 2014). Die extraktiven Untersuchungen nach der Optimierung mit den weiteren Pflanzenmaterialien Holunderbaumrinde und Annattosamen bestätigen diese Reihenfolge der alternativen Prozesskonzepte: Dielektrische Erwärmung > Ultraschallwellen > Mazeration bzw. Immersion > Perkolation. Für Ursol- bzw. Oleanolsäure aus Holunderbaumrinde ergibt die konventionelle Perkolation aufgrund der Benetzung die geringste Menge an gewonnenen Wirkstoffen. Ist die Holunderbaumrinde vollständig im Extraktionsmittel eingelegt und wird gerührt, erhöht sich die Ausbeute im pseudo-Gleichgewicht auf 75 %. Die Verwendung von alternativen Prozesskonzepten verbessert die Extraktionsausbeute. Eine höhere Ausbeute wird mit der mikrowellenunterstützten Extraktionstechnologie im Vergleich zum ultraschallunterstützten Prozesskonzept festgestellt. Zusätzlich wird die höhere Ausbeute durch die dielektrische Erwärmung schneller erreicht (siehe Abbildung 37 a). Die Ergebnisse sind mit den Extraktionen von Polyphenolen aus Pinienrinde vergleichbar, bei denen die mikrowellenunterstützte Extraktion gegenüber ultraschallunterstützender Extraktion zu höheren Ausbeuten führt (Aspé und Fernández 2011). Für die Gewinnung von Bixin aus den Annattosamen ergibt die dielektrische Erwärmung die höchste Ausbeute, gefolgt von der ultraschallunterstützten Extraktion und Immersion sowie Perkolation. Im Gegensatz zur Ursol- und Oleanolsäure aus der Holunderbaumrinde liegen die Extraktionskinetiken von Bixin aus den Annattosamen dichter zusammen (vergleiche Abbildung 37 b). Dies ist mit der Lokalisation des Farbstoffes Bixin auf der Samenschicht, die den Samen vollständig umhüllt, zu erklären, wodurch sich Bixin einfacher im Vergleich zu den Polyphenolen aus den Vakuolen des roten Weinlaubs herauslösen lässt.

Die höhere Leistung der mikrowellenunterstützten Extraktion gegenüber der ultraschallunterstützten Extraktion kann durch die verschiedenen Wirkprinzipien erklärt werden. Die Mikrowellentechnik beruht tatsächlich auf der Erwärmung der polaren Moleküle wie Wasser durch die Erzeugung der Schwingungen. In den Pflanzenzellen ist auch eine große Menge an Wasser enthalten, vor allem in der Vakuole. Durch den Druck, welcher durch das Anschwellen entsteht, wenn das intrazelluläre Wasser verdampft, wird die Zellwand bzw. -membran von innen gepresst, gedehnt und endgültig aufgerissen. Dieser Vorgang fördert das Herauslösen der Wirkstoffe aus den zerstörten Zellen in das umgebende Extraktionsmittel. Das Prinzip der ultraschallunterstützten Extraktion hängt mit dem Kavitationseffekt, welche den Stofftransport intensiviert und folglich mit der engen Wechselwirkung zwischen Extraktionsmittel und Pflanzenmaterial zusammen. Obwohl beide Extraktionstechniken die vegetabile Pflanzenmatrix zerstören können, ist die Verwendung von Mikrowellen effektiver als die Ultraschallwellen, weil das intrazelluläre Wasser in den Pflanzenzellen als Trägermedium für die Mikrowellen eingesetzt wird. Der geringe Wassergehalt der Holunderbaumrinde und des getrockneten roten Weinlaubs ist förderlich für den Gebrauch der dielektrischen Erwärmung.

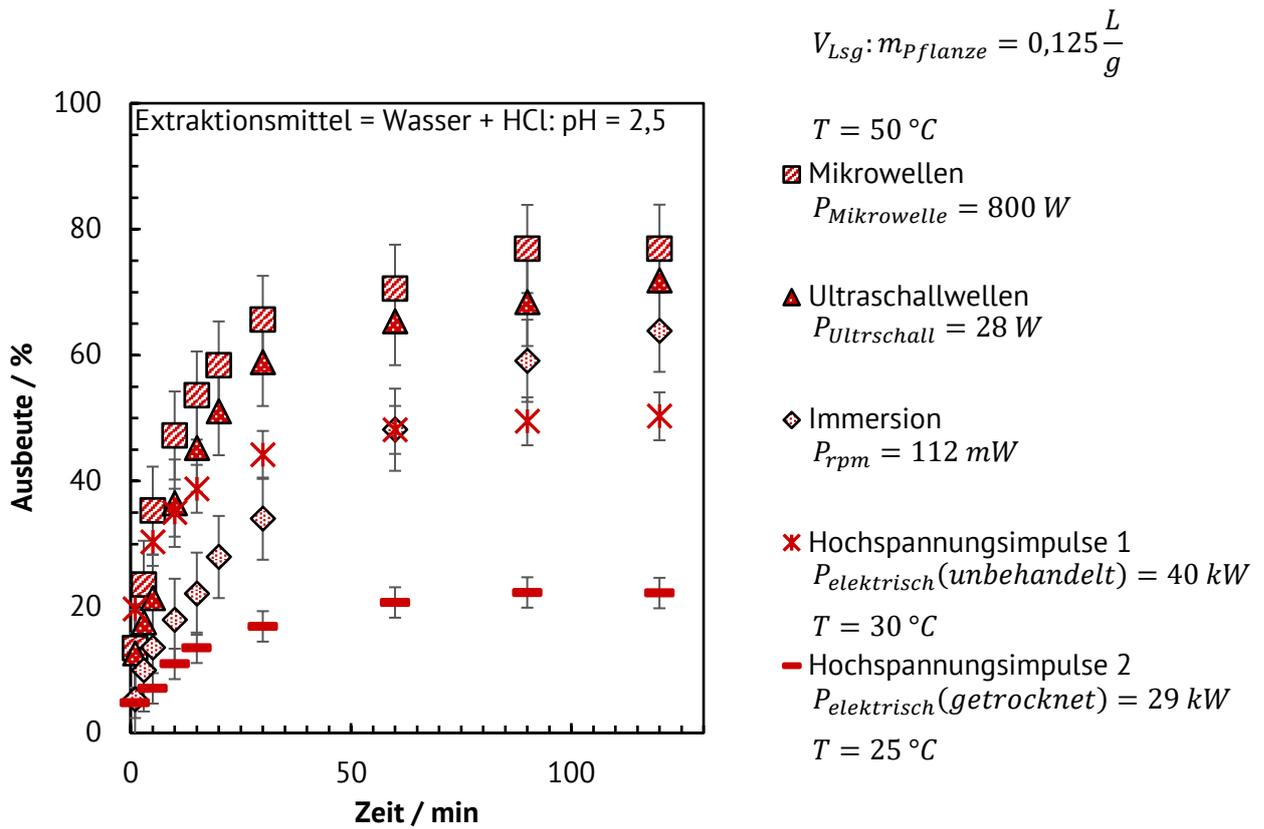


Abbildung 36: Vergleich der alternativen Prozesskonzepte für rotes Weinlaub

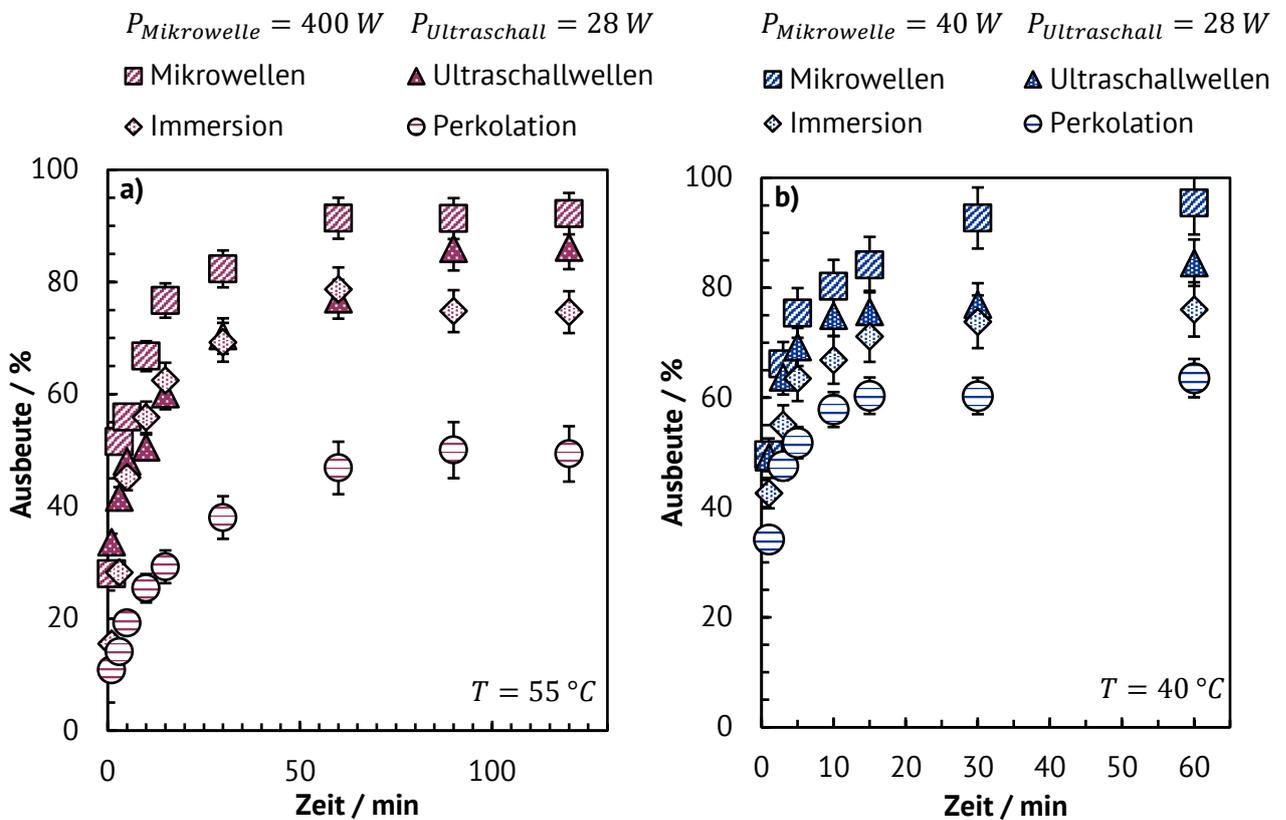


Abbildung 37: Vergleich der alternativen Prozesskonzepte für Holunderbaumrinde a); Annattosamen b)

Die Zusammenstellung der Wirkung von den unterschiedlichen Prozesskonzepte auf die Pflanzenmaterialien ist in Tabelle 14 gezeigt. Für das Erreichen der höchsten Ausbeute an sekundären Pflanzenstoffe eignet sich die mikrowellen-unterstützende Extraktionstechnologie bei allen verwendeten Pflanzenmaterialien am besten. Werden als Extraktionsmittel synthetische oder pflanzliche Öle verwendet, ist der Einsatz des ultraschall-unterstützenden Prozesskonzepts zu empfehlen. Die Hochspannungsimpuls-unterstützende Extraktionsmethode bietet Vorteile bei der Verwendung von nicht getrockneten Pflanzenmaterialien, wie Blätter, Kräuter sowie Früchten und von Wasser als Extraktionsmittel. Ein deutlicher Vorteil der hochspannungsimpuls-unterstützende Extraktionsmethode ist die geringe Erwärmung der Extraktionssuspension, wodurch keine Auswirkungen auf die Stabilität der sekundären Pflanzenstoffe entstehen können. Des Weiteren ist bei allen Pflanzenmaterialien in Bezug auf die Ausbeute an sekundären Pflanzenstoffe die Immersion aufgrund der Benetzung der Perkolation vorzuziehen.

Tabelle 14: Einfluss der alternativen Prozesskonzepte während der Extraktion von verschiedenen Pflanzenmaterialien: ++ sehr gut, + gut, - schlecht, -- sehr schlecht

	Rotes Weinlaub	Melisse	Annattosamen	Holunderrinde	Süßholzwurzel
Extraktionsmittel	H ₂ O + HCl pH=2,5	H ₂ O+Ethanol (70/30 v/v)	Ethylacetat	Ethanol	H ₂ O+Ethanol (70/30 v/v)
Temperatur T / °C	50	55	40	55	55
Mikrowellen P / W	++ 800	++	++ 40	++ 400	++
Ultraschallwellen P / W	+ 28	+	+ 28	+	+
Hochspannungsimpulse P _{elektrisch} / W	++ *nicht getrocknet 40 k	+	-- 	-- 	--
Immersion P _{Blattrührer} / W	+ 112 m	++ 112 m	+ 112 m	+ 112 m	++ 112 m
Perkolation	- Benetzung	-- Feststoffkanäle	+ Gute Benetzung	- Benetzung	+ Filtrationseffekt

 Bei alkoholischen Extraktionsmittel → Elektrische Überschläge!

4.2.4 Bestimmung der Gleichgewichtskonstanten

Aus den Extraktionsverläufen bei verschiedenen Temperaturen können die Gleichgewichtskonstanten für die Pflanzenmaterialien: Rotes Weinlaub, Holunderbaumrinde und

Annattosamen mit den Gleichungen 7 und 9 bestimmt werden. Die grafische Darstellung von t/c_t in Abhängigkeit zu t ergibt eine Lineare mit der Steigung von $1/c_{GG}$ und dem Achsenabschnitt $1/kc_{GG}^2$. Die Gleichgewichtskonzentration der Wirkstoffe nach dem Herauslösen c_{GG} , die initiale Extraktionsgeschwindigkeit h sowie die Geschwindigkeitskonstante k können dementsprechend von der Steigung und dem Achsenabschnitt evaluiert werden. Wenn die Temperatur erhöht wird, vergrößern sich die Sättigungskonzentration c_s , die initiale Extraktionsgeschwindigkeit h und die Geschwindigkeitskonstante k . Weil die initiale Extraktionsgeschwindigkeit h und die Geschwindigkeitskonstante k nur vom Faktor k_0 abhängig sind, wird der Zusammenhang durch die grafische Darstellung von $\ln h$ in Abhängigkeit von T bestimmt.

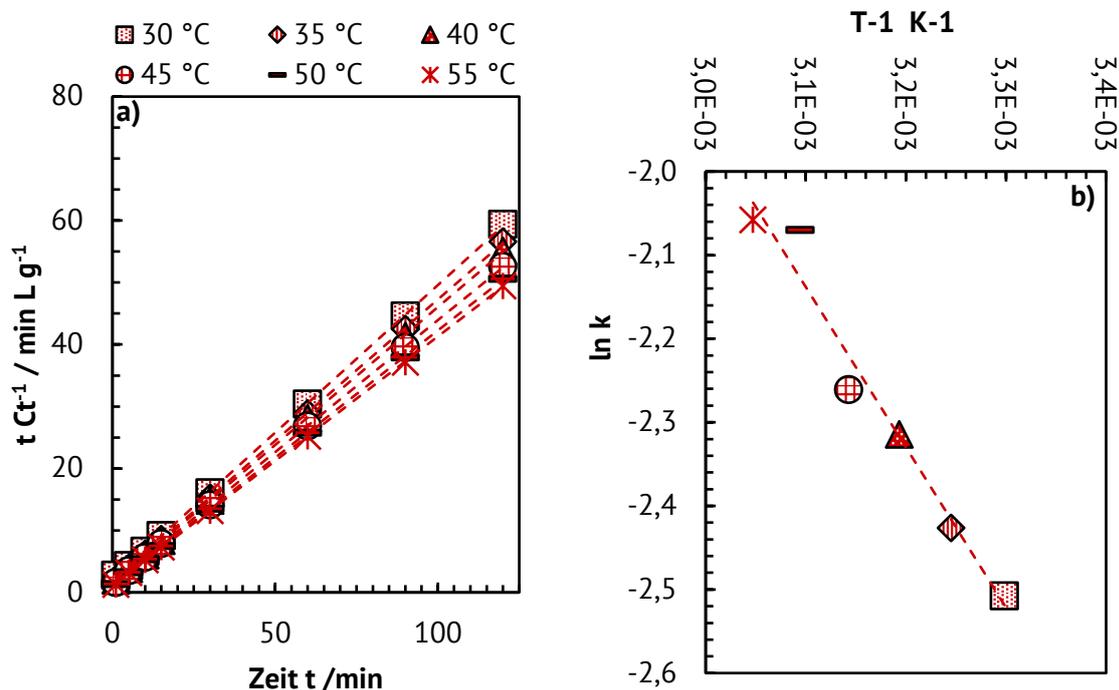


Abbildung 38: Linearisierung der Extraktionskinetik von Polyphenolen aus rotem Weinlaub a); Reziproke Darstellung der logarithmierten Geschwindigkeitskonstante gegen den Kehrwert der Temperatur b)

Für die Wirkstoffe Polyphenole aus dem roten Weinlaub ist die Linearisierung der Extraktionsverläufe bei verschiedenen Temperaturen und der Arrheniusgraph als reziproke Darstellung der logarithmierten Geschwindigkeitskonstante gegen den Kehrwert der Temperatur in Abbildung 38 wiedergegeben. Die Zusammenstellung der Parameter ist in Tabelle 15 ersichtlich.

Tabelle 15: Extraktionskinetikparameter für rotes Weinlaub bei verschiedenen Temperaturen

Rotes Weinlaub	Temperatur T					
	30 °C	35 °C	40 °C	45 °C	50 °C	55 °C
Polyphenole						
$c_s / g L^{-1}$	2,10	2,19	2,25	2,35	2,44	2,49
R^2	0,999	0,997	0,998	0,998	0,993	0,998
$h / g L^{-1} min^{-1}$	0,36	0,42	0,50	0,58	0,75	0,79
$k / L g^{-1} min^{-1}$	0,081	0,088	0,099	0,104	0,126	0,128
$k_0 / L g^{-1} min^{-1}$	44,97					
$-E_a / kJ mol^{-1}$	15,94					

Für die Wirkstoffe Ursol- und Oleanolsäure aus Holunderbaumrinde ist die Linearisierung der Extraktionsverläufe bei verschiedenen Temperaturen unter der Verwendung der mikrowellen- und ultraschallwellenunterstützenden Extraktionstechnologie sowie der Arrheniusgraph in Abbildung 39 dargestellt. Die Zusammenstellung der Parameter ist in Tabelle 16 ersichtlich. Für den Farbstoff Bixin von Annattosamen ist die Linearisierung der Extraktionsverläufe bei verschiedenen Temperaturen und der Arrheniusgraph in Abbildung 40 abgebildet. Die Zusammenstellung der Parameter ist in Tabelle 17 ersichtlich.

Bei der linearisierten Arrheniusgleichung, bei der $\ln k$ über T aufgetragen wird, ist für die Polyphenole aus rotem Weinlaub, für die Ursol- und Oleanolsäure aus Holunderbaumrinde sowie für Bixin aus den Annattosamen ersichtlich, dass die Geschwindigkeitskonstante mit der Temperatur erhöht wird. Die Aktivierungsenergie $-E_A$ kann mit $15,94 \frac{kJ}{mol}$ für die Polyphenole, mit $26,7 \frac{kJ}{mol}$ für Ursol- und Oleanolsäure und mit $6,73 \frac{kJ}{mol}$ für Bixin angegeben werden. Lazar et al. ermittelten eine Aktivierungsenergie für Polyphenole, die aus der Rinde der gemeinen Fichte extrahiert wurden, von $33,726 \frac{kJ}{mol}$ (Lazar et al. 2016). Im Gegensatz dazu berechneten Li et al. (Li et al. 2011a) für die Extraktion von Polyphenolen aus den Fruchtständen der Zapfennuss eine Aktivierungsenergie von $11,365 \frac{kJ}{mol}$. Entsprechend dem Modell nach Wang et al. (Wang et al. 2002) und Gonzalez-Centeno et al. (González-Centeno et al. 2015) unterliegt der Extraktionsprozess von Ursol- und Oleanolsäure aus Holunderbaumrinde einem gemischtem und diffusivem Regime. Dies steht im Gegensatz zu der Extraktion von Bixin aus Annattosamen, bei der ausschließlich die Diffusion vorherrscht. Rakotondramasy-Rabesiaka et al. (Rakotondramasy-Rabesiaka et al. 2007) extrahierten Protopin aus gewöhnlichem Erdrauch mit einer Aktivierungsenergie von $5,182 \frac{kJ}{mol}$ mit Wasser als Extraktionsmittel und von $3,211 \frac{kJ}{mol}$ mit 44 Vol% Ethanol. Diese Ergebnisse sind auch mit der Studie von Sayyar et al. (Sayyar et al. 2009) vergleichbar, die beim Auslaugen von Öl aus der Purgiernuss eine Aktivierungsenergie $8,022 \frac{kJ}{mol}$ ermittelten. Zusätzlich ist es offensichtlich, dass sich der Wärmeeintrag, welcher sich aus dem Leistungseintrag der ultraschall- und mikrowellenunterstützenden Extraktion ergibt, signifikant auf die Extraktionsausbeute und die Kinetik der Wirkstoffe von Pflanzenmaterialien auswirkt.

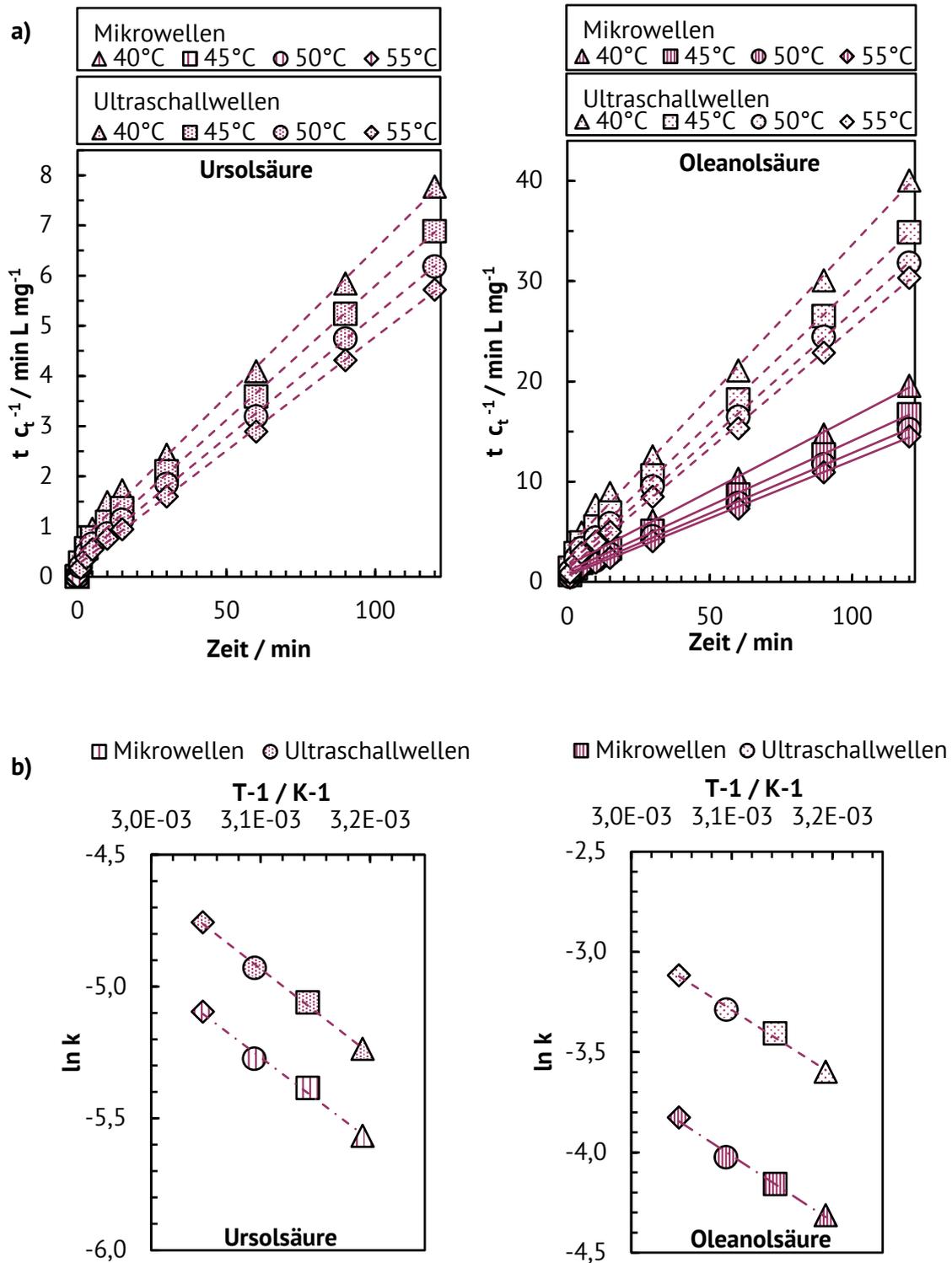


Abbildung 39: Linearisierung der Extraktionskinetik von Ursol- und Oleanolsäure aus Holunderbaumrinde
 a); Reziproke Darstellung der logarithmierten Geschwindigkeitskonstante gegen den Kehrwert der
 Temperatur b)

Tabelle 16: Extraktionsparameter für Holunderbaumrinde bei verschiedenen Temperaturen mit alternativen Prozesskonzepten

Holunderbaumrinde	Ultraschallsonde				Mikrowellenofen			
	Temperatur T				Temperatur T			
Ursolsäure	40 °C	45 °C	50 °C	55 °C	40 °C	45 °C	50 °C	55 °C
$c_s / \text{mg L}^{-1}$	17,01	18,69	20,49	22,03	23,64	26,18	28,9	30,86
R^2	0,996	0,998	0,999	0,999	0,995	0,996	0,994	0,999
$h / \text{mg L}^{-1} \text{ min}^{-1}$	1,54	2,21	3,03	4,17	2,14	3,14	4,28	5,83
$k / \text{L mg}^{-1} \text{ min}^{-1}$	0,0053	0,0063	0,0072	0,0086	0,0038	0,0046	0,0051	0,0061
$k_0 / \text{L mg}^{-1} \text{ min}^{-1}$	163,0				84,4			
$-E_a / \text{kJ mol}^{-1}$	26,89				26,03			
Oleanolsäure	40 °C	45 °C	50 °C	55 °C	40 °C	45 °C	50 °C	55 °C
$c_s / \text{mg L}^{-1}$	3,3	3,63	3,97	4,28	6,76	7,69	8,3	8,69
R^2	0,999	0,996	0,998	0,994	0,998	0,997	0,993	0,999
$h / \text{mg L}^{-1} \text{ min}^{-1}$	0,3	0,44	0,59	0,81	0,61	0,92	1,23	1,64
$k / \text{L mg}^{-1} \text{ min}^{-1}$	0,027	0,033	0,037	0,044	0,013	0,016	0,018	0,022
$k_0 / \text{L mg}^{-1} \text{ min}^{-1}$	767,1				461,6			
$-E_a / \text{kJ mol}^{-1}$	26,64				27,23			

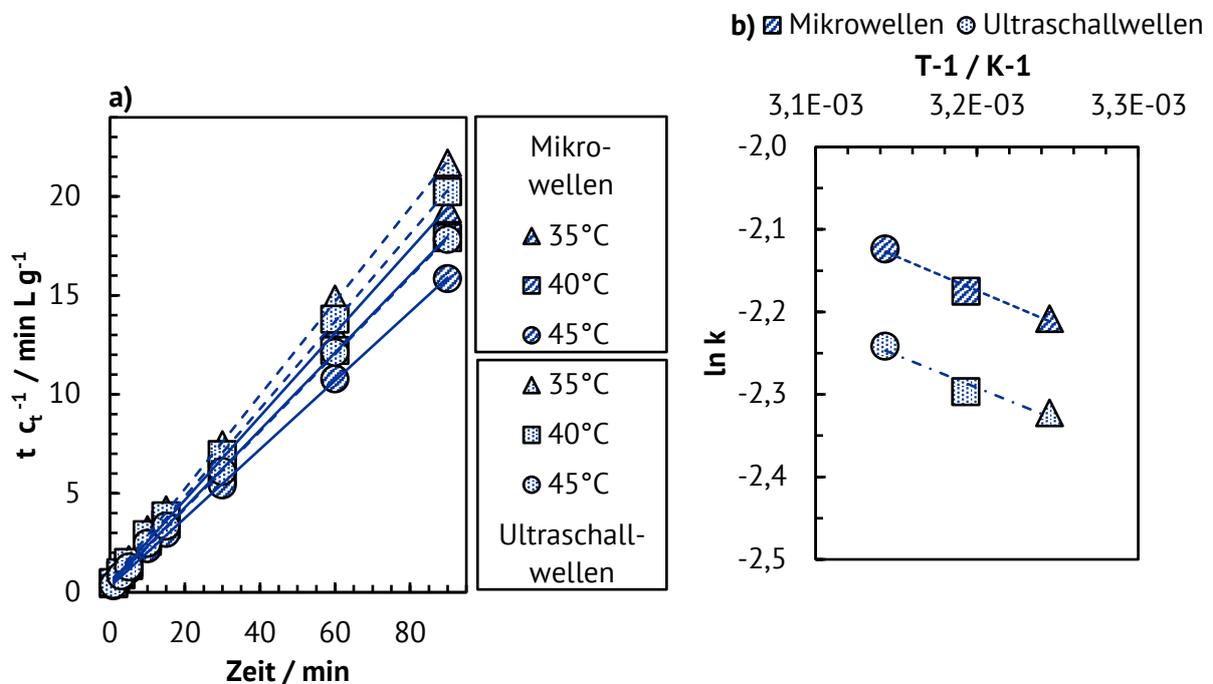


Abbildung 40: Linearisierung der Extraktionskinetik von Ursol- und Oleanolsäure aus Holunderrinde a); Reziproke Darstellung der logarithmierten Geschwindigkeitskonstante gegen den Kehrwert der Temperatur b)

Tabelle 17: Extraktionskinetikparameter für Annattosamen bei verschiedenen Temperaturen mit alternativen Prozesskonzepten

Annattosamen	Ultraschallsonde			Mikrowellenofen		
	Temperatur T			Temperatur T		
Bixin	35 °C	40 °C	45 °C	35 °C	40 °C	45 °C
$c_s / \text{mg L}^{-1}$	4,23	4,53	5,12	4,74	5,12	5,76
R^2	0,995	0,996	0,997	0,993	0,999	0,995
$h / \text{mg L}^{-1} \text{min}^{-1}$	1,97	2,33	3,13	2,20	2,63	3,53
$k / \text{L mg}^{-1} \text{min}^{-1}$	0,110	0,114	0,120	0,098	0,101	0,106
$k_0 / \text{L mg}^{-1} \text{min}^{-1}$	1,61			1,27		
$-E_a / \text{kJ mol}^{-1}$	6,88			6,59		

4.2.5 Bestimmung des effektiven Diffusionskoeffizienten

Die Berechnung des effektiven Diffusionskoeffizienten nach Gleichung 5 ist in Abbildung 41 ersichtlich. Die effektiven Diffusionskoeffizienten sinken minimal mit steigender Temperatur für die folgenden Wirkstoffe: Glycyrrhizinsäure aus der Süßholzwurzel, Polyphenole aus dem roten Weinlaub und Bixin aus den Annattosamen. Eine geringere abfallende Steigung mit der Temperatur ist bei der Ursolsäure aus der Holunderbaumrinde festzustellen. Dagegen weist der effektive Diffusionskoeffizient für die Rosmarinsäure aus der Melisse die größte abfallende Steigung mit Erhöhung der Temperatur auf. Des Weiteren liegen für alle Wirkstoffe aus den verschiedenen Pflanzenmaterialien die effektiven Diffusionskoeffizienten im Bereich von $1,2 \cdot 10^{-12} \frac{\text{m}^2}{\text{s}}$ bis $8,9 \cdot 10^{-12} \frac{\text{m}^2}{\text{s}}$. Im Detail sind die effektiven Diffusionskoeffizienten für die holzartigen Pflanzenmaterialien am niedrigsten. Am kleinsten sind die effektiven Diffusionskoeffizienten für die Ursolsäure aus der Holunderbaumrinde mit durchschnittlich $1,6 \cdot 10^{-12} \frac{\text{m}^2}{\text{s}}$, dicht gefolgt von der Glycyrrhizinsäure aus der Süßholzwurzel mit durchschnittlich $2,2 \cdot 10^{-12} \frac{\text{m}^2}{\text{s}}$. Mit durchschnittlich $3,8 \cdot 10^{-12} \frac{\text{m}^2}{\text{s}}$ liegen die effektiven Diffusionskoeffizienten der Polyphenole aus rotem Weinlaub im Mittelfeld. Am höchsten sind die effektiven Diffusionskoeffizienten von Bixin aus den Annattosamen mit durchschnittlich $6,2 \cdot 10^{-12} \frac{\text{m}^2}{\text{s}}$ und der Rosmarinsäure aus der Melisse mit durchschnittlich $6,6 \cdot 10^{-12} \frac{\text{m}^2}{\text{s}}$.

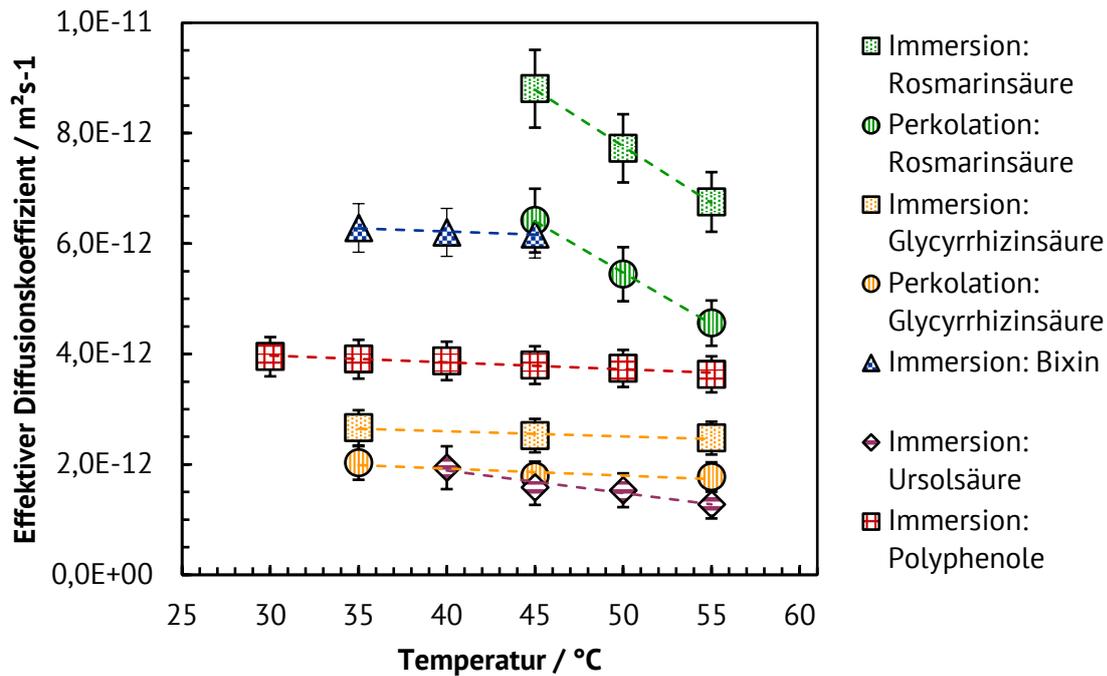


Abbildung 41: Effektive Diffusionskoeffizienten in Abhängigkeit der Temperatur für die Rosmarinsäure aus Melisse; für die Glycyrrhizinsäure aus der Süßholzwurzel; für Bixin aus den Annattosamen; für Ursolsäure aus der Holunderbaumrinde; für die Polyphenole aus rotem Weinlaub

Gironi et al. errechneten einen effektiven Diffusionskoeffizienten von $6,12 \cdot 10^{-12} \frac{m^2}{s}$ bei einer Extraktionstemperatur von 60 °C und mit dem Extraktionsmittel Wasser für Polyphenole aus Kastanienholz, welches schätzungsweise eine Partikelgröße von 0,5 x 0,5 x 10 mm aufwies (Gironi und Piemonte 2011). Bei einer Erhöhung der Temperatur auf 80 °C stellten sie eine Verringerung des effektiven Diffusionskoeffizienten auf $1,10 \cdot 10^{-11} \frac{m^2}{s}$ fest. In der gleichen Größenordnung bestimmten Karakashov et al. den effektiven Diffusionskoeffizienten mit $1,52 \cdot 10^{-11} \frac{m^2}{s}$ bei der Extraktion von Polyphenolen aus Johanniskräuter unter der Verwendung von 70 °C warmen Wasser (Karakashov et al. 2015). Hojnik et al. untersuchten detailliert die Extraktion des Wirkstoffes Lutein aus den Blütenblätter der Ringelblume mit verschiedenen Extraktionsmittel sowie unterschiedlichen Temperaturen und die effektiven Diffusionskoeffizienten lagen im Bereich von $4,67 \cdot 10^{-12} \frac{m^2}{s}$ bis $9,09 \cdot 10^{-12} \frac{m^2}{s}$ (Hojnik et al. 2008). Auch Guerrero et al. ermittelten effektive Diffusionskoeffizienten von $6,53 \cdot 10^{-12} \frac{m^2}{s}$ für die kontinuierlich wässrige Extraktion mit einer Fließgeschwindigkeit von $2 \frac{mL}{min}$ von Polyphenolen aus Granatapfeltrester bei einer Temperatur von 40 °C (Guerrero et al. 2008). Zudem fanden Petrovic et al. effektive Diffusionskoeffizienten in der Größenordnung von $10^{-12} \frac{m^2}{s}$ für das Herauslösen von Ursolsäure aus Thymian (Petrovic et al. 2012). Die Ergebnisse dieser vielfältigen Studien bestätigen die Anwendung der analytischen Lösung des Fick'schen Diffusionsgesetz als Berechnung und Modellierung diverser Prozesskonzepte.

4.3 Mehrstufige Pflanzenextraktionen

Im zweiten Ergebnisteil wird die Modellierung von mehrstufigen vegetabilen Fest-Flüssig-Extraktionen sorgfältig diskutiert. Prinzipiell wurden Bemühungen angestellt, die Frage zu erörtern, welche Gleichgewichtsbeziehung in den Bezug auf die verschiedenen Pflanzenmaterialien mit den verwendeten Partikelgrößen die Extraktionsmittelmenge für einen dreistufigen Kreuzstrom am genauesten vorhersagt.

4.3.1 Zusammensetzung des Rohmaterials

Tabelle 18 listet die Zusammensetzung des Pflanzenmaterials bestehend aus dem Wassergehalt x_{F3} , dem Anteil der nicht extrahierbaren Stoffe x_{F1} und dem Anteil der extrahierbaren Feststoffe x_{F2} auf.

Tabelle 18: Zusammensetzung des Pflanzenmaterials

Feed	Rotes Weinlaub	Süßholzwurzel	Melisse
x_{F1}	0,65	0,54	0,51
x_{F2}	0,30	0,40	0,42
x_{F3}	0,05	0,06	0,07

Für alle drei Pflanzenmaterialien ist der Anteil der nicht extrahierbaren Stoffe im Rohmaterial am größten. Der Wassergehalt ist dabei ungefähr gleich hoch, dieser liegt zwischen 5 % und 7 %. Der Gehalt an extrahierbaren Stoffen des roten Weinlaubs ist deutlich geringer im Vergleich zu den Werten der Süßholzwurzel und der Melisse. Die Abweichung beträgt etwa 10 bis 12 %. Dass die Anteile der nicht extrahierbaren Feststoffe für alle drei Pflanzenarten am größten sind, ist dadurch begründet, dass es sich bei den extrahierbaren Stoffen mitunter um die gewünschten Wirkstoffe handelt. Die Wirkstoffe bzw. sekundären Pflanzenstoffe werden von den Pflanzen nicht zum Überleben benötigt und werden daher nur in einem geringen Ausmaß hergestellt, was sich durch den geringeren Anteil der extrahierbaren Stoffe äußert. Aufgrund der geringen Mengen an Wertstoffe ist die richtige Auslegung des Extraktionsprozesses sehr wichtig, um die größtmögliche Ausbeute zu erzielen. Dazu kann die Modellierung dieses Prozesses und die Optimierung hinsichtlich der Extraktionsmittelmenge einen Beitrag leisten.

4.3.2 Bestimmung der Gleichgewichtsparameter

Zur Bestimmung der Gleichgewichtsparameter werden die Anteile der extrahierbaren Stoffe im Extrakt x_{E2} bzw. im festen Rückstand x_{O2} benötigt. Die grafische Auftragung der Werte von x_{E2} über x_{O2} kann durch die Isotherme nach Nernst, Freundlich oder Langmuir gefittet und somit die Gleichgewichtsparameter bestimmt werden. Die Parameter der Langmuir-Isotherme werden über das Programm Excel-Solver ermittelt. Die Tabelle 19 listet die Gleichgewichtsparameter für die Polyphenole aus dem roten Weinlaub auf. Zusätzlich zeigt sie die Abweichung der Gleichgewichtsfunktion von den tatsächlichen Datenpunkten in y –Richtung. Die Abweichung der Gleichgewichtsbeziehung nach Langmuir ist am niedrigsten, das bedeutet, dass die Langmuir-Isotherme die Gleichgewichtsbeziehung am treffendsten darstellt. Die Abbildung 42 stellt die graphische Bestimmung der Gleichgewichtsparameter dar. Die Abbildung zeigt, dass die experimentell ermittelten Datenpunkte für das rote Weinlaub gestreut voneinander liegen. Dies liegt daran, dass es sich bei den Pflanzen um heterogene Naturprodukte handelt, deren Zusammensetzung, Struktur und Charge variieren. Außerdem lässt sich erkennen, dass die Menge der auszuwertenden Datenpunkte gering ist. Zudem ist die Anzahl der Datenpunkte, die ausgewertet werden können, relativ gering. Für die Ermittlung der Gleichgewichtsparameter wurde sich an das Experimentierschema nach Castillo-Santos et al. gehalten, welche den Versuch in sechsfacher Ausführung durchgeführt haben (Castillo-Santos et al. 2016a). Von diesen sechs Datenpunkten ergeben sich für das rote Weinlaub zwei Punkte, die stark von der Norm abweichen und für die weitere Berechnung der Gleichgewichtsparameter nicht berücksichtigt werden können. Aufgrund der dadurch sehr geringen Datenmenge und der Varianz unter den Datenpunkten zeigen die darauf angewendeten Gleichgewichtsbeziehungen Abweichungen in y –Richtung von den Datenpunkten.

Tabelle 19: Gleichgewichtsparameter für rotes Weinlaub

Gleichgewichtsbeziehung	Parameter	Rotes Weinlaub
Nernst	K_{eq}	0,9
	Normalisierte Abweichung	$39 \pm 18 \%$
Freundlich	K_F	0,06
	m	6,6
	Normalisierte Abweichung	$12 \pm 6 \%$
Langmuir	q_m	0,05
	K_L	0,08
	Normalisierte Abweichung	$10 \pm 5 \%$

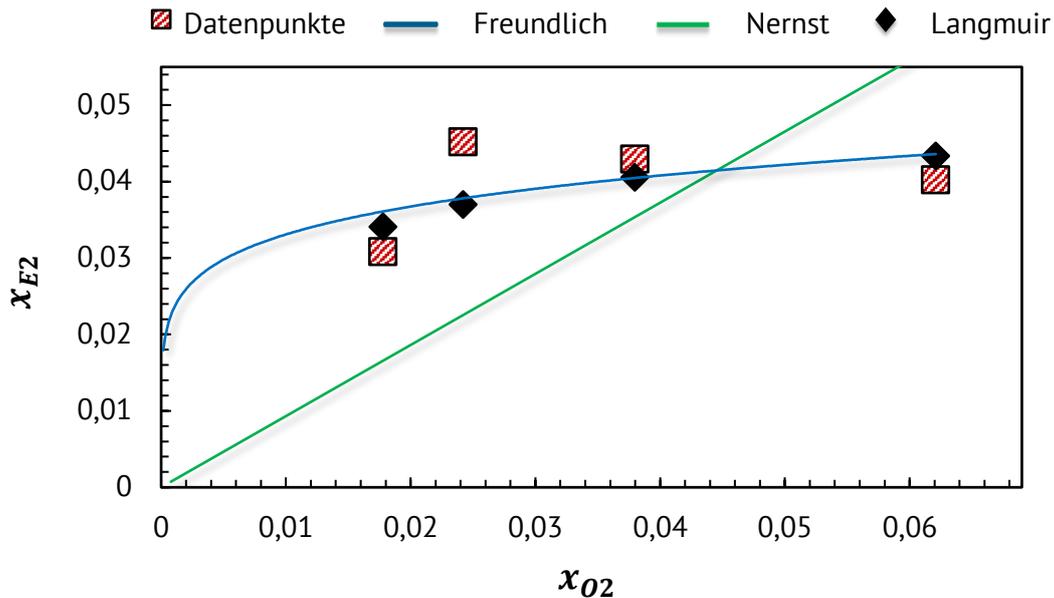


Abbildung 42: Gleichgewichtsparameter für rotes Weinlaub

Die Ergebnisse der Gleichgewichtsparameteruntersuchung für die Melisse ist der Tabelle 20 zu entnehmen. Es zeigt sich, im Vergleich zum roten Weinlaub, ein ähnliches Bild. Auch hier ist die Abweichung für die Langmuir-Isotherme am geringsten. Die Abweichungen sind aber im Falle der Beziehung nach Langmuir und Freundlich größer. Dies ist darauf zurückzuführen, dass die Varianz unter den Datenpunkte stärker ausgeprägt ist, was in Abbildung 43 betrachtet werden kann. Dadurch ist die Bestimmung der passenden Gleichgewichtsbeziehung ungenauer. Für beide Pflanzen wurden getrocknete Blätter verwendet, sodass die stärkere Varianz nicht durch unterschiedliche Pflanzenstrukturen begründet werden kann. Die Pflanzen unterscheiden sich aber durch ihre Zusammensetzung. Die Melisse zählt zu den Kräutern und weist einen hohen Anteil an ätherischen Ölen auf (Tittel et al. 1982). Ein weiterer Unterschied ist das Quellverhalten von Melisse und rotem Weinlaub: Während dem Kontakt mit einem Lösungsmittel kann beobachtet werden, dass Melisse im Gegensatz zu rotem Weinlaub um ein Vielfaches stärker quillt. Dies kann Auswirkungen auf das Extraktionsverhalten der Melisse haben, was sich dann durch die Varianz der ermittelten Datenpunkte äußert.

Die Berechnung der Gleichgewichtsparameter kann für die Süßholzwurzel nicht durchgeführt werden, da die dafür benötigten Anteile der extrahierbaren Stoffe im festen Rückstand x_{O2} negativ ausfallen. Dieses Ergebnis ist als nicht sinnvoll zu betrachten, da ein Anteil nicht negativ sein kann, sondern im Wertebereich von 0 bis 1 liegen muss. Dieser Fehler kann in der verwendeten Form des Pflanzenmaterials begründet sein. Die Partikelgröße der verwendeten Süßholzwurzel liegt bei etwa 0,5 mm. In diesem Pulver ist eine große Menge an feinem Staub enthalten. Kleine Partikel können nur schwer von der Extraktphase abgetrennt werden und werden daher in kleinen Mengen mit der Extraktphase von dem übrigen festen Rückstand nach der Extraktion abgetrennt. Diese vermeintlich kleine Menge kann sich durch die viermalige

Phasentrennung zur Bestimmung der Feststoffzusammensetzung aufsummieren und somit eine signifikante Auswirkung auf die Menge des zurückgebliebenen Rückstands haben, welche für die Bestimmung der Zusammensetzung und folglich auch für die Bestimmung der Gleichgewichtsparameter benötigt wird. Eine Zentrifugation mit 3000 rpm bewirkte keine Besserung der Ergebnisse. Daher wäre für weitere Versuche mit der Süßholzwurzel dieser Partikelgröße zusätzliche Aufreinigungsschritte des Extrakts notwendig, wie beispielsweise die Verwendung einer Ultrafiltrationseinheit. Des Weiteren könnte auf eine größere Partikelgröße zurückgegriffen werden und höhere Mengen an Feststoff sowie Extraktionsmittel verwendet werden. Allerdings muss auch bei der Verwendung von größeren Partikelgrößen mit einem großen Feinanteil gerechnet werden, der auf die holzige Struktur der Süßholzwurzel zurückgeht. Ein Aspekt, der ebenfalls in die Fehlerbetrachtung mit einbezogen werden muss, ist das Verhalten des Pflanzenmaterials während der experimentellen Bestimmungen. Das Pulver zeigt starke elektrostatische Wechselwirkungen mit den umgebenden Oberflächen, was das Einwiegen des Feststoffs erschwert hat. Teilweise können kleine Mengen an der äußeren Wand des Einwiegegefäßes hängengeblieben sein. Diese Partikel gehen dann in das Gewicht des Pflanzenmaterials mit ein, ohne aber an der späteren Extraktion teilzunehmen. Diese Menge wird sich aber nicht stark auf das Endergebnis auswirken.

Tabelle 20: Gleichgewichtsparameter für Melisse

Gleichgewichtsbeziehung	Parameter	Melisse
Nernst	K_{eq}	0,3
	Normalisierte Abweichung	22 ± 18 %
Freundlich	K_F	0,05
	m	3,0
	Normalisierte Abweichung	22 ± 12 %
Langmuir	q_m	0,03
	K_L	0,06
	Normalisierte Abweichung	17 ± 17%

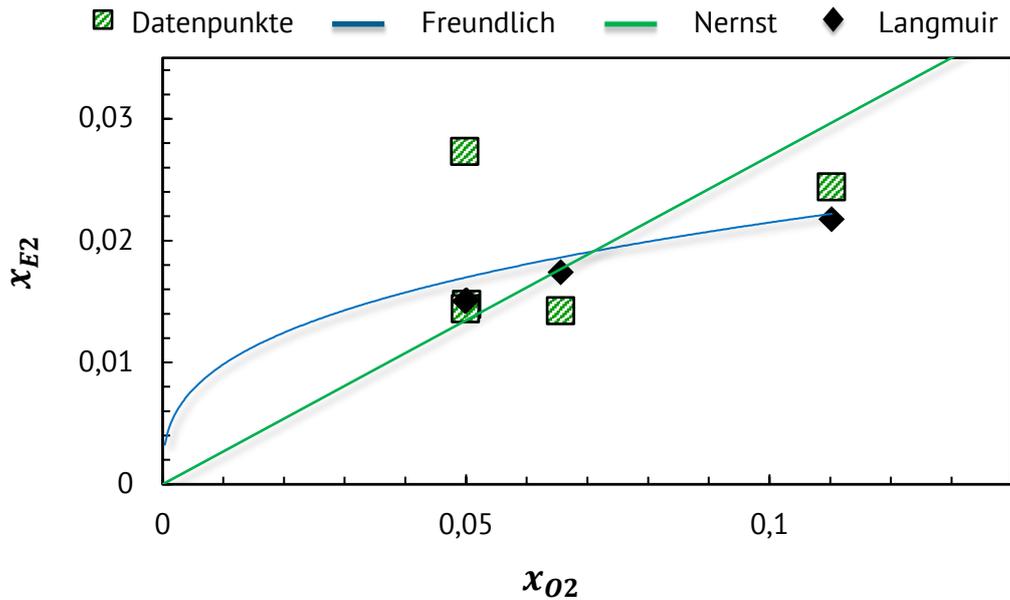


Abbildung 43: Gleichgewichtsparameter für Melisse

Neben den Gleichgewichtsparametern der einzelnen Gleichgewichtsbeziehungen wird außerdem die spezifisch zurückgehaltene Lösung \dot{M} aus den experimentell gewonnenen Daten für alle drei Pflanzen berechnet. Die Werte werden über den Massenanteil der nicht extrahierbaren Stoffe im Extrakt aufgetragen. Für das rote Weinlaub ergeben sich nahezu konstante Werte für \dot{M} . Der Wert liegt bei $7,1 \pm 0,6$ (vergleiche Abbildung 44).

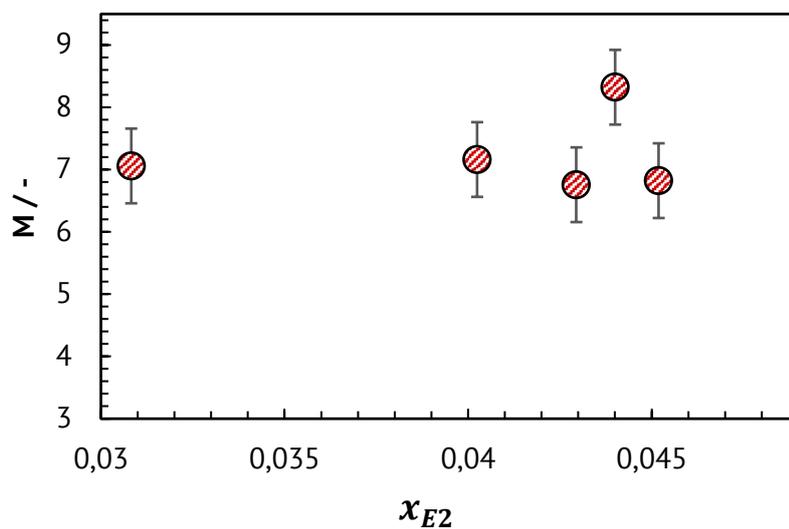


Abbildung 44: Spezifisch zurückgehaltene Lösung \dot{M} des roten Weinlaubs

Die spezifisch zurückgehaltene Lösung \dot{M} für die Melisse zeigt in der Abbildung 45 einen nicht konstanten Wert. Der Wert für \dot{M} schwankt für kleinere Anteile des extrahierbaren Stoffes

im Extrakt um den Wert 23,0, bei den größeren Anteilen um den Wert 15,6. Als Mittelwert kann hier der Wert $19,4 \pm 4,2$ angegeben werden.

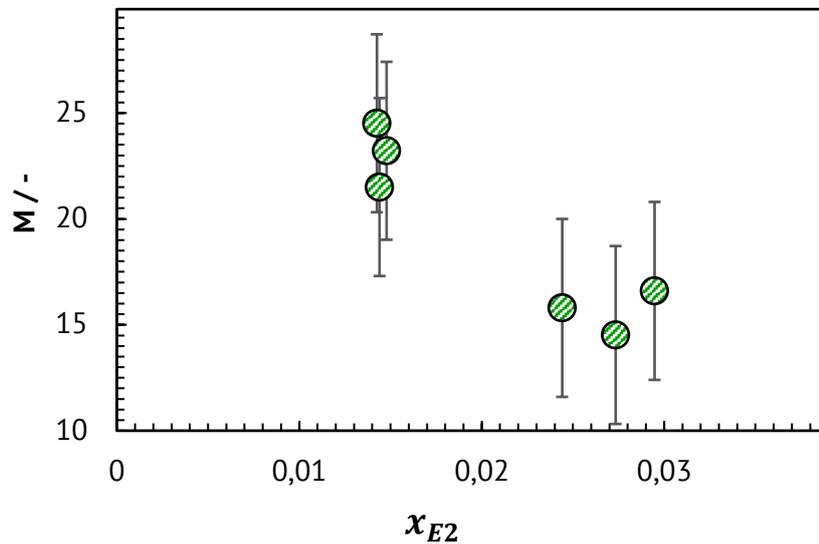


Abbildung 45: Spezifisch zurückgehaltene Lösung \dot{M} der Melisse

Für die Süßholzwurzel zeigt sich, wie auch für das rote Weinlaub, ein nahezu konstanter Wert für \dot{M} . Als Mittelwert ergibt sich $11,1 \pm 1,5$, vergleiche Abbildung 46.

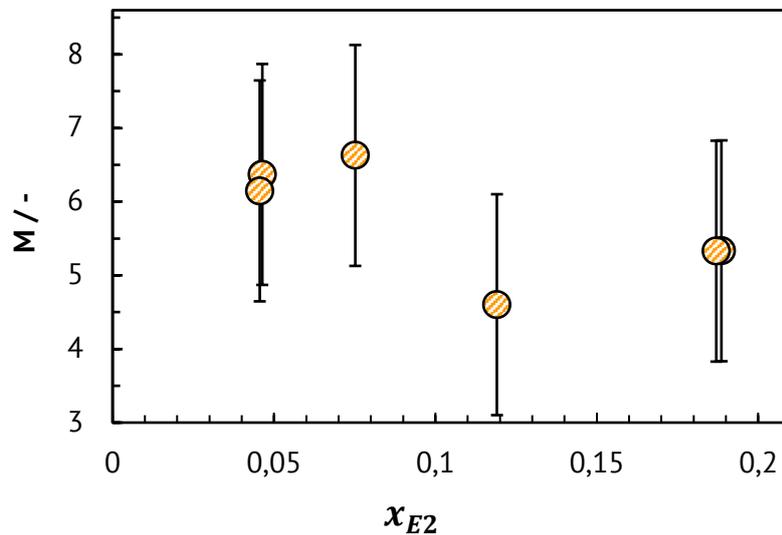


Abbildung 46: Spezifisch zurückgehaltene Lösung \dot{M} der Süßholzwurzel

Die spezifisch zurückgehaltene Lösung entspricht der Menge des im Rückstand verbliebenen Extrakts bezogen auf die nicht extrahierbare Feststoffmenge im Rückstand. Im Falle des roten Weinlaubs und der Süßholzwurzel sind die Werte für \dot{M} nahezu konstant. Castillo-Santos et al.

und Vázquez-León et al. zeigten ebenfalls in ihren Arbeiten, dass dieser Wert für die Vanilleschote ($2,8 \pm 0,2$) und für die Blätter des Baums *Moringa Oleifera* ($6,9 \pm 0,2$ für zerkleinerte Blätter und $5,7 \pm 0,2$ für ganze Blätter) konstant ist (Castillo-Santos et al. 2016a; Vázquez-León et al. 2019). Das bedeutet, dass nach jeder Stufe immer die gleiche Menge an Extrakt im Rückstand verbleibt. Vázquez-León et al. zeigen zudem, dass sich für kleinere Partikelgrößen größere Werte für \dot{M} ergeben. Je größer der Wert von \dot{M} , desto geringere Wertstoffausbeuten können erzielt werden. Daraus resultieren größere benötigte Extraktionsmittelmengen pro Feststoffmenge und eine größere Anzahl an benötigten Extraktionsstufen (Vázquez-León et al. 2019). Die Werte für \dot{M} sind für das rote Weinlaub, die Süßholzwurzel sowie für die Melisse größer im Vergleich zu dem Wert der Vanilleschote, dies deckt sich mit der Aussage nach Vázquez-León, da die Vanilleschoten mit 1 cm Stücken im Vergleich zu den hier verwendeten Partikelgrößen von kleiner 2 mm für rotes Weinlaub, kleiner 0,5 mm für Süßholz und kleiner 6 mm für die Melisse, größer sind.

Für die Melisse zeigt die spezifisch zurückgehaltene Lösung eine Abhängigkeit von den Anteilen der extrahierten Stoffe im Extrakt. Diese Abweichung ist darin begründet, dass in der experimentellen Bestimmung der Gleichgewichtsparameter zwei verschiedene Feststoff-Extraktionsmittelverhältnisse verwendet wurden. Für die Melisse wurden 1 g und 2 g Feststoff bei gleicher Extraktionsmittelmenge verwendet. Es war aber nicht möglich, bei der Verwendung von 1 g Feststoffmenge genau doppelt so viel Extrakt von der flüssigen Phase abzutrennen im Vergleich zu der Verwendung von 2 g Feststoff, da sonst Feststoffpartikel mitentnommen werden und so das Ergebnis verfälscht wäre. Dies ist der verwendeten Einmalspritze zu verschulden, mit der es schwierig war, das Extraktionsmittel im Falle der kleineren Feststoffmenge aus dem hohen Falcon zu entnehmen. Dies macht sich besonders im Falle der Melisse bemerkbar, da hier größere Partikel verwendet werden, welche durch die größere Schüttdichte ein größeres Volumen im Falcon einnehmen, im Vergleich zu den beiden anderen Feststoffen. Im Falle der größeren Feststoffmenge kann aufgrund der dadurch entstehenden Füllhöhe im Gefäß das Extrakt problemlos entnommen werden. Die Füllhöhe der kleineren Feststoffmengen fällt im Vergleich geringer aus, und fällt in den Bereich des Gefäßes, in dem mit der Einmalspritze nicht das vollständig überstehende Extrakt entnommen werden kann. Für das rote Weinlaub und das Süßholz zeigt sich das Problem nicht, da hier die Füllhöhe von beiden Feststoffmengen in dem unteren Bereich des Falcons liegen, sodass durch die Verwendung der Einmalspritze immer ungefähr die gleiche Menge an Extrakt im Rückstand verbleibt, da die Einmalspritze nicht weiter in das Gefäß eingeführt werden kann. Das Entnehmen des Extrakts sollte in Zukunft daher automatisiert stattfinden. Dann könnte die Entnahmenadel des Extrakts immer gleich tief in den Falcon eingeführt werden, um so eine gleichmäßigere Entnahme des Extrakts zu gewährleisten, wodurch der Wert für \dot{M} konstant wäre.

4.3.3 Modellierung

Die Modellierung wird mit den in dieser Arbeit bestimmten Feststoffzusammensetzungen und den Gleichgewichtsparametern durchgeführt. Die Extraktionsmittelmengen werden unter Verwendung der drei Gleichgewichtsbeziehungen nach Freundlich, Nernst und Langmuir berechnet. Die Berechnungen ergeben die in den Diagrammen Abbildung 47 und Abbildung 48 aufgezeigten Extraktionsmittelmengen. Verglichen werden diese mit den tatsächlich eingesetzten Extraktionsmittelmengen, welche in rot-schraffiert markiert sind. Die Abweichung der berechneten Extraktionsmittelmengen von den experimentell eingesetzten Mengen wird als *Abw* bezeichnet. In Abbildung 47 sind die Ergebnisse für das rote Weinlaub aufgezeigt. Es stellte sich heraus, dass für die Extraktionsmittelmengen nach der Berechnung mit der Gleichgewichtsbeziehung nach Langmuir starke Abweichungen mit einem Wert von 92 % von den tatsächlichen Werten auftreten. Zudem nimmt die Extraktionsmittelmenge in Stufe 2 einen negativen Wert an. Dieses Ergebnis ist nicht sinnvoll, da eine Menge nicht negativ sein kann. Aufgrund dieser Extrema werden die berechneten Extraktionsmittelmengen für Langmuir nicht in der Abbildung 47 gezeigt. Die Extraktionsmittelmengen nach der Nernst-Isotherme haben im Mittel eine Abweichung von 19 % und nach der Freundlich-Isotherme etwa 25 %.

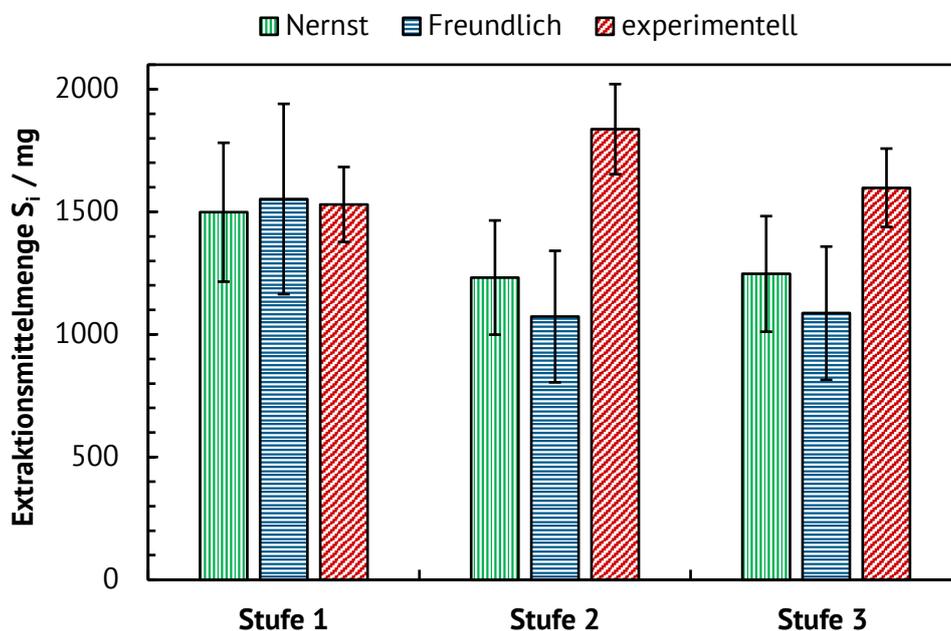


Abbildung 47: Berechnete Extraktionsmittelmengen für das rote Weinlaub

Die Abbildung 48 zeigt die Ergebnisse der Modellierung der Kreuzstromextraktion für die Melisse. Hier lässt sich erkennen, dass die berechneten Extraktionsmittelmengen einer Stufe im Vergleich zum roten Weinlaub weniger stark untereinander schwanken. Zu den tatsächlich

eingesetzten Mengen gibt es hier allerdings große Abweichungen. Für die Langmuir-Isotherme als auch für die Nernst-Isotherme ergeben sich Abweichungen von 69 %, sowie für die Freundlich-Isotherme eine Abweichung von 66 %.

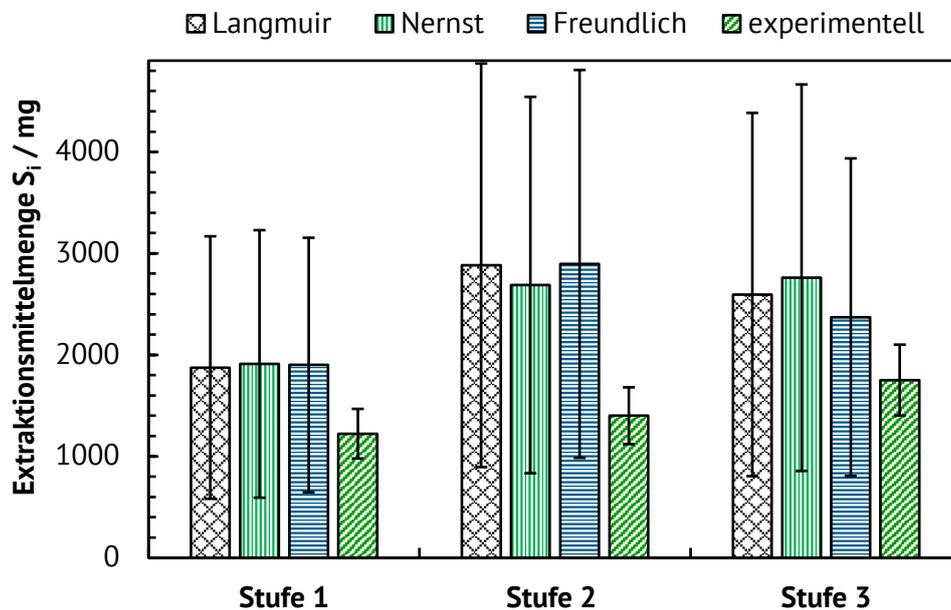


Abbildung 48: Berechnete Extraktionsmittelmengen für die Melisse

Die Abweichungen sind für das rote Weinlaub unter Verwendung der Gleichgewichtsfunktion nach der Nernst- bzw. Freundlich-Isotherme mit 19 % bzw. 25 % relativ gering. Diese Abweichung ist in Anbetracht der geringen Datenmenge und der Heterogenität von Pflanzen als akzeptabel zu betrachten. Die Modellierung der Extraktion von rotem Weinlaub wurde daher erfolgreich durchgeführt und kann zukünftig zur Optimierung der benötigten Extraktionsmittelmenge verwendet werden. Die Abweichungen für die Melisse sind im Vergleich zum roten Weinlaub größer. Zusätzlich zeigen die Ergebnisse, dass das Berechnungsmodell stark abhängig von der gewählten Gleichgewichtsbeziehung ist, da trotz gleicher Ausgangswerte der Modellierung die Verwendung der Gleichgewichtsbeziehung nach der Langmuir-Isotherme für das rote Weinlaub zu großen Abweichungen Abw führt im Vergleich zu den Ergebnissen bei Verwendung der beiden anderen Gleichgewichtsbeziehungen. Daher liegt die Vermutung nahe, dass die Abweichungen der berechneten Extraktionsmittelmengen von den tatsächlich eingesetzten Extraktionsmittelmengen in den fehlerhaft bestimmten Gleichgewichtsparameter begründet sein könnte. Die Datenpunkte, die durch die experimentelle Bestimmung der Gleichgewichtsparameter erhalten werden, zeigen starke Abweichungen untereinander. Zusätzlich ist die Datenmenge zu gering, um eine klare Tendenz ausmachen zu können, wodurch die darauf ausgelegten Gleichgewichtsbeziehung große Abweichungen in y -Richtung zu den Datenpunkten aufweisen. Da die Gleichgewichtsparameter und die dazugehörigen Gleichgewichtsbeziehungen bereits in der ersten Stufe des Lösungsalgorithmus des Modells

verwendet werden, übertragen sich die Abweichungen in y -Richtung der bestimmten Gleichgewichtsfunktionen auf die Werte von Abw . Dies spiegelt sich auch darin wider, dass die Werte für Abw im Falle der Melisse größer sind im Vergleich zum roten Weinlaub, da auch die Abweichungen in y -Richtung der Gleichgewichtsfunktion von den Datenpunkten für die Melisse größere Abweichungen erzielen. In Zukunft sollte mit einer größeren Anzahl an Proben experimentiert werden.

Neben den Gleichgewichtsparametern, die für die jeweilige Gleichgewichtsbeziehungen bestimmt werden, spielt auch die spezifisch zurückgehaltene Lösung \dot{M} eine Rolle in der Entstehung der großen Abw -Werte der Melisse. Der zweite Schritt des verwendeten Algorithmus stellt die Berechnung der zurückgehaltenen Lösung im Extrakt dar, die mit Hilfe von \dot{M} berechnet wird. Es wurde bereits gezeigt, dass der Wert für \dot{M} durch die experimentelle Bestimmung nicht konstant ist, was auf die Ausführung der Phasenabtrennung nach den einzelnen Extraktionsstufen zurückgeführt werden kann. Daher wird überprüft, ob der Wert für Abw geringer wird, wenn ein Mittelwert für \dot{M} verwendet wird, der aus den ermittelten \dot{M} -Werten bei Verwendung des größeren Feststoff-Extraktionsmittelverhältnisses hervorgeht. Für die Modellierung wird daher der Wert 15,6 anstatt 19,4 für \dot{M} verwendet. Der Wert von Abw nimmt unter Verwendung des neuen \dot{M} -Werts für die Langmuir-Isotherme und die Nernst-Isotherme einen Wert von 50 % (vorher 66 %) an, für die Freundlich-Isotherme einen Wert von 47 % (vorher 69 %). Somit ist gezeigt, dass für \dot{M} der Wert 15,6 angenommen werden kann, der für die Extraktion der größeren Feststoffmenge bestimmt wurde. Die größere Abweichung von Abw im Falle der Melisse kann daher auch auf die fehlerhafte Bestimmung der spezifisch zurückgehaltenen Lösung zurückgeführt werden. Bei der experimentellen Durchführung ist sehr wichtig auf die gleichmäßige Entnahme des Extrakts zu achten. Allgemein besitzen Pflanzenmaterialien eine sehr große Bandbreite an Partikelgrößenverteilungen und heterogenen Beschaffenheit. Je kleiner die Partikelgröße, desto schlechter lassen sich die Partikel von der Extraktphase nach der Extraktion abtrennen. Dadurch können teilweise Feststoffpartikel vom restlichen Rückstand abgetrennt werden. Wird nun die Menge des Rückstands bestimmt, weicht diese von der Realität ab. Da die Menge des Rückstands für die Bestimmung der Feststoffzusammensetzung als auch der Gleichgewichtsparameter essenziell ist, welche in die Modellierung des Prozesses eingehen, erklärt auch die verwendete Partikelgröße die Abweichung Abw der Extraktionsmittelmengen.

Es können auch Fehler, in den dreistufigen Kreuzstromextraktionen mit dem automatisierten Hochdurchsatzsystem entstanden sein. Die Anteile der extrahierbaren Stoffe im Extrakt wurden durch die Trocknung des Extrakts ermittelt. Die Menge des getrockneten Extrakts entspricht dabei der Menge des extrahierten Materials. Auch hier können durch die Verwendung der kleinen Partikelgröße während der Phasentrennung teilweise kleine Mengen des Feststoffs mit der Extraktphase abgetrennt worden sein. In diesem Fall wäre die Menge des extrahierten Materials größer bestimmt worden als sie tatsächlich ist, was dann wiederum ein Grund für die Abweichungen der berechneten Extraktionsmittelmengen von den tatsächlichen Extraktionsmittelmengen darstellt.

Trotz der Abweichungen stellt diese Modellierung eine gute Vorhersage für die Extraktionsmittelmengen für eine dreistufige Kreuzstromextraktion dar und bietet eine sehr gute Grundlage für die Erweiterung, um die Temperaturabhängigkeit und die Vorhersage der Wirkstoffkonzentration zusätzlich zu den Massenbilanzen zu implementieren.

5. Zusammenfassung und Ausblick

Diese Dissertation untersucht detailliert das Extraktionsverhalten von verschiedenen Pflanzenmaterialien mit der Verwendung alternativer Prozesskonzepte zur Gewinnung sekundärer Pflanzenstoffe. Im Ergebnisteil werden die biologischen, chemischen und physikalischen Beschaffenheiten der unterschiedlichen Pflanzenmaterialien und die alternativen Prozesskonzepte in Bezug auf die Extraktionskinetik im Allgemeinen diskutiert. Die Konzeption der mikrowellen-, ultraschallwellen- und hochspannungsimpulsunterstützten Extraktionstechnologien wird dargestellt, die die Limitierung des diffusiven Stofftransport durch die Zerstörung der Zellmembranen überwindet. Die Modellierungen können die Geschwindigkeitskonstanten, die Aktivierungsenergien, die effektiven Diffusionskoeffizienten, die Pseudo-Gleichgewichte und die Extraktionsmittelmengen für mehrstufige Prozesse wiedergeben, und zwar für Pflanzenmaterialien mit verschiedenartigen Wirkstoffen unter geänderten Extraktionsbedingungen. In jedem der Experimente, die in der Dissertation gezeigt werden, wird das Verhalten der Extraktionskinetik von verschiedenen Pflanzenmaterialien und alternativen Prozesskonzepten analysiert anstatt nur eine Pflanzenspezies mit alternativen Prozesskonzepten wie in früheren Studien. Im Verlauf dieser Dissertation wird eine Vielzahl an Parametern modifiziert, von denen entweder angenommen wird, dass sie wenig Einfluss auf die Extraktionskinetik haben oder keine Beeinflussung in vorangegangenen Studien aufweisen.

Die Effekte der unterschiedlichen Prozesskonzepte werden auf blättrige, holzartige Pflanzenmaterialien sowie Samen und Kräuter spezialisiert. Um die Pflanzenmaterialien zu charakterisieren und den Einfluss der Probenvorbereitung auf den Extraktionsprozess zu korrelieren, werden die Schüttgutdichte, der Anteil an flüchtigen Bestandteilen und die Partikelgrößenverteilungen bestimmt sowie die Extraktionsmittel und Phasenverhältnisse variiert. Für alle Pflanzenmaterialien stellt sich heraus, dass der Anteil der flüchtigen Bestandteile nach einer langen Zeit der Erwärmung mit $6 \pm 2 \%$ bezogen auf die Masse übereinstimmend ist. Die Schüttgutdichte ist für die blättrigen Pflanzenmaterialien Melisse und rotes Weinlaub am geringsten und ein wenig höher für die Süßholzwurzel. Holunderbaumrinde zeigt aufgrund der heterogenen Partikelgrößen die größte Schüttgutdichte und die Schüttgutdichte der Annattosamen liegt durch ihre elliptische Form im Mittelfeld. Als effektivstes Extraktionsmittel erweist sich Methanol in Bezug auf die Löslichkeit der Wirkstoffe. Wegen der Toxizität von Methanol im Extrakt wird Wasser, Ethanol und Ethylacetat als Extraktionsmittel trotz geringeren Ausbeuten an Wirkstoffen favorisiert. Bei den Pflanzenmaterialien Süßholzwurzel und rotes Weinlaub erhöht sich die Ausbeute an Wirkstoffen mit Erhöhung des Feststoffes im Extraktionsmittel. Dagegen bleibt die Ausbeute an Wirkstoffen bei der Extraktion von Melisse, Annattosamen und Holunderbaumrinde in Bezug auf das Phasenverhältnis konstant. Diese scheinbar gegensätzlichen Ergebnisse zeigen, dass eine Löslichkeitsgrenze der Wirkstoffe im Extraktionsmittel vorliegen und für jedes Pflanzenmaterial mit ihrer Unterschiedlichkeit dies

nachgeprüft werden muss. Während der Aufrechterhaltung einer konstanten Extraktionstemperatur und eines stetigen Phasenverhältnisses wird, zusätzlich zu den Pflanzenmaterialien die Parameter der unterstützenden Extraktionstechnologien verändert: die Amplitude der Ultraschallsonde, die Leistung des Mikrowellenofens und die elektrische Feldstärke bei der Hochspannungsimpulsbehandlung. Eine Variation der Extraktionstemperatur erhöht bis zur Degradation der Wirkstoffe die Konzentration der sekundären Pflanzenstoffe im Extrakt, dies ist übereinstimmend mit einer Vielzahl an Literaturergebnissen. Bei einer Veränderung der Amplitude der Ultraschallsonde wird ein geringer Einfluss auf die Ausbeute der Wirkstoffe im Gegenteil zum Wechsel der Leistung bei der dielektrischen Erwärmung. Durch die hohe Leistung entstehen Hot-Spots beim Extraktionsprozess, die je nach Pflanzenmaterial zur Degradation der Wirkstoffe führen. Aufgrund von Überschlägen kann die Hochspannungsimpulsbehandlung in wässrigen Systemen mit einem maximalen Ethanol-Anteil von 25 % angewendet werden. Bei nicht getrockneten, frisch geernteten Pflanzenmaterial intensiviert mittels einfachem Pulsprotokoll und hoher elektrischer Feldstärke die Diffusion der Wirkstoffe erheblich. Für alle unterschiedlichen Pflanzenmaterialien werden die alternativen Prozesskonzepte überprüft und die mikrowellenunterstützte Extraktionstechnologie wirkt in Bezug auf die Ausbeute der Wirkstoffe am effektivsten. Zusätzlich verbessert die Anwendung von Ultraschallwellen den Stofftransport aus den Pflanzenzellen in das Extraktionsmittel im Vergleich zur Mazeration. Es wird fortgeföhren das Verfahren der Perkolation zu überprüfen, dabei entstehen bei den verwendeten Pflanzenmaterialien entweder Feststoffkanäle oder die Benetzung des Festbetts ist trotz technischer Optimierung unvollständig und führt zu den geringsten Ausbeuten an Wirkstoffen.

Diese Beobachtungen werden durch die Berechnung der Geschwindigkeitskonstanten und der daraus resultierenden Aktivierungsenergien bestätigt. Die Geschwindigkeitskonstanten werden sehr gut mit dem Ansatz nach Arrhenius beschrieben und steigern sich mit der Erhöhung der Temperatur. Die ermittelten Aktivierungsenergien lassen sich gut mit der Beschaffenheit der Pflanzenmaterialien und der Lokalisation der Wirkstoffe korrelieren. Die geringste Aktivierungsenergie mit $-E_A = 6,7 \frac{\text{kJ}}{\text{mol}}$ wird für den Farbstoff Bixin, welcher sich auf der äußeren umhüllenden Schicht des Samens befindet, ermittelt. Für die Polyphenole, welche in den Vakuolen des roten Weinlaubs lokalisiert sind, resultiert eine mittlere Aktivierungsenergie mit $-E_A = 15,9 \frac{\text{kJ}}{\text{mol}}$. Die höchste Aktivierungsenergie mit durchschnittlich $-E_A = 26,7 \frac{\text{kJ}}{\text{mol}}$ haben Ursol- und Oleanolsäure aus der Holunderbaumrinde, welches das Pflanzenmaterial mit verholzten Zellen und der größten Schüttgutdichte ist. Die Berechnung des effektiven Diffusionskoeffizienten nach dem zweiten Fick'schen Gesetz durch die analytische Lösung der partiellen Differentialgleichung unterstützt zudem die Abhängigkeit des Stofftransport zur Beschaffenheit des jeweiligen Pflanzenmaterials als auch die Lokalisierung der Wirkstoffe. Die niedrigsten effektiven Diffusionskoeffizienten werden für die holzartigen Pflanzenmaterialien: Holunderbaumrinde mit der Ursolsäure von $1,6 \cdot 10^{-12} \frac{\text{m}^2}{\text{s}}$ und Süßholzwurzel mit der Glycyrrhizinsäure $2,2 \cdot 10^{-12} \frac{\text{m}^2}{\text{s}}$ festgestellt. Für das blättrige Pflanzenmaterial wird für die Polyphenole ein effektiver Diffusionskoeffizient von $3,8 \cdot 10^{-12} \frac{\text{m}^2}{\text{s}}$

im mittleren Bereich identifiziert. Ein hoher effektiver Diffusionskoeffizient von $6,2 \cdot 10^{-12} \frac{m^2}{s}$ wird für den Farbstoff Bixin beim Herauslösen aus der äußeren Samenschicht ermittelt und der höchste effektive Diffusionskoeffizient zeigt die Rosmarinsäure aus dem Melissenkraut mit $6,6 \cdot 10^{-12} \frac{m^2}{s}$. Diese Beobachtung kann nicht vollständig erklärt werden, weil das Quellverhalten beobachtet und nicht durch Experimente wie eine Messreihe mit Variationen an Vorquellen verifiziert wurde.

In einem weiteren Kapitel wird die Modellierung eines mehrstufigen Kreuzstromprozesses basierend auf Massenbilanzen dargestellt. Die Beladungen als Anteile der extrahierbaren Stoffe im Extrakt x_{E2} sowie im festen Rückstand x_{O2} werden an die Isotherme nach Freundlich, Nernst und Langmuir angepasst. Für das rote Weinlaub wird die Menge an benötigten Extraktionsmittel auf Grundlage des Gleichgewichts im Vergleich zu den experimentellen sehr genau für drei Extraktionsstufen vorhergesagt. Mit größeren Abweichungen kann des Weiteren die Menge an benötigten Extraktionsmittel begründet auf den Freundlich-, Nernst- und Langmuir-Isothermen für das Kraut Melisse berechnet werden. Obwohl die Vorgehensweise für die Süßholzwurzel gleichblieb, werden negative Massenbilanzen festgestellt. Einen genauen Zusammenhang kann nicht eindeutig formuliert werden. Eine Phasentrennung bei der Extraktion von Süßholzwurzel hinsichtlich der kolloiden Partikel sowohl im Reststoff als auch im Extrakt aufwendiger und kann so zu Fehler in den Massenbilanzen führen.

In der Tat legt diese Dissertation offen, dass für jedes Pflanzenmaterial die Einstellung und Betriebsführung des Extraktionsprozesses einen großen Effekt auf das Diffusionsverhalten der Wirkstoffe haben. Neben den analysierten Pflanzenmaterialien bieten sich vielfältig weitere Pflanzen an, diese auf das Extraktionsverhalten der sekundären Pflanzenstoffe zu untersuchen. Zusätzlich zu holzartigen Materialien gibt es eine ganze Bandbreite an Kräutern, die durch ihren hohen Anteil an ätherischen Ölen sehr interessant sind. Außerdem können auch Blüten von der Wurzel bis zum Blumenkopf, wie z.B. die Kamille ein äußerst fasziniertes Extraktionsmaterial, vor allem in Bezug auf alternative Prozesskonzepte und mehrstufiger Auslegung, darstellen. Auch bei allen möglichen Samenarten, wie z.B. Kümmel ist die Extraktion und die damit verbundene Aufkonzentrierung der Wirkstoffe zur Bekämpfung von Krankheiten erwünscht. Zudem sind weitere alternative Prozesskonzepte und Kombinationen dieser Konzepte denkbar. Um die beste Auswahl zu treffen, wird zusätzlich zur Ausbeute eines sekundären Pflanzenstoffes eine detaillierte Untersuchung der Nebenprodukte und weiterer Parameter wie die biologische Aktivität, etc. empfohlen. Eine systematische Analyse der Wirkung von Extrakten kann den Einfluss der alternativen Prozesskonzepte besser abschätzen und auswerten. Auch eine Weiterentwicklung der verfahrenstechnischen Modellierung, so dass alle Pflanzenmaterialien mehrstufig dargestellt werden können, ist wünschenswert. Es ist vorstellbar, alle diese gewonnenen Daten und Ergebnisse in einer Datenbank zu sammeln.

Anhang

A.1. Kalibriergeraden

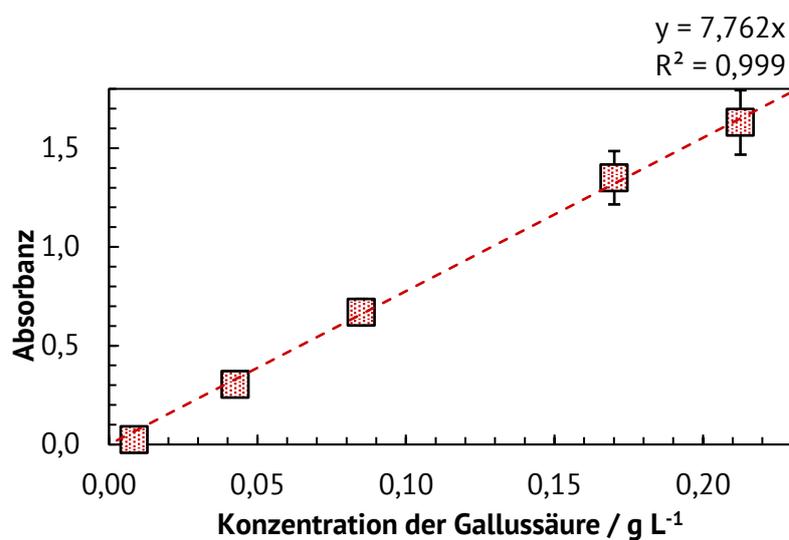


Abbildung 49: Kalibriergerade zur Bestimmung des Polyphenolgehaltes im roten Weinlaub Extrakt bezogen auf Gallussäure-Äquivalente

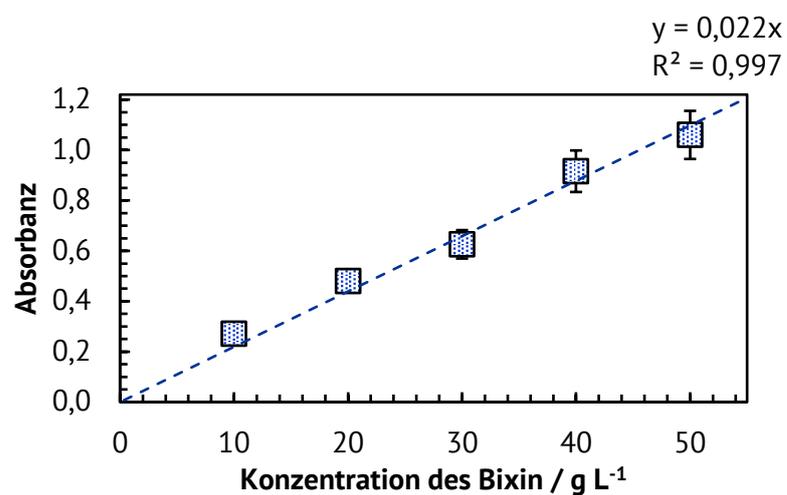


Abbildung 50: Kalibriergerade zur Bestimmung der Konzentration an Bixin in den Annattosamen-Extrakten

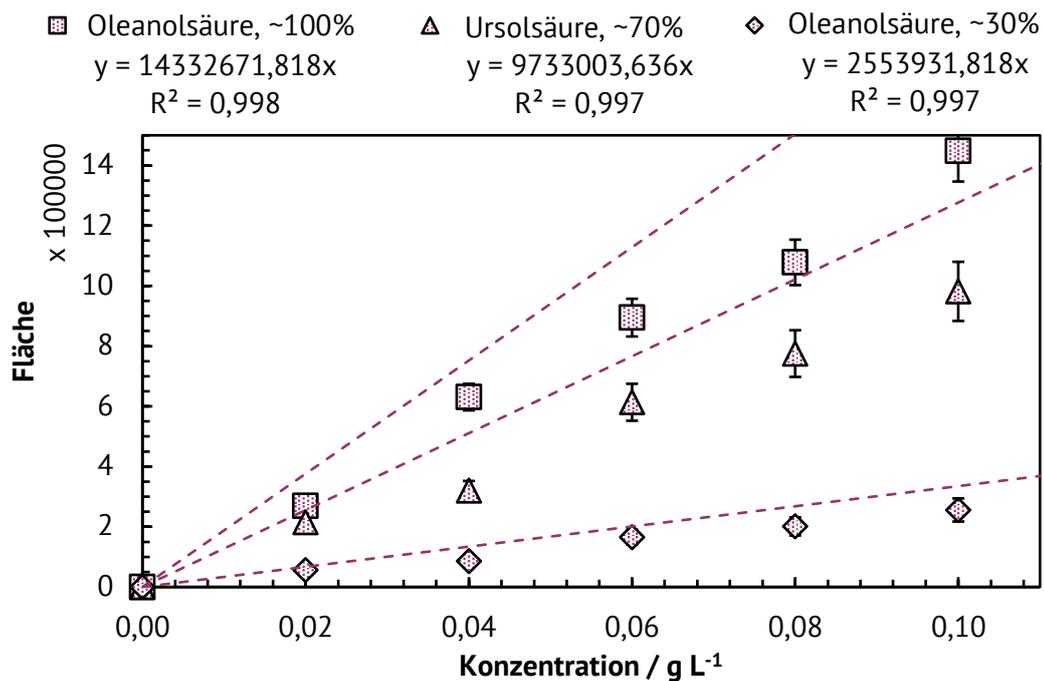


Abbildung 51: Kalibriergerade zur Bestimmung der Konzentration an Ursol- und Oleanolsäure in den Holunderrindenextrakten

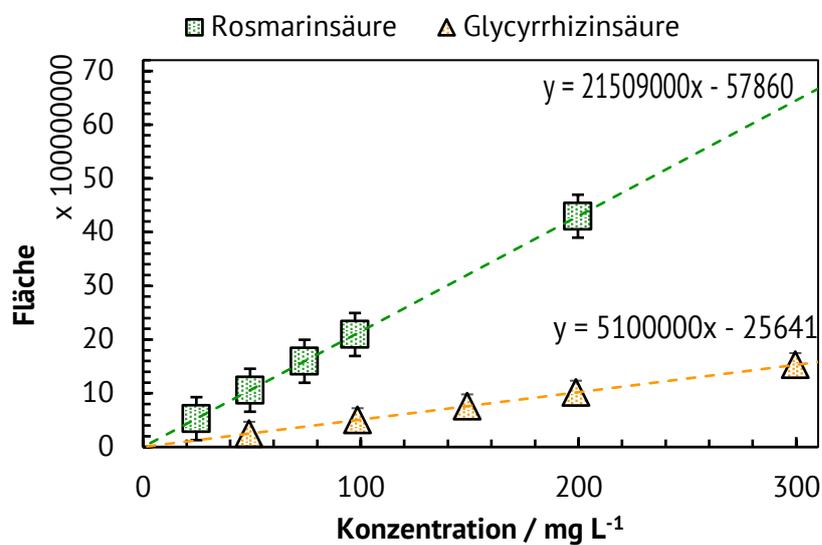


Abbildung 52: Kalibriergerade zur Bestimmung der Konzentrationen an Rosmarinsäure in den Melissenextrakten und Glycyrrhizinsäure in den Süßholzwurzelextrakten

A.2. Technische Dokumentation Hochspannungsimpulsanlage

1. Aufbau der Hochspannungsimpuls-Anlage

Die Abbildung 53 und Abbildung 54 zeigen den Aufbau der Hochspannungsimpulsanlage. Die einzelnen Module, relevante Elemente und Geräte werden auf ihre Bedienung und Funktionsweise im Folgenden beschrieben und erklärt.

Der Aufbau der Hochspannungsimpulsanlage ist in zwei Bereiche unterteilt, welche durch einen Spritzschutz getrennt sind (siehe Abbildung 53).

- Links vom Spritzschutz befinden sich die Geräte, die für die Hochspannungserzeugung und Regelung nötig sind, siehe Kapitel 1.1.
- Rechts vom Spritzchutz ist der Hochspannungsverarbeitende Bereich mit den zwei Plattenelektroden, welche in ein mit Magnetrührer ausgestattetes Becherglas eingebracht werden können. Dieser diskontinuierliche Aufbau mit Plattenelektroden und Becherglas ist optional und kann je nach Bedarf angepasst werden. Der dargestellte Aufbau ist in Kapitel 1.2. erläutert.

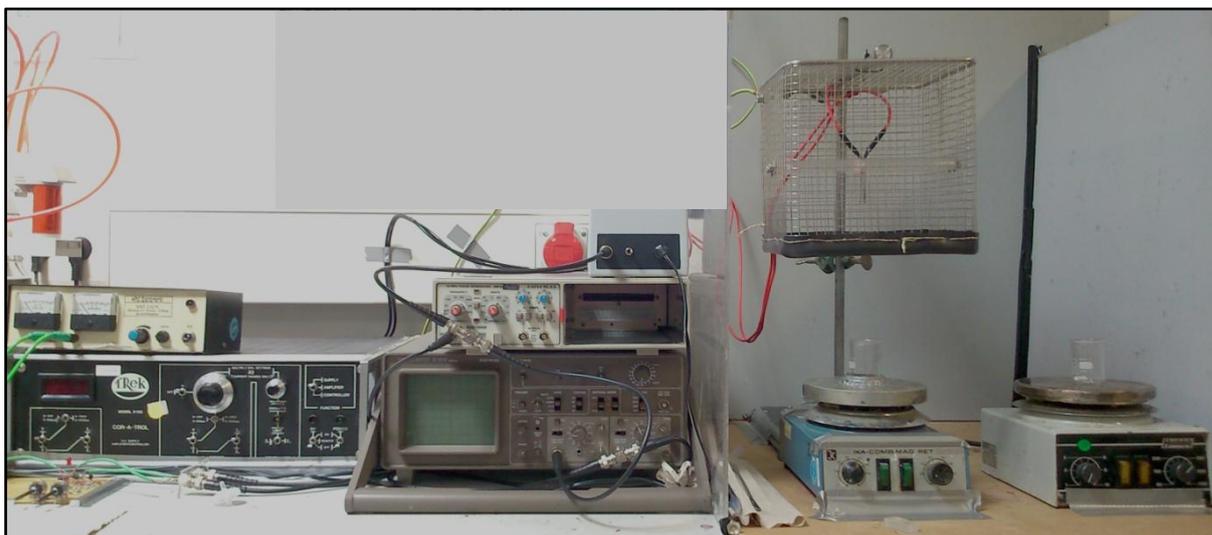


Abbildung 53: Aufbau der Hochspannungsimpulsanlage

In Abbildung 54 ist der Verbindungsplan der Hochspannungsimpulsanlage schematisch dargestellt. Hierbei ist zu beachten, dass im Hochspannungsbereich speziell geeigneten

Hochspannungskabeln verwendet werden. Für die Signalverarbeitung sind BNC-Kabel vorgesehen.

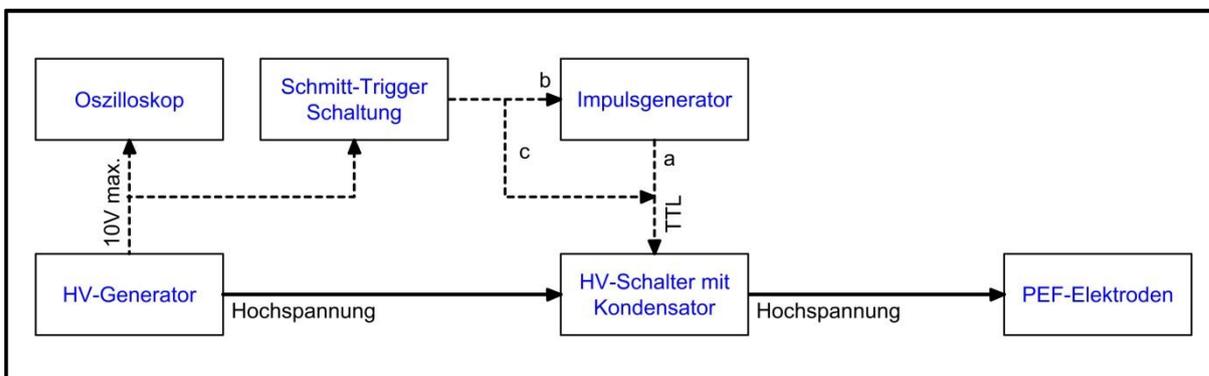


Abbildung 54: Verbindungsplan der Hochspannungsimpulsanlage

1.1 Hochspannungserzeugung und Regelung

Die Abbildung 55 zeigt die Messung, Erzeugung und Regelung der Hochspannungsimpulse durch folgende Geräte:

- 1 Hochspannungsgenerator Trek 610C
- 2 Hochspannungsschalter mit Ladekondensator und ON/OFF Schalter
- 3 Impulsgenerator HAMEG 8035
- 4 Schmitt-Trigger Schaltung mit Modusregler
- 5 Oszilloskop D1010

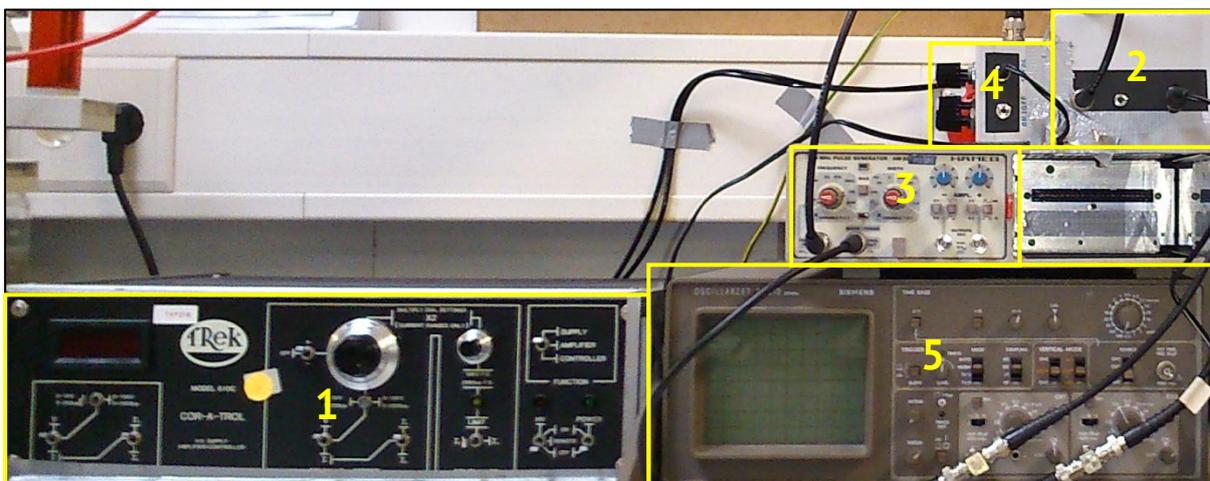


Abbildung 55: Messung, Erzeugung und Regelung der Hochspannungsimpulse

1.1.1 Hochspannungsgenerator

Der Hochspannungsgenerator wird für die Erzeugung der gewünschten Hochspannung benötigt (siehe Abbildung 56) und besitzt folgende Funktionen:

- 1 A: ON/OFF Schalter für Hochspannungsgenerator
B: ON/OFF Schalter für Hochspannung
 - Warten Sie 30 Sekunden nach dem Einschalten des Hochspannungsgenerators, bevor Sie die Hochspannung einschalten!
- 2 Hochspannungsregler mit Bereichsschalter: Rechte Schalterstellung: 10kV (linke Schalterstellung: 1kV)
 - Stellen Sie die Bereichsschalter auf 10kV
 - Beachten Sie die maximale Spannung von 1700V des Hochspannungsschalters!
 - Achten Sie auch darauf, dass die maximale Stromstärke von 12 A nicht überschritten wird. Hinweis: $I = \frac{U}{R}$; $R \approx 200\Omega$
- 3 Hochspannungsgenerator Arbeitsmodus auf Supply (!!!) einstellen (obere Schalterstellung)
- 4 Spannungsanzeige mit Bereichsschalter: Rechte Schalterstellung: 10kV (linke Schalterstellung: 1kV)

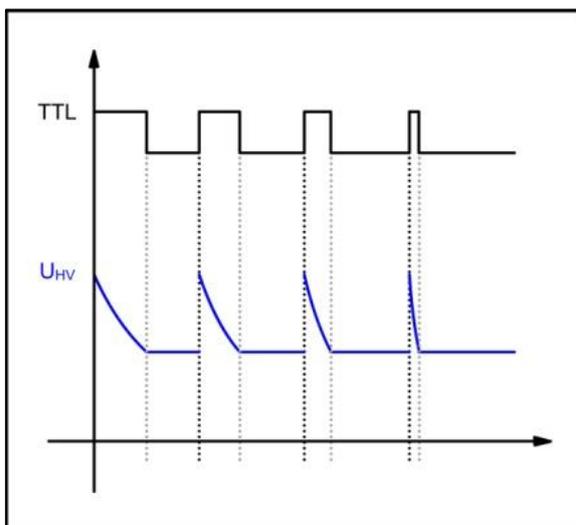


Abbildung 56: Hochspannungsgenerator Trek 610C

1.1.2 Optionen der Signalverarbeitung

Für die gepulste Hochspannungserzeugung stehen drei Optionen zur Verfügung, wobei die TTL-Signale (Transistor-Transistor-Logik) den Hochspannungsschalter steuern:

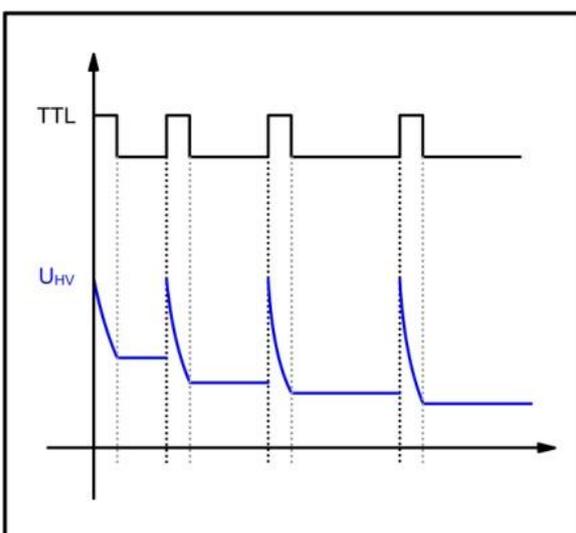
- a) Impulsgenerator (manuelle Steuerung): Impulsmodus-A (siehe Abbildung 57)



Ein Impulsgenerator signalisiert dem Hochspannungsschalter, wann er den Strom schließen muss. Die Impulse müssen bei gleichbleibendem Impulsabstand verkürzt werden, damit der Kondensator beim nächsten Impuls die Ausgangsspannung erreicht.

Abbildung 57: Impulsmodus-A

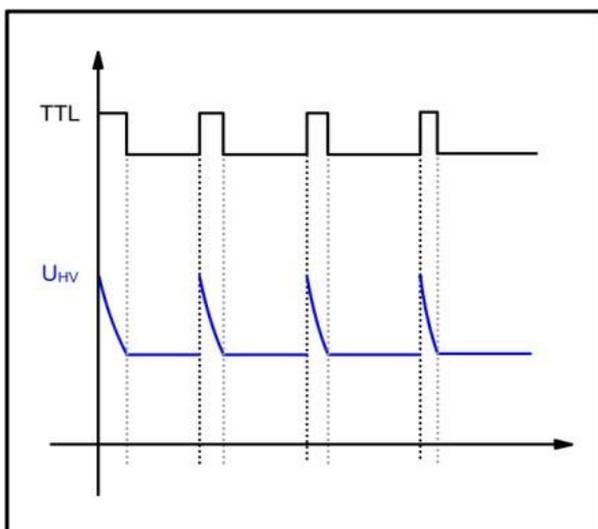
- b) Schmitt-Trigger Schaltung triggert Impulsgenerator (automatische Steuerung): Impulsmodus-B (siehe Abbildung 58)



Die Schmitt-Trigger Schaltung als elektronische Schaltung misst die Ausgangsspannung. Beim Erreichen der gewünschten Spannung wird dies dem Impulsgenerator gemeldet und dieser gibt einen konstant langen Impuls ab. Der Impulsabstand vergrößert sich.

Abbildung 58: Impulsmodus-B

- c) Schmitt-Trigger Schaltung (automatische Regelung): Impulsmodus-C (siehe Abbildung 59)



Im Impulsmodus-C wird eine obere und untere Spannungsgrenze über die Schmitt-Trigger Schaltung als elektronische Schaltung eingestellt. Die Impulslänge und der Impulsabstand werden gleichzeitig angepasst. Der Impulsgenerator wird dabei umgangen.

Abbildung 59: Impulsmodus-C

1.1.3 Impulsgenerator

Der verwendete Impulsgenerator teilt dem Hochspannungsschalter konstante Impulse gleicher Länge und gleichem Abstand mit (siehe Abbildung 60).

- 1 Impulsintervallregler (FREQUENCY)
 - Für den Impulsmodus-B stellen Sie den Regler auf „EXT“ (linke Stellung des Reglers)
- 2 Impulslängenregler (WIDTH)
- 3 ON/OFF Taste.

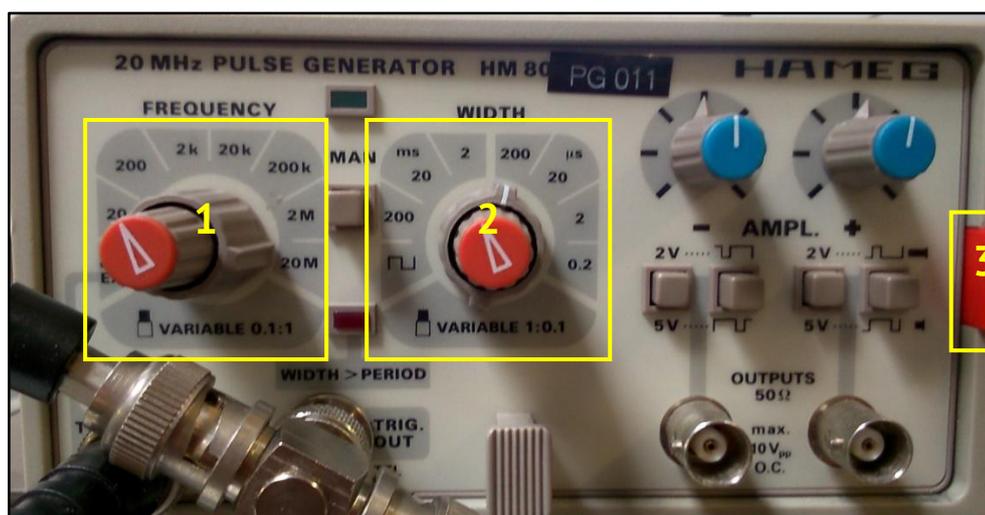


Abbildung 60: Impulsgenerator HAMEG 8035

1.1.4 Schmitt-Trigger Schaltung

Für die Wahl des Impulsmodus und der Einstellung der Spannungsgrenzen, ist eine Schmitt-Trigger Schaltung vorhanden (siehe Abbildung 61).

- 1 ON/OFF Schalter und 12 VDC Netzgeräteeingang
- 2 B: Hysterese mit A: Feineinstellung (Abstand zur unteren Grenze)
- 3 B: Maximale Hochspannung mit A: Feineinstellung (obere Grenze)
- 4 Regler für die Wahl des bevorzugten Impulsmodus (A, B, C)
- 5 BNC-Anschlüsse A: Impulsgenerator IN/OUT, B: Hochspannungsgenerator und C: Hochspannungsschalter

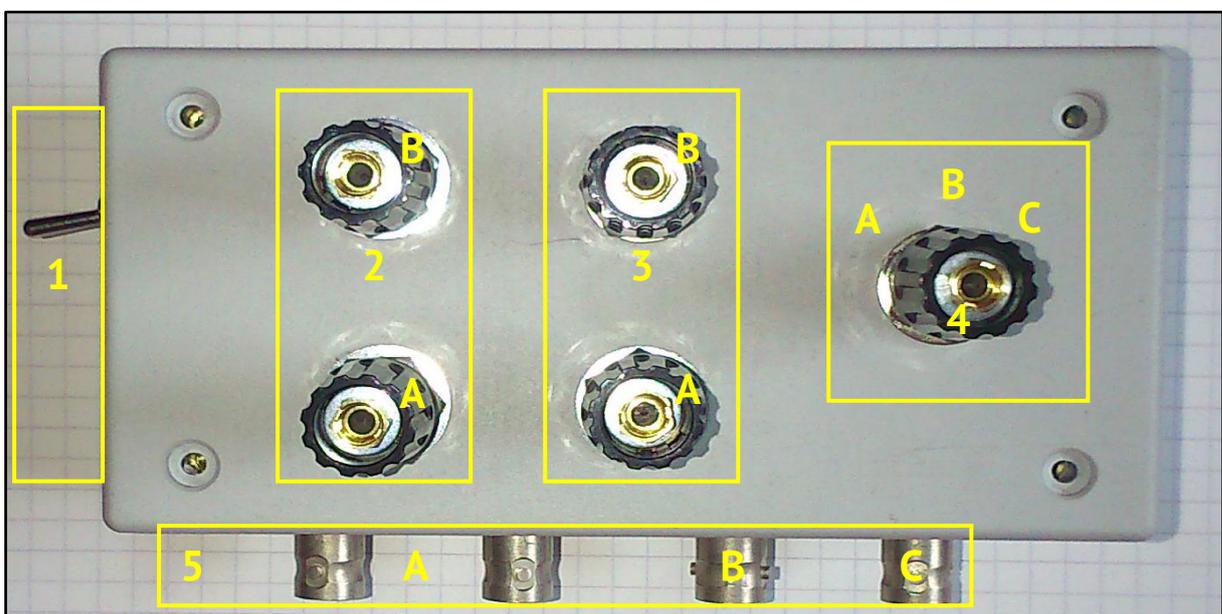


Abbildung 61: Schmitt-Trigger Schaltung mit Impulsmodus Regler (4)

In Abbildung 62 ist die Signalverarbeitung der Schmitt-Trigger Schaltung zu sehen:

- Links ist ein unregelmäßiges Eingangssignal dargestellt
- Rechts ist das geregelte Eingangssignal des Versuchsaufbaus zu erkennen

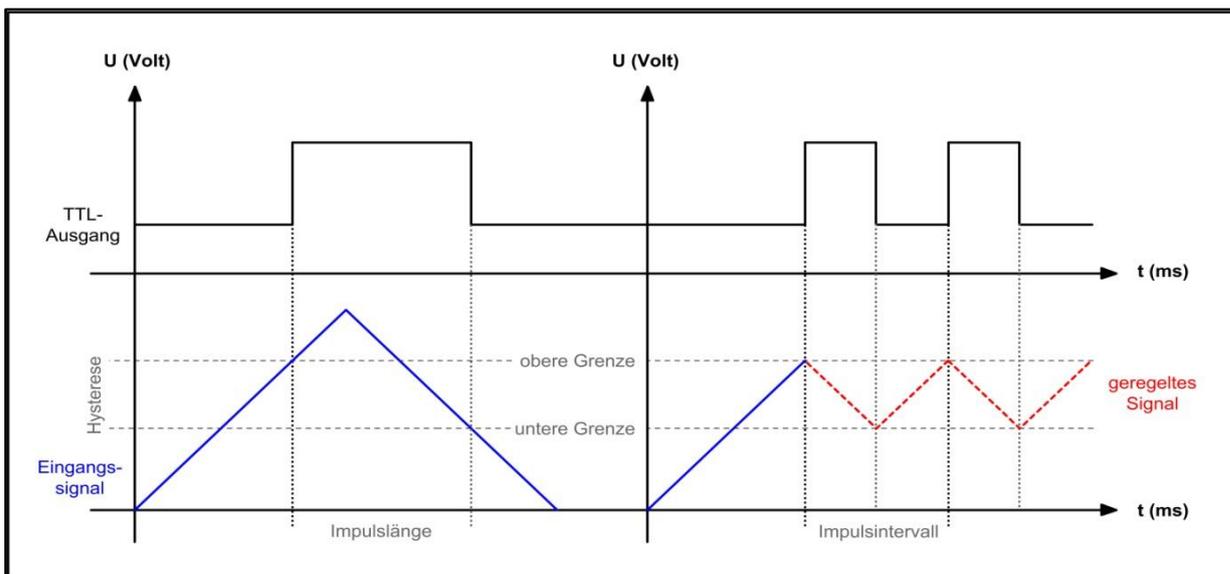


Abbildung 62: Signalverlauf der Schmitt-Trigger Schaltung

Für den Impulsmodus-C müssen hierbei die obere und untere Spannungsgrenze eingestellt werden. Zum Ablesen der Spannungen, wird das vorhandene Oszilloskop verwendet. Schalten Sie in Impulsmodus-C, indem Regler 4 aus Abbildung 61 auf Stellung C gedreht wird.

1. Hochspannungsbetrieb!!!
2. Oszilloskop ablesen
3. Stellen Sie die obere Spannungsgrenze ein (siehe Abbildung 61 Nr. 3)
4. Stellen Sie die Hysterese für die untere Spannungsgrenze ein (siehe Abbildung 61 Nr. 2)
 - Da sich dabei die obere Spannungsgrenze nach oben verschiebt, muss nachgeregelt werden, d. h. Punkt 4 und Punkt 5 müssen so lange wiederholen werden bis die gewünschte obere und untere Spannungsgrenze erreicht werden.
5. Die eingestellten Spannungsgrenzen liegen nun innerhalb des Eingangssignals (siehe Abbildung 62 - rechts).

1.1.5 Oszilloskop

Die entstehenden Spannungssignale können im verwendeten Oszilloskop dargestellt und ausgewertet werden (siehe Abbildung 63). Hierbei sind:

- 1 Messgeschwindigkeit (x-Achse).
- 2 Spannungsbereich (y-Achse): A → Kanal 1 / B → Kanal 2.
- 3 Feineinstellung der Achsen: A → Kanal 1 (CH1) / B → Kanal 2 (CH2).
- 4 Messquellen (SOURCE).
- 5 Art der Signalverarbeitung (VERTICAL-MODE).
- 6 ON/OFF Schalter.

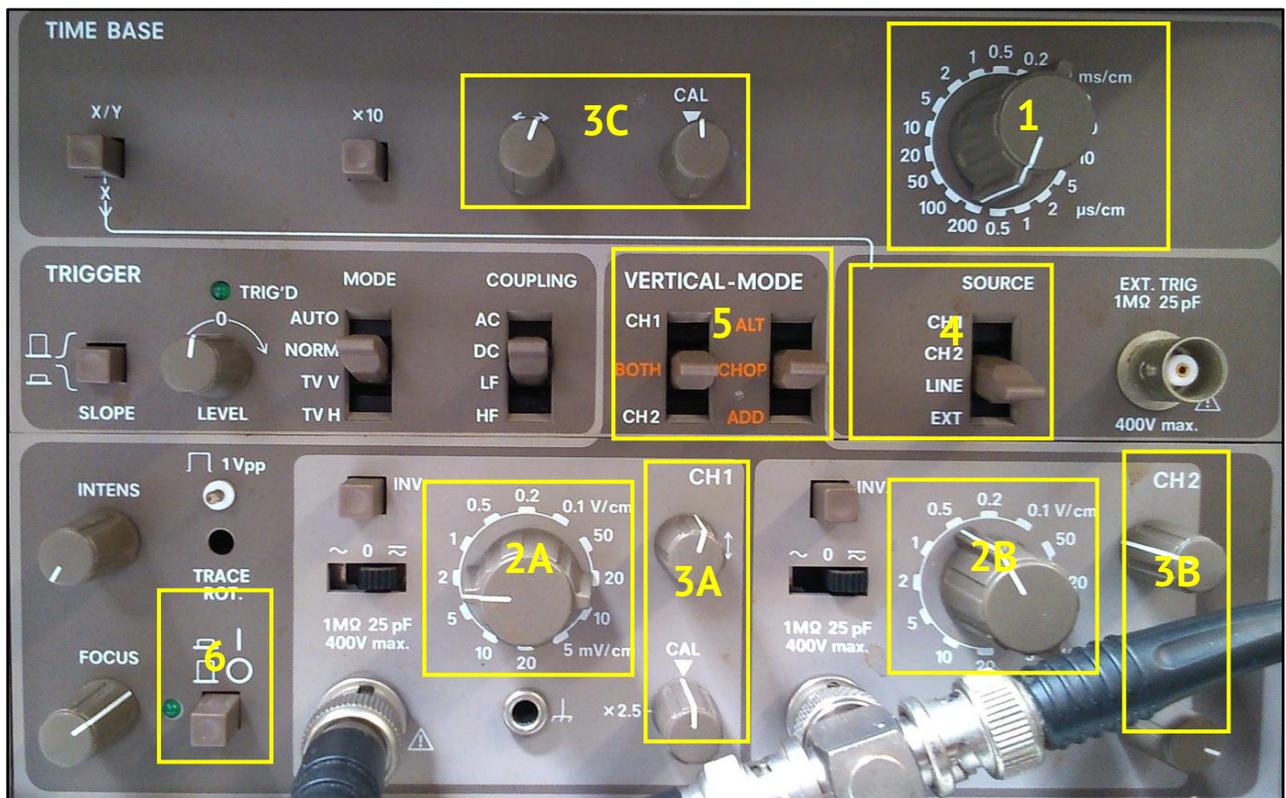


Abbildung 63: Die einzelnen Bedienelemente des Oszilloskops Siemens D1010

In der Abbildung 64 ist ein typisches Signal auf dem Bildschirm des Oszilloskops dargestellt, wobei

- 1 Die maximale Hochspannung als obere Grenze und
- 2 Die erreichte Hochspannung nach dem Impuls als untere Grenze zu erkennen sind.

Zur Darstellung von sichtbaren Signalen sind zwei Einstellungen sinnvoll:

- Mehrere Impulse:
 - Messgeschwindigkeit auf „200 ms/cm“, Messquellen auf „Line“.
- Einzelne Impulse:
 - Messgeschwindigkeit auf „0,5 ms/cm“, Messquellen auf „CH2“.

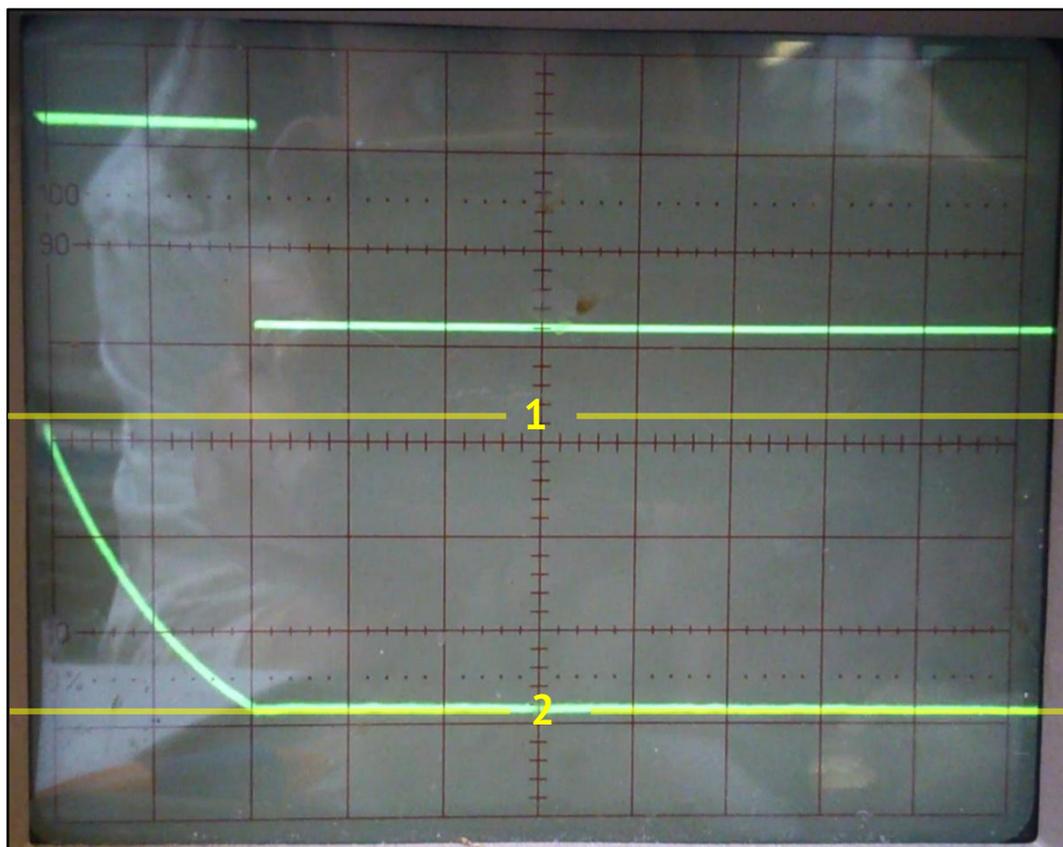


Abbildung 64: Hochspannungsimpuls mit $t_i = 1 \mu\text{s}$; TTL-Signal (oben); Spannungsverlauf des Kondensators (unten)

1.2. Versuchsaufbau des Hochspannungsimpuls-Zelle

In Abbildung 65 ist der Versuchsaufbau der Hochspannungsimpulszelle dargestellt. Hierbei werden die Hochspannungsimpulse mittels Plattenelektroden aus Edelstahl in einem Becherglas (z.B. 20 mL) entladen. Das Becherglas befindet sich auf einem Magnetrührer mit Heizfunktion. Zum Schutz vor der Hochspannung und als Barriere wurde um die Plattenelektroden ein Faraday'scher Käfig installiert. Für Vergleichsmessungen ist neben der Hochspannungszelle ein baugleicher Magnetrührer, auf dem sich ein gleichgroßes Becherglas (20 mL) befindet, aufgestellt.

In Abbildung 65 sind zu erkennen:

- 1 A und B: ON/OFF Taste und Drehzahlregler der Magnetrührer.
- 2 A und B: ON/OFF Taste und Temperaturregler der Heizplatten (optional).
- 3 20 mL Bechergläser: A: Hochspannungsimpuls-Zelle; B: Vergleichsmessung
- 4 Faraday'scher Käfig mit Stativstange als Haltevorrichtung und eingebauten Plattenelektroden aus Edelstahl

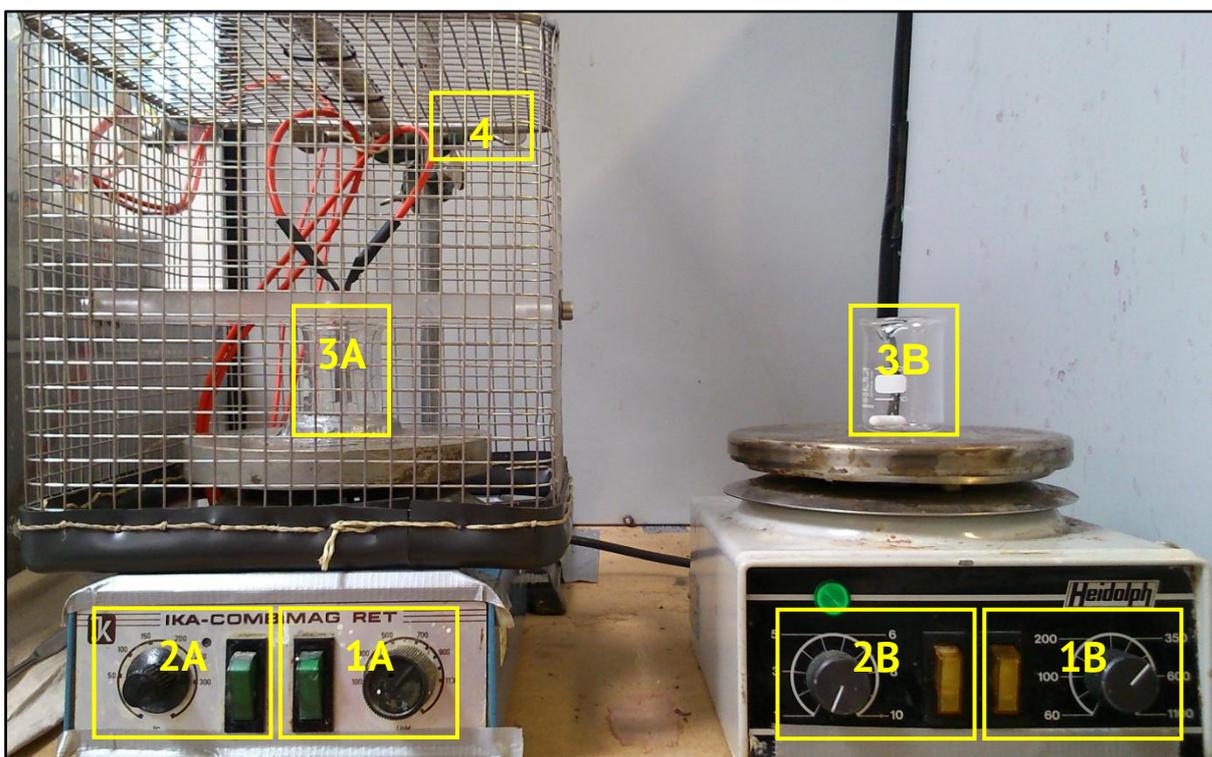


Abbildung 65: A) Hochspannungsimpuls-Zelle mit Faraday'schem Käfig und B) Aufbau der Vergleichsmessung

2. Versuchsvorbereitung

Im Folgenden wird die Versuchsvorbereitung in Bezug auf den Standby-Betrieb der Hochspannungsimpuls-Anlage, den Hochspannungsbetrieb und die Kalibrierung der Hochspannungsimpulse abhängig vom gewählten Impulsmodus beschrieben.

2.1 Standby-Betrieb

Gehen Sie zum Einschalten der Geräte für den Standby-Betrieb wie folgt vor:

1. Überprüfen Sie, dass der ON/OFF Schalter am Hochspannungsschalter auf "OFF" steht.
2. Überprüfen Sie, dass der ON/OFF Schalter für die Hochspannung am Hochspannungsgenerator auf „OFF“ steht.
3. Schalten Sie die Hochspannungsimpuls-Anlage an den beiden Steckdosenleisten rechts und links an.
4. Schalten Sie das Oszilloskop, den Impulsgenerator, den Hochspannungsgenerator und das 12 V Netzgerät ein.

2.2 Hochspannungsbetrieb

WICHTIG: Schalten Sie niemals die Hochspannung an, wenn die Elektroden freistehen.

>> Kondensator entlädt nicht: Kurzschlussgefahr <<

Zur Inbetriebnahme der Hochspannung geht man wie im Folgenden beschrieben vor:

- 1 20 mL Bechergläser, welche mit gewünschtem Pflanzenmaterial und entsprechendem Extraktionsmittel (Achtung bei der Wahl des Extraktionsmittels: Hochspannung, Zündtemperatur und Dielektrikum!) befüllt sind, auf die Magnetrührer stellen
- 2 Den Faraday'schen Käfig mit den eingebauten Platten-Elektroden aus Edelstahl herunterlassen und mit der Schraube an der Stativstange fixieren
- 3 Den Hochspannungsgenerator in Betrieb nehmen
- 4 ON/OFF Schalter für die Hochspannung am Hochspannungsgenerator auf „ON“ stellen.
- 5 ON/OFF Schalter am Hochspannungsschalter auf „ON“ stellen
- 6 ON/OFF Schalter an Schmitt-Trigger-Schaltung auf „ON“ stellen
- 7 Abschaltung erfolgt in umgekehrter Reihenfolge und mit Schalterstellung auf „OFF“. Dabei ist zu unterscheiden:
 - Während Versuchsphase ohne Schritt 4 bis 3, z.B. zur Zwischenprobenentnahme.
 - Zum Beenden des Experimentes mit Schritt 4 bis 3, um auch die Hochspannung abzuschalten.

2.3 Kalibrierung

Je nachdem mit welchem Signalverarbeitungsmodus verfahren wird, sind unterschiedliche Vorgehensweisen zu den Kalibrierungen notwendig. Verwenden Sie dafür das gewünschte Pflanzenmaterial mit 20 mL entsprechendem Lösemittel z.B. in einem Becherglas.

Impulsmodus-A:

- Im Impulsmodus-A ist keine Kalibrierung nötig. Die gewünschte Impulslänge/-intervall wird am Impulsgenerator eingestellt.
- Während dem Experiment fällt der Entladewiderstand und somit steigt der Entladestrom, dadurch wird der Kondensator mehr entladen. Bei konstantem Ladestrom benötigt der Generator mehr Zeit, um den Kondensator auf die gewünschte Spannung zu laden. Um dies zu kompensieren, wird die Impulslänge am Regler 2 verringert.

Impulsmodus-B:

1. Gewünschtes Pflanzenmaterial mit 20 mL Lösemittel im Becherglas für die Kalibrierung verwenden
2. Hochspannungsbetrieb!!!
3. Oszilloskop auf einzelnen Impuls stellen
4. Mit den Reglern Nr. 2 am Schmitt-Trigger die Hysterese auf minimalen Abstand einstellen.
 - Beachten Sie, dass der minimale Abstand $\geq 0,04$ V beträgt
5. Mit den entsprechenden Reglern Nr. 3 an Schmitt-Trigger Schaltung die obere Spannungsgrenze einstellen
6. Den Frequenzregler 1 am Impulsgenerator wird auf „EXT“ gestellt
7. Die Impulslänge mit dem Regler Nr. 2 am Impulsgenerator einstellen
 - Die Impulslänge beeinflusst den Spannungsabfall. Die Spannung nach dem Impuls muss die untere Grenze passieren, damit das TTL-Signal „OFF“-Status erreicht
8. Die Kalibrierung der Hochspannungsimpulse im Impulsmodus-B ist damit abgeschlossen und das gewünschte Experiment kann gestartet werden

Impulsmodus-C:

1. Gewünschtes Pflanzenmaterial mit 20 mL Lösemittel im Becherglas für die Kalibrierung verwenden
2. Impulsmodus C mit dem Modusregler Nr. 4 an der Schmitt-Trigger-Schaltung einstellen
3. Hochspannungsbetrieb!!!
4. Oszilloskop auf einzelnen Impuls stellen. Spannungsverlauf beobachten
5. Mit den entsprechenden Reglern Nr. 2 und Nr. 3 an der Schmitt-Trigger Schaltung die obere und untere Spannungsgrenze einstellen
6. Die Kalibrierung der Hochspannungsimpulse im Impulsmodus-C ist damit abgeschlossen und das gewünschte Experiment kann gestartet werden

3. Technische Daten**Hochspannungsgenerator:**

- Spannung: 0...10 kV
- Limitiert auf 0,002 A Ladestrom

Impulsgenerator:

- Frequenz: 20 Hz bis 20 MHz
- Impulslänge: 200ms bis 0,2 μ s
- Maximale Periode: 600ms

Hochspannungsschalter (Einstufig):

- Maximale Spannung: 1700 V
- Maximaler Entladestrom: 12 A

Schmitt-Trigger-Schaltung:

- Betriebsspannung: 12VDC
- Eingangssignal: 0...10V
- Ausgangssignal: TTL 5V
- Maximale Hysterese: 9.9V
- Minimale Hysterese: 0,04V
- 3 Modi

Betriebsanleitungen

Schmitt-Trigger Schaltung mit Modusregler:

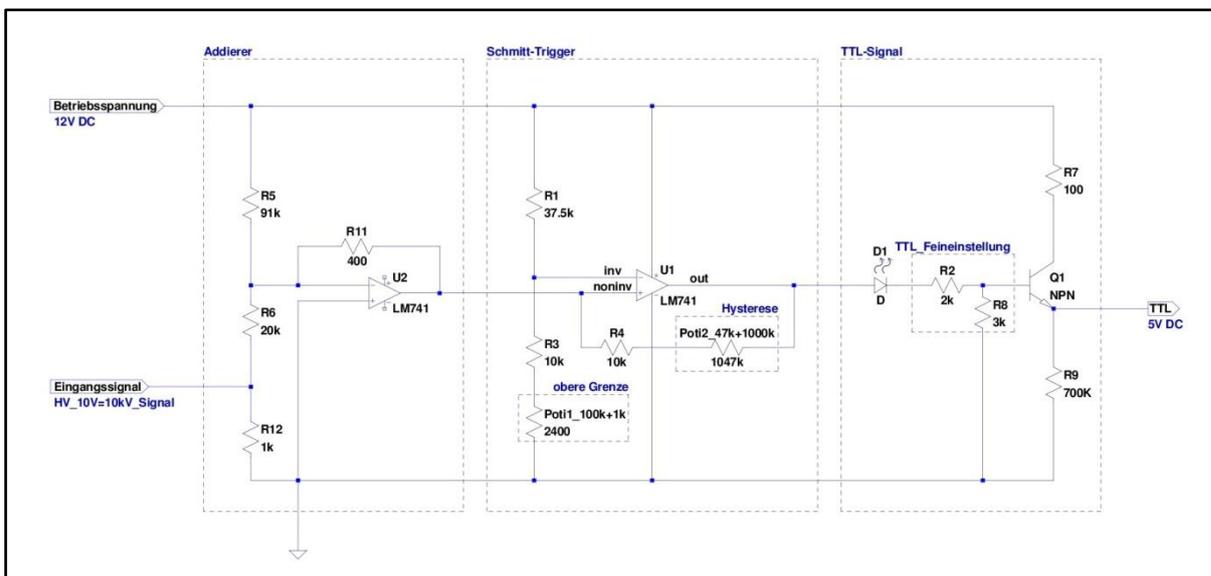


Abbildung 66: Schaltplan der Schmitt-Trigger Schaltung

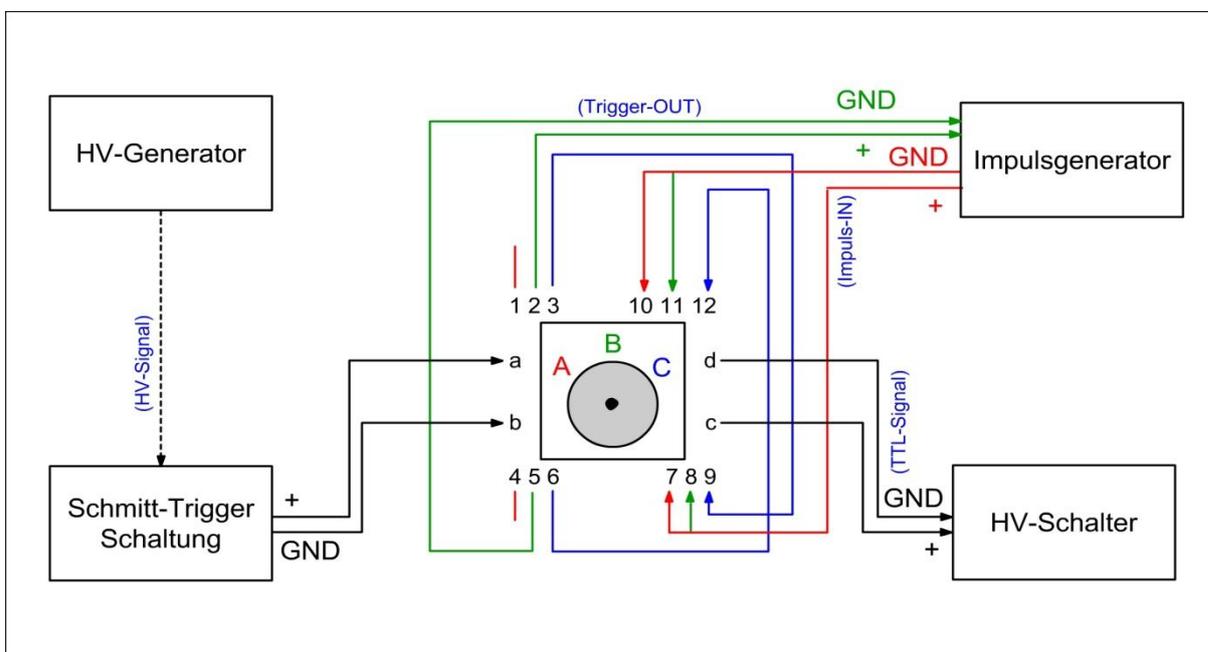


Abbildung 67: Verschaltung des Modusreglers

A.3. Modellierung

Tabelle 21 zeigt die Aufstellung der Massenbilanzen für die Gegenstromextraktion von Vanilleschoten zur Gewinnung von Vanillin (Castillo-Santos et al. 2016a; Castillo-Santos et al. 2017). Es wird zwischen extrahierbarem Material, nicht extrahierbarem Material sowie Wasser und Ethanol, den zwei Komponenten des Extraktionsmittels, unterschieden. Die Indizes stehen jeweils für eine Komponente des Systems: Index 1 für extrahierbare Stoffe, Index 2 für nicht extrahierbare Stoffe, Index 3 für Wasser und Index 4 für Ethanol.

Tabelle 21: Aufstellung der Massenbilanzen für die Gegenstromextraktion

Zugehörigkeit	Massenbilanz	Gl.
Allgemein	$\dot{R}_{j-1} + \dot{E}_{j+1} - \dot{R}_j - \dot{E}_j = 0$	72
Nicht extrahierbar	$\dot{R}_{j-1}x_{Rj-1,1} - \dot{R}_jx_{Rj,1} = 0$	73
Extrahierbar	$\dot{R}_{j-1}x_{Rj-1,2} + \dot{E}_{j+1}x_{Ej+1,2} - \dot{R}_jx_{Rj,2} - \dot{E}_jx_{Ej,2} = 0$	74
Wasser	$\dot{R}_{j-1}x_{Rj-1,3} + \dot{E}_{j+1}x_{Ej+1,3} - \dot{R}_jx_{Rj,3} - \dot{E}_jx_{Ej,3} = 0$	75
Ethanol	$\dot{R}_{j-1}x_{Rj-1,4} + \dot{E}_{j+1}x_{Ej+1,4} - \dot{R}_jx_{Rj,4} - \dot{E}_jx_{Ej,4} = 0$	76
Rückstand	$\dot{R}_j - \dot{L}_j - \dot{O}_j = 0$	77
Rückstand nicht extrahierbar	$\dot{R}_jx_{Rj,1} - \dot{O}_jx_{Oj,1} = 0$	78
Rückstand extrahierbar	$\dot{R}_jx_{Rj,2} - \dot{O}_jx_{Oj,2} - \dot{L}_jx_{Ej,2} = 0$	79
Rückstand Wasser	$\dot{R}_jx_{Rj,3} - \dot{L}_jx_{Ej,3} = 0$	80
Rückstand Ethanol	$\dot{R}_jx_{Rj,4} - \dot{L}_jx_{Ej,4} = 0$	81
Fester Rückstand	$\dot{O}_j - \dot{F}x_{F1} - \dot{O}_jx_{Oj,2} = 0$	82
Spez. zurückgehaltene Lösung:	$\dot{M}(x_{Ej,2}) = \frac{\dot{L}_j}{\dot{F}x_{F1}}$	83
Gleichgewicht:	$x_{Ej,2} = f(x_{Oj,2})$	84

In den Massenbilanzen entspricht der eingehende Rückstand \dot{R}_0 dem Feed \dot{F} und das in die letzte Stufe eingehende Extrakt \dot{E}_{n+1} dem unbeladenen Extraktionsmittel \dot{S} . Es wird sich auf die Gleichgewichtsbeziehung nach Nernst, Freundlich und Langmuir beschränkt. Folgende Werte müssen bekannt sein: Die Menge des Feststoffs \dot{F} , die Feststoffzusammensetzung (x_{F1}, x_{F2}, x_{F3}) , die spezifisch zurückgehaltene Lösung \dot{M} , die Gleichgewichtsbeziehung $f(x_{Oj,2})$, die Zusammensetzung des Extraktionsmittels $(x_{S1}, x_{S2}, x_{S3}, x_{S4})$ und der Anteil der extrahierbaren Stoffe im Extraktionsmitteln (x_{Ej}) jeder Stufe. In der Tabelle 22 wird der Algorithmus vorgestellt.

Tabelle 22: Lösungsalgorithmus für die Gegenstromextraktion nach Castillo-Santos et. al.

Stufe	Beschreibung & Gleichung	Formel
1	x_{Oj} berechnen aus 84	$x_{Oj} = x_{Ej,2} / f(x_{Ej,2})$
2	\dot{L}_j berechnen aus 83	$\dot{L}_j = \dot{F}x_{F1} / \dot{M}(x_{Ej,2})$
3	\dot{O}_j berechnen aus 82	$\dot{O}_j = \dot{F}x_{F1} / (1 - x_{Oj,2})$
4	\dot{R}_j berechnen aus 77	$\dot{R}_j = \dot{L}_j + \dot{O}_j$
5	$x_{Rj,1}$ berechnen aus 73	$x_{Rj,1} = \dot{F}x_{F1} / \dot{R}_j$
6	$x_{Oj,1}$ berechnen aus 78	$x_{Oj,1} = \frac{\dot{R}_j x_{Rj,1}}{\dot{O}_j}$
7	$x_{Rj,2}$ berechnen aus 79	$x_{Rj,2} = \frac{(\dot{L}_j x_{Ej,2} + \dot{O}_j x_{Oj,1})}{\dot{R}_j}$
8	\dot{E}_n berechnen aus 74	$\dot{E}_j = \frac{(\dot{R}_{j-1} x_{Rj-1,2} - \dot{R}_j x_{Rj,2})}{x_{Ej,2}}$
9	\dot{E}_j berechnen aus 74	$\dot{E}_j = \frac{(\dot{R}_{j-1} x_{Rj-1,2} + \dot{E}_{j+1} x_{Ej+1,2} - \dot{R}_j x_{Rj,2})}{x_{Ej,2}}$
10	\dot{S} berechnen aus 72	$\dot{E}_{n+1} = \dot{R}_n + \dot{E}_n - \dot{R}_{n-1}$
11	$x_{E,j}^*$ berechnen aus 74	$x_{E,j}^* = \frac{(\dot{R}_{j-1} x_{Rj-1,2} + \dot{E}_{j+1} x_{Ej+1,2} - \dot{R}_j x_{Rj,2})}{\dot{E}_j}$

$x_{E,j}^*$ entspricht der Anteile der extrahierten Stoffe im Extrakt, die durch die zuvor berechneten Parameter bestimmt werden. Diese Werte werden mit den Anteilen des extrahierten Materials im Extrakt $x_{Ej,2}$ verglichen, die vor der Verwendung des Algorithmus gegeben sein müssen, um den ersten Schritt des Algorithmus durchführen zu können. Die Summe aller Differenzen der berechneten und gegebenen Anteile jeder Stufe $\sum |x_{E,j} - x_{E,j}^*|$ sollte möglichst gegen Null gehen, damit gezeigt werden kann, dass die Bilanzen des Modells richtig aufgestellt sind und der aufgestellte Algorithmus richtig arbeitet.

Um die Massenbilanzen schließen zu können, werden die Parameter $x_{Ej,3}$, $x_{Rj,3}$, $x_{Ej,4}$, $x_{Rj,4}$ benötigt. Für die Ermittlung dienen die folgenden Gleichungen, die ein Gleichungssystem aus $4n$ linearen Gleichungen bilden.

$$x_{Ej,3} = \frac{\dot{R}_{j-1} x_{Rj-1,3} + \dot{E}_{j+1} x_{Sj,3}}{\dot{L}_j + \dot{E}_j} \quad 85$$

$$x_{Ej,4} = \frac{\dot{R}_{j-1} x_{Rj-1,4} + \dot{E}_{j+1} x_{Sj,4}}{\dot{L}_j + \dot{E}_j} \quad 86$$

$$x_{Rj,3} = \frac{\dot{L}_j x_{Ej,3}}{\dot{R}_j} \quad 87$$

$$x_{Rj,4} = \frac{\dot{L}_j x_{Ej,4}}{\dot{R}_j} \quad 88$$

A.4. Messdaten

Abb. 24: Auftragung der Schüttguldichte für die ausgewählten Pflanzenmaterialien mit unterschiedlichen Partikelgrößen

	Schüttguldichte [g/mL]	Fehler
Annattosamen, ganz	0,67	0,045
Holunderrinde	1,06	0,062
Süßholzwurzel, 4-6 mm	0,32	0,048
Melisse, 4-6 mm	0,13	0,035
Rotes Weinlaub, 200-450 µm	0,22	0,039
Rotes Weinlaub, 450-630 µm	0,16	0,043

Abb. 25: Bestimmung des Gewichts vor und nach der Trocknung im Trockenschrank bei T=75 °C (t=24 h) von etwa 1 g Pflanzenmaterial

Annattosamen		Holunderrinde		Süßholzwurzel		Melisse		Rotes Weinlaub		Rotes Weinlaub	
m / g	m / g	m / g	m / g	m / g	m / g	m / g	m / g	m / g	m / g	m / g	m / g
1,003	0,919	0,996	0,926	1,004	0,944	0,723	0,673	0,994	0,324	0,957	0,904
1,071	0,987	0,993	0,971	1,029	0,966	0,844	0,787	1,062	0,233	0,993	0,938
1,001	0,918	1,024	0,936	1,015	0,958	0,953	0,896	1,394	0,391	0,998	0,943
1,003	0,919	0,999	0,926	1,009	0,946	0,785	0,725	0,964	0,284	1,023	0,968
1,009	1,009	1,009	0,928	1,035	0,976	0,712	0,663	1,010	0,250	0,936	0,884
1,001	1,001	0,984	0,852	1,015	0,955	0,835	0,786			0,920	0,862
				1,000	0,933	0,948	0,897				
				1,023	0,960						

Abb. 26: Partikelgrößenverteilung der blättrigen Pflanzenmaterialien: Rotes Weinlaub a) und Melisse b)

Partikelgröße / µm	a) Rotes Weinlaub Anteil / %	b) Melisse Anteil / %
<200	1,98	0,54
200-450	2,22	6,65
450-630	5,46	8,36
630-1000	8,78	13,42
1000-2000	35,56	21,32
2000-4000	40,94	26,42
>4000	5,06	23,29
Gesamt	100	100

Abb. 27: Einfluss des Extraktionsmittels auf die Konzentration von Bixin aus Annattosamen extrahiert a); Oleanol- und Ursolsäure aus Holunderrinde extrahiert b); in Bezug auf die Partikelgröße sowie auf die Konzentration der Polyphenole aus rotem Weinlaub extrahiert c)

a)	Bixin	b)	Oleanolsäure	Ursolsäure	c)	Polyphenole c [g/L]
	c [g/L]		c [mg/L]	c [mg/L]		200/450/630 µm
Aceton	9,95	Wasser	0	0	Methanol	2,35/2,14/1,81
Ethylacetat	12,94	Ethanol	3,96	10,82	Wasser	2,04/1,86/1,53
		Methanol	5,56	20,12	Ethanol	1,27/1,10/1,11

Abb. 28: Einfluss des Extraktionsmittel zu Pflanzenmengenverhältnis bei der Extraktion von Bixin aus Annattosamen a); Oleanol- und Ursolsäure aus Holunderrinde b); Rosmarinsäure aus Melisse c)

a)	Ausbeute	b)	Ausbeute / %		c)	Ausbeute
$V_{Lsg}:m_{Pflanze}$ Verhältnis/ L g ⁻¹	%	$V_{Lsg}:m_{Pflanze}$ Verhältnis/ L g ⁻¹	Oleanol- säure	Ursol- säure	$V_{Lsg}:m_{Pflanze}$ Verhältnis/ L g ⁻¹	%
0,193	73,3	0,050	48,4	27,6	0,040	67,5
0,098	73,6	0,025	54,2	24,6	0,037	70,5
0,060	74,8	0,017	51,0	25,2	0,030	74,5
0,030	66,9	0,013	50,3	26,3	0,020	61,4
0,023	63,0	0,010	49,3	32,0	0,014	66,1
0,018	56,6				0,014	54,6
c) Perkolation	Ausbeute				0,014	55,5
Verhältnis/ L g⁻¹	%				0,011	74,2
0,014	17,3				0,010	74,7
0,013	31,5				0,008	69,8
0,010	34,5				0,007	62,5
0,008	29,3				0,005	66,1
0,007	13,8				0,004	59,9

Abb. 29: Einfluss des Extraktionsmittel zu Pflanzenmengenverhältnis von Glycyrrhizinsäure aus Süßholzwurzel a); Polyphenolen aus roten Weinlaubblättern (Partikelgröße 200-450 µm) mit verschiedenen Extraktionsmittel bei T = 35 °C und t = 60 min b)

a)		b)	Methanol		H ₂ O+HCl pH = 2.5
$V_{Lsg}:m_{Pflanze}$ Verhältnis/ L g ⁻¹	Ausbeute %	$V_{Lsg}:m_{Pflanze}$ Verhältnis/ L g ⁻¹	Ausbeute %	$V_{Lsg}:m_{Pflanze}$ Verhältnis/ L g ⁻¹	Ausbeute %
0,002	10,0	0,272	78,8	0,229	47,3
0,002	9,4	0,133	38,2	0,125	24,7
0,002	3,8	0,084	24,6	0,083	16,4
0,002	7,0	0,066	18,6	0,061	11,4
0,003	19,4	0,055	15,4	0,051	9,8
0,003	16,4	0,043	12,1	0,041	7,4
0,008	12,9	0,037	10,2	0,035	6,3
0,009	13,4	0,032	9,0	0,033	5,7
0,012	46,0	0,030	8,2	0,028	4,7
0,012	17,3	0,027	7,4	0,025	4,2
0,016	41,6			0,020	3,5
0,020	68,7			0,017	2,9
0,024	75,3			0,014	2,4
0,029	80,5			0,012	2,1
				0,010	1,7
				0,009	1,4
				0,008	1,1

Abb. 31: Erhöhung der Extraktionstemperatur zur Gewinnung von Polyphenolen aus rotem Weinlaub

Zeit t min	Polyphenolgehalt / %					
	23.0 °C	34.0 °C	43.0 °C	51.0 °C	56.0 °C	60.5 °C
1	16,0	21,4	19,7	27,7	28,9	29,7
5	19,7	29,4	33,8	38,8	42,7	38,9
10	27,4	37,7	39,0	44,0	48,3	45,4
15	32,3	42,0	46,4	48,3	52,6	49,7
30	36,0	42,6	47,0	49,0	53,2	50,3
60	40,3	46,9	48,3	53,3	54,4	54,6
90	42,2	48,8	50,1	55,1	59,3	56,4
120	42,5	48,5	51,0	54,5	59,7	56,7

Abb. 32/Abb. 34/Abb. 35: Variation der Amplitude während der ultraschallunterstützten Extraktion a); Variation der Leistung während mikrowellenunterstützten Extraktion b); Variation des elektrischen Feldes während hochspannungsimpulsunterstützten Extraktion c)

		Ausbeute / %			
a) Ultraschallwellen Amplitude	Bixin	Oleanolsäure	Ursolsäure	Polyphenole	
	30%	75,0	64,9	35,0	68,5
	35%	75,7	69,5	34,5	72,5
	40%	77,0	70,3	32,8	78,1
b) Mikrowellen P / W	Bixin	Oleanolsäure	Ursolsäure	Polyphenole	
	80	80,3	52,0	31,7	73,3
	240	75,4	62,7	44,9	74,6
	400	73,8	76,6	50,4	76,4
	560	71,1	57,3	34,9	80,6
	800	66,9	56,5	36,5	84,6
c) Elektr. Feld E / kV/cm	Polyphenole Getrocknet	Polyphenole Nicht getrocknet			
	1,7	10,2	18,5		
	3,3	23,6	46,5		

Abb. 33: Erhöhung der Extraktionstemperatur zur Gewinnung von Ursolsäure a); bzw. von Oleanolsäure b) aus Holunderbaumrinde

Zeit t min	Ausbeute (%) an Ursolsäure bei Temperatur T					Zeit t min	Ausbeute (%) an Oleanolsäure bei Temperatur T				
	40 °C	45 °C	50 °C	55 °C	65 °C		40 °C	45 °C	50 °C	55 °C	65 °C
1	8,1	13,1	18,0	20,8	20,8	1	7,5	12,4	16,9	19,0	18,6
3	15,0	19,4	23,8	29,4	29,2	3	14,1	18,4	22,2	26,7	26,4
5	19,1	23,4	27,8	33,5	33,4	5	17,8	22,3	26,0	30,5	30,1
10	24,5	33,4	42,4	48,0	47,8	10	22,9	31,8	39,7	43,7	43,2
15	31,8	40,0	48,3	57,8	57,5	15	29,7	38,1	45,1	52,6	52,0
30	45,0	52,0	59,1	68,2	67,8	30	42,0	49,5	55,3	62,0	61,4
60	53,4	60,9	68,4	75,6	75,2	60	49,9	57,9	63,9	68,7	68,0
90	56,1	62,6	69,1	76,0	75,5	90	52,5	59,5	64,6	69,1	68,4
120	56,2	63,5	70,7	76,4	75,9	120	52,6	60,4	66,1	69,5	68,7

Abb. 36: Vergleich der alternativen Prozesskonzepte für rotes Weinlaub

Zeit t min	Ausbeute an Polyphenolen / %				
	Mikrowellen	Ultraschallwellen	Immersion	Hochspannungsimpulse 1	Hochspannungsimpulse 2
1	13,5	12,7	5,3	19,7	4,8
3	23,5	17,6	9,9	---	---
5	35,3	21,4	13,6	30,3	7,1
10	47,2	36,5	18,0	35,0	11,0
15	53,6	45,2	22,1	38,8	13,5
20	58,4	51,1	27,9	---	---
30	65,6	58,9	34,0	44,2	16,9
60	70,5	65,4	48,2	48,1	20,7
90	76,9	68,4	59,1	49,5	22,3
120	76,9	71,8	63,9	50,3	22,2

Abb. 37: Vergleich der alternativen Prozesskonzepte für Holunderbaumrinde a); Annattosamen b)

b) Zeit t min	Ausbeute / %			
	Mikrowellen	Ultraschallwellen	Immersion	Perkolation
1	49,6	49,2	42,6	34,2
3	66,2	63,7	55,0	47,6
5	75,4	69,2	63,5	51,8
10	80,3	75,0	66,9	57,8
15	84,2	75,7	71,1	60,4
30	92,7	77,0	73,8	60,3
60	95,4	84,5	76,1	63,5

Abb. 42: Gleichgewichtsparameter für rotes Weinlaub

x_{E2}	x_{O2}
0,0308	0,0178
0,0452	0,0242
0,0402	0,0621
0,0429	0,0380

Abb. 43: Gleichgewichtsparameter für Melisse

x_{E2}	x_{O2}
0,0148	0,0501
0,0143	0,0656
0,0144	0,0499
0,0244	0,1102
0,0295	0,0121
0,0273	0,0498

Literaturverzeichnis

- Abram, F.; Smelt, J. P. P. M.; Bos, R.; Wouters, P. C. (2003): Modelling and optimization of inactivation of *Lactobacillus plantarum* by pulsed electric field treatment. In: *Journal of applied microbiology* 94 (4), S. 571–579. DOI: 10.1046/j.1365-2672.2003.01869.x.
- Ainsworth, Elizabeth A.; Gillespie, Kelly M. (2007): Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin–Ciocalteu reagent. In: *Nature Protocols* 2 (4), S. 875–877. DOI: 10.1038/nprot.2007.102.
- Angersbach, Alexander; Heinz, Volker; Knorr, Dietrich (2002): Evaluation of process-induced dimensional changes in the membrane structure of biological cells using impedance measurement. In: *Biotechnology progress* 18 (3), S. 597–603. DOI: 10.1021/bp020047j.
- Aronsson, Kristina; Lindgren, Martin; Johansson, Bengt R.; Rönner, Ulf (2001): Inactivation of microorganisms using pulsed electric fields: the influence of process parameters on *Escherichia coli*, *Listeria innocua*, *Leuconostoc mesenteroides* and *Saccharomyces cerevisiae*. In: *Innovative Food Sci. Emerg. Technol.* 2 (1), S. 41–54. DOI: 10.1016/S1466-8564(01)00021-2.
- Aspé, Estrella; Fernández, Katherina (2011): The effect of different extraction techniques on extraction yield, total phenolic, and anti-radical capacity of extracts from *Pinus radiata* Bark. In: *Ind. Crops Prod.* 34 (1), S. 838–844. DOI: 10.1016/j.indcrop.2011.02.002.
- Azmir, J.; Zaidul, I.S.M.; Rahman, M.M.; Sharif, K.M.; Mohamed, A.; Sahena, F. et al. (2013): Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. In: *J. Food Eng.* 117 (4), S. 426–436. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2013.01.014.
- Bachtler, S.; Bart, H.-J. (2021): Increase the yield of bioactive compounds from elder bark and annatto seeds using ultrasound and microwave assisted extraction technologies. In: *Food Bioprod. Process.* 125, S. 1–13. DOI: 10.1016/j.fbp.2020.10.009.
- Bai, Xue-Lian; Yue, Tian-Li; Yuan, Ya-Hong; Zhang, Hua-Wei (2010): Optimization of microwave-assisted extraction of polyphenols from apple pomace using response surface methodology and HPLC analysis. In: *Journal of separation science* 33 (23-24), S. 3751–3758. DOI: 10.1002/jssc.201000430.
- Bailly, Christian; Vergoten, Gérard (2020): Glycyrrhizin: An alternative drug for the treatment of COVID-19 infection and the associated respiratory syndrome? In: *Pharmacology & therapeutics* 214, S. 107618. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2020.107618.
- Barba, Francisco J.; Galanakis, Charis M.; Esteve, Maria J.; Frigola, Ana; Vorobiev, Eugène (2015): Potential use of pulsed electric technologies and ultrasounds to improve the recovery of high-added value compounds from blackberries. In: *J. Food Eng.* 167, S. 38–44. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2015.02.001.
- Bart, Hans-Jörg (2011): Extraction of Natural Products from Plants. An Introduction. In: Hans-Jörg Bart und Stephan Pilz (Hg.): *Industrial scale natural products extraction*, Bd. 1. Weinheim: Wiley-VCH, S. 1–24.
- Bazhal, M.I.; Lebovka, N.I.; Vorobiev, E. (2001): Pulsed electric field treatment of apple tissue during compression for juice extraction. In: *J. Food Eng.* 50 (3), S. 129–139. DOI: 10.1016/S0260-8774(00)00235-1.
- Bazhal, Maksym; Lebovka, Nikolai; Vorobiev, Eugene (2003): Optimisation of Pulsed Electric Field Strength for Electroporation of Vegetable Tissues. In: *Biosystems Engineering* 86 (3), S. 339–345. DOI: 10.1016/S1537-5110(03)00139-9.

- Bessa, Larissa C.B.A.; Ferreira, Marcela C.; Rodrigues, Christianne E.C.; Batista, Eduardo A.C.; Meirelles, Antonio J.A. (2017): Simulation and process design of continuous countercurrent ethanolic extraction of rice bran oil. In: *Journal of Food Engineering* 202, S. 99–113. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2017.01.019.
- Blass, Eckhart; Liebl, Thomas; Häberl, Michael (1997): Extraktion - ein historischer Rückblick. In: *Chemie Ingenieur Technik* 69 (4), S. 431–437. DOI: 10.1002/cite.330690403.
- Boquet, Reinaldo; Chirife, Jorge; Iglesias, Hector A. (1978): Equations for fitting water sorption isotherms of foods. In: *International Journal of Food Science & Technology* 13 (4), S. 319–327. DOI: 10.1111/j.1365-2621.1978.tb00809.x.
- Both, Simon; Chemat, Farid; Strube, Jochen (2014a): Extraction of polyphenols from black tea – Conventional and ultrasound assisted extraction. In: *Ultrason. Sonochem.* 21 (3), S. 1030–1034. DOI: 10.1016/j.ultsonch.2013.11.005.
- Both, Simon; Chemat, Farid; Strube, Jochen (2014b): Extraction of polyphenols from black tea--conventional and ultrasound assisted extraction. In: *Ultrasonics sonochemistry* 21 (3), S. 1030–1034. DOI: 10.1016/j.ultsonch.2013.11.005.
- Canatella, Paul J.; Black, Matthew M.; Bonnicksen, David M.; McKenna, Conor; Prausnitz, Mark R. (2004): Tissue Electroporation: Quantification and Analysis of Heterogeneous Transport in Multicellular Environments. In: *Biophysical Journal* 86 (5), S. 3260–3268. DOI: 10.1016/S0006-3495(04)74374-X.
- Canatella, Paul J.; Karr, Joan F.; Petros, John A.; Prausnitz, Mark R. (2001): Quantitative Study of Electroporation-Mediated Molecular Uptake and Cell Viability (80). Online verfügbar unter <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0006349501760559?token=B2E5F357AF4EBBBD820ADA71D44C2F481258CF9793333AFB77BB2002DDB7D8AAD633DB730D3C3FD64DA577AA791A22A2&originRegion=eu-west-1&originCreation=20210419151558>.
- Castillo-Santos, K.; Aguirre-Alonso, R. O.; Rodríguez-Jimenes, G. C.; Robles-Olvera, V. J.; Salgado-Cervantes, M. A.; García-Alvarado, M. A. (2016a): An optimization based algorithm for solving design problems of counter-current multistage batch solid–liquid extractors for complex systems. Application to vanilla extract. In: *Computers & Chemical Engineering* 89, S. 53–61. DOI: 10.1016/j.compchemeng.2016.03.004.
- Castillo-Santos, K.; Aguirre-Alonso, R. O.; Rodríguez-Jimenes, G. C.; Robles-Olvera, V. J.; Salgado-Cervantes, M. A.; García-Alvarado, M. A. (2016b): An optimization based algorithm for solving design problems of counter-current multistage batch solid–liquid extractors for complex systems: Application to vanilla extract. In: *Computers & Chemical Engineering* 89, S. 53–61. DOI: 10.1016/j.compchemeng.2016.03.004.
- Castillo-Santos, K.; Ruiz-López, I. I.; Rodríguez-Jimenes, G. C.; Carrillo-Ahumada, J.; García-Alvarado, M. A. (2017): Analysis of mass transfer equations during solid-liquid extraction and its application for vanilla extraction kinetics modeling. In: *Journal of Food Engineering* 192, S. 36–44. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2016.07.020.
- Chandrasekhar, J.; Madhusudhan, M. C.; Raghavarao, K.S.M.S. (2012): Extraction of anthocyanins from red cabbage and purification using adsorption. In: *Food Bioprod. Process.* 90 (4), S. 615–623. DOI: 10.1016/j.fbp.2012.07.004.
- Chang, D. C. (1989): Cell poration and cell fusion using an oscillating electric field (56). Online verfügbar unter <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0006349589827110?token=BCFCBD54B6A1F31E8088F079519D7015A1107C2365AF35AF51053673EB6BB6860B2E0ABC05B63D0F608C22FB83279E19&originRegion=eu-west-1&originCreation=20210419153816>.
- Chapman, Tim (2003): A structured approach. In: *Nature* 421 (6923), S. 661–666. DOI: 10.1038/421661b.

Chemat, Farid; Abert-Vian, Maryline; Fabiano-Tixier, Anne Sylvie; Strube, Jochen; Uhlenbrock, Lukas; Gunjevic, Veronika; Cravotto, Giancarlo (2019): Green extraction of natural products. Origins, current status, and future challenges. In: *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 118, S. 248–263. DOI: 10.1016/j.trac.2019.05.037.

Chen, C.; Smye, S. W.; Robinson, M. P.; Evans, J. A. (2006): Membrane electroporation theories: a review. In: *Medical & biological engineering & computing* 44 (1-2), S. 5–14. DOI: 10.1007/s11517-005-0020-2.

Cheng, Chih-Lun; Hong, Gui-Bing (2018): Optimization of extraction process for bioactive compounds from Litsea cubeba fruits. In: *Korean J. Chem. Eng.* 35 (1), S. 187–194. DOI: 10.1007/s11814-017-0251-6.

Chrzanowski, Julian; Chrzanowska, Alicja; Graboń, Wojciech (2020): Glycyrrhizin: An old weapon against a novel coronavirus. In: *Phytotherapy research : PTR*. DOI: 10.1002/ptr.6852.

Cissé, Mady; Bohuon, Philippe; Sambe, Falillou; Kane, Cheikhou; Sakho, Mama; Dornier, Manuel (2012): Aqueous extraction of anthocyanins from Hibiscus sabdariffa: Experimental kinetics and modeling. In: *J. Food Eng.* 109 (1), S. 16–21. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2011.10.012.

Considine, J. A.; Knox, R. B. (1979a): Development and histochemistry of the cells, cell walls, and cuticle of the dermal system of fruit of the grape, *Vitis vinifera* L. In: *Protoplasma* (99), S. 347–365. Online verfügbar unter <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/BF01275807.pdf>, zuletzt geprüft am 22.04.2021.

Considine, J. A.; Knox, R.B. (1979b): Development and Histochemistry of the Pistil of the Grape, *Vitis vinifera*. In: *Annals of Botany* (43), S. 11–22, zuletzt geprüft am 22.04.2021.

Dahmoune, Farid; Nayak, Balunkeswar; Moussi, Kamal; Remini, Hocine; Madani, Khodir (2015): Optimization of microwave-assisted extraction of polyphenols from *Myrtus communis* L. leaves (166). Online verfügbar unter <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0308814614009522?token=43F4615ED1E76A0AE8FD76487D54EAD6588E0C913C681D6AE78CD5416273CA094D9F180B6F547AFE053CA783CE17B435&originRegion=eu-west-1&originCreation=20210426152326>.

Demaggio, A. E.; Lott, J. A. (1964): Application of Ultrasound for Increasing Application of Ultrasound for Increasing Alkaloid Yield from *Datura Stramonium*. In: *J. Pharm. Sci.* 53, S. 945–949. DOI: 10.1002/jps.2600530822.

Diankov, S.; Simeonov, E.; Tomova, K. (2008): Modelling of Multistage Extraction Kinetics for *Nicotiana Tabacum* L. – Water System. In: *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy* (43, 1), S. 119–124.

Dimitrov, Dimiter S.; Sowers, Arthur E. (1990): Membrane electroporation — fast molecular exchange by electroosmosis (1022). Online verfügbar unter <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/000527369090289Z?token=0D07D2D21AABDEAEDDD6172ED9611F0D10DB2BE491EBE7BC2D72683F5DA1FDCA94A98176AB8149F9335A2A1F5C5EEB26&originRegion=eu-west-1&originCreation=20210419100057>.

Dong, Zhizhe; Gu, Fenglin; Xu, Fei; Wang, Qinghuang (2014): Comparison of four kinds of extraction techniques and kinetics of microwave-assisted extraction of vanillin from *Vanilla planifolia* Andrews. In: *Food chemistry* 149, S. 54–61. DOI: 10.1016/j.foodchem.2013.10.052.

Droebner, Karoline; Ehrhardt, Christina; Poetter, Anne; Ludwig, Stephan; Planz, Oliver (2007): CYSTUS052, a polyphenol-rich plant extract, exerts anti-influenza virus activity in mice (76). Online verfügbar unter <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0166354207003063?token=3046F67F566FBB24D3DE5F60897629940DCB7657AA96DCCABF7FDF4A6A60E703CF091A5B7F33A61908116C835239CB78>.

- E. Simeonov, I. Tsibranska, A. Minchev (1999): Solid-liquid extraction from plants - experimental kinetics and modelling. In: *Chemical Engineering Journal* (73), S. 255–259.
- El Zakhem, H.; Lanoisellé, J-L; Lebovka, N. I.; Nonus, M.; Vorobiev, E. (2006a): Behavior of yeast cells in aqueous suspension affected by pulsed electric field. In: *Journal of Colloid and Interface Science* 300 (2), S. 553–563. DOI: 10.1016/j.jcis.2006.04.055.
- El Zakhem, H.; Lanoisellé, J-L; Lebovka, N. I.; Nonus, M.; Vorobiev, E. (2006b): The early stages of *Saccharomyces cerevisiae* yeast suspensions damage in moderate pulsed electric fields. In: *Colloids and surfaces. B, Biointerfaces* 47 (2), S. 189–197. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2005.12.010.
- Elez Garofulić, Ivona; Zorić, Zoran; Pedisić, Sandra; Brnčić, Mladen; Dragović-Uzelac, Verica (2018): UPLC-MS2 Profiling of Blackthorn Flower Polyphenols Isolated by Ultrasound-Assisted Extraction. In: *J. Food Sci.* 83 (11), S. 2782–2789. DOI: 10.1111/1750-3841.14368.
- Elias, Horst; Lorenz, Sabine; Winnen, Gnther (1992): Das Experiment: 100 Jahre Nernstscher Verteilungssatz. In: *Chem. Unserer Zeit* 26 (2), S. 70–75. DOI: 10.1002/ciuz.19920260207.
- Elsevier B.V (Hg.) (2016): Science Direct Database. Online verfügbar unter www.sciencedirect.com, zuletzt geprüft am 2016.
- Elwers, Silke (2008): Zusammensetzung und histologische Verteilung der phenolischen Substanzen in Samen von Massen- und Edelkakao-Varietäten (*Theobroma cacao* L.). Universität Hamburg, Hamburg. Fakultät für Mathematik, Informatik und Naturwissenschaften.
- Espinoza-Pérez, J. D.; Vargas, A.; Robles-Olvera, V. J.; Rodríguez-Jimenes, G. C.; García-Alvarado, M. A. (2007): Mathematical modeling of caffeine kinetic during solid–liquid extraction of coffee beans. In: *J. Food Eng.* 81 (1), S. 72–78. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2006.10.011.
- Fang, Xincheng; Wang, Jianhua; Yu, Xiaoliang; Zhang, Guohui; Zhao, Jinpeng (2010): Optimization of microwave-assisted extraction followed by RP-HPLC for the simultaneous determination of oleanolic acid and ursolic acid in the fruits of *Chaenomeles sinensis*. In: *J. Sep. Sci.* 33 (8), S. 1147–1155. DOI: 10.1002/jssc.200900726.
- Fincan, M.; Dejmek, P. (2002): In situ visualization of the effect of a pulsed electric field on plant tissue. In: *J. Food Eng.* 55 (3), S. 223–230. DOI: 10.1016/S0260-8774(02)00079-1.
- Fincan, Mustafa; DeVito, Francesca; Dejmek, Petr (2004): Pulsed electric field treatment for solid–liquid extraction of red beetroot pigment. In: *J. Food Eng.* 64 (3), S. 381–388. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2003.11.006.
- Franco, Daniel; Sineiro, Jorge; Rubilar, Mónica; Sánchez, Marivel; Jerez, María; Pinelo, Manuel et al. (2008): Polyphenols from plant materials: extraction and antioxidant power. In: *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry* 7 (8), S. 3210–3216.
- Gallo, Monica; Formato, Andrea; Ciaravolo, Martina; Formato, Gaetano; Naviglio, Daniele (2020): Study of the Kinetics of Extraction Process for The Production of Hemp Inflorescences Extracts by Means of Conventional Maceration (CM) and Rapid Solid-Liquid Dynamic Extraction (RSLDE). In: *Separations* 7 (2), S. 20. DOI: 10.3390/separations7020020.
- Ganzler, Katalin; Salgó, András; Valkó, Klára (1986): Microwave extraction. In: *J. Chromatogr. A* 371, S. 299–306. DOI: 10.1016/S0021-9673(01)94714-4.
- Gironi, Fausto; Piemonte, Vincenzo (2011): Temperature and solvent effects on polyphenol extraction process from chestnut tree wood (89). Online verfügbar unter

<https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0263876210003321?token=5AAAF9CF9EE8D8BE7D2F30D3E035D7129102351383411628080789C3E7D10A5F72106A43E2D7418ABA4C8402396F882A9&originRegion=eu-west-1&originCreation=20210428121036>.

González-Centeno, M. R.; Comas-Serra, F.; Femenia, A.; Rosselló, C.; Simal, S. (2015): Effect of power ultrasound application on aqueous extraction of phenolic compounds and antioxidant capacity from grape pomace (*Vitis vinifera* L.): experimental kinetics and modeling. In: *Ultrason. Sonochem.* 22, S. 506–514. DOI: 10.1016/j.ultsonch.2014.05.027.

Guerrero, M. Sánchez; Torres, J. Sineiro; Nuñez, María José (2008): Extraction of polyphenols from white distilled grape pomace: Optimization and modelling. In: *Bioresource Technology* 99 (5), S. 1311–1318. DOI: 10.1016/j.biortech.2007.02.009.

Gutmann, M. (1995): Improved staining procedures for photographic documentation of phenolic deposits in semithin sections of plant tissue. In: *Journal of Microscopy* 179 (3), S. 277–281. DOI: 10.1111/j.1365-2818.1995.tb03642.x.

Hamilton, W.; Sale, A. (1967): Effects of high electric fields on microorganisms I. Killing of bacteria and yeasts. In: *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects* 148 (3), S. 781–788. DOI: 10.1016/0304-4165(67)90052-9.

Handa, Sukhdev Swami; Khanuja, Suman Preet Singh; Longo, Gennaro; Rakesh, Dev Dutt (Hg.) (2008): Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants. United Nations Industrial Development Organization and the International Centre for Science and High Technology. Padriciano 99, 34012 Trieste, Italy: ICS-UNIDO, AREA Science Park.

Hedderich, Jürgen; Sachs, Lothar (2018): *Angewandte Statistik*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, zuletzt geprüft am 17.04.2021.

Ho, S. Y.; Mittal, G. S. (1996): Electroporation of Cell Membranes: A Review. In: *Critical Reviews in Biotechnology* (16(4)), S. 349–362, zuletzt geprüft am 22.07.2015.

Hojnik, Maša; Škerget, Mojca; Knez, Željko (2007): Isolation of chlorophylls from stinging nettle (*Urtica dioica* L.). In: *Separation and Purification Technology* 57 (1), S. 37–46. DOI: 10.1016/j.seppur.2007.02.018.

Hojnik, Maša; Škerget, Mojca; Knez, Željko (2008): Extraction of lutein from Marigold flower petals – Experimental kinetics and modelling. In: *LWT Food Sci. Technol.* 41 (10), S. 2008–2016. DOI: 10.1016/j.lwt.2007.11.017.

Javier Raso, Volker Heinz (Hg.) (2006): Pulsed electric fields technology for the food industry. Fundamentals and applications. New York, London: Springer (Food engineering series).

Jemai, Abdel Basset; Vorobiev, Eugene (2002): Effect of moderate electric field pulses on the diffusion coefficient of soluble substances from apple slices. In: *International Journal of Food Science & Technology* 37 (1), S. 73–86. DOI: 10.1046/j.1365-2621.2002.00516.x.

Jimmy; Widiputria, Diah Indriani; Gunawan, Paulus (2018): Study of The Pharmacological Activity and Heavy Metal Content of *Eichhornia crassipes* Extract. In: *Proceedings of the International Conference on Innovation, Entrepreneurship and Technology*, S. 85–89. Online verfügbar unter https://iconiet.sgu.ac.id/wp-content/uploads/2019/03/19-03-01-ICONIET-Proceedings_compressed.pdf#page=93, zuletzt geprüft am 20.04.2021.

- Karakashov, Blagoj; Grigorakis, Spyros; Loupassaki, Sofia; Mourtzinou, Ioannis; Makris, Dimitris P. (2015): Optimisation of organic solvent-free polyphenol extraction from *Hypericum triquetrifolium* Turra using Box–Behnken experimental design and kinetics. In: *Int J Ind Chem* 6 (2), S. 85–92. DOI: 10.1007/s40090-015-0034-z.
- Kassing, M.; Jenelten, U.; Schenk, J.; Strube, J. (2010a): A New Approach for Process Development of Plant-Based Extraction Processes. In: *Chem. Eng. Technol.* 33 (3), S. 377–387. DOI: 10.1002/ceat.200900480.
- Kassing, M.; Jenelten, U.; Schenk, J.; Strube, J. (2010b): A New Approach for Process Development of Plant-Based Extraction Processes. In: *Chem. Eng. Technol.* 33 (3), S. 377–387. DOI: 10.1002/ceat.200900480.
- Kaymak-Ertekin, Figen; Sultanoğlu, Mustafa (2001): Moisture sorption isotherm characteristics of peppers (47). Online verfügbar unter <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0260877400001205?token=CAEC6BD3D168794238FE05FB244F21BBA54E5B3B0EA5D4DE7EEAB8D4C17B1BDE7090908EADB9FF1C9C908D3B7C71EB52&originRegion=eu-west-1&originCreation=20210421153936>.
- Knebel, N. G.; Sharp, S. R.; Madigan, M. J. (1995): Rapid quantitative determination of a collagenase inhibitor and its major metabolite by on-line liquid chromatography with ionspray tandem mass spectrometric detection. In: *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications* 673 (2), S. 213–222. DOI: 10.1016/0378-4347(95)00270-2.
- Kotnik, Tadej; Miklavčič, Damijan; Slivnik, Tomaž (1998): Time course of transmembrane voltage induced by time-varying electric fields—a method for theoretical analysis and its application. In: *Bioelectrochemistry and Bioenergetics* 45 (1), S. 3–16. DOI: 10.1016/S0302-4598(97)00093-7.
- Krassowska, Wanda; Filev, Petar D. (2007): Modeling electroporation in a single cell. In: *Biophysical Journal* 92 (2), S. 404–417. DOI: 10.1529/biophysj.106.094235.
- Lack, Eduard Alois (1985): Kriterien zur Auslegung von Anlagen für die Hochdruckextraktion von Naturstoffen. Technische Universität Graz. Institut für Verfahrenstechnik.
- Lazar, Liliana; Talmaciu, Adina Iulia; Volf, Irina; Popa, Valentin I. (2016): Kinetic modeling of the ultrasound-assisted extraction of polyphenols from *Picea abies* bark. In: *Ultrason. Sonochem.* 32, S. 191–197. DOI: 10.1016/j.ultsonch.2016.03.009.
- Lebedeva, N.E. (1987): Electric breakdown of bilayer lipid membranes at short times of voltage effect. In: *Biological Membranes* (4), S. 994–998.
- Lebovka, N. I.; Bazhal, M. I.; Vorobiev, E. (2000): Simulation and experimental investigation of food material breakage using pulsed electric field treatment. In: *J. Food Eng.* 44 (4), S. 213–223. DOI: 10.1016/S0260-8774(00)00029-7.
- Lebovka, N. I.; Shynkaryk, M. V.; El-Belghiti, K.; Benjelloun, H.; Vorobiev, E. (2007a): Plasmolysis of sugarbeet: Pulsed electric fields and thermal treatment. In: *J. Food Eng.* 80 (2), S. 639–644. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2006.06.020.
- Lebovka, N. I.; Shynkaryk, M. V.; Vorobiev, E. (2006): Drying of Potato Tissue Pretreated by Ohmic Heating. In: *Drying Technology* 24 (5), S. 601–608. DOI: 10.1080/07373930600626677.
- Lebovka, N.I.; Bazhal, M.I.; Vorobiev, E. (2001): Pulsed electric field breakage of cellular tissues: visualisation of percolative properties. In: *Innovative Food Sci. Emerg. Technol.* 2 (2), S. 113–125. DOI: 10.1016/S1466-8564(01)00024-8.

- Lebovka, N.I.; Bazhal, M.I.; Vorobiev, E. (2002): Estimation of characteristic damage time of food materials in pulsed-electric fields. In: *J. Food Eng.* 54 (4), S. 337–346. DOI: 10.1016/S0260-8774(01)00220-5.
- Lebovka, Nikolai; Vorobiev, Eugene (2007): The kinetics of inactivation of spheroidal microbial cells by pulsed electric fields. Online verfügbar unter <https://arxiv.org/pdf/0704.2750>.
- Lebovka, Nikolai I.; Praporscic, I.; Ghnimi, S.; Vorobiev, Eugene (2005a): Does Electroporation Occur During the Ohmic Heating of Food? In: *J. Food Sci.* 70 (5), E308-E311. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2005.tb09969.x.
- Lebovka, Nikolai I.; Praporscic, Iurie; Ghnimi, Sami; Vorobiev, Eugene (2005b): Temperature enhanced electroporation under the pulsed electric field treatment of food tissue. In: *J. Food Eng.* 69 (2), S. 177–184. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2004.08.037.
- Lebovka, Nikolai I.; Shynkaryk, Nikolai V.; Vorobiev, Eugene (2007b): Pulsed electric field enhanced drying of potato tissue (78). Online verfügbar unter <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0260877405007454?token=7C74466D03FDD5BB9A01E2CCBAE2FB787DA01D4A475EE8158D954D2A8AC69719EABEC307F3D6E8D8814C7E7887B5493D&originRegion=eu-west-1&originCreation=20210419115351>.
- Li, Dong; Li, Wen Hong; Li, Xue Kun; Fan, Zheng; Gao, Rong; Yan, Sui Hong; Wang, Feng (2011a): Kinetics on the Extraction of Polyphenol from Infructescence of *Platycarya strobilacea* sieb. et zucc. In: *AMR* 236-238, S. 2786–2789. DOI: 10.4028/www.scientific.net/AMR.236-238.2786.
- Li, Wei; Zheng, Cheng; Zhao, Jian; Ning, Zhengxiang (2011b): Microwave Assisted Multi-Stage Countercurrent Extraction of Dihydromyricetin from *Ampelopsis grossedentata*. In: *International Journal of Food Engineering* 7 (4). DOI: 10.2202/1556-3758.2137.
- Lomauro, C. J.; Bakshi, A. S.; Labuza, T. P. (1985): Evaluation of food moisture sorption isotherm equations, Part I. Fruit, vegetable and meat products. In: *Lebensmittel - Wissenschaft und Technologie* (18), S. 111–117. Online verfügbar unter https://www.researchgate.net/profile/Theodore-Labuza/publication/279900186_Evaluation_of_food_moisture_sorption_isotherm_equations_Part_I_Fruit_vegetable_and_meat_products/links/55edc90d08ae199d47be70e5/Evaluation-of-food-moisture-sorption-isotherm-equations-Part-I-Fruit-vegetable-and-meat-products.pdf, zuletzt geprüft am 21.04.2021.
- Luengo, Elisa; Álvarez, Ignacio; Raso, Javier (2013): Improving the pressing extraction of polyphenols of orange peel by pulsed electric fields (17). Online verfügbar unter <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S1466856412001245?token=11304EDBE08AE26FDEA109E2FCDCDA50EBF0D9027E7BDAB2A1560970EDE595A0FBA7E8F19D05A0E1012D43076AED20F9A&originRegion=eu-west-1&originCreation=20210426121005>.
- Luo, Pan; Liu, Dong; Li, Juan (2020): Pharmacological perspective: glycyrrhizin may be an efficacious therapeutic agent for COVID-19. In: *International journal of antimicrobial agents* 55 (6), S. 105995. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2020.105995.
- Luque de Castro, M. D.; Priego-Capote, F.; Peralbo-Molina, A. (2011): The role of ultrasound in analytical derivatizations (879). Online verfügbar unter <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S1570023210005556?token=5592869C759AB9B61A19884FF57623773BAA10576973ADDAE6AF6F3334A84FE8C47254E3C6579EDB6001D520A769AF58&originRegion=eu-west-1&originCreation=20210426104738>.

- Mañas, Pilar; Barsotti, Laura; Chefftel, J. Claude (2001): Microbial inactivation by pulsed electric fields in a batch treatment chamber: effects of some electrical parameters and food constituents. In: *Innovative Food Sci. Emerg. Technol.* 2 (4), S. 239–249. DOI: 10.1016/S1466-8564(01)00041-8.
- Manuela Guderjan (2006): Untersuchungen zum Einfluss elektrischer Hochspannungsimpulse bei der Gewinnung pflanzlicher Öle. Technischen Universität Berlin.
- Martin-Belloso, O.; Vega-Mercado, H.; Qin, B. L.; Chang, F. J.; Barbosa-Canovas, G. V.; Swanson, B. C. (1997): Inactivation of Escheria Coli suspended in liquid egg using pulsed electric fields. In: *J Food Processing Preservation* 21 (3), S. 193–208. DOI: 10.1111/j.1745-4549.1997.tb00776.x.
- Mason, T. J.; Paniwnyk, L.; Lorimer, J. P. (1996): The uses of ultrasound in food technology (3). Online verfügbar unter <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S135041779600034X?token=19F3C96713D88F2E9E5A541FDF3FE64D6646935741F6C61FEF05EBFA2A185B09DB6C3F78472AF0C338DB8AFCEA82B4D2>.
- Mason, Timothy James; Lorimer, John Phillip (2002): Applied sonochemistry. The uses of power ultrasound in chemistry and processing. Weinheim: Wiley-VCH. Online verfügbar unter https://www.researchgate.net/profile/timothy_mason/publication/259056178_applied_sonochemistry_the_uses_of_power_ultrasound_in_chemistry_and_processing.
- Mattos, R. de; Zecchi, B.; Gerla, P.; Ferrari, A. (2018): Solvent use optimization on polyphenols extraction from grape marc involving economical aspects. In: Stefan Radl, Jiri J. Klemes, Petar Sabev Varbanov und Thomas Wallek (Hg.): 28th EUROPEAN SYMPOSIUM on COMPUTER AIDED PROCESSENGINEERING, Bd. 43. San Diego: Elsevier (Computer Aided Chemical Engineering Ser, v. Volume 43), S. 1317–1322.
- Meullemiestre, A.; Petitcolas, E.; Maache-Rezzoug, Z.; Chemat, F.; Rezzoug, S. A. (2016): Impact of ultrasound on solid-liquid extraction of phenolic compounds from maritime pine sawdust waste. Kinetics, optimization and large scale experiments. In: *Ultrasonics sonochemistry* 28, S. 230–239. DOI: 10.1016/j.ultsonch.2015.07.022.
- Murck, Harald (2020): Symptomatic Protective Action of Glycyrrhizin (Licorice) in COVID-19 Infection? In: *Frontiers in immunology* 11, S. 1239. DOI: 10.3389/fimmu.2020.01239.
- Newman, Paul G.; Rozycki, Grace S. (1998): THE HISTORY OF ULTRASOUND. In: *Surgical Clinics of North America* 78 (2), S. 179–195. DOI: 10.1016/S0039-6109(05)70308-X.
- Oroian, Mircea; Ursachi, Florin; Dranca, Florina (2020): Ultrasound-Assisted Extraction of Polyphenols From Crude Pollen. In: *Antioxid.* 9 (4). DOI: 10.3390/antiox9040322.
- Parada, María Soledad; Fernández, Katherina (2017): Modelling the hydrophilic extraction of the bark of Eucalyptus nitens and Eucalyptus globulus: Adsorption isotherm and thermodynamic studies. In: *Industrial Crops and Products* 109, S. 558–569. DOI: 10.1016/j.indcrop.2017.08.059.
- Pauly, H.; Schwan, H. P. (1959): Über die Impedanz einer Suspension von kugelförmigen Teilchen mit einer Schale. In: *Zeitschrift für Naturforschung B* 14 (2), S. 125–131. DOI: 10.1515/znb-1959-0213.
- Pavlin, Mojca; Leben, Vilko; Miklavcic, Damijan (2007): Electroporation in dense cell suspension--theoretical and experimental analysis of ion diffusion and cell permeabilization. In: *Biochimica et biophysica acta* 1770 (1), S. 12–23. DOI: 10.1016/j.bbagen.2006.06.014.
- Peiró, Sara; Luengo, Elisa; Segovia, Francisco; Raso, Javier; Almajano, María Pilar (2019): Improving Polyphenol Extraction from Lemon Residues by Pulsed Electric Fields. In: *Waste Biomass Valor* 10 (4), S. 889–897. DOI: 10.1007/s12649-017-0116-6.

- Petrovic, Slobodan; Ivanovic, Jasna; Milovanovic, Stoja; Zizovic, Irena (2012): Comparative analyses of diffusion coefficients for different extraction processes from thyme. In: *J Serb Chem Soc* 77 (6), S. 799–813. DOI: 10.2298/JSC110616009P.
- Pliquett, U.; Joshi, R. P.; Sridhara, V.; Schoenbach, K. H. (2007): High electrical field effects on cell membranes. In: *Bioelectrochemistry* 70 (2), S. 275–282. DOI: 10.1016/j.bioelechem.2006.10.004.
- Podgórski, Albert; Bałazy, Anna; Gradoń, Leon (2006): Application of nanofibers to improve the filtration efficiency of the most penetrating aerosol particles in fibrous filters. In: *Chemical Engineering Science* 61 (20), S. 6804–6815. DOI: 10.1016/j.ces.2006.07.022.
- Powell, Erin E.; Hill, Gordon A.; Juurlink, Bernhard H. J.; Carrier, D. Julie (2005): Glucoraphanin extraction from *Cardaria draba*: Part 2. Countercurrent extraction, bioactivity and toxicity testing. In: *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 80 (9), S. 992–997. DOI: 10.1002/jctb.1274.
- Pucihar, Gorazd; Kotnik, Tadej; Teissié, Justin; Miklavcic, Damijan (2007): Electroporation of dense cell suspensions. In: *European biophysics journal : EBJ* 36 (3), S. 173–185. DOI: 10.1007/s00249-006-0115-1.
- Qin, Bai-Lin; Zhang, Qinghua; Barbosa-Canovas, G. V.; Swanson, B. G.; Pedrow, P. D. (1994): Inactivation of microorganisms by pulsed electric fields of different voltage waveforms. In: *IEEE Trans. Dielect. Electr. Insul.* 1 (6), S. 1047–1057. DOI: 10.1109/94.368658.
- Rahmalia, Winda; Fabre, Jean-François; Usman, Thamrin; Mouloungui, Zéphirin (2014): Aprotic solvents effect on the UV–visible absorption spectra of bixin. In: *Spectrochim. Acta, Part A* 131, S. 455–460. DOI: 10.1016/j.saa.2014.03.119.
- Rakotondramasy-Rabesiaka, Lovasoa; Havet, Jean-Louis; Porte, Catherine; Fauduet, Henri (2007): Solid–liquid extraction of protopine from *Fumaria officinalis* L.—Analysis determination, kinetic reaction and model building. In: *Sep. Purif. Technol.* 54 (2), S. 253–261. DOI: 10.1016/j.seppur.2006.09.015.
- Raso, Javier; Alvarez, Ignacio; Condón, Santiago; Sala Trepas, Francisco J. (2000): Predicting inactivation of *Salmonella senftenberg* by pulsed electric fields. In: *Innovative Food Sci. Emerg. Technol.* 1 (1), S. 21–29. DOI: 10.1016/S1466-8564(99)00005-3.
- Reberšek, Matej; Miklavcic, Damijan (2011): Advantages and Disadvantages of Different Concepts of Electroporation Pulse Generation Advantages and Disadvantages of Electroporation Pulse Generation. In: *AUTOMATIKA* 52(2011) 1, 12–19 1 (52), S. 12–19, zuletzt geprüft am 22.07.2015.
- Rolong, Andrea; Davalos, Rafael V.; Rubinsky, Boris (2018): History of Electroporation. In: Martijn R. Meijerink, Hester J. Scheffer und Govindarajan Narayanan (Hg.): Irreversible electroporation in clinical practice. Cham, Switzerland: Springer, S. 13–37, zuletzt geprüft am 16.03.2021.
- Saffarzadeh-Matin, Shohreh; Khosrowshahi, Fatemeh Masoudi (2017): Phenolic compounds extraction from Iranian pomegranate (*Punica granatum*) industrial waste applicable to pilot plant scale. In: *Industrial Crops and Products* 108, S. 583–597. DOI: 10.1016/j.indcrop.2017.07.022.
- Salgado-Roman, Manuel; Botello-Alvarez, Enrique; Rico-Martínez, Ramiro; Jiménez-Islas, Hugo; Cárdenas-Manríquez, Marcela; Navarrete-Bolaños, José Luis (2008): Enzymatic treatment to improve extraction of capsaicinoids and carotenoids from chili (*Capsicum annuum*) fruits. In: *J Agric Food Chem* 56 (21), S. 10012–10018. DOI: 10.1021/jf801823m.

- Sampedro, F.; Rivas, A.; Rodrigo, D.; Martínez, A.; Rodrigo, M. (2007): Pulsed electric fields inactivation of *Lactobacillus plantarum* in an orange juice–milk based beverage: Effect of process parameters. In: *J. Food Eng.* 80 (3), S. 931–938. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2006.08.013.
- Sattler, Klaus (2012): Thermische Trennverfahren. Grundlagen, Auslegung, Apparate. 3., überarb. u. erw. Auflage. Weinheim: Wiley-VCH.
- Sayyar, Sepidar; Abidin, Zurina Zainal; Yunus, Robiah; Muhammad, Azhari (2009): Extraction of Oil from *Jatropha* Seeds-Optimization and Kinetics. In: *Am. J. Appl. Sci* (6 (7)), S. 1390–1395.
- Schmatloch, Stefan; Meier, Michael A. R.; Schubert, Ulrich S. (2003): Instrumentation for Combinatorial and High-Throughput Polymer Research: A Short Overview. In: *Macromol. Rapid Commun.* (24, No. 1), S. 33–34, zuletzt geprüft am 01.07.2015.
- Schwan, H. P. (1957): Electrical properties of tissue and cell suspensions. In: *Advances in biological and medical physics* 5, S. 147–209. DOI: 10.1016/b978-1-4832-3111-2.50008-0.
- Schwartzberg, Hery G. (1975): Mathematical analysis of solubilization kinetics and diffusion in foods. In: *Journal of Food Science* (40), S. 211–214.
- Senol, Aynur; Aydin, Ahmet (2006): Solid–liquid extraction of caffeine from tea waste using battery type extractor: Process optimization. In: *Journal of Food Engineering* 75 (4), S. 565–573. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2005.04.039.
- Shynkaryk, M. V.; Lebovka, N. I.; Vorobiev, E. (2008): Pulsed Electric Fields and Temperature Effects on Drying and Rehydration of Red Beetroots. In: *Drying Technology* 26 (6), S. 695–704. DOI: 10.1080/07373930802046260.
- Sicaire, Anne-Gaëlle; Vian, Maryline Abert; Fine, Frédéric; Carré, Patrick; Tostain, Sylvain; Chemat, Farid (2016): Ultrasound induced green solvent extraction of oil from oleaginous seeds. In: *Ultrasonics sonochemistry* 31, S. 319–329. DOI: 10.1016/j.ultsonch.2016.01.011.
- Sivakumar, Venkatasubramanian; Anna, J. Lakshmi; Vijayeeswarri, J.; Swaminathan, G. (2009): Ultrasound assisted enhancement in natural dye extraction from beetroot for industrial applications and natural dyeing of leather. In: *Ultrasonics sonochemistry* 16 (6), S. 782–789. DOI: 10.1016/j.ultsonch.2009.03.009.
- Spencer, P. L. (1942): High power micro-wave discharge tube am 23.09.1942. Veröffentlichungsnr: 2437279.
- Spencer, P. L. (1947): High frequency apparatus am 13.02.1947. Veröffentlichungsnr: 2593067.
- Spencer, P. L. (1949): Microwave amplifier am 31.03.1949. Veröffentlichungsnr: 2620458.
- Spencer, P. L. (1950): Microwave apparatus am 07.06.1950. Veröffentlichungsnr: 2652475.
- Stange, Rainer; Uehleke, Bernhard (2020): Covid-19: Überlegungen zu Voraussetzungen von phytotherapeutischen Empfehlungen. In: *Zeitschrift für Phytotherapie* 41 (04), S. 160–164. DOI: 10.1055/a-1102-1740.
- Stefan Töpfl (2006): Pulsed Electric Fields (PEF) for Permeabilization of Cell Membranes in Food- and Bioprocessing – Applications, Process and Equipment Design and Cost Analysis. Dissertation. Technischen Universität Berlin, Berlin.
- Swinehart, D. F. (1962): The Beer-Lambert Law. In: *Journal of Chemical Education* (Volume 39, Number 7), S. 333–335. Online verfügbar unter <https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/ed039p333>, zuletzt geprüft am 03.02.2021.
- Takahashi, Yuzo (1979): Two hundred years of lichtenberg figures. In: *Journal of Electrostatics* 6 (1), S. 1–13. DOI: 10.1016/0304-3886(79)90020-2.

- Tarek, Mounir (2005): Membrane Electroporation: A Molecular Dynamics Simulation. In: *Biophysical Journal* 88 (6), S. 4045–4053. DOI: 10.1529/biophysj.104.050617.
- Teissie, J.; Golzio, M.; Rols, M.P. (2005): Mechanisms of cell membrane electropermeabilization: A minireview of our present (lack of ?) knowledge. In: *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects* 1724 (3), S. 270–280. DOI: 10.1016/j.bbagen.2005.05.006.
- Teissié, J.; Eynard, N.; Gabriel, B.; Rols, M.P (1999): Electropermeabilization of cell membranes. In: *Advanced Drug Delivery Reviews* 35 (1), S. 3–19. DOI: 10.1016/S0169-409X(98)00060-X.
- Tittel, G.; Wagner, H.; Bos, R. (1982): Über die chemische Zusammensetzung von Melissenölen. In: *Journal of Medicinal Plant Research* (48), S. 91–98. Online verfügbar unter <https://www.thieme-connect.de/products/ejournals/pdf/10.1055/s-2007-970028.pdf>, zuletzt geprüft am 27.04.2021.
- Tiwari, Brijesh K. (2015): Ultrasound: A clean, green extraction technology. In: *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 71, S. 100–109. DOI: 10.1016/j.trac.2015.04.013.
- Toepfl, S.; Heinz, V.; Knorr, D. (2007): High intensity pulsed electric fields applied for food preservation (46). Online verfügbar unter <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0255270106001929?token=E8C4A5BBC9A64CA70AB0474F477EAFFCE258464D47667E3CDD8925CC282EAD58EF20D9A10BAC8266E37E58D48D23FE77&originRegion=eu-west-1&originCreation=20210419152121>.
- Tu, Youyou (2011): The discovery of artemisinin (qinghaosu) and gifts from Chinese medicine. In: *Nature medicine* 17 (10), S. 1217–1220. DOI: 10.1038/nm.2471.
- Türker, Nüzhet; Erdogdu, Ferruh (2006): Effects of pH and temperature of extraction medium on effective diffusion coefficient of anthocyanin pigments of black carrot (*Daucus carota* var. L.). In: *J. Food Eng.* 76 (4), S. 579–583. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2005.06.005.
- Ummat, Viruja; Tiwari, Brijesh K.; Jaiswal, Amit K.; Condon, Kevin; Garcia-Vaquero, Marco; O'Doherty, John et al. (2020): Optimisation of Ultrasound Frequency, Extraction Time and Solvent for the Recovery of Polyphenols, Phlorotannins and Associated Antioxidant Activity from Brown Seaweeds. In: *Marine Drugs* 18 (5). DOI: 10.3390/md18050250.
- Vázquez-León, L. A.; Olguin-Rojas, J. A.; Páramo-Calderón, D. E.; Palma, Miguel; Barbero, Gerardo F.; Robles-Olvera, V. J. et al. (2019): Modeling of counter-current multistage extraction of *Moringa oleifera* leaves using a mechanistic model. In: *Food and Bioprocess Processing* 115, S. 165–174. DOI: 10.1016/j.fbp.2019.04.003.
- Vito, Francesca de; Ferrari, Giovanna; I. Lebovka, Nikolai; V. Shynkaryk, Nikolai; Vorobiev, Eugéne (2008): Pulse Duration and Efficiency of Soft Cellular Tissue Disintegration by Pulsed Electric Fields. In: *Food Bioprocess Technol* 1 (4), S. 307–313. DOI: 10.1007/s11947-007-0017-y.
- Vorobiev, Eugene; Jemai, Abdel Baset; Bouzrara, Hazem; Lebovka, Nikolai; Bazhal, Maksym (2005): Pulsed electric field assisted extraction of juice from food plants. In: Gustavo V. Barbosa-Canovas, Maria S. Tapia und M. Pilar Cano (Hg.): *Novel Food Processing Technologies*: CRC Press, S. 105–130.
- Wang, Wei-Chi; Sastry, Sudhir K. (2002): Effects of moderate electrothermal treatments on juice yield from cellular tissue (3). Online verfügbar unter <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S1466856402000541?token=2228EF40C4AF1E85F594FE29F3E8F721BF4DE77552B119E9008389DD10EB5DE638F902855391BF59F62195AAD4543B4A&originRegion=eu-west-1&originCreation=20210419151258>.

- Wang, Y. G.; Yue, S. T.; Li, D. Q.; Jin, M. J.; Li, C. Z. (2002): Kinetics and mechanism of Y(III) extraction with CA-100 using a constant interfacial cell with laminar flow. In: *Solvent Extr. Ion Exch.* 20 (3), S. 345–358. DOI: 10.1081/SEI-120004809.
- Weaver, James C.; Chizmadzhev, Yu.A. (1996): Theory of electroporation: A review. In: *Bioelectrochemistry and Bioenergetics* 41 (2), S. 135–160. DOI: 10.1016/S0302-4598(96)05062-3.
- Webster, Dean C. (2008): Combinatorial and High-Throughput Methods in Macromolecular Materials Research and Development. In: *Macromol. Chem. Phys.* 209 (3), S. 237–246. DOI: 10.1002/macp.200700558.
- Wouters, P. C.; Dutreux, N.; Smelt, J. P.; Lelieveld, H. L. (1999): Effects of pulsed electric fields on inactivation kinetics of *Listeria innocua*. In: *Applied and environmental microbiology* 65 (12), S. 5364–5371. DOI: 10.1128/AEM.65.12.5364-5371.1999.
- Wouters, Patrick C.; Smelt, Jan P.P.M. (1997): Inactivation of microorganisms with pulsed electric fields: Potential for food preservation. In: *Food Biotechnology* 11 (3), S. 193–229. DOI: 10.1080/08905439709549933.
- Xia, En-Qin; Yu, Ying-Ying; Xu, Xiang-Rong; Deng, Gui-Fang; Guo, Ya-Jun; Li, Hua-Bin (2012): Ultrasound-assisted extraction of oleanolic acid and ursolic acid from *Ligustrum lucidum* Ait. In: *Ultrason. Sonochem.* 19 (4), S. 772–776. DOI: 10.1016/j.ultsonch.2011.11.014.
- Xiong, Shaobing; Hou, Zhangyu; Zou, Shijie; Lu, Xiaoshuang; Yang, Jianming; Hao, Tianyu et al. (2021): Direct Observation on p- to n-Type Transformation of Perovskite Surface Region during Defect Passivation Driving High Photovoltaic Efficiency. In: *Joule*. DOI: 10.1016/j.joule.2020.12.009.
- Yang, Yu-Chiao; Wei, Ming-Chi (2015): Kinetic and characterization studies for three bioactive compounds extracted from *Rabdosia rubescens* using ultrasound. In: *Food Bioprod. Process.* 94, S. 101–113. DOI: 10.1016/j.fbp.2015.02.001.
- Zalacain, A.; Prodanov, M.; Carmona, M.; Alonso, G.L (2003): Optimisation of Extraction and Identification of Gallotannins from Sumac Leaves. In: *Biosystems Engineering* 84 (2), S. 211–216. DOI: 10.1016/S1537-5110(02)00246-5.
- Zderic, Aleksandra; Zondervan, Edwin (2016): Polyphenol extraction from fresh tea leaves by pulsed electric field: A study of mechanisms (109). Online verfügbar unter <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0263876216300156?token=7112B236F23F5D756AB894B945BA48D5EE1E1CD47F12CA7C003E9032E3E37C0C9DDFDD995EBC215E7D5138A32C5023FE&originRegion=eu-west-1&originCreation=20210426121830>.
- Zhang, Qinghua; Monsalve-Gonzalez, Adelmo; Qin, Bai-Lin; Barbosa-Canovas, Gustavo V.; Swanson, Barry G. (1994): Inactivation of *Saccharomyces Cerevisiae* in Apple Juice by Square-Wave and Exponential-Decay Pulsed Electric Fields. In: *J Food Process Engineering* 17 (4), S. 469–478. DOI: 10.1111/j.1745-4530.1994.tb00350.x.
- Zimmermann, U.; Pilwat, G.; Beckers, F.; Riemann, F. (1976): Effects of External Electrical Fields on Cell Membranes. In: *Bioelectrochemistry and Bioenergetics* 3 (3), S. 58–83.

Veröffentlichungen

- Simone Bachtler; Bart, Hans-Jörg (2021): Increase the yield of bioactive compounds from elder bark and annatto seeds using ultrasound and microwave assisted extraction technologies. In: Food Bioprod. Process. 125, S. 1–13. DOI: 10.1016/j.fbp.2020.10.009
- Simone Bachtler; Hans-Jörg Bart (2018): Polyphenols from Red Vine Leaves Using Alternative Processing Techniques. In: Processes 6 (12), S. 262. DOI: 10.3390/pr6120262
- Simone Bachtler, Hans-Jörg Bart (2016): Extraction of Anthocyanins Using a Laboratory Robot and Innovative Extraction Technologies, Chemical Engineering & Technology, Volume 39, Issue 10, October 2016, Pages 1875–1883, DOI: 10.1002/ceat.201600087
- Simone Bachtler, Hans-Jörg Bart (2015): Naturstoffextraktion mittels Elektroporation und alternativer Lösemittel, Chemie Ingenieur Technik 87(8):1084-1085, August 2015, DOI: 10.1002/cite.201550042
- Julian Thiele, Adam R. Abate, Ho Cheung Shum, Simone Bachtler, Stephan Förster and David A. Weitz (2010): Fabrication of Polymersomes using Double-Emulsion Templates in Glass-Coated Stamped Microfluidic Devices. Small, DOI: 10.1002/sml.201000798

Betreute Studienarbeiten

- Dennis Lukas: Betrachtung von prozessorientierten Fest-Flüssig Extraktionen mit vegetabilen Einsatzstoffen mittels Hochdurchsatzsystem im Vergleich zum Doppelmantelrührkessel; Bachelorarbeit 2018
- Eike Klüver: Neue Wege zur Wirkstoffgewinnung aus Pflanzen -Trends, Märkte und Industrien-; Studienprojekt 2016
- Franziska Jeniche: Optimierung von analytischen Methoden und technisch-wirtschaftliche Betrachtung der Extraktion von Naturstoffen; Masterarbeit 2016
- Laura Baldauf: Intensivierung der extraktiven Gewinnung von pflanzlichen Wirkstoffen durch Ultraschall und Mikrowelle; Bachelorarbeit 2016
- Linda Lubeka: Optimierung der innovativen Fest-Flüssig Extraktionstechnologien und der analytischen Methode für Ursol- und Oleanolsäure aus Pflanzen; Masterarbeit 2018
- Miriam Zech: Optimierung von vollautomatisierten Extraktionen aus Blättern der vitis vinifera und Screening verträglicher Lösemittel; Forschungsprojekt 2016
- Monika Lorenz: Untersuchungen zu bestehenden Auslegungsgrundlagen und Optimierung mehrstufiger Extraktionen zur Gewinnung pflanzlicher Wirkstoffe; Forschungsarbeit 2020
- Philip Raabe: Aufbau und Inbetriebnahme einer Naturstoff-Extraktionsanlage zur Prozessoptimierung; Diplomarbeit 2016
- Thomas Wolf: Untersuchung und Optimierung der Fest-Flüssig Extraktion zur Gewinnung von Bixin mithilfe innovativer Technologien; Masterarbeit 2018
- Tim Jonas: Histologische Untersuchungen polyphenolischer Substanzen zur Probenvorbereitung für Naturstoffextraktionen Studienprojekt; 2016

Lebenslauf

Simone Bachtler, Master of Science

Beruf

- 04/2014 - 12/2020 **Technische Universität Kaiserslautern**
Wissenschaftliche Mitarbeiter*in im Rahmen der Dissertation am Lehrstuhl
für Thermische Verfahrenstechnik
- 10/2012 - 02/2014 **BASF SE, Ludwigshafen**
Chemieingenieur*in

Studium

- 03/2011 - 09/2012 **Chemieingenieurwesen, Hochschule Mannheim:** Master of Science (M. Sc.)
- 03/2007 - 02/2011 **Chemische Technik, Hochschule Mannheim:** Bachelor of Science (B. Sc.)
- 10/2006 - 02/2007 **Universität Regensburg:** 1 Semester Pharmazie

