

**Technische Universität München**

**Lehrstuhl für Chemisch-Technische Analyse und  
Chemische Lebensmitteltechnologie**

**Hochdruck-Anreicherungen polarer Pflanzenwirkstoffe  
ohne und mit integrierter adsorptiver Extraktreinigung**

Alexander Förg

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für  
Ernährung, Landnutzung und Umwelt der Technischen Universität München zur Erlangung  
des akademischen Grades eines

**Doktor-Ingenieurs  
(Dr.-Ing.)**

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. R. Meyer-Pittroff  
Prüfer der Dissertation: 1. Univ.-Prof. Dr. H. Parlar  
2. Univ.-Prof. Dr. K. Sommer

Die Dissertation wurde am 10.10.2001 bei der Technischen Universität München eingereicht  
und durch die Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung  
und Umwelt am 24.01.2002 angenommen.

## Vorbemerkungen

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von November 1998 bis Oktober 2001 im Wissenschaftszentrum für Ernährung, Landnutzung und Umwelt der Technischen Universität München am Lehrstuhl für Chemisch-Technische Analyse und Chemische Lebensmitteltechnologie in Zusammenarbeit mit dem Adalbert-Raps-Zentrum für Arznei- und Gewürzpflanzenforschung in Freising-Weihenstephan durchgeführt.

Dem Institutsleiter Prof. Dr. H. Parlar möchte ich für die Möglichkeit danken, an diesem Lehrstuhl zu promovieren. Er war immer mit Anregungen und Ideen bereit, den Fortgang der Arbeit zu fördern.

Den Mitarbeitern des Adalbert-Raps-Zentrums gilt mein besonderer Dank für die finanzielle und wissenschaftliche Unterstützung der Arbeit. Die Möglichkeit, in Kooperation mit einem Industrieunternehmen zu arbeiten, war für mich eine Erfahrung, die ich nicht missen möchte. Besonders erwähnen möchte ich in diesem Zusammenhang Herrn Dr. B. Weinreich, Herrn Dr. F. Otto, Frau Dr.-Ing. S. Grüner, Frau H. Wohlschläger und Frau P. Huber.

Im Rahmen dieser Zusammenarbeit war auch Herr Dr. D. Baumann von der Universität Jena bei verschiedenen Problemstellungen beteiligt, dem ich für die hervorragende Kooperationsbereitschaft danke.

Im Laufe der Arbeit haben mich aber auch alle anderen Institutsmitarbeiter in jeder Lage unterstützt. Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr.-Ing. G. Leupold und den Zimmerkollegen und Freunden P. Avendano, A. Ismail und S. Hamed. Die Stimmung innerhalb der Arbeitsgruppe war stets sehr angenehm.

Auch die studentischen Mitarbeiter haben entschieden zum Gelingen der Arbeit beigetragen. Hier möchte ich mich bei Frau I. Resch, Herrn B. Grau, Herrn D. Giebel, Herrn S. Genz, Herrn T. Stein, Herrn M. Buchinger und Herrn P. Engelhard für die hervorragende geleistete Arbeit bedanken.

Am Schluss möchte ich mich noch bei meiner Freundin H. Lankes für alles bedanken, was Sie während dieser Zeit für mich getan hat, in privater Hinsicht sowie als Doktorandin im Raps-Zentrum.

## Inhaltsverzeichnis

<b>Vorbemerkungen</b> .....	<b>I</b>
<b>Inhaltsverzeichnis</b> .....	<b>II</b>
<b>1 Einleitung und Zielsetzung</b> .....	<b>1</b>
<b>2 Grundlagen</b> .....	<b>3</b>
<b>2.1 Technik</b> .....	<b>3</b>
2.1.1 Extraktion mit verdichteten Gasen .....	3
2.1.1.1 Allgemeines .....	3
2.1.1.2 Abschätzung der Löslichkeit von Substanzen in überkritischem CO <sub>2</sub> .....	7
2.1.2 Adsorption .....	18
2.1.3 Kombination von HD-Extraktion und Adsorption .....	19
<b>2.2 Untersuchte Rohstoffe</b> .....	<b>20</b>
2.2.1 <i>Camellia sinensis</i> .....	20
2.2.1.1 Allgemeines .....	20
2.2.1.2 Inhaltsstoffe .....	21
2.2.1.3 Störende Inhaltsstoffe .....	23
2.2.1.4 HD-Extraktion von Inhaltsstoffen des Grünen Tees .....	24
2.2.2 <i>Calendula officinalis</i> L. (Ringelblume) .....	25
2.2.2.1 Allgemeines .....	25
2.2.2.2 Pharmakologisch wirksame Inhaltsstoffe .....	26
2.2.2.3 HD-Extraktion von Ringelblumen .....	28
2.2.2.4 Störende Substanzen .....	29
2.2.3 <i>Piper methystikum</i> .....	29
2.2.3.1 Allgemeines .....	29
2.2.3.2 Pharmakologisch wirksame Inhaltsstoffe .....	30
2.2.3.3 HD-Extraktion von <i>Piper methystikum</i> .....	31
2.2.3.4 Störende Begleitsubstanzen .....	32
<b>3 Material und Methoden</b> .....	<b>33</b>
<b>3.1 Material</b> .....	<b>33</b>
3.1.1 Geräte .....	33
3.1.2 Chemikalien .....	34
3.1.3 Herstellung der nicht käuflichen Chemikalien .....	35
3.1.4 Probenmaterial .....	36
3.1.4.1 <i>Camellia sinensis</i> .....	36
3.1.4.2 <i>Calendula officinalis</i> .....	36
3.1.4.3 <i>Piper methystikum</i> .....	38
3.1.5 Charakterisierung der eingesetzten Adsorptionsmittel .....	38
<b>3.2 Methoden</b> .....	<b>39</b>
3.2.1 Extraktion mit überkritischem CO <sub>2</sub> .....	40
3.2.2 Laborversuche zum Einsatz von Adsorptionsmitteln .....	43
3.2.3 Klassische Lösungsmittelextraktion und Extraktaufarbeitung .....	45
3.2.3.1 <i>Camellia sinensis</i> .....	45
3.2.3.2 <i>Calendula officinalis</i> .....	46
3.2.3.2.1 Aufarbeitung für die qualitative Bestimmung der Faradiolester .....	46
3.2.3.2.2 Aufarbeitung für die quantitative Bestimmung der Faradiolester .....	46

3.2.3.3 Piper methystikum-----	48
3.2.4 Qualitative und quantitative Analysen-----	49
3.2.4.1 Qualitative Analyse der Faradiolester in <i>Calendula officinalis</i> -----	49
3.2.4.2 Quantitative Analyse mittels HPLC-----	50
3.2.4.2.1 Camellia sinensis-----	50
3.2.4.2.2 Calendula officinalis-----	52
3.2.4.2.3 Piper methystikum-----	53
3.2.5 Photometrische Bestimmung der Farbstoffe in <i>Calendula officinalis</i> -----	56
3.2.6 Durchgeführte CO <sub>2</sub> -Extraktionsversuche-----	57
3.2.6.1 Camellia sinensis-----	58
3.2.6.2 Calendula officinalis-----	62
3.2.6.3 Piper methystikum-----	65
<b>4 Ergebnisse-----</b>	<b>70</b>
<b>4.1 Grüner Tee-----</b>	<b>70</b>
4.1.1 Extraktion mit reinem CO <sub>2</sub> und relativ geringen Modifizermengen-----	70
4.1.2 Extraktionen mit erhöhter Modifizermenge-----	72
4.1.3 Extraktionen mit dem dreiteiligen Extraktoreinsatzkorb-----	75
4.1.4 Anwendung der Extraktionsmethode von RESCH [2001]-----	77
<b>4.2 Ringelblume-----</b>	<b>78</b>
4.2.1 Extraktionen mit reinem CO <sub>2</sub> -----	78
4.2.1.1 Optimierung der Extraktionszeit-----	78
4.2.1.2 Optimierung des Extraktionsdruckes-----	80
4.2.1.3 Optimierung der Extraktionstemperatur-----	83
4.2.2 Adsorbentienauswahl-----	85
4.2.3 Kombination von Extraktion und Adsorption-----	87
4.2.3.1 Einsatz von Bleicherde als Adsorptionsmittel-----	87
4.2.3.2 Einsatz von Aluminiumoxid als Adsorptionsmittel-----	91
4.2.4 Extraktionsversuche mit Modifier-----	92
4.2.5 Kombination von Modifier- und Adsorptionsmitteleinsatz-----	94
<b>4.3 Kava-Kava-----</b>	<b>97</b>
4.3.1 Adsorbentienauswahl-----	97
4.3.2 Extraktionen mit reinem CO <sub>2</sub> -----	100
4.3.2.1 Optimierung des Extraktionsdruckes-----	100
4.3.2.2 Optimierung der Extraktionszeit-----	102
4.3.2.3 Optimierung der Extraktionstemperatur-----	104
4.3.3 Kombination von Extraktion und Adsorption-----	106
4.3.3.1 Extraktion mit Aluminiumoxid als Adsorptionsmittel-----	106
4.3.3.2 Einsatz von Bleicherde als Adsorptionsmittel-----	111
4.3.4 Extraktionsversuche mit Modifier-----	112
4.3.5 Kombination von Modifier- und Adsorptionsmitteleinsatz-----	115
<b>5 Diskussion-----</b>	<b>118</b>
<b>5.1 Grüner Tee-----</b>	<b>118</b>
<b>5.2 Ringelblume-----</b>	<b>121</b>
<b>5.3 Kava-Kava-----</b>	<b>125</b>
<b>6 Zusammenfassung-----</b>	<b>131</b>
<b>7. Literaturverzeichnis-----</b>	<b>134</b>

---

<b>8 Anhang</b> .....	<b>145</b>
<b>8.1 Ringelblume</b> .....	<b>145</b>
8.1.1 Extraktionen mit reinem CO <sub>2</sub> .....	145
8.1.2 Kombination von Extraktion und Adsorption .....	147
8.1.3 Extraktionsversuche mit Modifier .....	149
8.1.4 Kombination von Adsorption und Modifiereinsatz .....	149
<b>8.2 Kava-Kava</b> .....	<b>150</b>
8.2.1 Extraktionen mit reinem CO <sub>2</sub> .....	150
8.2.2 Kombination von Extraktion und Adsorption .....	152
8.2.3 Kombination von Modifier- und Adsorptionsmitteleinsatz .....	156

## 1 Einleitung und Zielsetzung

Verschiedene Pflanzeninhaltsstoffe weisen bekanntermaßen eine heilende Wirkung für diverse Krankheiten auf oder können als Lebensmittelzusatz zum Würzen oder Färben verwendet werden. Die Gewinnung dieser Naturstoffe durch Extraktion wurde schon vor Hunderten von Jahren in den verschiedensten Teilen der Erde in Form von einfachen Teeaufgüssen oder alkoholischen Extrakten durchgeführt [ISAAC, 1992; Stahl et al., 1987]. Durch diese Verfahren können die Inhaltsstoffe der Pflanzen gewonnen und auch haltbarer gemacht werden. In neuerer Zeit wurden die Methoden verfeinert und durch neue Techniken, wie z. B. die Extraktion mit überkritischen Gasen, ergänzt. Der erste industriell anwendbare Ansatz wurde von ZOSEL [1964] in den sechziger Jahren gemacht. Es folgten die verschiedensten Publikationen über Anwendungen dieser neuen Methode [ZOSEL, 1978; BRANNOLTE, 1982; STAHL, 1982; COENEN, 1983; GÄHRS, 1984; BUNDSCHUH et al., 1986; QUIRIN, 1987]. Die produzierten Extrakte spielen in der pharmazeutischen und auch in der Lebensmittelindustrie eine immer größere Rolle aufgrund der Möglichkeit einer gezielten Anreicherung von definierten Inhaltsstoffen in konzentrierter sowie standardisierter Form.

Die Extraktion mit überkritischem Kohlendioxid wird bisher im industriellen Maßstab zur Gewinnung weitgehend unpolarer oder stark flüchtiger Inhaltsstoffe aus verschiedenen Gewürzen und Heilpflanzen wie z. B. Chili, Hopfen, Paprika, Pfeffer, Pfefferminze, Kamille u. ä. eingesetzt. Die Entcoffeinierung von Kaffee oder Tee sind Beispiele für die Entfernung unerwünschter Substanzen durch HD-Extraktion [Stahl et al., 1987; FORSTER, 1991; HARTMANN, 1993; SMITH, 1996; ANON, 1997; HEGENBART, 1997]. Ein wesentlicher Vorteil dieser Extraktionsmethode ist die vollständige Verflüchtigung des Lösungsmittels Kohlendioxid nach der Abscheidung der Extrakte. Damit gibt es keine Probleme mit der meist aufwendigen und zum Teil unmöglichen Entfernung von Lösungsmittelrückständen sowie den nötigen Schutzvorrichtungen beim Umgang mit den oft brennbaren klassischen Lösungsmitteln [STUMPF et al., 1992]. Zusätzlich können thermolabile Substanzen bei vergleichsweise niedrigen Temperaturen gewonnen werden und unterliegen damit keiner Zersetzung.

Allerdings ist das Einsatzgebiet dieser relativ neuen Extraktionsmethode bisher auf die flüchtigen und unpolaren bis mittelpolaren Substanzen beschränkt. Polymere sowie Zucker oder Aminosäuren werden genau wie polare Naturstoffe nicht extrahiert [Stahl et al., 1987]. Damit ergeben sich Einschränkungen bei der Anwendung der HD-Extraktion zur Gewinnung interessanter Verbindungen aus verschiedensten Naturrohstoffen wie Arzneipflanzen und

Gewürzen. Außerdem ist die Trennung von erwünschten und unerwünschten Inhaltsstoffen bei ähnlichem Extraktionsverhalten schwierig. Bei der Extraktion von pharmazeutisch wirksamen Inhaltsstoffen der Ringelblume (*Calendula officinalis*) und des Kava-Kava (*Piper methysticum*) zur Gewinnung von wundheilenden, antiinflammatorischen bzw. beruhigenden, krampflösenden Substanzen mit überkritischem CO<sub>2</sub>, die bereits in verschiedenen Literaturstellen beschrieben wurde [QUIRIN, 1989; LOPEZ-AVILA, 1997; PRELL, 1998] gelangen z. B. auch eine Vielzahl anderer Substanzen wie Fette, Öle und auch störende Begleitstoffe in den Extrakt. In beiden Fällen sind dies Farbstoffe - bei der Ringelblume Carotinoide, bei Kava-Kava Flavokavine - die bei einer hochdosierten Anwendung der Extrakte zu Nebeneffekten führen. Die Farbpigmente lagern sich in der Haut des Anwenders ein und bewirken eine farbliche Veränderung der betroffenen Partien.

Die Aufgabenstellung der vorliegenden Arbeit bestand primär in der Erweiterung des Anwendungsbereiches der Extraktion mit überkritischem CO<sub>2</sub> auf polarere Inhaltsstoffe. Für die methodischen Untersuchungen sollte als Rohstoff Grüner Tee (*Camellia sinensis*) verwendet werden, da dessen polare Inhaltsstoffe für eine industrielle Nutzung besonders interessant sind. Diese Inhaltsstoffe, die Catechine, weisen eine antioxidative Wirksamkeit auf. Das Ziel der durchgeführten Versuche war eine möglichst quantitative Überführung der beobachteten Verbindungen in den produzierten Extrakt. Des weiteren sollte untersucht werden, inwieweit mit Hilfe von geeigneten Adsorptionsmitteln bereits während der Extraktion im überkritischen Zustand, d. h. in einem Arbeitsschritt, eine Abtrennung von störenden Substanzen aus dem Extrakt bewirkt werden kann. Die Adsorptionsmittel, die dabei in technischer Größenordnung zur Verfügung standen, waren Aluminiumoxide, Silikate, Aktivtonerden und Aktivkohlen in verschiedenen Modifikationen. Dabei bestand das Ziel darin, optimale Extraktionsbedingungen für eine möglichst vollständige Anreicherung der Wirkstoffe im Extrakt zu erforschen und gleichzeitig die störenden Substanzen weitgehend zu entfernen. Die für die Versuche zur Verfügung stehende Pilotanlage wies ein vergleichsweise großes Nutzvolumen von 5 Litern und einen möglichen Arbeitsdruck von bis zu 1000 bar auf. Der Einsatz eines hohen Extraktionsdruckes sowie die mögliche Modifizierung des CO<sub>2</sub> durch die Zudosierung von Schlepplösungsmitteln waren dabei die wichtigsten Versuchsparameter.

## 2 Grundlagen

### 2.1 Technik

#### 2.1.1 Extraktion mit verdichteten Gasen

##### 2.1.1.1 Allgemeines

Extraktion ist die Bezeichnung für ein Trennverfahren durch Herauslösen von bestimmten Bestandteilen aus festen oder flüssigen Substanzgemischen mit Hilfe geeigneter Lösungsmittel (Extraktionsmittel), wobei zwischen dem Lösungsmittel und dem gelösten Stoff keine chemischen Reaktionen stattfinden sollen [RÖMPP, 1995]. Einsatzgebiete ergeben sich einerseits bei der Reinigung einer Matrix von Begleitstoffen (z. B. bei der Entcoffeinierung von Kaffee und Tee), wo der Extraktionsrückstand die Wertfraktion darstellt. Bei der Sanierung oder Entwesung von Altlasten steht dabei eine Entgiftung der Matrix im Vordergrund. Bei der Extraktgewinnung sollen andererseits Wertstoffe aus dem Rohgut abgetrennt werden, wobei der Träger als wertloser Rückstand zurückbleibt, wie bei der Extraktion der Aroma- und Wirkstoffe aus Gewürzen und Heilpflanzen [SATTLER, 1995]. Dieses Rohgut kann dabei auch ein Reststoff sein, der als Abfall z. B. bei der Lebensmittelproduktion anfällt [BUNDSCHUH et al., 1988; BUNDSCHUH et al., 1986; BAUMANN, 1989]. Als Sonderform davon kann der Rückstand ebenfalls eine nutzbare Phase sein (z. B. die Trennung von Aromastoffen und Fett bei Kakaobutter) [FORSTER, 1991]. Als Lösungsmittel zur Extraktion von Naturstoffen wurden in der Vergangenheit hauptsächlich Methanol, Ethanol, Dichlormethan oder andere eingesetzt. Da diese Stoffe jedoch toxisch sind und Restmengen sich nur schwer aus dem Extrakt entfernen lassen, wird eine Reduzierung der Verwendung angestrebt [UHDE, 1986; STUMPF, 1992].

Eine Alternative besteht im Einsatz von überkritischen Gasen (**Abbildung 1**) zur Lösung verschiedener Extraktionsprobleme. Gase zeigen oberhalb des kritischen Punktes eine nur geringe, für Gase typische Viskosität  $\eta$ , aber eine vergleichsweise hohe Dichte  $\rho$ , die der von Flüssigkeiten entspricht (**Tabelle 1**) [STAHL et al., 1987]. Für die Zahlenangaben wurde ein typischer Arbeitsdruck, der etwa dem vierfachen des kritischen Druckes entspricht, zugrundegelegt. Als Folge der sehr hohen Diffusionskoeffizienten  $D$  ergibt sich ein schneller Massentransport, wobei allerdings die Aufnahmekapazität für die zu lösenden Stoffe vergleichsweise niedrig ist. Dieser Zustand eines Gases ist dadurch gekennzeichnet, dass es auch durch einen noch so hohen Druck nicht mehr möglich ist, eine Verflüssigung zu bewirken. Es gibt in diesem Bereich keine Phasengrenze mehr. Gase, die zur Naturstoffextraktion geeignet sind, sind Ethen, Trifluormethan, Kohlendioxid, Ethan,

Distickstoffmonoxid, Schwefelhexafluorid, Propen sowie Propan [BUNDSCHUH et al. 1986; Stahl et al., 1987]. Die Abtrennung der Gase von Extrakt und Trägerstoff ist durch Erniedrigung des Druckes bzw. Variation der Temperatur sowie durch Adsorption [BIRTIGH et al., 1995] sehr einfach und rückstandsfrei möglich. Außerdem kann eine thermische Belastung, die zur Zerstörung der Inhaltsstoffe führen könnte, vermieden werden.

Tabelle 1: Physikalische Daten verschiedener Extraktionssysteme nach [Stahl et al., 1987]

	$\rho$ [g/cm <sup>3</sup> ]	$\eta$ [g/cms]	D [cm <sup>2</sup> /s]
Gas (1 bar, 20 °C)	$(0,6-2) \cdot 10^{-3}$	$(1-3) \cdot 10^{-4}$	0,1-0,4
Verdichtetes Gas ( $T_{\text{krit}}, 4 \cdot p_{\text{krit}}$ )	0,4-0,9	$(3-9) \cdot 10^{-4}$	$0,2 \cdot 10^{-3}$
Flüssigkeit (20 °C)	0,6-1,6	$(0,2-3) \cdot 10^{-2}$	$(0,2-2) \cdot 10^{-5}$

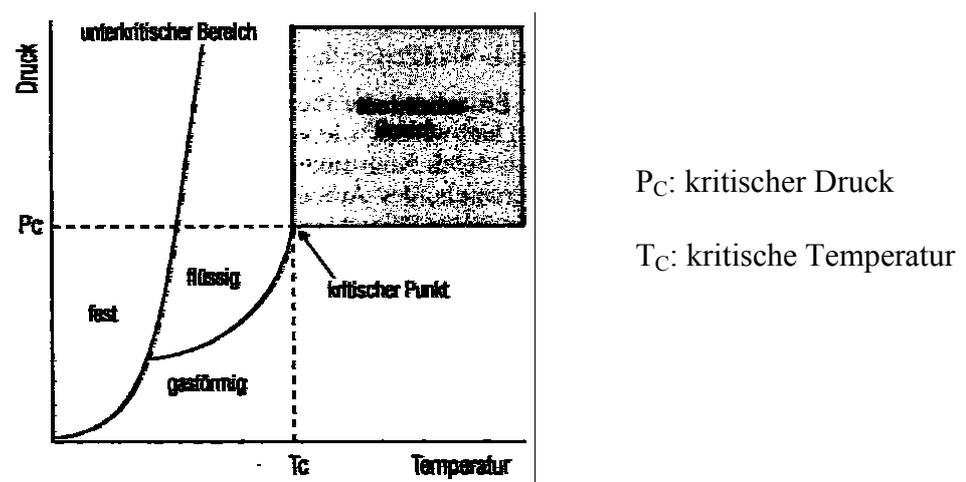


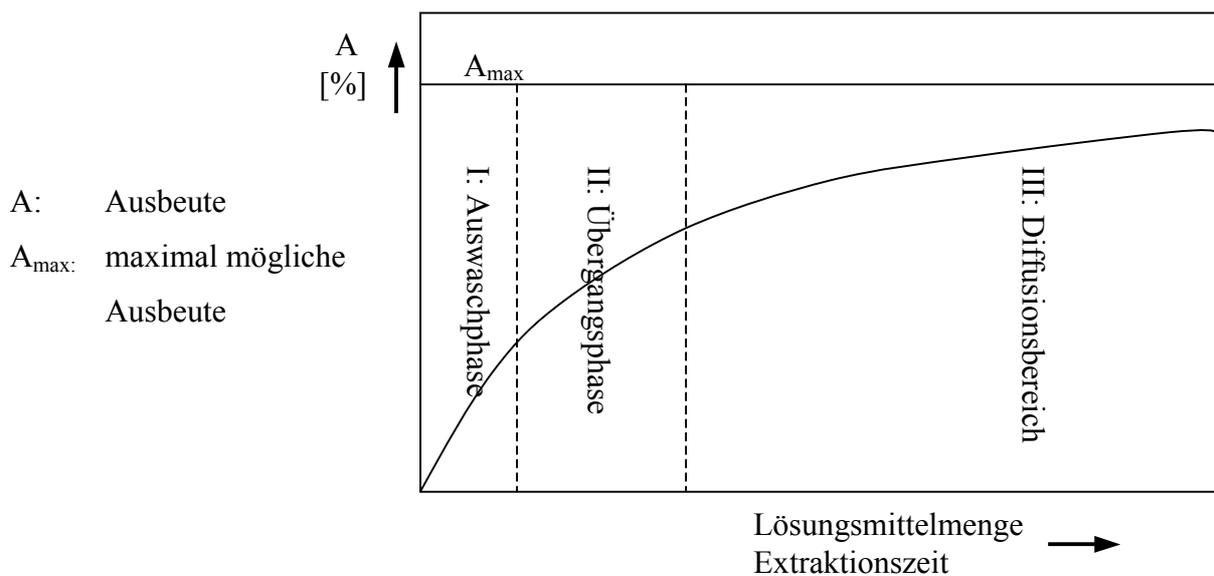
Abbildung 1: p(T)-Zustandsdiagramm einer Reinsubstanz nach [KESSLER, 1996]

Der kritische Druck ( $P_c$ ) und die kritische Temperatur ( $T_c$ ) der relevanten Gase ist in **Tabelle 2** aufgelistet. Der Extraktionsvorgang selbst ist in **Abbildung 2** dargestellt. Die Kurve steigt zunächst linear an (Phase I) und nähert sich dann im weiteren Verlauf (Phase II und III) asymptotisch einem Maximalwert. In der Auswaschphase (I) wird ein Großteil der in der Matrix frei zugänglichen und im Lösungsmittel löslichen Inhaltsstoffe vom überkritischen Gas sehr schnell extrahiert. Die übrigen Inhaltsstoffe sind nur durch relativ langsame Diffusionsprozesse erreichbar (III). In der Übergangsphase (II) überlagern sich diese beiden Vorgänge, wobei der Auswaschvorgang aufgrund der schnelleren Geschwindigkeit zuerst beendet ist und dann der reine Diffusionsvorgang vorliegt. Damit wird klar, dass der

Zerkleinerungsgrad eine große Bedeutung bei der Extraktion von Naturstoffen spielt. Aufgerissene Pflanzenzellen bieten einen freien Zugang des Lösungsmittels zur Auswaschung, während die Inhaltsstoffe intakter Pflanzenzellen nur durch diffusive Vorgänge erreichbar sind. Die maximale Ausbeute  $A_{\max}$  kann im allgemeinen nicht erreicht werden, da bereits gelöste Extraktbestandteile wieder an die Matrix adsorbiert werden können und sich ein Gleichgewicht zwischen gelösten und angelagerten Teilchen einstellt. Je nach Lage des Gleichgewichtes ist dies durchaus von praktischer Bedeutung für den Extraktionserfolg.

**Tabelle 2: Kritische Werte verschiedener Gase nach [STAHL et al., 1987]**

Gas	$T_c$ [°C]	$P_c$ [bar]
Ethen	9,9	50,5
Trifluormethan	25,9	46,9
Kohlendioxid	31,3	72,9
Ethan	32,2	48,2
Distickstoffmonoxid	36,5	71,7
Schwefelhexafluorid	45,6	37,7
Propen	91,9	45,4
Propan	96,8	42,4



**Abbildung 2: Extraktionsverlauf bei der Extraktion von pflanzlichen Naturstoffen nach [STAHL et al., 1987]**

Einen weiteren bedeutenden Einfluss auf die Extraktion hat die Quellung des pflanzlichen Materials im Lösungsmittel, durch die eine Aufweitung der Kapillaren zwischen den Zellen bewirkt wird, so dass die Porosität des Materials zunimmt. Die Extraktion schwer zugänglicher Matrices wird dadurch beschleunigt oder erst möglich gemacht [Stahl et al., 1987].

Zusätzlich verfügen die verdichteten Gase über eine hohe Selektivität, d. h. die Fähigkeit, bestimmte Inhaltsstoffe in größerem Maße zu lösen als andere Bestandteile des Gemisches. Eine Variation der Selektivität ist in gewissem Umfang durch die Art des Lösungsmittels oder des Lösungsmittelgemisches möglich. Der Nachteil einiger Gase ist ihre Brennbarkeit und die Neigung zur Bildung explosiver Gemische mit Luft. Deshalb ist vor allem das  $\text{CO}_2$  von besonderer praktischer Bedeutung. Es ist in niedrigen Konzentrationen physiologisch unbedenklich, nicht brennbar oder explosiv, belastet in den in Frage kommenden Mengen nicht die Umwelt und steht in großen Mengen zur Verfügung. Durch Änderung der Druck- oder Temperaturbedingungen können die Lösungsmiteleigenschaften in weiten Grenzen variiert werden. Zusätzlich ist es möglich, Stoffe zum  $\text{CO}_2$  zu geben, sogenannte Schlepptmittel oder Modifier, die eine weitere Veränderung der Lösungsmiteleigenschaften zur Folge haben und die Einsatzgebiete des Gases zur Extraktion noch erweitern [STAHL et al., 1987; KING, 1993; KESSLER, 1996]. Die Extraktion von lipophilen Stoffen bis zu einer Molmasse von 300-400 g/mol oder mehr ist mit  $\text{CO}_2$  sehr gut möglich. Die Einführung polarer funktioneller Gruppen wie  $-\text{OH}$  oder  $-\text{COOH}$  erschwert die Extraktion. Polare Substanzen sowie polymere Verbindungen wie Zucker, Glycoside, Aminosäuren, Proteine, Cellulose oder Kunststoffe sind nicht extrahierbar. Wasser dagegen ist in flüssigem Kohlendioxid aufgrund der geringen Masse relativ gut löslich. Die Löslichkeit durchläuft ein Minimum und steigt in überkritischem  $\text{CO}_2$  mit steigendem Druck wieder etwas an. Bei  $50^\circ\text{C}$  nähert sich die Löslichkeit dann einem Wert von ca. 0,3 Gew.-% [STAHL et al., 1987] (Abbildung 3)

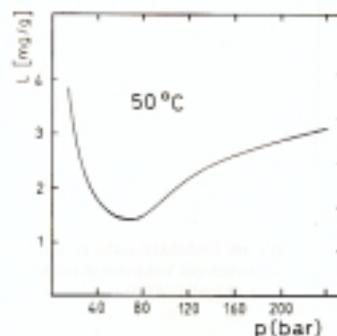


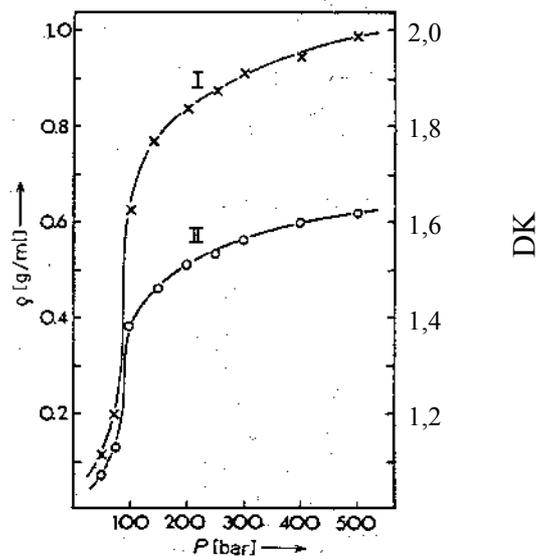
Abbildung 3: Löslichkeit von Wasser in  $\text{CO}_2$  nach [STAHL, 1987]

2.1.1.2 Abschätzung der Löslichkeit von Substanzen in überkritischem CO<sub>2</sub>

Die Löslichkeit von Verbindungen in überkritischem CO<sub>2</sub> und auch in organischen Lösungsmitteln hängt in großem Maße von der Polarität der Substanzen ab. Als Maß für die Polarität kann die Dielektrizitätskonstante (DK) herangezogen werden. **Tabelle 3** zeigt eine Übersicht über verschiedene Lösungsmittel, geordnet nach der Elutionskraft [RÜCKER et al., 1988; OTTO, 1995] unter Angabe der Dielektrizitätskonstanten nach [RÖMPP, 1995; LIDE, 1992; BROGLE, 1982]

**Tabelle 3: Lösungsmittel, nach aufsteigender Polarität geordnet**

Lösungsmittel	DK bei 20 °C
CO <sub>2</sub> (500 bar, 20°C)	1,9
n-Hexan	1,89
Benzol	2,3
Dichlormethan	9,08
Ethanol	25,8
Methanol	33,6
Wasser	80,36



**Abbildung 4: Dielektrizitätskonstante DK (I) und Dichte p (II) von CO<sub>2</sub> bei 40 °C**

Die Dielektrizitätskonstante des Kohlendioxids steigt nach [STAHL et al., 1978] im Bereich von 70-200 bar bei 40 °C sprunghaft an und erreicht dann ähnliche Werte wie Hexan (Abbildung 4). Extraktionen von unpolaren Fetten, Ölen und Wachsen sind vielfach in der Literatur beschrieben und bei [STAHL et al., 1987] zusammengefasst. Bei diesen Substanzen kann bereits über die Dielektrizitätskonstante abgeschätzt werden, ob eine Extraktion mit überkritischem CO<sub>2</sub> möglich ist. Bienenwachs weist z. B. einen DK-Wert von 2,9 auf und ist problemlos extrahierbar. Ein Vergleich von extrahiertem Rohöl (DK 2-3) aus Sojabohnen mit Hexan und Kohlendioxid zeigt die Ähnlichkeit der Lösungsmiteigenschaften dieser Substanzen. Die Extrakte weisen deutliche Übereinstimmungen in ihrer Zusammensetzung auf.

Ätherische Öle und Aromen sind im allgemeinen bereits in flüssigem CO<sub>2</sub> löslich, wobei das Lösungsvermögen mit steigendem Druck noch zunimmt (Abbildung 5). Mit steigender Polarität durch die Einführung polarer funktioneller Gruppen, d. h. steigender Dielektrizitätskonstante, und mit zunehmendem Molekulargewicht wird die Löslichkeit schlechter, wie hier von Limonen über Carvon und Caryophyllen bis Valeranon.

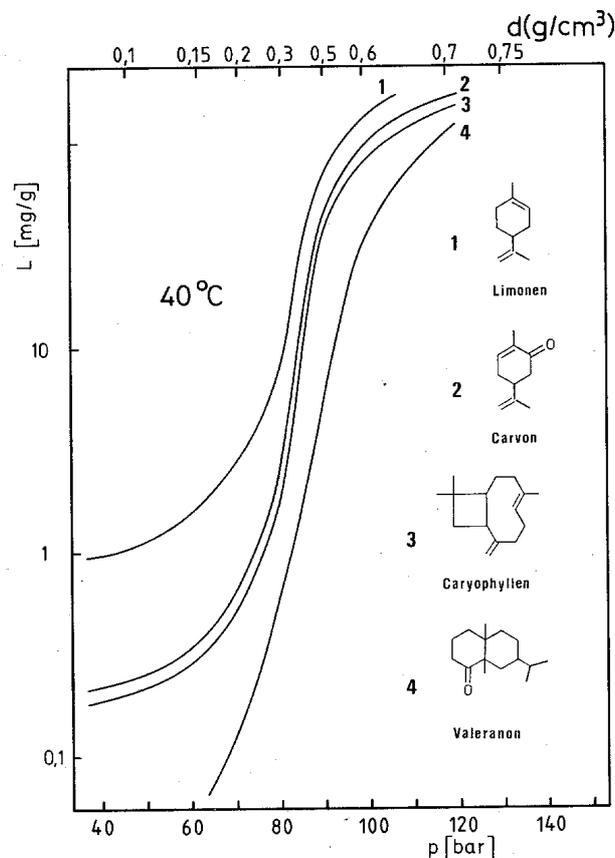


Abbildung 5: Löslichkeit von Aromastoffen in überkritischem CO<sub>2</sub>

Ein weiteres Beispiel für abnehmende Löslichkeit in CO<sub>2</sub> mit steigendem Molekulargewicht sind die einwertigen Alkohole. Hexanol ist mit flüssigem Kohlendioxid voll mischbar, Decanol dagegen löst sich darin nur zu 1,0 Gew.-%. [STAHL et al., 1978]. Einen Überblick über die Löslichkeit von Verbindungen verschiedener weiterer Substanzgruppen in CO<sub>2</sub> gibt die Aufstellung von [STAHL et al., 1978] (Tabelle 4). Es handelt sich dabei um Modellsubstanzen, die von Glaswolle mit Kohlendioxid bei 40 °C extrahiert wurden. Die Aufstellung zeigt sehr deutlich den Einfluss der funktionellen Gruppen und der Molmasse auf die Extrahierbarkeit der Verbindungen. Mit steigender Molekülmasse verringert sich die Löslichkeit und damit die Extrahierbarkeit mit CO<sub>2</sub>. Die Vertreter der Polyarene (aromatische Kohlenwasserstoffe) zeigen eine Extrahierbarkeit bis zu einer Molekülmasse von 228, jedoch nur bei relativ hohen Druckwerten. Die getesteten Phenole sind trotz ihrer polaren OH-Gruppen vergleichsweise gut extrahierbar. Erst bei 2 oder 3 OH-Gruppen verringert sich die Extraktionsausbeute dieser Substanzen. Bei den aromatischen Carbonsäuren zeigt sich dagegen bei der Einführung einer Säuregruppe und steigender Zahl der OH-Gruppen eine immer schlechter werdende Löslichkeit in überkritischem Kohlendioxid. Mit den drei Alkoholgruppen bei Gallussäure kann trotz der geringen Molekülmasse von 170 keine Löslichkeit dieser Substanz in überkritischem CO<sub>2</sub> mehr beobachtet werden. Das gleiche gilt für die Pyrone, die neben OH-Gruppen noch eine Keto-Gruppe und Etherbrücke (-O-) aufweisen. Die Lipide sind jedoch aufgrund der geringen Polarität sogar bei Molekülmassen von 885 immer noch sehr gut extrahierbar. Aus diesen Versuchen lassen sich allerdings nur grobe Faustregeln für die Extrahierbarkeit von Substanzen ableiten, da die Extraktion nur bei Druckwerten bis 400 bar untersucht wurden. In höheren Druckbereichen sind durchaus noch Änderungen in den Löslichkeiten von Naturstoffen im CO<sub>2</sub> zu erwarten. Außerdem erfolgte die Analyse der Extrakte durch direkte Kopplung mit DC, so dass auch geringste Mengen qualitativ erfasst wurden. Für eine quantitative Vorhersage einer Extraktion von Naturstoffen ist diese Auflistung sicher nicht geeignet.

Eine Voraussage über die Dielektrizitätskonstante von Substanzen ist ebenfalls nur bedingt möglich, da entsprechende Werte in der Literatur nur unvollständig dokumentiert sind.

Tabelle 4: Modellsubstanzen, mit überkritischem CO<sub>2</sub> bei 40 °C extrahiert nach [STAHL et al., 1978]

Substanz	Relative Molekülmasse	Anzahl der C-Atome	funktionelle Gruppen	Extrahierbar ab [bar]
<b>1. Polyarene</b>				
Naphthalin	128	10		70 stark
Phenanthren	178	14		80
Pyren	202	16		90
Chrysen	228	18		100 schwach
Tetracen	228	18		300 schwach
<b>2. Phenole</b>				
Phenol	94	6	1 –OH	70 stark
Brenzcatechin	110	6	2 –OH (1, 2)	80
Pyrogallol	126	6	3 –OH (1, 2, 3)	85
Hydrochinon	110	6	2 –OH (1, 4)	100
Phloroglucin	126	6	3 –OH (1, 3, 5)	120 schwach
<b>3. Aromatische Carbonsäuren</b>				
Benzoessäure	122	7	1 –COOH	80
Salicylsäure	138	7	1 –COOH, 1 –OH (1, 2)	85
p-Hydroxybenzoessäure	138	7	1 –COOH, 1 –OH (1, 4)	120
Gentisinsäure	154	7	1 –COOH, 2 –OH (1, 2, 5)	120
Gallussäure	170	7	1 –COOH, 3 –OH (1, 3, 4, 5)	nicht extrahierbar
<b>4. Pyrone</b>				
Cumarin	146	9	1 -O-, 1 Keto-Gr.	70 stark
Umbelliferon	162	9	1 –OH, 1 -O-, 1 Keto-Gr.	100
Aesculetin	178	9	2 –OH, 1 -O-, 1 Keto-Gr.	nicht extrahierbar
<b>5 Lipide</b>				
Myristylalkohol	214	14	1 –OH	70
Cholesterin	386	27	1 –OH	85
Triolein	885	57	3 –COOR	90

Zur Abschätzung der Löslichkeit von Flüssigkeiten in überkritischem Kohlendioxid wurde von [KING, 1990] eine interessante Methode vorgeschlagen (**Gleichung 3**). Es handelt sich dabei um die Kombination von zwei Kennzahlen  $\delta_1$  und  $\delta_2$ .

$\delta_1$  gibt das Dichteverhältnis von Gas und Flüssigkeit in Abhängigkeit vom kritischem Druck an und wird nach **Gleichung 1** berechnet [GIDDINGS et al., 1969]. Dagegen kann  $\delta_2$  durch die **Gleichung 2** und die Zahlenwerte in **Tabelle 5** berechnet werden [FEDORS, 1974]. Durch die Kennzahl  $\delta_2$  werden die Einflüsse von funktionellen Gruppen auf die Polarität bzw. Flüchtigkeit von Substanzen sowie die Dichte und das Molekulargewicht dieser Stoffe in einer Konstante vereinigt. Die im weiteren Zusammenhang der Arbeit verwendeten funktionellen Gruppen sind in **Tabelle 5** aufgelistet, weitere funktionelle Gruppen sowie Moleküle sind in der Originalliteratur nachzulesen.

#### Gleichung 1

$$\delta_1 = 1,25 \cdot P_c^{0,5} \cdot \frac{\rho}{\rho_{liq}}$$

$P_c$ : Kritischer Druck [bar]

$\rho$ : Dichte des überkritischen Gases [g/cm<sup>3</sup>]

$\rho_{liq}$ : Dichte der Flüssigkeit [g/cm<sup>3</sup>]

#### Gleichung 2

$$\delta_2 = \sqrt{\frac{\Delta\epsilon}{\Delta v}}$$

$\Delta\epsilon$ : Verdampfungsenergie [cal/mol]

$\Delta v$ : molares Volumen [cm<sup>3</sup>/mol]

Durch Kombination der beiden Kennzahlen erhält man eine Beziehung zwischen substanzspezifischen und lösungsmittelspezifischen Eigenschaften, die eine ungefähre Vorhersage des Verhaltens von Substanzen bei der Extraktion mit überkritischem CO<sub>2</sub> erlaubt (**Gleichung 3**). Je größer  $\Delta$  ist, desto höher ist die Löslichkeit in CO<sub>2</sub>.

#### Gleichung 3

$$\Delta = \frac{\delta_1}{\delta_2}$$

Die Bestimmung erfolgt nach [KING, 1990] über Eichgeraden, bei denen die Löslichkeit verschiedener Vergleichssubstanzen gegen die berechneten  $\Delta$ -Werten aufgetragen werden. Derartige Eichgeraden wurden bisher aber nur für 100 bar und 40 °C in einem Polaritätsbereich zwischen p-Hydroxybenzoesäure ( $\delta_2=13,94 \text{ cal}^{0,5}/\text{cm}^{1,5}$ ) und Cumarin ( $\delta_2=10,5 \text{ cal}^{0,5}/\text{cm}^{1,5}$ ) bei der Extraktion mit überkritischem  $\text{CO}_2$  publiziert.

**Tabelle 5: Verdampfungsenergie und molares Volumen nach [FEDORS, 1974]**

<b>Funktionelle Gruppe</b>	<b><math>\Delta\varepsilon</math> [cal/mol]</b>	<b><math>\Delta v</math> [cm<sup>3</sup>/mol]</b>
—CH <sub>3</sub>	1125	33,5
—CH <sub>2</sub>	1180	16,1
—CH	820	-1,0
—CH=	1030	13,5
=CH <sub>2</sub>	1030	28,5
—C	350	-19,2
=C	1030	-5,5
C=O	4150	10,8
—OH	7120	10
O—C—O	4300	18,0
—COOH	6600	28,5
—O—	800	3,8
N	1000	-9,0
—N=	2800	5,0
<b>Ringschluss mit &gt;5 Atomen</b>	250	16
<b>Ringschluss mit 3-4 Atomen</b>	750	18
<b>Konjugierte Doppelbindungen</b>	400	-2,2
<b>Phenylrest</b>	7630	71,4
<b>Phenylrest (o, m, p)</b>	7630	52,4
<b>Phenylrest (3-fach subst.)</b>	7630	33,4
<b>Phenylrest (4-fach subst.)</b>	7630	14,4
<b>Phenylrest (5-fach subst.)</b>	7630	-4,6
<b>Phenylrest (6-fach subst.)</b>	7630	-23,6

Einen zusammenfassenden Überblick über diese Methoden gibt [DEAN, 1993]. Danach stellt das Verfahren eine gute Möglichkeit zur Vorausberechnung von Löslichkeiten in überkritischem Kohlendioxid dar, obwohl bisher nur wenige Beispiele konkret berechnet wurden.

Die Ermittlung des  $\delta_2$ -Wertes ist am Beispiel von Coffein in **Tabelle 6** gezeigt. Der Einfluss von Modifiern auf die Löslichkeiten der Substanzen in  $\text{CO}_2$  wurde bisher noch nicht in die Berechnungen einbezogen.

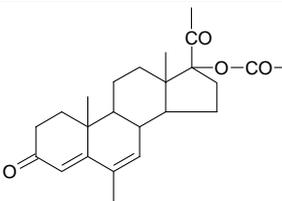
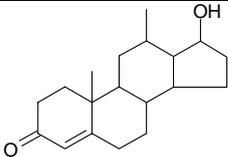
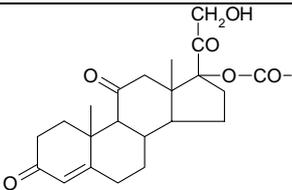
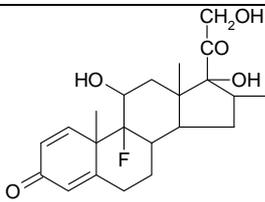
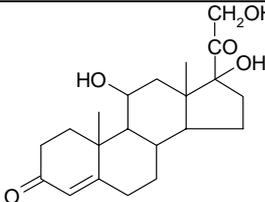
**Tabelle 6: Berechnung des Löslichkeitsparameters  $\delta_2$  am Beispiel von Coffein**

Gruppe	$\Delta\epsilon$ [cal/mol]	Summe	$\Delta v$ [cm <sup>3</sup> /mol]	Summe
3 -CH <sub>3</sub>	1125	3375	33,5	100,5
2 C=	1030	2060	-5,5	-11
1 CH=	1030	1030	13,5	13,5
3 N	1000	3000	-9,0	-27,0
1 N=	2800	2800	5,0	5,0
2 C=O	4150	8300	10,8	21,6
2 Ringschlüsse mit 5-6 Atomen	250	500	16,0	32,0
2 Konjugierte Doppelbindungen	400	800	-2,2	-4,4
<b>Summe</b>		<b>21865</b>		<b>130,2</b>
<b><math>\delta_2 = 12,96 \text{ cal}^{0,5} / \text{cm}^{1,5}</math></b>				

Für eine qualitative Aussage über die Löslichkeit von Naturstoffen in überkritischem  $\text{CO}_2$  kann aber auch schon der Faktor  $\delta_2$  ausreichen. Die Löslichkeitskennzahl wurde von [DEAN et al., 1995] bei der Extraktion von Steroiden mit überkritischem  $\text{CO}_2$  berechnet, die Löslichkeiten experimentell bestimmt und daraufhin die Faktoren verschiedenen Löslichkeitsbereichen zugeordnet (**Tabelle 7**). Steroide mit einem Faktor größer als 13,8

wurden als unlöslich eingestuft, im Bereich von 12 zeigte sich eine mittlere Löslichkeit und darunter waren die Verbindungen mit Kohlendioxid gut extrahierbar.

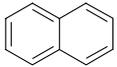
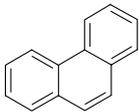
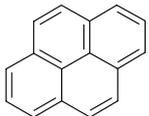
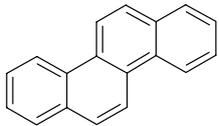
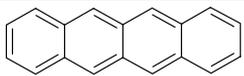
Tabelle 7: Löslichkeiten von Sterolen nach [DEAN, 1995]

Name	Strukturformel	$\delta_2$ [ $\text{cal}^{0,5}/\text{cm}^{1,5}$ ]	Löslichkeit
Megesterolacetat		10,44	löslich
Testosteron		11,16	löslich
Cortisonacetat		12,08	mittel
Betamethason		13,83	unlöslich
Hydrocortison		13,87	unlöslich

Die Grenzen der Methode zur Schätzung der Löslichkeit anhand des Löslichkeitsparameters  $\delta_2$  zeigt sich bei der Anwendung auf die Polyarene, deren räumliche Struktur (Tabelle 8) einen Einfluss auf die Extraktion hat. Hier spielt auch der Löslichkeitsparameter  $\delta_1$  der Flüssigkeit eine wichtige Rolle. Von Naphthalin bis Pyren steigen die  $\delta_2$ -Werte und die zur Extraktion nötigen Druckwerte gleichförmig an. Eine Löslichkeit ist bei den Werten von 10,45 bis 12,67  $\text{cal}^{0,5}/\text{cm}^{1,5}$  aber in jedem Fall gegeben. Die extreme Verschlechterung der Löslichkeit

von Chrysen an kann aber mit den  $\delta_2$ -Werten allein nicht mehr nachvollzogen werden. Danach sollte nämlich eine Löslichkeit im Kohlendioxid ab ca. 85 bar gegeben sein. Aufgrund der räumlichen Veränderung der Moleküle bei identischer Molmasse ist mit einem anderen  $\delta_2$ -Wert zu rechnen. Die quantitative Abschätzung der Löslichkeit von Naturstoffen ist also nur über die Berechnung des  $\Delta$ -Wertes möglich, da nur so alle relevanten Stoffeigenschaften in die Berechnung einbezogen werden. Für Substanzen, von denen lediglich die Struktur bekannt ist und Daten zur Löslichkeit fehlen, bieten aber nur die  $\delta_2$ -Werte eine Möglichkeit zur Vorhersage der Löslichkeit in überkritischem  $\text{CO}_2$ . Für die Substanzen in Tabelle 8 ist unterhalb von  $\delta_2=12,67 \text{ cal}^{0,5}/\text{cm}^{1,5}$  zumindest eine mittelmäßige Löslichkeit der Stoffe zu erwarten, die auch experimentell nachgewiesen wurde.

**Tabelle 8: Löslichkeitsparameter und Struktur von Polyarenen**

Substanz	Strukturformel	$\delta_2$ [ $\text{cal}^{0,5}/\text{cm}^{1,5}$ ]	Extrahierbar ab [bar]
Naphthalin		10,45	70 stark
Phenanthren		11,46	80
Pyren		12,67	90
Chrysen		12,04	100 schwach
Tetracen		12,04	300 schwach

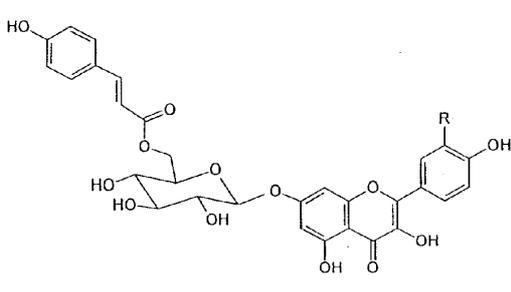
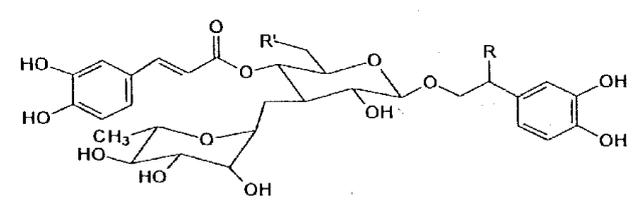
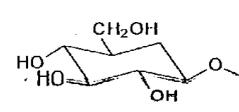
Außer durch die Variation von Druck und Temperatur können die Extraktionsbedingungen auch durch die Zugabe von polaren Modifiern zum Kohlendioxid verändert werden. Damit kann, z. B. im Fall von Hydrochinon durch die Zugabe von 2 % Tributylphosphat, die Löslichkeit in überkritischem  $\text{CO}_2$  um den Faktor 100 verbessert werden [BRENNECKE, 1989]. Die im Lebensmittelbereich anwendbaren Schlepfmittel Ethanol oder Wasser sind

aber ebenfalls in der Lage, die Extraktionsausbeute zu verbessern. Als Beispiel ist die Extraktion von Coffein zu nennen, wo die Zugabe von Wasser zum Rohkaffee vor der Extraktion eine vollständige Entcaffeinierung erst ermöglicht [STAHL et al., 1987]. Betrachtet man den  $\delta_2$ -Wert von  $12,96 \text{ cal}^{0,5}/\text{cm}^{1,5}$ , so ist hier eventuell tatsächlich eine Grenze zu den mittelmäßig löslichen Substanzen erreicht, und die Zugabe eines polaren Modifiers verbessert die Löslichkeit in überkritischem  $\text{CO}_2$  merklich.

Die in der Diplomarbeit von [RESCH, 2001] durchgeführten Extraktionen von polaren Inhaltsstoffen aus *Buddleja globosa* sollen hier im Hinblick auf die Abschätzung von Löslichkeiten durch den Löslichkeitsparameter  $\delta_2$  sowie auf einen Vergleich mit einer klassischen Lösungsmittelextraktion erörtert werden.

Die in ihrer Struktur bekannten relevanten Inhaltsstoffe der *Buddleja globosa* sind in Tabelle 9 aufgelistet. Die Dielektrizitätskonstanten der Substanzen sind in der Literatur nicht erwähnt.

**Tabelle 9: Wirksame Substanzen in *Buddleja globosa***

Substanz	Molekülstruktur	$\delta_2$ [ $\text{cal}^{0,5}/\text{cm}^{1,5}$ ]
Buddlenoid B	 <p style="text-align: center;">R = OCH<sub>3</sub> Buddlenoid B</p>	18,72
Kaffeesäure-Ester	 <p style="text-align: center;">R                      R'</p> <p>11      OH                      OH                      Orobanchin                      18,35</p> <p>12      H                              OH                      Verbascoside                      17,64</p> <p>13      H                                                    Echinacoside                      18,35</p>	

Eine erste Schätzung der Löslichkeit in überkritischem CO<sub>2</sub> ergibt sich aus den Werten für  $\delta_2$ , die relativ hoch sind. Diesem zufolge sollte es nicht möglich sein, die Wirkstoffe mit reinem überkritischem CO<sub>2</sub> aus dem Rohstoff zu extrahieren. Versuche zur Löslichkeit in klassischen Lösungsmitteln bzw. zur Extraktion aus den getrockneten Blättern (Tabelle 10) zeigten tatsächlich, dass das Buddlenoid B und die Kaffeesäurederivate nur mit den polaren Lösungsmitteln aus dem Rohstoff zu extrahieren waren, nicht aber mit Hexan und Dichlormethan. Eine Verschiebung des pH-Wertes in den basischen Bereich bewirkte eine Verschlechterung der Löslichkeit in Wasser, während eine Ansäuerung keinen Einfluss hatte. Die hierdurch offenbarte Polarität der beobachteten Verbindungen war bereits ein Hinweis auf die Unlöslichkeit in überkritischem CO<sub>2</sub>.

**Tabelle 10: Löslichkeit der Inhaltsstoffe von *Buddleja globosa* in klassischen Lösungsmitteln**

	<b>Kaffeesäure- derivate</b>	<b>Buddlenoid B</b>
<b>Methanol</b>	+++	+++
<b>Ethanol</b>	++	++
<b>Wasser (kalt)</b>	++	+
<b>Wasser (heiß)</b>	++	++
<b>Essigsäure (pH 2)</b>	++	+
<b>Natronlauge (pH 10)</b>	+	-
<b>Hexan</b>	-	-
<b>Hexan + 3% Ethanol</b>	-	-
<b>Dichlormethan</b>	-	-

+++ optimale Ausbeute

++ mittlere Ausbeute

+ nachweisbar

- nicht nachweisbar

Die mit überkritischem CO<sub>2</sub> durchgeführten Extraktionsversuche brachten die Bestätigung dieser Annahme. Es konnten weder Buddlenoid B noch die Kaffeesäurederivate in den Extrakten nachgewiesen werden. Dagegen enthielt ein Lösungsmittel-extrakt des Rückstandes die Substanzen zu 100 %. Auffällig war dabei eine Verkleinerung der Partikelgröße des Rohstoffes von  $x_{50} = 967 \mu\text{m}$  auf  $582 \mu\text{m}$ , was auf eine Zerkleinerung der Pflanzenzellen

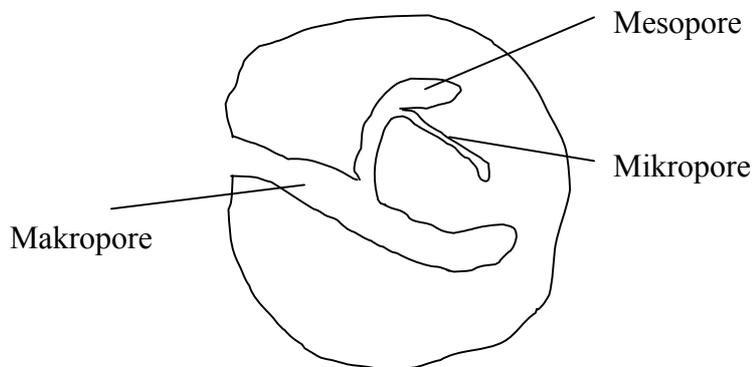
durch die Druckbelastung während der HD-Extraktion zurückzuführen ist. Bei den Versuchen wurden Druckwerte von bis zu 800 bar erreicht, und die Temperaturen betragen 50-60 °C. Auch der Einsatz von polaren Schleppmitteln wie Ethanol und Wasser brachte in Mengen bis zu 200 % der Rohstoffeinwaage nur eine geringe Verbesserung der Löslichkeiten. Die Ausbeuten im CO<sub>2</sub>-Extrakt betragen höchstens 20-30 %, d. h. durch den Einsatz des Modifiers konnte immerhin eine geringfügige Lösung der Substanzen im CO<sub>2</sub> erreicht werden. Die einzige Möglichkeit, eine Extraktion von Buddlenoid B und Zimtsäureestern in großen Mengen zu ermöglichen, war eine Vorbehandlung des Rohstoffes mit Wasser, wobei eine Standzeit des homogenisierten Materials von mindestens 15 h nötig war. Dadurch kam es zu einer sichtbaren Quellung der gemahlene Blätter und einem Übergang der Inhaltsstoffe in die wässrige Phase. Die darauffolgende Extraktion mit CO<sub>2</sub> bewirkte eine Überführung der gewünschten Stoffe zusammen mit dem Wasser in die Abscheider. Die Ausbeute war dabei weitgehend unabhängig vom pH-Wert und der Temperatur des Wassers sowie dem Extraktionsdruck und betrug zwischen 70 und 90 %. Wichtig war dagegen die Menge des zugegebenen Wassers, wobei etwa 60 Gew-% des Rohstoffes *Buddleja globosa* nötig waren. Eine Löslichkeit von Naturstoffen mit dem relativ hohen Löslichkeitsparameter konnte in diesem Anwendungsfall durch den Einsatz von Wasser als Schleppmittel und einer Einwirkzeit zum Aufschluss der Zellen möglich gemacht werden.

### 2.1.2 Adsorption

Die mit überkritischem CO<sub>2</sub> produzierten Extrakte aus Naturstoffen enthalten ein breites Spektrum an Substanzen, welche in diesem Lösungsmittel löslich sind. Für einige Anwendungen ist es deshalb von Interesse, störende Substanzen aus den produzierten Extrakten zu entfernen. Eine Möglichkeit dazu ist die Adsorption. Dieses Verfahren wurde bereits von [ZOSEL, 1978] zur Entcoffeinierung von Kaffeebohnen vorgeschlagen [BIRTIGH, 1995]. Die Theorie der Vorgänge bei der Adsorption unter überkritischen Bedingungen in CO<sub>2</sub> werden in der Literatur nicht erwähnt.

Die Adsorption als Trennverfahren wird zur Fraktionierung von Gasgemischen als trockenes Gasreinigungsverfahren [KAST, 1988] oder zur Adsorption aus der flüssigen Phase heraus z. B. in der Umwelttechnik eingesetzt. Großtechnische Anwendungen sind die Rückgewinnung von Lösungsmitteln oder die Abluft- und Abwasserreinigung. Es stehen für technische Anwendungen verschiedene Adsorbentien zur Verfügung, wie Aktivkohle,

Kieselgel, Aktivtonerde, Bleicherden und Molekularsiebe. In der Gasphase begünstigen ein hoher Druck und eine niedrige Temperatur die Adsorption. Der Vorgang der Adsorption ist ein exothermer Prozess, da die freie Beweglichkeit und damit die Energie des Adsorptivs herabgesetzt wird. Die Regenerierung des Adsorptionsmittels, d. h. die Desorption, ist demzufolge ein Vorgang, der einer Energiezufuhr bedarf und mit der Adsorption im Gleichgewicht steht. Für die Auswahl des Adsorbens ist auch dessen Selektivität von Bedeutung. Diese hängt von verschiedenen Effekten ab, wie beispielsweise von der Lage des Gleichgewichtes zwischen Anlagerung und Ablösung (Gleichgewichtseffekt) der Substanzen. Beim sterischen Effekt erfolgt die unterschiedliche Bindung aufgrund der Molekülgröße und der räumlichen Anordnung der Moleküle, und beim kinetischen Effekt beeinflusst die Diffusionsgeschwindigkeit beweglicher Moleküle die Adsorption. Das Adsorptiv muss aus dem Gasraum durch Diffusion an die Oberfläche des Adsorbens gelangen, die zum großen Teil in Form von Poren aufgefaltet ist, so dass sich unterschiedliche Diffusionsstrecken ergeben (vergleiche **Abbildung 6**). Außerdem treten durch die unterschiedlichen Porendurchmesser zusätzlich zu den herrschenden Gleichgewichtsreaktionen Transportwiderstände auf und beeinflussen die Adsorption [KAST, 1988; SATTLER, 1995].



**Abbildung 6: Porensystem eines Adsorbens nach [SATTLER, 1995]**

### 2.1.3 Kombination von HD-Extraktion und Adsorption

Die Kombination von Hochdruckextraktion mit verdichtetem  $\text{CO}_2$  und Adsorption entspricht einer zweistufigen Trennung. Erste konkrete Versuchsdaten wurden von [PRELL, 1998] am Beispiel der Kava-Pflanze veröffentlicht. Danach erfolgt im ersten Schritt die Extraktion von löslichen Inhaltsstoffen aus einem Rohstoff. Im zweiten Schritt werden noch unter Extraktionsbedingungen Stoffe aus der überkritischen Phase am Adsorbens angelagert und

damit entfernt. Bei diesen Versuchsreihen zeigte sich bereits das Problem der Verringerung des Ausbeute an gesuchten Inhaltsstoffen durch die Adsorption bei gleichzeitiger Entfernung von Substanzen, die im Extrakt unerwünscht waren. Die Abtrennung bestimmter Stoffgruppen aus dem Extrakt konnte mit der vorgestellten Methode zwar erfolgen, jedoch war ein Verlust eines Teils der gewünschten Verbindungen nicht zu vermeiden, da die Selektivität der zur Verfügung stehenden Adsorbentien nicht ausreichte. Außerdem wurden die Versuche an einer Laboranlage bis zu einem relativ geringen Extraktionsdruck von 350 bar mit Chromatographiematerialien durchgeführt, was nur eine grobe Aussage bezüglich der Umsetzung in den Industriemaßstab oder der Extrapolation zu höheren Druckwerten zulässt. Grundsätzlich zeigte sich jedoch eine prinzipielle Möglichkeit zur integrierten Reinigung von HD-Extrakten.

## **2.2 Untersuchte Rohstoffe**

### **2.2.1 *Camellia sinensis***

#### **2.2.1.1 Allgemeines**

Die Teepflanze (*Camellia sinensis*) ist ein immergrüner Strauch aus der Familie der Theaceae. Das Ursprungsgebiet erstreckt sich von den tropischen bis zu den gemäßigten Regionen Asiens, wo die Teezubereitung seit jeher sehr eng mit der Tradition verbunden ist. Der Grüne Tee wurde zur Herstellung von medizinischen Infusionen oder als Luxusgetränk verwendet. Heute wird die Pflanze in über 20 Ländern Asiens, Afrikas und Südamerikas angebaut. Die Einteilung in Grünen und Schwarzen Tee hängt vom Grad der Fermentation der Teeblätter durch pflanzeneigene Polyphenoloxidasen ab. Nach einem speziellen Verfahren werden die Blätter erst getrocknet und danach durch blatteigene Enzyme gebräunt. Je länger die Fermentation dauert, desto dunkler sind die Blätter. Beim Grünen Tee werden die Enzyme zuerst durch Dämpfung über siedendem Wasser zerstört, und dann erfolgt die Trocknung des Tees. Durch dieses Verfahren wird die grüne Farbe der Blätter nicht zerstört [BELITZ, 1992; YAMAMOTO, 1997; KING, 1993].



**Abbildung 7: Teepflanze (*Camellia sinensis*)**

Es sind verschieden lang fermentierte und auch geröstete Teesorten im Handel erhältlich. Eine weitere Einteilung erfolgt nach Herkunft, Alter, klimatischen Verhältnissen und Sortierung der Blätter.

#### 2.2.1.2 Inhaltsstoffe

Grüner Tee enthält eine Vielzahl von Inhaltsstoffen, deren Unterteilung in verschiedene Stoffklassen in **Abbildung 8** dargestellt ist [SELECTCHEMIE]. Für die gesundheitsfördernde Wirkung des Grünen Tees werden vor allem die Polyphenole – und hier besonders die Gruppe der Catechine – verantwortlich gemacht. Catechine sind als Hauptkomponenten in frischen Teeblättern enthalten und wirken im Organismus antioxidativ, sie sind daher zellschützend, und tumorpräventiv [HO et al., 1994; YAMAMOTO, 1997].

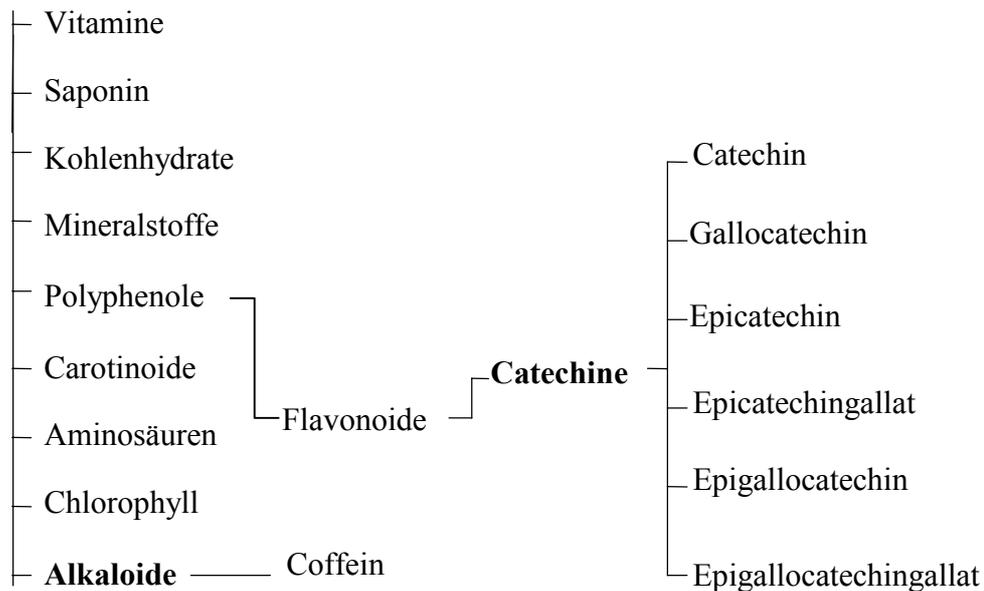


Abbildung 8: Inhaltsstoffe von Grünem Tee nach [SELECTCHEMIE]

Bei der Herstellung von schwarzem Tee aus Teeblättern werden die Catechine größtenteils zu Theaflavinen oxidiert, deren Anteil auch den Marktwert von schwarzem Tee stark beeinflusst. Obwohl die Theaflavine noch eine antioxidative Wirksamkeit [HO et al., 1994] aufweisen, ist jedoch der Grüne Tee für die Extraktion von Antioxidantien aufgrund der enthaltenen Catechine interessanter. Der Polyphenolgehalt im Grünen Tee liegt bei etwa 30 % der Trockenmasse [BELITZ, 1992; SELECTCHEMIE]. Die Catechine selbst unterscheiden sich nur in zwei Resten, wie in **Abbildung 9** zu sehen ist [HO et al., 1994; ZHU Q.Y. et al., 1997; WILKOMIRSKI, 1985].

			$\delta_2$ [cal <sup>0,5</sup> /cm <sup>1,5</sup> ]
Epicatechin:	R1=H	R2=H	20,4
Epigallocatechin:	R1=OH,	R2=H	20,9
Epicatechingallat:	R1=H,	R2=Gallat	21,3
Epigallocatechingallat:	R1=OH,	R2=Gallat	21,7

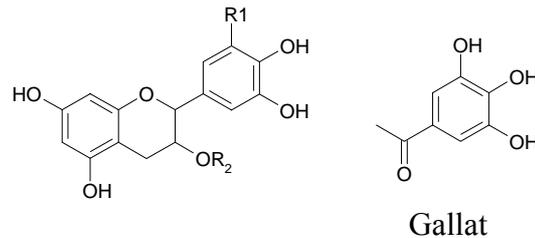


Abbildung 9: Struktur und Löslichkeitsparameter der Catechine

### 2.2.1.3 Störende Inhaltsstoffe

Eine weitere wichtige Inhaltsstoffgruppe des Grünen Tees ist die Gruppe der Alkaloide, dessen wichtigster Vertreter hier das Coffein (Abbildung 10) ist. Coffein als Aufputschmittel regt die Herzfähigkeit, die Atmung und den Stoffwechsel an und steigert somit den Blutdruck, die Körpertemperatur und die Blutumlaufgeschwindigkeit. Manche empfindliche Menschen reagieren darauf mit durchaus ernstzunehmenden gesundheitlichen Problemen [OMICRON, 1998]. Der Anteil an Coffein in Grünem Tee beträgt bis zu 5 % der Trockensubstanz, was im Vergleich zu Kaffeebohnen mit ca. 1,5 % relativ hoch ist [YAMAMOTO T. et al., 1997; KUWANO, 1986]. Die Abtrennung des Coffeins von den Extrakten ist hier zwar kein vorrangiges Ziel, jedoch kann eine Reduzierung des Coffeingehaltes durchaus als positiv aufgefasst werden.

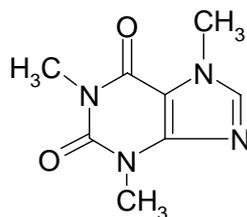
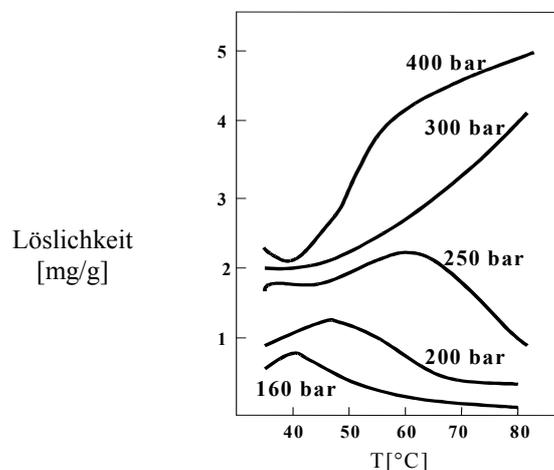


Abbildung 10: Strukturformel von Coffein

## 2.2.1.4 HD-Extraktion von Inhaltsstoffen des Grünen Tees

Über die Extrahierbarkeit von Polyphenolen aus Grünem Tee mit überkritischem CO<sub>2</sub> liegen keine Angaben vor, es werden jedoch Lösungsmittelextraktionen mit heißem Wasser bzw. Wasser-Acetonitril-Mischungen beschrieben [KUHR S., 1991; SUEMATSU S., 1995; HISANOBU Y. et al, 1994]. Diese Löslichkeit in polaren Lösungsmitteln ist angesichts der polaren Struktur der Phenole zu erwarten. Aufgrund der strukturellen Ähnlichkeiten der Catechine und ihrer Löslichkeitskennzahlen  $\delta_2$  [nach FEDORS, 1974], die alle in der gleichen Größenordnung liegen, kann eine vergleichbare Extrahierbarkeit der einzelnen Substanzen dieser Stoffgruppe vorausgesetzt werden, so dass bei der analytischen Begleitung der Extraktionsversuche die Beobachtung ausgewählter Catechine zur Beurteilung des Extraktionsergebnisses ausreicht und nicht alle Catechine gesondert quantifiziert werden müssen. Erst eine Verschiebung der Peakflächenverhältnisse zwischen den einzelnen Catechinen erfordert eine gesonderte Analyse. In der Literatur sind unterschiedliche Methoden zur Analyse der Catechine mit HPLC und GC beschrieben [HOEFLER, 1976; SAKATA et al., 1991; KUHR, 1991]. Die Löslichkeitsfaktoren  $\delta_2$  [nach FEDORS, 1974] aller Catechine liegen über  $20 \text{ cal}^{0,5}/\text{cm}^{1,5}$ , was auf eine Unlöslichkeit in überkritischem CO<sub>2</sub> hindeutet. Lediglich der Einsatz polarer Modifier könnte eine HD-Extraktion ermöglichen.

Über die Extrahierbarkeit von Coffein mit CO<sub>2</sub> sind vor allem im Zusammenhang mit der Entcaffeinierung von Tee und Kaffee sehr detaillierte Angaben vorhanden. Danach ergibt sich ein Zusammenhang zwischen der Löslichkeit des Coffeins im CO<sub>2</sub> und dem Druck bzw. der Temperatur, der in **Abbildung 11** dargestellt ist [STAHL et al., 1987].



**Abbildung 11:** Löslichkeit von Coffein in Abhängigkeit von Temperatur und Druck [STAHL et al., 1987]

Aus diesem Diagramm geht hervor, dass mit steigendem Extraktionsdruck die Löslichkeit von Coffein im überkritischen CO<sub>2</sub> zunimmt. Mit steigender Temperatur wird ein Löslichkeitsmaximum durchlaufen, das sich mit höherem Druck zu höheren Temperaturen hin verschiebt.

Außerdem besteht eine hohe Selektivität für Coffein, so dass bei der Extraktion von anderen Stoffen aus coffeinhaltigen Matrices, wie hier bei der Extraktion von Polyphenolen, mit Verdrängungseffekten zu rechnen ist. Das Maximum dieser Selektivität liegt bei 160-220 bar Extraktionsdruck und 70-90 °C Extraktionstemperatur, was bei der Entcaffeinierung von Kaffeebohnen ausgenutzt wird, obwohl hier die Aufnahmekapazität des CO<sub>2</sub> vergleichsweise gering ist [STAHL et al., 1987]. Die Löslichkeit von Coffein liegt hier laut **Abbildung 11** bei nur ca. 0,5 mg/g CO<sub>2</sub>, was einen relativ hohen Durchfluss zur vollständigen Entcaffeinierung erfordert. Der  $\delta_2$ -Wert, berechnet nach [FEDORS, 1974], liegt bei 12,96 cal<sup>0,5</sup>/cm<sup>1,5</sup> [KING, 1990], was eine wahrscheinlich mittelmäßige Löslichkeit in überkritischem CO<sub>2</sub> bedeutet. In der praktischen Anwendung werden die rohen Kaffeebohnen mit Wasser versetzt, und dann wird das Coffein-Wasser-Gemisch mit CO<sub>2</sub> extrahiert. Auf diese Weise wird die Löslichkeit und damit die Ausbeute an Coffein durch das Schlepptmittel verbessert und nur so eine vollständige Entcaffeinierung des Materials erreicht.

## 2.2.2 *Calendula officinalis* L. (Ringelblume)

### 2.2.2.1 Allgemeines

Das ursprüngliche Herkunftsgebiet der Ringelblume (**Abbildung 12**) wird zwischen Tetuan und Tanger vermutet. Ihr heutiges Verbreitungsgebiet erstreckt sich in West-Ost-Richtung von den Kanaren bis nach Indien und in nördlicher Richtung bis nach Finnland. In vielen Teilen der Welt ist die Ringelblume als Kultur-, Zier- und Arzneipflanze bekannt [ISAAC, 1992].



**Abbildung 12: Ringelblume (*Calendula officinalis* L.)**

Die Inhaltsstoffe der Ringelblume werden seit langem in der Naturheilkunde, aber zunehmend auch in der pharmazeutischen und kosmetischen Industrie eingesetzt [DUMENIL et al., 1980; AVRAMOVA et al., 1988; QUIRIN, 1989; THEIS, 2000]. Das Wirkungsspektrum reicht von antimikrobiellen [ISAAC, 1992] bis hin zu antimutagenen [ELIAS et al., 1990], antiinflammatorischen [DELLA LOGIA et al., 1990, 1991, 1994], immunstimulierenden [WAGNER et al., 1985] und wundheilenden Effekten [ISAAC, 1992]. Sogar eine Wirksamkeit gegen Tumore [PEYROUX et al., 1981; BOUCAUD-MAITRE et al., 1988; CHEW et al., 1996] bzw. den HI-Virus [KALVATCHEV et al., 1997] wurde nachgewiesen.

#### 2.2.2.2 Pharmakologisch wirksame Inhaltsstoffe

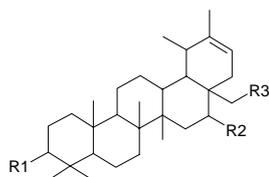
Für die genannte antiinflammatorische und wundheilende Wirkung der Ringelblume werden in neueren Veröffentlichungen Triterpenalkohole verantwortlich gemacht [DELLA LOGIA et al., 1994; ZITTERL-EGLESEER et al., 1996, 1997; AKIHISA et al., 1996; ISAAC, 1994]. Diese leiten sich von  $\psi$ -Taraxen, Taraxen, Lupen, Oleanen und Ursen ab und werden in Monole, Diolen und Triolen eingeteilt. Die wichtigsten Triterpenalkohole sind in **Tabelle 11** und **Abbildung 13** aufgelistet. Alle Alkohole kommen dabei in der Ringelblume frei oder verestert vor, wobei 10 % der Monole, 98 % der Diolen und weniger als 1 % der Triolen verestert sind. Die Monole sind dabei hauptsächlich mit Essigsäure verestert, die Diolen dagegen mit Fettsäuren. Vor allem Laurin-, Myristin- und Palmitinsäure können in diesen Verbindungen nachgewiesen werden [ISAAC, 1992; TEUSCHER, 1997; HÄNSEL, et al., 1997].

In den genannten Literaturstellen sind vor allem die Faradiolmonoester und das nicht veresterte Faradiol (**Abbildung 13**) als wirksamste Bestandteile der Ringelblume aufgeführt. Der Anteil an Diolen in der Ringelblume beträgt etwa 2-4 % der Trockensubstanz, der Anteil

der Monole und Triole liegt bei etwa 0,8 bzw. 0,2 % Gewichtsanteil. Die Analyse der Faradiolester ist nach [ZITTERL-EGLESEER, 1996, 1997 und REZNICEK 2000] mit DC und HPLC möglich.

**Tabelle 11: Triterpenalkohole nach [ISAAC, 1992]**

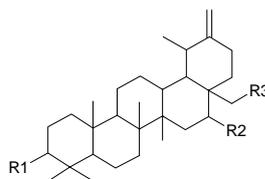
Monole	Dirole	Triole
$\alpha$ -Amyrin	Arnidiol	Heliantriol B <sub>0,1,2</sub>
$\beta$ -Amyrin	Calenduladiol	Ursatriol
Lupeol	Brein	Longispinogenin
Taraxasterol	Faradiol	
$\psi$ -Taraxasterol	Maniladiol	



$\psi$ -Taraxasterol: R1=OH; R2=R3=H

Faradiol: R1=R2=OH; R3=H

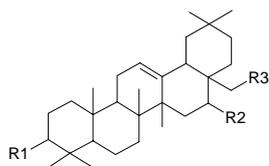
Heliantriol B<sub>0</sub>: R1=R2=R3=OH



Taraxasterol: R1=OH; R2=R3=H

Arnidiol: R1=R2=OH; R3=H

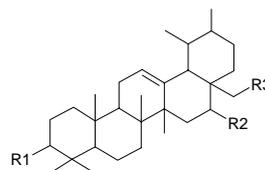
Heliantriol B<sub>1</sub>: R1=R2=R3=OH



$\beta$ -Amyrin: R1=OH; R2=R3=H

Maniladiol: R1=R2=OH; R3=H

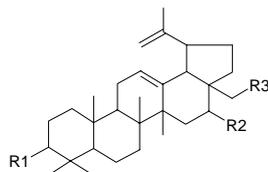
Longispinogenin: R1=R2=R3=OH



$\alpha$ -Amyrin: R1=OH; R2=R3=H

Brein: R1=R2=OH; R3=H

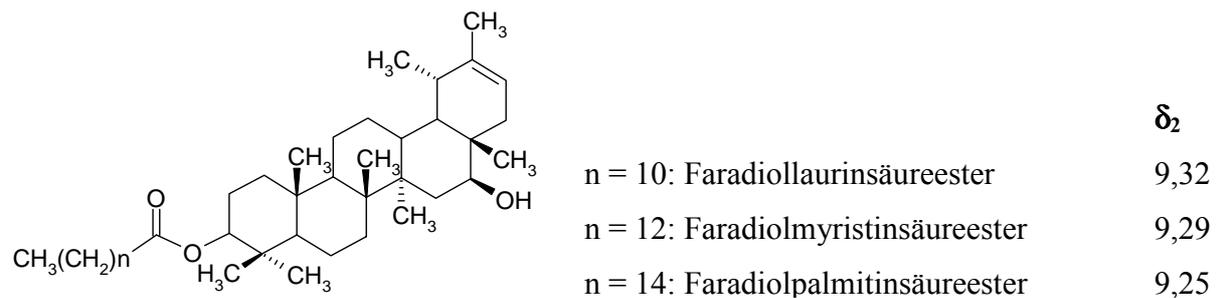
Ursatriol: R1=R2=R3=OH



Lupeol: R1=OH; R2=R3=H

Calenduladiol: R1=R2=OH; R3=H

Heliantriol B<sub>2</sub>: R1=R2=R3=OH



**Abbildung 13: Struktur der Triterpenalkohole und Faradiolmonoester**

Die anderen Bestandteile der Ringelblume lassen sich in ätherische Öle (0,2 %) [CHALAT, 1991], Polysaccharide (14,8 %), Öle, Sesquiterpenlactone, Triterpenglykoside, Saponine (bis 10 %), Farbstoffe (1,5-3 %) und Flavonolglykoside (0,5 %) einteilen [STEVENSON, 1961; KAPOOR, 1981; EL-GENGAIHI et al., 1982; WILKOMIRSKI, 1985; MARCZAL et al., 1987].

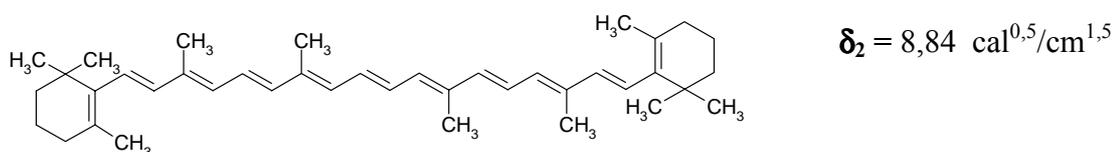
### 2.2.2.3 HD-Extraktion von Ringelblumen

Die CO<sub>2</sub>-Hochdruckextraktion von Ringelblumen wurde bereits in verschiedenen Literaturstellen beschrieben [DELLA LOGIA et al., 1994; QUIRIN, 1989; Stahl et al., 1987]. Der Extraktionserfolg wird dabei aber immer mit der Massenausbeute an Extrakt in Verbindung gebracht. Auf die Extraktion der pharmakologisch wirksamen Substanzen oder der Farbstoffe wird dabei nicht näher eingegangen. Als Ergebnis der verschiedenen Versuche werden einheitlich 350 bar Druck bei 50 °C als optimale Extraktionsbedingungen genannt. Allerdings konnte mit den eingesetzten Extraktionsanlagen kein Extraktionsdruck von mehr als 500 bar erzeugt werden. Die genannten Bedingungen können für die folgenden Versuche deshalb nur als Richtwerte verstanden werden und bedürfen der Überprüfung und Erweiterung. Die  $\delta_2$ -Werte der Faradiolester liegen mit einer Größenordnung von 9,25-9,32 cal<sup>0,5</sup>/cm<sup>1,5</sup> deutlich in dem Bereich, der eine gute Löslichkeit in überkritischem CO<sub>2</sub> erwarten lässt. Erste dahingehende Versuche wurden von GRAU [2000] im Rahmen einer Diplomarbeit veröffentlicht.

#### 2.2.2.4 Störende Substanzen

Der Gehalt an hauptsächlich gelben Farbstoffen wie Carotinen, Lycopin, Lutein und Xanthophyllen ist in den Ringelblumenblüten mit 1,5 bis 3 % relativ hoch. Diese Substanzen gelangen bei der Extraktion mit überkritischem CO<sub>2</sub> aufgrund ihrer sehr guten Löslichkeit in CO<sub>2</sub> in die Abscheider der Versuchsanlagen. Bereits ab einem Extraktionsdruck von 100 bar ist z. B. reines β-Carotin (**Abbildung 14**) aus Standards heraus in überkritischem Kohlendioxid löslich. Mit steigender Temperatur und steigendem Druck ist ein deutlicher Anstieg der Löslichkeit und damit ein steigender Farbstoffgehalt in den HD-Extrakten zu verzeichnen [QUIRIN, 1989; SKERGET, 1997; MENDES et al., 1999]. Auch der  $\delta_2$ -Wert von 8,84 cal<sup>0,5</sup>/cm<sup>1,5</sup> spricht für eine gute Löslichkeit in überkritischem CO<sub>2</sub>.

Diese intensiv gelben Substanzen verursachen bei der Lagerung in oft nur unzureichend gegen Sauerstoff abgedichteten Verpackungen Veränderungen im Geruch und im Aussehen. Carotine werden z. B. bei Anwesenheit von Licht und Sauerstoff zu veilchen- oder sogar kerosinartig riechenden Aromakomponenten abgebaut. Dabei wird diese Oxidation durch radikalische Intermediate beschleunigt, welche bei der Lipidperoxidation auftreten. Die Farbe dieser Formulierungen kann dabei ins Bräunliche umschlagen. Andere Farbstoffe, wie das Lycopin, entstehen dabei durch den Abbau von Carotinen und unterliegen ebenfalls den genannten Veränderungen [BELITZ, 1992]. Diese Veränderungen der Produkte kann zu einer verminderten Verbraucherakzeptanz führen, weshalb sämtliche farbgebenden Verbindungen als störend eingeordnet wurden.



**Abbildung 14: Strukturformel von β-Carotin**

### 2.2.3 Piper methysticum

#### 2.2.3.1 Allgemeines

Die Kava-Pflanze (Rauschpfeffer, *Piper methysticum*) ist in der Inselwelt des pazifischen Raumes bis nach Hawaii verbreitet (**Abbildung 15**). Als Droge zur Bereitung des Kava-Kava

Getränk wird der bis zu 10 kg schwere Wurzelstock (Rhizom) verwendet [HÄNSEL et al., 1994; SCHULZ et al., 1996], welcher geschält, zerschnitten und getrocknet wird. Die Zubereitung eines Trankes aus Kava-Kava ist für die Einwohner Polynesiens ein wichtiger Bestandteil ihrer Kultur. Die Inhaltsstoffe werden dabei kalt mit Wasser oder Kokosmilch aus dem gelb-braunen Rohstoff extrahiert. Die Wirkung wird als leicht berauschend beschrieben [Heilpflanzen, 1999; HÄNSEL et al., 1994], der Geruch als schwach aromatisch und erdig und der Geschmack als schwach bitter, kratzig sowie seifenartig. Außerdem wirkt der Extrakt adstringierend.

In verschiedenen Literaturstellen und im Internet sind Präparate und Darreichungsformen der Kava-Kava-Inhaltsstoffe beschrieben [SCHULZ, 1996; FINZELBERG, 1999; SHULGIN, 1993; PRELL, 1998]. Danach werden die Wirkungen des Kava-Kava als angst-, spannungs- und krampflosend bezeichnet. Anwendung findet dies in der Volksmedizin bei verschiedenen Erkrankungen, unter anderem bei Asthma, Rheuma, Syphilis und Gonorrhoe. Für die Gewinnung von Arzneimitteln wird die Droge entweder mit Ethanol-Wasser- oder mit Aceton-Wasser-Gemischen oder auch mit Dichlormethan extrahiert. Die Anbauggebiete der Kava-Kava-Pflanze sind auf vielen pazifischen Inseln und in Neuguinea zu finden.



**Abbildung 15: Kava-Kava-Pflanze und Wurzelstock (rechts)**

### 2.2.3.2 Pharmakologisch wirksame Inhaltsstoffe

Für die angst-, spannungs- und krampflosende Wirkung sind die sogenannten Kavapyrone (Kavalactone) verantwortlich. Die Strukturformeln der wichtigsten Vertreter dieser Stoffgruppe sind in **Abbildung 16** gezeigt, in Klammern sind die Löslichkeitsparameter  $\delta_2$  in

$\text{cal}^{0,5}/\text{cm}^{1,5}$  nach [FEDORS, 1974] angegeben. Der Gehalt an wirksamen Inhaltsstoffen schwankt je nach Unterart und Standort, liegt jedoch in einem Bereich von 3,5 bis über 5 % der Trockensubstanz [YU et al., 1998; LOPEZ-AVILA, 1997; SHULGIN, 1973]. Die Kavapyrone können photometrisch oder mit verschiedenen HPLC-Methoden quantifiziert werden [ZELLER, 1996; YU et al., 1998]. Sie neigen zur Mischkristallbildung [LANGHAMMER, 1971], was bei der Probenaufarbeitung zur Inhomogenität führen kann.

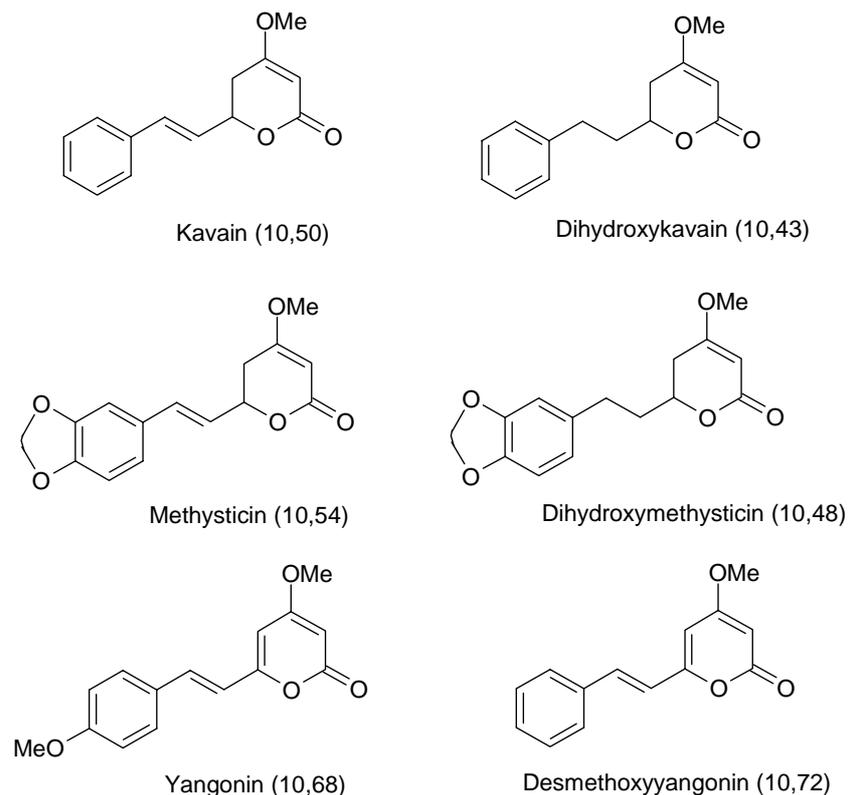


Abbildung 16: Strukturformeln und  $\delta_2$ -Werte der wichtigsten Kavapyrone

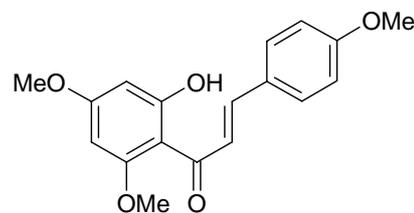
### 2.2.3.3 HD-Extraktion von *Piper methystikum*

Die  $\delta_2$ -Werte im Bereich von 10,43 bis 10,72  $\text{cal}^{0,5}/\text{cm}^{1,5}$  weisen auf eine gute Löslichkeit in überkritischem  $\text{CO}_2$  hin. In der Literatur gibt es bereits verschiedene Veröffentlichungen zur Extraktion von Inhaltsstoffen aus *Piper methystikum* mit überkritischem  $\text{CO}_2$  [LOPEZ-AVILA, 1997; PRELL, 1998]. Diesen Studien zufolge ist es sehr gut möglich, die Kavapyrone aus dem Rohmaterial zu gewinnen. Für die Extraktion sind anscheinend bereits vergleichsweise geringe Druckwerte ab 200 bar bei einer Temperatur von 40 °C ausreichend, um einen Großteil der vorhandenen Kavapyrone zu extrahieren. Mit den verwendeten Versuchsanlagen konnten jedoch nur die Bereiche bis zu einem Extraktionsdruck von

350 bar untersucht werden. Die begonnenen Forschungstätigkeiten sollen im Rahmen dieser Arbeit auf einer Pilotanlage fortgeführt werden.

#### 2.2.3.4 Störende Begleitsubstanzen

Störende Verbindungen in der Kava-Pflanze sind die Farbstoffe Flavokavin A, B und C [HÄNSEL, 1961; HÄNSEL et al., 1994]. Bei längerer Einnahme von Kava-Kava-Präparaten kann eine Gelbfärbung der Haut auftreten, die zwar reversibel ist, aber dennoch als störend empfunden wird. In diesem Zusammenhang ist vor allem das Flavokavin A (siehe **Abbildung 17**) von Bedeutung, dessen Analyse mit der HPLC [ZELLER, 1996] möglich ist. Der  $\delta_2$ -Wert beträgt  $13,16 \text{ cal}^{0,5}/\text{cm}^{1,5}$ , liegt also im Übergangsbereich zwischen den Werten von löslichen und unlöslichen Substanzen. Die Arbeit von [PRELL, 1998] zeigt allerdings eine Löslichkeit dieses Farbstoffes im überkritischen  $\text{CO}_2$ , da er in den Extrakten nachgewiesen werden konnte. Möglicherweise sind Schleppeffekte von anderen vorhandenen Substanzen wie z. B. Wasser für die Verbesserung der Löslichkeit verantwortlich. Eine Entfernung dieses Farbstoffes aus den Extrakten ist für die Anwendung in Arzneimitteln zur Reduzierung der Nebenwirkungen durchaus von Bedeutung.



Flavokavin A

$$\delta_2 = 13,16 \text{ cal}^{0,5}/\text{cm}^{1,5}$$

**Abbildung 17: Strukturformel von Flavokavin A**

Die chemische Struktur lässt aufgrund der OH-Gruppe eine mögliche Adsorption an Aluminiumoxid vermuten. Da die Kavapyrone lediglich Ketogruppen aufweisen, ist hier ein Affinitätsunterschied zu diesem Adsorbens gegeben. [PRELL, 1998] hat diese Vermutungen schon bestätigt, jedoch deutliche Verluste an Kavapyronen feststellen müssen.

### 3 Material und Methoden

#### 3.1 Material

##### 3.1.1 Geräte

Verwendete Geräte:	UV-VIS-Spektrometer:	Perkin Elmer Lambda 16
	Vakuumtrockenschrank:	Heraeus Instruments VT 5050 EKP
	Detektor HPLC:	Gynkotec, UVD 340 S
	Pumpe HPLC:	Gynkotec, Model 480
	Autosampler:	Gynkotec, Gina 50
	Wasserfilteranlage:	Millipore, Milli-Qplus 185
	Partikelgrößenverteilung:	Sympatec, Helos
Auswertesoftware:	Gynkosoft Version 5.60.18, Softron GmbH 1991-1999	

#### HPLC-Bedingungen

Bei der HPLC-Analyse war die stationäre Phase für alle untersuchten Materialien gleich, nämlich LiChrospher 100 RP-18, 5 µm, 4 x 250 mm mit einer Vorsäule des Typs LiChrospher 100 RP-18, 5 µm, 4 x 40 mm. DAD-Spektren wurden jeweils im Bereich von 200-400 nm aufgenommen, um die Substanzen eindeutig zuzuordnen. In **Tabelle 12** und **Tabelle 13** sind die übrigen Daten und das jeweilige Gradientenprogramm zusammengefasst.

**Tabelle 12: HPLC-Daten**

<b>Rohstoff</b>	<i>Camellia sinensis</i>	<i>Calendula officinalis</i>	<i>Piper methystikum</i>
<b>Injektionsvolumen [µl]</b>	20	10	20
<b>Detektion DAD [nm]</b>	280	210	245, 360
<b>Mobile Phasen</b>	A: Essigsäure 2 % B: Acetonitril	A: Methanol B: wässrige Trifluor-essigsäure, pH 4	A: Acetonitril: 16 Isopropanol: 19 Essigsäure (0,1 %) 65 B: Acetonitril
<b>Fluss [ml/min]</b>	1	1,5	1

Tabelle 13: Gradientenprogramme

<b>Rohstoff</b>	<b>Gradientenprogramm</b>						
<i>Camellia sinensis</i>	Min	0	20	25	30	40	45
	% B	8	22,6	40	50	8	8
<i>Calendula officinalis</i>	Min	0	50	75	80	90	
	% B	5	0	0	5	5	
<i>Piper methystikum</i>	Min	0	22	32	35	40	45
	% B	100	100	0	0	100	100

## 3.1.2 Chemikalien

Tabelle 14: Verwendete Chemikalien

<b>Bezeichnung</b>	<b>Hersteller</b>	<b>Reinheit</b>	<b>Bestellnummer</b>
Acetonitril	Fluka	HPLC	
Acetonitril	Roth	HPLC	7330.2
Aluminiumoxid	Alcoa	> 93 %, technisch	DD-2 8x14
Aluminiumoxid basisch, 0,063–0,200 mm	Merck		1.01077.1000
Aluminiumoxid neutral, 0,063–0,200 mm	Merck		1.01076.1000
Anisaldehyd (4- Methoxybenzaldehyd)	Merck	p.A.	1450
Bleicherde Tonsil <sup>®</sup>	Südchemie AG München	hochaktiv	
Coffein	Fluka	p.A., wasserfrei	27600
DC-Alufolien KG 60 F <sub>254</sub>	Merck		105554.0001
Dichlormethan	Merck	HPLC	1.06050.2500
Eisessig	Merck	p.A.	1.00063.2500
Essigsäureanhydrid	Merck	p.A.	1.00042.1000

Bezeichnung	Hersteller	Reinheit	Bestellnummer
Ethanol	Raps	96 %, unvergällt	
Ethylacetat	Fluka	p.A.	45760
Florisil	Fluka		46382
Hexan	Merck	HPLC	1.04391.2500
Isopropanol	Merck	HPLC	1.01040.2500
Kavain	Roth		6959.1
Kieselgel 60, 0,063 – 0,200 mm	Merck		1.07734.2500
Lupeol	Roth	HPLC	8863.1
Lupeol	Sigma	HPLC	L 5632
Methanol	Merck	HPLC	1.06018.2500
Methanol	Roth	HPLC (Rotisolv)	7342.1
Natriumsulfat	Merck	Wasserfrei, p.A.	1.06649.1000
Pyridin	Fluka	>99,8 %	82704
Trifluoressigsäure	Merck	zur Synthese >98 %	8.08260.0100

### 3.1.3 Herstellung der nicht käuflichen Chemikalien

#### Herstellung von Lupeolacetat

10 mg Lupeol wurden in 1 ml wasserfreiem Pyridin gelöst und mit 1 ml Essigsäureanhydrid versetzt. Die Lösung wurde 24 Stunden bei Raumtemperatur stehen gelassen und dann in 50 ml Eiswasser gegossen. Die wässrige Lösung wurde dreimal mit 100 ml Dichlormethan ausgeschüttelt, und die vereinigten organischen Phasen wurden unter Vakuum bei 40 °C zur Trockene eingengt. Dabei resultierte eine vollständige Umsetzung zu Lupeolacetat. Das Produkt wurde mittels HPLC im unten angegebenen System auf seine Reinheit hin überprüft [REZICEK, 2000].

#### Herstellung des Sprühreagenzes für die DC [YORK et al., 1993]

Eine Mischung aus 85 ml Methanol und 10 ml Eisessig wurde unter Eiskühlung vorsichtig mit 8 ml konz. Schwefelsäure und 0,5 ml Anisaldehyd (4-Methoxybenzaldehyd) versetzt.

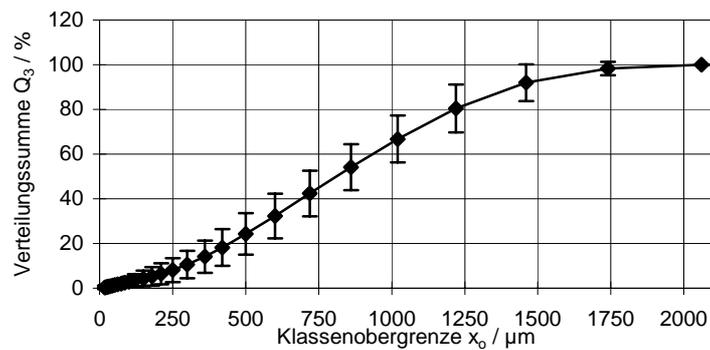
### 3.1.4 Probenmaterial

#### 3.1.4.1 *Camellia sinensis*

Für die Extraktionsversuche wurde eine Mischung aus China Green Fannings und Ceylon Green Fannings der Firma Raps & Co., Kulmbach im Verhältnis 1:1 verwendet (siehe **Abbildung 18**). Das Material war unfermentiert und bestand aus Blattbruch und Flaum, weitgehend frei von Stielen. Der Wassergehalt des Rohstoffs wurde durch Differenzwägung nach der Trocknung im Vakuumtrockenschrank für 10 Stunden bei 60 °C bestimmt und lag bei 2,6 %. Bei sämtlichen Berechnungen wurde dieser Wassergehalt berücksichtigt. Die Partikelgrößenverteilung wurde mit Hilfe der Laserbeugung (Helos, Fa. Sympatec) bestimmt. Dabei ergab sich ein  $x_{50}$ -Wert von  $811 \pm 48 \mu\text{m}$ .



**Abbildung 18: Rohstoff Grüner Tee**



#### 3.1.4.2 *Calendula officinalis*

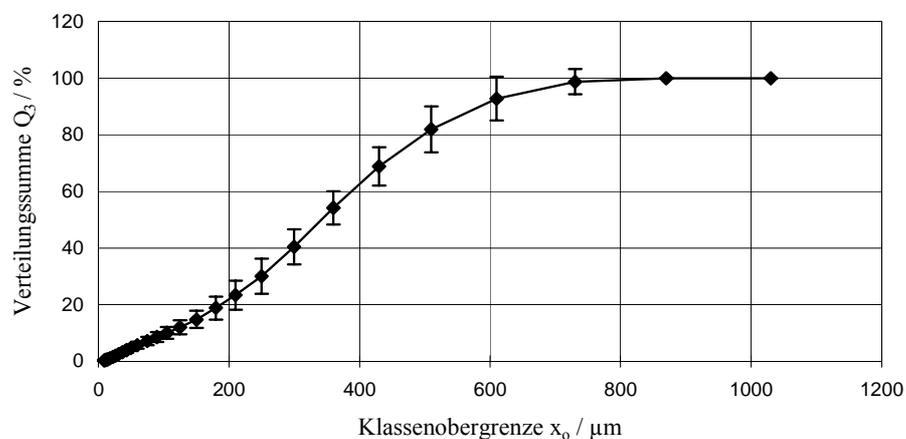
Die verwendeten Ringelblumen stammten aus der Tschechoslowakei und wurden über die Fa. Raps & Co bezogen (**Abbildung 19**). Dabei wurden nur die Blütenköpfe getrocknet und vermahlen.



**Abbildung 19: Vermahlene Ringelblumenblüten**

Nach der unter Kap. 3.3.2 beschriebenen quantitativen Bestimmung zeigte sich für die Rohware ein für jede abgefüllte Einheit schwankender Wirkstoffgehalt. Es war deshalb notwendig, jede für die CO<sub>2</sub>-Extraktionen eingesetzte Charge separat auf den Wirkstoffgehalt hin zu analysieren.

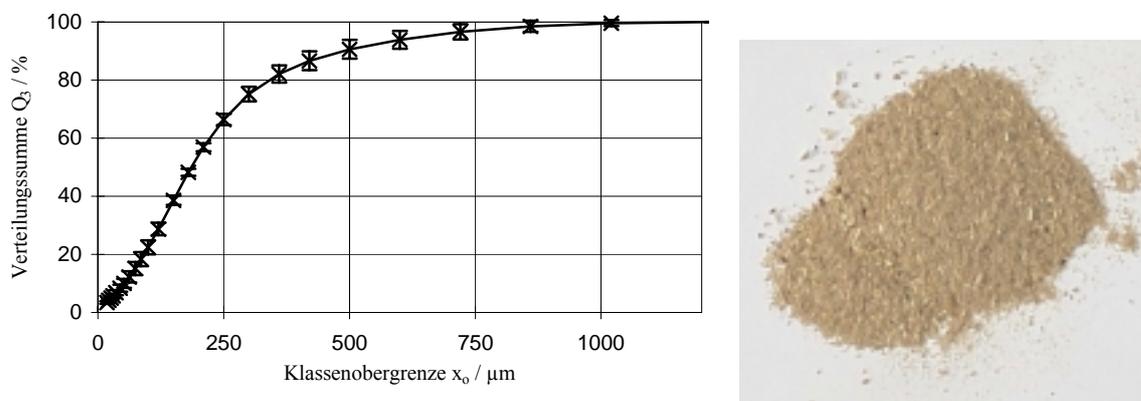
Der Wassergehalt wurde durch Differenzwägung nach der Trocknung im Vakuumtrockenschrank bei 50 °C bis zur Gewichtskonstanz bestimmt und lag bei 12,2 bis 13,3 Gew.-%. Der Grund für diese Schwankungen waren wahrscheinlich Entmischungerscheinungen bzw. ungenügende Durchmischung innerhalb der Chargen sowie die natürliche Spannweite des Anteils im Rohstoff. Der Vermahlungsgrad wurde über die Partikelgrößenverteilung (**Abbildung 20**) durch Laserbeugung (Helos, Fa. Sypatec) bestimmt. Damit ergab sich ein  $x_{50}$ -Wert von  $342 \pm 10 \mu\text{m}$ .



**Abbildung 20: Partikelgrößenverteilung des vermahlene Ringelblumen-Rohstoffs**

### 3.1.4.3 Piper methystikum

Bei sämtlichen Versuchen wurde gemahlenes Kava-Kava-Rhizom der Fa. Max Zeller Söhne AG (Chargennummer 808070 vom 06.11.98) verwendet. Der Wassergehalt des Rohstoffes wurde durch Differenzwägung nach der Trocknung im Vakuumtrockenschrank (Dreifachbestimmung) für 10 Stunden bei 60 °C bestimmt und lag bei 8,45 %. Der Vermahlungsgrad wurde über die Partikelgrößenverteilung (Helos, Fa. Sympatec, Messprinzip: Laserbeugung) bestimmt. In **Abbildung 21** sind der Rohstoff sowie die Partikelgrößenverteilung abgebildet. Der  $x_{50}$ -Wert beträgt  $186 \mu\text{m} \pm 4 \mu\text{m}$ .



**Abbildung 21: Rohstoff Piper methystikum**

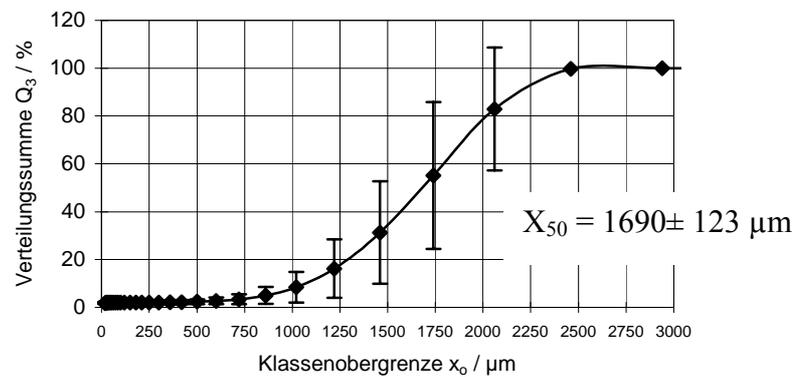
### 3.1.5 Charakterisierung der eingesetzten Adsorptionsmittel

Die für die Extraktionsversuche verwendeten Adsorptionsmittel waren Aluminiumoxide der Firma Alcoa und Bleicherde der Firma Südchemie. Der vom Hersteller angegebene Wassergehalt der Bleicherde lag im Bereich von 5-7 Gew.-%, der des Aluminiumoxids bei ca. 2,1 Gew.-%.

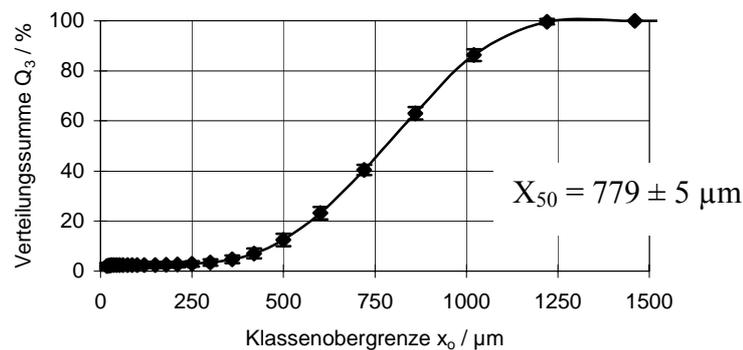
Um die höchste Aktivierungsstufe des grobkörnigen Aluminiumoxides zu erreichen, wurde das Adsorptionsmittel für mindestens 2 h im Vakuumtrockenschrank bei 150 °C getrocknet und damit das anhaftende Wasser vollständig entfernt. Die Abkühlung erfolgte im Exsikkator, um eine Veränderung des Feuchtegehaltes durch die Umgebungsluft zu verhindern. Die

verwendete Bleicherde hatte einen gemessenen Wassergehalt von 6,2 % und wurde ohne weitere Aktivierung bei der Extraktion eingesetzt.

Die **Abbildung 22** und **Abbildung 23** zeigen die Partikelgrößenverteilungen der beiden Adsorptionsmittel, gemessen durch Laserbeugung.



**Abbildung 22: Partikelgrößenverteilung Aluminiumoxid DD-2 8x14**



**Abbildung 23: Partikelgrößenverteilung Bleicherde**

### 3.2 Methoden

Von den Rohstoffen wurden unterschiedliche Extrakte hergestellt. Die zur Extraktion mit überkritischem  $\text{CO}_2$  verwendete Anlage ist in Kap. 3.1 beschrieben. Daneben wurden für die Bestimmung der Anfangs- und Restgehalte sowohl die Rohstoffe als auch die HD-Extraktionsrückstände mit Lösungsmitteln extrahiert und anhand der unter Kap. 3.2.3 und 3.2.4 aufgelisteten Vorschriften extrahiert, aufgearbeitet und analysiert.

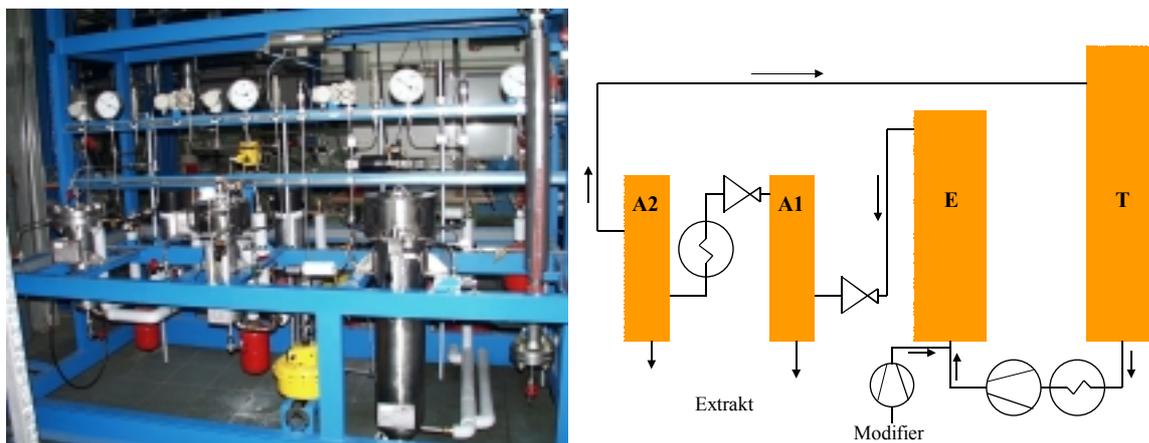
Zusätzlich wurden die HD-Extrakte zur Analyse in Lösungsmittel gelöst und die darin enthaltenen Inhaltsstoffe quantifiziert. Zuvor musste die durch Rühren homogenisierte ölige

Phase der HD-Extrakte von *Calendula officinalis* und *Piper methystikum* im Vakuumtrockenschrank bis zur Gewichtskonstanz getrocknet werden. Ein Vergleich der Ergebnisse dieser Trocknung mit denen der Gefriertrocknung brachte keinen messbaren Unterschied in der Leistung der zwei Methoden. Wegen der einfacheren Handhabung wurde deshalb der Vakuumtrockenschrank verwendet. Um Probenverluste durch zu heftiges Entweichen des Wassers zu vermeiden, wurden kleinere Mengen (ca. 1 g) getrocknet und der Trockensubstanzgehalt des Gesamtextraktes durch Dreifachbestimmung ermittelt. Die wässrige Phase der Extrakte konnte wegen der vernachlässigbar geringen Gehalte an Inhaltsstoffen verworfen werden. Bei der HD-Extraktion mit Ethanol als Modifier wurden die Proben homogenisiert und dann getrocknet. Die Ethanol-Phase enthielt dabei einen nicht unerheblichen Teil der Wertstoffe.

### 3.2.1 Extraktion mit überkritischem CO<sub>2</sub>

#### Extraktionsanlage

Die durchgeführten Extraktionsversuche erfolgten auf einer Extraktionsanlage des Adalbert-Raps-Zentrums für Arznei- und Gewürzpflanzenforschung (Hersteller: Natex Prozeßtechnologie GmbH) der TU München in Weihenstephan (**Abbildung 24**).



**Abbildung 24: Hochdruckextraktionsanlage in Weihenstephan**

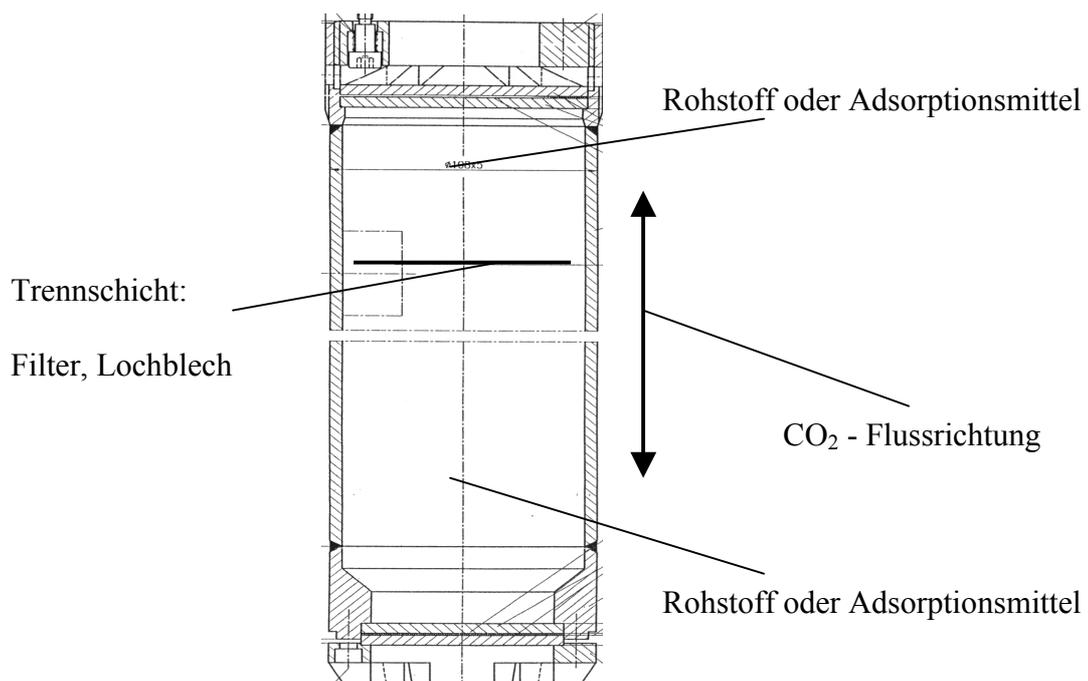
Das CO<sub>2</sub> wird im Arbeitstank (T) gesammelt, strömt von dort in die Pumpe und wird verdichtet. Das im Extraktor (E) fixierte Extraktionsgut wird vom CO<sub>2</sub> von unten nach oben oder auch in umgekehrter Flussrichtung durchströmt, wobei die löslichen Inhaltsstoffe mitgeführt werden. Durch eine Änderung der Druck- und Temperaturverhältnisse im

Abscheider 1 (A1) kommt es zur Abscheidung einer ersten Fraktion des Extraktes. Die Abscheidung einer zweiten Fraktion ist durch eine weitere Absenkung von Druck und Temperatur im Abscheider 2 (A2) möglich. Von dort strömt das regenerierte CO<sub>2</sub> zurück in den Arbeitstank und gelangt somit wieder in den Extraktionskreislauf. Eine zweite Pumpe bietet die Möglichkeit, Modifier (Schleppmittel, Entrainer) in den CO<sub>2</sub>-Strom zu dosieren. Damit kann die Polarität des CO<sub>2</sub> verändert und an unterschiedliches Extraktionsgut angepasst werden. Sämtliche Prozeßparameter werden dabei automatisch geregelt und protokolliert. Die technischen Daten der Anlage sind in **Tabelle 15** aufgelistet. Mit einem nutzbaren Extraktorvolumen von 5 l steht diese Extraktionsanlage zwischen den üblichen Laboranlagen und einer Produktionsanlage.

**Tabelle 15: Technische Daten der Extraktionsanlage**

	<b>Fassungsvermögen</b>	<b>Druckbereich</b>	<b>Temperaturbereich</b>
<b>Extraktor</b>	6,5 l	bis 1000 bar	20 bis 80 °C
<b>Abscheider 1</b>	4 l	bis 250 bar	20 bis 80 °C
<b>Abscheider 2</b>	4 l	bis 100 bar	20 bis 80 °C

#### Aufbau des einteiligen Einsatzkorbes



**Abbildung 25: Ausschnitt aus der technischen Zeichnung des einteiligen Einsatzkorbes**

Zur Fixierung des Extraktionsgutes im Extraktor wird der in **Abbildung 25** dargestellte Einsatzkorb verwendet. Dabei ist darauf zu achten, dass die Schüttung beim Befüllen nicht verdichtet wird, um ein Verstopfen der Anlage während der Extraktion zu verhindern. Um einen optimalen Stoffübergang bei der Extraktion zu gewährleisten, sollte der Füllgrad des Einsatzkorbes etwa 75 % betragen, um eine Wirbelung des Materials während der Extraktion zu ermöglichen. Durch kleine Umbaumaßnahmen ist es auch möglich, die Extraktionsrichtung umzukehren. Bei zur Kompaktierung neigenden Rohstoffen ist diese Art der Extraktion wegen des eventuellen Verstopfens des Extraktors jedoch nur bedingt möglich. Beim gleichzeitigen Einsatz von Adsorptionsmitteln im einteiligen Extraktoreinsatzkorb werden die Schüttungen durch ein eingelegtes Lochblech und ein Filterpapier getrennt. Vermischungen des Extraktionsgutes mit dem Adsorptionsmittel sind bei dieser Anordnung und der Extraktion von unten nach oben nur schwer zu vermeiden. Der einteilige Einsatzkorb fand bei den Versuchen zur Extraktion von *Camellia sinensis* und *Calendula officinalis* Verwendung.

#### Aufbau des dreiteiligen Einsatzkorbes

Wenn Rohstoff und Adsorptionsmittel im Extraktoreinsatz getrennt werden sollen wird ein dreiteiliger Korb verwendet (**Abbildung 26**). In der unteren Kammer wird der Rohstoff eingefüllt und in den oberen Teil die Adsorptionsmittelschüttung. Dabei kann das Sieb auch zur Vergrößerung der Adsorptionsmittelmenge oder bei anderen Extraktionsproblemen zur Schaffung eines Leerraumes im unteren Teil des Extraktors zwischen die unteren beiden Segmente des Korbes eingebaut werden. Das CO<sub>2</sub> strömt von unten zuerst durch den Rohstoff, wird mit den löslichen Inhaltsstoffen beladen und gelangt an der aktiven Oberfläche des Adsorptionsmittels entlang in die Abscheider. Beide Schüttungen werden bei dieser Bauweise nicht verdichtet. Damit können unter vollständiger Abtrennung der beiden Schüttungen auch Rohstoffe ohne technische Probleme extrahiert werden, die bei der Extraktion von oben nach unten zur Kompaktierung neigen. Sämtliche Versuche zur Extraktion von *Piper methystikum* und verschiedene Extraktionen von *Camellia sinensis* wurden mit diesem Bauteil durchgeführt.

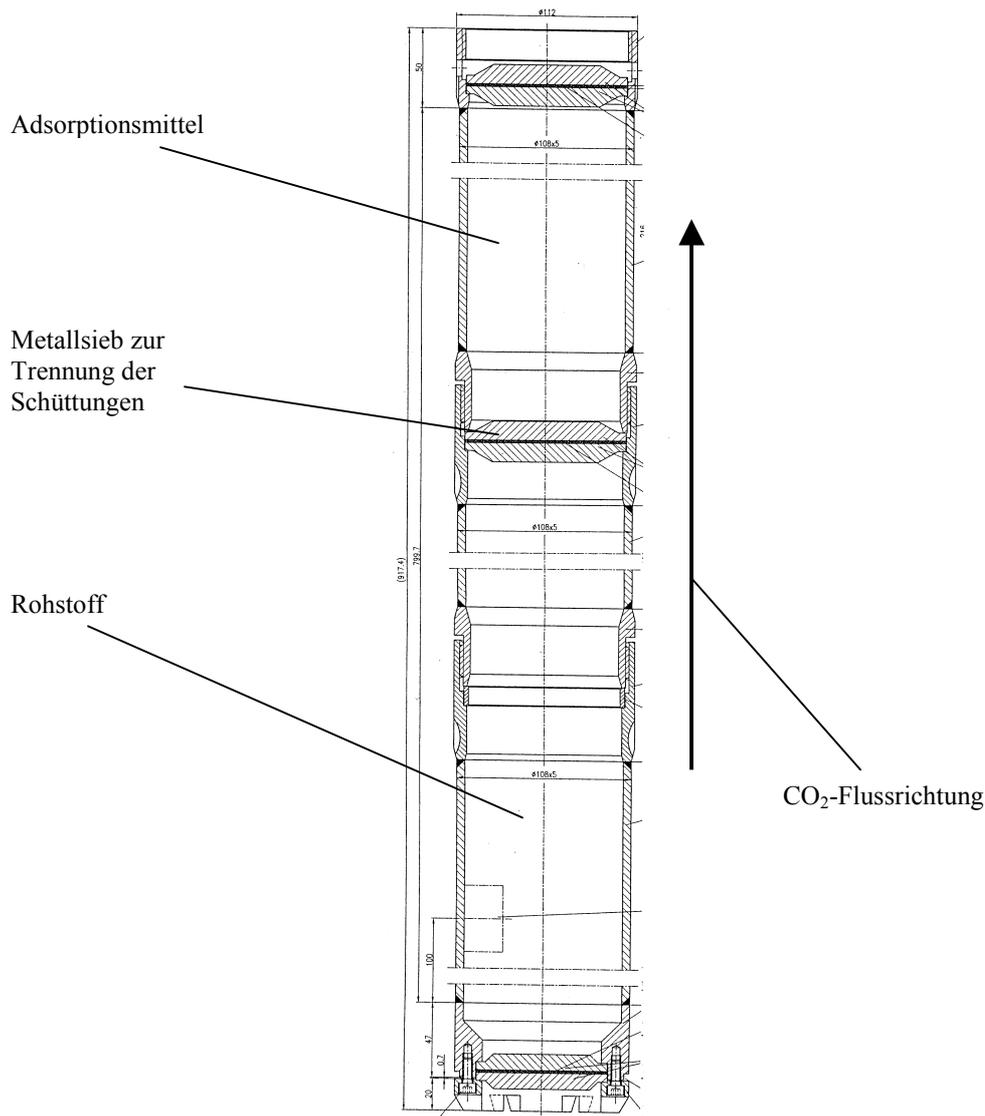
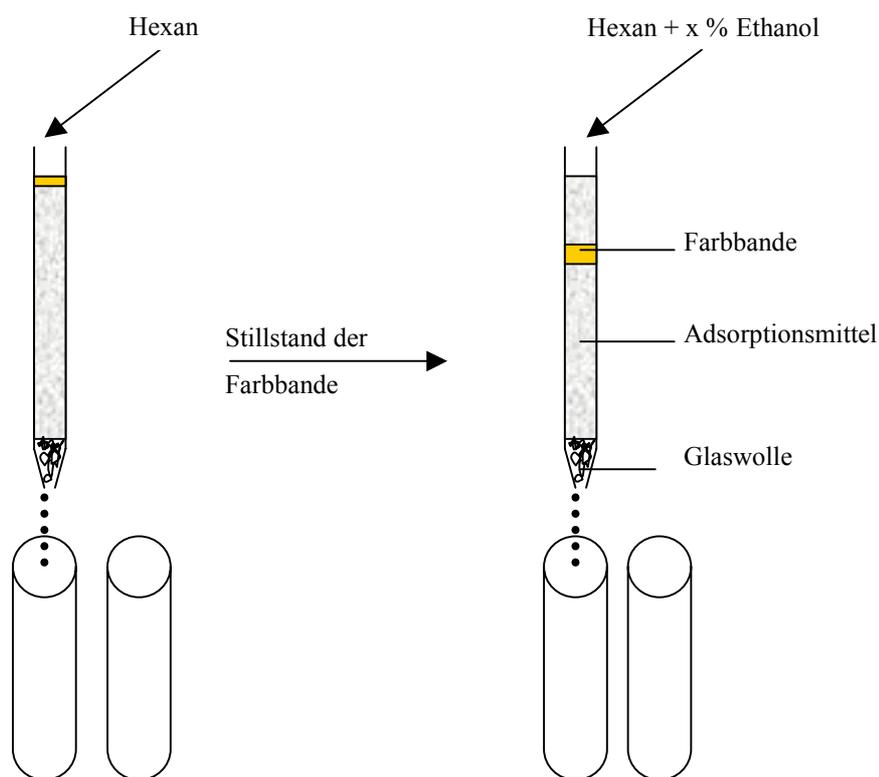


Abbildung 26: Ausschnitt aus der technischen Zeichnung des dreiteiligen Extraktoreinsatzkorbes

### 3.2.2 Laborversuche zum Einsatz von Adsorptionsmitteln

Die Fähigkeit verschiedener Adsorptionsmittel zur Anlagerung der einzelnen Bestandteile eines Extraktes und damit die Reinigung von Extrakten unter überkritischen Bedingungen ist auf der Grundlage chemischer Strukturen oder Literaturangaben nur in seltenen Fällen bekannt. Versuche mit verschiedenen aktiven Oberflächen auf der HD-Extraktionsanlage durchzuführen ist jedoch teuer sowie zeit- und materialaufwendig. Deshalb wurde zur Laborbestimmung bestimmter Trennprobleme die Chromatographie an Minisäulen als Testmethode verwendet (Abbildung 27). Die damit erhaltenen Ergebnisse sollten eine Vorhersage der Verhältnisse unter überkritischen Bedingungen ermöglichen.



**Abbildung 27: Versuchsanordnung zum Test von Adsorptionsmitteln**

Der Test erfolgte an Minisäulen mit einem Innendurchmesser von 0,3 cm und einer Füllhöhe von 11,0 cm. Dabei wurden auf die mit Adsorptionsmittel luftblasenfrei gefüllte Säule 100  $\mu$ l einer Verdünnung des zu untersuchenden Extraktes aufgetragen, der das komplette Spektrum der Inhaltsstoffe enthielt. Die Elution konnte bei den hier verwendeten Materialien (*Calendula officinalis* und *Piper methystikum*) auch optisch verfolgt werden, da die unerwünschten Substanzen eine starke Gelbfärbung aufwiesen. Um die Polarität des überkritischen CO<sub>2</sub> bei der späteren Hochdruckextraktion zu simulieren, erfolgte die Elution zunächst mit reinem Hexan. Konnte keine Wanderung des gelben Ringes festgestellt werden, wurde nach ca. 6 ml Lösungsmittelverbrauch mit einem Hexan-Ethanol-Gemisch weitergearbeitet, wobei mit 0,5 % Ethanol begonnen wurde und bei zu langsamer Elution der Anteil des Ethanols über 1 % auf 2 % oder 3% erhöht wurde. Abschließend erfolgte die Spülung der Säule mit einem 20%-igen Gemisch (ca. 3 ml). Konnte eine Wanderung der Farbbande festgestellt werden, wurde mit demjenigen Lösungsmittel solange weiter eluiert, bis der komplette Ring den unteren Bereich der Säule erreicht hat und gelbe Farbe im Eluat

erkennbar war. Es wurden verschiedene Fraktionen des eluierten Lösungsmittels mit einem Volumen von 1, 2 oder 3 ml, je nach Wanderungsgeschwindigkeit des Farbstoffes, aufgefangen. Analysiert wurden hauptsächlich die vor dem Auftreten der gelben Farbe im Eluat gesammelten Fraktionen. Deshalb wurden von diesen ersten Eluaten eine größere Anzahl von Fraktionen aufgefangen und nach dem Auftreten der Farbe im Lösungsmittel nur wenige. In den Versuchen wurden somit in Anpassung an die Wanderungsgeschwindigkeit der Farbbande bis zu 18 verschiedene Fraktionen in Reagenzgläsern aufgefangen. Die einzelnen Fraktionen wurden im Stickstoffstrom getrocknet, und der Rückstand wurde in 100 µl Methanol aufgenommen. Der Nachweis erfolgte bei *Piper methystikum* mit HPLC, bei *Calendula officinalis* mit DC.

### 3.2.3 Klassische Lösungsmittlextraktion und Extraktbearbeitung

#### 3.2.3.1 *Camellia sinensis*

##### Aufarbeitung von Rohstoff und Rückständen

1 g Teerohstoff sowie Extraktionsrückstand wurden mit 100 ml kochend heißem Wasser übergossen und für die Dauer von 15 min unter mehrmaligem Umschütteln extrahiert. Anschließend wurde die wässrige Phase der Proben über Sterilfilter in HPLC-Probenfläschchen abgefüllt. Eine Vermahlung des Materials nach Kühlung mit flüssigem Stickstoff zum Aufschluss der Zellen sowie Rühren oder die Verwendung eines Ultraschallbades während der Heißwasserextraktion hatten keine Erhöhung der Ausbeute extrahierter Teeinhaltsstoffe zur Folge.

##### Aufarbeitung der Extrakte

Die Extraktproben wurden durch Schütteln homogenisiert und für die qualitative Analyse 1:3 mit Methanol verdünnt. Für die quantitative Analyse musste der Extrakt zum Erreichen des Messbereichs in geeigneter Weise mit Methanol verdünnt werden. Bei sichtbarer Trübung wurden die Proben über Sterilfilter in Probengläschen abgefüllt, ansonsten wurden sie direkt in die HPLC eingepipetiert. Eine Abtrennung störender Substanzen war bei diesen Extrakten nicht nötig. Die qualitative sowie quantitative Analyse der Inhaltsstoffe des Grünen Tees mit HPLC erfolgte in Anlehnung an [KUHR, 1991].

### 3.2.3.2 Calendula officinalis

#### 3.2.3.2.1 Aufarbeitung für die qualitative Bestimmung der Faradiolester

Zur Aufarbeitung von Rückstand und Rohware wurden 350 mg Pflanzenmaterial mit 7 ml Dichlormethan versetzt, 30 min im Ultraschallbad extrahiert und anschließend über einen Faltenfilter filtriert. Der Filterkuchen wurde mit ca. 3 ml Dichlormethan gewaschen. Das erhaltene Filtrat wurde anschließend im Meßkolben auf 10 ml aufgefüllt.

Die Aufarbeitung des Extraktes erfolgte durch die Lösung von 100 mg der getrockneten öligen Phase des Extraktes in 10 ml Dichlormethan. Mit Hilfe eines Ultraschallbades wurden die schwerlöslichen Bestandteile dieser Phase vollständig aufgelöst. Die wässrige Phase konnte unbehandelt verwendet werden. Die qualitative Bestimmung der Faradiolester im Extrakt, in der Rohware und in den Extraktionsrückständen erfolgte in Anlehnung an [ZITTERL- EGLSEER et al., 1997].

#### 3.2.3.2.2 Aufarbeitung für die quantitative Bestimmung der Faradiolester

Die Isolierung der Faradiolester wurde in Anlehnung an [REZNICEK et al., 2000] durchgeführt. Als interner Standard wurde Lupeolacetat verwendet.

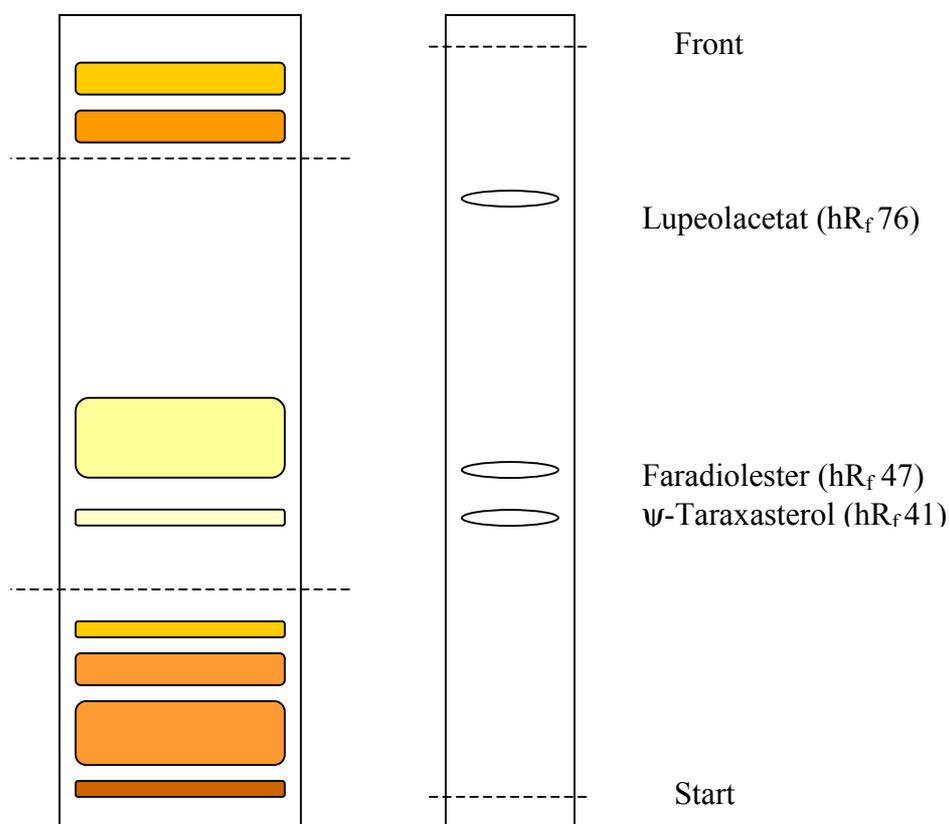
#### Aufarbeitung von Rohstoff und Rückstand

Etwa 100 mg Rohstoff oder Rückstand wurden mit 200 µl einer Lösung des internen Standards (6 mg Lupeolacetat/ml Dichlormethan) sowie 10 ml Dichlormethan versetzt und 30 min im Ultraschallbad extrahiert. Nach Filtration wurde die Lösung bei 40 °C unter vermindertem Druck auf etwa 300 µl eingengt. Das gesamte Volumen dieser stark gelborange gefärbten Lösung wurde mittels einer Kapillare auf eine Dünnschichtchromatographieplatte mit den Maßen 20x20cm aufgetragen. Pro Platte wurden dabei nur jeweils zwei Proben strichförmig auf einer Länge von ca. 8 cm aufgetragen. Nach Beendigung der Chromatographie wurde die gesamte Schicht im Bereich  $hR_f$  30 bis  $hR_f$  82 abgekratzt (**Abbildung 28**), das Kieselgel in einen Schliffkolben überführt und nach Zugabe von 10 ml Dichlormethan durch 5-minütiges kräftiges Schütteln extrahiert. Danach wurde 0,5 g Natriumsulfat zur Trocknung des organischen Lösungsmittels zugefügt und nach nochmaligem Schütteln über einen Faltenfilter filtriert. Der Filterkuchen wurde zweimal mit ca. 5 ml Dichlormethan gewaschen und das Filtrat in einem 25 ml fassenden Spitzkolben am

Rotationsverdampfer bei 40 °C zur Trockene eingengt. Der Rückstand wurde in 200 µl Dichlormethan aufgenommen; 10 µl davon wurden für die HPLC-Analyse verwendet.

#### Aufarbeitung des CO<sub>2</sub>-Extraktes

10,0 mg der getrockneten öligen Phase des CO<sub>2</sub>-Extraktes wurden in 300 µl einer Lösung des internen Standards (3,00 mg Lupeolacetat/ml Dichlormethan) gelöst. Das gesamte Volumen dieser stark gelborange gefärbten Lösung wurde mittels einer Kapillare wie oben beschrieben strichförmig (ca. 8 cm) auf eine DC-Platte aufgetragen und entsprechend weiter aufgearbeitet.



**Abbildung 28: Schematische Darstellung der Aufreinigung der Calendula-Extrakte durch DC**

Links: Der durch die gestrichelten Linien eingegrenzte Bereich wird von der Platte abgekratzt

Rechts: Vergleichschromatogramm mit den relativen Retentionsfaktoren der wichtigen Triterpenderivate

#### Parameter für die Dünnschichtchromatographie

Stationäre Phase: Kieselgel 60 F<sub>254</sub>, Schichtdicke 0,20 mm, 20 x 20 cm

Mobile Phase: n-Hexan-Ethylacetat (8 + 2)

### 3.2.3.3 Piper methystikum

#### Aufarbeitung der Extrakte

60 mg getrockneter Extrakt wurden in einen 10 ml Messkolben eingewogen und mit Methanol bis zur Eichmarke aufgefüllt. Nach vollständiger Auflösung des Extraktes wurde diese Lösung 1:10 weiterverdünnt und direkt bei sichtbarer Trübung nach Filtrierung in HPLC-Probenfläschchen abgefüllt.

Nach der Extraktion mit Modifizierzusatz wurden die Extrakte zuerst durch Schütteln homogenisiert und dann in der bereits beschriebenen Weise getrocknet und verdünnt. Eine wässrige Phase konnte hier nicht mehr abgetrennt werden.

#### Aufarbeitung des Rohstoffes

Da eine Extraktion mit Ultraschall selbst bei einer Extraktionsdauer von 60 min nicht zu einer vollständigen Extraktion führte, wurde für die Gehaltsbestimmung im Rohstoff die Soxhletextraktion eingesetzt. 1,0 g Rohstoff wurden in einer Soxhletapparatur 2 h mit Methanol extrahiert. Der Extrakt wurde am Rotationsverdampfer bis zur Trockene eingengt und anschließend in 50 ml Methanol aufgenommen. Diese Lösung konnte direkt zur Analyse in HPLC-Probengläschen abgefüllt werden. Ein Temperatureinfluss auf die Inhaltsstoffe konnte bei der Soxhletextraktion auch bei starker thermischer Belastung nicht festgestellt werden. Für die Relativbestimmung bei der Kontrolle der Extraktionsrückstände wurde dagegen die wesentlich schnellere Ultraschallaufarbeitung verwendet.

#### Aufarbeitung des Rückstandes

Der Extraktionsrückstand wurde vor der Aufarbeitung im Vakuumtrockenschrank bei 40-50 °C für mindestens 3 h getrocknet. 1,0 g Rückstand wurden in einen Schliffkolben eingewogen und mit 50 ml Methanol überschichtet. Um Lösungsmittelverluste zu vermeiden, wurde der Glasstopfen mit einer Klammer gesichert. Danach erfolgte die Extraktion der Inhaltsstoffe für 30 min im Ultraschallbad bei Raumtemperatur. Die Suspension wurde anschließend gefiltert und in HPLC-Probengläschen abgefüllt.

### 3.2.4 Qualitative und quantitative Analysen

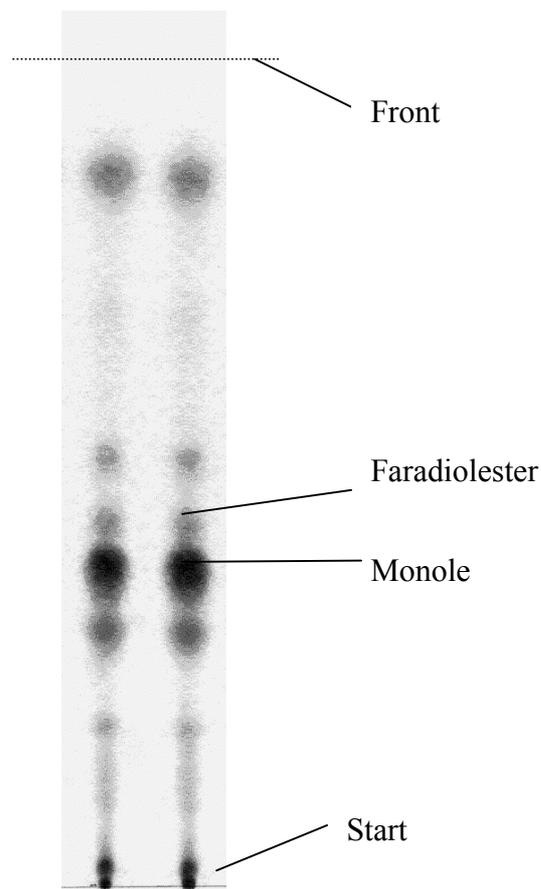
#### 3.2.4.1 Qualitative Analyse der Faradiolester in *Calendula officinalis*

Von der nach Kap. 3.2.2.1 hergestellten Verdünnung der verschiedenen Extrakte wurden mit einer graduierten Kapillare 10 µl punktförmig auf eine DC-Alufolie mit Kieselgel-Beschichtung (60 F 254 nm; 20·20 cm) aufgetragen. Als Fließmittel wurde eine Mischung aus n-Hexan und Ethylacetat (8 + 2) verwendet. Nach Beendigung der Chromatographie konnte β-Carotin als gelber Fleck bereits vor der Detektion mit bloßem Auge erkannt und bezüglich der Ausdehnung abgeschätzt werden. Zur Detektion der Faradiolester wurde die DC-Platte mit Anisaldehydreagenz [YORK et al., 1993] besprüht und danach 2-5 min bei 100 °C im Trockenschrank entwickelt. Die verschiedenen Inhaltsstoffe wurden dabei als violette Flecken sichtbar. Die Retentionsfaktoren der Inhaltsstoffe sind in **Tabelle 16** angegeben [ZITTERL-EGLESEER et al., 1991]. Die beobachteten Werte stimmten mit den Literaturwerten überein. Zur Überprüfung des Retentionsfaktors der Monole wurde Lupeol als käuflicher Standard ebenfalls aufgetragen und mit entwickelt. Für die Diole stand kein käuflicher Standard als Referenz zur Verfügung. Das sich ergebende DC-Muster ist in **Abbildung 29** abgebildet.

**Tabelle 16: Retentionsfaktoren bei der DC**

<b>Stoffgruppe</b>	<b>Retentionsfaktor</b>
Monole, z.B. Lupeol, Taraxasterol	0,41
Faradiolester	0,47
β-Carotin	0,91

[ZITTERL-EGLESEER et al, 1991]



**Abbildung 29: Entwickelte DC-Platte**

### 3.2.4.2 Quantitative Analyse mittels HPLC

#### 3.2.4.2.1 *Camellia sinensis*

Die analytische Bestimmung erfasste die Catechine Epicatechin, Epicatechingallat und Epigallocatechingallat sowie das Coffein. Die Quantifizierung der Extrakte erfolgte mit Hilfe von externen Eichgeraden von Standards, die teils kommerziell erhältlich sind (Epicatechin und Coffein) und teils von der Arbeitsgruppe von Prof. Hamburger an der Universität Jena zur Verfügung gestellt wurden (Epigallocatechingallat und Epicatechingallat) [Hamburger et al., 2000].

Bei 280 nm Detektionswellenlänge (Tabelle 12) ergab sich die in **Abbildung 30** aufgelistete Elutionsreihenfolge. Die Identifikation der Substanzen erfolgte über ihre UV-Spektren (**Abbildung 31**).

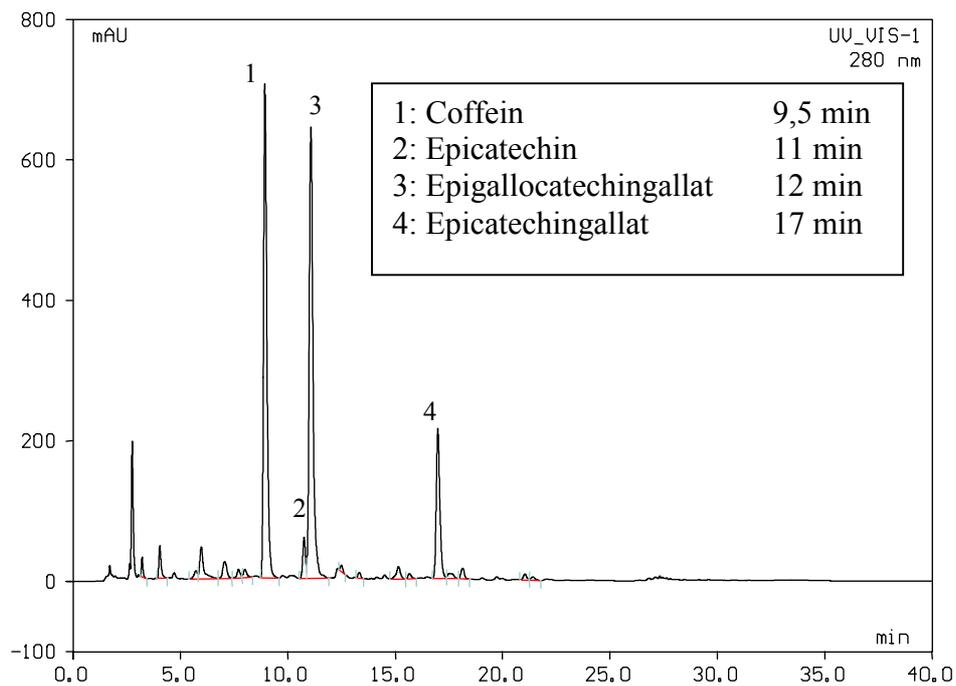


Abbildung 30: Chromatogramm von Grünem Tee, Heißwasserextrakt

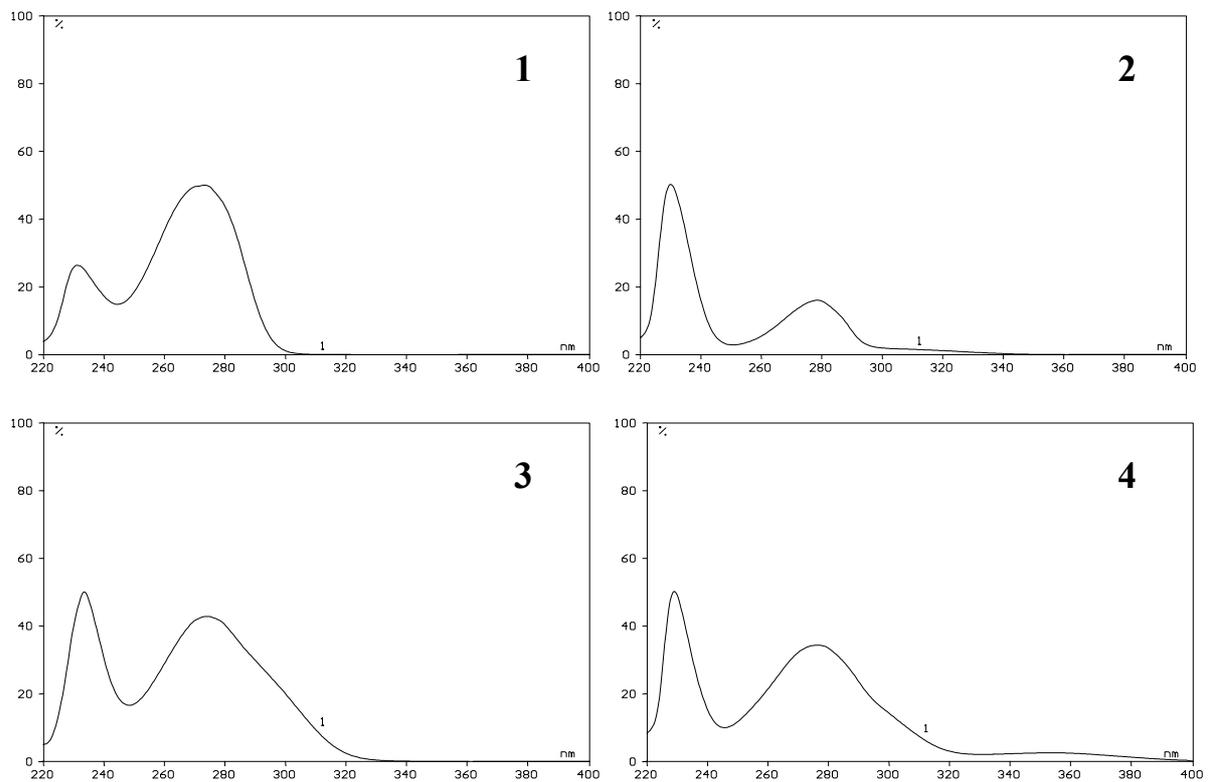


Abbildung 31: UV-Spektrum von Coffein (1), Epicatechin (2), Epigallocatechingallat (3) und Epicatechingallat (4)

Der Gehalt an Inhaltsstoffen wurde für jede Lieferung dreifach bestimmt. In **Tabelle 17** sind die Zahlenwerte der mittleren Inhaltsstoffgehalte angegeben.

**Tabelle 17: Inhaltsstoffgehalte von Grünem Tee**

Epigallocatechin-gallat	Epicatechin	Epicatechingallat	Coffein
166587 ± 11575 ppm	14450 ± 1003 ppm	26472 ± 1853 ppm	40257 ± 2801 ppm

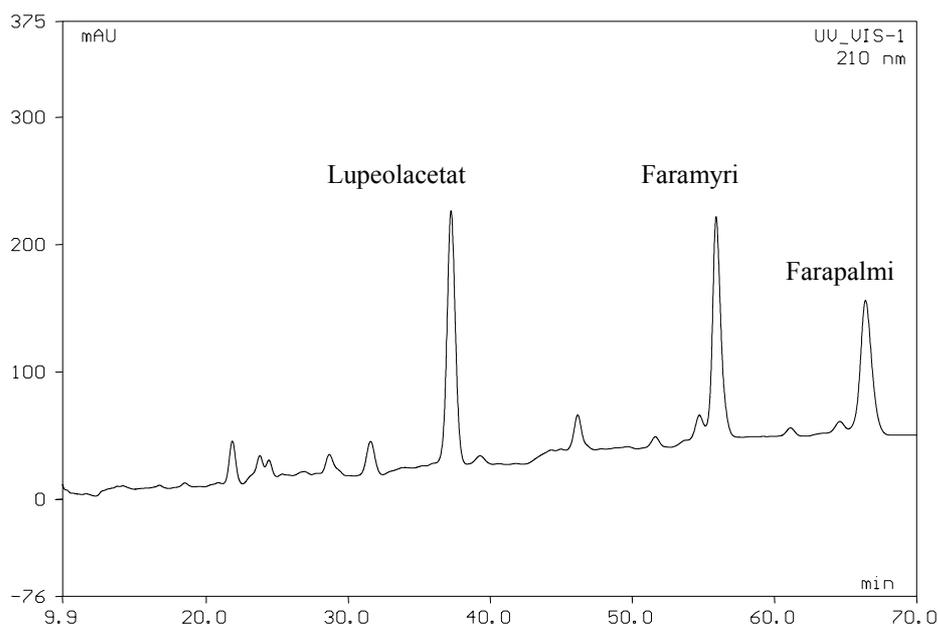
### 3.2.4.2.2 *Calendula officinalis*

Die Bedingungen für die HPLC-Analyse der Extrakte und Rohstoffe sind in **Tabelle 12** zusammengefasst. **Abbildung 32** zeigt ein typisches Chromatogramm mit Retentionszeiten. Die Zuordnung der Peaks erfolgte über das Peakmuster der aufgearbeiteten Proben nach [REZNICEK, 2000].

Lupeolacetat (interner Standard): 37 min

Faradiolmyristinsäureester: 55 min

Faradiolpalmitinsäureester: 66 min



**Abbildung 32: HPLC-Chromatogramm eines CO<sub>2</sub>-Extraktes von *Calendula officinalis***

Anhand der Bestimmung der Wiederfindungsraten wurden Korrekturfaktoren für die Quantifizierung von [REZNICEK et al. 2000] ermittelt.

$f_{St}$  (Faradiolmyristat) = 1,46

$f_{St}$  (Faradiolpalmitat) = 1,60

Durch Integration wurden die Flächen der Faradiolesterpeaks bzw. des internen Standards ermittelt und zur Berechnung des Gehaltes der einzelnen Faradiolester in folgende Formel eingesetzt:

**Gleichung 4: Berechnung der Faradiolestergehalte**

$$\%m_F = \frac{m_{St} \cdot A_F \cdot f_{St} \cdot 100}{A_{St} \cdot EW(mg)}$$

Dabei ist:

- $m_F$  Menge des entsprechenden Faradiolesters in %
- $m_{St}$  Menge zur Probe zugefügter Standard in mg
- $A_F$  Peakfläche entsprechender Faradiolester
- $A_{St}$  Peakfläche Standard
- $EW$  Einwaage Droge oder CO<sub>2</sub>-Extrakt in mg
- $f_{St}$  Standardkorrekturfaktor

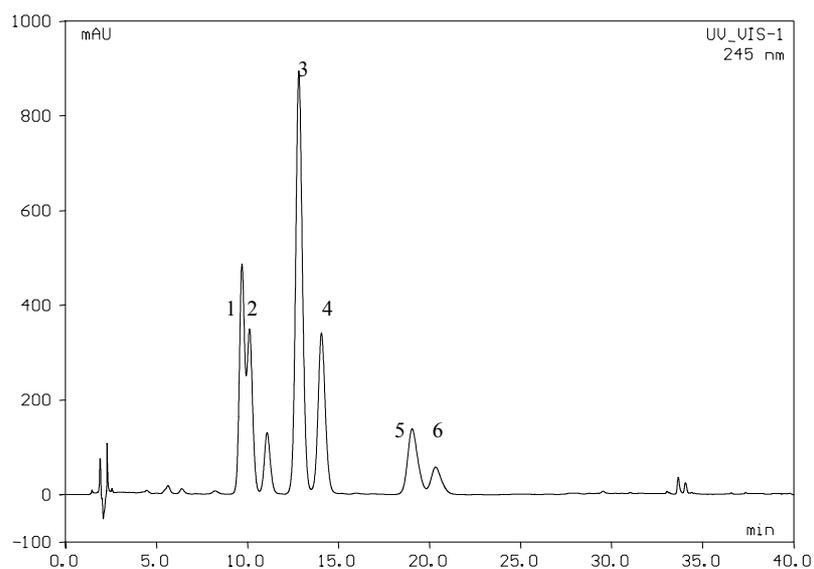
Die gemessenen Gehalte an Faradiolestern (Summe aus Faradiolmyristat und Faradiolpalmitat) lagen im trockenen Rohstoff in einem Bereich von 0,72 bis 1,13 Gew.-%.

**3.2.4.2.3 Piper methystikum**

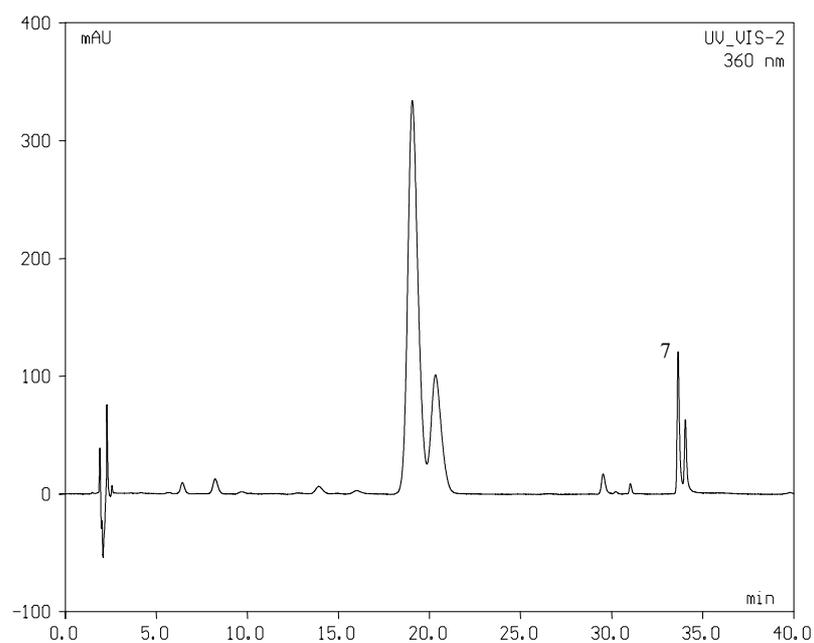
Die quantitative HPLC-Analytik des *Piper methystikum* umfasste die Kavapyrone Methysticin, Dihydroxymethysticin, Kavain, Dihydroxykavain, Yangonin und Desmethoxyyangonin sowie den Farbstoff Flavokavin A. Die Quantifizierung erfolgte dabei extern über eine Eichgerade von käuflichem Kavain, die übrigen Substanzen wurden mittels Korrekturfaktoren bestimmt. Die Faktoren wurden dabei anhand der Daten von

Eichgemischen (Hersteller: Universität Jena, Prof. Hamburger) berechnet. Kavain wird aus diesem Grund im Folgenden immer einzeln aufgeführt, die übrigen Kavapyrone einschließlich Kavain werden als Summe dargestellt.

Die Kavapyrone wurden bei einer Wellenlänge von 245 nm identifiziert (**Abbildung 33**), Flavokavin wurde bei 360 nm (**Abbildung 34**) quantifiziert. Die Zuordnung der einzelnen Peaks erfolgte über die UV-Spektren (**Abbildung 35**).



**Abbildung 33: Chromatogramm der Kavapyrone**



**Abbildung 34: Chromatogramm zur Bestimmung des Flavokavin A**

- 1: Methysticin
- 2: Dihydroxymethysticin
- 3: Kavain
- 4: Dihydroxykavain
- 5: Yangonin
- 6: Desmethoxyyangonin
- 7: Flavokavin A

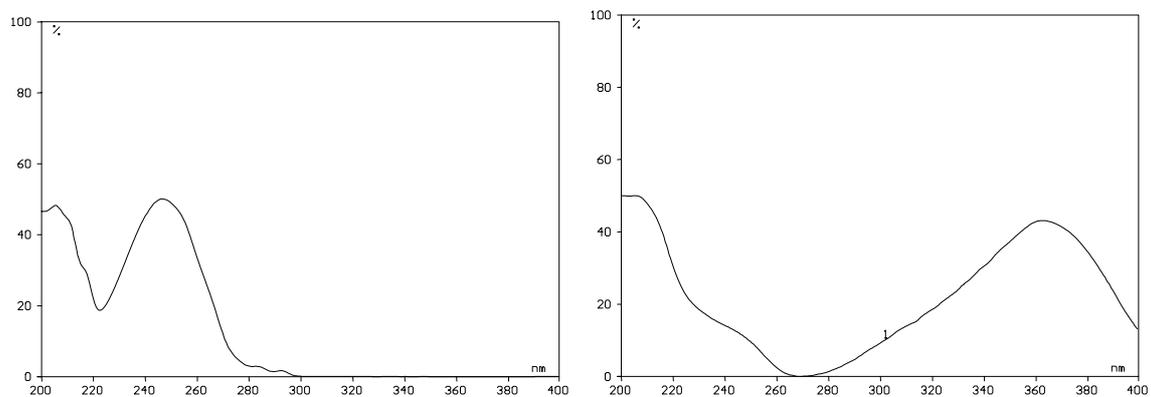


Abbildung 35: UV-Spektren von Kavain (links) und Flavokavin A

Die Quantifizierung der einzelnen Kavapyrone in der aufgearbeiteten Verdünnung erfolgte anhand von Gleichung 5.

Gleichung 5: Quantifizierung von Kavapyronen

$$ppm_{Kavapyron} = \frac{f_{St} \cdot A_{Kavapyron} \cdot ppm_{Kavain}}{A_{Kavain}}$$

Die verwendeten Standardkorrekturfaktoren  $f_{St}$  für die einzelnen Kavapyrone waren dabei:

Methysticin	2,340
Dihydromethysticin	2,027
Dihydrokavain	2,380
Yangonin	3,038
Desmethoxyyangonin	3,418
Flavokavin A	1,856

Die Gehalte an Inhaltsstoffen der Rohware wurden im Verlauf der Versuche immer wieder bestimmt. Die in der **Tabelle 18** aufgelisteten Werte wurden durch die Bildung des Mittelwertes über alle Messungen ermittelt.

**Tabelle 18: Inhaltsstoffgehalte des Kava-Kava Rohstoffes (Trockensubstanz)**

Inhaltsstoff	Anteil im Rohstoff (Trockensubstanz)
Kavain	9480 ppm $\pm$ 452 ppm
Summe der Kavapyrone	41328 ppm $\pm$ 1988 ppm
Flavokavin A	855 ppm $\pm$ 47 ppm

### 3.2.5 Photometrische Bestimmung der Farbstoffe in *Calendula officinalis*

Um den Farbstoffgehalt der Extrakte anhand der Farbtiefe zu bestimmen, wurde diejenige Verdünnung ermittelt, bei der die Extinktion der am stärksten gefärbten Extrakte den Wert 1,0 nicht überstieg. Bei höheren Extinktionswerten war die Messung nicht mehr reproduzierbar. Ausgehend von einer Lösung der Konzentration mit 100 mg Extrakt in 50 ml Dichlormethan wurde eine Verdünnung von 3 ml mit 10 ml Dichlormethan angesetzt. Diese wurde gegen Lösungsmittel als Blindwert vermessen. Es ergab sich dabei die in **Abbildung 36** gezeigte Kurve.

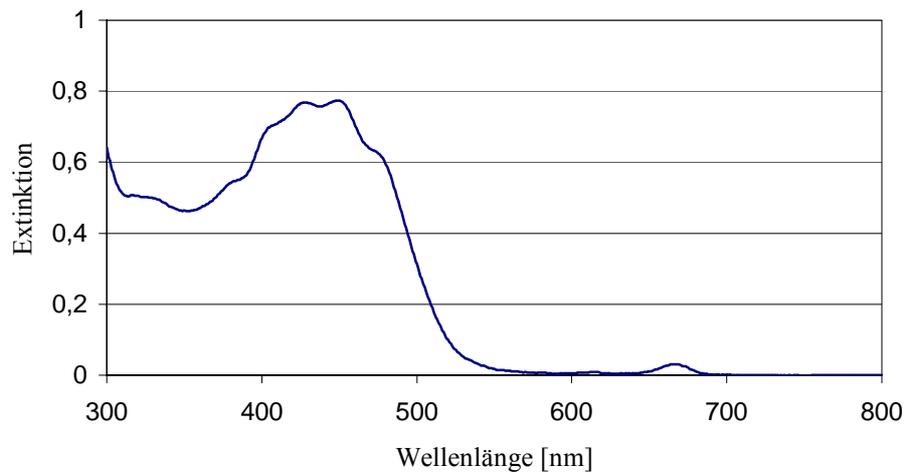


Abbildung 36: Absorptionsspektrum eines CO<sub>2</sub>-Extraktes

Der Farbstoffgehalt der verschiedenen Extrakte wurde am Absorptionsmaximum bei 455 nm bestimmt.

### 3.2.6 Durchgeführte CO<sub>2</sub>-Extraktionsversuche

Bei den Extraktionsversuchen zeigte sich, dass eine Trennung der Extraktphasen durch die in **Tabelle 19** aufgelistete Wahl der Abscheidebedingungen in den beiden Abscheidern möglich war. Dabei sammelte sich die ölige und ein Teil der wässrigen Phase stets im Abscheider 1 und die restliche wässrige Phase im Abscheider 2. Für alle Versuche wurden diese Einstellungen deshalb gewählt.

**Tabelle 19: Druck und Temperaturen in den beiden Abscheidern**

Abscheidedruck 1	60 bar
Abscheidetemperatur 1	40 °C
Abscheidedruck 2	40 bar
Abscheidetemperatur 2	20 °C

### 3.2.6.1 *Camellia sinensis*

Die zur Extraktion von *Camellia sinensis* durchgeführten CO<sub>2</sub>-Extraktionen sind in **Tabelle 20** aufgelistet. Die CO<sub>2</sub>-Flussrichtung ist dabei durch einen Pfeil gekennzeichnet. Bei Einsatz von Modifier bezieht sich die Menge an Schleppmittel in Gew.-% auf die Rohstoffeinwaage und wurde während der gesamten Extraktionszeit möglichst gleichmäßig in den CO<sub>2</sub>-Strom dosiert. Des Weiteren wurde die Art der Zugabe des Modifiers variiert. In einigen Versuchen wurde die Flüssigkeit bereits vor der Extraktion zum Rohstoff gegeben und das Material durch Rühren homogenisiert. Dann erst erfolgte die Extraktion. Teilweise wurde der Rückstand aus einem Versuch für eine erneute Extraktion in der Anlage belassen, da es aufgrund eines Mangels an Rohstoff nötig war und die vorangegangene Extraktion keinen Erfolg gezeigt hatte. Die Catechine befanden sich in diesem Fall noch vollständig im Rückstand. Ein zusätzliches Problem ergab sich durch die starke Quellung des Rohstoffes beim Einsatz von Wasser als Modifier. In diesem Fall war es nach der Extraktion nicht mehr möglich, den Rückstand aus dem Extraktorkorb zu entfernen. Aus diesem Grund wurden mehrmals reine CO<sub>2</sub>-Extraktionen mit dem selben Material durchgeführt, um das anhaftende Wasser zu entfernen und den Rückstand problemlos aus der Anlage entnehmen zu können. In der Spalte „Einwaage“ ist gegebenenfalls in Klammern der vorangegangene Versuch gekennzeichnet. Im weiteren Verlauf der Versuche wurde statt des einteiligen Extraktorkorbes der dreiteilige verwendet. Damit konnte im unteren Extraktorbereich ein Raum für die Ableitung des catechinhaltigen Extraktes geschaffen werden, welcher sich ansonsten im Rückstand befand und nicht abgelassen werden konnte. Bei den erhöhten Modifizermengen von 2-3 kg wurde das Wasser sehr schnell innerhalb von ca. 15 Minuten in den CO<sub>2</sub>-Strom dosiert und dann während der restlichen Extraktionszeit reines CO<sub>2</sub> eingeleitet (Versuche 22-24). Bei der Extraktion von Inhaltsstoffen aus *Buddleja globosa* [RESCH, 2001] hatte sich gezeigt, dass bestimmte Substanzen erst bei einer Standzeit des angefeuchteten Rohstoffes von ca. 15 h extrahierbar waren. Diese Methode wurde nun auch bei der Extraktion von *Camellia sinensis* angewandt (Versuche 28-30). Bei einem Teil der Versuche wurde dabei Material verwendet, das bereits durch vorangegangene Extraktionen soweit entcaffeinert worden war, dass der Coffeingehalt unterhalb der Nachweisgrenze lag. Auf diese Weise konnten mögliche Verdrängungseffekte des Coffeins untersucht werden. Alle oben beschriebenen Versuche wurden mit der CO<sub>2</sub>-Strömungsrichtung von unten nach oben im Extraktor durchgeführt worden. Die folgenden Versuche wurden mit entgegengesetzter Strömungsrichtung durchgeführt. Damit war auch die Gefahr einer Verstopfung des

Extraktoreinsatzkorbes größer, da außer dem Gewicht der Schüttung auch noch der CO<sub>2</sub>-Strom das Material verdichtet. Bei einer zu großen Wassermenge war deshalb keine Extraktion mehr möglich. Bei sämtlichen Versuchen kam es aus diesen Gründen zu starken Schwankungen bei der Regulierung des Extraktionsdruckes. Außerdem war keine Abreicherung des Coffeinanteiles mehr zu erwarten, da das gesamte Modifierwasser in die Abscheider gedrückt wird. Deshalb wurde für diese Versuche teilweise ein bereits entcaffiniertes Material verwendet. Die zudosierte Wassermenge wurde in 4 verschiedenen Versuchen variiert und ist in den Versuchsnummern 31-34 beschrieben. Eine Quantifizierung von Extrakten und Rückstand erfolgte erst bei qualitativem Nachweis von Catechinen im Extrakt durch HPLC. Untersucht wurden jeweils die Extrakte im Abscheider 1 und Abscheider 2 sowie der Rückstand.

**Tabelle 20: Versuchsbedingungen bei der CO<sub>2</sub>-Extraktion von *Camellia sinensis***

Nr.	Druck [bar]	Temperatur [°C]	Extraktionszeit [h]	CO <sub>2</sub> -Durchfluss [kg/h]	Einwaage [g]	Modifier während der Extr. [Gew-%]	Modifier vor der Extraktion [Gew.-%]	Einsatzkorb
1	500	70	3	35,0 (↑)	2000	-	-	einteilig
2	800	70	3	35,0 (↑)	2000	-	-	einteilig
3	500	70	2	35,0 (↑)	2000	Ethanol 2,3	-	einteilig
4	500	70	2	35,0 (↑)	2000 (3)	Ethanol 12,8	-	einteilig
5	500	70	2	35,0 (↑)	2000 (4)	Ethanol 26,4	-	einteilig
6	500	70	2	35,0 (↑)	2000	Ethanol:Wasser 70:30	-	einteilig
7	500	70	2	35,0 (↑)	2000 (6)	Ethanol:Wasser 50:50	-	einteilig
8	500	70	2	35,0 (↑)	2000 (7)	Ethanol:Wasser 20:80	-	einteilig

Nr.	Druck [bar]	Temperatur [°C]	Extraktionszeit [h]	CO <sub>2</sub> -Durchfluss [kg/h]	Einwaage [g]	Modifizierwährend der Extr. [Gew-%]	Modifizier vor der Extraktion [Gew.-%]	Einsatzkorb
9	500	70	2	35,0 (↑)	2000	Wasser 30,0	-	einteilig
10	150	70	2	35,0 (↑)	2000 (9)	Wasser 54,8	-	einteilig
11	65	70	2	35,0 (↑)	2000 (10)	Wasser 16,5	-	einteilig
12	65	75	2	35,0 (↑)	2000 (11)	Wasser 36,7	-	einteilig
13	800	70	2	35,0 (↑)	2000 (12)	-	Wasser 50,0	einteilig
14	65	70	2	35,0 (↑)	2000 (13)	Wasser 29,4	Wasser 26,9	einteilig
15	150	70	2	35,0 (↑)	2000 (14)	Wasser 128,6	Wasser 62,4	einteilig
16	250	70	2	35,0 (↑)	2000 (15)	Wasser 28,6	Wasser 75,6	einteilig
17	700	25	2	35,0 (↑)	2000 (16)	Wasser 26,7	Wasser 139,9	einteilig
18	150	70	2	35,0 (↑)	1000	Wasser 70,0	Wasser 30,0	dreiteilig
19	250	70	2	35,0 (↑)	1000	Wasser 70,0	Wasser 30,0	dreiteilig
20	350	70	2	35,0 (↑)	1000	Wasser 70,0	Wasser 30,0	dreiteilig
21	500	70	2	35,0 (↑)	1000	Wasser 70,0	Wasser 30,0	dreiteilig
22	200	70	2	35,0 (↑)	600	Wasser 333,0	Wasser 83,0	dreiteilig
23	200	70	2	35,0 (↑)	600	Wasser 416,0	Wasser 83,0	dreiteilig

Nr.	Druck [bar]	Temperatur [°C]	Extraktionszeit [h]	CO <sub>2</sub> -Durchfluss [kg/h]	Einwaage [g]	Modifizierwährend der Extr. [Gew-%]	Modifizier vor der Extraktion [Gew.-%]	Einsatzkorb
24	200	70	2	35,0 (↑)	600	Wasser 500,0	Wasser 83,0	dreiteilig
25	200	70	4	35,0 (↑)	600	Wasser 416,0	Wasser 83,0	dreiteilig
26	300	70	2	35,0 (↑)	600	Wasser 416,0	Wasser 83,0	dreiteilig
27	400	70	2	35,0 (↑)	600	Wasser 416,0	Wasser 83,0	dreiteilig
28	800	75	2	35,0 (↑)	600	-	Wasser 83,0; Standzeit 20 h, 25 °C	einteilig
29	500	75	3	35,0 (↑)	600	-	Wasser 83,0; Standzeit 95 h, 4 °C	einteilig
30	350	70	3,5	40,0 (↑)	577 ohne Coffein	-	Wasser 87,0; Standzeit 20 h, 25 °C	einteilig
31	200	70	3	35,0 (↓)	600 ohne Coffein	Wasser 241,0	Wasser 83,0	einteilig
32	200	70	2	35,0 (↓)	600	Wasser 500,0	Wasser 83,0	einteilig
33	500	70	2	35,0 (↓)	500	Wasser 830,0	Wasser 100,0	einteilig
34	200	70	2	37,0 (↓)	526 ohne Coffein	Wasser 1018,0	Wasser 95,0	einteilig

### 3.2.6.2 Calendula officinalis

Die mit der Ringelblume durchgeführten Extraktionsversuche sind detailliert in **Tabelle 21** aufgelistet. Es wurde bei der Extraktionsplanung von den in der Literatur als geeignet angesehenen Extraktionsparametern (350 bar, 50 °C) ausgegangen. Zunächst wurde die optimale Extraktionszeit bestimmt. Die gewählten Zeiten waren dabei 0,5 h, 0,75 h, 1 h, 1,5 h, 2 h, 2,5 h, 3 h, 3,5 h, 4 h sowie 5 h (Versuche 1-10). Die so erhaltenen Extrakte wurden nach der unter Kap. 3.2.3.2 beschriebenen Methode getrocknet, und mit den trockenen Extrakten die Farbbestimmung durchgeführt. Die quantitative Bestimmung der Faradiolesterausbeute erfolgte wegen der zeitraubenden Aufarbeitung nur von ausgewählten Extrakten in Doppelbestimmung. Die Extraktionsversuche selbst konnten aus Zeit- und Kostengründen nur einfach durchgeführt werden. Dabei wurde der in der Rohware ermittelte Faradiolestergehalt (Summe der einzelnen Faradiolester) über die Rohstoffeinwaage unter Berücksichtigung des Wassergehaltes der Ringelblumenblüten als 100 % angesehen. Die über die Extraktmassenausbeute und den Faradiolestergehalt des Extraktes berechenbaren extrahierten Faradiolester wurden dazu in Bezug gesetzt. Damit ergab sich die prozentuale Gesamtausbeute an Faradiolestern. Als Ergebnis der Versuche mit verschiedenen Extraktionszeiten wurde die erforderliche Extraktionsdauer zur möglichst vollständigen Extraktion auf 3 h festgelegt. In den Versuchen 11-18 wurde dann der Einfluss eines gesteigerten Extraktionsdruckes ermittelt, die Versuche 19-22 wurden zur Optimierung der Extraktionstemperatur durchgeführt.

Für die Eliminierung der Farbstoffe während der Extraktion wurden verschiedene Mengen an Bleicherde als Adsorbens verwendet, wobei sich der angegebene Anteil auf die Rohstoffeinwaage bezieht, d. h. ein Bleicherdeanteil von 20 % bedeutet eine Bleicherdeeinwaage von 200 g bei einer Rohstoffeinwaage von 1000 g. Da wie bereits erwähnt in der wässrigen Phase keine Faradiolester nachweisbar waren, ist die Gesamtmassenausbeute hier nicht mehr berücksichtigt. Die Versuche wurden in drei verschiedenen Extraktionsdruckstufen durchgeführt: 350 (Versuche 23-26), 500 (Versuche 27-29) und 800 bar (Versuche 30-32). Die erhaltenen Extrakte wurden wie in Kap. 3.2.3.2 getrocknet und auf ihren Gehalt an Farbstoffen sowie Faradiolestern hin untersucht. Die Mengen an Bleicherde variierten von 10-35 % der Rohstoffeinwaage. Das Adsorbens wurde direkt in den Extraktor auf den Rohstoff geschichtet. Eine Trennung der beiden Phasen erfolgte durch ein eingesetztes Lochblech, umwickelt mit weißem Papiertuch. Ein Problem stellte dabei die nicht vollständige Trennung von Adsorbensmittel und Rohstoff dar. Nach

Beendigung der Extraktionen konnte oft eine nicht unerhebliche Durchmischung der beiden Schüttungen beobachtet werden.

Um eine Durchmischung zu verhindern, wurde deshalb die Extraktionsanlage umgebaut und die Rohware von oben nach unten vom CO<sub>2</sub> durchströmt (Versuche 33-36). Die Adsorptionsmittelschicht wurde am Boden des Extraktorkorbes eingebracht und blieb somit als feste Schicht während der gesamten Extraktion liegen.

Zur Überprüfung der Übertragbarkeit der Laborversuche an Minisäulen zum Einsatz von Adsorptionsmitteln auf die CO<sub>2</sub>-Hochdruckextraktionsanlage im Technikumsmaßstab wurden noch Extraktionen mit Aluminiumoxid als Adsorptionsmittel durchgeführt (Versuche 37 und 38). Nach den Ergebnissen der Laborversuche sollte kaum eine Entfärbung der Ringelblumenextrakte möglich sein. Dabei erfolgte die Extraktion wiederum aufgrund der guten Ergebnisse bei den Versuchen mit Bleicherde mit der CO<sub>2</sub>-Flussrichtung von oben nach unten. Die Mengenangabe der Aluminiumoxidzugabe bezieht sich wiederum auf die Masse des Rohstoffs.

Im nächsten Schritt wurden Extraktionsversuche (Nr. 39 und 40) unter Einsatz von Modifier durchgeführt. Die Mengenangabe des Modifiers bezieht sich dabei auf die Rohstoffmenge. Die Extrakte wurden wie in Kap. 3.2.3.2 beschrieben getrocknet, wobei durch den im Extrakt vorhandenen Ethanol zusätzlich auch die flüssige Phase in die Trockensubstanzberechnung einbezogen werden musste. Um bei der Extraktion ein Verstopfen des Extraktors durch die zusätzliche Flüssigkeitszugabe zu verhindern, wurde die CO<sub>2</sub>-Flussrichtung wieder so verändert, dass der Extraktor von unten nach oben durchströmt wurde, um ein Verkleben des Rohstoffes zu verhindern.

Um die Frage zu klären, ob ein Modifiereinsatz bei gleichzeitiger Verwendung von Bleicherde sinnvoll ist, wurden auch dazu Versuche durchgeführt. Die Extraktionsdauer wurde wieder auf 2:00 h gesenkt, um Zeit zu sparen und die Versuche effizient durchführen zu können. Die auf den Rohstoff aufgeschichtete Bleicherdemenge betrug 30 und 40 % (Versuche 41 und 42).

Tabelle 21: Durchgeführte Extraktionsversuche bei *Calendula officinalis*

Nr.	Druck [bar]	Tempera- tur [°C]	Extrak- tionszeit [h]	CO <sub>2</sub> - Durch- fluss [kg/h]	Einwaage [g]	Modifier [Gew-%]	Adsor- bens [Gew.-%]
1	350	50	0,5	35,0 (↑)	1000	-	-
2	350	50	0,75	35,0 (↑)	1000	-	-
3	350	50	1	35,0 (↑)	1000	-	-
4	350	50	1,5	35,0 (↑)	1000	-	-
5	350	50	2	35,0 (↑)	1000	-	-
6	350	50	2,5	35,0 (↑)	1000	-	-
7	350	50	3	35,0 (↑)	1000	-	-
8	350	50	3,5	35,0 (↑)	1000	-	-
9	350	50	4	35,0 (↑)	1000	-	-
10	350	50	5	35,0 (↑)	1000	-	-
11	70	50	3	35,0 (↑)	1000	-	-
12	100	50	3	35,0 (↑)	1000	-	-
13	200	50	3	35,0 (↑)	1000	-	-
14	300	50	3	35,0 (↑)	1000	-	-
15	350	50	3	35,0 (↑)	1000	-	-
16	400	50	3	35,0 (↑)	1000	-	-
17	500	50	3	35,0 (↑)	1000	-	-
18	800	50	3	35,0 (↑)	1000	-	-
19	350	40	3	35,0 (↑)	1000	-	-
20	350	50	3	35,0 (↑)	1000	-	-
21	350	60	3	35,0 (↑)	1000	-	-
22	350	70	3	35,0 (↑)	1000	-	-
23	350	50	2	35,0 (↑)	1000	-	15 (Blei.)
24	350	50	2	35,0 (↑)	1000	-	20 (Blei.)
25	350	50	2	35,0 (↑)	1000	-	27 (Blei.)
26	350	50	2	35,0 (↑)	1000	-	30 (Blei.)
27	500	50	2	35,0 (↑)	1000	-	15 (Blei.)

Nr.	Druck [bar]	Tempera- tur [°C]	Extrak- tionszeit [h]	CO <sub>2</sub> - Durch- fluss [kg/h]	Einwaage [g]	Modifier [Gew-%]	Adsor- bens [Gew.-%]
28	500	50	2	35,0 (↑)	1000	-	20 (Blei.)
29	500	50	2	35,0 (↑)	1000	-	27 (Blei.)
30	800	50	2	35,0 (↑)	1000	-	20 (Blei.)
31	800	50	2	35,0 (↑)	1000	-	27 (Blei.)
32	800	50	2	35,0 (↑)	1000	-	35 (Blei.)
33	800	50	2	35,0 (↓)	1000	-	10 (Blei.)
34	800	50	2	35,0 (↓)	1000	-	20 (Blei.)
35	800	50	2	35,0 (↓)	1000	-	27 (Blei.)
36	800	50	2	35,0 (↓)	1000	-	35 (Blei.)
37	800	50	2	35,0 (↓)	1000	-	20 (Alu.)
38	800	50	2	35,0 (↓)	1000	-	35 (Alu.)
39	350	50	3	35,0 (↑)	1000	22 Ethanol	-
40	350	50	3	35,0 (↑)	1000	50 Ethanol	-
41	350	50	2	35,0 (↑)	1000	18 Ethanol	30 (Blei.)
42	350	50	2	35,0 (↑)	1000	18 Ethanol	40 (Blei.)

Blei.: Bleicherde, Alu.: Aluminiumoxid

### 3.2.6.3 Piper methystikum

Nach der Arbeit von [PRELL, 1998] kommen für die Eliminierung von Farbstoffen aus dieser Matrix zwei Adsorptionsmittel in die engere Auswahl: Aluminiumoxid und Bleicherde. Diese beiden Verbindungen wurden deshalb nochmals mit der beschriebenen Versuchsanordnung der Minisäulen auf ihre Wirksamkeit für die Abtrennung des Farbstoffes Flavokavin A von den Flavokavinen hin untersucht. Dabei wurde bei Aluminiumoxid eine neutrale und eine basische pH-Einstellung getestet, wobei Chromatographiematerial verwendet wurde. Die Zugabe an Ethanol zum Hexan in den einzelnen Fraktionen gliedert sich wie in Tabelle 22 dargestellt. Von den Fraktionen 1-18 wurden jeweils 2 ml wie beschrieben mit der HPLC analysiert.

**Tabelle 22: Ethanolgehalt [%] der verschiedenen Fraktionen**

<b>Fraktion</b>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
<b>Ethanol [%]</b>	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	1	1	1	2	2	2	3	3	3	5	5	5

Das in der Extraktionsanlage verwendete Adsorptionsmittel vom Hersteller Alcoa wurde ebenfalls auf seine Trennleistung in Bezug auf die Inhaltsstoffe des Kava-Kava hin getestet. Das Material wurde dazu zuerst gemörsert und in der 10-fachen Menge 0,1n NaOH aufgeschlämmt. Nach 10 min Rühren wurde die überstehende Flüssigkeit abdekantiert und das Material im Vakuumtrockenschrank getrocknet. Als Vergleich dazu wurde noch die Bleicherde identisch behandelt und das Aluminiumoxid unbehandelt getestet. Die Ethanolgehalte der hierbei gesammelten Fraktionen sind in **Tabelle 23** angegeben. Als weiteres Adsorptionsmittel wurde Mullit M72 der Firma Nabaltec in Schwandorf verwendet. Dieses Material besteht aus 72 % Aluminiumoxid und ca. 26 % Siliciumdioxid sowie geringen Mengen anderer Oxide.

**Tabelle 23: Ethanolgehalt der Fraktionen beim Test der verwendeten Adsorptionsmittel**

<b>Fraktion</b>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<b>Ethanol [%]</b>	0	0	0	0,5	0,5	0,5	1	2	5	5	20	20

Zunächst wurden die Extraktionen zur Optimierung der Extraktionsbedingungen mit reinem CO<sub>2</sub> durchgeführt. Dabei bestand auch die Möglichkeit, oberhalb von den in der Literatur angegebenen Extraktionsdruckwerten zu arbeiten. Zur Optimierung des Extraktionsdruckes wurden die Versuche 1-6 durchgeführt. Bei den Versuchen 7-10 wurde die Extraktionszeit variiert und die Versuche 11-13 wurden bei unterschiedlichen Temperaturen durchgeführt. Um eine Parallele zu der Arbeit von [PRELL, 1998] zu schaffen, wurde mit den drei verschiedenen Temperaturen 40, 55 und 70 °C bei 700 bar extrahiert.

Der Extraktionsdruck wurde bei der Verwendung von Adsorptionsmittel während der Extraktion von 350 bar über 500 und 700 bar auf 900 bar erhöht (Versuche 14-28). Dabei erfolgte jeweils eine Zugabe von verschiedenen Mengen an Aluminiumoxid der Fa. Alcoa. Die Mengenangaben beziehen sich dabei auf die Rohstoffeinwaage in Gew.-%. Das Aluminiumoxid wurde vor der Verwendung im Vakuumtrockenschrank getrocknet und ohne

weitere Modifikation verwendet. Zusätzlich wurden Versuche mit umgekehrter Extraktionsrichtung durchgeführt (Nr. 29-31).

Um die Oberfläche des Adsorptionsmittels zu vergrößern, wurde Aluminiumoxid DD-2 28x48 der Firma Alcoa verwendet. Die mittlere Korngröße  $x_{50}$  betrug laut der Messung durch Laserbeugung  $542 \pm 36 \mu\text{m}$ , also ca. 30 % des ursprünglich verwendeten Materials. Die Versuche 32-35 wurden mit diesem Adsorbens durchgeführt.

Da die oben beschriebenen Laborversuche keine eindeutige Aussage zum Einsatz von Bleicherde als Adsorptionsmittel zugelassen hatten, wurde eine Versuchsreihe mit einer Bleicherde der Fa. Südchemie durchgeführt. Der Wassergehalt dieses Adsorptionsmittels betrug ca. 5-7 Gew.-% und wurde nicht verändert. Als Extraktionsbedingungen wurden die optimalen Parameter der Extraktion mit Aluminiumoxid gewählt (Versuche 36-38).

Die Mengenangaben beim Einsatz von Modifier beziehen sich immer in Gew.-% auf die Rohstoffeinwaage. Zur Aufarbeitung wurden die Extrakte im homogenisierten Zustand in Trockenschalen abgewogen und daraus die Trockensubstanz bestimmt. Das Ethanol wurde gleichmäßig über die gesamte Extraktionszeit in den  $\text{CO}_2$ -Strom gepumpt. Bei den beiden Druckstufen 350 und 700 bar in den Versuchen 42-49 wurde die Kombination von Modifier (12,5 % bezogen auf die Rohstoffeinwaage) und Adsorptionsmittel getestet.

**Tabelle 24: Durchgeführte Extraktionsversuche bei *Piper methystikum***

Nr.	Druck [bar]	Tempera- tur [°C]	Extrak- tionszeit [h]	$\text{CO}_2$ - Durch- fluss [kg/h]	Einwaage [g]	Modifier [Gew.-%]	Adsor- bens [Gew.-%]
1	200	70	2	35,0 (↑)	800	-	-
2	350	70	2	35,0 (↑)	800	-	-
3	500	70	2	35,0 (↑)	800	-	-
4	700	70	2	35,0 (↑)	800	-	-
5	800	70	2	35,0 (↑)	800	-	-
6	900	70	2	35,0 (↑)	800	-	-
7	700	70	0,5	35,0 (↑)	800	-	-
8	700	70	1	35,0 (↑)	800	-	-
9	700	70	2	35,0 (↑)	800	-	-
10	700	70	3	35,0 (↑)	800	-	-

Nr.	Druck [bar]	Tempera- tur [°C]	Extrak- tionszeit [h]	CO <sub>2</sub> - Durch- fluss [kg/h]	Einwaage [g]	Modifier [Gew-%]	Adsor- bens [Gew.-%]
11	700	40	2	35,0 (↑)	800	-	-
12	700	55	2	35,0 (↑)	800	-	-
13	700	70	2	35,0 (↑)	800	-	-
14	350	70	2	35,0 (↑)	800	-	12,5 (Alu.)
15	350	70	2	35,0 (↑)	800	-	37,5 (Alu.)
16	350	70	2	35,0 (↑)	800	-	62,5 (Alu.)
17	500	70	2	35,0 (↑)	800	-	12,5 (Alu.)
18	500	70	2	35,0 (↑)	800	-	37,5 (Alu.)
19	500	70	2	35,0 (↑)	800	-	62,5 (Alu.)
20	500	70	2	35,0 (↑)	800	-	100 (Alu.)
21	700	70	2	35,0 (↑)	800	-	12,5 (Alu.)
22	700	70	2	35,0 (↑)	800	-	37,5 (Alu.)
23	700	70	2	35,0 (↑)	800	-	62,5 (Alu.)
24	700	70	2	35,0 (↑)	800	-	100 (Alu.)
25	900	70	2	35,0 (↑)	800	-	12,5 (Alu.)
26	900	70	2	35,0 (↑)	800	-	37,5 (Alu.)
27	900	70	2	35,0 (↑)	800	-	62,5 (Alu.)
28	900	70	2	35,0 (↑)	800	-	100 (Alu.)
29	700	70	2	35,0 (↓)	800	-	12,5 (Alu.)
30	700	70	2	35,0 (↓)	800	-	37,5 (Alu.)
31	700	70	2	35,0 (↓)	800	-	62,5 (Alu.)
32	700	70	2	35,0 (↑)	800	-	3,75 (Alu.)
33	700	70	2	35,0 (↑)	800	-	7,5 (Alu.)
34	700	70	2	35,0 (↑)	800	-	12,5 (Alu.)
35	700	70	2	35,0 (↑)	800	-	37,5 (Alu.)
36	700	70	2	35,0 (↑)	800	-	12,5 (Bl.)
37	700	70	2	35,0 (↑)	800	-	37,5 (Bl.)

Nr.	Druck [bar]	Tempera- tur [°C]	Extrak- tionszeit [h]	CO <sub>2</sub> - Durch- fluss [kg/h]	Einwaage [g]	Modifizier [Gew-%]	Adsor- bens [Gew.-%]
38	700	70	2	35,0 (↑)	800	-	62,5 (Bl.)
39	350	70	2	35,0 (↑)	800	12,5 Eth.	-
40	350	70	2	35,0 (↑)	800	25,0 Eth.	-
41	700	70	2	35,0 (↑)	800	12,5 Eth.	-
42	350	70	2	35,0 (↑)	800	12,5 Eth.	12,5 (Alu.)
43	350	70	2	35,0 (↑)	800	12,5 Eth.	37,5 (Alu.)
44	350	70	2	35,0 (↑)	800	12,5 Eth.	62,5 (Alu.)
45	350	70	2	35,0 (↑)	800	12,5 Eth.	100 (Alu.)
46	700	70	2	35,0 (↑)	800	12,5 Eth.	12,5 (Alu.)
47	700	70	2	35,0 (↑)	800	12,5 Eth.	37,5 (Alu.)
48	700	70	2	35,0 (↑)	800	12,5 Eth.	62,5 (Alu.)
49	700	70	2	35,0 (↑)	800	12,5 Eth.	100 (Alu.)

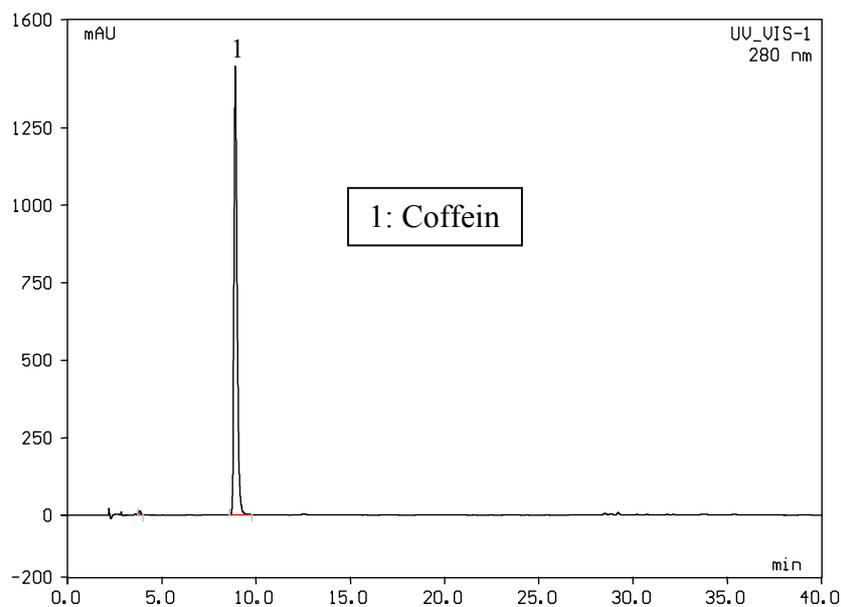
Eth.: Ethanol, Alu.: Aluminiumoxid, Bl.: Bleicherde

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Grüner Tee

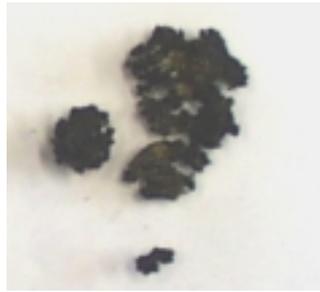
#### 4.1.1 Extraktion mit reinem CO<sub>2</sub> und relativ geringen Modifizermengen

Es wurden verschiedenste Versuche bei unterschiedlichen Druckstufen und unterschiedlichen Modifizermengen und -arten durchgeführt. Alle diese Versuche sind in **Tabelle 20** aufgelistet. Die Extraktion unter den in Versuch 1 bis 13 angewendeten Bedingungen brachte laut HPLC-Analyse keine Isolierung der Catechine mit sich. Das HPLC-Chromatogramm der Extrakte ist beispielhaft in **Abbildung 37** dargestellt. Der einzig sichtbare Peak konnte dem Coffein zugeordnet werden.



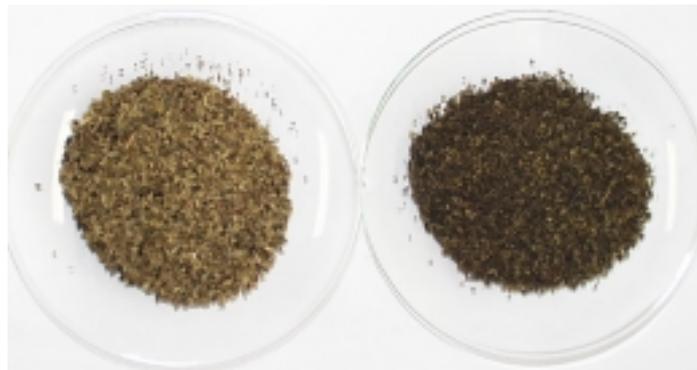
**Abbildung 37: Chromatogramm eines der gewonnenen Extrakte mit den Versuchsbedingungen 1**

Eine Analyse der Rückstände ergab bei identischer Aufarbeitung dieselben Peakflächen der Catechine wie im Rohstoff vor der Extraktion. Eine Extraktion von Catechinen ist also bei diesen relativ hohen Extraktionsdruckwerten nicht möglich. Auch die Zugabe von Ethanol, Ethanol-Wasser-Mischungen oder reinem Wasser als Modifier ermöglicht keine Extraktion der Wertstoffe. Die Extrakte, die mit reinem Kohlendioxid hergestellt wurden, wiesen nur geringe Massenausbeuten auf. Nach dem Entfernen des geringen Wasseranteils durch Trocknung im Vakuumtrockenschrank blieb der in **Abbildung 38** dargestellte Extrakt zurück.



**Abbildung 38: Getrockneter Extrakt bei der Extraktion mit reinem CO<sub>2</sub>**

Ein Unterschied von Rohstoff und Rückstand ist dabei mit dem bloßen Auge sehr gut zu erkennen (**Abbildung 39**). Die Farbintensität des Rohstoffes ist deutlich stärker.



**Abbildung 39: Rohstoff (rechts) und Extraktionsrückstand**

Die unter Einsatz von wenig Schleppmittel produzierten Extrakte waren durch die zusätzliche Wasser- bzw. Ethanolmenge stark verflüssigt. Auch die in den folgenden Kapiteln beschriebenen, mit Modifier hergestellten Extrakte, lassen sich optisch mit diesen Produkten vergleichen. Der hohe Coffeinanteil war nach Abkühlung schon mit bloßem Auge an den typischen Coffeinkristallen erkennbar (**Abbildung 40** und **Abbildung 41**).



**Abbildung 40:** Extrakt beim Einsatz von Modifier, vor (links) und nach (rechts) der Kühlung



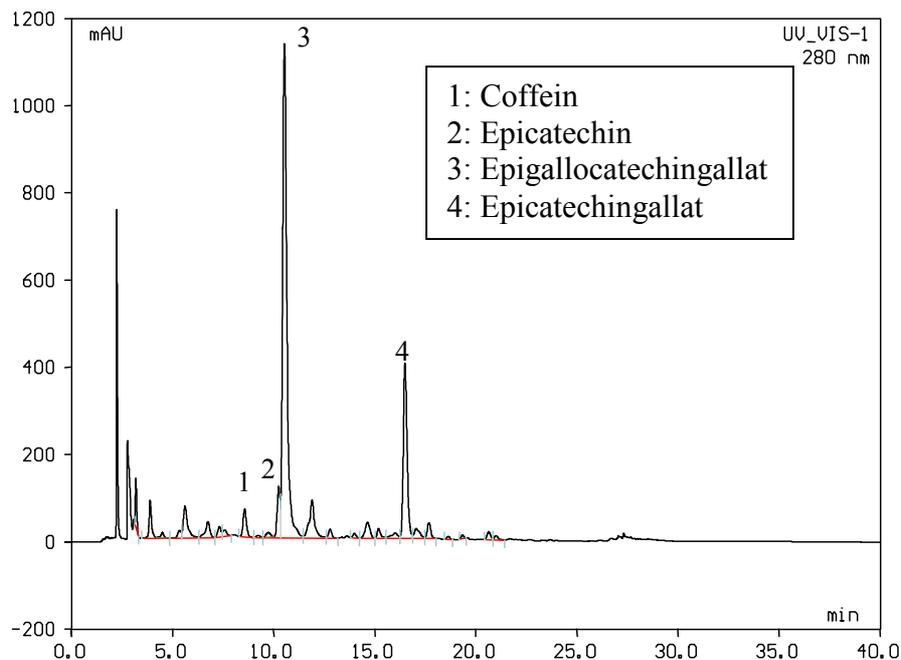
**Abbildung 41:** Getrocknete Coffeinkristalle (links), filtrierter Extrakt (rechts)

Auffällig war die Tatsache, dass bei der Wasserzugabe vor der Extraktion eine deutliche Erhöhung der Coffeinausbeute erreicht wurde (**Abbildung 41**). Die Rückstände wiesen in diesem Falle nur noch einen geringen Coffeinanteil auf.

#### 4.1.2 Extraktionen mit erhöhter Modifiermenge

Bei den Versuchen mit Wasserzugabe vor der Extraktion und gleichzeitiger Zudosierung von Wasser mit der Modifierpumpe (Versuchsnummern 14-17) konnte angesammeltes Wasser am Extraktorboden abgelassen werden. Dieser Extrakt wurde ebenfalls registriert und analysiert. Er enthielt Catechine, und der Coffeinanteil war relativ niedrig (siehe **Abbildung 42**). Deshalb

wurde für diese Extrakte eine Quantifizierung durchgeführt. Eine lückenlose Massenbilanz der Inhaltsstoffe konnte aufgrund der Vorgehensweise bei der Extraktion nicht erstellt werden, da häufig der Extraktionsrückstand eines Versuches als Extraktionsgut für den nächsten Versuch in der Anlage belassen wurde. Es können jedoch aufgrund des Gehaltes an Inhaltsstoffen im Extrakt qualitative Aussagen über den Extraktionserfolg getroffen werden.



**Abbildung 42: Chromatogramm eines Extraktes vom Extraktorboden**

In Tabelle 25 sind die prozentualen Ausbeuten an gesuchten Inhaltsstoffen in Bezug auf die Ausgangsgehalte des Extraktionsgutes sowie die jeweiligen Anteile der Inhaltsstoffe am Gesamtgehalt im Extrakt aufgelistet. Die maximale Ausbeute ergibt sich dabei bei 250 bar Extraktionsdruck, ist jedoch mit nur 5-6 % relativ niedrig. Absolut gesehen ergibt sich ein Gehalt an Epigallocatechingallat von bis zu 27 mg/g (2,7 Gew.-%) im Extrakt. Beim Versuch Nr. 17 sind aufgrund der niedrigen Extraktionstemperatur auch die Ausbeuten geringer. Auffällig ist die gleichzeitige Verringerung des Coffeingehaltes im Extrakt (0,01-0,1 %). Ein Problem bei dieser Extraktionsmethode war die Aufnahmekapazität des Grünen Tees für Wasser. Der Rohstoff am Extraktorboden war nach der Extraktion nass und verklebt, so dass es Probleme mit dem Ablassen des Extraktes am Extraktorboden gab.

**Tabelle 25: Quantitative Analyse der Extraktionen mit Extraktanfall am Extraktorboden**

Probe	Coffein [ppm]	EGCg [ppm]	EC [ppm]	Ausbeuten [%]		
				Coffein	EGCg	EC
<b><u>Versuch 14</u></b>						
<b>Absch. 1+2</b>	2988	n.n.	n.n.	5,79	n.n.	n.n.
<b>Boden</b>	562	5119	563	0,13	0,47	0,26
<b><u>Versuch 15</u></b>						
<b>Absch. 1+2</b>	24685	n.n.	n.n.	2,47	n.n.	n.n.
<b>Boden</b>	70	1123	n.n.	0,01	0,38	n.n.
<b><u>Versuch 16</u></b>						
<b>Absch. 1+2</b>	5460	n.n.	n.n.	0,54	n.n.	n.n.
<b>Boden</b>	978	26945	4755	0,18	5,08	6,08
<b><u>Versuch 17</u></b>						
<b>Absch. 1+2</b>	22308	n.n.	n.n.	2,22	n.n.	n.n.
<b>Boden</b>	663	2431	324	0,06	0,39	3,57

n.n.: nicht nachweisbar

EGCg: Epigallocatechingallat

EC: Epicatechin

Die Umkehrung der Extraktionsrichtung bei einer sehr hohen Wassermenge erfolgte in den Versuchen 31-34. Die Ergebnisse sind in **Tabelle 26** aufgelistet. Trotz der hohen Wassermenge, die durch die Modifizierpumpe in den CO<sub>2</sub>-Strom gepumpt wurden, war es nicht möglich, Catechine in größeren Mengen zu extrahieren. Der höhere Extraktionsdruck in Versuch 3 bewirkte zwar eine Steigerung der Catechinausbeute, insgesamt ergaben sich jedoch keine Werte über 10 % Ausbeute in den Abscheidern 1 und 2.

Tabelle 26: Quantitative Analyse der Versuche mit umgekehrter Extraktionsrichtung

Probe	Coffein [ppm]	EGCg [ppm]	ECg [ppm]	Ausbeuten [%]		
				Coffein	EGCg	ECg
<b><u>Versuch 31</u></b>						
<b>Absch. 1</b>	>100%	n.n.	n.n.	>100%	n.n.	n.n.
<b>Absch. 2</b>	>100%	n.n.	n.n.	>100%	n.n.	n.n.
<b><u>Versuch 32</u></b>						
<b>Absch. 1</b>	>100%	n.n.	n.n.	>100%	n.n.	n.n.
<b>Absch. 2</b>	>100%	584	104	>100%	0,9	0,4
<b><u>Versuch 33</u></b>						
<b>Absch. 1</b>	>100%	3289	1754	>100%	5,3	7,6
<b>Absch. 2</b>	>100%	1402	647	>100%	2,6	2,9
<b><u>Versuch 34</u></b>						
<b>Absch. 1</b>	n.n.	1473	626	n.n.	0,9	1,2
<b>Absch. 2</b>	n.n.	1891	610	n.n.	1,6	1,6

n.n.: nicht nachweisbar, >100%: oberhalb des Messbereiches

#### 4.1.3 Extraktionen mit dem dreiteiligen Extraktoreinsatzkorb

Bei den Versuchen 18-21 waren keine Catechine in den Extrakten nachweisbar. Auch der am Extraktorboden abgenommene Extrakt enthielt keine Catechine, aber auch kein Coffein. Die räumliche Anordnung des Rohstoffes war anscheinend für die geringe Menge an Modifizierung ungünstig, so dass keine Extraktion durch das Wasser erfolgen konnte. Die Erhöhung der Zudosierung an Wasser erfolgte in den Versuchen Nr. 22-24. Bei einer Menge an Wasser über 3000 g war die Aufnahmekapazität der Extraktionsanlage überschritten. Der Rohstoff quoll und verklebte mit der Zeit den Extraktorkorb, so dass die Extraktion zum Erliegen kam. Entsprechend konnte nur der bis dahin angefallene Extrakt abgelassen und analysiert werden. Die Ergebnisse der quantitativen Analyse der Extrakte sind in Tabelle 27 aufgelistet.

Tabelle 27: Quantitative Analyse der Extrakte, abgelaassen am dreiteiligen Einsatzkorb

Probe	Coffein [ppm]	EGCg [ppm]	ECg [ppm]	Ausbeuten [%]		
				Coffein	EGCg	ECg
<b><u>Versuch 22</u></b>						
<b>Absch. 1</b>	14755	n.n.	n.n.	3,82	n.n.	n.n.
<b>Absch. 2</b>	28144	n.n.	n.n.	11,26	n.n.	n.n.
<b>Boden</b>	n.n.	371	86	n.n.	0,62	0,65
<b><u>Versuch 23</u></b>						
<b>Absch. 1</b>	13475	n.n.	n.n.	11,46	n.n.	n.n.
<b>Absch. 2</b>	>100 %	n.n.	n.n.	>100 %	n.n.	n.n.
<b>Boden</b>	31	1584	295	0,25	2,77	1,61
<b><u>Versuch 24</u></b>						
<b>Absch. 1</b>	11287	n.n.	n.n.	8,35	n.n.	n.n.
<b>Absch. 2</b>	3638	n.n.	n.n.	0,2	n.n.	n.n.
<b>Boden</b>	387	1052	n.n.	3,82	2,16	n.n.

n.n. = nicht nachweisbar, >100 %: Messwerte oberhalb der Messgrenze

Die Gesamtausbeute an Catechinen war bei allen drei Versuchen nur sehr gering und lag im Bereich von 0 bis 2,8 %. Der Coffeinanteil war in den Extrakten, welche am Extraktorboden anfielen, relativ niedrig.

Auch eine Verlängerung der Extraktionszeit auf 4 Stunden im Versuch 25 bei einer Modifierzugabe von 416 Gew-% der Rohstoffmenge brachte nur die in Tabelle 28 aufgelisteten geringen Ausbeuten. Coffein war in der anfallenden Flüssigkeit am Extraktorboden nicht mehr nachweisbar. Eine Verlängerung der Extraktionszeit bewirkte also eine Entcoffeinierung des Extraktes am Extraktorboden, allerdings ohne eine gleichzeitige Erhöhung der Catechinausbeute.

Tabelle 28: Quantitative Analyse der Extrakte mit geteiltem Extraktoreinsatz, 4 h Extraktionszeit

Probe	Coffein [ppm]	EGCg [ppm]	ECg [ppm]	Ausbeuten [%]		
				Coffein	EGCg	ECg
<b>Absch. 1</b>	14666	n.n.	n.n.	24,69	n.n.	n.n.
<b>Absch. 2</b>	>100%	n.n.	n.n.	>100%	n.n.	n.n.
<b>Boden</b>	n.n.	1969	332	n.n.	3,00	3,17

n.n. = nicht nachweisbar, >100 %: Messwerte oberhalb der Messgrenze

Eine Erhöhung des Extraktionsdruckes erfolgte in den Versuchen 26 und 27. Die dabei erzielten Ausbeuten an Coffein und Catechinen sind in **Tabelle 29** aufgelistet.

Die Ausbeute an Coffein in den Abscheidern war dabei deutlich höher als bei den vorangegangenen Extraktionen. Bei 400 bar Extraktionsdruck konnte gleichzeitig am Extraktorboden kein Coffein mehr nachgewiesen werden. Die Ausbeuten an Catechinen in diesem Extrakt waren zwar höher als die bis dahin vorher erzielten Ergebnisse, aber mit Werten zwischen 5 und 7 % des Gehaltes der eingesetzten Rohware immer noch sehr gering. Der Anteil an Epigallocatechingallat im Extrakt überstieg bei allen diesen Versuchen nicht den Wert von 8,8 mg/g nicht, was 0,9 Gew.-% entspricht.

**Tabelle 29: Quantitative Analyse der Extraktionen mit geteiltem Extraktoreinsatz, 300 und 400 bar Extraktionsdruck**

Probe	Coffein [ppm]	EGCg [ppm]	ECg [ppm]	Ausbeuten [%]		
				Coffein	EGCg	ECg
<b><u>300 bar</u></b>						
<b>Absch. 1</b>	20013	n.n.	n.n.	19,65	n.n.	n.n.
<b>Absch. 2</b>	>100%	n.n.	n.n.	>100%	n.n.	n.n.
<b>Boden</b>	462	8783	1573	1,14	4,45	5,05
<b><u>400 bar</u></b>						
<b>Absch. 1</b>	18836	n.n.	n.n.	19,51	n.n.	n.n.
<b>Absch. 2</b>	>100%	n.n.	n.n.	>100%	n.n.	n.n.
<b>Boden</b>	n.n.	3515	3062	n.n.	6,44	5,61

n.n. = nicht nachweisbar, >100 %: Messwerte oberhalb der Messgrenze

#### 4.1.4 Anwendung der Extraktionsmethode von RESCH [2001]

Die qualitative Analyse der Extrakte aus den Versuchen 28-30 zeigte, dass auch mit dieser Variante keine Extraktion der Catechine aus Grünem Tee möglich ist. Das Coffein wurde aber in einem einzigen Extraktionsschritt nahezu vollständig aus dem Rohstoff entfernt und war in den Extrakten nachweisbar. Eine noch längere Lagerdauer der Maische als in Versuch 29 (95 h) war nicht möglich, da durch den relativ hohen Wassergehalt ein

Mikroorganismenwachstum nicht verhindert werden konnte, was zu einem veränderten Inhaltsstoffgehalt führte.

## 4.2 Ringelblume

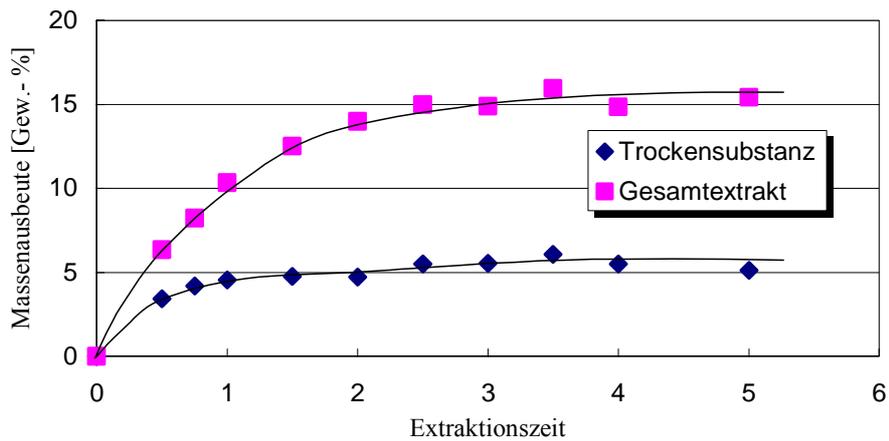
### 4.2.1 Extraktionen mit reinem CO<sub>2</sub>

#### 4.2.1.1 Optimierung der Extraktionszeit

Mittels qualitativer Analyse wurden in der wässrigen Phase keine Faradiolester gefunden. In **Abbildung 44** bis **Abbildung 46** sind die Ausbeuten an Trockensubstanz und Faradiolester sowie die Extinktionen dargestellt, während die dazugehörigen Zahlenwerte in **Tabelle 34** und **Tabelle 35** aufgelistet sind. Die Berechnung der Massenausbeuten in **Tabelle 34** und **Abbildung 44** bezieht sich auf die Rohstoffeinwaage (trocken). Die Versuchsbedingungen zeigt **Tabelle 21** in den Versuchsnummern 1-10. Der Unterschied zwischen Rohstoff und Rückstand ist bereits mit bloßem Auge sehr deutlich erkennbar, wie die **Abbildung 43** zu sehen ist.

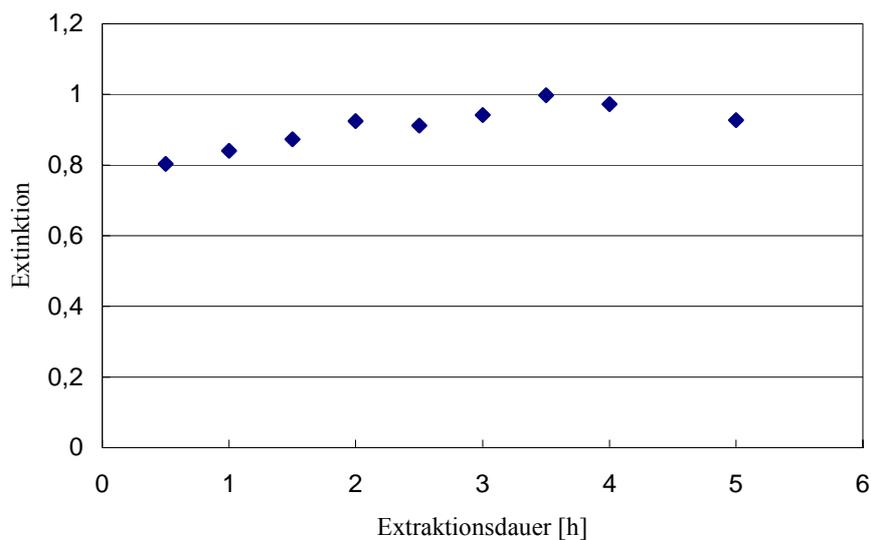


**Abbildung 43: Rohstoff (rechts) und Rückstand von Ringelblumenblüten**

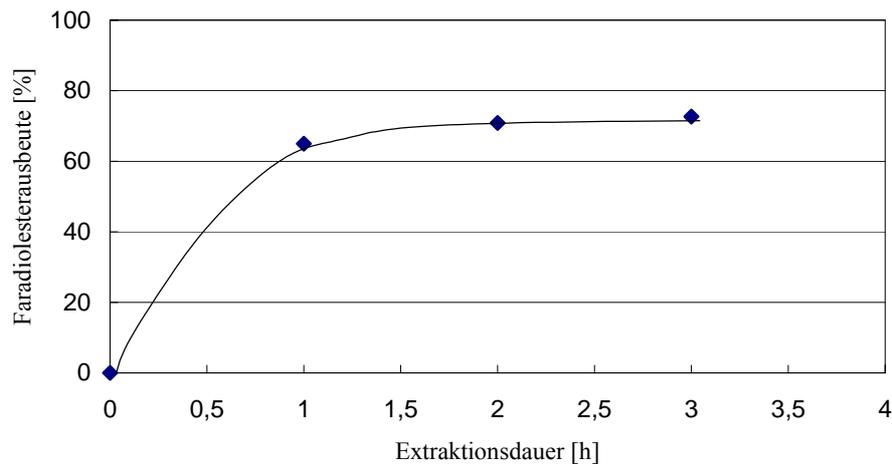


**Abbildung 44: Massenausbeute bei steigender Extraktionsdauer**

Mit steigender Extraktionsdauer war ab ca. 3 h keine Steigerung der Trockensubstanzausbeute mehr zu erreichen, wobei die Erhöhung der Ausbeute bereits ab ca. 1,5 h kaum noch nennenswert war. Der Wasseranteil am Gesamtextrakt dagegen stieg bis etwa 3 h Extraktionszeit noch relativ stark an. Da jedoch keine Faradiolester im Wasseranteil zu finden waren, wurde dies vernachlässigt.



**Abbildung 45: Extinktion bei steigender Extraktionsdauer**



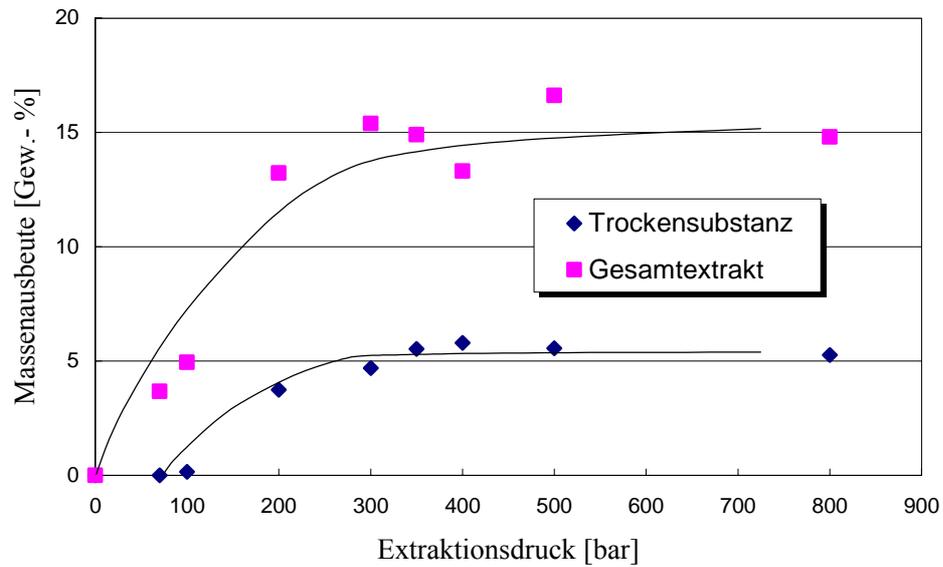
**Abbildung 46: Faradiol'esterausbeute bei steigender Extraktionsdauer**

Die Färbung der Extrakte stieg ab einer Extraktionszeit von etwa 2 Stunden kaum noch an, d. h. es wurden von diesem Zeitpunkt an keine Farbstoffe mehr extrahiert.

Ab 1,5 h Extraktionszeit stieg die Faradiol'esterausbeute noch geringfügig an, und eine maximale Ausbeute bei den gewählten Bedingungen war dann bei 3 h mit knapp 73 % erreicht.

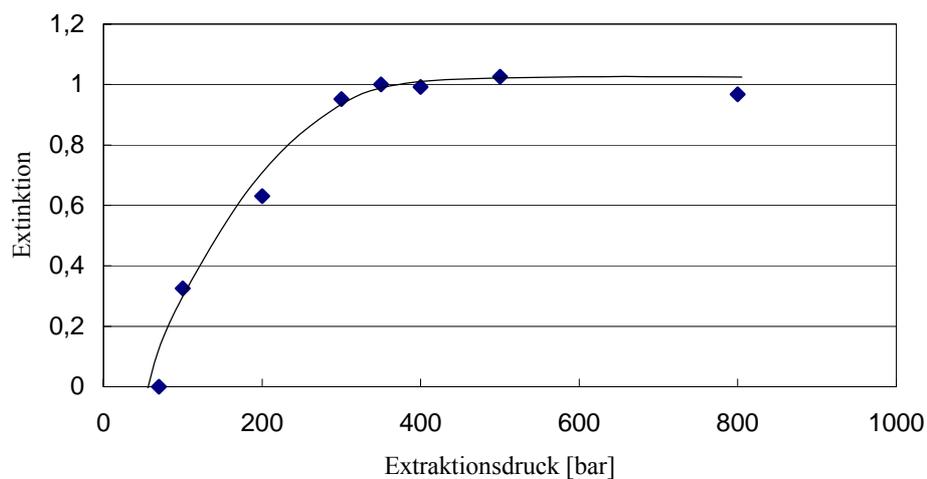
#### 4.2.1.2 Optimierung des Extraktionsdruckes

Die Massenausbeuten sind, unterteilt in Trockensubstanz und Gesamtextrakt, in **Tabelle 36** aufgelistet und in **Abbildung 47** graphisch dargestellt. Mit steigendem Extraktionsdruck erhöhte sich die Massenausbeute sowohl in Bezug auf die Trockensubstanz als auch in Bezug auf die Gesamtextrakt ausbeute. Dabei wurde der Maximalwert bereits bei 350 bar erreicht. Ein Extraktionsdruck von mehr als 350 bar brachte keine größere Extraktmasse mit sich. Die Versuche 11-18 sind in **Tabelle 21** aufgelistet.

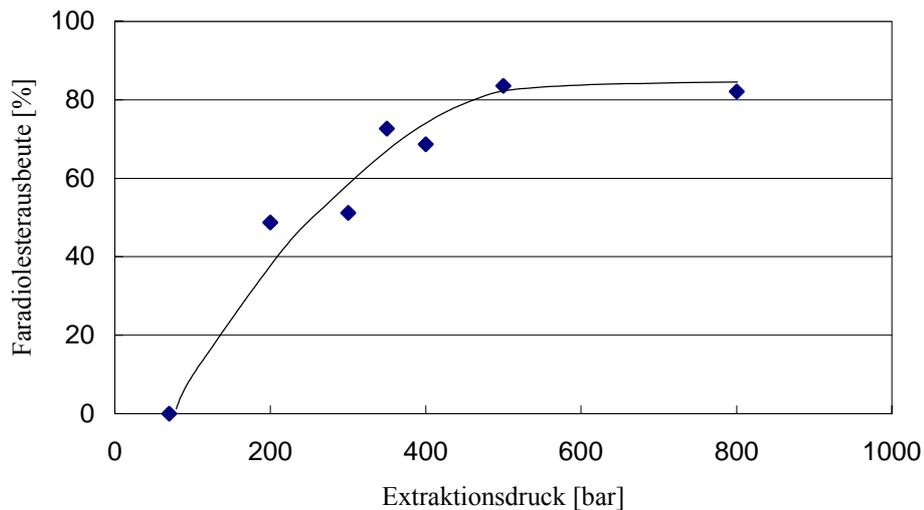


**Abbildung 47: Massenausbeute bei steigendem Extraktionsdruck**

Bei der Vermessung der Extraktverdünnungen mit dem Photometer und der quantitativen Analyse der Extrakte mit HPLC ergaben sich die in **Tabelle 37** aufgelisteten Extinktionen sowie die angegebenen Faradiolesterausbeuten, welche in **Abbildung 48** und **Abbildung 49** dargestellt werden.

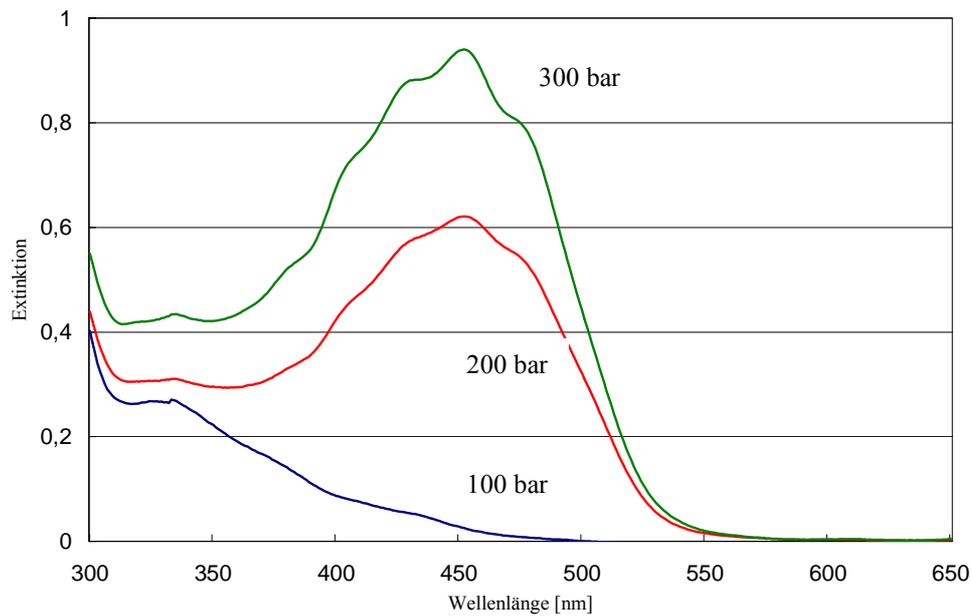


**Abbildung 48: Extinktion mit steigendem Extraktionsdruck**



**Abbildung 49: Faradiolesterausbeute bei steigendem Extraktionsdruck**

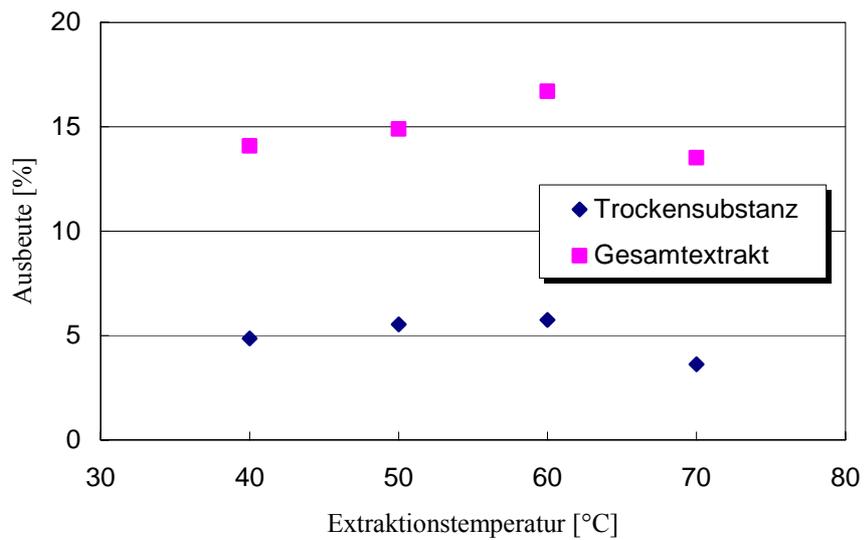
**Abbildung 48** zeigt, dass auch eine maximale Extinktion bereits bei 350 bar Extraktionsdruck und damit eine maximale Extraktion der Farbstoffe erreicht wurde. Eine Aufnahme des Adsorptionspektrums der Extrakte bei verschiedenem Extraktionsdruckwerten zeigte deutlich eine Zunahme der Adsorption bei 455 nm (**Abbildung 50**). Dies ist ein Zeichen für die zunehmende Extraktion von Farbstoffen. In Bezug auf die Faradiolesterausbeute (**Abbildung 49**) ergab sich eine Steigerung bis etwa 500 bar Extraktionsdruck. Dabei war es aber nicht möglich, die gesamten Faradiolester zu extrahieren, sondern nur etwa 80 % der im Rohstoff nachweisbaren Wirkstoffe. Untersuchungen der Extraktionsrückstände bestätigten diese Beobachtung, d. h. im Rückstand waren noch Faradiolester enthalten. Diese Untersuchungen wurden jedoch aufgrund des aufwendigen Analyseverfahrens nur stichprobenweise durchgeführt und dienen lediglich der Absicherung der Ergebnisse der Extraktanalysen.



**Abbildung 50: Adsorptionsspektrum bei steigendem Extraktionsdruck**

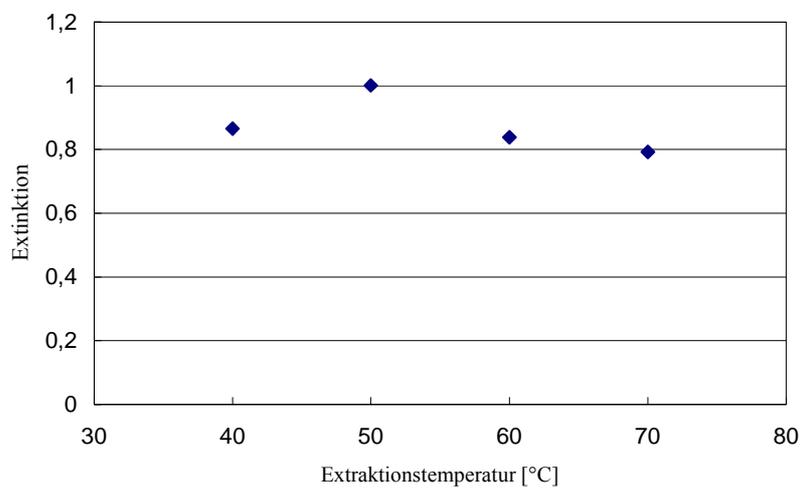
#### 4.2.1.3 Optimierung der Extraktionstemperatur

Sowohl auf der Basis der Literaturdaten [QUIRIN, GERARD; 1989; DELLA LOGGIA et al., 1994] als auch der eigenen Ergebnisse von 350 bar als optimalem Druck für die Massen- und Carotinoideausbeute erfolgte die Ermittlung der geeigneten Extraktionstemperatur bei diesem Druck unter Vernachlässigung der höheren Ausbeuten an Faradiolestern bei 800 bar. Die dabei gewonnenen Extraktmassen sind in **Tabelle 38** aufgelistet und in **Abbildung 51** graphisch ausgewertet (Versuche 19-22 der **Tabelle 21**)

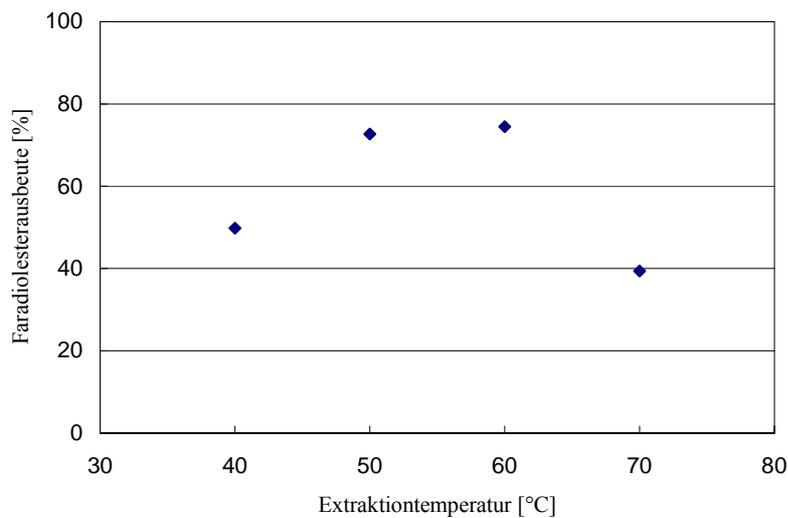


**Abbildung 51: Ausbeute bei steigender Extraktionstemperatur**

Mit steigender Temperatur stieg die Massenausbeute zuerst an, fiel aber dann bei 70 °C wieder leicht ab. Die Extinktionen sowie die Faradiolesterausbeuten sind in **Abbildung 52** und **Abbildung 49** gegeben, die dazugehörigen Werte in **Tabelle 39** aufgelistet.



**Abbildung 52: Extinktion bei steigender Extraktionstemperatur**



**Abbildung 53: Faradiol ester ausbeute bei steigender Extraktionstemperatur**

Die **Abbildung 52** zeigt zunächst einen leichten Anstieg der Extinktion mit steigender Extraktionstemperatur, wobei bei 50 °C ein Maximum durchlaufen wird. Höhere Extraktionstemperaturen haben einen Rückgang der Extinktion zur Folge. Bei der Faradiol ester ausbeute ist ein sehr deutlicher Abfall bei 70 °C zu verzeichnen; das Maximum liegt hier bereits bei 50-60 °C.

#### 4.2.2 Adsorbentienauswahl

Mit der Minisäulenchromatographie wurden verschiedene Adsorptionsmittel auf ihre Trennleistung bezüglich Farbstoffen und Faradiol estern hin untersucht. Die untersuchten Stoffe waren:

- Kieselgel 60
- Aluminiumoxid basisch
- Aluminiumoxid neutral
- Bleicherde
- Florisil

In **Tabelle 30** sind die Ergebnisse dargestellt. Wegen der nur qualitativen Messung der Inhaltsstoffe der Fraktionen mit DC ist bei positivem Nachweis ein „+“ und bei negativem ein „-“, eingetragen. Die unterschiedlichen Fließmittel sind mit verschiedenen Graustufungen



### 4.2.3 Kombination von Extraktion und Adsorption

#### 4.2.3.1 Einsatz von Bleicherde als Adsorptionsmittel

Die Extraktionsdauer beim Einsatz von Adsorbentien wurde trotz geringfügiger Ausbeuteverluste auf 2:00 h herabgesetzt, da hier nicht die maximal mögliche Ausbeute, sondern die Adsorption beurteilt werden sollte. Eine Extraktionszeit von 3 h ist mit einem erheblichen Mehraufwand bei der Versuchsdurchführung verbunden.

Im Folgenden sind die bei Zugabe von Bleicherde erhaltenen Verluste an Extraktmasse und Inhaltsstoffen in Vergleich zu der Extraktion ohne Adsorbens aufgelistet. Dabei wurde bei der Entfärbung das Produkt aus Trockenmassenausbeute und Extinktion zur Auswertung herangezogen. Somit konnte die Entfärbung von Extrakten berücksichtigt werden, die zwar gleiche Extinktionen aufweisen, aber unterschiedliche Gesamtmassen. In den Tabellen sind jeweils die absoluten Zahlenwerte sowie die Verluste an Trockenmasse, Extinktion und Faradiolesterausbeute der Extrakte bei steigender Bleicherdemenge aufgelistet. Bei der Berechnung der Verluste wurde die Ausbeute der reinen CO<sub>2</sub>-Extraktion ohne den Einsatz von Adsorbentien als 100% gesetzt. Die durch Adsorption verringerten Ausbeuten wurden auf diesen Wert bezogen. Zur Berechnung der Reduzierung des Gehaltes an Farbstoffen wurde jeweils das Produkt aus Extraktmasse und dessen Extinktion als Kennzahl verwendet. Die **Abbildung 54** zeigt ein Photo der Bleicherde vor und nach der Extraktion. Hier wird die Aufnahme von Substanzen durch das Adsorbens optisch sichtbar.

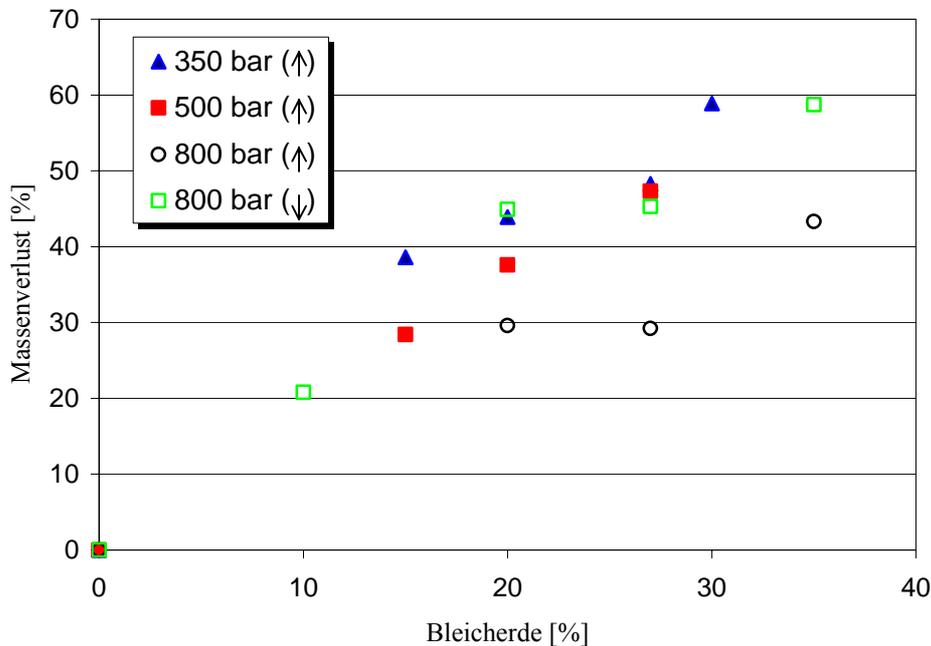


**Abbildung 54: Bleicherde vor (links) und nach der Extraktion von Ringelblumenblüten**

#### Massenverluste

In **Tabelle 40** sind die verschiedenen Massen bei der Extraktproduktion mit steigender Bleicherdemenge aufgelistet. **Abbildung 55** zeigt die graphische Darstellung der Verluste an

Masse bei den unterschiedlichen Extraktionsdruckwerten. Die Versuchsbedingungen sind **Tabelle 21** zu entnehmen (Versuche 23-36).

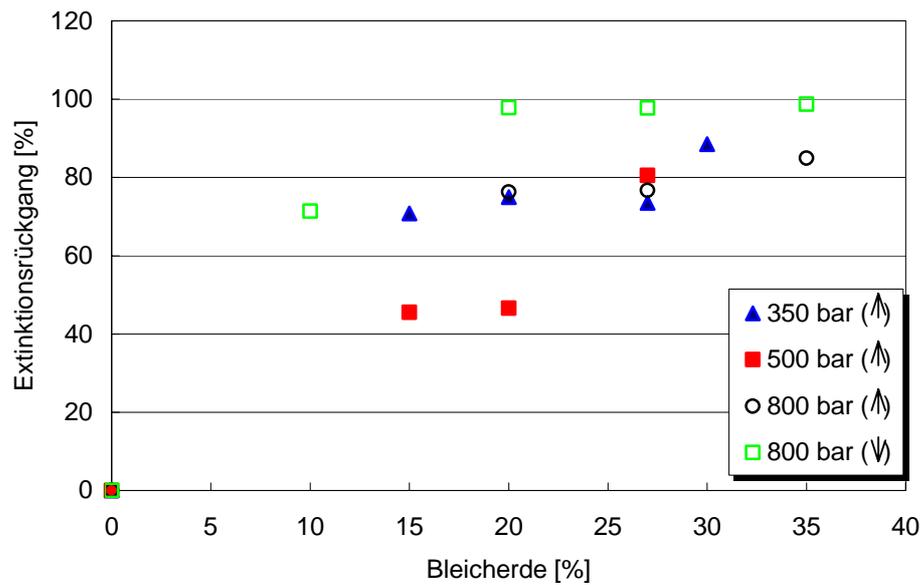


**Abbildung 55: Massenverluste bei verschiedenen Extraktionsdruckwerten und steigendem Adsorptionsmitteleinsatz**

Die Verluste an Extraktmasse zeigen bei einer CO<sub>2</sub>-Flußrichtung von unten nach oben mit steigendem Extraktionsdruck geringere Werte. Bei 800 bar Extraktionsdruck sind somit weniger Verluste an Extraktmasse zu verzeichnen als bei 350 bar. Eine Umkehrung der Strömungsrichtung hat wieder dabei wieder größere Verluste zur Folge.

### Entfärbung

Bei der Auflistung der Extinktionen in **Tabelle 41** wurde bei der Berechnung der Reduzierung des Farbstoffgehaltes wie oben bereits beschrieben das Produkt aus Extraktmasse und Extinktion herangezogen. **Abbildung 56** zeigt graphisch den Carotinoidrückgang in den Extrakten bei steigender Menge an Bleicherde.



**Abbildung 56: Rückgang der Extinktion der Extrakte bei steigendem Bleicherdeinsatz im Vergleich zu Extrakten, die ohne Adsorbentien hergestellt wurden**

Die Entfärbung der produzierten Extrakte stieg mit zunehmendem Einsatz an Bleicherde. Dabei gab es zwischen den Extrakten, die mit einer CO<sub>2</sub>-Flußrichtung von unten nach oben hergestellt wurden, Schwankungen von ca. 30 % an Extinktionsverlust. Eine Entfärbung von über 80 % im Vergleich zu reinen CO<sub>2</sub>-Extrakten war allerdings erst mit relativ großen Mengen von über 25 % an Bleicherde möglich. Die Umkehrung der CO<sub>2</sub>-Richtung brachte eine deutliche Verbesserung der Entfärbung mit sich. Hier betrug der Rückgang an Extinktion im Vergleich zu dem Referenzextrakt Bereits bei einer Bleicherdemenge von 20 % nahezu 100 %.

#### Verlust an Faradiolestern

In **Tabelle 42** sind die Faradiolesterausbeuten sowie die Verluste bei steigender Bleicherdemenge in Bezug auf die Ausbeute ohne den Einsatz von Adsorbentien eingetragen. Es wird dabei wieder die Summe der zwei bestimmaren Faradiolester betrachtet und die vorhandene Menge im Extrakt auf die Gesamtmenge an Estern im Rohstoff bezogen. **Abbildung 57** zeigt graphisch die Adsorptionsverluste an Faradiolestern in den einzelnen Extrakten.

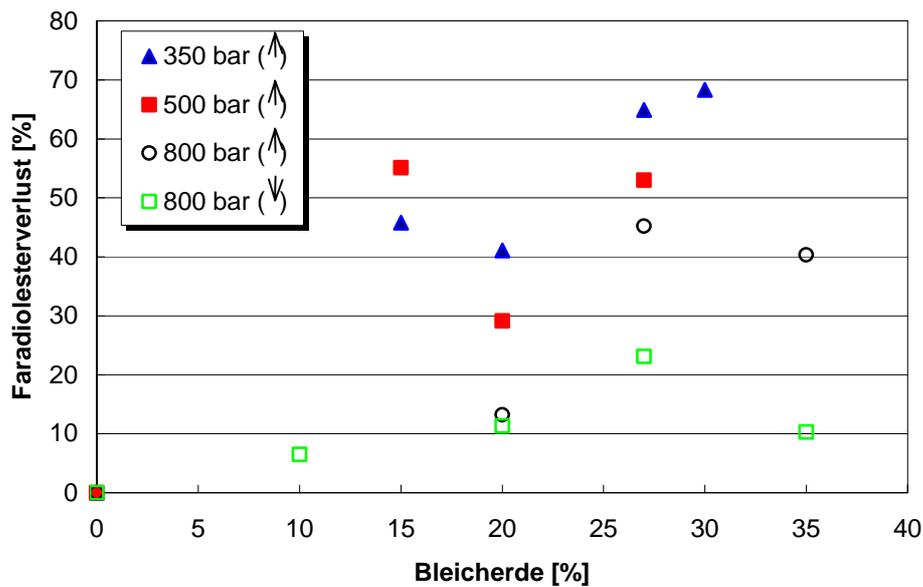


Abbildung 57: Verlust an Faradiolestern bei steigender Bleicherdemenge

Bei den Versuchen mit 350 und 500 bar Extraktionsdruck zeigte sich ein Verlust an Faradiolestern von über 50 % bei 20 % Bleicherdezugabe. Ein höherer Extraktionsdruck von 800 bar verringerte den Verlust wieder erheblich auf nur noch knapp 35 %. Bei veränderter Flussrichtung des CO<sub>2</sub> lag der Verlust sogar bei nur noch 10 % bei gleicher Menge an Bleicherde. Die unter diesen Bedingungen produzierten Extrakte waren soweit entfärbt, dass es sich auch mit dem bloßen Auge erkennen lies (Abbildung 58). Die Ausbeute an Faradiol ester war gleichzeitig kaum gefallen und lag bei über 70 %. Die Schwankungen der Einzelwerte der Versuche sind bei allen diesen Versuchen auffallend hoch. Durch die verringerte Gesamtmasse des Extraktes ergaben sich relativ hohe Gehalte an Faradiol estern in den Extrakten (Tabelle 31). Dieser Absolutwert war jedoch von dem Zustand der HPLC-Trennsäule abhängig und ist hier nur als Richtwert zu betrachten.



**Abbildung 58:** Extrakte (getrocknet), hergestellt mit 800 bar Extraktionsdruck bei CO<sub>2</sub>-Fließrichtung von oben nach unten.

Links: Extrakt ohne Bleicherde hergestellt

Rechts: Extrakt mit 20 % Bleicherdezusatz bei der Extraktion

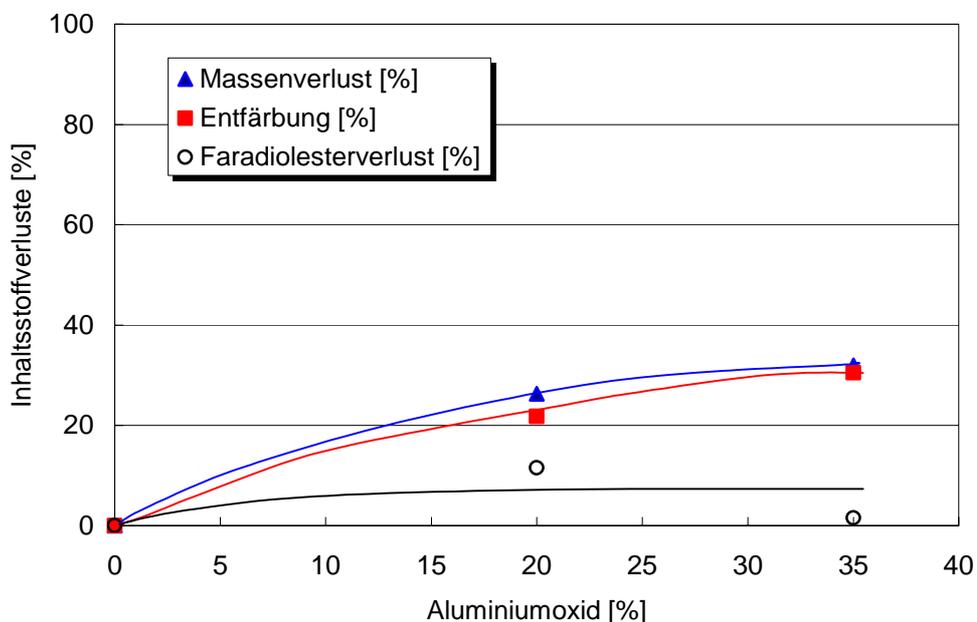
**Tabelle 31:** Faradiolestergehalte der Trockenextrakte, produziert bei 800 bar Extraktionsdruck, CO<sub>2</sub>-Fließrichtung von oben nach unten

Bleicherdeeinsatz [%]	Gesamtfaradiolestergehalt des Trockenextraktes [%]
0	15,47
10	18,99
20	16,57
27	14,45
35	22,36

#### 4.2.3.2 Einsatz von Aluminiumoxid als Adsorptionsmittel

In den folgenden Versuchen (Nr. 37 und 38) wurde Aluminiumoxid als Adsorptionsmittel verwendet. Tabelle 43 zeigt die Ergebnisse der Bestimmung der Extinktionen, der quantitativen Bestimmung der Faradiolester sowie die Massenausbeute. In Bezug auf die Extraktionen ohne Adsorptionsmittel ist der Farb- sowie Faradiolesterverlust mit angegeben.

Zur Berücksichtigung der Extraktmasse wurde dabei wiederum das Produkt aus Extinktion und Trockenmasse bei der Berechnung des Extinktionsrückganges herangezogen. In **Abbildung 59** sind diese Ergebnisse graphisch dargestellt. Wie bei allen anderen Versuchen mit Adsorptionsmittel verringerte sich mit steigender Menge des Aluminiumoxids die Ausbeute an Extraktmasse. Dabei ist festzustellen, dass sich die Extinktion, d. h. der Carotingehalt, auch bei 35 % Aluminiumoxidzugabe als Absolutwert nicht verringerte. Durch die zurückgegangene Masse ergab sich jedoch ein relativer Carotinoidverlust durch Adsorption, der ungefähr die gleiche Größenordnung wie der Verlust an Extraktmasse aufwies. Die Faradiolesterausbeute ging gleichzeitig um etwa 10 % zurück.

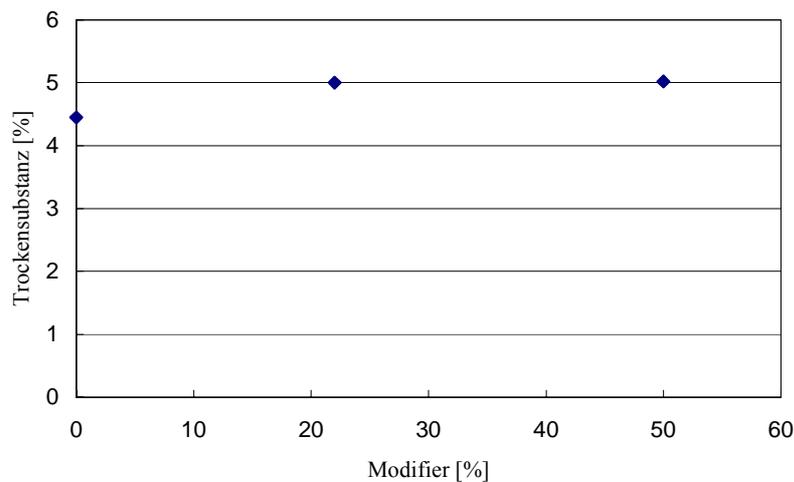


**Abbildung 59: Verluste an Masse, Farbstoffen und Faradiolestern bei Einsatz von Aluminiumoxid als Adsorptionsmittel**

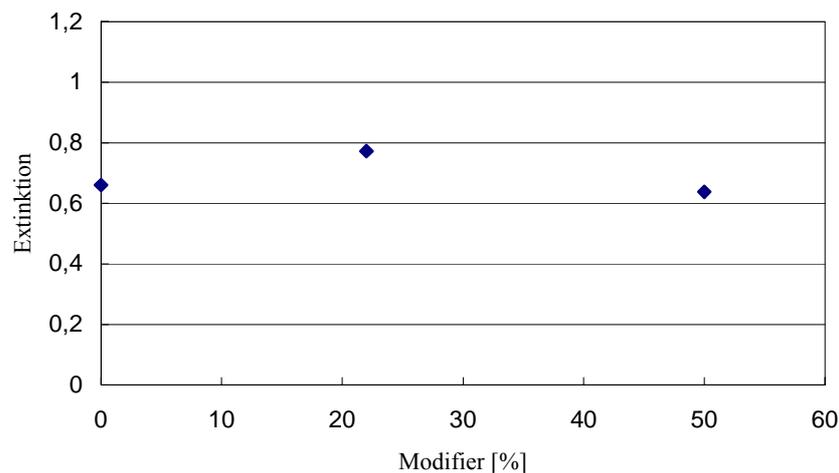
#### 4.2.4 Extraktionsversuche mit Modifier

Da die bisher erhaltenen Ergebnisse einen Extraktionsdruck von 800 bar zur Produktion von entfärbten Extrakten voraussetzen, wurde nun versucht, den erforderlichen Extraktionsdruck zu senken. Übliche Produktionsanlagen sind häufig auf einen Extraktionsdruck von 350 bar ausgelegt. Deshalb wurde bei diesen Bedingungen untersucht, ob mit Hilfe von Ethanol als Modifier eine Veränderung der Ausbeuten erreicht werden kann.

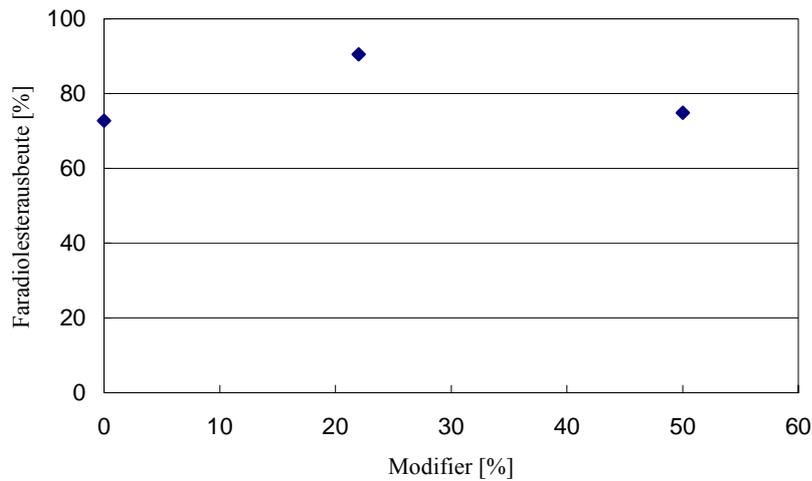
Die **Abbildung 60** bis **Abbildung 62** zeigen die graphische Auswertung der **Tabelle 44**. Dabei ist mit Zunahme der Menge an Modifier zuerst eine leichte Steigerung der Ausbeute an Trockensubstanz zu erkennen. Auch die Extinktion ist bei einer Modifiermenge von 22 % erhöht, bei 50 % dagegen wieder auf den Ausgangswert gefallen. Genauso verhält sich die Faradiolesterausbeute, wobei sich bei 22 % Ethanolzudosierung diese Ausbeute auf über 90 % steigern lässt. Ein allgemeiner Trend lässt sich für die Extraktion mit Modifier hier allerdings nicht ableiten.



**Abbildung 60: Trockensubstanzausbeute bei 350 bar Extraktionsdruck und Modifiereinsatz**



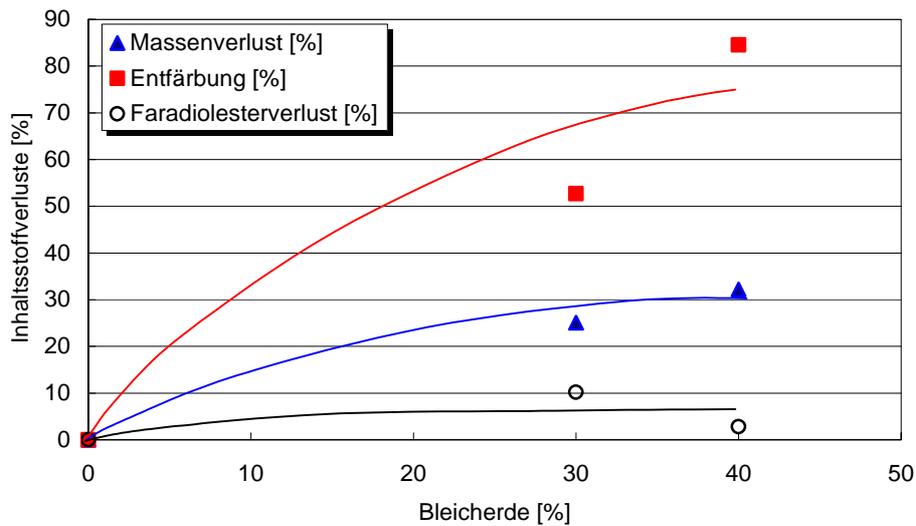
**Abbildung 61: Extinktion bei 350 bar Extraktionsdruck und Modifiereinsatz**



**Abbildung 62: Faradiolesterausbeute bei 350 bar Extraktionsdruck und Modifiereinsatz**

#### 4.2.5 Kombination von Modifier- und Adsorptionsmitteleinsatz

Die Versuche 41 und 42 wurden unter Einsatz von Modifier durchgeführt, wobei gleichzeitig Bleicherde in verschiedenen Anteilen als Adsorptionsmittel zugegeben wurde. Die in den vorangegangenen Kapiteln beschriebene Vermischung von Rohstoff und Bleicherde bei der Extraktionsflussrichtung von unten nach oben war bei diesen großen Mengen an Adsorptionsmittel nicht mehr so stark. Die Höhe der Schüttung bei diesem hohen Anteil von 30 und 40 % an Bleicherde verhinderte dabei eine Durchmischung der beiden Schichten weitgehend. Die erhaltenen Ergebnisse sind in in **Tabelle 45** zusammengefasst und in **Abbildung 63** abgebildet.



**Abbildung 63: Inhaltsstoffverluste bei Modifiereinsatz (18 % Ethanol) und Bleicherde als Adsorptionsmittel**

Wie erwartet war wegen der Inaktivierung des Adsorptionsmittels eine größere Menge an Bleicherde erforderlich, um den Extrakt zu entfärben. In **Abbildung 64** sind die hergestellten Extrakte abgebildet. Dabei hatte eine Bleicherdezugabe von 40 % lediglich eine Entfärbung des Extraktes von gut 80 % zur Folge. Gleichzeitig ist der Verlust an Faradiolestern mit weniger als 10 % sehr gering. Die Ausbeute an Faradiolestern liegt damit trotz des Einsatzes von Bleicherde bei über 70 %.

In **Tabelle 46** sind die Ergebnisse der Extraktion mit 800 bar Extraktionsdruck ohne Modifizierzudosierung und die Ergebnisse bei 350 bar und Modifiereinsatz jeweils mit Bleicherde als Adsorptionsmittel aufgelistet. Damit ist ein direkter Vergleich möglich (**Abbildung 65**).

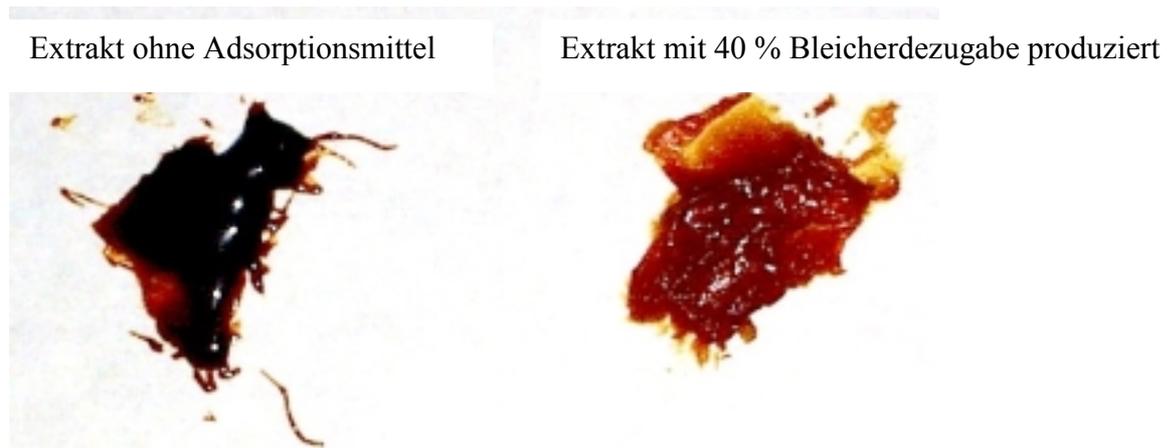


Abbildung 64: Getrocknete Extrakte, produziert mit Modifier mit und ohne Adsorptionsmittel (350 bar, 50 °C, 2 h, 18 % Ethanol als Modifier)

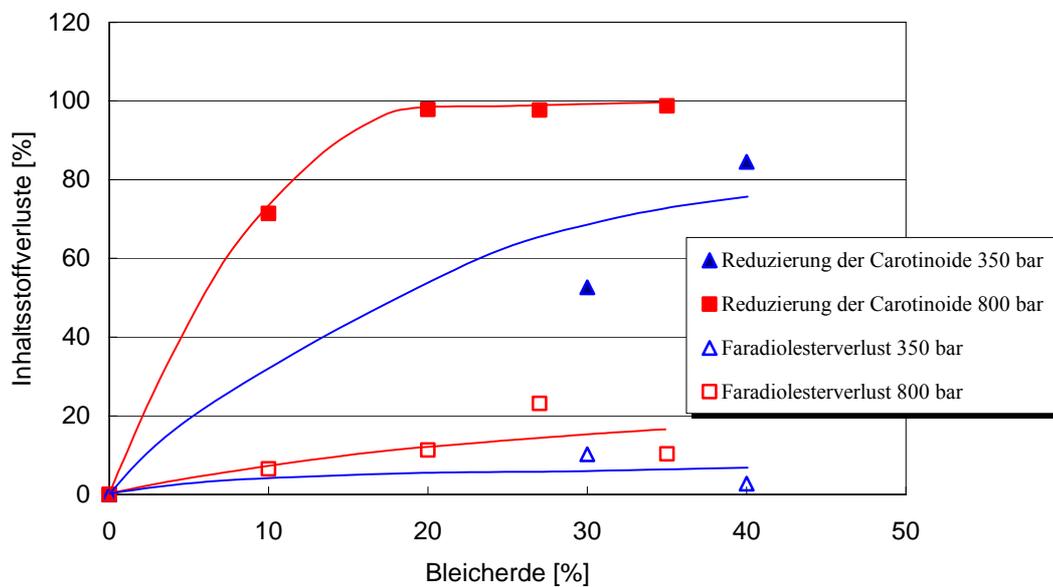


Abbildung 65: Vergleich der Extraktionen mit 350 bar und Modifier mit 800 bar ohne Modifier, jeweils mit Bleicherde als Adsorptionsmittel

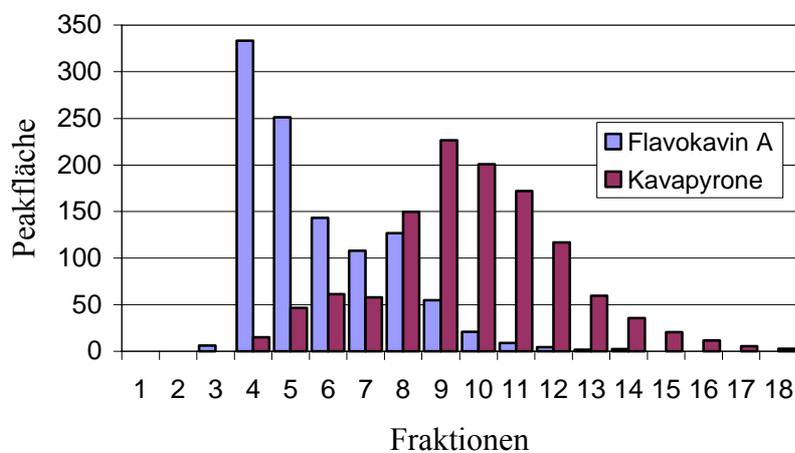
Man erkennt, dass die Entfärbung bei den Extraktionen mit Modifier erst bei vergleichsweise großen Mengen an Bleicherde nennenswert ist. Dennoch war der Farbverlust mit ca. 80 % relativ hoch. Bei den Versuchen ohne Modifier wurde bereits bei geringen Mengen an Bleicherde der Extrakt nahezu vollständig entfärbt.

Gleichzeitig waren die Verluste an Faradiolestern bei beiden Versuchsreihen sehr gering. Der Absolutwert an Faradiolesterausbeute lag dabei bei beiden Versuchsbedingungen gut über 70 % der im Rohstoff vorhandenen Ester.

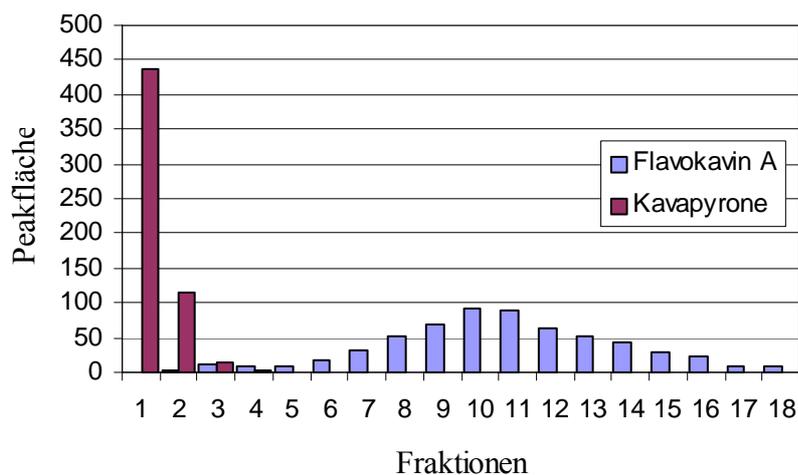
### 4.3 Kava-Kava

#### 4.3.1 Adsorbentienauswahl

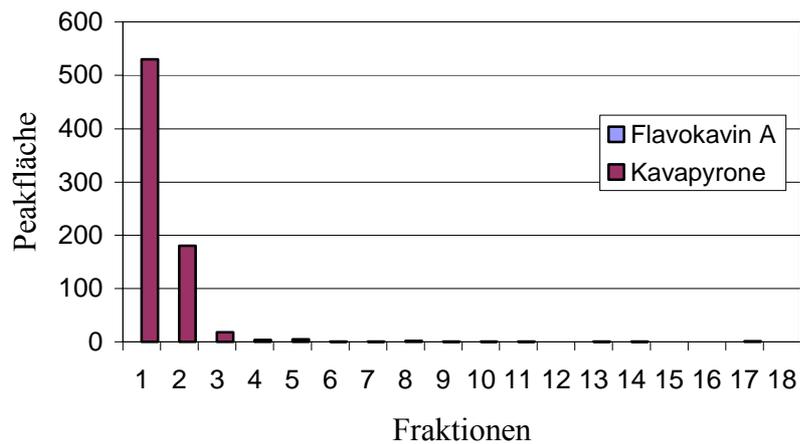
Die mit der Minisäulenchromatographie erhaltenen Ergebnisse sind in **Abbildung 66** bis **Abbildung 68** gezeigt. Die Elutionsreihenfolge der Kava-Kava-Inhaltsstoffe bei Verwendung von Bleicherde zeigt, dass zuerst Flavokavin A und dann erst die Kavapyrone in den verschiedenen Fraktionen nachweisbar sind. Die Trennung war jedoch nur unvollständig.



**Abbildung 66:** Retentionsverhalten von Kava-Kava Inhaltsstoffen bei Verwendung von Bleicherde als Adsorbensmittel



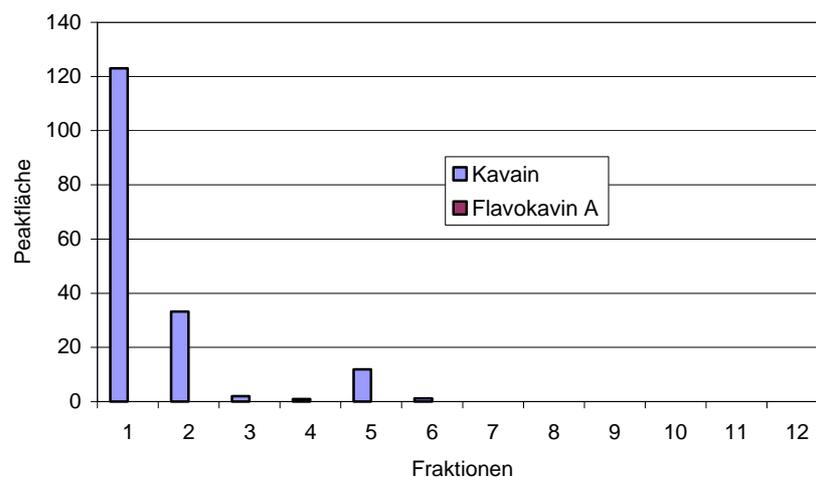
**Abbildung 67:** Retentionsverhalten von Kava-Kava Inhaltsstoffen bei Verwendung von Aluminiumoxid, neutral als Adsorbensmittel



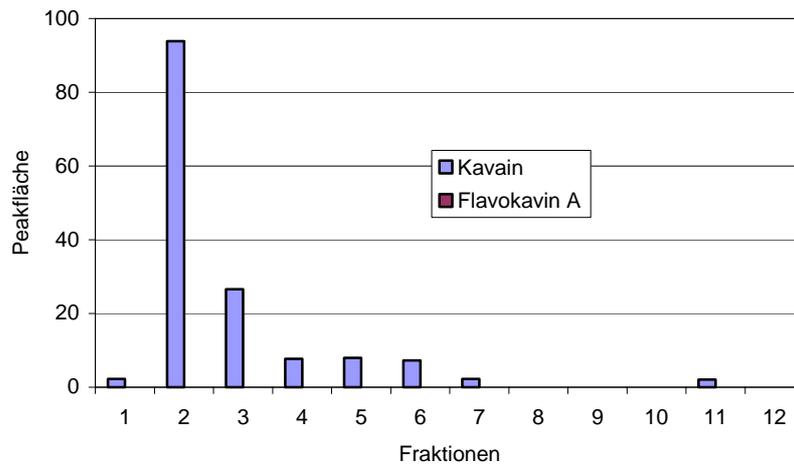
**Abbildung 68:** Retentionsverhalten von Kava-Kava Inhaltsstoffen bei Verwendung von Aluminiumoxid, basisch als Adsorptionsmittel

Bei den beiden Aluminiumoxidarten ergab sich dagegen eine deutliche Trennung. Die Kavapyrone waren in den ersten Fraktionen bereits in großer Menge nachweisbar. Das Flavokavin A kam deutlich getrennt davon in den nachfolgenden Eluaten zum Vorschein. Bei neutralem Aluminiumoxid war dabei ein Nachweis ab der zweiten Fraktion möglich, während bei basischem Aluminiumoxid die Adsorption des Farbstoffes so stark war, dass auch in der 18. Fraktion mit der HPLC kein Farbstoff-Peak erkannt werden konnte.

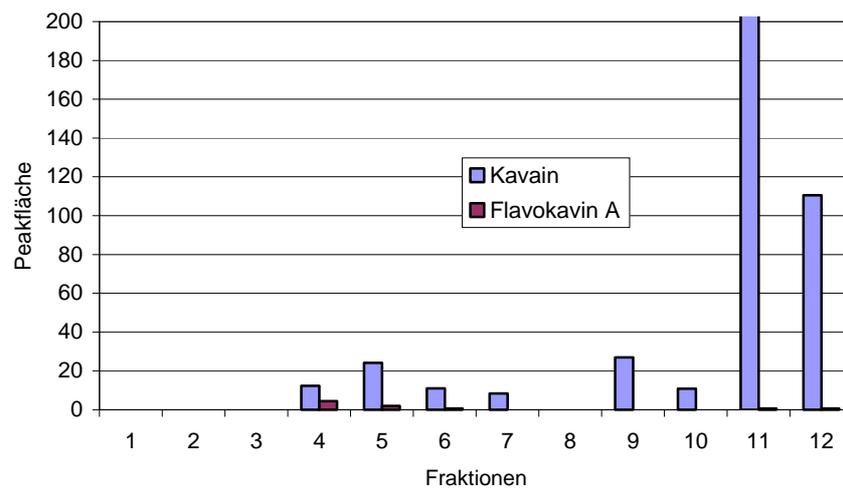
Abbildung 69 bis 71 zeigen die Ergebnisse der Minisäulenchromatographie an den technischen Adsorbentien, die unbehandelt oder basisch verwendet wurden.



**Abbildung 69:** Retentionsverhalten von Kavain und Flavokavin A bei Verwendung von Aluminiumoxid (Alcoa), unbehandelt als Adsorptionsmittel



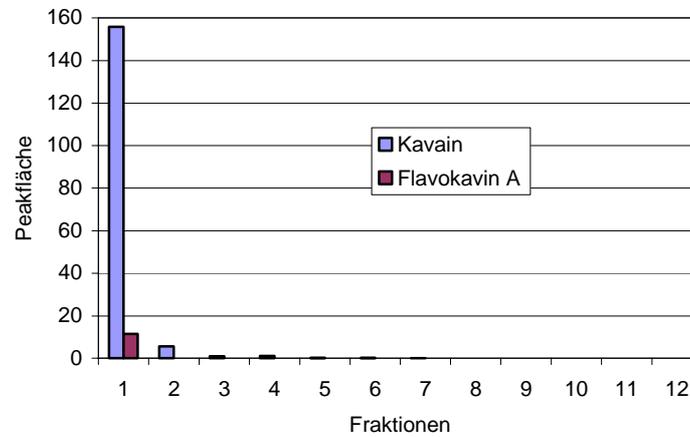
**Abbildung 70: Retentionsverhalten von Kavain und Flavokavin A bei Verwendung von Aluminiumoxid (Alcoa), basisch als Adsorptionsmittel**



**Abbildung 71: Retentionsverhalten von Kavain und Flavokavin A bei Verwendung von Bleicherde, basisch als Adsorptionsmittel**

Bei den beiden basischen Adsorptionsmitteln, dem Aluminiumoxid und der Bleicherde kam es zu einer verstärkten Adsorption des Kavains. Diese Substanz gelangte trotz der polareren Fließmittel erst deutlich später ins Eluat als bei den unbehandelten Oberflächen. Das Flavokavin A war beim Aluminiumoxid in keiner der Fraktionen nachweisbar und demzufolge sehr stark an das Adsorbens gebunden. Die Wirksamkeit dieser Oberfläche ist mit der des basischen Labormaterials vergleichbar. Bei der Bleicherde gelangten Farbstoff und Wertstoffe gleichzeitig in die 4. Fraktion, so dass hier die Trennung nur unvollständig ist. Das

Retentionsverhalten der Kava-Kava-Inhaltsstoffe bei Verwendung von Mullit M72 der Firma Nabaltec in Schwandorf als Adsorptionsmittel zeigt **Abbildung 72**.



**Abbildung 72: Retentionsverhalten von Kavain und Flavokavin A bei Verwendung von Mullit M72 als Adsorptionsmittel**

Kavain war hier in großer Menge in der ersten Fraktion nachweisbar, ebenso der Farbstoff Flavokavin A. Die nachfolgenden Fraktionen sind nahezu frei von diesen Substanzen.

#### 4.3.2 Extraktionen mit reinem CO<sub>2</sub>

##### 4.3.2.1 Optimierung des Extraktionsdruckes

Zur Optimierung des Extraktionsdruckes wurden die in **Tabelle 24** aufgelisteten Extraktionsversuche mit den Nummern 1-6 durchgeführt. Die nachfolgenden Abbildungen zeigen die Anteile der verschiedenen Inhaltsstoffe in den Extrakten sowie die Ausbeuten (**Abbildung 73** und **Abbildung 74**), bezogen auf die im Rohstoff vorliegenden Substanzen. Die Massenausbeute ist in **Abbildung 75** dargestellt und die zugehörigen Zahlenwerte sind der **Tabelle 47** zu entnehmen.

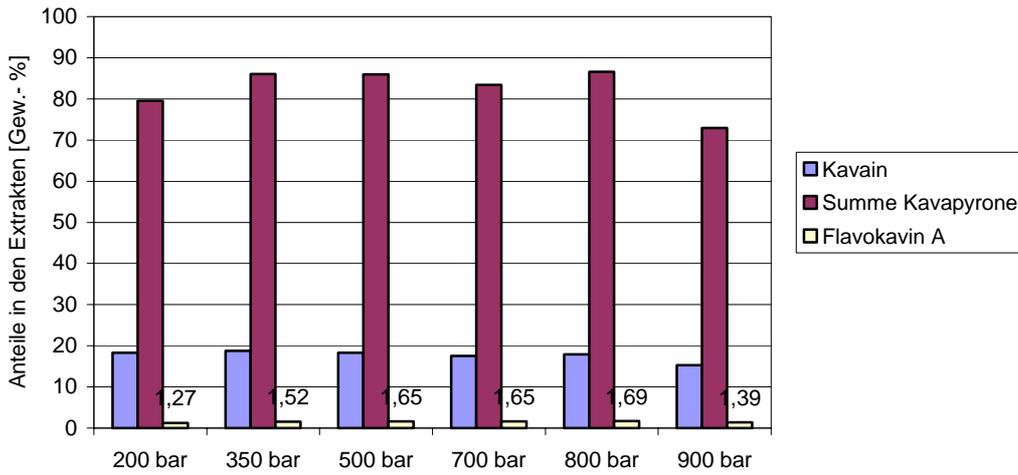


Abbildung 73: Anteile an Kava-Kava-Inhaltsstoffen im Extrakt

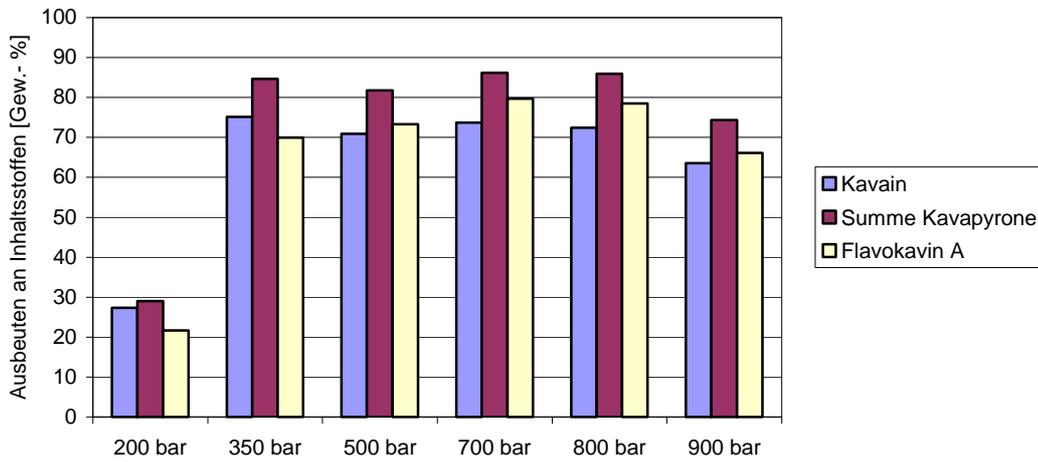


Abbildung 74: Ausbeuten an Kava-Kava-Inhaltsstoffen mit steigendem Extraktionsdruck

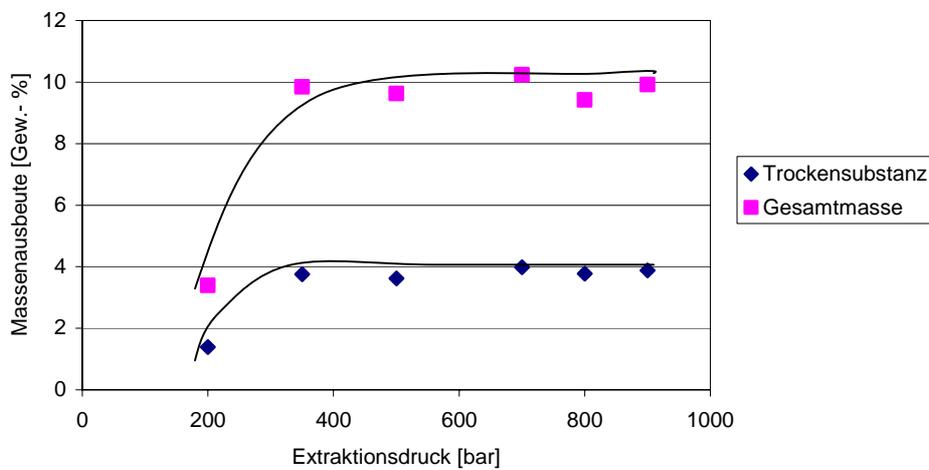


Abbildung 75: Massenausbeute bei der Extraktion mit steigendem Extraktionsdruck

Die Anteile an Kavapyronen in den einzelnen Extrakten waren im wesentlichen gleich hoch und betragen ca. 80 Gew.-%. Eine leichte Abnahme war nur bei 900 bar Extraktionsdruck zu verzeichnen. Der Gehalt an Kavain war dabei zwischen 15 und 19 Gew.-% ebenfalls sehr konstant. Ein maximaler Wert für das Flavokavin A im Extrakt wurde bei 500 bar Extraktionsdruck mit einer Größenordnung von 1,65 bis 1,70 Gew.-% erreicht. Aus diesem Grund werden in den folgenden Kapiteln nur noch die Zahlenwerte für die Gehalte an Inhaltsstoffen aufgelistet.

Die Ausbeuten an den Inhaltsstoffen in Bezug auf deren Mengen im Rohstoff sowie die Massenausbeuten stiegen bei Erhöhung des Extraktionsdruckes von 200 auf 350 bar stark an, wobei die Ausbeute an Kavapyronen ab diesem Punkt relativ konstant bei über 80 % lag. Die Ausbeute an Flavokavin A erhöhte sich dagegen noch bis 700 bar und fiel bei 900 bar Druck etwas ab, wie auch die Ausbeute an Kavapyronen. Die Ausbeute an Trockenmasse pendelte sich ab 350 bar Extraktionsdruck bei einem Wert von knapp 4 % ein. Die Ausbeute an Gesamtmasse lag aufgrund des extrahierten Wassers entsprechend höher bei etwa 10 %.

Für die nachfolgenden Extraktionen wurde ein Extraktionsdruck von 700 bar bei weiterhin konstanten Parametern ausgewählt. **Abbildung 76** zeigt einen bei den angegebenen Bedingungen und 700 bar produzierten Extrakt nach der Trocknung. Die Konsistenz war krümelig, und der Extrakt wies eine intensive Gelbfärbung auf.



**Abbildung 76: Kava-Kava-Extrakt**

#### 4.3.2.2 Optimierung der Extraktionszeit

Bei der Optimierung der Extraktionszeit (Versuche 7-10) sind die Ausbeuten an Inhaltsstoffen und Massen in **Abbildung 77** und **Abbildung 79** dargestellt, die Anteile der Kavapyrone und des Flavokavin A im Extrakt sind in **Abbildung 78** zu sehen, die Zahlenwerte sind in **Tabelle 48** zusammengestellt.

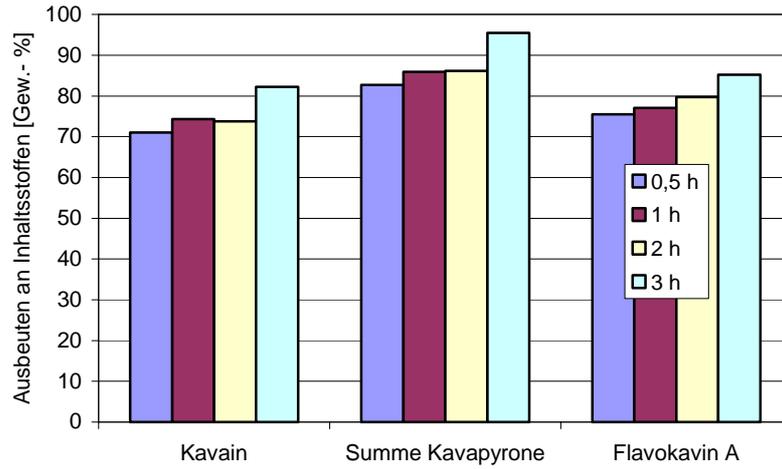


Abbildung 77: Ausbeuten an Inhaltsstoffen bei steigender Extraktionszeit

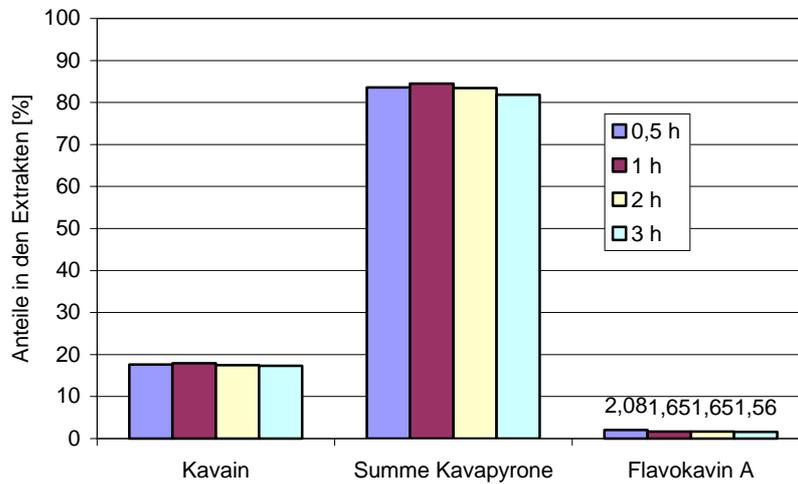


Abbildung 78: Inhaltsstoffgehalte der Extrakte bei steigender Extraktionszeit

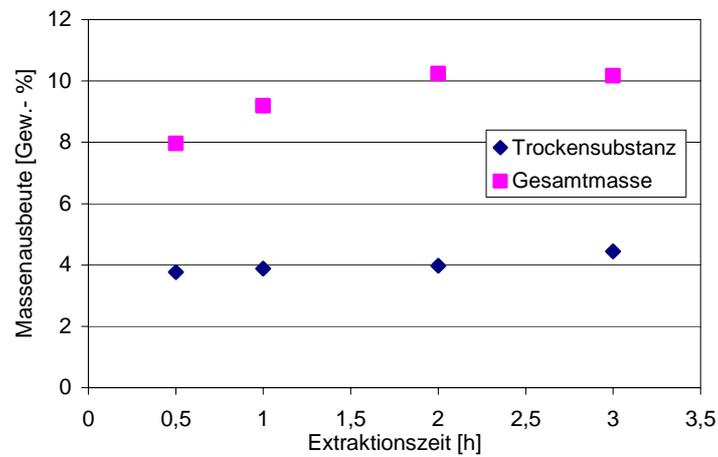
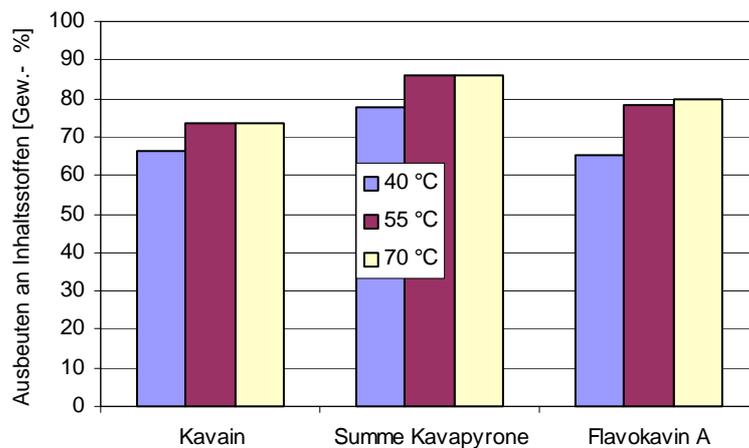


Abbildung 79: Massenausbeuten mit steigender Extraktionszeit

Die Inhaltsstoffgehalte der Extrakte unterschieden sich nicht von denjenigen der Versuche 1-6. Die Ausbeute stieg mit zunehmender Extraktionsdauer bis 3 h an, wobei zwischen 2 und 3 Stunden Extraktionszeit ein stärkerer Anstieg zu verzeichnen war. Im Hinblick auf die gewünschte Entfärbung der Extrakte wurde die Extraktionszeit jedoch auf 2 h begrenzt, da bei längerer Extraktion auch mehr Flavokavin A in den Extrakt gelangte. Die Massenausbeute stieg ebenfalls bis 3 h noch an, wobei die maximal mögliche Gesamtmasse bei 2 h bereits erreicht war.

#### 4.3.2.3 Optimierung der Extraktionstemperatur

Die prozentualen Ausbeuten an den verschiedenen Inhaltsstoffen und die Inhaltsstoffgehalte im Extrakt sowie die Massenausbeuten der Versuche 11-13 sind in **Abbildung 80** bis **Abbildung 82** zu sehen, die Zahlenwerte sind in **Tabelle 49** aufgelistet.



**Abbildung 80: Ausbeuten an Kava-Kava-Inhaltsstoffen im Extrakt**

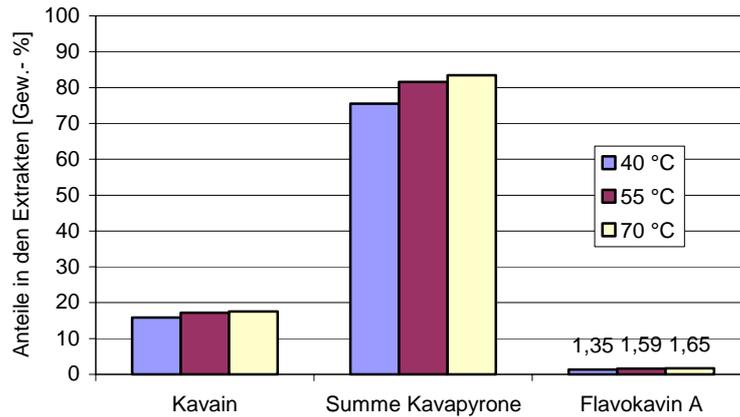


Abbildung 81: Anteile an Kava-Kava-Inhaltsstoffen im Extrakt bei steigender Temperatur

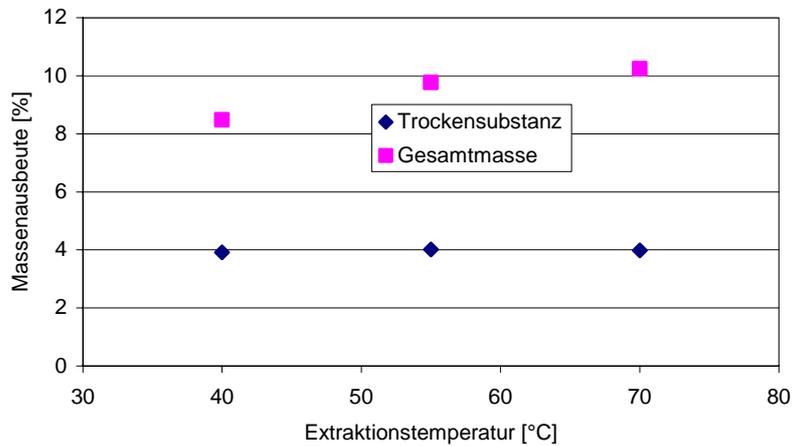


Abbildung 82: Massenausbeuten mit steigender Extraktionstemperatur

Die Stoffgehalte der Extrakte stiegen mit zunehmender Temperatur deutlich an bis zu einem Maximalwert von über 80 % an Kavapyronen bei 70 °C. Die Ausbeute an den Kavapyronen und Flavokavin A stieg dagegen oberhalb von 55 °C nicht mehr an. Auch die Trockenmassenausbeuten zeigten keine Steigerung bei höheren Temperaturen, aber es wurde deutlich mehr Gesamtmasse, hauptsächlich Wasser, extrahiert.

### 4.3.3 Kombination von Extraktion und Adsorption

#### 4.3.3.1 Extraktion mit Aluminiumoxid als Adsorptionsmittel

Nachdem die Versuchsbedingungen für die Extraktion von Kava-Kava-Rhizoma auf die Temperatur von 70 °C und die Extraktionszeit von 2 h festgelegt worden waren, wurden verschiedene Versuche zur Extraktion mit Adsorptionsmittel durchgeführt werden (Versuche 14-35). Die hier angegebenen Verluste beziehen sich dabei auf die im vorangegangenen Kapitel beschriebenen Extraktionen mit reinem CO<sub>2</sub> ohne die Verwendung von Adsorptionsmittel, welche als 100 % angenommen werden.

Das Aluminiumoxid war nach der Extraktion relativ gleichmäßig gelb gefärbt (siehe **Abbildung 83**)



**Abbildung 83: Aluminiumoxid vor (links) und nach der Extraktion von Kava-Kava**

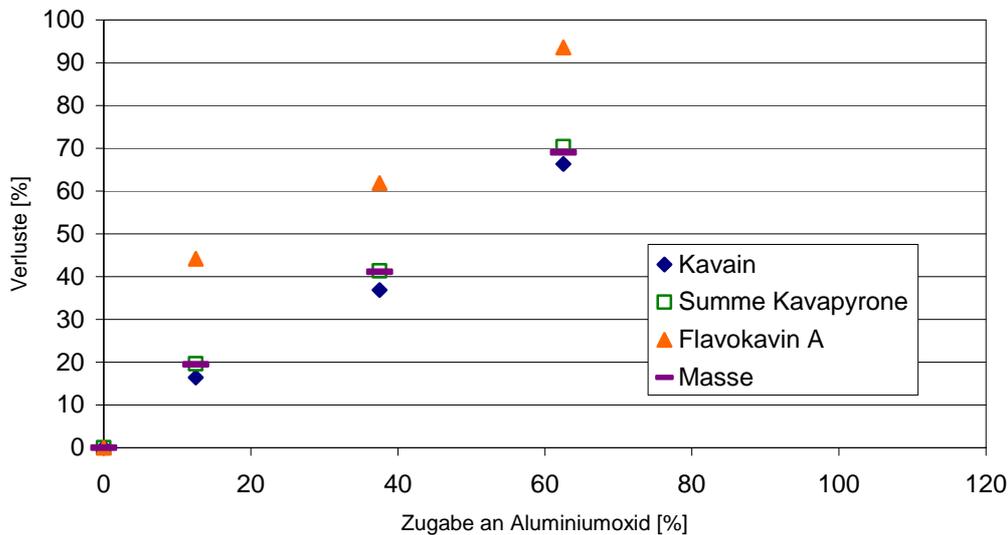
Die bei 700 bar produzierten Extrakte sind in **Abbildung 84** gezeigt. Die an Flavokavin A verarmten Produkte sind dabei auch optisch erkennbar deutlich heller als die reinen CO<sub>2</sub>-Extrakte und von sehr flüssiger Konsistenz. Im Gegensatz dazu sind die ohne Adsorbens hergestellten Extrakte meist von sehr krümeliger Struktur, vor allem nach einer mehrstündigen Kühlung.



**Abbildung 84: Extrakte, hergestellt bei 700 bar, Aluminiumoxidzugabe von links nach rechts steigend**

### 350 bar Extraktionsdruck

In **Abbildung 85** sind die verschiedenen Verluste an Inhaltsstoffen sowie an Masse in Prozent dargestellt. Die Stoffgehalte in den Extrakten sowie die genauen Zahlenwerte sind in **Tabelle 50** zu finden.



**Abbildung 85: Adsorptionsverluste an Inhaltsstoffen und Masse bei 350 bar Extraktionsdruck**

Die Verluste an Massen und Inhaltsstoffen stiegen fast linear und mit annähernd identischer Steigung an. Bei 62,5 % Aluminiumoxidzugabe war ein relativ hoher Verlust von ca. 70 % an Stoffen erreicht. Der Verlust an Flavokavin A war ca. 20 % höher und erreichte Werte von über 90 %. Im Extrakt ergab sich dabei ein Anteil von nur noch 0,32 % im Vergleich zu 1,52 % ohne Adsorptionsmitteleinsatz.

### 500 bar Extraktionsdruck

Die gleiche Versuchsreihe wurde mit einem Extraktionsdruck von 500 bar wiederholt. Die Ergebnisse der Versuche sind in **Abbildung 86** und **Tabelle 51** dargestellt.

Auch bei 500 bar Extraktionsdruck stiegen die Verluste an Kava-Kava-Inhaltsstoffen und an Masse gleichförmig linear, wenn auch mit deutlich geringerer Steigung, d. h. die Verluste waren nicht mehr so groß. Der Anteil an Flavokavin A im Extrakt konnte nur noch von 1,65 Gew.-% auf Werte von ca. 0,65 Gew.-% gesenkt werden und wuchs bei weiterer

Aluminiumoxidzugabe wieder an. Insgesamt war eine deutlichere Trennung von Kavapyronen und Flavokavin A zu verzeichnen.

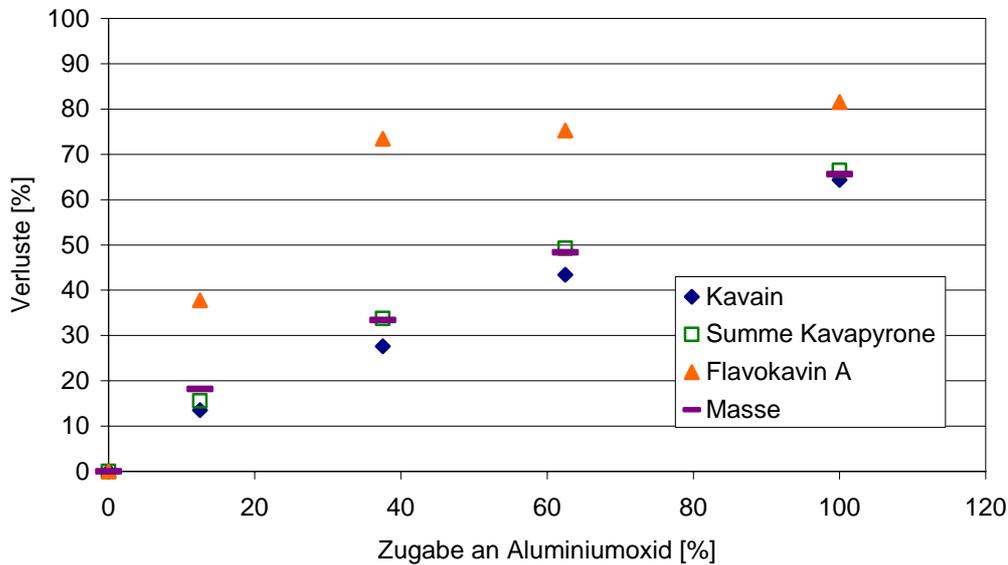


Abbildung 86: Verluste an Inhaltsstoffen und Masse bei 500 bar Extraktionsdruck

#### 700 bar Extraktionsdruck

Die Ergebnisse der Versuche bei 700 bar Extraktionsdruck sind in **Abbildung 87** und **Tabelle 52** dargestellt.

Eine weitere Absenkung der Verluste an Kavapyronen ist deutlich zu erkennen, d. h. die Kurven der Verluste an Flavokavin A und derjenigen an Flavokavinen liegen weiter auseinander als bei niedrigeren Extraktionsdruckwerten. Eine Absenkung des Flavokavin A-Gehaltes in den produzierten Extrakten war bis auf Werte um 0,4 **Gew.-%** möglich. Die Einbußen an Kavapyronen waren dabei größer als 30 %.

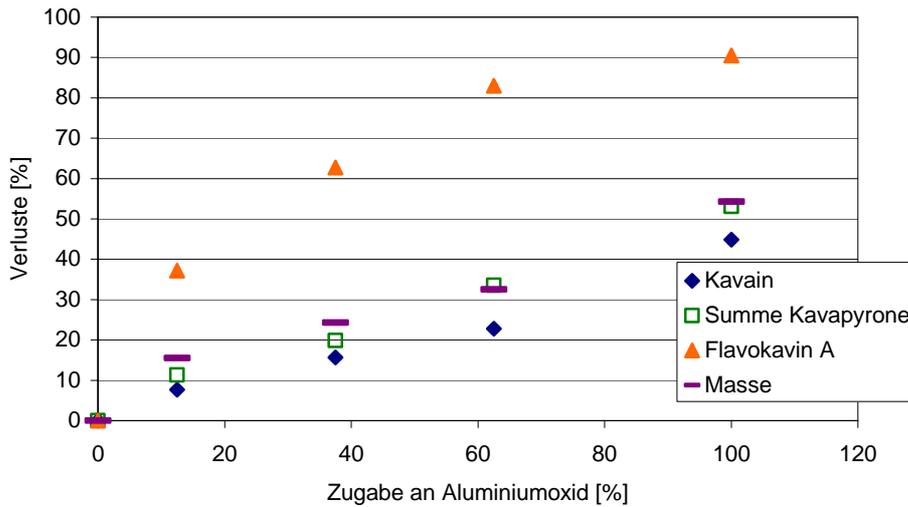


Abbildung 87: Verluste an Inhaltsstoffen und Masse bei 700 bar Extraktionsdruck

#### 900 bar Extraktionsdruck

Die Versuchsreihe wurde noch einmal bei einem Extraktionsdruck von 900 bar durchgeführt. In den Versuchen 1-8 war jedoch bereits ein Rückgang der Gesamtausbeute bei 900 bar registriert worden. Die Extraktionsbedingungen waren deshalb von vornherein als nicht optimal anzusehen. Der Grad an Trennung von Kavapyron- und Flavokavinfraktion ist in **Abbildung 88** und **Tabelle 53** dargestellt.

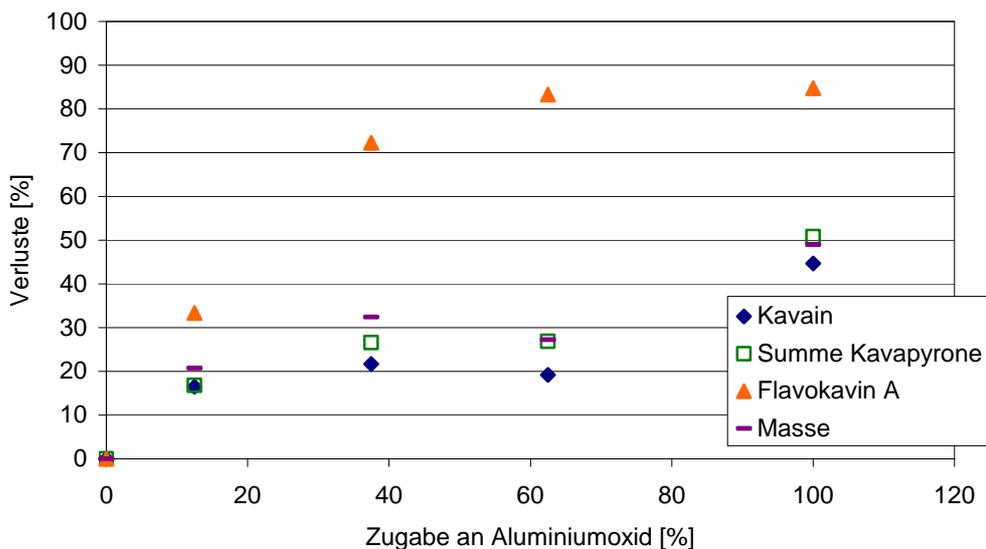
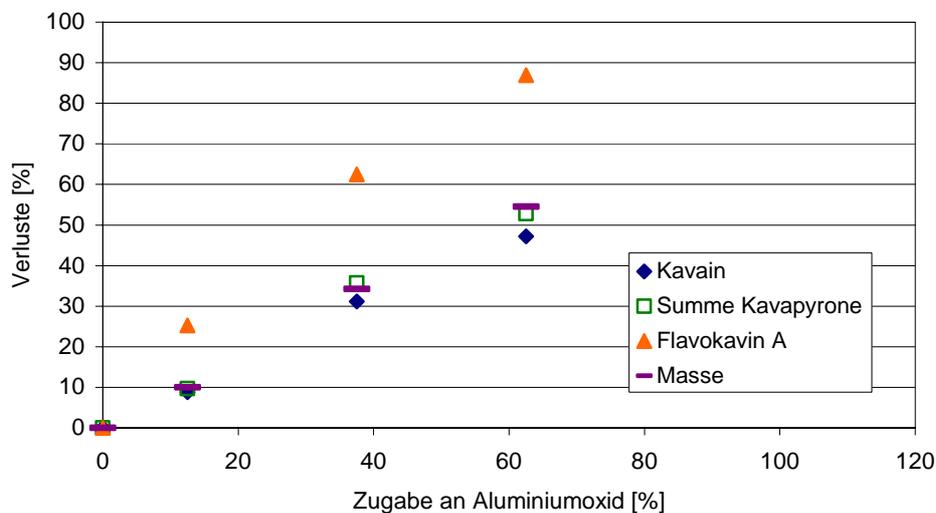


Abbildung 88: Verluste an Inhaltsstoffen und Masse bei 900 bar Extraktionsdruck

Die Verluste an Inhaltsstoffen konnten im Vergleich zu 700 bar Extraktionsdruck nicht weiter gesenkt werden. Die Entfärbung der Extrakte war mit derjenigen in den anderen Versuchsreihen vergleichbar, und die produzierten Extrakte wiesen einen Flavokavin A-Gehalt von unter 0,4 Gew.-% auf.

#### Umkehrung der Extraktionsrichtung

Die durchgeführten Versuche 29-31 wurden mit den in **Tabelle 24** aufgelisteten Bedingungen durchgeführt. Die erhaltenen Ergebnisse zeigt die **Tabelle 54** und **Abbildung 89**.

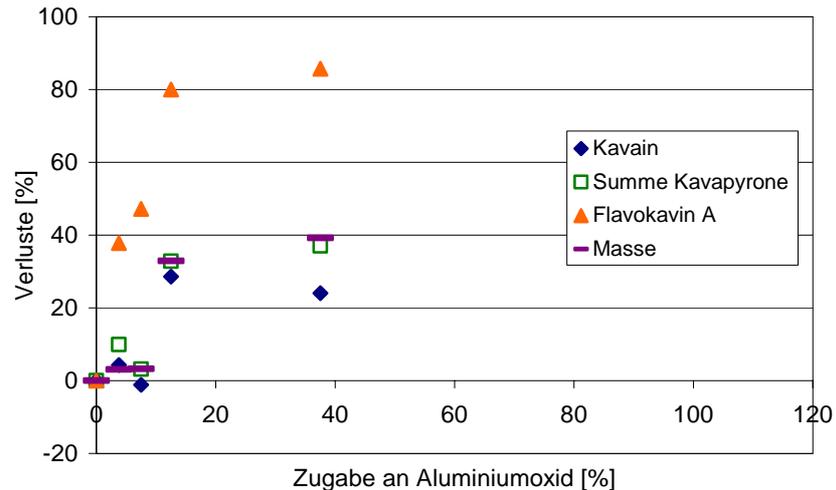


**Abbildung 89:** Verluste an Inhaltsstoffen und Masse bei 700 bar Extraktionsdruck, extrahiert von oben nach unten

Die Schaffung eines Festbettes zur Adsorption hatte keine erkennbaren Auswirkungen auf die Entfärbung der Extrakte. Eine Absenkung des Flavokavin A-Gehaltes auf weniger als 0,5 Gew.-% war nur unter erheblichen Verlusten an Kavapyronen möglich.

#### Änderung der Korngröße des Aluminiumoxides

Bei den Versuchen 32-35 konnten die in **Abbildung 90** und **Tabelle 55** dargestellten Ergebnisse erzielt werden.



**Abbildung 90: Verluste an Inhaltsstoffen und Masse bei Variation der Korngröße des Adsorbens**

Es ist zu erkennen, dass die Reduzierung des Flavokavin A-Gehaltes bereits bei deutlich geringeren Aluminiumoxidmengen möglich ist. Hier ist auch nur ein geringer Verlust an Wertstoffen gegeben. Eine Entfernung des Flavokavin A ist aber auch hier nur bis zu ca. 85 % bei einem Verlust von über 30 Gew.-% der Kavapyrone möglich. Dies entspricht einem Flavokavin A-Gehalt des Extraktes von ca. 0,4 Gew.-%.

#### 4.3.3.2 Einsatz von Bleicherde als Adsorptionsmittel

Die Verluste an Kava-Kava Inhaltsstoffen mit steigender Bleicherdemenge sind in **Abbildung 91** dargestellt, die Zahlenwerte in **Tabelle 56** aufgelistet (Versuche 36-38). Bleicherde als Adsorptionsmittel führte zu keiner Trennung von Flavokavin A und Kavapyronen, da sich die Verluste durch Adsorption der beiden Substanzen in einer ähnlichen Größenordnung befinden. Die Laborversuche mit Minisäulen wurden damit bestätigt.

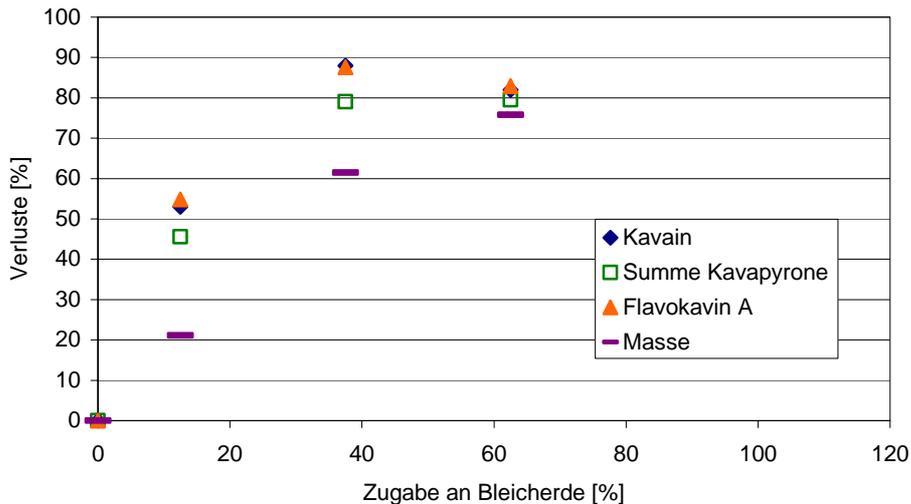


Abbildung 91: Verluste an Inhaltsstoffen bei Bleicherde als Adsorptionsmittel

#### 4.3.4 Extraktionsversuche mit Modifier

Zunächst wurden Versuche ohne Adsorbens mit Ethanol als Modifier durchgeführt. Die Mengenangaben beim Modifier beziehen sich immer auf die Rohstoffeinwaage und sind in Gew.-% angegeben.

##### 350 bar Extraktionsdruck

Die Extraktionserfolge bei 350 bar Extraktionsdruck sind in **Abbildung 92** dargestellt, die genauen Zahlenwerte stehen in **Tabelle 32** (Versuche 39 und 40). Die Zugabe einer Menge an Modifier von 12,5 und 25 % erhöhte die Ausbeuten an Kava-Kava Inhaltsstoffen bei 350 bar Extraktionsdruck im Vergleich zu den Versuchen ohne Modifier deutlich. Besonders das Flavokavin A wurde zu fast 100 % im Extrakt nachgewiesen, und die Kavapyrone wurden ebenfalls nahezu vollständig extrahiert. Der Gehalt an Flavokavin A im getrockneten Extrakt steigt damit auf knapp 1,9 Gew.-%. Da jedoch mit zunehmender Oberflächenbelegung des Adsorptionsmittels mit einer Abnahme der Wirksamkeit zu rechnen war, wurden die nachfolgenden Versuche mit 12,5 % Modifier durchgeführt.

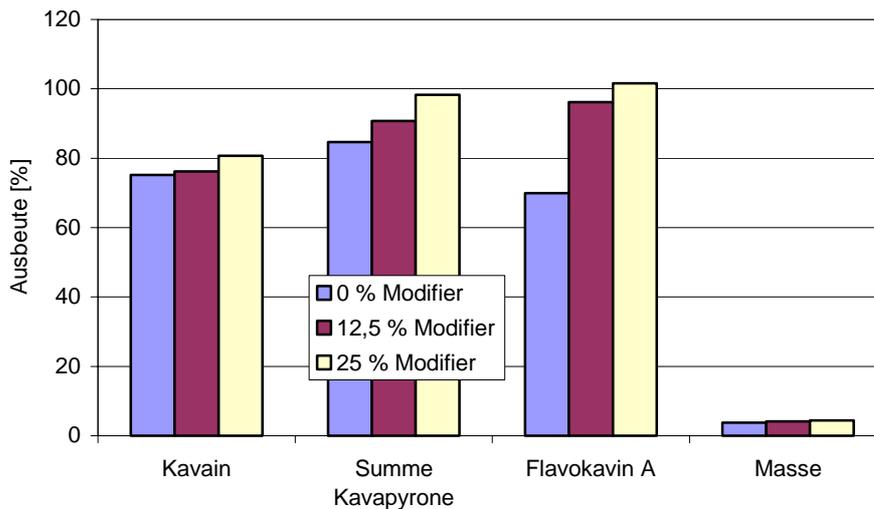


Abbildung 92: Ausbeute an Inhaltsstoffen und Masse bei Modifiereinsatz (350 bar)

Tabelle 32: Ausbeuten und Gehalte bei Einsatz von Ethanol als Modifier (350 bar)

Modifizierzugabe [%]	0	12,5	25,0
<b>Inhaltsstoffanteile im Extrakt [Gew.-%]</b>			
<b>Kavain</b>	18,74	17,17	17,15
<b>Summe Kavapyrone</b>	86,00	83,31	85,10
<b>Flavokavin A</b>	1,52	1,88	1,88
<b>Ausbeuten an Inhaltsstoffen [Gew.-%]</b>			
<b>Kavain</b>	75,17	76,19	80,74
<b>Summe Kavapyrone</b>	84,66	90,72	98,29
<b>Flavokavin A</b>	69,91	96,14	101,61
<b>Trockenmasse</b>	3,75	4,15	4,40

Die Extrakte sind in **Abbildung 93** zu sehen. Nach einer Standzeit von ca. 60 Minuten war eine deutliche Trennung in 2 Phasen zu beobachten. Eine Analyse der Ethanolphase ergab einen Anteil von ca. 15 Gew.-% der extrahierten Kavapyrone sowie etwa dieselbe Menge des extrahierten Flavokavin A darin gelöst. Die Analyse des abgefilterten Extraktes bestätigt dies, die gefundenen Inhaltsstoffmengen lagen etwa 10 % niedriger als die der homogenisierten Extrakte. Die Reduzierung des Flavokavin A-Gehaltes war dabei nur minimal.



Abbildung 93: Extrakt, hergestellt mit Modifier (12,5 %), nach der Extraktion (links) und nach 30 min

#### 700 bar Extraktionsdruck

Bei höherem Extraktionsdruck stieg die Ausbeute mit Zugabe von Ethanol als Modifier ebenfalls an (Abbildung 94, Tabelle 33). Beim Flavokavin A wurde wieder eine fast vollständige Extraktion erreicht, was einen Anstieg des Extraktgehaltes auf 1,8 Gew.-% zur Folge hat.

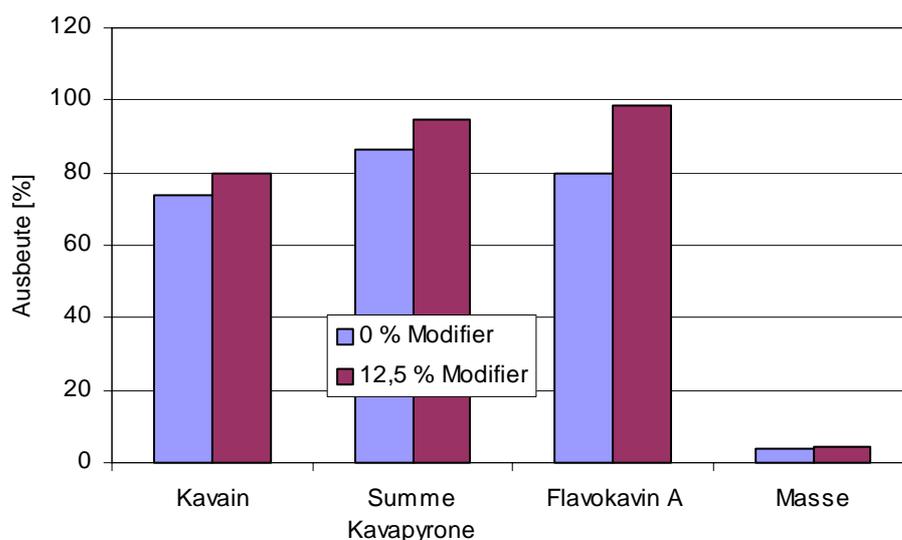


Abbildung 94: Ausbeute an Inhaltsstoffen und Masse bei Modifiereinsatz (700 bar)

Tabelle 33: Ausbeuten und Gehalte bei Einsatz von Ethanol als Modifier (700 bar)

Modifierzugabe [%]	0	12,5
<b>Inhaltsstoffanteile im Extrakt [Gew.-%]</b>		
<b>Kavain</b>	17,51	16,71
<b>Summe Kavapyrone</b>	83,42	80,67
<b>Flavokavin A</b>	1,65	1,84
<b>Ausbeuten an Inhaltsstoffen [Gew.-%]</b>		
<b>Kavain</b>	73,74	79,95
<b>Summe Kavapyrone</b>	86,20	94,68
<b>Flavokavin A</b>	79,73	98,77
<b>Trockenmasse</b>	3,98	4,47

#### 4.3.5 Kombination von Modifier- und Adsorptionsmitteleinsatz

##### 350 bar Extraktionsdruck

Die Verluste an Kava-Kava-Inhaltsstoffen sind in **Abbildung 95** graphisch dargestellt und die dazugehörenden Zahlenwerte in **Tabelle 57** aufgelistet.

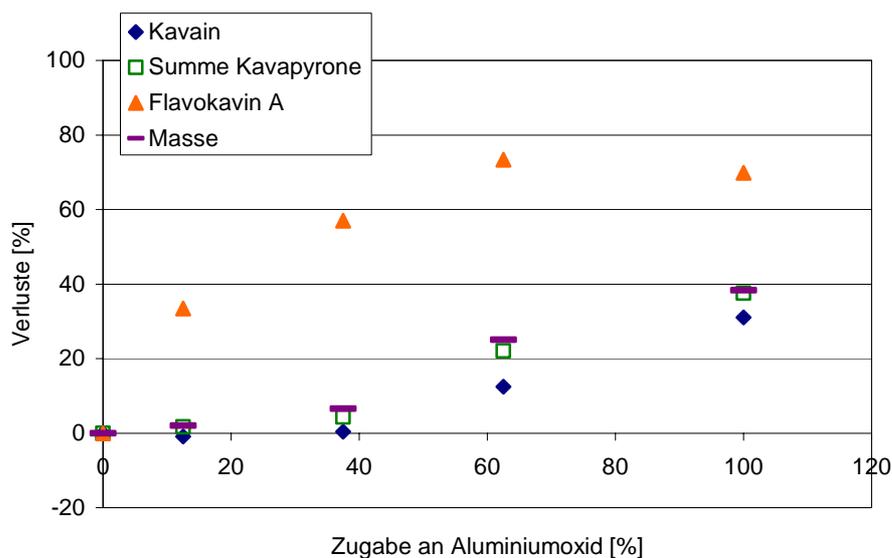
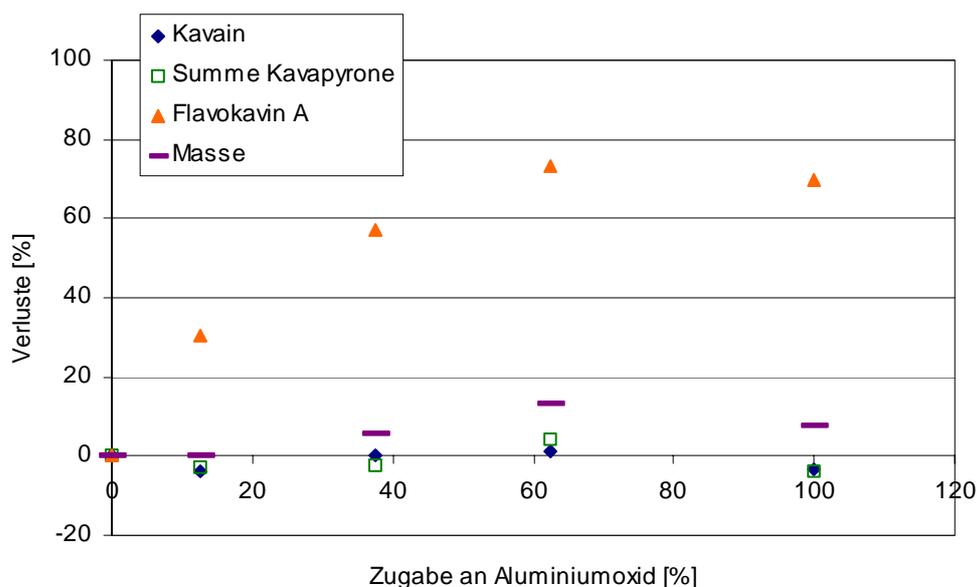


Abbildung 95: Verluste an Inhaltsstoffen und Masse bei 350 bar und Modifiereinsatz

Die Verluste an Kavapyronen waren bis zu einer Aluminiumoxidzugabe von 37,5 % vernachlässigbar gering. Die Entfärbung erreichte hier schon einen Wert von über 55 %. Bei höhere Mengen an Adsorptionsmittel steigen auch die Verluste an Kavapyronen an, jedoch im Vergleich zu den vorangegangenen Versuchen mit reinem CO<sub>2</sub> nur gering. Es war eine Entfärbung bis auf einen Gehalt an Flavokavin A von 0,7 Gew.-% bei einem Verlust an Kavapyronen von knapp über 20 % möglich.

#### 700 bar Extraktionsdruck

Die identische Versuchsreihe wurde nun auch bei einem Extraktionsdruck von 700 bar durchgeführt. Die Ergebnisse zeigen **Abbildung 96** und **Tabelle 58**.



**Abbildung 96: Verluste an Inhaltsstoffen und Masse bei 700 bar und Modifiereinsatz**

Die Verluste an Kavapyronen waren bei allen Versuchen dieser Reihe sehr gering oder nicht messbar. Auch die Zugabe von 100 % Aluminiumoxid zum Rohstoff hatte bei diesen Bedingungen keine Wirkstoffverluste zur Folge. Die Entfernung von Flavokavin A konnte jedoch nicht über Werte von 70 % gesteigert werden. Die Extrakte weisen damit einen Anteil von <0,6 Gew.-% an Flavokavin A auf (**Abbildung 97**).



**Abbildung 97: Extrakt ohne (links) und mit 62,5 % Adsorbens bei 700 bar und mit 12,5 % Modifier hergestellt**

## 5 Diskussion

### 5.1 Grüner Tee

Mit reinem CO<sub>2</sub> ist auch bei hohen Extraktionsdruckwerten nur eine Extraktion von Coffein möglich. Die Catechine sind aufgrund ihrer starken Polarität im CO<sub>2</sub> gänzlich unlöslich. Der erhaltene Extrakt enthält außer Coffein offensichtlich nur unpolare Stoffe wie Fette, Wachse, Chlorophyll und ähnliches. Aufgrund der geringen Massenausbeuten ist aber auch die Coffeinausbeute nur sehr gering, was durch die Analyse der Extraktionsrückstände bestätigt wurde. Eine Entcaffeinierung des Rohstoffes mit einer einzigen Extraktion ist also unter diesen Bedingungen nicht gegeben. Die Verwendung eines Modifiers sollte die Lösungsmiteigenschaften des CO<sub>2</sub> derart verändern, dass auch polarere Substanzen extrahiert werden können. Der zudosierte Modifier scheidet sich dabei mit dem extrahierten Material in den Abscheidern ab. Damit ist der gewonnene Extrakt stark verdünnt und muss gegebenenfalls getrocknet oder durch die Entfernung von Flüssigkeit aufkonzentriert werden. Die Modifiermenge wurde daher nur bis zu einer als sinnvoll angesehenen Menge erhöht. Die Untersuchungen mit relativ geringen Mengen an Ethanol, Ethanol-Wasser-Mischungen und reinem Wasser haben aber gezeigt, dass damit keine Catechine in den Extrakten der Abscheider nachgewiesen werden können. Lediglich die Löslichkeit des Coffeins in überkritischem CO<sub>2</sub> wurde deutlich erhöht, was durch eine schnellere Entcaffeinierung des HD-Rückstandes sichtbar wurde.

Es ist als unwahrscheinlich anzusehen, dass Coffein mit einem Anteil von 4,5 % im Rohstoff die Catechine, welche immerhin ca. 25 % der Trockensubstanz ausmachen, bei der Extraktion verdrängen kann. Hier spielen hauptsächlich die Löslichkeiten in überkritischem CO<sub>2</sub> bei der Extraktion eine Rolle. Da aber bei den durchgeführten Versuchen oftmals der Rückstand einer Extraktion als Rohstoff für die darauffolgenden Versuche in der Anlage verblieb, war das Material nach wenigen Extraktionen vollständig entcaffeinert. Trotz erhöhter Modifiermenge zeigte sich aber auch hier keine Extraktion der Catechine. Die Versuche haben also bestätigt, dass keine Verdrängung der Catechine durch das Coffein stattgefunden haben kann.

Bei der Extraktion mit reinem Wasser und stark erhöhten Mengen dieses Modifiers konnte zusätzlich ein Extrakt am Extraktorboden abgelassen werden, der nahezu coffeinfrei war und nachweislich Catechine enthielt. Auf diese Art konnten in einem Arbeitsschritt coffeinreduzierte, catechinhaltige Extrakte produziert werden, was in Hinblick auf die mögliche Beeinträchtigung mancher Menschen durch das Coffein durchaus von Vorteil ist. Die Ausbeuten in Bezug auf die eingesetzte Rohstoffmenge waren allerdings nur sehr gering

und diese Extraktionsmethode wäre deshalb sehr kostspielig. Ein Einsatz derartiger Extrakte als Zusatzstoffe für die Lebensmittelindustrie zur Aufwertung der Nahrungsmittel durch Antioxidantien ist damit durch die großen Verluste zu kostenintensiv. Aufgrund der guten Wasserlöslichkeit der Catechine ist es deshalb wahrscheinlich sinnvoller, zuerst den Teerohstoff durch die Behandlung mit überkritischem Kohlendioxid zu entcoffeinieren und dann eine klassische Lösungsmittlextraktion mit Wasser zur Gewinnung der antioxidativ wirksamen Catechine durchzuführen. Die Verfahren für eine solche Entcoffeinierung sind hinreichend beschrieben [BARTH, 1985; FORSTER, 1985]. Durch Entfernung des Wassers kann der Catechingehalt der Extrakte dann beliebig erhöht werden. Dieses Verfahren bedingt deutlich geringere Verluste an Antioxidantien. Der durch die CO<sub>2</sub>-Anreicherung erzielte Inhaltsstoffgehalt der einzelnen Catechine von nur höchstens 3 Gew.-% in den CO<sub>2</sub>-Extrakten kann auch durch die Lösungsmittlextraktion erreicht werden.

Durch den hohen Wasseranteil ergaben sich auf der für die Extraktion mit überkritischem CO<sub>2</sub> ausgelegten Anlage zusätzlich noch technische Probleme. Die Bauweise und der Füllgrad des Extraktors verursachten bei steigender Wassermenge eine Verklebung des Rohstoffes, so dass auch für das CO<sub>2</sub> keine Durchströmung mehr möglich war und der Kohlendioxidstrom zum Erliegen kam. Bei der Extraktion mit klassischen Lösungsmitteln ist es möglich, die Behälter ohne hohe Kosten entsprechend zu dimensionieren, da die Druckauslegung wegfällt. Somit ist es möglich, mit geringeren Anlagekosten größere Chargen zu extrahieren, was eine weitere Kosteneinsparung bewirkt. Außerdem ist das in diesem Fall verwendbare Lösungsmittel Wasser ungefährlich und kostengünstig, was diese Art der Extraktion nochmals erleichtert.

Bei den durchgeführten Versuchen mit geteiltem Extraktoreinsatzkorb konnte ebenfalls ein catechinhaltiger Extrakt produziert werden, die Ausbeuten in Bezug auf die Rohware waren jedoch wieder sehr niedrig. Vor allem für eine Übertragung dieses Extraktionsverfahrens auf eine Produktionsanlage ist die gewonnene Menge an Catechinen zu gering. Außerdem ist durch die extrem hohe Menge an Wasser (Rohstoff:Wasser=1:6) diese Art der Extraktion nahezu als klassische Lösungsmittlextraktion zu sehen. Bei der Lösungsmittlextraktion beträgt das Rohstoff-Wasser-Verhältniss üblicherweise ca. 1:10. Das hier ursprünglich verwendete Lösungsmittel CO<sub>2</sub> bewirkt nur noch den Transport von Wasser in die Abscheider. Das Wasser extrahiert dabei allenfalls den unteren Teil der Rohstoffschüttung, so dass das übrige Material nicht vom Wasser benetzt wird und somit die Ausbeute an den gewünschten Inhaltsstoffen gering ist. Eine Steigerung der Ausbeuten konnte zwar durch eine Erhöhung des Extraktionsdruckes auf 400 bar erreicht werden, jedoch wurde eine Marke von 10 % Ausbeute auch hier nicht überschritten. Selbst bei der maximalen Menge an Modifier,

bei einem Verhältnis von Wasser zu Rohstoff von 11:1, was bereits den Bedingungen einer reinen Wasserextraktion entspricht, betrug die Ausbeute nur knapp 8 %. Eine echte Wasserextraktion wäre aber mit wesentlich weniger technischem Aufwand verbunden.

Resch [2001] hat zwar gezeigt, dass im Prinzip, polarere, wasserlösliche Inhaltsstoffe aus Pflanzenmaterial extrahiert werden können. Diese Methode ließ sich jedoch nicht auf die Inhaltsstoffe des Grünen Tees übertragen. Die Catechine weisen einen  $\delta_2$ -Wert von über 20  $\text{cal}^{0,5}/\text{cm}^{1,5}$  auf. Die Matiko-Inhaltsstoffe dagegen haben weniger stark polarisierende funktionelle Gruppen und  $\delta_2$ -Werte von ca. 18  $\text{cal}^{0,5}/\text{cm}^{1,5}$ . Damit sind die Catechine offenbar zu polar. Überprüfen lässt sich dieser Sachverhalt auch durch einen Vergleich der Retentionszeiten der Inhaltsstoffe bei identischen HPLC-Bedingungen. Hamburger [1999] hat die Analysen von Matiko und Grünem Tee unter identischen Bedingungen durchgeführt. Dabei sind die Retentionszeiten der Catechine deutlich kürzer als die der Matiko-Inhaltsstoffe, was bei den gegebenen Bedingungen eine höhere Polarität bedeutet. Die Experimente haben somit die theoretischen Überlegungen bestätigt. Die Grenze einer Extrahierbarkeit von Inhaltsstoffen auf der verwendeten Technikumsanlage scheint im Bereich zwischen diesen Polaritäten, also zwischen den  $\delta_2$ -Werten von ca. 18 und 20  $\text{cal}^{0,5}/\text{cm}^{1,5}$  zu liegen. Dass die Extraktion des Coffeins durch den Einsatz des Modifiers deutlich verbessert wurde, zeigt, dass auch beim Coffein die Löslichkeit in reinem überkritischem  $\text{CO}_2$  nicht optimal ist. Der molekulare Aufbau mit den beiden Ketogruppen als polare funktionelle Gruppen sowie ein  $\delta_2$ -Wert von 12,96  $\text{cal}^{0,5}/\text{cm}^{1,5}$  ließen dies bereits vermuten. Damit ist Coffein eine in überkritischem  $\text{CO}_2$  mittelmäßig lösliche Substanz. Die Entcaffeinierung von Kaffee und Tee wird in der Literatur in Übereinstimmung mit diesen Ergebnissen immer mit dem Einsatz von Wasser als Schlepptmittel beschrieben. Mit reinem  $\text{CO}_2$  wäre eine vollständige Entcaffeinierung nicht möglich.

Aus der Tatsache, dass sämtliche Catechine im Rückstand nachweisbar waren, lässt sich zusätzlich der Schluss ableiten, dass diese hitzestabil sind. Die Extraktion verlief bei einer Temperatur von 70 °C zum Teil mehr als 3 Stunden lang. Auch oxidative Prozesse finden offensichtlich nicht statt, da ansonsten die Catechine nicht mehr vollständig nachzuweisen wären. Die Umgebungsluft wird vor der Extraktion durch Entlüften der Behälter am oberen Rand durch das  $\text{CO}_2$  verdrängt. Dieser Vorgang entfernt den zur Oxidation notwendigen Luftsauerstoff offensichtlich ausreichend. Wurden Rückstandsproben des Grünen Tees ohne Trocknung in Probenbehältern aufbewahrt, so zeigte sich bereits nach 2 Tagen eine Abnahme der Gehalte an Inhaltsstoffen, und nach weiteren 2-3 Tagen erfolgte das erste Schimmelwachstum unter weiterem Catechinverlust. Dies zeigt die Anfälligkeit der

Inhaltsstoffe gegenüber abiotischer und mikrobieller Zersetzung in Anwesenheit von Sauerstoff und Feuchtigkeit.

## 5.2 Ringelblume

Bei den Versuchen mit reinem CO<sub>2</sub> zeigte sich, dass die maximale Ausbeute an Masse mit ca. 5 %, an Faradiolestern mit etwa 80 % und an Farbstoffen mit einer Extinktion von knapp 1,0 nach etwa 3 h Extraktionszeit erreicht wurde, was 105 kg CO<sub>2</sub>/kg Rohstoff bedeutet. Dagegen hatten Quirin und Gerard [1989] 30 kg CO<sub>2</sub>/kg Rohstoff für eine erschöpfende Extraktion als ausreichend bezeichnet. Diese Abweichung könnte aufgrund der unterschiedlichen Anlagengrößen und -geometrien entstanden sein. Die Versuche von Quirin und Gerard [1989] wurden mit einer Produktionsanlage durchgeführt, während die vorliegende Arbeit mit einer Pilotanlage ermittelt wurden. Der Anstieg der Ausbeute war von einer Extraktionszeit von 2 h an nur noch sehr gering. Für eine technische Anwendung wäre deshalb zu klären, ob die Kosten für die zusätzliche Extraktionszeit von den Rohstoffkosten übertroffen werden. Wahrscheinlich ist es aber durchaus vertretbar, die Extraktionszeit zu reduzieren und damit einen Teil der Faradiolester im Rückstand zu verlieren.

Mit steigendem Extraktionsdruck zeigte sich eine Erhöhung der Ausbeute an Trockenmasse und Farbstoffen bis zu einem Druck von ca. 350 bar. Eine weitere Erhöhung des Extraktionsdruckes hatte keinen Einfluss auf die Ausbeuten mehr. Anders verhielten sich dagegen die Faradiolester. Hier war eine Erhöhung der Ausbeute bis zu etwa 500 bar Extraktionsdruck zu beobachten, wobei Ausbeuten von gut 80 % der im Rohstoff nachgewiesenen Wirkstoffe erreicht wurden. In der oben genannten Literatur wurden abweichend von den hier ermittelten Ergebnissen 350 bar als optimaler Extraktionsdruck ermittelt. Die Ursache könnte darin liegen, dass bei den dort durchgeführten Versuchen ein höherer Extraktionsdruck technisch nicht möglich war. Um jedoch die Wirkstoffe erschöpfend zu extrahieren, ist es nötig, einen Extraktionsdruck von mindestens 500 bar einzusetzen. Auch hier ist aber wieder zu klären, ob der für den höheren Extraktionsdruck nötige technische Aufwand im Verhältnis zu den Rohstoffkosten rentabel ist. Die mit 350 bar Extraktionsdruck mögliche Ausbeute an Faradiolestern von 70 % ist dabei durchaus akzeptabel.

Die Massenausbeute hat sich als nur wenig temperaturabhängig herausgestellt. Sowohl Trocken- als auch Gesamtextrakt blieben bei einer Extraktionstemperatur von 40 bis 60 °C

weitgehend konstant. Die auftretenden Schwankungen der Analysedaten waren möglicherweise eine Folge der unterschiedlichen Rohstoffzusammensetzung innerhalb einer Charge sowie Schwankungen durch die Analysenmethode.

Bei der Ausbeute der Faradiolester war ein deutliches Maximum bei den Extraktionen bei 50 und 60 °C zu sehen; bei Temperaturen ober- sowie unterhalb dieses Bereiches fiel die Ausbeute auf Werte unterhalb von 50 % ab. Im Sinne einer möglichst schonenden Produktbehandlung und niedriger Energiekosten ist jedoch eine Temperatur von 50 °C eher zu empfehlen, da bereits hier die maximale Wirkstoffextraktion erreicht war. Bei 40 °C war eine Löslichkeit der Faradiolester im CO<sub>2</sub> noch nicht optimal, bei 70 °C verschlechterte sich die Löslichkeit in CO<sub>2</sub>, was zu einem Rückgang an Ausbeute führte. Es war aber unter keinen Umständen möglich, über 80 % der im Rohstoff vorliegenden Inhaltsstoffe zu extrahieren.

Insgesamt konnte also gezeigt werden, dass sich mit einem Extraktionsdruck von über 500 bar, 50 °C und einer Extraktionszeit von 2 h eine relativ hohe Ausbeute an Masse sowie Inhaltsstoffen in den produzierten Ringelblumenextrakten erzielen lassen, was die niedrigen  $\delta_2$ -Werte der Faradiolester und auch des  $\beta$ -Carotins als Vertreter der Farbstoffe von 9,3 bzw. 8,84 cal<sup>0,5</sup>/cm<sup>1,5</sup> bereits vermuten ließen. Allerdings konnte nur der Arbeitsbereich der auf der verwendeten Anlage einstellbaren Bedingungen untersucht werden, aber eine Extrapolation der Trendlinien über die Messpunkte hinaus lässt vermuten, dass keine weitere Verbesserung des Extraktionserfolges möglich ist.

Die Vorversuche hatten lediglich bei der Verwendung von Bleicherde eine Trennung der Farbstoffe und der Faradiolester ergeben. Alle anderen untersuchten Adsorptionsmittel waren zu dieser Trennung nicht in der Lage. Aber auch beim Einsatz von Bleicherde zeigte sich bei allen untersuchten Extraktionsdruckwerten eine Abnahme der Massen-, Farbstoff- und Faradiolesterausbeute mit steigendem Anteil des Adsorptionsmittels. Die Abnahme der Extinktion und damit des Farbstoffgehaltes im Extrakt bzw die Zunahme der Adsorption stieg mit steigendem Extraktionsdruck. Möglicherweise verschlechterte sich aufgrund der größeren Dichte und steigenden Polarität des Lösungsmittels als Folge des höheren Extraktionsdruckes die Löslichkeit der Farbstoffe im CO<sub>2</sub>, wodurch die Anlagerung an die Bleicherde verbessert wurde.

Gleichzeitig nahm der Verlust an Faradiolestern mit steigendem Extraktionsdruck ab, d. h. die Anlagerung dieser Substanzgruppe an das Adsorbens wurde mit steigendem Druck geringer, was einer Trennung der Extraktbestandteile zugute kommt. Die Löslichkeit der Faradiolester im überkritischen Kohlendioxid steigt mit zunehmendem Extraktionsdruck. Strukturell ist dies möglicherweise durch die stärkere Polarität der Faradiolester im Vergleich zu den

Farbstoffen zu erklären. Damit ergibt sich eine mit höherem Extraktionsdruck verbesserte Löslichkeit der Ester im Lösungsmittel, welches bei höheren Druckwerten ebenfalls polarer ist.

Die Verwirbelung von Rohstoff und Adsorptionsmittel, durch die möglicherweise Teile des Rohstoffes in der Schüttung an die Oberfläche der Bleicherde gelangten, führte jedoch zu starken Schwankungen der Versuchsdaten sowie zu einer geringen Trennschärfe. Diese Versuchsanordnung ist deshalb beim Einsatz von Adsorbentien im Produktionsmaßstab ungeeignet. Die Trennung der Rohstoff- und der Adsorbenschüttung muss gewährleistet sein. Erreichen ließ sich dies durch die Umkehrung der CO<sub>2</sub>-Flußrichtung, die eine deutliche Steigerung der Trennleistung der Bleicherde zur Folge hatte. Probleme bei der Extraktion durch Verdichtung des Rohstoffes wurden dabei nicht beobachtet. Eine Bleicherdebeladung des Extraktors von 20 % des Rohstoffgewichtes hatte nun bei 800 bar Extraktionsdruck schon eine Extinktion des Extraktes von <0,05 zur Folge, d.h. die Aufnahmefähigkeit für Farbstoffe hatte stark zugenommen; Außerdem fielen die Verwirbelungen weg, was die Schwankungen in den Ergebnissen deutlich reduzierte. Zusätzlich war nun die Adsorptionsmittelschüttung einem Festbett ähnlich, was bei der Adsorption durch die anderen Strömungsverhältnisse zu veränderten Vorgängen führen kann. Dieses Verfahren beeinflusste die Adsorption der Farbstoffe positiv. Die Auswirkungen einer Verwirbelung der Schüttungen können allerdings von denen der Strömungsverhältnisse im Fest- bzw. Wirbelbett nicht mit Sicherheit unterschieden werden. Die Faradiolesterausbeute der Extrakte lag durchgehend bei ca. 70 % der Gesamtmenge im Rohstoff, was einen Verlust an Faradiolestern von nur ca. 30 % bedeutete. Die so hergestellten Extrakte wiesen kaum noch Farbstoffe auf und waren in ihrem Faradiolestergehalt bezogen auf die Extraktmasse sogar angereichert, da die Gesamtmasse geringer war. Dies kann von Vorteil sein, da weitere, eventuell ebenfalls unerwünschte Substanzen durch die Adsorption entfernt werden. Andererseits ist die wundheilende und entzündungshemmende Eigenschaft der Ringelblumenprodukte möglicherweise auch auf Carotin zurückzuführen [HÄNSEL, 1994], so dass die Entfernung der Farbstoffe eventuell auch mit einem Verlust an Wirkstoff verbunden ist.

Eine starke Reduzierung der als unerwünscht betrachteten Farbstoffe im Extrakt war damit möglich, und die störende Gelbfärbung der Ringelblumenprodukte so weitgehend behoben. Die Trennleistung der Bleicherde, die ja bereits in Laborversuchen festgestellt werden konnte, wurde damit bestätigt.

Eine Extraktion unter Einsatz von Ethanol als Modifier bei 350 bar Extraktionsdruck brachte eine Erhöhung der Massen- und Farbstoffausbeute sowie eine Steigerung der

Faradiolesterausbeute auf über 80 % mit sich. Ethanol verbesserte also die Lösungsmittleigenschaften des CO<sub>2</sub> in Bezug auf die beiden beobachteten Stoffgruppen merklich. Dabei war eine Modifizermenge von 20 % der Rohstoffeinwaage durchaus ausreichend. Die Wirkstoffausbeute erreichte damit Werte, die sonst ohne Modifiereinsatz nur bei über 500 bar Extraktionsdruck erreicht werden konnten. Allerdings stellt der Modifiereinsatz einen zusätzlichen Kostenfaktor dar. Die Flüssigkeit gelangt durch die Extraktion in die Abscheider, was einen weiteren Schritt bei der Extraktbehandlung erfordert. Für die meisten Anwendungen müsste Ethanol durch Verdampfung bei niedrigen, produktschonenden Temperaturen entfernt werden. Hier kommt vor allem die teure Methode der Vakuumverdampfung in Betracht. Die Extraktion von Ringelblumeninhaltsstoffen mit Ethanol als Modifier zur Erhöhung der Ausbeuten wäre deshalb wohl nicht rentabel.

Im weiteren Verlauf wurde nun untersucht, inwieweit eine Kombination der Adsorption mit dem Einsatz eines Modifiers sinnvoll ist. Theoretisch ist eine Flüssigkeitszugabe zu einem aktiven Adsorptionsmittel bei gleichzeitiger Erhaltung der Wirksamkeit nur in geringem Maße möglich. Die Moleküle der Flüssigkeit belegen die aktive Oberfläche und inaktivieren auf diese Weise das Adsorbens. Die verringerte Trockensubstanzausbeute bei dieser Versuchsreihe zeigte aber die Wirksamkeit der Bleicherde trotz der zusätzlichen Inaktivierung durch den Modifier. Auch eine Reduzierung der Extinktion der Extrakte bei gleichzeitiger Beibehaltung der Faradiolesterausbeute von knapp 80 % war bei 350 bar Extraktionsdruck möglich. Allerdings war eine größere Menge an Adsorptionsmittel nötig als bei den vergleichbaren Versuchen ohne Modifier. Eine Entfärbung von ca. 80 % wurde durch einen relativ hohen Bleicherdeinsatz auch bei geringem Extraktionsdruck ermöglicht. Die Bleicherde zeigte also durchaus eine Inaktivierung durch den Modifier, aber eine Adsorption der Farbstoffe war immer noch möglich. Gleichzeitig war die Gesamtausbeute an Faradiolestern genauso hoch wie bei den Versuchen ohne Modifier und 800 bar Extraktionsdruck. Da ein Extraktionsdruck von 800 bar im Produktionsmaßstab nur unter hohem technischem Aufwand erreicht werden kann, ist mit dem Einsatz eines Modifiers eine alternative Methode zur Aufhellung der Extrakte bei realisierbarem Extraktionsdruck gefunden. Eventuell ist es auch nicht nötig, die Extrakte vollständig zu entfärben, da auch die Carotinoide antioxidativ wirken und somit ebenfalls einen Nutzen in diesen Extrakten haben. Zur Überwindung der Probleme einer zu kräftigen Färbung oder der Notwendigkeit einer Standardisierung des Produktes in Hinblick auf Farbeinheiten kann aber durchaus auch im Produktionsmaßstab eine Farbdeuzierung durch den Einsatz von Bleicherde und Modifier bewirkt werden. Zusätzliche Kosten entstehen nur durch die Entfernung des Modifiers, da die

Faradiolester nur geringfügig adsorbiert werden. Durch Mischung verschiedener Extraktchargen könnten die Extrakte dann auf bestimmte Farbeinheiten hin eingestellt werden.

Eventuell könnte sich noch die Möglichkeit ergeben, bestimmte Carotinoide, vor allem das  $\beta$ -Carotin als weitere Wertfraktion vom Adsorbens durch Lösungsmittlextraktion wiederzugewinnen und somit einen zusätzlichen Nutzen aus diesem Verfahren zu ziehen. Die Messung der Extinktion ergibt lediglich einen Summenwert für alle rötlich gefärbten Bestandteile des Extraktes. Zur Analyse des  $\beta$ -Carotins als zusätzlicher Wertfraktion müssten deshalb weitere Analysen durchgeführt werden. Allerdings sollte zusätzlich durch Wirksamkeitstests herausgefunden werden, inwieweit eine Entfärbung die Wirksamkeit der Ringelblumenextrakte beeinflusst. Eventuell bestehen Wirkmechanismen bei der Anwendung entsprechender Produkte, welche durch die Verringerung des Farbstoffgehaltes verändert werden und somit die Wirksamkeit der Extrakte negativ beeinflussen könnten. Sollte sich keine messbare Änderung in der Wirksamkeit von gefärbten und entfärbten Extrakten zeigen, liegt der Schluss nahe, dass die Faradiolester tatsächlich die pharmakologisch interessanten Verbindungen in der Ringelblume sind.

### 5.3 Kava-Kava

Die Extraktionen mit reinem  $\text{CO}_2$  zeigten eine sehr gute Löslichkeit aller Kava-Kava-Inhaltsstoffe im überkritischen  $\text{CO}_2$ , was bei den niedrigen  $\delta_2$ -Werten der Kavapyrone von 11-12  $\text{cal}^{0,5}/\text{cm}^{1,5}$  bereits zu erwarten gewesen war. Die Ausbeuten an Kavapyronen und Flavokavin A lagen im Bereich von ca. 80 % der im Rohstoff vorhandenen Inhaltsstoffe. Dabei war die Extraktionsausbeute von Flavokavin A ( $\delta_2=13,16 \text{ cal}^{0,5}/\text{cm}^{1,5}$ ) noch bis 700 bar ansteigend, dagegen für Kavapyrone bereits ab 350 bar nahezu konstant. Ein Grund der verbesserten Extraktion des Farbstoffes bei höheren Druckwerten könnte sein, dass die Löslichkeit des Flavokavin A in überkritischem  $\text{CO}_2$  im Übergangsbereich liegt. Bei 900 bar Extraktionsdruck waren die Inhaltsstoffausbeuten wieder rückläufig, was auf eine verschlechterte Löslichkeit aller Inhaltsstoffe im  $\text{CO}_2$  hinweist. Das Optimum in Bezug auf die Ausbeute ist deshalb bei 700 bar zu sehen. Der Anteil an Kavapyronen war im Extrakt mit über 80 Gew.-% sehr hoch, der Gehalt an Flavokavin A betrug ca. 1,65 %. Andere Inhaltsstoffbestandteile des *Piper methystikum* wurden offensichtlich nur geringfügig extrahiert. Die Kavapyrone konnten durch die Extraktion in fast reiner Form gewonnen

werden. Für die weitere Verwendung des Produktes ist dies durchaus von Bedeutung, da zusätzliche undefinierte Extraktbestandteile möglicherweise negative Auswirkungen bei der Verwendung der Extrakte haben könnten. Die wirtschaftlich vertretbare Extraktionszeit beträgt bei den vorliegenden Bedingungen 2 h, da durch eine Verlängerung der Extraktionszeit nur noch eine geringe Steigerung der Ausbeuten an allen beobachteten Inhaltsstoffen erreicht werden konnte. Eine Temperatur von 70 °C bei der Extraktion brachte dabei die höchste Ausbeute an allen Inhaltsstoffen, was auf die Temperaturstabilität der Substanzen bis mindestens 70 °C schließen lässt. Höhere Extraktionstemperaturen waren aufgrund der zu schwachen Leistung des Thermostaten nicht möglich. Die hohe einsetzbare Temperatur sollte bei der Extraktion mit Adsorbens von Vorteil sein, da die Verluste an Inhaltsstoffen aufgrund schwächerer Bindungskräfte durch die stärkere Molekülbewegung minimiert sind.

Prell [1998] hatte in seiner Arbeit im Labormaßstab festgestellt, dass der Einsatz von Bleicherde als Adsorptionsmittel zwar hohe Wertstoffverluste bedingt, aber eine Abtrennung von Flavokavin A durchaus möglich ist. Eine Überprüfung der Laborergebnisse auf der Technikumsanlage war deshalb sinnvoll. Den durchgeführten Laborvorversuchen an Minisäulen zufolge waren Bleicherde original und basisch sowie Mullit M 72 für die Trennung von Kavapyronen und Flavokavin A bei der Extraktion mit überkritischem CO<sub>2</sub> nicht geeignet. Der Farbstoff Flavokavin A war bereits vor dem oder während des Auftretens der Kavapyrone in den Fraktionen nachweisbar, so dass es nicht möglich war, die Kavapyrone ohne Verluste in die Extrakte zu überführen und gleichzeitig das Flavokavin A an das Adsorbens zu binden. Eine Extraktion wäre nur dann sinnvoll, wenn zuerst das Flavokavin A eluiert würde und als reine Fraktion abgetrennt werden könnte und sich dann die folgenden Kavapyrone durch Abtrennung vom Adsorptionsmittel wiedergewinnen ließen. Außerdem waren durch die nur unvollständige Trennung große Verluste bei den Kavapyronen zu erwarten. Dies würde einen zusätzlichen Arbeitsschritt bedeuten, der die Produktionskosten weiter steigern würde.

Dagegen zeigten die beiden Modifikationen von Aluminiumoxid (Labormaterial) im Vorversuch genau die erwünschte Trennleistung. In den untersuchten Fraktionen konnten zuerst die Kavapyrone nachgewiesen werden. Erst mit steigender Elutionsmittelstärke wurde auch Flavokavin A von der neutralen Säule eluiert. Die basische Säule band den Farbstoff noch stärker, so dass bis zur 18. Fraktion kein Flavokavin nachzuweisen war. Dieses Adsorptionsmittel war für die Trennung der beiden beschriebenen Fraktionen bei der CO<sub>2</sub>-Hochdruckextraktion am besten geeignet.

Die auch im großtechnischen Maßstab verfügbaren Aluminiumoxide des Herstellers Alcoa haben sich im Vorversuch an Minisäulen als sehr wirksam herausgestellt. Dabei konnte bereits beim unbehandelten Adsorbens kein Farbstoff Flavokavin A mehr von der Säule abgelöst werden. Auch ein Fließmittel mit 20 % Ethanol zeigte hier keine Wirkung. Die Wirkung dieses Adsorbens ist also mit dem basischen Labormaterial vergleichbar. Eventuell ist das technisch verfügbare Material bereits leicht basisch, denn wenn diese aktive Oberfläche stärker basisch gemacht wurde, so zeigte sich eine verstärkte Adsorption des Hauptwirkstoffs Kavain. Das Aluminiumoxid von Alcoa ist also für dieses Trennproblem im Laborversuch als optimale aktive Oberfläche anzusehen. Bleicherde als Adsorptionsmittel erwies sich auch im Extraktionsversuch unter überkritischen Bedingungen als unwirksam bei der Abtrennung der Kavapyrone von dem Flavokavin A.

Beim Einsatz von Aluminiumoxid als Adsorbens zeigte sich bei 350 bar Extraktionsdruck ein größerer Verlust an Farbstoff als bei den Kavapyronen, d. h. eine Trennung dieser beiden Substanzgruppen ist erfolgt. Jedoch waren die Verluste an beiden Gruppen sehr hoch, so dass eine Extraktion unter diesen Bedingungen nicht als sinnvoll anzusehen ist. Aufgrund der Tatsache, dass der Extrakt schon vorher zu ca. 80 % aus den gewünschten Substanzen bestand, war der Verlust an Masse bei steigender Adsorptionsmittelmenge nahezu identisch mit dem Verlust an Kavaypronon. Ein erhöhter Druck hatte eine Abflachung der Verlustkurven der Kavapyrone bei unveränderter Entfärbung der Extrakte zur Folge. Die Extraktion war damit bei gleichzeitiger Farbreduzierung nicht mehr so verlustreich. Eine Verbesserung der Trennung unter überkritischen Bedingungen bei höheren Druckstufen hatte sich bereits bei der Reduzierung des Farbstoffgehaltes von *Calendula officinalis*-Extrakten gezeigt. Optimale Bedingungen ergaben sich beim *Piper methystikum* im Bereich zwischen 700 und 900 bar Extraktionsdruck. Hier waren die Verluste an Kavapyronen durch die Adsorption am geringsten. Zu beachten ist jedoch die verschlechterte Ausbeute an Inhaltsstoffen bei 900 bar Druck, so dass 700 bar als optimaler Extraktionsdruck zur gleichzeitigen Adsorption des Flavokavin A angesehen werden muss. Eine Reduzierung des Farbstoffgehaltes im Extrakt auf weniger als 0,4 Gew.-% im Vergleich zur Extraktion ohne Adsorbens mit 1,65 Gew.-% war möglich, wobei allerdings gut 40 % der Kavapyrone verloren gingen. Ob eine Extraktion unter diesen Bedingungen wirtschaftlich sinnvoll ist, muss deshalb genau geprüft werden. Allerdings können die Anforderungen eines Kooperationspartners nicht erfüllt werden, welcher als Obergrenze für den Gehalt an Flavokavin A 0,1 Gew.-% beziffert hat. Eventuell ist es aber auch hier ausreichend, den Farbstoffgehalt nur teilweise zu reduzieren und damit Kavapyronverluste zu vermeiden.

Durch eine Mischung verschieden stark gefärbter Extrakte kann der Anteil an Flavokavin A dann standardisiert werden. Eine teilweise Absenkung des Wassergehaltes der Extrakte ist dabei durch Dekantieren der wässrigen Extraktphase, welche kaum Kavapyrone enthält (weniger als 1% der Ausbeute), sehr einfach möglich. Ein solcher Extrakt würde zwar noch Wasser enthalten, aber durch diese Verdünnung auch einen niedrigeren Gehalt an Flavokavin A, wenn auch wieder an Kavapyronen. Die gleichzeitige Absenkung des Kavapyrongehaltes fällt dabei allerdings kaum ins Gewicht. Problematisch könnte dabei nur die Frage der Stabilität der Extrakte in Bezug auf mikrobiellen Verderb durch einen erhöhten  $a_w$ -Wert ab ca. 0,5 sein.

Eine Umkehrung der Extraktionsrichtung und damit die Schaffung einer nicht wirbelnden Adsorptionsmittelschicht verbesserte die Abtrennung des Flavokavin A aus den Extrakten im Gegensatz zu den Ergebnissen bei der Trennung der Inhaltsstoffe von Ringelblumen nicht merklich. Bei dieser Variation der Extraktionsbedingungen wurden die selben Verluste an Kavapyronen verzeichnet wie bei einer Extraktion von oben nach unten bei ansonsten identischen Bedingungen. Damit ist klar, dass der Einfluss der Strömungsverhältnisse bei Verwendung eines Festbettes statt eines Wirbelbettes in diesem Fall unerheblich ist. Entsprechend ist die Verbesserung der Trennleistung bei der Extraktion von Ringelblumen durch die Umkehrung der Strömungsrichtung wohl eher auf die Lösung des Problems der Vermischung von Rohstoff und Adsorbens zurückzuführen. Bei Kava-Kava wurde immer der dreiteilige Extraktoreinsatz verwendet, was die Trennung von Rohstoff und Adsorbens gewährleistete.

Eine Vermahlung des Aluminiumoxides auf etwa ein Drittel der ursprünglichen Korngröße bewirkte zwar keine stärkere Reduzierung des absoluten Gehaltes an Flavokavin A in den Extrakten, aber durch die vergrößerte Oberfläche war eine deutlich geringere Menge an Adsorbens nötig und damit auch eine Verringerung der Produktionskosten gegeben. Möglicherweise ist eine weitere Verkleinerung der Korngröße technisch noch möglich und damit eine weitere Senkung des Aluminiumoxidverbrauchs. Die produzierten Extrakte wiesen aber immer noch einen relativ hohen Flavokavingehalt von 0,4 Gew.-% auf. Eine vollständige Entfernung des Flavokavin A aus den Extrakten ist somit durch Adsorption nicht möglich.

Der Einsatz von Ethanol als Modifier brachte bei der Extraktion von *Piper methystikum* eine deutliche Steigerung der Ausbeuten mit sich. Die Kavapyrone sowie das Flavokavin A wurden nun fast vollständig aus dem Rohstoff extrahiert, wobei die Steigerung beim Flavokavin A ungünstigerweise am größten war. Damit stieg dessen Gehalt im Extrakt auf 1,8-1,9 Gew.-% an. Die Bedingungen für eine adsorptive Entfärbung sind also deutlich

schlechter. Diese Verbesserung der Löslichkeit des Flavokavin A durch den polaren Modifier deutet wiederum auf den Grenzbereich der Löslichkeit in überkritischem CO<sub>2</sub> hin. Da in der Ethanolphase der Extrakte etwa 15 Gew.-% der extrahierten Kavapyrone und des Flavokavin A enthalten sind, könnte der Gehalt an Flavokavin A der Extrakte durch die Entfernung dieses Überstandes weiter reduziert werden. Allerdings ist diese Verringerung um 15 % relativ gering und dann auch mit einem Verlust an Kavapyronen verbunden.

Der Verlust an Kavapyronen war durch die vom Modifier veränderten Extraktionsbedingungen deutlich zurückgegangen. Bei 700 bar Extraktionsdruck und 12,5 % Modifier zeigte sich sogar bis zu 100 % Adsorptionsmittelzugabe kein Verlust. Der Gehalt an Flavokavin A im Extrakt konnte allerdings nur noch auf Werte unter 0,6 Gew.-% gesenkt werden. Diese Extraktionsweise ermöglichte also eine Reduzierung des Farbstoffgehaltes von ursprünglich mehr als 1,8 %, ohne dabei Wertstoffe einzubüßen.

Auch bei 350 bar Extraktionsdruck waren die Verluste an Kavapyronen deutlich niedriger als bei der Extraktion mit reinem CO<sub>2</sub>. Unter diesen Bedingungen wäre eine Übertragung des Verfahrens in den Produktionsmaßstab denkbar. Durch die Zudosierung von Modifier, welcher je nach Anforderungen an die Produkte wieder vom Extrakt abgetrennt werden muss, ist dieses Verfahren allerdings etwas aufwendiger und auch kostenintensiver. Eine Verkleinerung der Partikelgröße des Aluminiumoxides auf ein technisch mögliches Minimum dürfte zu Einsparungen beim Adsorbens führen. Allerdings ist eine Reduzierung des Gehaltes an Flavokavin A im Extrakt auf unter 0,6 % nicht möglich. Oberhalb davon ist eine Variation und Standardisierung dieses Inhaltsstoffes aber durchaus möglich.

Insgesamt haben die Versuche gezeigt, dass die bei der *Calendula officinalis* gefundenen Trends auch bei *Piper methystikum* bestätigt werden können. Ein Vergleich aller auf der hier verwendeten Versuchsanlage extrahierten Substanzen zeigt, dass eine Voraussage der Löslichkeit von Verbindungen in überkritischem CO<sub>2</sub> durch die Berechnung des Löslichkeitsparameters  $\delta_2$  nach [FEDORS, 1974] sehr gut erfolgen kann. Die Einteilung der im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Verbindungen ist in **Abbildung 98** dargestellt. Dabei wurden die Kategorien gut löslich, mittel löslich, nur mit Modifier löslich und unlöslich unterschieden. Bei der HD-Extraktion von Naturstoffen mittels der verwendeten Pilotanlage war eine Extraktion bis zu mittelmäßig löslichen Substanzen ( $\delta_2$  ca. 13 cal<sup>0,5</sup>/cm<sup>1,5</sup>) hin durch reines überkritisches CO<sub>2</sub> möglich. Steigt der Wert weiter auf ca. 18 cal<sup>0,5</sup>/cm<sup>1,5</sup>, so ist eine Extraktion dieser Stoffe nur noch mit polarem Modifier möglich und im Fall der Inhaltsstoffe von *Buddleja globosa* auch nur nach einer vorangegangenen Quellung in Wasser. Eine weitere Steigerung des  $\delta_2$ -Wertes auf über 20 cal<sup>0,5</sup>/cm<sup>1,5</sup>, wie im Fall der Catechine, bedeutet

eine totale Unlöslichkeit der Verbindungen in diesem Gas.  $\delta_2$ -Werte von weniger als  $12 \text{ cal}^{0,5}/\text{cm}^{1,5}$  zeigen eine sehr gute Löslichkeit in überkritischem  $\text{CO}_2$  (Kavapyrone, Faradiolester und  $\beta$ -Carotin). Diese Einteilung kann bei Naturstoffen in Abhängigkeit vom Wassergehalt des Rohstoffes verschoben sein, da auch in diesen geringen Mengen das enthaltene Wasser bereits als Modifier wirkt. Bei der wasserfreien Extraktion von Standards ist demzufolge mit einer etwas zu tieferen Werten hin verschobenen Einordnung der Substanzen zu rechnen, wie bei Dean [1995] zu sehen ist. Eine Hilfe zur Vorabschätzung einer möglichen Extraktion mit überkritischem Kohlendioxid ist aber in jedem Fall gegeben.

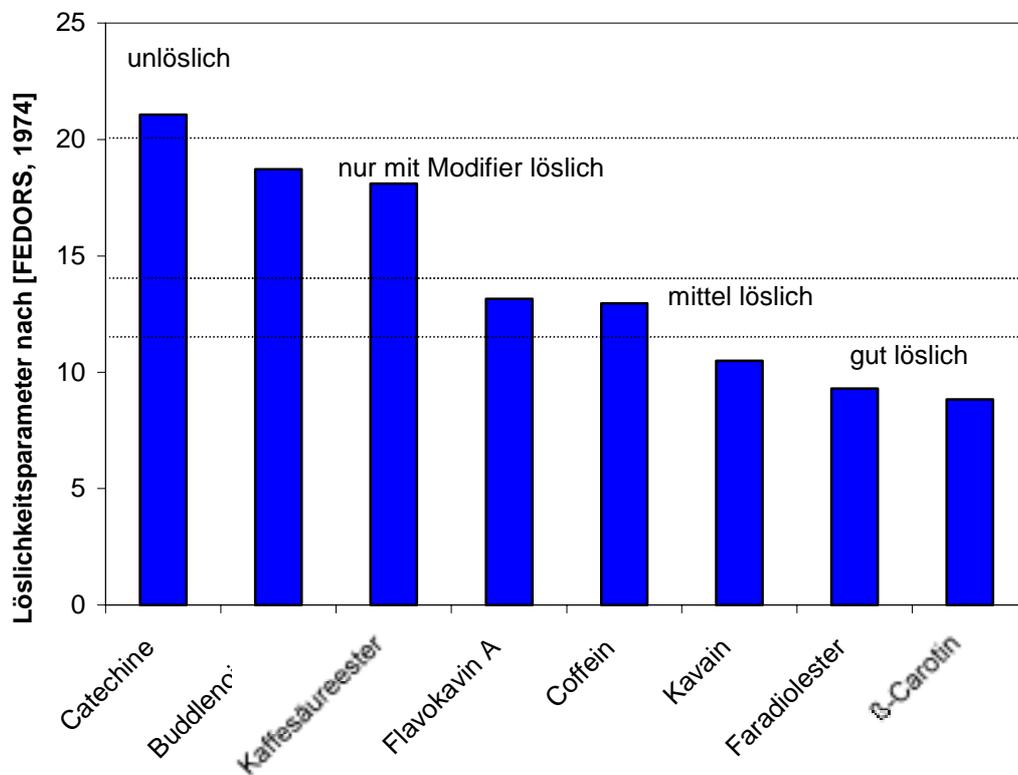


Abbildung 98: Einteilung der untersuchten Substanzen nach Löslichkeitsparametern bei der Naturstoffextraktion

## 6 Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit ist in zwei Teile gegliedert. Zuerst sollten die Möglichkeiten der Extraktion mit überkritischem CO<sub>2</sub> auf polarere Naturstoffe ausgeweitet werden. Der hier exemplarisch untersuchte Rohstoff war unfermentierter Tee, *Camellia sinensis*, von dessen verschiedenen antioxidativen Inhaltsstoffen die Catechine gewonnen werden sollten. Diese Verbindungen zeigen eine sehr gute Löslichkeit in polaren Lösungsmitteln wie Methanol und Wasser. Früheren Untersuchungen zufolge ist es möglich, das Coffein durch überkritisches Kohlendioxid aus der Matrix zu entfernen, wobei über eine Extraktion der Catechine mit diesem Verfahren keine Angaben gemacht werden. Da es bei den durchgeführten Versuchen nicht möglich war, die Catechine mit reinem Kohlendioxid zu extrahieren, wurden verschiedene Modifier eingesetzt, um die Polarität des Mediums zu erhöhen. Als Modifier standen Wasser, Ethanol sowie Wasser-Ethanol-Mischungen zur Verfügung. Als eine Möglichkeit gefunden wurde, am Extraktorboden bei größeren Modifizermengen an Wasser einen Extrakt abzuziehen, konnten erstmals Catechine im Extrakt nachgewiesen werden. Die erzielten Ausbeuten betragen jedoch nicht über 10 %. Auch eine Umkehrung der Extraktionsrichtung oder der Einsatz des dreiteiligen Einsatzkorbes zum verbesserten Ablassen des Extraktes am Extraktorboden brachten keine Steigerung der Ausbeute mit sich. Die beim Matiko erfolgreich angewandte Quellung des Rohstoffes über einen längeren Zeitraum war bei den Inhaltsstoffen des Grünen Tees ebenfalls erfolglos. Somit kann zusammengefasst werden, dass die sehr polaren Catechine aus Grünem Tee mit den hier zur Verfügung stehenden technischen Mitteln nicht in ausreichenden Mengen aus dem Rohstoff zu extrahieren sind.

Im zweiten Teil der Arbeit wurden Möglichkeiten untersucht, unerwünschte Begleitsubstanzen bei der Extraktion mit überkritischem CO<sub>2</sub> bereits während des Extrahierens durch Adsorptionsmittel aus dem Extrakt zu eliminieren. Als Beispiele dienten hier Ringelblume (*Calendula officinalis*) und Kava-Kava (*Piper methystikum*).

Bei der Ringelblume sind die wertgebenden Inhaltsstoffe die Faradiolester. Laut neueren Literaturstellen werden ihnen die antiinflammatorische, wundheilende Wirksamkeit dieser seit Jahrhunderten in der Volksmedizin eingesetzten Pflanze zugeordnet. Als störende Substanzen werden die gelben Farbstoffe angesehen, die eine hohe Dosierung dieser Extrakte z. B. in Salben aufgrund der Färbung erschweren. Zuerst mussten die optimalen Extraktionsbedingungen für diese Inhaltsstoffe ermittelt werden. 500 bar, 50 °C und 2 h

Extraktionszeit waren bei einer Einwaage von 1000 g Rohstoff für die Extraktion von über 80 % der Faradiolester ausreichend. Die Auswahl eines geeigneten Adsorptionsmittels erfolgte im Labor mittels Minisäulenchromatographie. Durch Hexan als Lösungsmittel wurde die Polarität des überkritischen Gases simuliert und die Wirksamkeit der aktiven Oberflächen in Bezug auf die Eignung zur Trennung von Faradiolestern und Farbstoffen hin untersucht. Als wirksames Adsorptionsmittel stellte sich Bleicherde heraus, das anschließend auf der Extraktionsanlage getestet wurde. Trotz der Minimierung der Probleme mit der Durchmischung der Schüttungen von Rohstoff und Adsorptionsmittel im Extraktor ergab sich, dass eine zufriedenstellende Trennung der beiden Verbindungsgruppen nur bei höheren Extraktionsdruckwerten möglich ist. Durch eine Umkehrung der Extraktionsrichtung konnte die Verwirbelung der Schüttungen verhindert und eine deutliche Aufhellung der Extrakte bei nur geringen Verlusten an Faradiolestern erzielt werden. Andere getestete Adsorptionsmittel zeigten diese Trennleistung bei der Extraktion nicht, was auch durch Überprüfung auf der Extraktionsanlage bestätigt werden konnte. Eine weitere Absenkung der Verluste war durch den gleichzeitigen Einsatz von Ethanol als Modifier und Bleicherde möglich. Auch bei einem relativ niedrigen Extraktionsdruck von 350 bar war eine Aufhellung der Extrakte bei vernachlässigbaren Faradiolesterverlusten möglich. Die Menge an Adsorptionsmittel ist allerdings deutlich erhöht.

Von den verschiedenen Wirkstoffen des Kava-Kava sollten die Kavapyrone extrahiert werden. Als störender Bestandteil der Extrakte wurden auch hier Farbstoffe, vor allem die Flavokavine, eingestuft. Mit reinem CO<sub>2</sub> können die Kavapyrone zu über 85 % extrahiert werden, wobei die Extrakte ca. 80 % Wirkstoffanteil und damit nur 20 % andere Bestandteile aufweisen. Der Gehalt an Flavokavin A in diesen Extrakten beträgt dabei ca. 1,65 %. Auch hier wurden geeignete aktive Oberflächen durch Vorversuche ausgewählt, wobei die Wahl auf Aluminiumoxid fiel. Analog zu den Versuchen mit Ringelblumen konnte eine bessere Trennung von Wirk- und Farbstoffen bei einem sehr hohen Druck von 700 bar erreicht werden. Der Gehalt an Flavokavin A konnte von 1,65 % auf weniger als 0,4 % gesenkt werden. Die Verluste an Kavapyronen betragen dabei allerdings mehr als 40 %. Durch eine Versuchsreihe mit Bleicherde konnten auch hier die Vorversuche zum Einsatz von Adsorptionsmitteln bestätigt werden. Der Einsatz von Modifier und Aluminiumoxid gleichzeitig führte auch hier zu deutlich verringerten Verlusten an Faradiolestern, die Ausbeuten erhöhten sich sogar auf über 90 %. Der Gehalt an Flavokavin A in den Extrakten war durch den Einsatz an Modifer dabei auch Werte von ca. 1,9 % gestiegen. Die Entfärbung war unter diesen Bedingungen bereits bei 350 bar sehr erfolgreich durchführbar, und bei 700

bar Extraktionsdruck waren die Verluste sogar bei großen Adsorbensmengen unterhalb der Nachweisgrenze. Eine Absenkung des Gehaltes der Extrakte an Flavokavin A war aber bei diesen Bedingungen nur bis knapp 0,6 % möglich, also im Vergleich zu den Extraktionen ohne Modifier, wo der Farbstoffgehalt auf unter 0,4 % gesenkt werden konnte, um 50 % erhöht. Die Schaffung eines Festbettes an Adsorbens durch Umkehrung der Extraktionsrichtung bringt dabei keine verbesserte Trennleistung des Aluminiumoxids mit sich, was den Schluss zulässt, dass die Adsorption von der Strömungsrichtung nicht beeinflusst wird, wenn die Rohstoff- und Adsorbensschüttung vollständig voneinander getrennt sind.

Die hier gewonnenen Erkenntnisse könnten bei verschiedenen weiteren Extraktionsproblemen eingesetzt werden. Von Interesse wäre zum Beispiel eine Extraktion von polaren Inhaltsstoffen aus anderen Teesorten, wie Rooibos oder Honeybush, oder die Abtrennung unerwünschter Extraktinhaltsstoffe wie z. B. Rückstände von Pflanzenschutzmitteln oder Stoffe mit allergenem Potential.

## 7. Literaturverzeichnis

Aluminium Company of America: Produktspezifikation

Akihisa T., Yasukawa K., Oinuma H., Kasahara Y., Yamanouchi S., Takido M., Kumaki K., Tamura T.: Triterpene Alcohols from the Flowers of Compositae and their Anti-Inflammatory Effects, *Phytochemistry* 43 (1996), Nr. 6, S. 1255-1260

Anonym: CO<sub>2</sub> Extracts – Food and Medicine?, *Food Marketing & Technology* 11 (1997), Nr. 4

Avramova S., Portarska F., Apostolova B., Petkova S., Konteva M., Tsekova M., Kapitanova T., Maneva K.: Marigold (*Calendula officinalis* L.) Source of new Products for the Cosmetic Industry, *Medico-Biologic Information* 1988, S. 24-26

Barth-Raiser-Hopfenextraktion: Process for Producing Decaffeinated Black or Green Tea, Patent DE 3414767, 1985

Brannolte H.-D.: Hochdruckextraktion mit CO<sub>2</sub> – Eine neue Stofftrennmethode, *Seifen-Öle-Fette-Wachse* 108 (1982), Nr. 8

Baumann G., Gierschner K.: Wertstoffgewinnung aus Reststoffen durch CO<sub>2</sub>-Hochdruckextraktion, *ZFL* 40 (1989), Nr. 11 und 12

Belitz H.-D., Grosch W.: *Lehrbuch der Lebensmittelchemie*, Springer Verlag, 4. Auflage, 1992

Birtigh A., Brunner G.: Abscheidung aus überkritischen Gasen, *Chemie Ingenieur-Technik* 67 (1995) Nr. 7, S. 829-835

Boucaud-Maitre Y., Algernon O., Raynaud J.: Cytotoxic and antitumoral activity of *Calendula officinalis* Extracts, *Pharmazie* 43 (1988), H 3

Brennecke J.F., Echert C.A.: Phase Equilibria for Supercritical Fluid Process Design, American Institute of Chemical Engineering 35 (1989), Nr. 9, S. 1409-1427

Brickell, C. (1996): The Horticultural Society A-Z Encyclopedia of Garden Plants, Dorling Kindersley Limited, London

Brogle H.: Bestimmung von Phasengleichgewichten mit Beispielen

Bundschuh E., Baumann G., Gierschner K.: Hochdruckextraktion in der Lebensmitteltechnologie, ZFL 8 (1986), S. 525-534

Bundschuh E., Tylla M., Baumann G., Gierschner K.: Gewinnung von natürlichen Aromen aus Reststoffen der Lebensmittelproduktion mit Hilfe der CO<sub>2</sub>-Hochdruckextraktion, Lebensmittelwissenschaft und -Technologie 19 (1986), S. 493-496

Bundschuh E., Baumann G., Gierschner K.: Untersuchungen zur CO<sub>2</sub>-Hochdruckextraktion von Aromastoffen aus Reststoffen der Apfelverarbeitung, Deutsche Lebensmittel-Rundschau 84 (1988), Nr. 7, S. 205-210

Chalat J.C., Garry R., Michet A.: Chemical Composition of Essential Oil of *Calendula officinalis* L. (Pot Marigold), Flavour and Fragrance Journal 6 (1991), S. 189-192

Chemisches Laboratorium Dr. Kurt Richter: Lipoid Extract of Calendula Blossoms, Cosmetics & Toiletries 98 (1983), S. 75

Chew B., Wong M., Wong T.: Effects of Lutein from Marigold Extract on Immunity and Growth of Mammary Tumors in Mice, Anticancer Research 16 (1996), S. 3689-3694

Coenen H., Kriegel E.: Anwendungen der Extraktion mit überkritischen Gasen in der Nahrungsmittelindustrie, Chemie-Ingenieur-Technik 55 (1983), Nr. 11

Dean J.R.: Applications of Supercritical Fluids in Industrial Analysis, Blackie Academic & Professional, Glasgow, 1993

Dean J.R., Kane M., Khundker S., Dowle C., Tranter R.L., Jones P.: Estimation and Determination of Steroid Solubility in Supercritical Carbon Dioxide, *Anlyst* 120 (1995), S. 2153-2157

Della Loggia R., Becker H., Isaac O., Tubaro A.: Topical Anti-Inflammatory Activity of *Calendula officinalis* Extracts, *Planta Med*, 56 (1990), S. 658

Della Loggia R., Sosa S., Leitner Zs., Isaac O., Tubaro A.: Anti-Inflammatory Activity of *Calendula* Seed Oil, Rich in  $\omega$ -6 Fatty Acids, *Planta Med.* 57, Supplement Issue 2 (1991), A 49

Della Loggia R., Tubaro A., Sosa S., Becker h., Saar S., Isaac O.: The Role of Triterpenoides in the Topical Anti-Inflammatory Activity of *Calendula officinalis* Flowers, *Planta Med* 60 (1994), S. 516-520

Dumenil G., Chemli R., Balansard G., Guiraud H., Lallemand M.: Étude des propriétés antibactériennes des fleurs de Souci *Calendula officinalis* L. et des teintures mères homéopathiques de *C. officinalis* L. et *C. arvensis* L., *Annales pharmaceutiques francaises* 1980, 38, Nr. 6, S. 493-499

El-Gengaihi S., Abdallah N., Sidrak I.: The Effect of Fertilization Levels on Flowering, Oleanolic Acid and Phytosterol Content of *Calendula officinalis* L., *Pharmacie* 37 (1982) Nr. 7, S. 511-514

Elias R., De Méo M., Vidal-Ollivier E., Laget, M., Balansard G., Dumenil G.: Antimutagenic Activity of some Saponins Isolated from *Calendula officinalis* L., *C. arvensis* L. and *Hedera helix* L., *Mutagenesis* 5 (1990), Nr. 4, S. 327-331

Fedors R.F.: A Method for Estimating Both the Solubility Parameters and Molar Volumes of Liquids, *Posymer Engineering and Science* 14 (1974), Nr. 2, S. 147-154

Forster A., Gehrig M.: Process for the Decaffeination of Black Tea, Patent DE 3413869, 1985

Ho C.T., Osawa T., Huang M.T., Rosen R.T.: ACS Symposium Series: Food Phytochemicals for Cancer Prevention II, Tea, Spices, and Herbs, American Chemical Society, Washington DC, 1994

Felklová M., Janecková M.: Vodni Provoz a Obsah Saponinu u *Calendula officinalis* L., Ceskoslovenska farmacie 10 (VI. – 1957)

Finzelberg: Kava kava rhizoma, <http://www.finzelberg.de/mainIE.de.html>, 04.11.99

Fleischner A.: Plant Extracts: to Accelerate Healing and Reduce Inflammation, Cosmetics & Toiletries 100 (1985), S. 45-58

Forster A.: Die Hochdruck-Extraktion mit CO<sub>2</sub> in der Lebensmittelindustrie, Der Weihenstephaner 3 (1991), S 147-151

Gährs H.J.: Hochdruckextraktion, ein thermisches Trennverfahren mit breitem Anwendungsspektrum für die Lebensmittelindustrie, ZFL 4 (1984), S. 302-306

Giddings, J.C., Myers M.N., King J.W.: Dense Gas Chromatography at Pressures to 2000 Atmospheres, Journal of Chromatographic Science 7 (1969), S. 276-283

Grau B.: Extraktion von Ringelblumeninhaltsstoffen mit hochverdichtetem Kohlendioxid, Diplomarbeit TU München/Weihenstephan, 2000

Grimme, H., Augustin M.: Phytotherapie bei chronischen Dermatosen und Wunden: Was ist gesichert?, Forsch. Komplementärmed. 1999, 6, S. 5-8

Hamburger M., Baumann, D.: An Efficient Method for Preparative Purification of Catechin Derivatives from Green Tea, Poster XX-th Meeting on Polyphenols, Sept. 2000, Weihenstephan

Hamburger, M., Baumann D.: CO<sub>2</sub>-Hochdruckextraktion wertbestimmender Inhaltsstoffe aus Nutrazeutisch bedeutenden Rohstoffen, Interne Mitteilung, 1999

Hänzel R.: Farbstoffe des Kawa-Rhizoms, Archiv der Pharmazie, Band 294 (1961) S. 739-743

Hänzel R., Keller K., Rimpler H., Schneider G.: Hagers Handbuch der pharmazeutischen Praxis, 5. Auflage, Springer Verlag 1994, S. 201-212 und 596-615

Hartmann G.: Einsatz von Hochdruckextrakten in der Lebensmittelproduktion, Fleischwirtschaft 73 (1993), Nr. 4

Hegenbart S. L.: It's A Gas: Gas Extraction in Food Processing, Food Product Design, 05/1997

Heilpflanzen – herbal remedies: *Piper methysticum* G. Forst., Medpharm CD: 1996-1999

Heisig W., Wichtl M.: Bestimmung pflanzlicher Glykoside - Methodenkombination von zweidimensionaler DC und HPLC I. Inhaltsstoffe aus *Calendulae officinalis* flos, Deutsche Apotheker Zeitung 130 (1990), Nr. 38, S. 2058-2062

Hisanobu Y., Suematsu S., Saigo H., Matsuda R., Hara K., Komatsu Y.: Packaged Tea Drinks. IV: Comparison of Extraction procedure with Hot Water, Acetonitile and Aqueous Acetonitrile on HPLC Determination of Caffeine and Catechins in Green Tea Leaves, Kenkyu Hokokusho 20 (1994), S 67-73

Hoefler A., Coggon P.: Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatographie of Tea Constituents, J. of Chromatography 129 (1976), S. 460-463

Isaac O.: *Calendula officinalis* L. - Prortait einer Arzneipflanze, Zeitschrift für Phytotherapie 16 (1994), S. 357-370

Isaac O.: Die Ringelblume, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, 1992

Kalvatchev Z., Walder R., Garzaro D.: Anti-HIV activity of Extracts from *Calendula officinalis* Flowers, Biomed & Pharmacother 51 (1997), 176-180

Kast W.: Adsorption aus der Gasphase, Ingenieurwissenschaftliche Grundlagen und technische Verfahren, VCH Verlagsgesellschaft mbH, 1988

Kessler H.G.: Lebensmittel- und Bioverfahrenstechnik – Molkereitechnologie, Verlag A. Kessler, 4. Auflage 1996

King J.M., Friedrich J.P.: Quantitative Correlations between Solute Molecular Structure and Solubility in Supercritical Fluids, Journal of Chromatography 517 (1990), S. 449-458

King M.B., Bott T. R.: Extraction of Natural Products Using Near-Critical Solvents, Chapman & Hall, 1993

Kuhr S., Engelhardt U.H.: Bestimmung von Catechinen und Alkaloiden in Tee oder ähnlichen Erzeugnissen, Z. für Lebensm. Unters. Forsch. 192 (1991), S. 526-529

Kurowska A., Kalembe D., Gora J.: Extracts of plants and their cosmetic application. Part VII. Chemical Characteristics of Extracts from inflorescences of marigold, Polena-TSPD 1984, Nr. 1-2, S. 17-20

Kuwano K., Mitamura T.: HPLC Determination of Caffeine in Marketed Green Tea, Nippon Nogeikagaku Kaishi 60/2 (1986), S. 115-117

Langhammer L.: Inhaltsstoffe von *Piper methysticum* Forster – eine thermomikroskopische Studie, Archiv der Pharmazie, Band 304 (1971): , S. 126-130

Lide David R. : CRC Handbook of Chemistry and Physics, CRC Press, 1993

Lopez-Avila V., Benedicto J. : Supercritical Fluid Extraktion of Kava Lactones from *Piper methysticum* (Kava) Herb, Journal of High Resolution Chromatography 20 (1997), S 555-559

Madaus, G. (1979): Lehrbuch der biologischen Heilmittel, Band II, Georg Olms Verlag Hildesheim New York S. 1851 – 1853

Marczal G., Cserjési Z., Héthelyi É., Petri G.: Data on the Essential Oil Content and Composition of *Calendula officinalis* L., *Herba Hungarica* 26 (1987), Nr. 2-3, S. 179-189

Medpharm: Heilpflanzen - herbal remedies: *Caledulae* flos, 1996-1999 on disk

Mendes R.L., Nobre N.P., Coelho J.P., Palavra A.F.: Solubility of  $\beta$ -Carotene in Supercritical Carbon Dioxide and Ethane, *Journal of Supercritical Fluids* 16 (1999), S. 99-106

Metzner J., Bekemeier H., Paintz M., Schneidewind E.: Zur antimikrobiellen Wirksamkeit von Propolis und Propolisininhaltstoffen, *Pharmazie* 34 (1979), S. 97-103

Omikron: Coffein, <http://www.omikron-online.de/cyberchem/cheminfo/0160-lex.htm>, 04.01.1998

Otto M.: Analytische Chemie, VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim, 1995

Peyroux J., Rossignol P., Delaveau P.: Propriétés anti-oedémateuses et anti-hyperhémiantes du *Calendula officinalis* L., *Plantes Médicinales et Phytothérapie* 15 (1981), Nr. 4, S. 210-216

Pietta P., Gardana C., Mauri P.: Application of HPLC and MECC for the Detection of Flavonol Aglycones in Plant Extracts, *J. of High Resolution Chromatography* 15 (1992), S. 136-139

Prell W.: Hockdruckextraktion von Kava-Kava-Rhizomen zur Gewinnung pharmakologisch aktiver Komponenten, Diplomarbeit an der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, Lehrstuhl für Technische Chemie II, 1998

Quirin K.-W., Gerard D., Grau H., Grau G.: Hochdruckextraktion mit Kohlendioxid – Eine ideale Methode zur Gewinnung hochwertiger ätherischer Öle, *Seifen-Öle-Fette-Wachse* 113 (1987), Nr. 15

Quirin K.-W., Gerard D.: Ringelblumen CO<sub>2</sub>-Extrakt - ein wertvoller Grundstoff für die pflegende Naturkosmetik, *Seifen-Öle-Fette-Wachse* 115 (1989), Nr. 2, S. 57-59

Ramos A., Edreira A., Vizoso A., Betancourt J., López M., Décalo M.: Genotoxicity of an Extract of *Calendula officinalis* L., J. of Ethnopharmacology 61 (1998) 49-55

Resch I.: Extraktion von wertgebenden Inhaltsstoffen aus *Buddleja globosa* mittels überkritischem CO<sub>2</sub>, Diplomarbeit, TU München, Weihenstephan, 2001

Reznicek G., Zitterl-Eglseer K., Jurenitsch, J.: Analytik der Faradiolmonoester in Ringelblumenblüten, Extrakten und Salben, Zeitschrift für Phytotherapie 21 (2000), S. 152-153

Römpp Chemie Lexikon, 9. Auflage auf CD, Version 1.0, Georg Thieme Verlag 1995

Rücker G., Neugebauer M., Willems G.G.: Instrumentelle pharmazeutische Analytik, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, 1988

Sakata I., Ikeuchi M., Maruyama I., Okuda T.: Quantitative Analysis of Epigallocatechin Gallate in Tea Leaves by High-Performance Liquid Chromatography, Yakugaku Zasshi – Journal of the Pharmaceutical Society of Japan 111/12 (1991), S. 790-793

Sattler K.: Thermische Trennverfahren, Grundlagen, Auslegung, Apparate, VCH Verlagsgesellschaft mbH Weinheim, 1995

Schulz V., Hänsel R.: Rationale Phytotherapie - Ratgeber für die ärztliche Praxis, Springer Verlag 1996, ISBN 3-540-61240-8

Selectchemie Ltd.: Green Tea and it's Health Functions, Informationsbroschüre

Shulgin A. T.: The Narcotic Pepper – The Chemistry and Pharmacology of Piper methysticum and Related Species, Bulletin on Narcotics 25 Nr. 2 (1973), S. 58 – 72

Skerget M., Knez Z.: Solubility of Binary Solid Mixture  $\beta$ -Carotene-Capsaicin in Dense CO<sub>2</sub>, Journal of Agric. Food Chem. 45 (1997), S. 2066-2069

Smith R. M.: Supercritical Fluid Extraction of Natural Products, LC-GC International, Januar 1996, S. 9-15

Stahl E., Schilz W., Schütz E., Willing E.: Ein Schnellverfahren zur mikroanalytischen Beurteilung des Lösungsvermögens überkritischer Gase, *Angewandte Chemie* 90 (1978), S. 778-785

Stahl E., Gerard D.: Hochdruck-Extraktion von Naturstoffen mit überkritischen und verflüssigten Gasen, *Parfümerie und Kosmetik* 63 (1982), Nr. 3

Stahl E., Quirin K.W., Gerard D.: Verdichtete Gase zur Extraktion und Raffination, Springer Verlag 1987

Stahl K.W.: Lehrbuch der Pharmakognosie, 9. Auflage, S. 353-354

Stevenson R.: Some Constituents of *Calendula officinalis*, *Notes* 26 (1961), S. 5228-5230

Stumpf H., Spieß E., Habs M.: Pflanzliche Arzneimittel: Restmengen an Lösungsmitteln, *Deutsche Apotheker Zeitung* 132 (1992), Nr. 11, S. 508-513

Suematsu S., Hisanobu Y., Saigo H., Matsuda R., Komatsu Y.: A New Extraction Procedure for Determination of Caffeine and Catechins in Green Tea, *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi* 42/6 (1995), S. 419-424

Suzuki M.: Adsorption Engineering, Elsevier Verlag Amsterdam-Oxford-New York-Tokyo, 1990

Teglia A.: Studio dei procedimenti di estrazione di princip attivi di piante officinali. Caso della *Calendula officinalis* L., *Cosmetics & Tioletries ed.It.n.* 1/89, S. 28-53

Teuscher E.: Biogene Arzneimittel, 5. Auflage, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, 1997

Theiss P.: *Calendula* – Galenische Beispiele aus der Pharmazeutischen Industrie, Zeitschrift für Phytotherapie 21 (2000), S. 147-148

Uhde: Hochdruck-Extraktion, Seifen-Öle-Fette-Wachse 112 (1986), Nr. 7, S. 218-220

Wagner H., Proksch A., Riess-Maurer I., Vollmar A., Odenthal S., Stuppner H., Jurcic K., Le Turdu M., Fang J.N.: Immunstimulierend wirkende Polysaccharide (Heteroglykane) aus höheren Pflanzen, Arzneimittelforschung 35 (II) (1985), S. 1069-1075

Weber, H.; Gähns, H. J. (1983): CO<sub>2</sub>-Hochdruckextraktion ein neues Verfahren zur Gewürzextraktgewinnung, Fleischwirtschaft (63) S. 1747 – 1751

Wilkomirski B.: Pentacyclic Triterpene Triols from *Calendula officinalis* Flowers, Phytochemistry 24 (1985), Nr. 12, S. 3066-3067

Yamamoto T., Juneja L.R., Chu D.-C., Kim M.: Chemistry and Applications of Green Tea, CRC Press 1997

York H., Funk W., Fischer W., Wimmer H.: Dünnschichtchromatographie: Reagenzien und Nachweismethoden, Band 1b, VCH Verlagsgesellschaft mbH Weinheim, 1993, S. 195-198

Yu S., Kan H., Bolin Z., Qunyi Z.: Reversed-phase High-Performance Liquid Chromatographic Method for Quantitative Analysis of the Six Major Kavalactones in *Piper methysticum*, Journal of Chromatography A, 825 (1998), S. 1-8

Zeller, Pflanzliche Heilmittel, CH-8590 Romanshorn: Standardarbeitsanweisung (SOP) zur quantitativen Bestimmung der einzelnen Kavapyrone in Kava-Kava-Wurzelstock und daraus hergestellten Zubereitungen (1996)

Zhu Q.Y., Zhang A., Tsang D., Huang Y., Chen Z.-Y.: Stability of Green Tea Catechins, J. Agriculture and Food Chemistry 45 (1997), S. 4624-4628

Zitterl-Eglseer K., Novak J., Chlodwig F.: Content of Triterpendiol Esters in *Calendula officinalis* L., Beiträge zur Zuchtforschung-Bundesanstalt für Züchtungsforschung an Kulturpflanzen 2 (1996), Nr. 1, S. 372-373

Zitterl-Eglseer K., Sosa S., Jurenitsch J., Schubert-Zsilavec M., Della Loggia R., Tubaro A., Bertoldi M., Franz C.: Anti-oedematous activities of the Main Triterpendiol Esters of Marigold (*Calendula officinalis* L.), J. of Ethnopharmacology 57 (1997), S. 139-144

Zosel, K. (1978): Praktische Anwendungen der Stofftrennung mit überkritischen Gasen, Angewandte Chemie (90) S. 748 – 755

Zosel, K. (1964): DBP 1493190

## 8 Anhang

### 8.1 Ringelblume

#### 8.1.1 Extraktionen mit reinem CO<sub>2</sub>

Tabelle 34: Trockensubstanzausbeute bei verschiedenen Extraktionszeiten

Versuchsnummer	Extraktionsdauer [h]	Trockensubstanz [%]	Gesamtmassen- ausbeute[%]
1	0,5	3,43	6,34
2	0,75	4,20	8,22
3	1	4,55	10,33
4	1,5	4,76	12,52
5	2	4,72	14,00
6	2,5	5,52	14,98
7	3	5,53	14,90
8	3,5	6,08	15,96
9	4	5,52	14,86
10	5	5,13	15,41

Tabelle 35: Extinktion und Faradiolesterausbeute bei verschiedenen Extraktionszeiten

Versuchsnummer	Extraktionsdauer [h]	Extinktion	Faradiolester- ausbeute [%]
1	0,5	0,803	
2	0,75		
3	1	0,840	65,0
4	1,5	0,873	
5	2	0,924	70,9
6	2,5	0,912	
7	3	0,942	72,7
8	3,5	0,998	
9	4	0,972	
10	5	0,927	

Tabelle 36: Trockensubstanzausbeute bei verschiedenen Extraktionsdrücken

Extraktionsdruck [bar]	Trockensubstanz [%]	Gesamtmassenausbeute [%]
70	0,00	3,68
100	0,15	4,95
200	3,75	13,22
300	4,69	15,39
350	5,53	14,90
400	5,801	13,31
500	5,56	16,62
800	5,26	14,80

Tabelle 37: Extinktion und Faradiolesterausbeute bei verschiedenen Extraktionsdrücken

Extraktionsdruck [bar]	Extinktion	Faradiolesterausbeute [%]
70	0	0
100	0,033	-
200	0,630	48,7
300	0,952	51,2
350	0,942	72,7
400	0,992	68,7
500	1,026	83,6
800	0,967	82,1

Tabelle 38: Massenausbeute bei verschiedenen Extraktionstemperaturen

Extraktionstemperatur [°C]	Trockensubstanz [%]	Gesamtmassenausbeute [%]
40	4,86	14,08
50	5,53	14,90
60	5,75	16,70
70	3,62	13,51

Tabelle 39: Extinktion und Faradiolesterausbeute bei verschiedenen Extraktionstemperaturen

Extraktionstemperatur [°C]	Extinktion	Faradiolesterausbeute [%]
40	0,8656	49,8
50	1,001	72,7
60	0,8385	74,5
70	0,7924	39,4

## 8.1.2 Kombination von Extraktion und Adsorption

Tabelle 40: Massenausbeuten und Verluste an Masse bei steigendem Bleicherdeeinsatz

Extraktionsdruck [bar]	350 (↑)		500 (↑)		800 (↑)		800 (↓)	
	TS [%]	Verlust [%]	TS [%]	Verlust [%]	TS [%]	Verlust [%]	TS [%]	Verlust [%]
0	4,72	0	5,56	0	4,69	0	5,28	0
10							4,18	20,8
15	2,90	38,6	3,98	28,4				
20	2,65	43,9	3,47	37,6	3,30	29,6	2,91	44,9
27	2,44	48,3	2,93	47,3	3,32	29,2	2,89	45,3
30	1,94	58,9						
35					2,66	43,3	2,18	58,7

TS: Trockensubstanzausbeute

Tabelle 41: Extinktionen und Entfärbung bei steigendem Bleicherdeeinsatz

Extraktionsdruck [bar]	350 (↑)		500 (↑)		800 (↑)		800 (↓)	
	Extinktion	Entfärbung [%]	Extinktion	Entfärbung [%]	Extinktion	Entfärbung [%]	Extinktion	Entfärbung [%]
<b>0</b>	0,9240	0	1,02	0	0,9670	0	0,7536	0
<b>10</b>							0,2772	71,4
<b>15</b>	0,4398	70,8	0,7770	45,5				
<b>20</b>	0,4112	75	0,5793	46,6	0,3257	76,3	0,0297	97,8
<b>27</b>	0,4735	73,5	0,3777	80,5	0,3188	76,7	0,0318	97,7
<b>30</b>	0,2586	88,5						
<b>35</b>					0,2582	84,9	0,0231	98,7

Tabelle 42: Faradiolesterausbeute und Verluste an Estern bei steigendem Bleicherdeeinsatz

Extraktionsdruck [bar]	350 (↑)		500 (↑)		800 (↑)		800 (↓)	
	FE- Ausbeute [%]	Verlust an FE [%]						
<b>0</b>	70,9	0	83,6	0	82,13	0	85,8	0
<b>10</b>							80,3	6,5
<b>15</b>	38,4	45,8	46,1	55,1				
<b>20</b>	41,8	41,1	59,3	29,1	71,3	13,2	76,13	11,3
<b>27</b>	24,9	64,9	39,3	53	45,0	45,2	65,98	23,1
<b>30</b>	22,5	68,3						
<b>35</b>					49,0	40,3	77,04	10,3

FE: Faradiolester

Tabelle 43: Versuchsergebnisse bei 800 bar Extraktionsdruck und Aluminiumoxid als Adsorptionsmittel

Menge an Aluminiumoxid [%]	Trockenmassenausbeute		Extinktion		Faradiolesterausbeute [%]	
	Absolut [%]	Verlust [%]	Absolut [%]	Entfärbung [%]	Absolut [%]	Verlust [%]
0	5,28	0	0,7536	0	85,84	0
20	3,89	26,3	0,8003	21,8	75,85	11,6
35	3,59	32,0	0,7704	30,5	84,58	1,5

## 8.1.3 Extraktionsversuche mit Modifizier

Tabelle 44: Versuchsergebnisse bei 350 bar Extraktionsdruck

Menge an Modifizier [%]	Trockenmassenausbeute [%]	Extinktion	Faradiolesterausbeute [%]
0	4,45	0,6608	72,7
22	5,00	0,7729	90,5
50	5,02	0,6383	74,9

## 8.1.4 Kombination von Adsorption und Modifiereinsatz

Tabelle 45: Versuchsergebnisse bei 350 bar Extraktionsdruck und Einsatz von Modifizier sowie Bleicherde als Adsorptionsmittel

Menge an Bleicherde [%]	Trockenmassenausbeute		Extinktion		Faradiolesterausbeute [%]	
	Absolut [%]	Verlust [%]	Absolut [%]	Entfärbung [%]	Absolut [%]	Verlust [%]
0	5,38	0	0,6608	0	82,04	0
30	4,03	25,1	0,4171	52,7	73,68	10,2
40	3,64	32,3	0,1514	84,5	79,78	2,8

Tabelle 46: Vergleich der Extraktionserfolge

Menge an Bleicherde [%]	Trockenmassenausbeute		Extinktion		Faradiolesterausbeute [%]	
	Absolut [%]	Verlust [%]	Absolut [%]	Entfärbung [%]	Absolut [%]	Verlust [%]
<b>Extraktionsdruck 350 bar, 18 % Modifier, Fluß von unten nach oben</b>						
0	5,38	0	0,6608	0	82,04	0
30	4,03	25,1	0,4171	52,7	73,68	10,2
40	3,64	32,3	0,1514	84,5	79,78	2,8
<b>Extraktionsdruck 800 bar, Fluß von oben nach unten</b>						
0	5,28	0	0,7536	0	85,8	0
10	4,18	20,8	0,2772	71,4	80,3	6,5
20	2,91	44,9	0,0297	97,8	76,13	11,3
27	2,89	45,3	0,0318	97,7	65,98	23,1
35	2,18	58,7	0,0231	98,7	77,04	10,3

## 8.2 Kava-Kava

### 8.2.1 Extraktionen mit reinem CO<sub>2</sub>

Tabelle 47: Ausbeuten und Anteile an Kava-Kava Inhaltsstoffen bei steigendem Extraktionsdruck

Extraktionsdruck [bar]	200	350	500	700	800	900
<b>Inhaltsstoffgehalte im Extrakt [Gew.-%]</b>						
Kavain	18,34	18,74	18,29	17,51	17,91	15,29
Summe Kavapyrone	79,51	86,00	85,97	83,42	86,59	72,93
Flavokavin A	1,27	1,52	1,65	1,65	1,69	1,39
<b>Ausbeuten an Inhaltsstoffen [Gew.-%]</b>						
Kavain	27,3	75,17	70,90	73,74	72,44	63,53
Summe Kavapyrone	29,03	84,66	81,75	86,20	85,92	74,32
Flavokavin A	21,63	69,91	73,30	79,73	78,46	66,13
<b>Massenausbeuten [Gew.-%]</b>						
Trockensubstanz	1,39	3,75	3,62	3,98	3,78	3,88
Gesamtmasse	3,39	9,84	9,62	10,24	9,42	9,92

Tabelle 48: Ausbeuten an und Anteile an Kava-Kava Inhaltsstoffen bei steigender Extraktionszeit

Extraktionszeit [h]	0,5	1	2	3
<b>Inhaltsstoffanteile im Extrakt [Gew.-%]</b>				
<b>Kavain</b>	17,60	17,94	17,51	17,30
<b>Summe Kavapyrone</b>	83,60	84,48	83,42	81,82
<b>Flavokavin A</b>	2,08	1,65	1,65	1,56
<b>Ausbeuten an Inhaltsstoffen [Gew.-%]</b>				
<b>Kavain</b>	70,97	74,35	73,74	82,26
<b>Summe Kavapyrone</b>	82,71	85,90	86,20	95,43
<b>Flavokavin A</b>	75,55	77,07	79,73	85,25
<b>Massenausbeuten [Gew.-%]</b>				
<b>Trockensubstanz</b>	3,77	3,88	3,98	4,44
<b>Gesamtmasse</b>	7,96	9,19	10,24	10,17

Tabelle 49: Ausbeuten und Anteile an Kava-Kava Inhaltsstoffen bei steigender Extraktionstemperatur

Extraktionstemperatur [°C]	40	55	70
<b>Inhaltsstoffgehalte im Extrakt [Gew.-%]</b>			
<b>Kavain</b>	15,87	17,22	17,51
<b>Summe Kavapyrone</b>	75,51	81,57	83,42
<b>Flavokavin A</b>	1,35	1,59	1,65
<b>Ausbeuten an Inhaltsstoffen [Gew.-%]</b>			
<b>Kavain</b>	66,58	73,8	73,74
<b>Summe Kavapyrone</b>	77,72	85,78	86,20
<b>Flavokavin A</b>	65,08	78,23	79,73
<b>Massenausbeuten [Gew.-%]</b>			
<b>Trockensubstanz</b>	3,92	4,01	3,98
<b>Gesamtmasse</b>	8,48	9,77	10,24

## 8.2.2 Kombination von Extraktion und Adsorption

Tabelle 50: Verluste und Anteile an Kava-Kava Inhaltsstoffen bei 350 bar Extraktionsdruck

Zugabe an Aluminiumoxid [Gew.-%]	0	12,5	37,5	62,5	100
<b>Ausbeute an Inhaltsstoffen [Gew.-%]</b>					
<b>Kavain</b>	75,17	62,81	47,43	25,32	
<b>Summe Kavapyrone</b>	84,66	68,05	49,66	25,09	
<b>Flavokavin A</b>	69,91	39,02	26,67	4,50	
<b>Masse</b>	3,75	3,02	2,21	1,16	
<b>Verluste [Gew.-%]</b>					
<b>Kavain</b>	0	16,44	36,9	66,32	-
<b>Summe Kavapyrone</b>	0	19,62	41,34	70,36	-
<b>Flavokavin A</b>	0	44,19	61,85	93,56	-
<b>Masse</b>	0	19,49	41,12	69,01	-
<b>Inhaltsstoffgehalte [Gew.-%] in den Extrakten</b>					
<b>Kavain</b>	18,74	19,45	20,08	20,36	-
<b>Summe Kavapyrone</b>	86,00	85,87	85,68	82,25	-
<b>Flavokavin A</b>	1,52	1,05	0,98	0,32	-

Tabelle 51: Verluste und Anteile an Kava-Kava Inhaltsstoffen bei 500 bar Extraktionsdruck

Zugabe an Aluminiumoxid [Gew.-%]	0	12,5	37,5	62,5	100
<b>Verluste [Gew.-%]</b>					
<b>Kavain</b>	0	13,54	27,62	43,4	64,32
<b>Summe Kavapyrone</b>	0	15,56	33,79	49,25	66,46
<b>Flavokavin A</b>	0	37,79	73,45	75,27	81,56
<b>Masse</b>	0	18,21	33,39	48,36	65,64
<b>Inhaltsstoffgehalte [Gew.-%] in den Extrakten</b>					
<b>Kavain</b>	18,29	19,34	19,88	20,05	19,00
<b>Summe Kavapyrone</b>	85,97	88,75	85,46	84,50	83,92
<b>Flavokavin A</b>	1,65	1,25	0,66	0,62	0,89

<b>Ausbeuten an Inhaltsstoffen [Gew.-%]</b>					
<b>Kavain</b>	70,90	61,30	51,32	40,13	25,30
<b>Summe Kavapyrone</b>	81,75	69,03	54,13	41,49	27,42
<b>Flavokavin A</b>	73,30	45,60	19,46	18,13	13,52
<b>Masse</b>	3,75	2,69	2,41	1,87	1,25

Tabelle 52: Verluste und Anteile an Kava-Kava Inhaltsstoffen bei 700 bar Extraktionsdruck

<b>Zugabe an Aluminiumoxid [Gew.-%]</b>	<b>0</b>	<b>12,5</b>	<b>37,5</b>	<b>62,5</b>	<b>100</b>
<b>Verluste [Gew.-%]</b>					
<b>Kavain</b>	0	7,70	15,70	22,80	44,82
<b>Summe Kavapyrone</b>	0	11,28	19,85	33,58	53,05
<b>Flavokavin A</b>	0	37,18	62,75	83,02	90,49
<b>Masse</b>	0	15,48	24,25	32,52	54,29
<b>Inhaltsstoffgehalte [Gew.-%] in den Extrakten</b>					
<b>Kavain</b>	17,51	18,95	19,31	20,50	20,95
<b>Summe Kavapyrone</b>	83,42	86,77	87,48	84,04	84,92
<b>Flavokavin A</b>	1,65	1,21	0,80	0,43	0,34
<b>Ausbeuten an Inhaltsstoffen [Gew.-%]</b>					
<b>Kavain</b>	73,74	68,06	62,16	56,93	40,69
<b>Summe Kavapyrone</b>	86,20	76,48	69,09	57,25	40,47
<b>Flavokavin A</b>	79,73	50,09	29,70	13,54	7,58
<b>Masse</b>	3,98	3,36	3,01	2,60	1,82

Tabelle 53: Verluste und Anteile an Kava-Kava Inhaltsstoffen bei 900 bar Extraktionsdruck

Zugabe an Aluminiumoxid [Gew.-%]	0	12,5	37,5	62,5	100
<b>Verluste [Gew.-%]</b>					
Kavain	0	16,46	21,71	19,20	44,66
Summe Kavapyrone	0	16,78	26,57	26,84	50,77
Flavokavin A	0	33,36	72,25	83,28	84,72
Masse	0	20,7	32,38	27,23	48,99
<b>Inhaltsstoffgehalte [Gew.-%] in den Extrakten</b>					
Kavain	15,29	16,11	17,71	16,98	16,59
Summe Kavapyrone	72,93	76,51	79,19	73,30	70,37
Flavokavin A	1,39	1,16	0,57	0,32	0,42
<b>Ausbeuten an Inhaltsstoffen [Gew.-%]</b>					
Kavain	63,53	53,07	49,74	51,33	35,16
Summe Kavapyrone	74,32	61,84	54,57	54,37	36,59
Flavokavin A	66,13	44,08	18,36	11,06	10,11
Masse	3,88	3,08	2,63	2,83	1,98

Tabelle 54: Verluste und Anteile an Kava-Kava Inhaltsstoffen bei 700 bar Extraktionsdruck, extrahiert von oben nach unten

Zugabe an Aluminiumoxid [Gew.-%]	0	12,5	37,5	62,5	100
<b>Verluste [Gew.-%]</b>					
Kavain	0	8,83	31,12	47,21	-
Summe Kavapyrone	0	9,64	35,74	52,81	-
Flavokavin A	0	25,25	62,49	86,92	-
Masse	0	10,03	34,23	54,49	-
<b>Inhaltsstoffgehalte [Gew.-%] in den Extrakten</b>					
Kavain	17,51	17,86	18,46	20,45	-
Summe Kavapyrone	83,42	84,35	82,05	87,08	-
Flavokavin A	1,65	1,38	0,95	0,48	-

<b>Ausbeuten an Inhaltsstoffen [Gew.-%]</b>					
<b>Kavain</b>	73,74	67,23	50,79	38,93	-
<b>Summe Kavapyrone</b>	86,20	77,89	55,39	40,69	-
<b>Flavokavin A</b>	79,73	59,60	29,91	10,43	-
<b>Masse</b>	3,98	3,52	2,57	1,78	-

**Tabelle 55: Verluste und Anteile an Kava-Kava Inhaltsstoffen bei 700 bar Extraktionsdruck, extrahiert von oben nach unten und Variation der Korngröße des Aluminiumoxides**

<b>Zugabe an Aluminiumoxid 28x48 [Gew.-%]</b>	<b>0</b>	<b>3,75</b>	<b>7,5</b>	<b>12,5</b>	<b>37,5</b>
<b>Verluste [Gew.-%]</b>					
<b>Kavain</b>	0	4,34	-1,11	28,56	24
<b>Summe Kavapyrone</b>	0	9,91	3,18	32,85	37,06
<b>Flavokavin A</b>	0	37,8	47,18	80,03	85,69
<b>Masse</b>	0	3,03	3,24	32,89	39,21
<b>Inhaltsstoffgehalte [Gew.-%] in den Extrakten</b>					
<b>Kavain</b>	17,51	17,10	18,30	18,64	21,89
<b>Summe Kavapyrone</b>	83,42	76,72	83,48	83,47	86,36
<b>Flavokavin A</b>	1,65	1,05	0,90	0,49	0,39
<b>Ausbeuten an Inhaltsstoffen [Gew.-%]</b>					
<b>Kavain</b>	73,74	70,54	74,56	52,68	56,04
<b>Summe Kavapyrone</b>	86,20	77,66	83,46	57,88	54,25
<b>Flavokavin A</b>	79,73	49,59	42,11	15,92	11,41
<b>Masse</b>	3,98	3,86	3,81	2,64	2,39

Tabelle 56: Verluste und Gehalte an Kava-Kava Inhaltsstoffen bei Einsatz von Bleicherde

Zugabe an Bleicherde [Gew.-%]	0	12,5	37,5	62,5	100
<b>Verluste [Gew.-%]</b>					
Kavain	0	52,98	87,94	82,00	-
Summe Kavapyrone	0	45,56	79,00	79,48	-
Flavokavin A	0	54,84	87,58	82,90	-
Masse	0	21,12	61,44	75,80	-
<b>Inhaltsstoffgehalte [Gew.-%] in den Extrakten</b>					
Kavain	17,51	10,68	5,6	13,33	-
Summe Kavapyrone	83,42	58,92	46,48	72,40	-
Flavokavin A	1,65	0,97	0,55	1,20	-
<b>Ausbeuten an Inhaltsstoffen [Gew.-%]</b>					
Kavain	73,74	34,67	8,89	13,27	-
Summe Kavapyrone	86,20	46,93	18,10	17,69	-
Flavokavin A	79,73	36,01	9,90	13,63	-
Masse	3,98	3,04	1,48	0,93	-

## 8.2.3 Kombination von Modifier- und Adsorptionsmitteleinsatz

Tabelle 57: Verluste und Anteile an Kava-Kava Inhaltsstoffen bei 350 bar und Modifiereinsatz

Zugabe an Aluminiumoxid [Gew.-%]	0	12,5	37,5	62,5	100
<b>Verluste [Gew.-%]</b>					
Kavain	0	-0,92	0,39	12,43	31,09
Summe Kavapyrone	0	1,71	4,33	22,02	37,59
Flavokavin A	0	33,45	57,04	73,34	69,89
Masse	0	2,00	6,55	25,02	38,30
<b>Inhaltsstoffgehalte [Gew.-%] in den Extrakten</b>					
Kavain	17,17	18,38	19,02	20,86	19,93
Summe Kavapyrone	83,31	86,88	88,67	90,09	87,61
Flavokavin A	1,88	1,33	0,90	0,70	0,96

<b>Ausbeuten an Inhaltsstoffen [Gew.-%]</b>					
<b>Kavain</b>	76,19	76,89	75,89	66,77	52,50
<b>Summe Kavapyrone</b>	90,72	89,17	86,79	70,74	56,62
<b>Flavokavin A</b>	96,14	63,98	41,30	25,63	28,95
<b>Masse</b>	4,15	3,91	3,73	2,99	2,46

Tabelle 58: Verluste und Anteile an Kava-Kava Inhaltsstoffen bei 700 bar und Modifiereinsatz

<b>Zugabe an Aluminiumoxid [Gew.-%]</b>	<b>0</b>	<b>12,5</b>	<b>37,5</b>	<b>62,5</b>	<b>100</b>
<b>Verluste [Gew.-%]</b>					
<b>Kavain</b>	0	-3,70	0,01	0,94	-3,48
<b>Summe Kavapyrone</b>	0	-2,64	-2,59	4,08	-3,77
<b>Flavokavin A</b>	0	30,51	57,29	73,19	69,64
<b>Masse</b>	0	0,22	5,73	13,05	7,74
<b>Inhaltsstoffgehalte [Gew.-%] in den Extrakten</b>					
<b>Kavain</b>	16,71	17,37	17,73	19,04	18,75
<b>Summe Kavapyrone</b>	80,67	82,99	87,79	89,00	90,74
<b>Flavokavin A</b>	1,80	1,25	0,82	0,55	0,59
<b>Ausbeuten an Inhaltsstoffen [Gew.-%]</b>					
<b>Kavain</b>	79,95	82,91	79,94	79,20	82,74
<b>Summe Kavapyrone</b>	94,68	97,18	97,13	90,82	98,26
<b>Flavokavin A</b>	98,77	68,65	42,19	26,48	29,98
<b>Masse</b>	4,47	4,46	4,22	3,89	4,13