

## E. ZUSAMMENFASSUNG / SUMMARY

### Zusammenfassung

Die wichtigste Methode zur Gewinnung ätherischer Öle aus Drogen, um sie für weiterführende analytische Untersuchungen verwenden zu können, ist die Wasserdampfdestillation. Da jedoch für wissenschaftliche Untersuchungen häufig nur sehr begrenzte Probemengen zur Verfügung stehen, wurde die Eignung eines Kapillardestillationsgerätes zur Gewinnung von ätherischem Öl aus sehr kleinen Probemengen untersucht. Außerdem wurde geprüft, ob sich diese Apparatur durch Modifizierungen am Geräteaufbau zur Durchführung von Vakuumdestillationen zur Fraktionierung ätherischer Öle eignet. Dies könnte eine gute Alternative zu den hierfür meist verwendeten chromatographischen Trennverfahren sein. Ausgewertet wurden sowohl die Ergebnisse der Wasserdampf- als auch die der Vakuumdestillationen mit Hilfe der Gaschromatographie.

Im ersten Teil der Arbeit wurden die durch Kapillardestillation gewonnenen Wasserdampfdestillate mehrerer Drogen untersucht und mit Destillaten verglichen, die durch die konventionelle Apparatur des Arzneibuches gewonnen wurden. Quantifiziert wurde über einen inneren Standard unter Berücksichtigung von GC-Korrekturfaktoren. Kriterium für die Auswahl der hierfür verwendeten Drogen waren die Zusammensetzung und Speicherorte ihres ätherischen Öles, da diese beiden Parameter maßgeblich den Destillationsverlauf beeinflussen. Anhand der Gaschromatogramme der Destillate konnten zwischen beiden Destillattypen sowohl in qualitativer als auch in quantitativer Hinsicht kaum Unterschiede festgestellt werden.

Bei einem hohen Anteil oxygenierter Verbindungen wie beim Pfefferminzöl lagen die Ölausbeuten bei der Arzneibuchdestillation tendenziell höher. Ursache hierfür dürften die unterschiedlichen Destillationsprinzipien (Kreislaufdestillation bei der Arzneibuchdestillation), das unterschiedliche Drogen-Wasser-Verhältnis und/oder die unterschiedlichen Quantifizierungsverfahren sein. Die Ausbeute ließ sich jedoch bei den Kapillardestillationen der Pfefferminzblätter durch Zusatz von Kochsalz in die Aufganggefäße und einen hieraus resultierenden Aussalzeffekt steigern. Bei hohem Anteil apolarer Komponenten (Rosmarinöl) lag die Ölausbeute hingegen bei der Kapillardestillation etwas höher, so daß zur Korrektur dieser Differenzen entsprechende Korrekturfaktoren empfohlen werden.

Bei den Destillationen der Fenchel Früchte, die von starker Emulsionsbildung geprägt waren, erwiesen sich die Kapillardestillationen in Bezug auf die Konstanz der Werte der Arzneibuchdestillation ebenbürtig. Lediglich beim Quantifizieren von Einzelkomponenten, deren Gehalt unter 1% lag, ergaben sich bei den Kapillardestillaten Streuwerte, die nur noch ungefähre Aussagen über deren Gehalt erlauben. Die kleinsten Streuwerte ergaben sich bei Einwaage von 200mg bei den Blattdrogen (Ölgehalt 2%) und 100mg bei den Fenchel Früchten (Ölgehalt 4%), sowie Vorlegen von 200µl einer 2%igen Standardlösung. Durch höhere Einwaagen wurden die Streuwerte nicht signifikant weiter gesenkt, sie stiegen jedoch deutlich bei kleineren Einwaagen. Die angewandte Destillationszeit von 2 Stunden reichte meist zur quantitativen Ölgewinnung aus, lediglich für unzerkleinerte Fenchel Früchte wäre eine Zeit von 3 Stunden günstiger.

Am Beispiel der Untersuchungen von nur in äußerst geringen Mengen verfügbaren Bunium-bulbocastanum-Früchten konnte gezeigt werden, welche Bedeutung der Kapillardestillation bei der Identifizierung von ätherischen Öldrogen und ihren Ölkomponten zukommt. Selbst aus Fruchtproben von ca. 100mg bei ca. 0,1% ätherischem Ölgehalt konnte dieses mit der angewendeten Methode für anschließende GC/MS-Messungen gewonnen werden.

Bei den Versuchen zur Fraktionierung ätherischer Öle durch Vakuumdestillation mit dem hierfür modifizierten Kapillardestillationsgerät wurden Möglichkeiten und Grenzen dieses Verfahrens am Beispiel ausgesuchter ätherischer Öle untersucht. Zusätzlich zum Kapillardestillationsgerät wurden zum Vergleich Untersuchungen mit einer Kugelrohrdestillationsapparatur durchgeführt.

Die zunächst mit binären Gemische durchgeführten Untersuchungen gaben gute Hinweise zur Charakterisierung der Destillationsgeräte und den zu erwartenden Destillationsleistungen. Eine Bestimmung der Trennstufenzahl mit Hilfe des Diagramms nach Bragg-Lewis ergab für beide Geräte Werte zwischen 1 und 2. Eine Erhöhung der Trennleistung durch Mehrfachdestillation erwies sich bei den verwendeten Proben als wenig effektiv. Eine höhere Destillatreinheit ließ sich bei gleichbleibendem Druck von 55-60mbar lediglich durch Absenken der Temperatur und damit verminderter Destillationsgeschwindigkeit erreichen. Bei kleineren Probeeinwaagen erhöhte sich die prozentuale Destillatmenge bei sinkender Destillatreinheit und steigender Rückstandsreinheit. Beim Vergleich der beiden Apparaturen konnten die folgenden Vor- bzw. Nachteile der Kapillar- gegenüber der Kugelrohrdestillation festgestellt werden.

#### Vorteile:

- einfachere Handhabung vor allem bei Destillation von Ölmengen unter 1ml,
- raschere Aufheizphase und gute Übereinstimmung der Temperatureinstellung mit der effektiven Temperatur im Probengefäß,
- unter definierten Destillationsbedingungen geht ab einem bestimmten Zeitpunkt kein Destillat mehr über, d.h. es werden bestimmte Werte erreicht und es tritt nicht wie bei der Kugelrohrdestillation eine immer fortschreitende Verunreinigung des Destillates ein,
- das Übergehen des Destillates kann in der Kapillare beobachtet und damit die Destillationsgeschwindigkeit abgeschätzt werden.

#### Nachteil:

- fehlende Gefäßrotation und geringere Flüssigkeitsoberfläche reduzieren die Destillationsgeschwindigkeit und erfordern höhere Temperaturen.

Die bei den binären Gemischen ermittelten Tendenzen ließen sich bei beiden Apparaturen auch weitgehend auf die Vakuumdestillationen der ätherischen Öle übertragen. Für die Fraktionierungen wurden die in der Tabelle aufgeführten ätherischen Handelsöle mit recht unterschiedlicher Zusammensetzung eingesetzt. Dabei gelangen komplette Trennungen zwischen Monoterpenkohlenwasserstoffen und Sesquiterpenen beim Ingwer- und Pfefferöl bzw. von Monoterpenkohlenwasserstoffen und Phenylpropanen beim Zimtöl. Bei Vorliegen von hohen Anteilen niedrigsiedender Monoterpenkohlenwasserstoffe einschließlich des 1,8-Cineols (Pfefferöl, Eukalyptusöl), konnten diese bei 55-60 mbar und 100°C nahezu 100%ig im Destillat gewonnen werden. Um sie aus dem Rückstand praktisch komplett zu entfernen, mußten Temperaturen von etwa 140-150°C eingesetzt werden. Ähnliches gilt, wenn man bei Ölen

**Siedebereiche der Komponentengruppen und deren Anteile in den verwendeten ätherischen Ölen<sup>1</sup>**

	MT-KW <sup>2</sup>	ox. MT	ST-KW	Ph-pr	ox. ST
Siedebereich (°C)	150-190	190-240	240-280	280-300	230-270
Ingweröl (%)	18	-	82	-	-
Pfefferöl (%)	65	-	35	-	-
Eukalyptusöl (%)	92	4	4	-	-
Zimtöl (%)	6	4	4	87	-
Kamillenöl (%)	2	-	63	-	35

wie dem Ingwer- und Zimtöl, die einen hohen Anteil höhersiedender Verbindungen enthalten, Restmengen der Monoterpenkohlenwasserstoffe entfernen will, da hierzu ebenfalls Temperaturen von etwa 150°C erforderlich waren. Bei diesen beiden Ölen wurde in Bezug auf die Monoterpene lediglich eine Anreicherung von ursprünglich 18 bzw. 10% auf 84 bzw. 66% erreicht.

Beim Eukalyptusöl gelang zum einen die Gewinnung eines Destillates aus nahezu 100% Monoterpenkohlenwasserstoffen einschließlich des 1,8-Cineols und zum anderen ist hier eine separate starke Anreicherung der Sesquiterpene und oxygenierten Monoterpene möglich, d.h. es ist eine Trennung in 3 Fraktionen erreichbar.

Bei den Vakuumdestillationen des Kamillenöles wurde zum einen eine relativ starke Anreicherung der nur zu 2% vorliegenden Monoterpene auf ca. 34% erzielt, zudem gelang eine Trennung der Sesquiterpenkohlenwasserstoffe von den noch höhersiedenden oxygenierten Sesquiterpenen. Müssen wie bei diesem Öl relativ hohe Destillationstemperaturen eingesetzt werden, erwies sich die Kugelrohrdestillation als vorteilhafter. Sind jedoch wie bei den übrigen ätherischen Ölen Destillationstemperaturen von 100-150°C ausreichend, lieferte die Kapillardestillation die besseren Ergebnisse. Die relativ niedrigen Trennstufenzahlen erlaubten jedoch bei beiden Apparaturen keine signifikante Anreicherung von Einzelkomponenten innerhalb einer der aufgeführten Stoffgruppen.

<sup>1</sup> MT-KW = Monoterpenkohlenwasserstoffe; ox. MT = oxygenierte Monoterpene; ST-KW = Sesquiterpenkohlenwasserstoffe; Ph-pr = Phenylpropane; ox. ST = oxygenierte Sesquiterpene;

<sup>2</sup> 1,8-Cineol wurde aufgrund seines Siedepunktes (177°C) zu den Monoterpenkohlenwasserstoffen gezählt.

## Summary

The most important method to separate essential oils from plant material to use it for further analysis is hydro-distillation. Because scientific analyses are often limited by minute sample amounts, a new developed capillary distiller and its suitability was investigated for obtaining essential oils from very small sample amounts. This device was also investigated by slight modifications, to see if it is suitable for implementation of vacuum distillations, achieving two or more essential oil fractions. In this case, it could be a good alternative for chromatographic methods, which are the most commonly used methods. The results of the hydro-distillations as well as those of the vacuum distillations were evaluated by gas chromatography.

In the first part of the examinations hydro-distillates of several plant drugs, which were obtained by capillary distillation, were analysed and compared to hydro-distillates obtained by the conventional distillation apparatus of the European Pharmacopoeia. The quantification was performed by internal standard substances using GC-correction factors. The plant drugs were selected by the composition and the localisation of the essential oil. Both parameters have a fundamental influence on the course of the distillation. By means of the chromatograms of the distillates nearly no qualitative nor quantitative differences could be discovered.

In the case of many oxygen-containing components (e.g. peppermint oil), the yield of essential oils tends to give higher values when obtained by the conventional apparatus. Reasons for this could be the different methods of distillation (circulatory distillation of the conventional apparatus), different relations between plant material and water and/or different methods of quantification. The yield of the micro-distillation can be increased by a salt-out-effect, if sodium chloride is given into the collecting vial. If the main part of an essential oil consists of non-polar constituents (rosemary oil) the yield obtained by capillary distillation is higher. Therefore correction factors are recommended to correct these differences.

The distillations of fennel fruits, which were influenced by a strong emulsion development, showed very little difference between the results of micro-distillation and conventional method. Only the quantitative results of volatile constituents with concentrations less than 1% permit approximate statements about their concentration. The smallest erratic values resulted if 200mg of plant material for the leaf drugs (oil concentration 2%) and 100mg for the fennel fruits (oil concentration 4%) and 200µl n-heptane in the receiver including 2% standard substance were used. Increasing the amount of plant material, the erratic values didn't decrease anymore. However, they increased significantly in the case of smaller amounts of plant material. A distillation period of 2 hours was enough to obtain the essential oils quantitatively. Only for entire fennel fruits a time of 3 hours would be more convenient.

The investigations of fruits from *Bunium bulbocastanum*, which were only available in very small amounts, exhibited the fundamental importance of the micro hydro-distillation for the identification of essential oils and their volatile constituents. Even from fruit sample amounts of about 100mg and 0,1% essential oil concentration, it was possible to obtain enough oil with this method for further analysis by chromatography-mass spectrometry.

The experiments of fractional distillation of selected essential oils by vacuum distillation with the modified capillary distiller show possibilities and limits of this method. In addition to the capillary distillation, experiments were made with a "kugelrohrdistiller"

and both were compared.

The first part of the experiments was performed with binary mixtures to obtain informations about the characteristics of the distilling apparatus and the expected distillation performances. The determination of the plate numbers, which were obtained by the diagram of Bragg-Lewis, showed values from 1 to 2 for both devices. There was no significant increase of separation and efficiency if several distillations of the used samples were made. A higher purity of the distillate under the same pressure of 55-60mbar was only obtained if lower temperatures were applied, which decrease the rate of distillation. Smaller sample amounts resulted in an increase of the percentage amount of distillate and residue purity, however, at the expense of distillate purity. The following advantages and disadvantages of the capillary distiller compared with the kugelrohrdistiller were found.

#### Advantages:

- easier handling especially if small oil amounts of about 1ml are used,
- the heating up period is shorter and there is nearly no difference between the adjusted temperature and the actual temperature in the sample vial,
- under defined distillation conditions no distillates pass over at a certain moment, so that defined values are reached and there is no progressive pollution of the distillate like in the kugelrohrdistiller,
- the pass over of the distillate can be observed through the capillary and therefore the rate of distillation can be estimated

#### Disadvantage:

- the missing vial rotation and the smaller surface of the liquid reduce the rate of distillation requiring higher temperatures

The tendencies, determined with binary mixtures, were comparable with the fractional distillation of essential oils. For the fractional distillations commercial essential oils with different compositions were used, which are listed in the following table.

#### **Boiling ranges of the compound groups and their concentration in the used essential oils<sup>1</sup>**

	<b>MT-hc<sup>2</sup></b>	<b>ox. MT</b>	<b>ST-hc</b>	<b>Ph-pr</b>	<b>ox. ST</b>
<b>boiling range (°C)</b>	150-190	190-240	240-280	280-300	230-270
<b>ginger oil (%)</b>	18	-	82	-	-
<b>pepper oil (%)</b>	65	-	35	-	-
<b>eucalyptus oil (%)</b>	92	4	4	-	-
<b>cinnamom oil (%)</b>	6	4	4	87	-
<b>camomile oil (%)</b>	2	-	63	-	35

Successful separations were achieved between monoterpene hydrocarbons and sesquiterpenes from ginger oil and pepper oil and also between monoterpene hydrocarbons and phenylpropanes from cinnamon oil. Essential oils with a high portion of

<sup>1</sup> MT-hc = monoterpene hydrocarbons; ox. MT = oxygenated monoterpenes; ST-hc = sesquiterpene hydrocarbons; Ph-pr = phenylpropanes; ox. ST = oxygenated sesquiterpenes;

<sup>2</sup> 1,8-cineole was counted to the monoterpene hydrocarbons because of its boiling point (177°C).

low boiling monoterpene hydrocarbons including 1,8-cineole (pepper oil, eucalyptus oil), yielded them in the distillate in a concentration of 100% under the conditions of 55-60mbar and 100°C. To remove them completely from the residue, temperatures of 140 to 150°C were necessary. The same is valid, if a separation of the rest of the monoterpene hydrocarbons is aimed in an oil like ginger oil or cinnamon oil, which have a high portion of higher boiling compounds. The distillations of these two oils were only successful to enrich the monoterpenes from 18% and 10%, respectively, to 84 and 66%.

Distillation of eucalyptus oil at 100°C yielded a distillate of 100% monoterpene hydrocarbons including 1,8-cineole. Increasing the temperature afforded a second fraction containing oxygenated monoterpenes, whereas the sesquiterpenoids remained enriched in the residue. As a result a separation into 3 fractions could be achieved.

The vacuum distillations of camomile oil succeeded to enrich the monoterpene hydrocarbons from 2 to 34%, moreover a separation between the sesquiterpene hydrocarbons and the higher boiling oxygenated sesquiterpenes was achieved. If high temperatures are required as during the distillation of camomile oil, the kugelrohrdistillation is advantageous. On the other hand, if temperatures from 100 to 150°C are sufficient, as during the distillations of the other essential oils, the capillary distiller is more recommendable. But the relative low plate numbers of both devices allow no significant separation of individual components within one group of components.