

# TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt  
Department für Lebensmittel und Ernährung  
Lehrstuhl für Chemisch-Technische Analyse und Chemische Lebensmitteltechnologie

## **Vergleich der Qualität von CO<sub>2</sub>-Hochdruckextrakten ausgewählter Apiaceen und Asteraceen mit Destillaten und Lösungsmittlextrakten**

Gerd Fricke

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

Doktors der Naturwissenschaften  
(Dr. rer. nat.)

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ. - Prof. Dr.-Ing. E. Geiger

Prüfer der Dissertation:

1. apl. Prof. Dr.rer.nat., Dr.-Ing.habil. S. Nitz
2. Univ.-Prof. Dr.rer.nat., Dr.agr.habil. H. Parlar
3. apl. Prof. Dr.rer.nat., Dr.-Ing.habil. A. Görg

Die Dissertation wurde am 29.05.2002 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt der Technischen Universität München am 16.07.2002 angenommen.

Gerd Fricke

**Vergleich der Qualität von  
CO<sub>2</sub>-Hochdruckextrakten ausgewählter  
Apiaceen und Asteraceen mit  
Destillaten und Lösungsmittlextrakten**

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von Februar 1993 bis September 1997 nebedienstlich am Zentralen Institut des Sanitätsdienstes der Bundeswehr in München und zum Teil in der Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt - Department für Lebensmittel und Ernährung - Lehrstuhl für Chemisch-Technische Analyse und Chemische Lebensmitteltechnologie der Technischen Universität München in Freising-Weihenstephan durchgeführt.

Meinem Doktorvater Prof. Dr. S. Nitz gilt mein ganz besonderer Dank für das interessante Thema, die anregende wissenschaftliche Betreuung und Förderung der Arbeit, das Interesse am Fortgang der Arbeit sowie das mir entgegengebrachte, große Vertrauen.

Besonders bedanken möchte ich mich bei Herrn Dipl. Ing. (FH) H. Kollmannsberger für sein persönliches Engagement, seine wertvollen Anregungen und seine Unterstützung bei den GC-MS-Sniffing-Analysen.

Mein ganz besonderer Dank gilt dem ehemaligen Institutsleiter des Zentralen Institutes der Bundeswehr, Herrn Oberstapotheker Dr. H. Paulus. Sein Mitwirken am Entstehen der Arbeit sowie seine stets wohlwollende Unterstützung in allen organisatorischen und fachlichen Belangen hat die Bearbeitung des Themas am Zentralen Institut der Bundeswehr erst möglich gemacht.

Herrn Oberfeldapotheker Dr. M. Breitingner als meinem ehemaligen Laborabteilungsleiter im Zentralen Institut bin ich in ganz besonderem Maße für das mir entgegengebrachte Verständnis, seine Unterstützung bei dieser Arbeit sowie für die Schaffung eines ausgezeichneten Arbeitsklimas innerhalb der Laborabteilung, welches entscheidend zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen hat, dankbar verbunden.

Weiterhin danke ich den Herren Oberstabsapotheker Dr. M. Kirchner und Dr. H. Enßlin für die fruchtbare Zusammenarbeit im Labor und ihre ständige Diskussionsbereitschaft in wissenschaftlichen Fragestellungen.

Mein besonderer Dank richtet sich an Oberfeldveterinär Dr. R. Wermter und seine fachliche Unterstützung bei der Durchführung mikrobiologischer Arbeiten.

Schließlich danke ich allen Mitarbeitern der Laborabteilung Pharmazie und Lebensmittelchemie des Zentralen Institutes für ihre Hilfsbereitschaft.

Meiner Familie

**INHALTSVERZEICHNIS**

<b>A</b>	<b>EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG .....</b>	<b>1</b>
<b>1</b>	<b>Einleitung.....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Problemstellung.....</b>	<b>2</b>
<b>B</b>	<b>ERGEBNISSE .....</b>	<b>4</b>
<b>1</b>	<b>Extraktions- und Analysemethoden.....</b>	<b>4</b>
1.1	Extraktionsmethoden .....	4
1.1.1	Allgemeine Extraktionsmethoden.....	4
1.1.2	Supercritical Fluid Extraction .....	4
1.1.2.1	Grundlagen der Analytischen SFE.....	4
1.1.2.2	Methodenentwicklung.....	9
1.2	Analysemethoden.....	15
1.2.1	GC-FID und GC-MS.....	16
1.2.2	SFC-FID und SFC-MS .....	16
1.2.2.1	SFC mit Kapillarsäulen und gepackten Säulen.....	16
1.2.2.2	Besonderheiten der SFC-MS-Kopplung .....	28
1.2.2.2.1	Grundlagen der SFC-MS Kopplung .....	28
1.2.2.2.2	Qualität und Vergleichbarkeit von SFC-MS Spektren .....	32
1.2.2.2.3	Hardware und Leistungsfähigkeit des SFC-MS-Systems .....	38
1.2.2.3	Particle-Beam Interface.....	47
1.2.2.4	Thermospray Interface .....	47
1.2.2.5	DFI Interface .....	48
<b>2</b>	<b>Bestandsaufnahme der Apiaceen und Asteraceen .....</b>	<b>49</b>
2.1	Anis .....	49
2.2	Kümmel.....	59
2.3	Koriander .....	63

---

2.4	Kreuzkümmel.....	68
2.5	Kamille.....	73
2.6	Schafgarbe.....	80
<b>3</b>	<b>Untersuchung qualitätsbestimmender Parameter.....</b>	<b>88</b>
3.1	Vergleich der Extrakte mittels IR .....	88
3.2	Untersuchungen zur antioxidativen Wirkung .....	91
3.3	Untersuchungen zur antimikrobiellen Wirkung.....	95
3.4	Untersuchungen zur Aromaqualität .....	100
3.4.1	Profilanalyse.....	100
3.4.2	Beurteilung der Geruchsqualität in Abhängigkeit von der Zeit.....	106
3.4.3	SFE-Sniffing .....	110
3.4.4	Sniffing-SFC .....	113
3.4.5	Sniffing-GC-MS und Aromaverdünnungsanalyse mit Sniffing-GC-FID..	120
3.4.5.1	Anis.....	120
3.4.5.2	Kümmel.....	123
3.4.5.3	Koriander .....	125
3.4.5.4	Kreuzkümmel.....	128
3.4.5.5	Kamille.....	130
3.4.5.6	Schafgarbe.....	133
<b>C</b>	<b>DISKUSSION.....</b>	<b>137</b>
<b>1</b>	<b>Extraktionsmethoden .....</b>	<b>137</b>
<b>2</b>	<b>Analysenmethoden.....</b>	<b>142</b>
2.1	SFC-FID.....	142
2.2	SFC-MS .....	146
<b>3</b>	<b>Qualitätsbestimmende Parameter .....</b>	<b>150</b>
3.1	Antioxidative Wirksamkeit.....	150
3.2	Antimikrobielle Wirksamkeit .....	152
3.3	Sensorische Methoden .....	154

---

<b>D</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>161</b>
<b>E</b>	<b>MATERIAL UND METHODEN .....</b>	<b>165</b>
<b>1</b>	<b>Präparative Methoden / Probenvorbereitung .....</b>	<b>165</b>
1.1	Probenvorbereitung.....	165
1.2	Lösungsmittlextraktion (LSM).....	165
1.3	Supercritical Fluid Extraction (SFE).....	165
1.4	Simultane Destillation - Extraktion (SDE) .....	169
1.5	Soxhlet-Extraktion .....	169
1.6	Säulenchromatographie.....	170
<b>2</b>	<b>Analytische Methoden .....</b>	<b>170</b>
2.1	Gaschromatographie .....	170
2.1.1	GC-FID .....	170
2.1.2	GC-Sniffing.....	171
2.2	Supercritical-Fluid-Chromatographie (SFC) .....	171
2.2.1	cSFC-FID .....	175
2.2.2	pSFC-FID.....	177
2.2.3	cSFC-Sniffing .....	177
2.2.4	pSFC-Sniffing .....	178
2.2.5	SFE-Sniffing / FID.....	178
2.2.6	Online-SFE-SFC-Sniffing / -FID.....	179
2.3	Massenspektrometrie .....	183
2.3.1	Gaschromatographie-Massenspektrometrie.....	183
2.3.1.1	EI-Modus .....	183
2.3.1.2	CI-Modus .....	183
2.3.1.3	GC-MS-Sniffing.....	184
2.3.2	Supercritical-Fluid-Chromatographie-Massenspektrometrie.....	185
2.3.2.1	EI-Modus mit DFI.....	185
2.3.2.2	CI-Modus mit DFI .....	186
2.3.2.3	EI-Modus (mit GC-Interface) .....	186

---

2.3.2.4	Particle-Beam.....	187
2.3.2.5	Thermospray .....	187
<b>3</b>	<b>Gehaltsbestimmung des etherischen Öles.....</b>	<b>188</b>
<b>4</b>	<b>Methoden zur Bestimmung der antioxidativen Wirkung von Extrakten und Destillaten .....</b>	<b>188</b>
<b>5</b>	<b>Methoden zur Bestimmung der antimikrobiellen Wirkung von Extrakten und Destillaten .....</b>	<b>189</b>
<b>6</b>	<b>Sensorische Methoden .....</b>	<b>190</b>
6.1	Aromaverdünnungsanalyse.....	190
6.2	Profilanalyse.....	190
<b>7</b>	<b>Untersuchungsmaterial .....</b>	<b>190</b>
<b>F</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS.....</b>	<b>192</b>
<b>G</b>	<b>ANHANG.....</b>	<b>210</b>
<b>1</b>	<b>Tabelle der Apiaceen-Inhaltsstoffe.....</b> (nur die fraktionierten Extrakte von Anis und Cumin)	<b>210</b>
<b>2</b>	<b>Tabelle der Apiaceen-Inhaltsstoffe.....</b> (nur die Extrakte von Koriander und Kümmel)	<b>221</b>
<b>3</b>	<b>Tabelle der Asteraceen-Inhaltsstoffe.....</b> (nur die Extrakte von Schafgarbe und Kamille)	<b>227</b>

**VERZEICHNIS DER ABBILDUNGEN**

- Abbildung 1: Variabilität bei der SFE mit SC-CO<sub>2</sub> für Dichte (0,15 g/mL bis 1,0 g/mL), Temperatur (40 °C bis 120 °C) und Druck (80 bar bis 500 bar)
- Abbildung 2: Einfluss der Extraktionsdauer auf die Extraktionsmenge (%) definierter Einzelkomponenten am Beispiel von Cuminfrüchten
- Abbildung 3: Einfluss des Festphasenmaterials der Extraktionsfalle auf die Extrakqualität in Abhängigkeit von der Anzahl der Extraktionen am Beispiel von Linalool
- Abbildung 4: I - IV, SFC von Kamille-SFE Extrakten mit Kapillarsäulen und gepackten Säulen
- Abbildung 5: typische Stoffgruppenreihenfolge in der cSFC am Beispiel des LSM-Extraktes von Kümmelfrüchten
- Abbildung 6: cSFC-FID des LSM-Extraktes von Anisfrüchten auf 50 µm i.d. Kapillaren
- Abbildung 7: Veränderung des Konzentrationsverhältnisses von lipophilen Begleitstoffen zu trans-Anethol im SFE-Extrakt von Anisfrüchten in Abhängigkeit von Extraktionsdruck, Modifier und Elutionsmittel, bestimmt durch pSFC-FID
- Abbildung 8: Chromatographie von Hochdruckextrakten aus Korianderfrüchten mittels cSFC-FID
- Abbildung 9: Zusammensetzung der Korianderhochdruckextrakte in g/kg
- Abbildung 10: GC-MS „fullscan“ von Kamille-SDE mit Kohlenstoffdioxid 5.3 als Trägergas
- Abbildung 11: GC-MS „fullscan“ von Kamille-SDE mit Helium 6.0 als Trägergas
- Abbildung 12: Massenspektrum des En-In-Dicycloethers aus Kamilleblüten unter CO<sub>2</sub>(SFC) - und He(GC) - Bedingungen
- Abbildung 13: Massenspektren von Sabinenhydrat unter verschiedenen Ionisationsbedingungen (GC-EI, SFC-EI und SFC-CI)
- Abbildung 14: Massenspektren von Cuminaldehyd unter verschiedenen Ionisationsbedingungen (GC-EI und SFC-CI)

- Abbildung 15: Massenspektren von p-Cymen-7-ol unter verschiedenen Ionisationsbedingungen (GC-EI und SFC-CI)
- Abbildung 16: Bauweise und Größenmasse von Frittenrestriktor und Integralrestriktor
- Abbildung 17: Zerfallsspektrum des SC-CO<sub>2</sub> beim MS - Frittenrestriktor (Fa. Dionex) bei 350 bar und 200 °C Tip-Temperatur
- Abbildung 18: Zerfallsspektrum des SC-CO<sub>2</sub> beim MS - Integralrestriktor (Fa. Machery & Nagel) bei 350 bar und 200 °C Tip-Temperatur
- Abbildung 19: Flusscharakteristik der MS-Restriktor-Typen bei 100 °C und zunehmendem Druck
- Abbildung 20: Flusscharakteristik der MS-Restriktor-Typen bei 300 bar und zunehmender Temperatur der Tip-Heizung
- Abbildung 21: Zusammenhang zwischen Vakuum-Anzeige des MS (Quelle und Quadrupol) und Menge an einströmendem CO<sub>2</sub> in ml/min
- Abbildung 22: cSFC-MS eines Alkan-Standards (0,5 mg/ml) am Finnigan MS
- Abbildung 23: Aufbau der cSFC-FID-MS Kombination mit zwei Trennsäulen
- Abbildung 24: SFC-MS Totalionenstrom einer Grob-Test-Mischung mit der Konzentration von 0,3 mg/ml
- Abbildung 25: Konstruktion und Einbau des DFI-Interfaces für das Massenspektrometer HP 5989 auf der Particle-Beam / Thermospray Seite
- Abbildung 26: Summarische Darstellung der gaschromatographisch erfassbaren Inhaltsstoffe in Anisfrüchten in Abhängigkeit vom Extraktionsverfahren
- Abbildung 27:  $\beta$ -Himachalenoxid und die daraus herleitbaren Himachalatriene A-D
- Abbildung 28: Summarische Darstellung der gaschromatographisch erfassbaren Inhaltsstoffe in Kümmelfrüchten in Abhängigkeit vom Extraktionsverfahren
- Abbildung 29: Summarische Darstellung der gaschromatographisch erfassbaren Inhaltsstoffe in Korianderfrüchten in Abhängigkeit vom Extraktionsverfahren
- Abbildung 30: Summarische Darstellung der gaschromatographisch erfassbaren Inhaltsstoffe in Cuminfrüchten in Abhängigkeit vom Extraktionsverfahren

- Abbildung 31: Summarische Darstellung der gaschromatographisch erfassbaren Inhaltsstoffe in getrockneten Kamilleblüten in Abhängigkeit vom Extraktionsverfahren
- Abbildung 32: Anteil der lipophilen Begleitstoffe im Gesamtextrakt von Kamilleblüten in Abhängigkeit vom Extraktionsverfahren
- Abbildung 33: Summarische Darstellung der gaschromatographisch erfassbaren Inhaltsstoffe in getrockneten Schafgarbeblüten in Abhängigkeit vom Extraktionsverfahren
- Abbildung 34: Zusammensetzung der lipophilen Begleitstoffe im Gesamtextrakt von Schafgarbeblüten in Abhängigkeit vom Extraktionsverfahren
- Abbildung 35: Verlauf der oxidativen Stressung von Schweineschmalz mit und ohne Antioxidans bei 60°C und 100°C anhand der POZ
- Abbildung 36: Verlauf der oxidativen Stressung von Schweineschmalz bei 60 °C unter Zusatz von zerkleinerten Anisfrüchten sowie Anisextrakten und deren Extraktionsrückständen
- Abbildung 37: Verlauf der oxidativen Stressung von Schweineschmalz bei 60 °C unter Zusatz von zerkleinerten Kümmelfrüchten sowie Kümmel-extrakten und deren Extraktionsrückständen
- Abbildung 38: Verlauf der oxidativen Stressung von Schweineschmalz bei 60 °C unter Zusatz von zerkleinerten Kamilleblüten, Kamilleextrakten und deren Extraktionsrückständen sowie eines SFE-Extraktes (Fraktion II)
- Abbildung 39: Mikrobiologische Hemmwirkung der etherischen Öle von Cumin, Kümmel und Koriander auf *Staphylokokkus aureus*
- Abbildung 40: Mikrobiologische Hemmwirkung der durch Wasserdampfdestillation gewonnenen etherischen Öle von Cumin, Kümmel und Koriander im Vergleich zu den SDE-Destillaten
- Abbildung 41: Mikrobiologische Hemmwirkung der unterschiedlichen Extrakte in Abhängigkeit vom Extraktionsverfahren am Beispiel von Kümmel
- Abbildung 42: Beeinflussung der mikrobiologischen Hemmwirkung des etherischen Öles von Koriander durch Zugabe lipophiler Substanzen in der Konzentration von 20 ppm
- Abbildung 43: Aromaprofile von Destillaten und Extrakten aus Anisfrüchten
- Abbildung 44: Aromaprofile von Destillaten und Extrakten aus Koriander-Früchten

- Abbildung 45: Aromaprofile von Destillaten und Extrakten aus Cuminfrüchten
- Abbildung 46: Aromaprofile von Destillaten und Extrakten aus Kümmelfrüchten
- Abbildung 47: Aromaprofile von Destillaten und Extrakten aus Kamillenblüten
- Abbildung 48: Aromaprofile von Destillaten und Extrakten aus Schafgarbenblüten
- Abbildung 49: Veränderung der Aromaqualität in Abhängigkeit von Abriechezeit und Extraktionsverfahren
- Abbildung 50: Online-SFE-cSFC-FID am Beispiel von Schafgarbe
- Abbildung 51: Aromaprofil von Schafgarbe-SFE-Extrakten, gewonnen mittels online-SFE-SFC und abgerochen als Sniffing-SFC mit simultaner FID-Detektion
- Abbildung 52: Aromaprofil von Schafgarbe-SFE-Extrakten mit verschiedenen Einwaagen, gewonnen mittels online-SFE-SFC und abgerochen als Sniffing-SFC mit simultaner FID-Detektion
- Abbildung 53: Aromaprofil von Kreuzkümmel-SFE-Extrakten mit verschiedenen Trennsystemen und Einwaagen, gewonnen mittels online SFE-SFC und abgerochen als Sniffing-SFC mit simultaner FID-Detektion
- Abbildung 54: Aromaprofil von Schafgarbe-SFE-Extrakten, ermittelt mit GC-Sniffing und online-SFE-SFC-Sniffing
- Abbildung 55: Aromaprofil von Kreuzkümmel-SFE-Extrakten, ermittelt mit GC-Sniffing und online-SFE-SFC-Sniffing
- Abbildung 56: Aromaaktive Komponenten im Korianderhochdruckextrakt
- Abbildung 57: Schema zur Darstellung des Zusammenhangs zwischen gasförmigen (GC), überkritischen (SFC) und flüssigen (LC) Phasen anhand von Dichte und Diffusion
- Abbildung 58: Chromatogramm des Kamille-SFE-Extraktes mit cSFC-FID und Empfindlichkeitsverlust durch die cSFC-MS-Kopplung
- Abbildung 59: FD-Chromatogramm und GC-Chromatogramm des SFE-Extraktes von Korianderfrüchten
- Abbildung 60: FD-Chromatogramm des Destillates und des SFE-Extraktes von Korianderfrüchten
- Abbildung 61: symmetrische Packung der SFE-Extraktionszelle

- 
- Abbildung 62: Funktionsschema des SFE-Extraktors HP 7680 A
- Abbildung 63: dynamic-split und timed-split Injektor im MPS 225
- Abbildung 64: Totvolumenarmer Anschluss einer SFC-Kapillartrennsäule über eine Führungshülse in den Injektorblock des MPS 225
- Abbildung 65: Optimierung des FID am MPS 225 für den Kapillarbetrieb
- Abbildung 66: MPS 225 im Extraktionsmodus (statische Extraktion)
- Abbildung 67: MPS 225 im Extraktionsmodus (dynamische Extraktion)
- Abbildung 68: MPS 225 im Injektionsmodus (Chromatographie)

**VERZEICHNIS DER TABELLEN**

- Tabelle 1: Ausgewählte geeignete Fluide für die SFE
- Tabelle 2: Darstellung der bei 40 °C und unterschiedlichen Drücken extrahierbaren Stoffmengen mittels Online-SFE-FID
- Tabelle 3: Ergebnisse einer industriellen Hochdruckextraktion von Korianderfrüchten
- Tabelle 4: Quantifizierung der Hochdruckextrakte von Korianderfrüchten
- Tabelle 5: Bestimmung der Nachweisgrenze (Signal-/Rauschverhältnis 3:1) von Methylbuttersäureethylester und Methyldecanoat am MS unter verschiedenen Ionisationsbedingungen und Beurteilung der Spektrenqualität
- Tabelle 6: Fragmentierung des CO<sub>2</sub> in der Ionenquelle
- Tabelle 7: Fragmente und deren Intensität in Abhängigkeit von der Ionisationsart (GC-EI und SFC-CI) am Beispiel von Cuminaldehyd
- Tabelle 8: Ermittlung der Trennzahl im SFC-MS-FID System
- Tabelle 9: Auflistung aller durch cSFC-MS identifizierten Substanzen in Kamilleblüten
- Tabelle 10: Qualitative und quantitative Zusammensetzung von Anisextrakten und -destillaten in mg/kg Anisfrucht
- Tabelle 11: Identifizierte Monoterpenverbindungen und Geijerene in Anisextrakten
- Tabelle 12: Identifizierte Sesquiterpenverbindungen in Anisextrakten
- Tabelle 13: Identifizierte phenolische und aromatische Verbindungen in Anisextrakten
- Tabelle 14: Vergleich frischer Anis-Extrakte (LSM/SFE) mit 3 Jahre gelagerten Extrakten (LSM\*/ SFE\*), Konzentrationsangaben in mg/kg Anisfrucht.
- Tabelle 15: nicht identifizierte Anisinhaltsstoffe
- Tabelle 16: Qualitative und quantitative Zusammensetzung von Kümmelextrakten und -destillaten in mg/kg Kümmelfrucht
- Tabelle 17: Identifizierte Minorkomponenten in Kümmelfrüchten
- Tabelle 18: Nicht Identifizierte Isomerenpaare in Kümmelfrüchten

- Tabelle 19: Qualitative und quantitative Zusammensetzung von Korianderextrakten und -destillaten in mg/kg Korianderfrucht
- Tabelle 20: Vergleich von Korianderprovenienzen
- Tabelle 21: Identifizierte Minorkomponenten in Korianderfrüchten
- Tabelle 22: Nicht identifizierte hochsiedende Komponentenpaare in Korianderextrakten
- Tabelle 23: Qualitative und quantitative Zusammensetzung von Cuminextrakten und -destillaten in mg/kg Cuminfrucht
- Tabelle 24: Identifizierte Minorkomponenten im Hochdruckextrakt von Cuminfrüchten
- Tabelle 25: Höher siedende Komponenten in Cuminextrakten
- Tabelle 26: Aromastoffzusammensetzung von Kamilleextrakten und -destillat in mg/kg getrockneter Kamilleblüte
- Tabelle 27: Konzentration der Bisabolole im Extrakt
- Tabelle 28: Aromastoffzusammensetzung von Schafgarbeextrakten und -destillat in mg/kg getrockneter Schafgarbeblüte
- Tabelle 29: Sesquiterpenlactone im Extrakt - Chamazulen im Destillat (Angabe in g/kg Schafgarbeblüte)
- Tabelle 30: Unterschiede in den IR-Spektren bei Korianderextrakten/-destillaten
- Tabelle 31: Unterschiede in den IR-Spektren bei Kümmelextrakten/-destillaten
- Tabelle 32: Unterschiede in den IR-Spektren bei Anisextrakten/-destillaten
- Tabelle 33: Unterschiede in den IR-Spektren bei Cuminextrakten/-destillaten
- Tabelle 34: Zusammensetzung der unterschiedlichen Extrakte und Destillate am Beispiel von Kümmelfrüchten
- Tabelle 35: Auswirkungen der gewählten Destillations- und Extraktionsverfahren auf die mikrobiologische Hemmwirkung am Beispiel von Kümmelfrüchten
- Tabelle 36: Aromabeschreibung von Kamilleblütenextrakten, abhängig vom Zeitverlauf und Extraktionsverfahren
- Tabelle 37: Aromabeschreibung von Schafgarbeblütenextrakten, abhängig vom Zeitverlauf und Extraktionsverfahren

- 
- Tabelle 38: Aromabeschreibung von Korianderfrüchtenextrakten, abhängig vom Zeitverlauf und Extraktionsverfahren
- Tabelle 39: Elutionsreihenfolge der Aromaeindrücke während der SFE
- Tabelle 40: Vergleich der Geruchseindrücke von SFE-Extrakten (online und offline) mittels SFC-Sniffing am Beispiel von Schafgarbeblüten
- Tabelle 41: Geruchsaktive Komponenten in Extrakten (SFE) und Destillaten (SDE) aus Anisfrüchten
- Tabelle 42: Geruchsaktive Komponenten in Extrakten (SFE) und Destillaten (SDE) aus Kümmelfrüchten
- Tabelle 43: Geruchsaktive Komponenten in Extrakten (SFE) und Destillaten (SDE) aus Korianderfrüchten
- Tabelle 44: Geruchsaktive Komponenten in Extrakten (SFE) und Destillaten (SDE) aus Kreuzkümmelfrüchten
- Tabelle 45: Geruchsaktive Komponenten in Extrakten (SFE) und Destillaten (SDE) aus Kamilleblüten
- Tabelle 46: Geruchsaktive Komponenten in Extrakten (SFE) und Destillaten (SDE) aus Schafgarbeblüten
- Tabelle 47: Quantitative SFE-Extraktion am Beispiel von  $\alpha$ -Pinen
- Tabelle 48: Angaben zu Menge und Konzentrationsverhältnis von Pflanzenfett und etherischem Öl bezogen auf 1g extrahierte Apiaceen-Frucht, bestimmt mit pSFC-FID
- Tabelle 49: Anzahl der Haupt- und Minorkomponenten sowie Anzahl der aromatischen Substanzen in den sechs untersuchten Pflanzenbestandteilen
- Tabelle 50: Gehalt (in Gewichtsprozent) an etherischem Öl
- Tabelle 51: Herkunft und Reinheitsprüfung der untersuchten Pflanzenbestandteile

**VERZEICHNIS DER ABKÜRZUNGEN**

AEVA	Aromaextraktverdünnungsanalyse
ASE	engl.: accelerated solvent extraction
amu	engl.: atomic mass unit
AUC	engl. : area under the curve
BHA	Butyrohydroxyanisol
BHT	Butyrohydroxitoluol
BP	British Pharmacopoe
CIC	engl.: character impact compound
CE	engl.: charge exchange
CI	Chemische Ionisation
cSFC	engl.: capillary column supercritical fluid chromatography
DAB	Deutsches Arzneibuch
DAC	Deutscher Arzneimittelcodex
DAD	Dioden-Array-Detektor
DFI	engl.: direct fluid interface
DGF	Deutsche Gesellschaft für Fettforschung e.V.
DSM	Deutsche Sammlung für Mikroorganismen und Zellkulturen
ec	engl.: endcapped
EI	Elektronenstoßionisation
EuAB	Europäisches Arzneibuch
eV	Elektronenvolt
FD	engl.: flavor dilution
FLD	Fluoreszenzdetektor
FID	Flammenionisationsdetektor
GC	Gaschromatographie
HP	Hewlett Packard
HRGC	engl.: high resolution gas chromatography
i.d.	engl.: inner diameter
IP	Ionisierungspotential
kbE	Kolonien bildende Einheiten
LSM	Lösungsmittel

---

m/e	engl.: mass per electron
MS	Massenspektrometrie
n.i.	nicht identifiziert
n.n.	nicht nachweisbar
NCI	Negative Chemische Ionisation
o.d.	engl.: outer diameter
ODS	Octadecylsilan
PB	engl.: particle beam
PCI	Positive Chemische Ionisation
POZ	Peroxidzahl
pSFC	engl.: packed column supercritical fluid chromatography
R <sub>1</sub>	Retentionsindex
RP-18	engl.: reversed phase mit C18
SC-CO <sub>2</sub>	engl.: supercritical carbon dioxide
SDE	Simultane Destillation - Extraktion
SFC	engl.: supercritical fluid chromatography
SFE	engl.: supercritical fluid extraction
SPE	engl.: solid phase extraction
TS	engl.: thermospray
TS1	Trennsäule 1
TS2	Trennsäule 2
TS3	Trennsäule 3
TZ	Trennzahl
USP	United States Pharmacopoe

## A EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG

### 1 Einleitung

Die Herstellung pflanzlicher Auszüge ist eine mehrere Jahrhunderte alte Tradition und basiert auf dem Wissen um Nutzen und Wirkung von Pflanzeninhaltsstoffen. Zumeist werden destillative oder extraktive Verfahren angewandt, um die gewünschten Inhaltsstoffe bzw. Stoffklassen anzureichern. Allen Verfahren ist gemeinsam, dass sie aus dem Vielstoffgemisch Pflanze je nach den physikalisch-chemischen Bedingungen des Anreicherungsverfahrens einen kleineren oder größeren Anteil eluieren. Im Falle der Destillation, die mit Wasser oder Alkohol durchgeführt wird, erhält man ein überwiegend aus flüchtigen Komponenten angereichertes Destillat, z.B. das etherische Öl einer Aroma- oder Arzneipflanze. Bei der Extraktion hingegen sind die Zusammensetzung und die Eigenschaften des Extraktes das Ergebnis einer flüssig-flüssig Extraktion und können in Abhängigkeit vom angewendeten Extraktionsmittel höchst unterschiedlich ausfallen [1,2,EuAB]. Die Extraktionsverfahren werden zumeist mit weitgehend unproblematischen Extraktionsmitteln vorgenommen; dazu gehören insbesondere Wasser und niedere Alkohole für eher polare Stoffgruppen sowie Neutralöle, fette Öle und überkritisches Kohlenstoffdioxid für eher lipophile Stoffgruppen.

Sofern die Anreicherungsverfahren flüchtige und lipidlösliche Stoffklassen erfassen sollen (z.B. etherische Öle, Aromaextrakte, Gewürzextrakte, wirkstoffhaltige Fraktionen etc.), konkurrieren die Destillationsverfahren mit den herkömmlichen lipophilen Extraktionsverfahren, so auch mit der Hochdruckextraktion mit SC-CO<sub>2</sub>. Dabei kommt der Extraktion mit SC-CO<sub>2</sub> aufgrund der vielen Vorteile gegenüber herkömmlichen Anreicherungsverfahren eine besondere Bedeutung zu [4-15,17-19,21,23]. Auch die lebensmittel- und arzneimittelrechtliche Einordnung des SC-CO<sub>2</sub> als ein sogenanntes „Verschwindemittel“ (annähernd rückstandsfreie Extrakte nach der Entspannung) unterstützt die große Verbreitung dieses Extraktionsmittels. Dennoch sind die bisherigen Anwendungen von SC-CO<sub>2</sub> in großtechnischem Maßstab überwiegend im lebensmitteltechnologischen Bereich etabliert [4-15,17-19,21,23], in der pharmazeutischen Herstellung hingegen ist die Hochdruckextraktion zunächst auf einzelne Pflanzenextrakte beschränkt [1,16].

Die Auswahl des Anreicherungsverfahrens legt somit den Bereich und den Anteil der erfassbaren pflanzlichen Inhaltsstoffe fest. Auch bei Auswahl lipophiler Extraktionsverfahren entstehen durch verschiedene Selektivität und Spezifität von Verfahren und Extraktionsmitteln unterschiedlich zusammengesetzte Extrakte. Deren Qualität kann im Rahmen einer vergleichenden Betrachtung mit der Qualität von Destillaten nicht allein aufgrund der Ausbeute festgelegt werden.

## 2 Problemstellung

Lipophile Extraktionsverfahren liefern Extrakte, welche als Oleoresine bezeichnet werden. Diese führen aufgrund des Lösungsvermögens des Extraktionsmittels zumeist lipophile Begleitstoffe (Fette, Fettsäuren, Farbstoffe, Wachse etc.) mit sich [23] und unterscheiden sich darin von Destillaten.

Ziel dieser Arbeit ist deshalb der quantitative und qualitative Vergleich von selbst hergestellten Destillaten und Extrakten ausgewählter pflanzlicher Rohstoffe. Dazu werden fetthaltige Früchte aus der Familie der Apiaceae (Kümmel, Koriander, Anis und Kreuzkümmel) und cuticularwachshaltige Blüten aus der Familie der Asteraceae (Kamille und Schafgarbe) den jeweiligen Anreicherungsverfahren unterworfen. Die Entwicklung einer analytischen SFE-Methode ist dabei eine notwendige Voraussetzung, um Hochdruckextrakte in den Vergleich mit einbeziehen zu können sowie weitergehende Erkenntnisse zum Extraktionsverlauf zu erhalten. Dabei ist von besonderem Interesse, inwieweit die SFE mit SC-CO<sub>2</sub> als höchst flexibles und variables Extraktionsverfahren aufgrund ihrer besonderen Eigenschaften (Extraktionsverhalten und Fraktionierungsmöglichkeit) in der Lage ist, Extrakte zu erzeugen, die möglichst vielen Anwendungsbereichen genügen.

Im Rahmen der chemischen Bestandsaufnahme mit Hilfe von etablierten chromatographischen Trennmethode sollen die Möglichkeiten und Grenzen der Chromatographie mit überkritischen Fluiden (SFC) aufgezeigt werden, um insbesondere bei Hochdruckextrakten mit SC-CO<sub>2</sub> durch Chromatographie im gleichen Medium zu neuen Erkenntnissen hinsichtlich ihrer Zusammensetzung zu gelangen.

Die weitergehende Betrachtung der Extrakte und Destillate in Bezug auf ihre Qualität soll grundlegende Unterschiede aufzeigen, welche sich durch die Anwendung verschiedener Anreicherungsverfahren ergeben. Besonders wichtig ist dabei der Aspekt, inwieweit bei Extraktionsverfahren mitextrahierte Begleitstoffe im Vergleich zu Destillationsverfahren die Qualität des jeweiligen Extraktes bzw. Destillates verändern.

Ziel ist es, anhand von „Marker-Substanzen“ verfahrensbedingte Qualitätsabweichungen unabhängig vom eingesetzten Pflanzenmaterial bei möglichst allen untersuchten Pflanzen zu erkennen. Dabei steht neben den antioxidativen und antimikrobiellen Eigenschaften der Extrakte und Destillate die Betrachtung der Aromaqualität insbesondere unter Einbeziehung von Sniffing-Methoden (GC und SFC) im Vordergrund.

## **B ERGEBNISSE**

### **1 Extraktions- und Analysenmethoden**

#### **1.1 Extraktionsmethoden**

##### **1.1.1 Allgemeine Extraktionsmethoden**

Allgemein angewendete Anreicherungsverfahren sind die Extraktion und die Destillation. Beide Verfahren beschreiben das Abtrennen bestimmter Bestandteile aus einem festen Trägermaterial oder einer Lösung, wobei der Stofftransport durch Wechselwirkungen zwischen Lösungsmittel bzw. Destillationsmittel und Extraktionsgut erfolgt, ohne dass zwischen den beiden eine chemische Reaktion stattfindet. Eine Besonderheit stellt die Destraktion (abgeleitet von Extraktion und Destillation) dar. Dabei handelt es sich um ein Trennverfahren mit überkritischen Fluiden, welches insbesondere zur schonenden Anreicherung von Naturstoffen eingesetzt wird [3]. Übliche Verfahren zur Extraktgewinnung im analytischen Maßstab sind die Destillation (auch als simultane Destillation-Extraktion - SDE), die Lösungsmittlextraktion als Kaltextraktion und als Soxhletverfahren (auch unter Druck als Accelerated Solvent Extraction - ASE) sowie die Supercritical Fluid Extraction (SFE).

##### **1.1.2 Supercritical Fluid Extraction**

###### **1.1.2.1 Grundlagen der Analytischen SFE**

Die Supercritical Fluid Extraction (SFE) oder auch Hochdruckextraktion ist ein seit vielen Jahren übliches Verfahren zur Gewinnung von Extrakten aus biologischen Materialien bzw. zur gezielten Extraktion einzelner Komponenten aus komplexen Matrices [4-7]. Dabei geben die jeweils zu isolierenden Stoffklassen zumeist die Bedingungen des Extraktionsverfahrens vor. Insbesondere bei lipophilen und thermolabilen Kompo-

nenten kommt der Extraktion mit verdichteten Gasen eine große Bedeutung zu, und die Hochdruckextraktion wird heute als allgemein etabliertes Verfahren angesehen. Besonders wichtig erscheint die Möglichkeit, mittels flüssigem und überkritischem CO<sub>2</sub> als sehr apolarem Lösungsmittel, vergleichbar mit Hexan oder Pentan, die vollständige Bandbreite an lipophilen Naturstoffen über alle Stoffklassen hinweg (etherisches Öl, höhere Terpene, Ester, freie Fettsäuren, fette Öle, Wachse, Harze und Farbstoffe) durch Steuerung von Dichte, bzw. Druck und Temperatur extrahieren und fraktionieren zu können [8].

Ausgehend von einer überwiegend großtechnisch beschränkten Nutzung zur Entcoffeinierung von Kaffee und Tee [9,10] sowie der Hopfenextraktherstellung [11,12] wird die Hochdruckextraktion mit Kohlenstoffdioxid aufgrund ihrer zahlreichen Vorteile gegenüber der Destillation und der Lösungsmittlextraktion bei der Extraktherstellung aus Gewürzen, Arzneipflanzen, Ölsaaten etc. angewendet [13-16]. Im Unterschied zu den meisten anderen Extraktionsverfahren werden keine Lösungsmittel, sondern entsprechende Fluide eingesetzt, so dass der gewonnene Extrakt nicht nur „lösungsmittelfrei“ ist, sondern durch die besonderen Eigenschaften des ausgewählten Fluids auch nur einer geringen thermischen Belastung ausgesetzt wurde.

Die anliegende Tabelle gibt einen Überblick über die im Allgemeinen verwendeten überkritischen Fluide und deren für die Extraktion wichtigen physikalischen Eigenschaften [17-20].

**Tabelle 1:** Ausgewählte geeignete Fluide für die SFE

Stoff	T <sub>c</sub> (°C)	P <sub>c</sub> (bar)	ρ <sub>c</sub> (g/mL)	δ (cal/mL) <sup>1/2</sup>	MG
CO <sub>2</sub>	31,1	73,8	0,47	10,7	44,01
N <sub>2</sub> O	36,6	72,4	0,45	10,6	44,01
Ethan	32,6	32,6	0,20	8,7	30,07
Xe	16,7	58,4	1,096	9,5	131,30
SF <sub>6</sub>	45,7	37,6	0,772	7,6	146,05
CHF <sub>3</sub>	26,3	48,6	0,506	8,7	70,01
CClF <sub>3</sub>	28,9	38,7	0,585	7,8	104,46

**T<sub>c</sub>:** Kritische Temperatur

**P<sub>c</sub>:** Kritischer Druck

**ρ<sub>c</sub>:** Kritische Dichte

**δ:** Löslichkeitsparameter nach Hildebrand

**MG:** Molekulargewicht

Andere Fluide wie z.B. Ammoniak werden aufgrund ihres hohen Korrosionsvermögen nicht eingesetzt, Ethen erfordert aufgrund seiner leichten Entflammbarkeit besondere Sicherheitsstandards, die Frigene mit höheren Dipolmomenten ( $> 1$  Debye) sind umwelttoxisch, Methanol als sehr polare Komponente wird erst ab einer Temperatur von  $240\text{ °C}$  überkritisch.

Deshalb gelangen in der analytischen SFE in Abhängigkeit vom Extraktionsziel die o.a. Gase als Fluide zur Anwendung [21]. All diesen Fluiden ist ein nur mäßiges Extraktionsvermögen und mangelnde Polarität gemeinsam, so dass den aus der Matrix extrahierbaren Stoffklassen grundsätzlich eher lipophile Eigenschaften zuzuordnen sind.

Aufgrund des niedrigen kritischen Druckes, der niedrigen kritischen Temperatur und der damit verbundenen guten Beherrschbarkeit des Fluides im überkritischen Zustand, der schlechten Entflammbarkeit und der damit verbundenen Sicherheit, der geringen Toxizität sowie günstiger Herstellungskosten bei gleichzeitig hoher Reinheit haben sich überwiegend  $\text{CO}_2$  und  $\text{N}_2\text{O}$  behauptet. Dabei ist die Polarität dieser beiden Fluide verschieden ( $\text{N}_2\text{O}$  besitzt im Unterschied zu  $\text{CO}_2$  ein schwaches permanentes Dipolmoment von  $0,2$  Debye), so dass sich auch unterschiedliche Extraktionseigenschaften ergeben ( $\text{N}_2\text{O}$  besitzt eine deutlich höhere Fähigkeit, Analyten von Matrixoberflächen abzulösen) [21]. Überkritisches  $\text{CO}_2$  verhält sich gegenüber der zu extrahierenden Matrix inert, im Gegensatz dazu weist  $\text{N}_2\text{O}$  ein hohes oxidierendes Potential auf. Es sei erwähnt, dass während der Extraktion bei Anwesenheit größerer Mengen an organischen Komponenten (z.B. Fetten) oxidationsbedingte Explosionen beschrieben worden sind, welche die Extraktionsanlage zerstört haben [22].

Deshalb wird im Falle der industriellen Rohextraktgewinnung aus Pflanzenmaterialien überwiegend überkritisches Kohlenstoffdioxid ( $\text{SC-CO}_2$ ) als Fluid eingesetzt. Damit können Extrakte in hoher Ausbeute und mit hoher Qualität bei gleichzeitiger Fraktionierungsmöglichkeit erhalten werden. Insbesondere bei der Herstellung von Aromaextrakten sowie entsprechenden Fraktionen ist die Extraktion mit  $\text{SC-CO}_2$  aktueller Stand der Technik und hat seit Beginn der 80'er Jahre zur weiten Verbreitung der analytischen SFE zur Qualitätskontrolle und Methodenentwicklung geführt [18,23].

Alle Anwendungen (analytisch und präparativ) werden somit durch die Extraktionseigenschaften des  $\text{SC-CO}_2$  bestimmt und im Falle der Anwendung von reinem  $\text{CO}_2$  ohne Modifier damit auch limitiert. Die Extraktionseigenschaften von reinem  $\text{SC-CO}_2$  sind auf den stark lipophilen Bereich beschränkt (z.B. Kohlenwasserstoffe, Fette, Wachse, organische Säuren und Alkohole, halogenierte Kohlenwasserstoffe und Pestizide, Ste-

roide etc). Stärker polare Stoffklassen lassen sich weder bei hohen Drücken ( $> 400$  bar) noch bei hohen Dichten ( $>1,0$  g/ml) extrahieren und erfordern im Allgemeinen die Zugabe von polaren Modifiern zum Extraktionsfluid [18]. Im Einzelfall können, bedingt durch die stoffliche Zusammensetzung des Extraktionsgutes, hohe Anteile bestimmter Gruppen von Pflanzeninhaltsstoffen (z.B. Fette, Wasser, Blütenfarbstoffe etc.) die Funktion von Modifiern übernehmen und dann zu in theoretischen Extraktionsmodellen nicht vorhergesagten Extraktionsergebnissen führen.

Der Erfolg einer Extraktion mit überkritischen Fluiden ist von sehr vielen unterschiedlichen Einflussgrößen abhängig und lässt sich auch bei der Extraktion von Einzelkomponenten nur eingeschränkt vorherbestimmen. Die wesentlichen Einflussgrößen sind

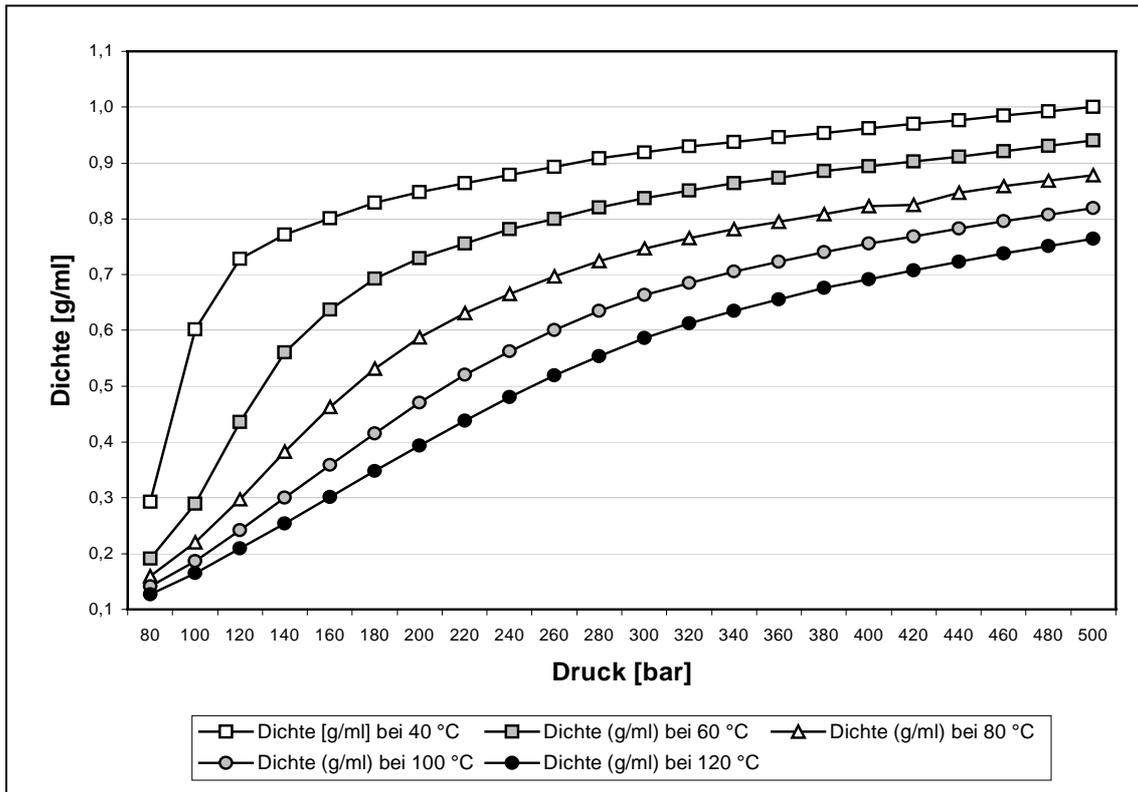
- das Lösungsvermögen des überkritischen Fluides
- die Fähigkeit des überkritischen Fluides, die zu extrahierenden Substanzen von den Bindungsstellen (aktiven Stellen) der Matrix zu verdrängen
- die Löslichkeit der Solventen im Fluid (Massentransport)
- Variable Parameter an den Extraktionsanlagen (s. Kap. 1.2.1.2)

Das Lösungsvermögen eines überkritischen Fluides hängt neben seiner Polarität auch von seiner Dichte ab und wird somit durch die Parameter Druck und Temperatur festgelegt. Für  $\text{CO}_2$  lassen sich im überkritischen Zustand zwei grundlegende Extraktionsbereiche unterscheiden:

- Bereich hoher Dichte (z.B. 40 bis 60 °C, 350 bar); Dichte ca. 0,8 g/mL, Diffusionskoeffizient  $10^{-4}$  cm<sup>2</sup>/s
- Bereich niedriger Dichte (z.B. 40 bis 60 °C, 75 bar); Dichte ca. 0,2 g/mL, Diffusionskoeffizient  $10^{-5}$  cm<sup>2</sup>/s

Im Extraktionsbereich mit hoher Dichte findet eine „Totalextraktion“ statt, im Extraktionsbereich der niedrigen Dichte dagegen eine „selektive Extraktion“, typisch für die jeweilige Stoffklasse. Diese Selektion kann erreicht werden durch Veränderung der Dichte (Druck und Temperatur).

Abb. 1 stellt den Zusammenhang in den üblichen Grenzen der während einer Extraktion mit überkritischem  $\text{CO}_2$  eingestellten Parameter (Temperatur: 40 °C bis 120 °C; Druck: 80 bar bis 500 bar; Dichte: 0,15 g/mL bis 1,0 g/mL) dar. Als allgemeine Grundsatzregel gilt, dass das Lösungsvermögen des SC- $\text{CO}_2$  mit zunehmender Dichte, bzw. bei konstanter Dichte und zunehmender Temperatur steigt.



**Abbildung 1:** Variabilität bei der SFE mit SC-CO<sub>2</sub> für Dichte (0,15 g/mL bis 1,0 g/mL), Temperatur (40 °C bis 120 °C) und Druck (80 bar bis 500 bar)

Das Extraktionsmedium muss die Probenkomponente nicht nur lösen können, sondern es muss sie von den „aktiven Stellen“ der Matrix entfernen können und somit in Konkurrenz zu den Bindungsstellen der Matrix treten. Bei mengenmäßig dominierende Substanzen ist dieser Effekt nachgeordnet, bei Substanzen im Spurenbereich hingegen ist diese Kenntnis zwingend für die Methodenentwicklung und kann zu völlig anderen Extraktionsparametern führen [21]. Den Wechselwirkungen zwischen Fluid, Matrix und den quantitativ zu extrahierenden Komponenten kommen deshalb große Bedeutung zu. Werden die Extraktionen nur mit reinem SC-CO<sub>2</sub> durchgeführt, so ist zumindest die Einflussgröße Extraktionsmedium vorgegeben. In diesem Falle begünstigen bei konstanter Temperatur geringe Drücke die Extraktion von weniger polaren und kleineren Molekülen, während bei höheren Drücken stärker polare und vom Molekulargewicht her größere Analysesubstanzen vermehrt extrahiert werden [21]. Dies ermöglicht die Optimierung eines selektiven Extraktionsbereiches für eine bestimmte Verbindungs-

### 1.1.2.2 Methodenentwicklung

Ziel dieser Arbeit ist u.a. die Entwicklung einer Extraktionsmethode mit reinem SC-CO<sub>2</sub> ohne Modifier. Weiterhin sollen sehr leicht flüchtige Komponenten verlustfrei und möglichst quantitativ extrahiert werden können, um die Extraktionsmethodik SFE mit anderen Aromaextraktionsmethoden (SDE, LSM, SOX) vergleichen zu können. Falls möglich, sollen ebenfalls Informationen zu mittelpolaren und höher siedenden Stoffklassen aus den Extrakten gewonnen werden können.

Andere wissenschaftliche Arbeiten haben gezeigt, dass bei der Anreicherung von Aromastoffen mit Hilfe von überkritischem CO<sub>2</sub> die Fokussierung der Komponenten nach der Extraktion eine der schwierigsten Aufgaben bei der Methodenentwicklung ist. Diese Aussage gilt sowohl für Extraktionsanlagen im analytischen [24] als auch im präparativen Maßstab [25]. Es gibt etliche Arbeiten [26-34] zu dieser Problematik.

Bei diesem Arbeitsschritt sind immer wieder hohe Verluste an leichtflüchtigen Aromastoffen hinzunehmen. Ursache dafür sind die großen Mengen an gasförmigem CO<sub>2</sub>, welche sich bei der Entspannung aus dem überkritischen Zustand bilden und die aromatischen Substanzen mitreißen. Als ein für den analytischen Maßstab realistisches Beispiel sei genannt, dass bei einem Fluss von 1,0 ml/min SC-CO<sub>2</sub> bei einer Dichte von 0,772 g/ml (entspricht 40 °C bei 140 bar) unter Normalbedingungen 393 ml/min gasförmiges CO<sub>2</sub> entstehen. Dem Auffangen des Analyten kommt deshalb bei der SFE insbesondere bei niedrig siedenden Substanzen eine hohe Bedeutung zu.

Alle durchgeführten Versuche (insbesondere mit Extraktionsanlagen ohne variablen Restriktor und ohne kühlbare Extraktionsfalle, z.B. MPS 225 im Extraktionsmodus und der SFE-Extraktor von ISCO), bei denen der Kapillarrestriktor der Extraktionsanlage in Auffanggefäßen mit wahlweise eisgekühltem Diethylether platziert wurde, traten Verluste an Aromastoffen auch bei einer sehr geringen Flussrate von nur 0,2 ml/min SC-CO<sub>2</sub> auf. Diese Aussage gilt unabhängig von der Extraktionsdauer, u.z. auch dann, wenn das Auffanggefäß (Reagenzglas mit teflonbeschichtetem Gummiverschluss) zusätzlich mit einem Überdruck von 2 bar versetzt wurde (ISCO). In der sich anschließenden gaschromatographischen Kontrolle des Extraktes mit SE-54 Säulen konnte nachgewiesen werden, dass die Komponenten bis zur Elution von  $\beta$ -Myrcen (entspricht in etwa einem Elutionsindex von 1.000) nicht quantitativ extrahiert und fokussiert werden

konnten. Bei höheren Flussraten des SC-CO<sub>2</sub> sind die Verluste noch größer. Da die aromaaktiven Substanzen in einem Bereich des Elutionsindex von ca. 600 bis 2.500 eluieren und insbesondere die durch die Destillation entstehenden aromaaktiven Artefakte z.T. bei  $K_1 > 1.000$  eluieren, ist eine Qualitätsbewertung der Extrakte hinsichtlich ihrer Aromaqualität unter diesen Extraktionsbedingungen nicht möglich.

Ein Ausweg aus dieser Problematik besteht einerseits in einem variablen, beheizbaren Restriktor (ein Vereisen der Restriktorspitze durch den Joule-Thomson-Effekt wird somit ausgeschlossen) und andererseits im konstruktiven Detail einer sich an die Extraktion und Entspannung anschließenden kühlbaren und mit Sorbentien packbaren Extraktionsfalle (z.B. der HP-Extraktor 7680 A).

Des Weiteren ist zu beachten, dass eine thermische Belastung des Extraktionsgutes möglichst vermieden wird. Bei allen Extraktionsmethoden wird deshalb der Rohextrakt mit niedrig siedenden Lösungsmitteln hergestellt und bei einer Wasserbadtemperatur von nur 40 °C aufkonzentriert. Im Rahmen der Vergleichbarkeit der Extraktionsmethoden erfolgt deshalb die Methodenentwicklung bei der SFE ebenfalls bei nur 40 °C Extraktionstemperatur. Lediglich die SDE-Destillation erfordert eine Temperaturbelastung von 100 °C.

Um zunächst einen Einblick in die bei 40 °C mit reinem SC-CO<sub>2</sub> extrahierbaren Stoffmengen zu bekommen, wird das MPS 225 entsprechend Kapitel E 2.2.5 so modifiziert, dass der Extrakt direkt nach der Extraktion aus dem Kapillarrestriktor in den FID entspannt wird.

Die nachfolgende Tabelle gibt einen Überblick über den Stofftransport während der Extraktion mit SC-CO<sub>2</sub> bei 40 °C. Aufgeführt sind jeweils nur die Druckstufen, die auch während der Online-Sniffing-SFE (s. Kap. B 3.4.2) angewendet werden. Dabei erfolgt im Bereich von 100 bis 220 bar die Steigerung jeweils alle 20 bar, während oberhalb von 220 bar nur eine Druckstufe (bei 400 bar) angewendet wird, um so die „Totalextraktion“ darzustellen.

Das FID-Signal wird ausgewertet, und die Fläche unter der Kurve (AUC) erlaubt so einen Rückschluss auf die Menge an extrahierbaren und vom FID angezeigten Stoffen. Alle tabellarisch aufgeführten Werte sind bezogen auf 10 mg zerkleinertes und extrahiertes Pflanzenmaterial. Die Summe aller bis 400 bar extrahierbaren Stoffmengen beträgt 100 % (s. Tabelle 2).

**Tabelle 2:** Darstellung der bei 40 °C und unterschiedlichen Drücken extrahierbaren Stoffmengen mittels Online-SFE-FID

bar	Anis		Cumin		Kümmel		Koriander		Kamille		Schafgarbe	
	Area	%	Area	%	Area	%	Area	%	Area	%	Area	%
100	1810	24,3*	6185	17,5*	440	11,5*	165	7,9*	3410	26,5*	40	0,9
120	1290	17,4*	2500	7,1	20	0,6	145	6,9*	1360	10,6*	50	1,1
140	520	7,0*	525	1,5	10	0,3	110	5,0*	2045	15,9*	30	0,6
160	260	3,4	195	0,5	20	0,6	85	3,9	775	6,0*	195	4,4
180	125	1,7	265	0,7	35	0,9	35	1,9	230	1,8	485	11,0*
200	50	0,7	105	0,3	30	0,7	20	1,0	135	1,1	195	4,4
220	35	0,5	80	0,2	20	0,6	20	1,0	90	0,7	195	4,4
400	3345	45,0*	25525	72,2*	3235	84,8*	1530	72,4*	4820	37,4*	3225	73,2*
Σ	7435	100	35380	100	3810	100	2110	100	12865	100	4415	100

\*Die grau unterlegten Felder stellen die Stoffmengen der jeweiligen Druckstufe von mehr als 5 % dar.

Die tabellarischen Werte (jeweils die Spalten in %) belegen, dass bei der SFE mit zunehmendem Extraktionsdruck (von 100 bis auf 400 bar) erwartungsgemäß auch die Menge an extrahierten Stoffen zunimmt. Bei den untersuchten Druckstufen erfolgt der größte Stofftransport, gemessen an der insgesamt extrahierten Stoffmenge, bei 400 bar. Ergebnisse anderer Arbeiten zeigen, dass bei diesen Drücken die meisten in Pflanzen vorkommenden lipophilen Substanzen, insbesondere höhermolekulare Cuticularwachse von Blattoberflächen sowie Triglyceride aus Samen und Früchten, annähernd vollständig extrahiert werden [23].

Bei den o.a. untersuchten Pflanzenbestandteilen zeigt sich bei diesem hohen Druck ein sehr unterschiedliches Extraktionsverhalten: Während bei Cumin, Kümmel, Koriander und Schafgarbe zwischen 72 und 85 % aller Stoffe extrahiert werden, sind es bei Anis und Kamille „nur“ 37 bis 45 %. Im Druckbereich von 100 bis 140 bar können bei Anis und Kamille nahezu bis zu 50 % aller Stoffe extrahiert werden, beim Cumin sind es immerhin noch ca. 25 %, bei Koriander und Kümmel noch 18, bzw. 13 %, lediglich bei der Schafgarbe beschränkt sich der extrahierbare Anteil auf weniger als 3 %. Allen Pflanzenbestandteilen mit Ausnahme von Schafgarbe ist gemeinsam, dass zwischen 140 und 220 bar nur sehr geringe Stoffmengen (bis maximal 10 %) extrahiert werden.

Für die Entwicklung einer analytischen Extraktionsmethode zur Herstellung aromaaktiver Extrakte erscheint somit eine mindestens zweistufige Extraktion für alle Pflanzenbestandteile sinnvoll. In einer ersten Stufe bis 140 bar können die leicht extrahierbaren Komponenten und in einer zweiten Stufe oberhalb von 140 bar die schwerer extrahierbaren Komponenten erfasst werden. Es ist somit zu erwarten, dass die in der ersten

Stufe bei 40 °C und 140 bar gewonnenen Extrakte die wesentlichen aromaaktiven Anteile enthalten und sehr polare und hochmolekulare Komponenten noch abwesend sind.

Die eigentliche Methodenentwicklung wird mit dem SFE-Extraktor von HP durchgeführt. Nach Festlegung von Druck (140 bar) und Temperatur (40 °C) ergeben die Vorversuche, dass bei einer Dauer von 10 Minuten statischer Extraktion ein optimales Durchdringen des Extraktionsgutes gegeben ist, wenn die Extraktionszelle wie in Kapitel E 1.3 beschrieben symmetrisch und totvolumenarm gepackt ist.

Ein weiteres wesentliches Kriterium für eine quantitative Extraktion ist die Korngröße des Extraktionsgutes. So werden z.B. bei nur angestoßenen Anisfrüchten (s. EuAB) auch unter optimierten Extraktionsbedingungen nur ca. 25 % etherisches Öl extrahiert, gemessen am trans-Anethol. Zugleich riecht der Extraktionskuchen stark nach Anis. Bei der in dieser Arbeit genutzten Schlagmühle erweist sich bei einer Einwaage von ca. 10 g eine Mahldauer von 30 Sekunden bei gleichzeitiger Kühlung auf 20 °C als optimal. Das zerkleinerte Extraktionsgut wird innerhalb von 1 Minute nach der Zerkleinerung zur Extraktion eingesetzt.

Des Weiteren gilt im Rahmen dieser Arbeit für die Herstellung von Aromaextrakten im analytischen Maßstab als Kriterium, dass während und nach der Extraktion die Umgebung der SFE-Extraktionsanlage sowie die Anlage selbst frei von Geruchseindrücken aus dem Extraktionsgut sein sollte. Das garantiert einen möglichst geringen Verlust an Aromastoffen während der Extraktion.

Diese strenge Vorgabe ist nur einzuhalten, wenn folgende Kriterien erfüllt werden:

- die Flussrate des SC-CO<sub>2</sub> darf 0,5 ml/min nicht überschreiten
- die Restriktorspitze muss beheizbar sein, aber nur so stark, dass das Zufrieren verhindert wird und der Extrakt nicht thermisch belastet wird (40 °C)
- die Extraktionsfalle muss während der Extraktion gekühlt werden (mindestens -20 °C)
- die Extraktionsfalle muss mit geeignetem Festphasenmaterial gepackt werden, um leicht flüchtige polare und unpolare Komponenten fokussieren zu können
- eine sich an die Extraktion anschließende Elution muss polare und unpolare Stoffe vollständig von der Extraktionsfalle in das Vial spülen (Diethylether bei 20 °C)
- nach Entfernen des Elutionsmittels sollen keine Extraktreste mehr in der Extraktionsfalle anwesend sein.

Eine Überladung des HP - Extraktionssystems zeigte sich immer dann, wenn folgende Kriterien nicht beachtet wurden:

- Einwaage von mehr als 1,0 g Extraktionsmaterial
- Erhöhung des Flusses des SC-CO<sub>2</sub> auf mehr als 0,5 ml/min
- fehlende Kühlung der Extraktionsfalle während der Extraktion.

Die sich anschließende Elution führte immer dann zu nicht quantitativen Ergebnissen, wenn folgende Bedingungen nicht eingehalten wurden:

- nicht geeignetes Material für die Extraktionsfalle (z.B. Edelstahlkugeln)
- nicht geeignete Elutionsmittel (z.B. Hexan - zu unpolar, Methanol - zu polar)
- die Flussrate des Diethylethers während der Elution beträgt mehr als 0,2 ml/min
- die Restriktortemperatur beträgt mehr als 80 °C

Am Beispiel der Extraktion ausgesuchter Aromakomponenten von Cuminfrüchten wird die Optimierung der Extraktionsdauer dargestellt. Als Vertreter der jeweiligen Stoffklassen sind  $\alpha$ - und  $\beta$ -Pinen für die Terpene, Linalool für die Terpenalkohole, Cuminaldehyd für die Terpenoxide,  $\alpha$ - Bergamoten für die Sesquiterpene, trans-Nerolidol für die Sesquiterpenalkohole und Caryophyllenoxid für die Sesquiterpenoxide aufgeführt.

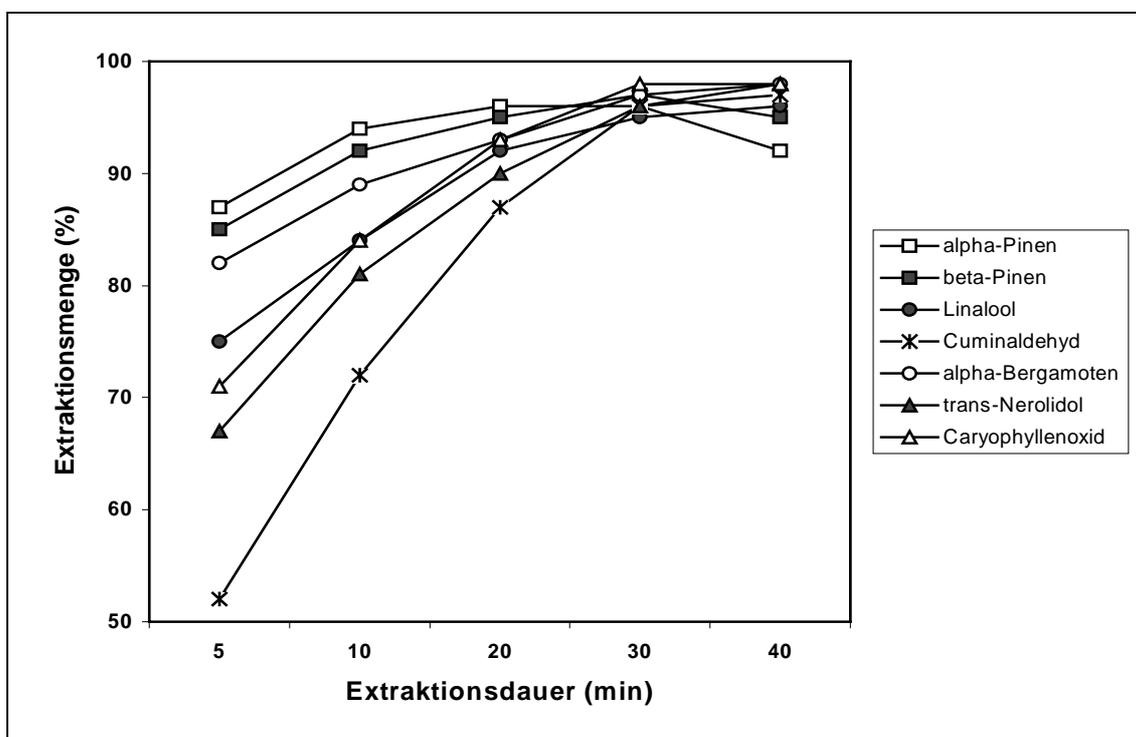


Abbildung 2: Einfluss der Extraktionsdauer auf die Extraktionsmenge (%) definierter Einzelkomponenten am Beispiel von Cuminfrüchten

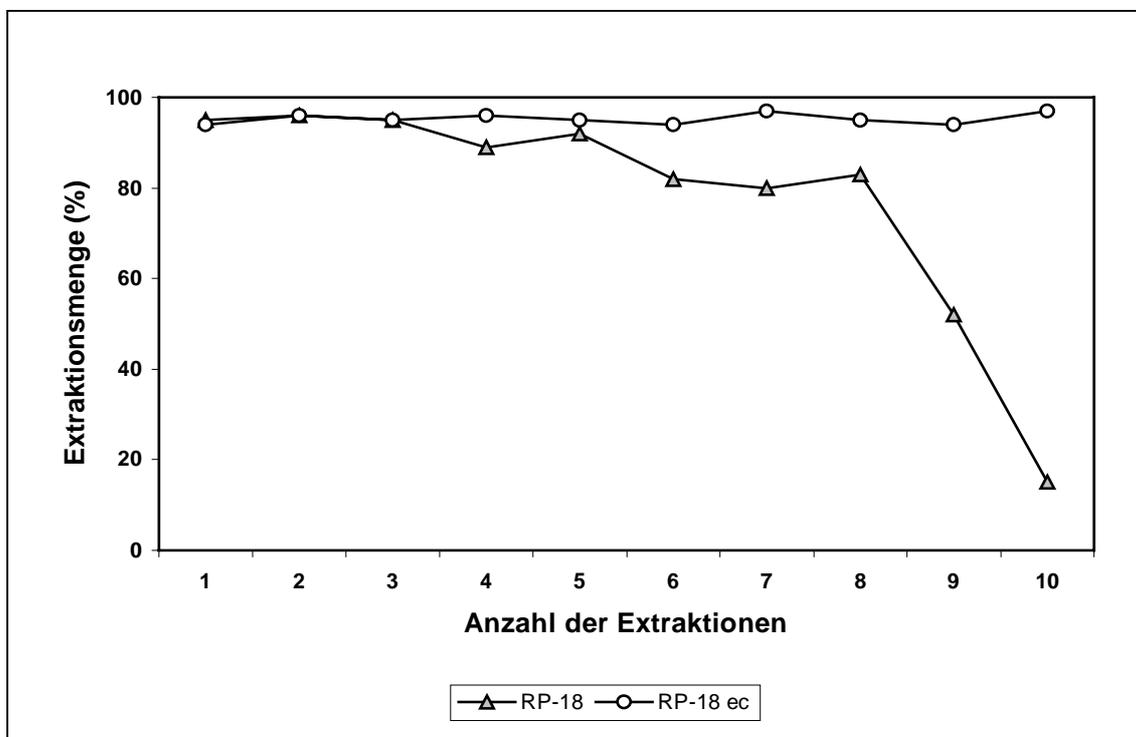
Die Abbildung zeigt, dass bei allen Stoffklassen unter den o.a. Bedingungen eine Extraktionsdauer von mehr als 20 Minuten erforderlich ist, wenn im Vergleich zu anderen Extraktionsverfahren mindestens 95 % Ausbeute erreicht werden sollen. Zugleich zeigt die Kurve von  $\alpha$ -Pinen, dass die Extraktionsdauer bei leichter flüchtigen Komponenten nicht beliebig verlängert werden kann, weil ab einem bestimmten Zeitpunkt die Ausbeute auch wieder abnehmen kann, abhängig von der jeweiligen Komponente.

Weiterhin ist grundsätzlich zu beobachten und festzustellen, dass die Optimierung der Extraktionsbedingungen immer nur für eine Einzelkomponente gelten kann. Sobald mehrere Komponenten extrahiert werden müssen, z.B. weil sie nur in ihrer Gesamtheit für die Qualitätsbewertung eines Extraktes bedeutsam sind, stellt die Optimierung der Extraktionsparameter, wie in diesem Falle die Extraktionsdauer, immer einen Kompromiss dar. Insbesondere unpolare, kleine und leicht flüchtige Stoffe (z.B.  $\alpha$ - und  $\beta$ -Pinen) können in kürzerer Zeit mit höherer Ausbeute extrahiert werden als stärker polare, größere, und weniger leicht flüchtige Stoffe (Caryophyllenoxid). Auch die Konzentration eines Stoffes im Extraktionsgut ist bedeutsam für die Methodenentwicklung. Cuminaldehyd als eine Hauptkomponente im Cumin verlangt nach einer Extraktionszeit von mindestens 30 Minuten.

Wie o.a., sind beim HP-Extraktor die Schritte Extraktion und Elution eng miteinander verbunden. Nach der Optimierung der Extraktionsbedingungen ist die Optimierung der Elutionsbedingungen (Festphasenextraktion der gepackten Extraktionsfalle) erforderlich. Das Festphasenmaterial der Extraktionsfalle ist starken Belastungen ausgesetzt, z.B. Temperaturschwankungen (-20 °C bis +30 °C), verschiedenen Gasen (CO<sub>2</sub> und Luft) und verschiedenen Elutionsmitteln.

Die „Alterung“ des zunächst ausgewählten Festphasenmaterials RP-18 der Korngröße 40  $\mu$ m wird am Beispiel von Linalool gezeigt (s. Abb.3). Es ist deutlich zu erkennen, dass bei mehrmaliger Verwendung derselben Extraktionsfalle (RP-18 Material; 40  $\mu$ m) mit einer zunehmenden Anzahl von Extraktionen die Ausbeute abnimmt, bezogen auf den Terpenalkohol Linalool. Nach ca. 12 Extraktionen ist der SFE-Extrakt von Kreuzkümmelfrüchten frei von Linalool. Diese Komponente kann dann weder gaschromatographisch noch sensorisch mehr wahrgenommen werden. Da diese Feststellung in Analogie auch bei anderen polaren Minorkomponenten zu beobachten ist, gleichzeitig aber nicht auftritt bei ausschließlich lipophilen Stoffen wie Terpenen und

Sesquiterpenen, liegt die Ursache in einer Veränderung des Sorptionsmaterials der Extraktionsfalle.



**Abbildung 3:** Einfluss des Festphasenmaterials der Extraktionsfalle auf die Extraktqualität in Abhängigkeit von der Anzahl der Extraktionen am Beispiel von Linalool

Mit Austausch des Festphasenmaterials RP-18 (40 $\mu$ m) gegen 40 $\mu$ m RP-18 „endcapped“ (eine annähernd vollständige Silanisierung aller Si-OH Bindungsstellen mit C18 wird angenommen) konnten mehr als 10 Extraktionen in Serie ohne Ausbeuteverlust durchgeführt werden.

## 1.2 Analysenmethoden

Alle hergestellten Destillate und Extrakte werden chromatographischen Trennmethode (GC und SFC) mit qualitativer (MS) und quantitativer (FID) Detektion unterzogen, eine Voraussetzung für den Vergleich der Destillations- und Extraktionsmethoden sowie deren Auswirkung auf die Qualität der Destillate und Extrakte.

### 1.2.1 GC-FID und GC-MS

Die gaschromatographischen Trennungen erfolgen gemäß den Methodenbeschreibungen in den Kapiteln E 2.1.1 (GC-FID) und E 2.3.1 (GC-MS).

### 1.2.2 SFC-FID und SFC-MS

Die chromatographischen Trennungen mit SC-CO<sub>2</sub> werden anhand der in den Kapiteln E 2.2 (SFC-FID) und E 2.3.2 (SFC-MS) beschriebenen Methoden durchgeführt. Als mobile Phase werden, einerseits aus gerätetechnischen Gründen (FID als Detektor) und andererseits zum Vergleich mit den Sniffing-Ergebnissen, ausschließlich überkritische Fluide (SC-CO<sub>2</sub> und SC-N<sub>2</sub>O) ohne Modifier-Zusatz eingesetzt.

#### 1.2.2.1 SFC mit Kapillarsäulen und gepackten Säulen

Bei der Untersuchung von Lebensmitteln, Pflanzenbestandteilen, Aromen und Fetten handelt es sich zumeist um höchst komplexe, chemische Gemische, welche sich bei der Anwendung höherer Temperaturen häufig chemisch verändern. Die Auswahl von Extraktions- und Fraktionierungsverfahren bei niedrigen Temperaturen ist daher von großer Bedeutung und hat u.a. zur Etablierung der SFE sowohl in analytischem als auch industriellem Maßstab geführt. Die so gewonnenen Extrakte werden überwiegend gaschromatographisch analysiert [17-19], obwohl die SFC insbesondere für die mittels SFE hergestellten Extrakte eine analytische Trennung in demselben Medium ermöglicht [35].

Die Chromatographie mit überkritischen Fluiden basiert auf denselben Prinzipien wie in Kapitel B 1.1.2 aufgeführt und wurde im Zeitraum 1958 [36] bis 1961 [37] erstmalig als SFC mit gepackten Säulen beschrieben. Mit der Einführung der Kapillarsäulen im Jahre 1982 [38] etablierte sich die SFC als ein ergänzendes Trennverfahren zwischen HPLC und GC [39], weil die Detektoren von HPLC und GC genutzt werden können [40]. Aufgrund der Eigenschaften des überkritischen Fluides als mobile Phase sowie seiner Mischbarkeit mit Modifiern hat die SFC mit gepackten Säulen bei niedrigen und hohen

Dichten trotz deutlich kürzerer Analysenzeiten große Ähnlichkeit mit der HPLC hinsichtlich der Konstruktion des Chromatographen (Injektionssystem, kühlbares Pumpensystem, Trennsäulen und druckfeste Detektorsysteme) sowie der analytischen Eigenschaften [17,19]. So ist z.B. die Selektivität sowohl durch die Auswahl der Trennsäule als auch durch die Wahl bzw. Veränderung der mobilen Phase durch Modifier-Zusatz beeinflussbar. Die Kapillarsäulentechnik hingegen verbindet die beiden chromatographischen Verfahren HPLC und GC: Das aufwendige Pumpensystem und die Injektionstechnik der HPLC bleiben weiterhin erforderlich, die Kapillartrennsäulen (chemisch gebundene Phasen) und Detektorsysteme entstammen überwiegend der GC [17-19,41].

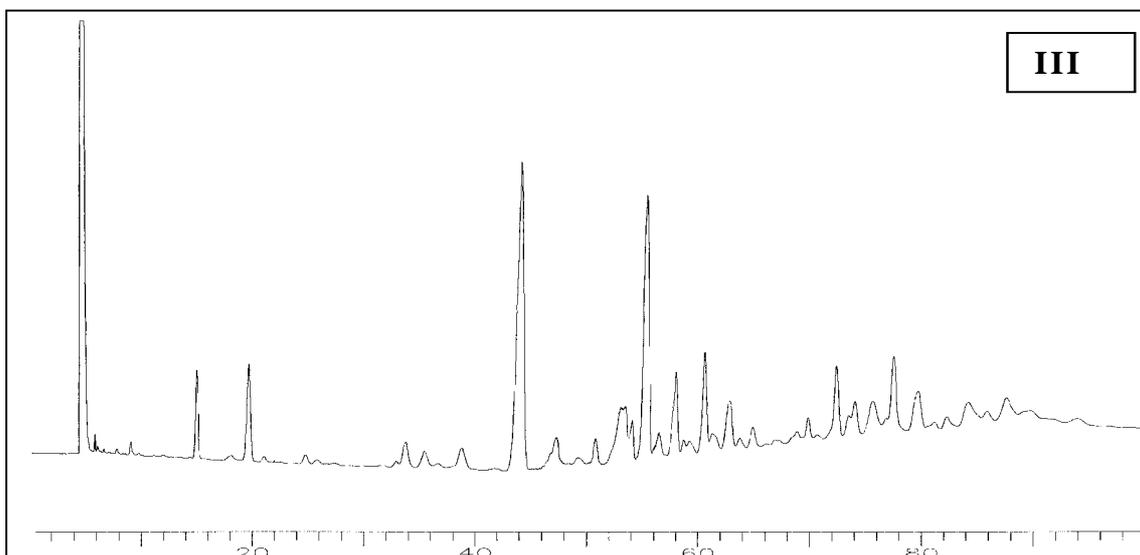
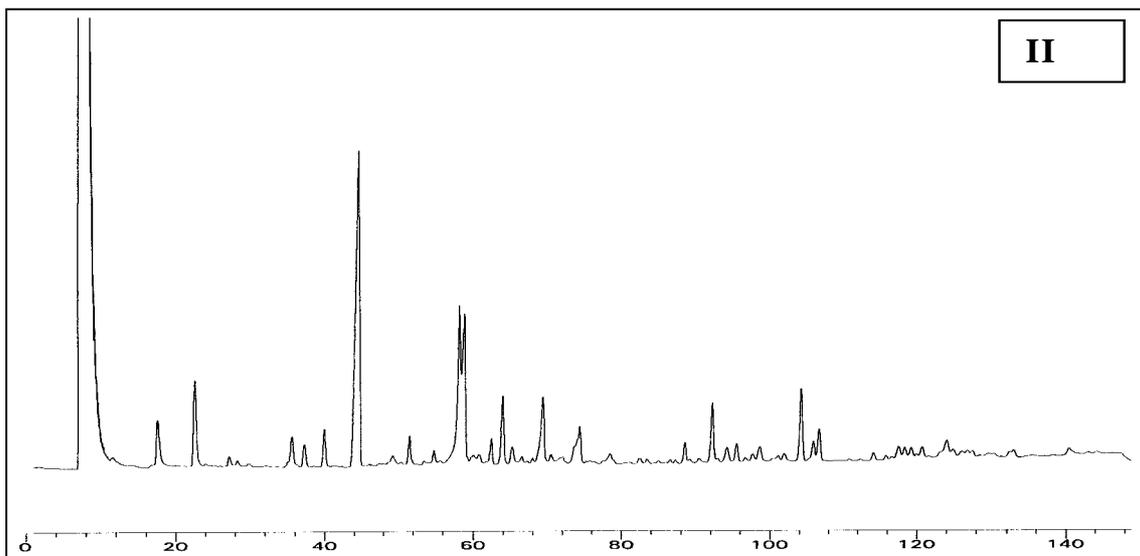
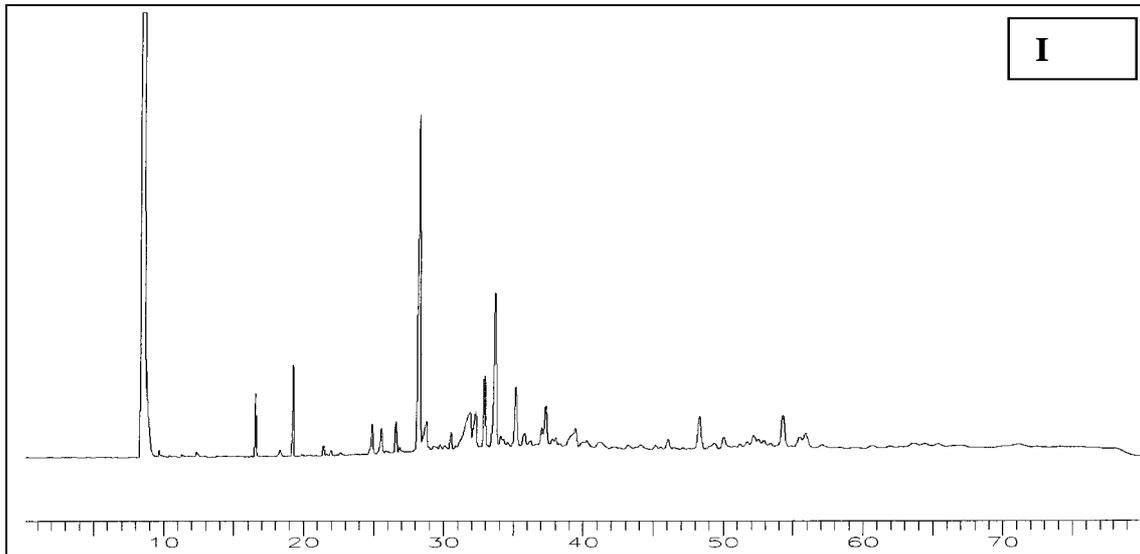
Eine Besonderheit der SFC hingegen sind die Entwicklung spezieller Kapillarsäulen mit chemisch gebundenen Phasen [42,43], die dafür zu verwendenden Anschlüsse und Adapter für Kapillarsäulen (temperaturstabil wie in der GC und druckfest bis über 400 bar) sowie die Restriktorentchnik zur Begrenzung der Fließgeschwindigkeit der mobilen Phase. Auch die Chromatographie mit Microbore Säulen sowie gepackten Säulen bis zu 1 mm i.d. verlangt spezielle, für die Trennsäule optimierte fused-silica Restriktoren (s. Kapitel B 1.2.2.2), die z.B. als Integralrestriktoren auch selbst hergestellt werden können [44] und die Anwendung von GC-Detektoren ermöglichen [45,46]. Bei der Chromatographie mit gepackten Säulen (Modifier-Zusatz und HPLC-Detektorsysteme) hat sich der bereits in der SFE beschriebene, variable Restriktor (Fa. HP) durchgesetzt.

Wie in Kapitel E 2.2.1 und E 2.2.2 beschrieben, ist das Gerät MPS 225 von Suprex für die Chromatographie mit gepackten Säulen mit bis zu 1 mm i.d. ausgelegt und wird mit einem FID betrieben. Nach Umbau und Optimierung ist der Chromatograph auch für den Betrieb mit Kapillarsäulen geeignet. Als mobile Phase wird überwiegend SC-CO<sub>2</sub> eingesetzt, so dass insbesondere die mit SC-CO<sub>2</sub> hergestellten Extrakte im selben Medium weiter analysiert werden können.

Die folgende Abbildung 4 (I-IV) ermöglicht einen Vergleich zwischen zwei verschiedenen Chromatographen und unterschiedlichen Trennsäulen.

Es wird immer derselbe SFE-Extrakt von Kamilleblüten injiziert, im Falle von Bild I in das auf Kapillarbetrieb optimierte MPS 225 von Suprex (Analysendauer ca. 70 Minuten). Bild II zeigt eine 140-minütige Trennung im SFC-Chromatograph Serie 600 aus dem Applikationslabor der Fa. Dionex. In beiden Fällen wird mit gleichen Trennsäulen (SB-Biphenyl 30, L 10 m, i.d. 0,05 mm) und konstanter Temperatur (100 °C) chroma-

tographiert. Lediglich Injektionsvolumen (0,1 µl bei Suprex und 0,2 µl bei Dionex) und Druckprogramm der Geräte sind unterschiedlich.



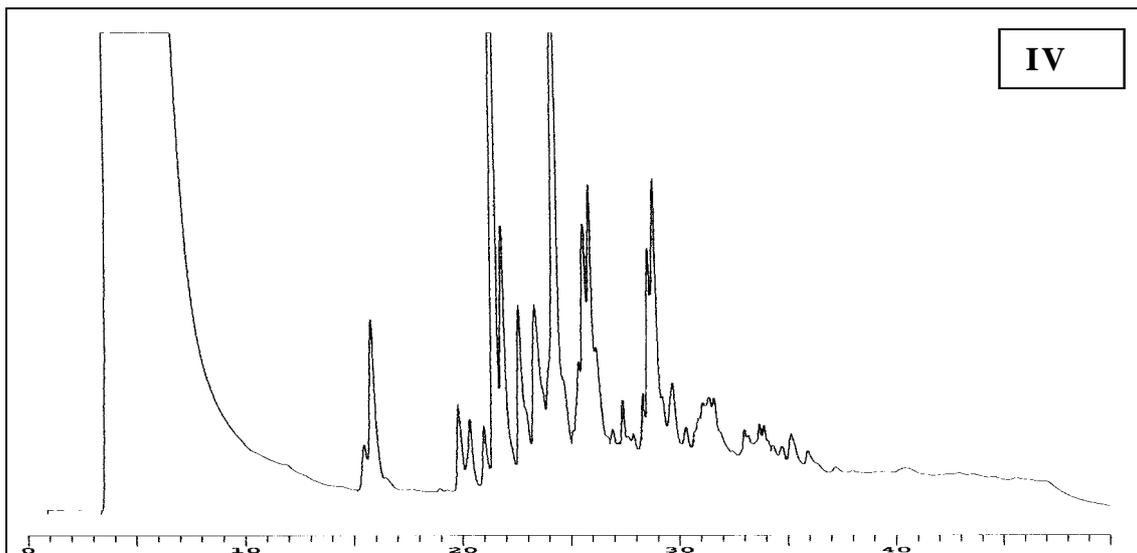
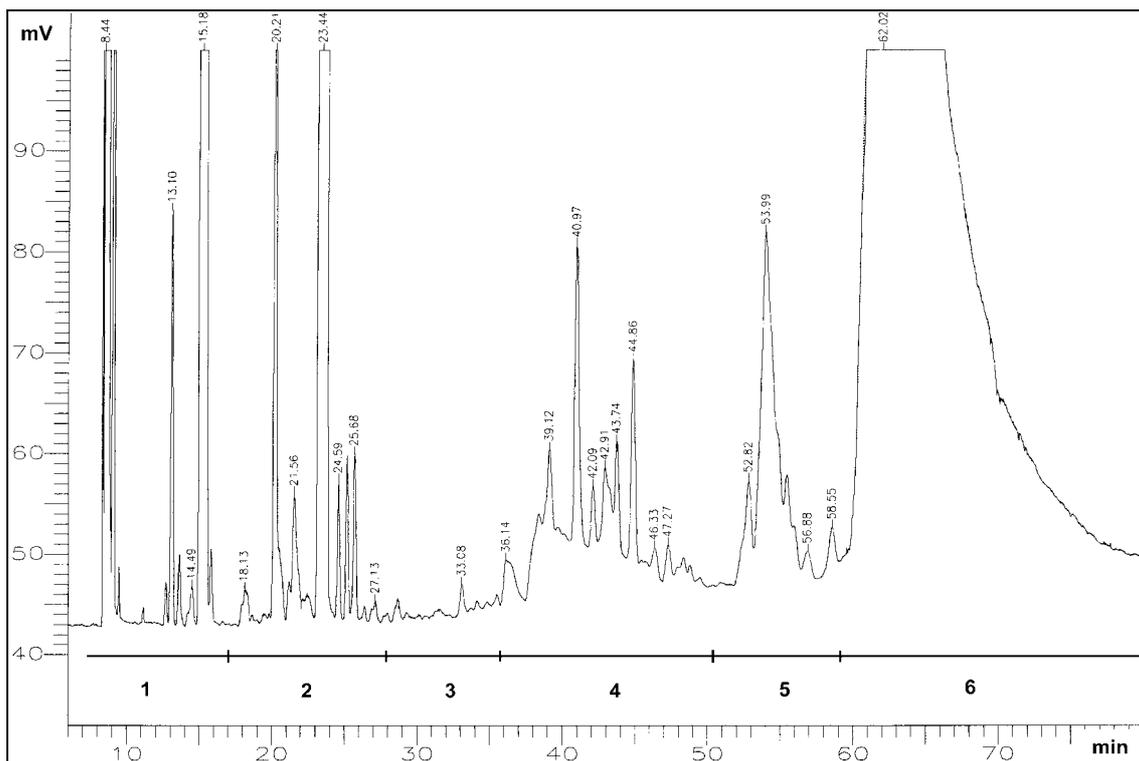


Abbildung 4: I – IV, SFC-FID von Kamille-SFE Extrakten mit Kapillarsäulen und gepackten Säulen (Erklärungen s. Text)

Bild III zeigt die gleiche Trennung wie in Bild I, jedoch unter Anwendung einer 100  $\mu\text{m}$  i.d. Kapillare dergleichen Beschichtung (Injektionsvolumen ebenfalls 0,1  $\mu\text{l}$ ). In Bild IV ist die Trennung des Extraktes (Injektionsvolumen 1  $\mu\text{l}$ ) auf einer gepackten Säule (Deltabond Kieselgel i.d. 1 mm) dargestellt. Alle Bilder (I-IV) belegen die grundsätzliche Eignung des chromatographischen Analysensystemes zur Untersuchung komplexer, insbesondere mit SC-CO<sub>2</sub> hergestellten Extrakten. Bei der SFC mit gepackten Säulen wird der Vorteil der kürzeren Analysenzeit durch einen Verlust an Auflösung zunichte gemacht.

Auch Gesamtextrakte, welche mit anderen Extraktionsmethoden unter Anwendung lipophiler Lösungsmittel gewonnen wurden (Etherkaltauszüge, Soxhlet-Extrakte), können mittels cSFC untersucht werden. Dagegen sind mit z.B. Alkoholen gewonnene Perkolate in der cSFC mit 100%igem SC-CO<sub>2</sub> nicht vollständig trennbar. Dafür sind gepackte Trennsysteme mit Modifier-Zusatz und druckstabilen HPLC-Detektoren besser geeignet. Unter Beachtung dieser Grundregeln ergibt sich eine in der cSFC typische Stoffgruppenreihenfolge für lipophile Naturstoffextrakte. Diese wird dargestellt am Beispiel des Etherkaltextraktes von Kümmelfrüchten (Abb. 5).



**Abbildung 5:** typische Stoffgruppenreihenfolge in der cSFC am Beispiel des LSM-Extraktes von Kümmelfrüchten

1 – Monoterpene

2 – Sauerstoffhaltige Monoterpene, Sesquiterpene

3 – Sauerstoffhaltige Sesquiterpene, Fettsäure(C18)methylester

4 – Kohlenwasserstoffe (>C25) und langkettige Fettsäuren

5 – Hochsiedende Kohlenwasserstoffe und langkettige Ester, polare und langkettige Fettsäuren, Mono- und Diglyceride

6 – Triglyceride

Methode:

Temperatur: 100 °C konstant

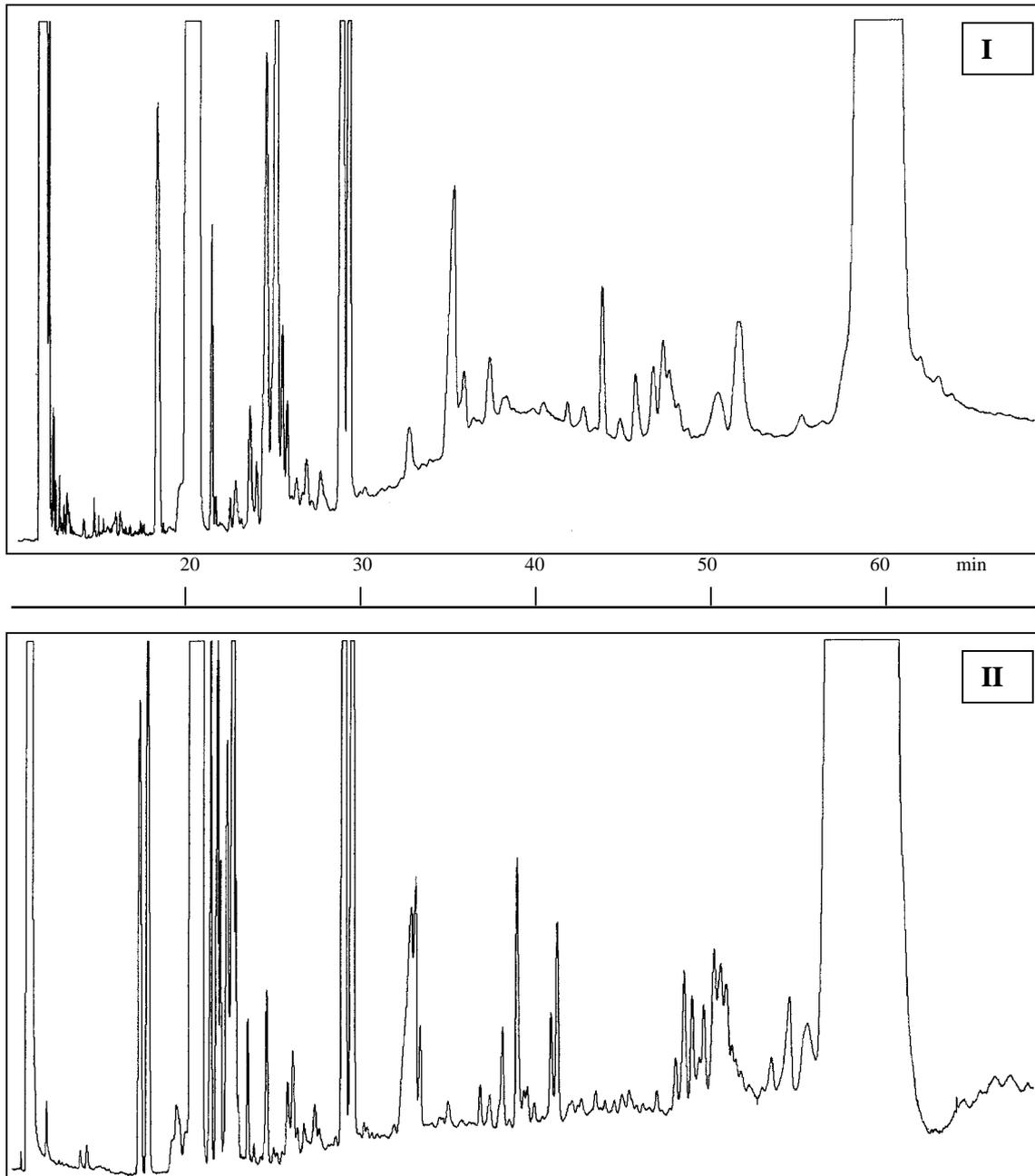
Druck: 100 bar-1min., 1bar/min. auf 110 bar, 8bar/min. auf 430 bar, 430 bar-30min.

Säule: Kapillarsäule Lee BP 30, i.d. 100 µm, o.d. 200 µm, L 20 m

Die Trennung der Stoffgruppenbereiche 1 bis 3 bzw. 4 erfolgt üblicherweise mittels HRGC, während die Stoffgruppenbereiche 4-6 hingegen der HRGC nur noch schwer zugänglich sind. Die SFC hingegen ermöglicht die Analyse lipophiler Substanzen auch im hochmolekularen Bereich (mehr als 1500 Dalton).

Die in Abb. 6 dargestellten Chromatogramme des LSM-Extraktes von Anisfrüchten zeigen die unterschiedliche Trennleistung zweier Kapillaren mit 50 µm i.d. Säule I weist eine deutlich bessere Auflösung sowie eine andere Elutionsreihenfolge der Substanzen insbesondere in den ersten 30 Minuten der Trennung auf. Die Innenbeschichtung der Säule I besteht zu 100% aus quervernetztem Methypolysiloxan, einer unpolaren Standardphase aus der GC. Säule II hingegen enthält neben 70 % quervernetztem

Methylpolysiloxan noch 30 % quervernetztes Biphenyl und eignet sich somit besonders für Trennungen in den kritischen Stoffgruppenbereichen 4 bis 6.



**Abbildung 6:** *cSFC-FID des LSM-Extraktes von Anisfrüchten auf 50 µm i.d. Kapillaren,  
I - Innenbeschichtung 100 % Methylpolysiloxan  
II - Innenbeschichtung mit 30% Biphenyl und 70 % Methylpolysiloxan*

Als Erklärung und auch zur Abgrenzung gegenüber der GC sei erwähnt, dass für die SFC die Löslichkeit der Komponenten in der mobilen Phase, bei der GC hingegen die Flüchtigkeit im heißen Trägergasstrom Voraussetzung für die chromatographische Trennung sind ist. Die Wechselwirkungen der Komponenten mit der stationären Phase

(GC) sowie mit der stationären und mobilen Phase (SFC) führen zu folgender Elutionsreihenfolge von Fettsäuren auf unpolaren Kapillaren:

GC:            C18:2 →    C18:1 →    C18

SFC:           C18 →    C18:1 →    C18:2

Daraus folgt, dass bei Verwendung derselben Trennsäule dieselben Komponenten in anderer Reihenfolge eluieren. Die in der GC ermittelten Retentionsindices für unpolare Trennsäulen (z.B. 100 % Methylpolysiloxan) [47] sind deshalb auf die SFC nicht übertragbar (Linolsäure eluiert bei in der GC ungefähr mit dem Kohlenwasserstoff C 21, in der SFC ungefähr mit dem Kohlenwasserstoff C 28).

Da sich bei der SFE mit der Änderung der Extraktionsparameter ebenfalls die Zusammensetzung und die Qualität der Extrakte ändert, ist die SFC eine geeignete Methode, um qualitätsbestimmende Einflussgrößen schnell ermitteln zu können. Am Beispiel der Extraktion von Anisfrüchten mit Hilfe der SFE wird die Veränderung des Konzentrationsverhältnisses zwischen den unerwünschten gesamtlipophilen Begleitstoffen und trans-Anethol in Abhängigkeit bestimmter Extraktionsparameter dargestellt (s. Abb. 7).

Als analytische Messmethode wird die pSFC-FID eingesetzt (Injektionsvolumen: 1 µl; Säule: Deltabond Cyano 5 µm, 200 x 1 mm i.d.; Temperatur: isotherm 50 °C; Druckprogramm: 100 bar-10 min, 10 bar/min auf 420 bar, 420 bar-3 min). Die Gesamtlaufzeit beträgt lediglich 45 Minuten. Druckprogramm und Temperatur sind so gewählt, dass die lipophilen Begleitstoffe (langkettige Kohlenwasserstoffe, Fettsäuren, Di- und Triglyceride) in einem Peak zusammenfallen.

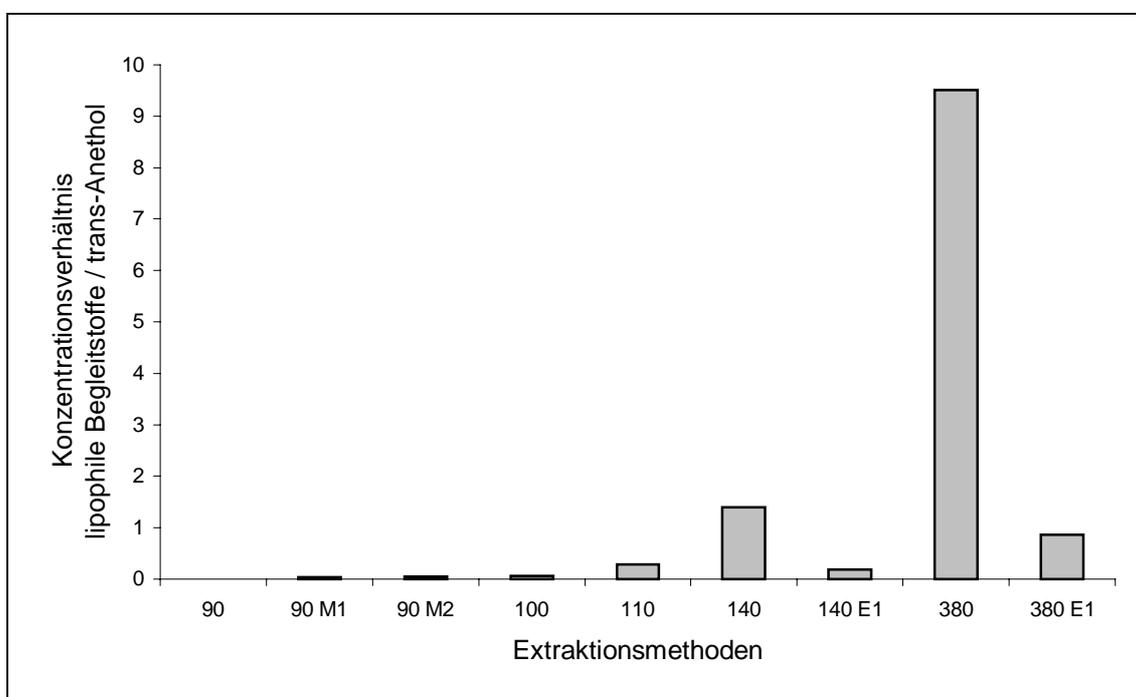
Der Extrakt ändert mit zunehmendem Extraktionsdruck seine Farbe von farblos bei 90 bar, schwach gelb bei 100 bar, gelblich bei 110 und 140 bar bis hin zu kräftig gelb-grün bei 380 bar. Die Zunahme der Menge der lipophilen Begleitstoffe, insbesondere an Fettsäuren und Triglyceriden, korreliert mit der Farbvertiefung. Diese Aussage gilt nur für Extraktionsbedingungen bei 40 °C. Bei höheren Extraktionstemperaturen (z.B. 100 °C) ist der Extrakt tief grün gefärbt mit schwachem Gelbstich.

Der Gehalt an trans-Anethol im Extrakt bleibt bei allen Versuchen annähernd konstant zwischen 2,1 und 2,3 Gewichtsprozent, bezogen auf die Anisfrucht. Das Konzentrationsverhältnis Fett zu trans-Anethol verändert sich hingegen von 0,01:1 bei 90 bar über 1,4:1 bei 140 bar auf ca. 10:1 bei 380 bar um den Faktor 1000.

Werden vor der Extraktion bei 90 bar noch zusätzlich 100 µl Modifier zu 1 g Extraktprobe gegeben, so ändert sich das Konzentrationsverhältnis von 0,01:1 bereits auf

0,05:1. Dieses Ergebnis ist unabhängig von der chemischen Beschaffenheit des Modifiers (Methanol – M1 und Hexan/Ethylacetat in der Mischung 2,8:1 – M2).

Auch die Wahl des Elutionsmittels für die sich an die Extraktion im HP-Extraktor anschließende Festphasenextraktion der mit 40µm RP-18ec gefüllten Extraktionsfalle beeinflusst das Konzentrationsverhältnis erheblich. Wenn z.B. mit Acetonitril eluiert wird, kann das Konzentrationsverhältnis ca. um den Faktor 10 gesenkt werden (s. E1 und E2), d.h. dass das im Vergleich zum Triglycerid kleine und polare Molekül wie trans-Anethol annähernd vollständig eluiert werden, während größere Fettmolekül überwiegend auf der Festphase verbleiben.



**Abbildung 7:** Veränderung des Konzentrationsverhältnisses von lipophilen Begleitstoffen zu trans-Anethol im SFE-Extrakt von Anisfrüchten in Abhängigkeit von Extraktionsdruck, Modifier und Elutionsmittel, bestimmt durch pSFC-FID

Legende:

Alle Extraktionen werden bei 40 °C durchgeführt

- 1 – 90: Extraktion bei 90 bar
- 2 – 90 M1: Extraktion bei 90 bar mit 100 µl Methanol als Modifier
- 3 – 90 M2: Extraktion bei 90 bar mit 100 µl Diethylether als Modifier
- 4 – 100: Extraktion bei 100 bar
- 5 – 110: Extraktion bei 110 bar
- 6 – 140: Extraktion bei 140 bar
- 7 – 140 E1: Extraktion bei 140 bar mit Acetonitril als Elutionsmittel
- 8 – 380: Extraktion bei 380 bar
- 9 – 380 E1: Extraktion bei 380 bar mit Acetonitril als Elutionsmittel

Die pSFC und cSFC eignen sich nicht nur für die Optimierung eines Extraktionsverfahrens im analytischen Maßstab (auch mit Fraktionierung, aber ohne Abscheidesystem), sondern auch für die Untersuchung von Hochdruckextrakten im Scale-up Maßstab bzw. aus industrieller Fertigung. Dabei können nicht nur die Extraktionsparameter, sondern auch die Parameter des Abscheiders, also die Qualität der einzelnen Fraktionen beurteilt werden.

Um einerseits eigene Untersuchungen zum SFE-Extraktionsverfahren im analytischen Maßstab zu bestätigen und andererseits die Eignung der SFC als Kontrollmethode für komplexe Extraktionen darzustellen, wurden gemahlene Korianderfrüchte bei 70 °C und drei verschiedenen Drücken in einer industriellen Anlage extrahiert und bei 40 °C und zwei verschiedenen Drücken abgeschieden. Erwartungsgemäß steigen abhängig vom Extraktionsdruck die Ausbeuten. Um Aussagen zur Zusammensetzung machen zu können, werden die Koriander-Hochdruckextrakte vergleichend mit cSFC-FID analysiert (Kennung A - F, s. Tabelle 3).

**Tabelle 3:** *Ergebnisse einer industriellen Hochdruckextraktion von Korianderfrüchten*

Extraktion		Abscheider		Ausbeute	Kennung
Druck [bar]	Temperatur [°C]	Druck [bar]	Temperatur [°C]	g/100 g [%]	
<b>350</b>	<b>70</b>	90	40	15	<b>A</b>
		65	40	2	<b>B</b>
<b>250</b>	<b>70</b>	90	40	11	<b>C</b>
		65	40	2,5	<b>D</b>
<b>150</b>	<b>70</b>	90	40	2	<b>E</b>
		65	40	3	<b>F</b>

Die Trennung erfolgte nach Einwaage der Extrakte und Zugabe eines inneren Standards (ohne Ermittlung von Korrekturfaktoren) mittels einer 100µm-Kapillare Dionex BP 30 in 90 Minuten bei 100 °C (Methode s. Kapitel E 2.2.1 Methode 2). Alle Komponenten, die in einem der Extrakte mehr als 1% Gehalt hatten, wurden zur Quantifizierung herangezogen (s. Abb. 8, Peaks 1 bis 15 in Verb. mit Tabelle 4).

Die namentliche Zuordnung der Komponenten erfolgt durch Literatur, Chromatographie von Vergleichssubstanzen sowie cSFC-MS. Für die Komponenten 9 bis 12 war eine Zuordnung nicht möglich. Es handelt sich dabei um koriandertypische, sensorisch unauffällige, schwerflüchtige und lipophile Inhaltsstoffe, die im Korianderfett enthalten sind.

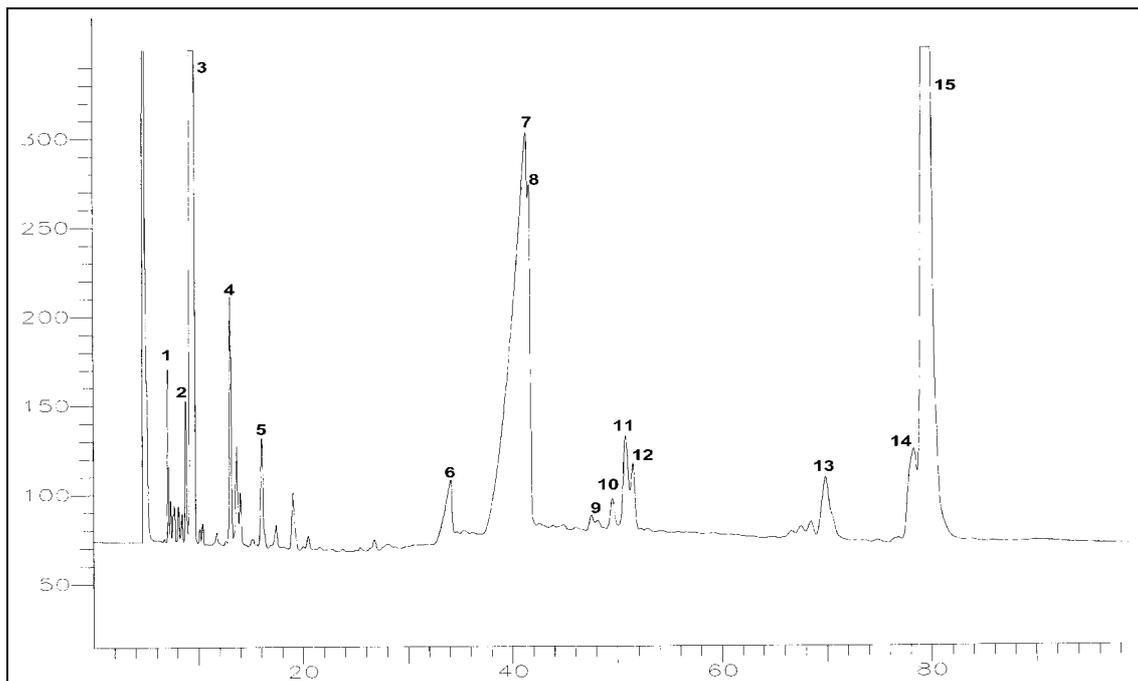


Abbildung 8: Chromatographie von Hochdruckextrakten aus Korianderfrüchten mittels cSFC-FID

Tabelle 4: Quantifizierung der Hochdruckextrakte von Korianderfrüchten

Nr.	Komponente	A	C	E	B	D	F
1	$\alpha$ -Pinen	0,2	0,2	0,2	1,0	0,9	0,7
2	$\gamma$ -Terpinen	0,2	0,1	0,2	1,1	1,0	0,8
3	Linalool	4,7	5,5	15,5	29,1	27,4	25,2
4	Campher	0,2	0,2	0,3	2,5	2,2	1,7
5	Geranylacetat	0,1	0,1	0,2	1,4	1,1	1,0
6	Palmitinsäure	0,5	1,2	4,5	1,4	1,5	1,7
7	Petroselinensäure/Ölsäure	9,6	12,6	48,6	14,6	15,7	24,1
8	Linolsäure	1,1	1,7	3,8	1,8	2,3	2,5
9	*	0,1	0,1	1,0	0,6	0,4	0,1
10	*	0,4	0,6	1,0	0,6	0,6	0,5
11	*	0,9	1,4	5,0	2,5	2,2	1,7
12	*	0,5	0,7	2,8	1,5	1,4	1,0
13	Diglyceride	6,3	8,1	2,3	2,1	2,0	2,0
14	Triglyceride	6,3	5,9	1,9	1,5	2,1	2,8
15	Triglyceride	66,9	55,9	8,7	33,6	34,0	29,5
	<b>Summe in %</b>	<b>98,0</b>	<b>97,6</b>	<b>96,0</b>	<b>95,3</b>	<b>94,8</b>	<b>95,3</b>

\* - Zuordnung war nicht möglich (s. Text)

Um einen schnellen Überblick über die Qualität der Fraktionen zu erhalten, werden die mengenmäßig dominierenden Komponenten zu drei Stoffklassen zusammengefasst und bewertet. Dabei steht Linalool als Hauptkomponente (bis zu 65 %) für das etherische Öl, die Fettsäuren zusammengefasst für unerwünschte, aber im Hochdruckextrakt

enthaltene Begleitstoffe und die Di- und Triglyceride zusammengefasst als Glyceride für das pflanzliche Fett.

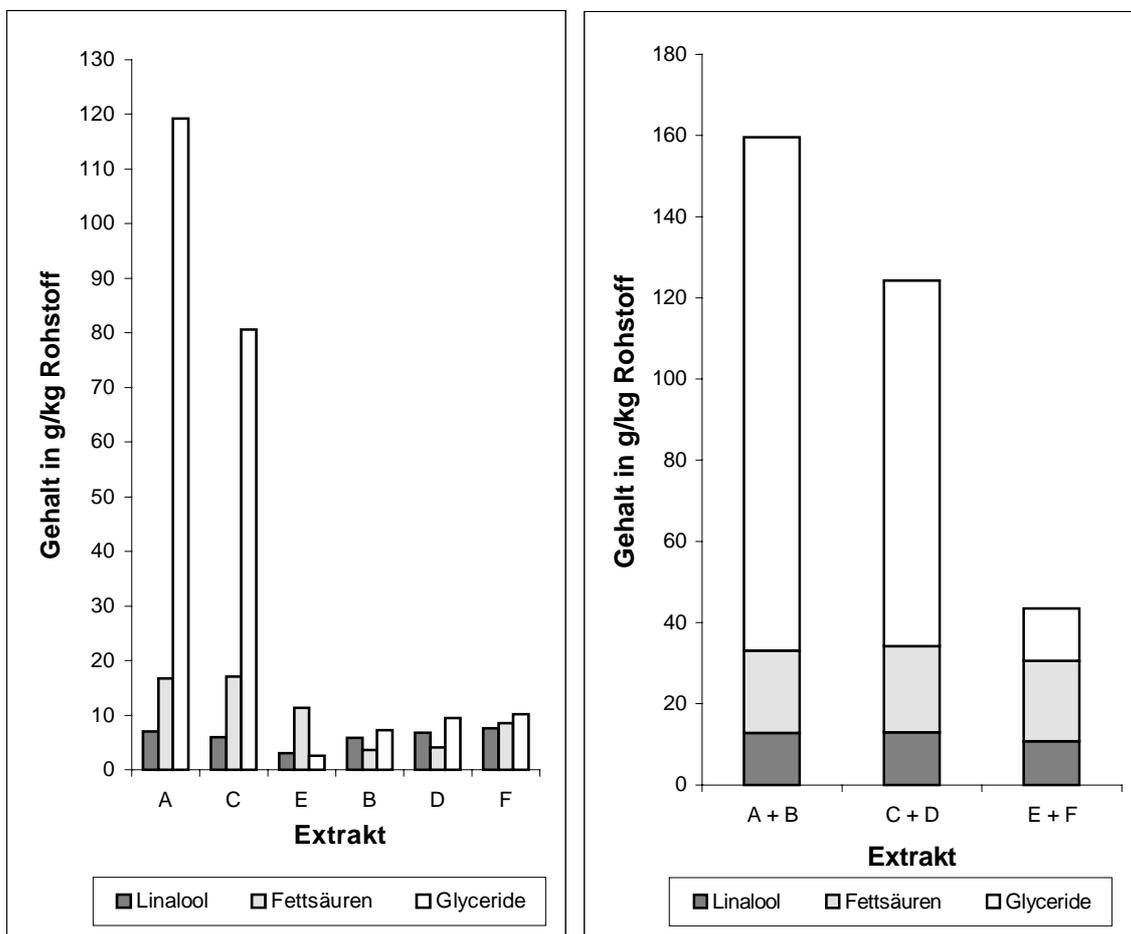


Abbildung 9: Zusammensetzung der Korianderhochdruckextrakte in g/kg

Abb. 9 zeigt einerseits die Zusammensetzung der einzelnen sechs Fraktionen (A bis F) und andererseits die Gesamtzusammensetzung eines Extraktes (A und B, C und D sowie E und F). Bei der Gesamtzusammensetzung eines Extraktes (rechtes Bild) zeigt der Extrakt mit dem höchsten Extraktionsdruck von 350 bar (A + B) auch die höchste Gesamtausbeute an Rohstoff (13 g Linalool, 21 g Fettsäuren und 126 g Fett). Beim Gesamtextrakt mit nur 250 bar Extraktionsdruck (C + D) bleiben Linalool- und Fettsäuregehalt annähernd gleich, während sich der Fettgehalt auf 90 g verringert. Bei weiter vermindertem Extraktionsdruck auf nur 150 bar (E + F) verringert sich der Fettgehalt auf 13 g, die Menge an Fettsäuren bleibt annähernd konstant bei 20 g, aber der Gehalt des Linalools verringert sich auf 11 g.

Diese Auswertung zeigt weiterhin, dass bei drastischen Extraktionsbedingungen (70 °C, 350 bar) eine Totalextraktion erreicht wird und ein Großteil der lipophilen Matrixbe-

standteile von Korianderfrüchten extrahiert werden kann. Die hohe Extraktionstemperatur von 70 °C erklärt ebenfalls, warum bei Reduzierung des Extraktionsdruckes auf 250 und 150 bar bei gleichzeitiger Beibehaltung der Extraktionstemperatur lediglich der Gehalt an Triglyceriden sinkt, während die Fettsäuren und das etherische Öl noch annähernd vollständig extrahiert werden. Eine weiterführende Selektivität der SFE kann nicht mehr durch die Änderung der Extraktionsparameter, sondern nur noch durch die Optimierung der Abscheideparameter erreicht werden.

Die Parameter zur Einstellung der Abscheider entscheiden somit über die Qualität der einzelnen Fraktionen (linkes Bild). Bei der Einstellung auf 90 bar und 40 °C (noch SC-CO<sub>2</sub>) werden in den Extrakten A und C der Hauptteil an Fett und Fettsäuren abgeschieden. Darin enthalten sind jedoch auch 6 bis 7 g Linalool. In den Extrakten B, D und F (Abscheider 65 bar, 40 °C, subkritisches CO<sub>2</sub>) werden ebenfalls jeweils 6 bis 8 g Linalool gefunden. Keiner der drei Extrakte ist frei von Fetten und Fettsäuren.

Es gelingt somit in keinem Fall, Extrakte zu erhalten, die frei von Fetten und Fettsäuren sind und nur das etherische Öl enthalten. Die Selektivität der SFE führt immer nur zu relativen Anreicherungen erwünschter Stoffe in der jeweiligen Fraktion.

Auffällig bleibt die Beobachtung, dass mit abnehmender absoluter Ausbeute des ersten Abscheiders (15%/A - 11%/C - 2%/E) eine Zunahme der Ausbeute des zweiten Abscheiders (2%/B - 2,5%/D - 3%/F) korreliert. Diese Zunahme bedeutet aber keine Qualitätssteigerung, da die prozentuale Zusammensetzung der Extrakte des zweiten Abscheiders annähernd gleich bleibt.

Mit Hilfe der SFC als chromatographischer Trennmethode können von je 100% eingewogenem Extrakt nur durch die Analyse der Hauptkomponenten mehr als 95% aller Inhaltsstoffe des Extraktes quantifiziert werden. Parallel durchgeführte Untersuchungen mit der HRGC ermöglichen lediglich die Analyse von Teilen des Extraktes, nämlich des etherischen Öles, der Fettsäuren sowie einiger hochsiedender Komponenten. Dementsprechend vermag die SFC als alleinige Methodik - zumindest bei den hier untersuchten Extrakten - einen vollständigen Überblick über die ungefähre Zusammensetzung zu geben.

## 1.2.2.2 Besonderheiten der SFC-MS-Kopplung

### 1.2.2.2.1 Grundlagen der SFC-MS Kopplung

Eine der wichtigsten Detektionsmethoden im Anschluss an die säulenchromatographische Trennung ist die Massenspektrometrie, weil bei den detektierten Peaks bereits bei sehr geringen Stoffmengen (unterer Nanogramm-Bereich) gleichzeitig weitergehende Strukturinformationen zum Molekül in Form von Massenspektren erhalten werden können.

Auch bei der SFC ist die Detektion mit dem MS seit vielen Jahren üblich (Beginn der Entwicklung Ende der 70'er und Anfang der 80'er Jahre) und hat bereits zu frühen Publikationen sowohl für die Kopplung mit gepackten Säulen [48,49], allerdings bei sehr geringer Empfindlichkeit (unterer  $\mu\text{g}$ -Bereich), als auch mit Kapillaren [50,51] und eigens dafür konstruierten Direct-Fluid-Interfaces (DFI) geführt. Die auch bei diesen Interfaces noch zu beobachtende geringe Empfindlichkeit wurde hauptsächlich auf die Cluster-Bildung des  $\text{SC-CO}_2$  in der Ionenquelle zurückgeführt [52]. Die Kopplung von gepackten Säulen mit Quadrupol-MS [53-55] und Kapillaren mit Quadrupol-MS [56-58] wurde genauso erfolgreich beschrieben wie die Kopplung mit hochauflösenden MS [59-61] sowie der pSFC mit MS (Thermospray-Ionenquelle im „filament-on“ Modus) [62]. Die Literatur erwähnt keine wesentlichen Schwierigkeiten bei der Kopplung von SFC und MS, weder im EI- noch im CI-Modus. Im Gegenteil, die Kopplung wird als unproblematisch beschrieben, ein beobachteter Empfindlichkeitsverlust wird der o.a. Cluster-Bildung bzw. einem höheren Untergrundrauschen zugeschrieben [56].

Um das Verhalten des differential gepumpten Quadrupol HP 5989 B Massenspektrometers (ausgestattet mit EI/CI-Quelle, Particle-Beam Interface, Thermospray Ionenquelle, zwei Turbomolekularpumpen - 173 l/sec für die Ionenquelle und 322 l/sec für den Quadrupol) unter Einstrom von  $\text{CO}_2$  zu untersuchen, wird zunächst die Kombination GC-MS mit EI-Ionenquelle herangezogen, um das Destillat von Kamillenblüten zu analysieren. Dabei werden sowohl Helium 6.0 als auch Kohlenstoffdioxid 5.3 als Trägergase für die GC verwendet. Der Tune des MS wird auf das jeweilige Trägergas optimiert (beibehalten werden die Temperatur von Ionenquelle und Analyzer, Filamentspannung sowie Anoden- und Kathodenpotential) und die bei 70 eV erhaltenen

Massenspektren im Bereich von 50 bis 400 amu aufgenommen. Die Aufgabemenge beträgt 1 µl im splitless-Modus. Unter diesen Bedingungen sind erhebliche Empfindlichkeitsunterschiede zu beobachten, welche ausschließlich auf die Eigenschaften der Trägergase zurückzuführen sind.

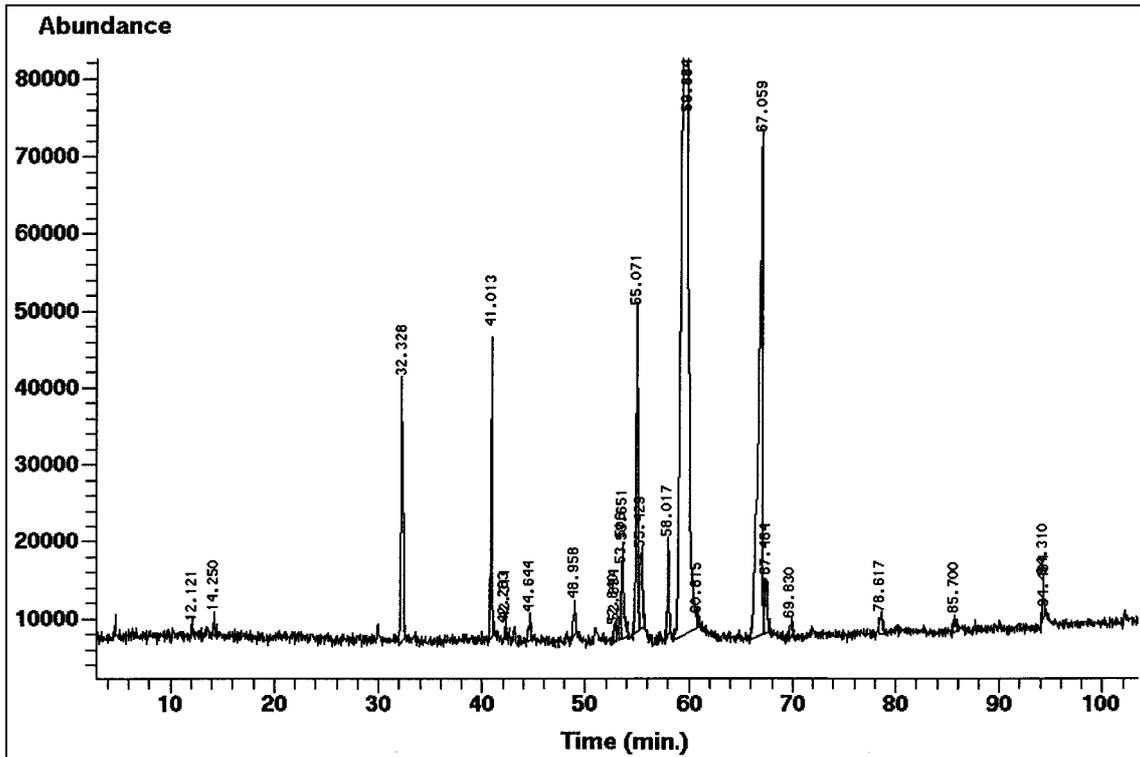


Abbildung 10: GC-MS „fullscan“ von Kamille-SDE mit Kohlenstoffdioxid 5.3 als Trägergas

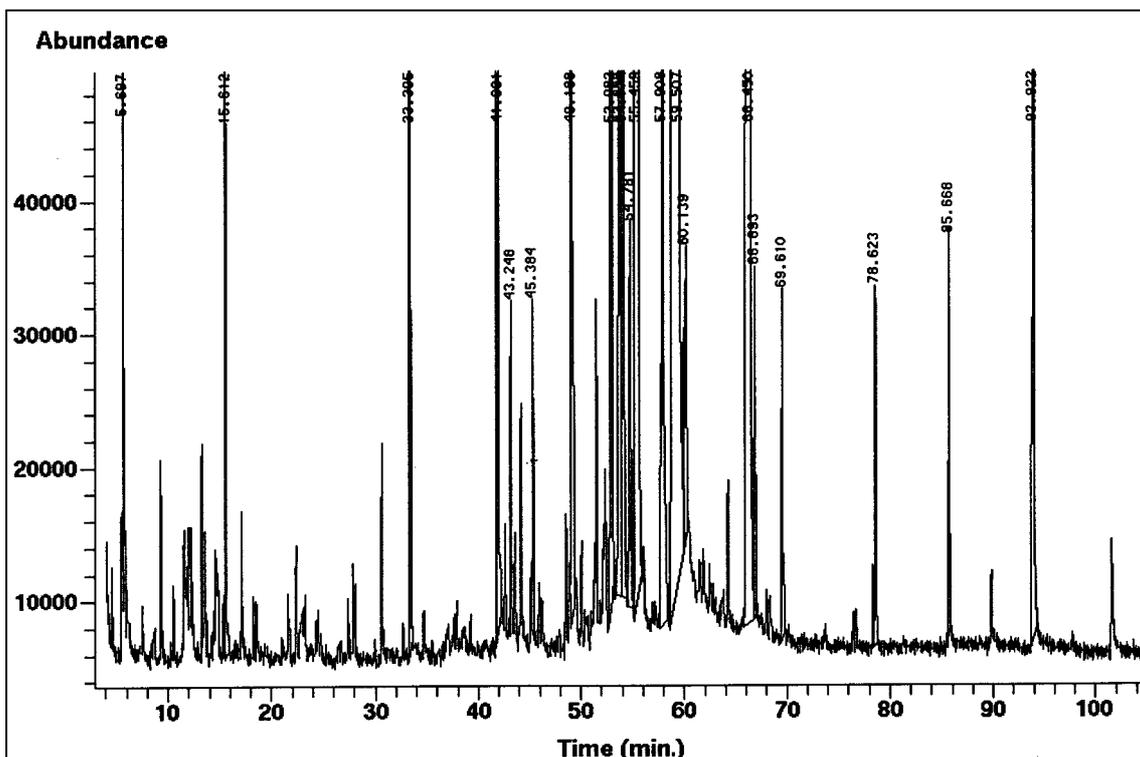


Abbildung 11: GC-MS „fullscan“ von Kamille-SDE mit Helium 6.0 als Trägergas

Im Falle der GC-MS mit Kohlenstoffdioxid 5.3 (s. Abb. 10) lassen sich unter den gewählten chromatographischen Bedingungen lediglich 9 Peaks mit vollständigen Massenspektren aufzeichnen, im Falle der GC-MS mit He 6.0 als Trägergas (s. Abb.11) hingegen 84 Peaks.

**Tabelle 5:** Bestimmung der Nachweisgrenze (Signal-/Rauschverhältnis 3:1) von Methylbuttersäureethylester und Methyldecanoat am MS unter verschiedenen Ionisationsbedingungen und Beurteilung der Spektrenqualität (Erklärungen s. Text)

	Gasart / Gaszufuhr	Anzeige des Quellendrucks Torr [ $10^{-5}$ ]	Spektrenqualität	Methylbuttersäureethylester NWG in ng*	Methyldecanoat NWG in ng*
<b>I</b>	nur He	0,1	EI, gut	0,5	0,5
<b>II</b>	nur CO <sub>2</sub>	1	EI-ähnlich, gut	2	19
<b>III</b>	CO <sub>2</sub> + He über CI (EI)	2,5	EI-ähnlich, gut	0,6	5
<b>IV</b>	CO <sub>2</sub> + He über PB (EI)	2,5	EI-ähnlich, gut	1,5	14
<b>V</b>	CO <sub>2</sub> + He über CI (CI)	6,0	EI-ähnlich, gut	3	22

\*Der Headpressure der 0,2 mm Kapillare beträgt 70 kPa, Fluss He bzw. CO<sub>2</sub> sind 0,35 bzw. 0,28 ml/min; Aufnahme als „full-scan“ von 50-400 amu; die Anzeige des Quellendruckes erfolgt durch die nicht korrierte Original Pirani-Gauge der Engine

Um die Empfindlichkeitsverluste des MS unter CO<sub>2</sub>-Einstrom in die Ionenquelle zu verifizieren, wird das MS unter verschiedenen Bedingungen betrieben und als Vergleichssubstanzen Methylbuttersäuremethylester und Methyldecanoat über die GC - Seite injiziert (s. Tabelle 5).

Die Bedingungen unter **I** stellen die übliche GC-MS-Ionisation (Trägergas Helium) in einer EI - Ionenquelle dar. Unter den eingestellten chromatographischen Bedingungen strömen etwa 0,35 ml/min Helium in die Ionenquelle, und dabei beträgt die Nachweisgrenze für beide Substanzen für ein „full-scan“- Spektrum etwa 0,5 ng (Signal-/Rauschverhältnis 3:1). Die Vakkuumanzeige für die Ionenquelle und den Quadrupol entsprechen der Spezifikation von  $1 \times 10^{-6}$  bis  $5 \times 10^{-5}$  Torr für die Ionenquelle und  $1 \times 10^{-7}$  bis  $1 \times 10^{-6}$  für den Quadrupol.

Wird als Trägergas CO<sub>2</sub> eingesetzt (**II**), so sinkt die Nachweisempfindlichkeit für Komponente 1 um den Faktor 4, die für Komponente 2 sogar um den Faktor 40. Gleichzeitig verschlechtert sich das Vakuum in der Ionenquelle um eine Zehnerpotenz von  $1 \times 10^{-6}$  auf  $1 \times 10^{-5}$  Torr, obwohl sich die Gesamtgaszufuhr von 0,35 ml/min Helium auf 0,28 ml/min CO<sub>2</sub> verringert. In Abhängigkeit vom Druck in der Ionenquelle steigt auch der

Druck im Quadrupol. Die Vakuumanzeigen erfolgen in beiden Fällen über eine nicht an CO<sub>2</sub>-Bedingungen adaptierte Original Pirani-Gauge der Engine. Nach Abschalten der CO<sub>2</sub>-Zufuhr und Zuschalten der Helium-Zufuhr sind die Ausgangswerte für das Vakuum innerhalb weniger Minuten wieder erreicht. Lediglich eine auch noch nach Tagen messbare Masse von 44 amu weist auf die Anwesenheit von CO<sub>2</sub> hin (Memory-Effekt). Die somit beobachteten und reproduzierbaren Empfindlichkeitsunterschiede des MS unter Einstrom von CO<sub>2</sub> und He sind somit ausschließlich auf die Eigenschaften des CO<sub>2</sub> zurückzuführen.

Wenn zusätzlich zu CO<sub>2</sub> Helium koaxial über den CI-Einlass des GC-Interface einströmt, die Ionenquelle dabei in EI-Konfiguration geschaltet bleibt (**III**), können unter CO<sub>2</sub> - Bedingungen die besten Empfindlichkeiten bei gleichzeitig stabilen Spektren erzielt werden. Obwohl auch in diesem Fall der Quellendruck bei ca.  $2,5 \times 10^{-5}$  Torr liegt, verringert sich die Empfindlichkeit für die Komponente 1 kaum und für die Komponente 2 um den Faktor 10.

Bei gleichzeitigem, zum CO<sub>2</sub> entgegengesetzt verlaufenden Einstrom von Helium über den CI-Einlass des Particle-Beam Interface der Engine (wiederum unter Beibehaltung der EI-Konfiguration) (**IV**) verringert sich die Empfindlichkeit für Komponente 1 um den Faktor 3 und für Komponente 2 um den Faktor 30. Der Quellendruck beträgt unter diesen Bedingungen ebenfalls  $2,5 \times 10^{-5}$  Torr.

Ein Sonderfall stellt die Ionisationsbedingung unter **V** dar [63]. Die Ionenquelle wird im CI-Modus betrieben. Als CI-Gas wird Helium eingesetzt und die Zufuhr so eingeregelt, dass ein Quellendruck von ca.  $5 \times 10^{-5}$  Torr anliegt. Nach Zuschalten des Trägergases CO<sub>2</sub> stellt sich ein Vakuum in der Quelle bei  $6 \times 10^{-5}$  Torr ein (Die Spezifikation für CI-Ionisation unter Methan-Bedingungen sieht den Vakkumbereich  $5 \times 10^{-5}$  bis  $5 \times 10^{-4}$  Torr vor). Dabei erhält man ebenfalls EI-ähnliche Spektren, d.h. die Fragmente sind hinsichtlich Masse und Intensität mit denen einer EI-Ionisation vergleichbar. Gleichzeitig ist die Empfindlichkeit des Systems jedoch am geringsten (Faktor 6 für Komponente 1 und Faktor 45 für Komponente 2).

Beim kontinuierlichen Einlass von CO<sub>2</sub> in die Ionenquelle eines MS erfolgt bei 70 eV die Ionisierung des CO<sub>2</sub> in mehrere Fragmente (s. Tabelle 6) [59,61,64], dargestellt als Scan 1 mit dem Basepeak CO<sub>2</sub><sup>+</sup> von 44 amu im Bereich von 10-50 amu und als Scan 2 mit dem Basepeak von 72 amu im Bereich von 50-100 amu.

**Tabelle 6:** *Fragmentierung des CO<sub>2</sub> in der Ionenquelle*

	Scan 1 (10 bis 50 amu)				Scan 2 (50 bis 100 amu)			
ION	C <sup>+</sup>	O <sup>+</sup>	CO <sup>+</sup>	CO <sub>2</sub> <sup>+</sup>	C <sub>2</sub> O <sub>2</sub> <sup>+</sup>	CO <sub>3</sub> <sup>+</sup>	CO <sub>4</sub> <sup>+</sup>	C <sub>2</sub> O <sub>3</sub> <sup>+</sup>
Masse	12	16	28	44	56	60	64	72
Intensität [%]	16	20	25	100	50	20	20	100

Um den Basepeak bei Scan 1 auszublenden, beginnt die Aufnahme des Massenspektrums üblicherweise erst ab Masse 50, so dass man unterhalb von 50 amu keine Molekülinformation erhält. Das dann noch zu beobachtende Grundrauschen, verursacht durch die bei Scan 2 dargestellten Ionen, ist nicht sehr hoch und ist auf keinen Fall die Ursache für den oben dargestellten Empfindlichkeitsverlust.

#### 1.2.2.2 Qualität und Vergleichbarkeit von SFC-MS Spektren

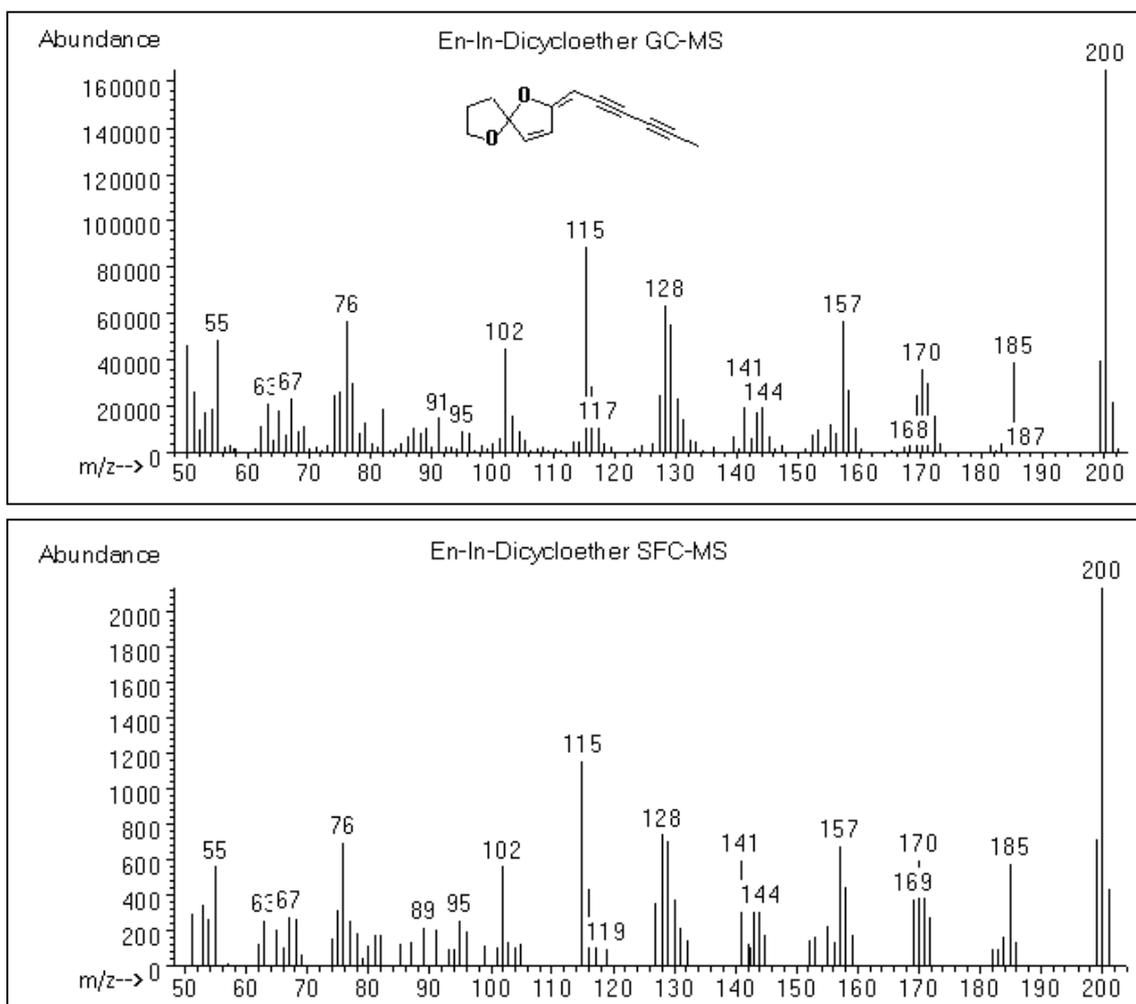
In der Literatur wird dargestellt, dass die mittels SFC-MS unter CO<sub>2</sub> - Einfluss erhaltenen Massenspektren den in der GC-MS unter Helium- oder Stickstoff-Einfluss üblichen EI-Spektren sehr ähnlich bzw. gleich sind und bei der Suche in EI-Spektrenbibliotheken gute Trefferquoten ermöglichen.

Bei vielen Substanzen kann diese Aussage bestätigt werden. Als Beispiel dafür dienen die Spektren des En-In-Dicycloethers (s. Abb. 12).

Aufgrund des CO<sub>2</sub>-Ionisierungspotentiales von 13,8 eV vermag das bei der EI-Ionisation gebildete Plasma-Ion CO<sub>2</sub><sup>+</sup> somit die meisten organischen Moleküle zu ionisieren. Deren Ionisierungspotential (IP) ist häufig kleiner als 13,8 eV (7 bis 11 eV) [65]. Die Entstehung von Molekülionen kann somit weitestgehend ausgeschlossen werden, und ein Vergleich der durch CO<sub>2</sub> und mit anderen auf der Grundlage von Ladungsaustausch (charge exchange - CE) wirkenden Reaktandgasen (z.B. N<sub>2</sub> mit 15,3 eV und He mit 24,6 eV) entstehenden Massenspektren ist möglich.

In einer typischen EI-Quelle liegen bei Einstrom von CO<sub>2</sub> Quellendrucke von 1 bis 5 x 10<sup>-5</sup> Torr vor. Unter diesen Ionisationsbedingungen entstehen GC-MS-EI-ähnliche CE-Spektren [61,66-68]. Eine eher offene Bauweise der EI-Quelle ermöglicht ein schnelleres Absaugen des CO<sub>2</sub> aus der Ionenquelle und begünstigt die Empfindlichkeit des MS. Über im Vergleich zu üblichen EI-Spektren veränderte Spektren wird nur dann berichtet, wenn das MS seitens der Hardware im CI-Modus mit einer gasdichten Ionenquelle

betrieben wird. Dabei steigt der Anteil an höhermolekularen Fragmenten auch bei Anwendung von CO<sub>2</sub> als Reaktandgas an, die Intensität des Molekülpeaks nimmt zu und es entstehen EI-/CI-Mischspektren.



**Abbildung 12:** Massenspektrum des En-In-Dicycloethers aus Kamilleblüten unter CO<sub>2</sub>(SFC)- und He(GC)-Bedingungen (MS-Quelle im EI-Modus)

Dieser Prozess kann teilweise unterdrückt werden, wenn in der CI-Konfiguration mit einem Überschuss von Helium als CI-Gas gearbeitet wird. Das o.a. hohe IP von Helium führt dann wiederum zu EI-ähnlichen CE-Spektren. Dabei liegen im Analyzer Drücke von ca.  $2,5 \times 10^{-5}$  Torr an [69]. Diese Drücke liegen außerhalb des in der Spezifikation vorgesehenen Druckbereiches des HP-MS ( $1 \times 10^{-6}$  bis  $1 \times 10^{-5}$  Torr im CI-Modus mit Methan als CI-Gas).

Die folgenden Spektren belegen anhand ausgewählter Substanzen, dass sehr wohl Unterschiede zwischen GC-MS und SFC-MS-Spektren zu beobachten sind. Diese Unter-

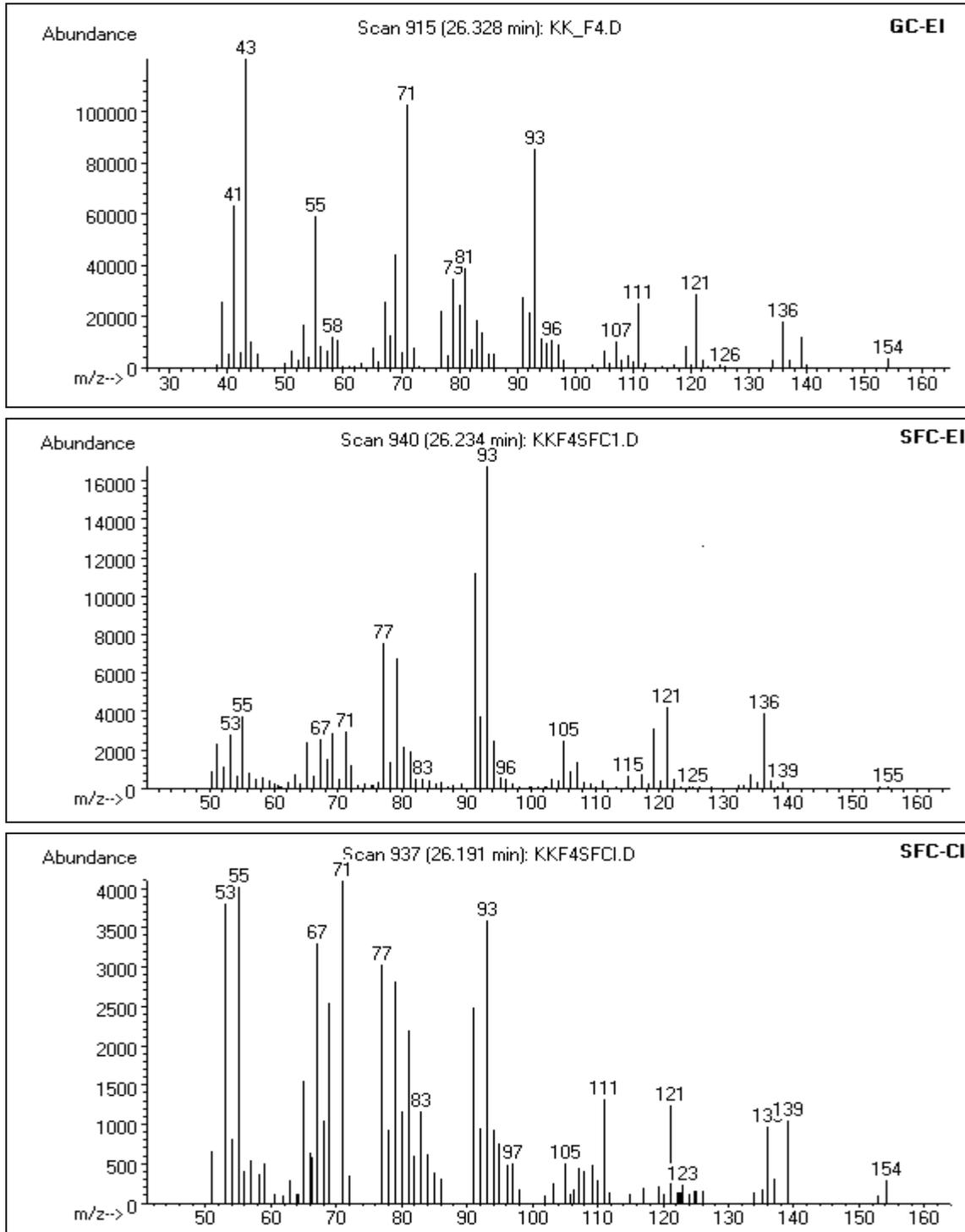
schiede sind sowohl im CI-Modus als auch im EI-Modus der Ionenquelle festzustellen. Die Angaben in der oberen rechten Ecke eines jeden Spektrums weisen auf die Chromatographieart und den Modus der Ionenquelle hin.

GC-EI	GC-MS-EI mit Helium als Trägergas Tabelle 5, Modus I
SFC-EI	SFC-MS-EI mit SC-CO <sub>2</sub> und koaxialem Helium-Einstrom Tabelle 5, Modus III
SFC-CI	SFC-MS-CI mit SC-CO <sub>2</sub> und Helium 6.0 als CI-Gas Tabelle 5, Modus V

Abb. 13 zeigt die Spektren von Sabinenhydrat unter verschiedenen Ionisationsbedingungen. Unterschiede zwischen den Spektren im GC-EI-Modus und denen im SFC-CI-Modus bestehen lediglich hinsichtlich der Intensität der Fragmente. Die Massen 71, 93, 55 dominieren in beiden Spektren, und die Masse 71 stellt neben der Masse 43 (nicht aufgenommen bei SFC-Läufen) den Base-peak dar. Die charakteristischen Fragmente mit den Massen 111, 121 und 136 sind ebenfalls in prozentual annähernd gleichen Verhältnissen vorhanden, und der Molpeak (Masse 154) und sein Spaltprodukt (Masse 154-15) erlauben den Rückschluss auf einen Monoterpenalkohol.

Das SFC-EI-Spektrum hingegen hat mehr Ähnlichkeiten mit dem Spektrum eines Monoterpenkohlenwasserstoffes und liefert keinerlei Hinweis auf das Vorhandensein einer alkoholischen Gruppierung im Molekül. Es fehlen die für einen Monoterpenalkohol typischen Massen von 111, 139 und 154. Gleichzeitig weisen die Massen 136 (Molmasse -18) und 121 eine erhöhte Intensität auf. Eine Vergleichbarkeit mit unter Helium-Bedingungen gewonnenen Spektren ist somit nicht gegeben.

Die beim sekundären Alkohol Sabinenhydrat gemachten Beobachtungen können beim aliphatischen Alkohol 1-Octanol bestätigt werden. 1-Octanol (Molpeak 130) hat im üblichen GC-EI-Spektrum für die Massen 130, 129 und 112 (Molpeak - 18) relative Intensitäten von weniger als 3 %. Im SFC-EI Spektrum hingegen steigt die Intensität der Masse 112 auf mehr als 15 %. Gleichzeitig sind die Massen 129 und 130 nicht mehr nachweisbar.



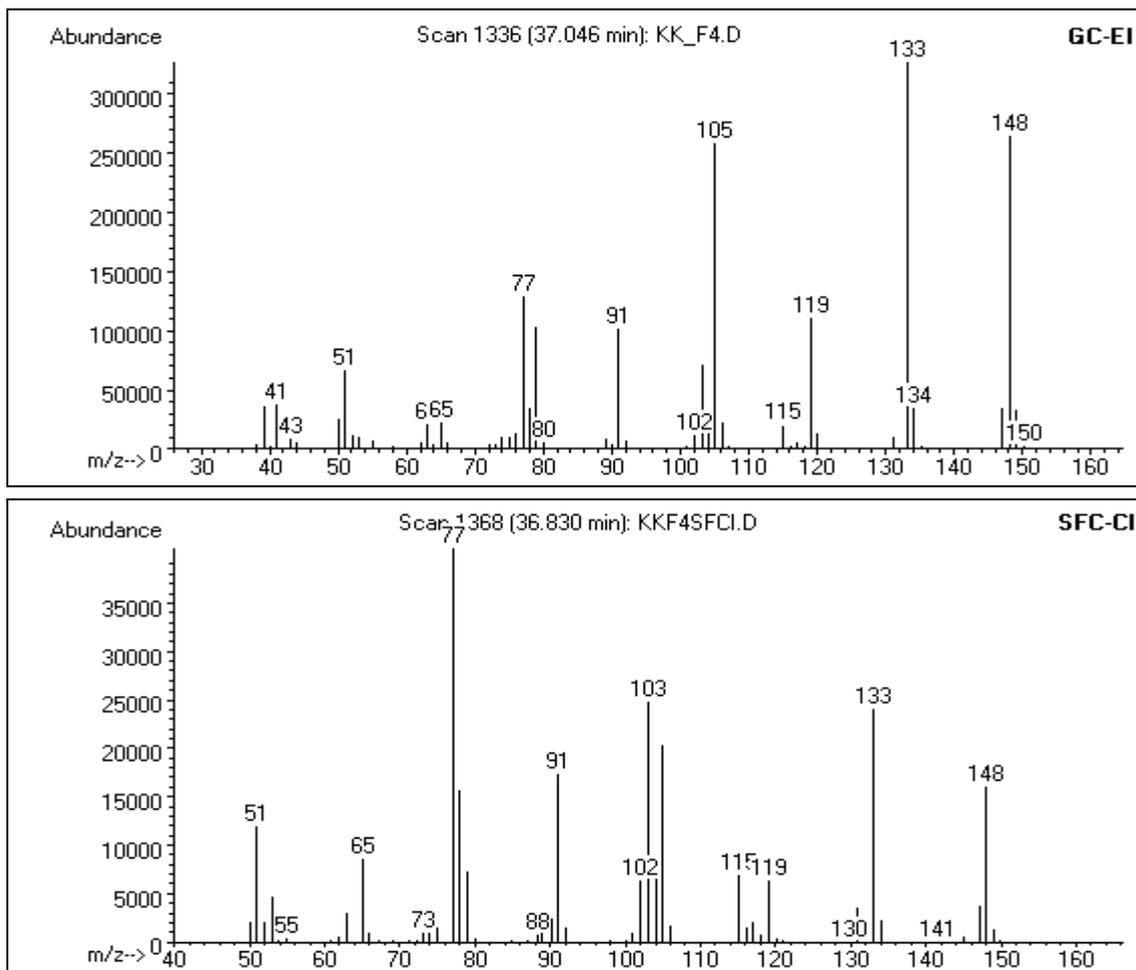
**Abbildung 13:** Massenspektren von Sabinenhydrat unter verschiedenen Ionisationsbedingungen (GC-EI, SFC-EI und SFC-CI)

Am Beispiel des Spektrums von Cuminaldehyd (s. Abb. 14) ist erkennbar, dass wie zuvor bei Sabinenhydrat unter SFC-CI Bedingungen ebenfalls eine unterschiedliche Intensität der Massen gegeben ist. Bei der üblichen Angabe von MS-Spektren in der Literatur

(Basepeak mit 100 %, weitere Peaks mit abnehmender Intensität) stünden sich folgende Angaben gegenüber und würden zu einer unterschiedlichen Bewertung führen:

GC-EI: 133 - 148, 105, 77, 119, 91, 79 und

SFC-EI: 77 - 103, 133, 105, 91, 148.



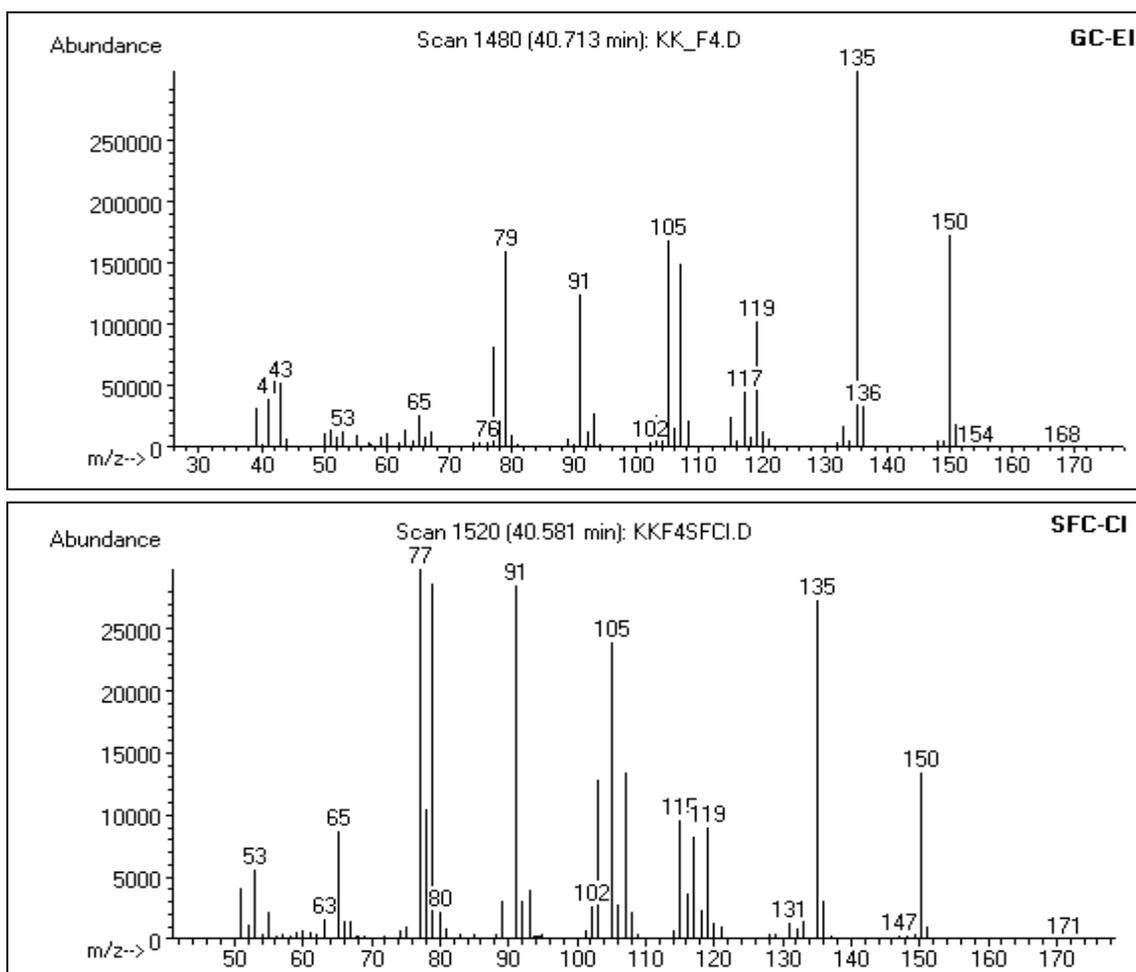
**Abbildung 14:** Massenspektren von Cuminaldehyd unter verschiedenen Ionisationsbedingungen (GC-EI und SFC-CI)

Die Verschiebung der relativen Intensitäten bestimmter Fragmente weist bei der SFC-MS jedoch zusätzlich auf einen gegenüber der GC-EI veränderten Zerfallsprozess hin. Es ist festzustellen, dass bei der SFC-MS Kopplung im CI-Modus die höhermolekularen Fragmente ( $m/z$  119, 133 und 148) im Vergleich zur GC-MS weniger intensiv auftreten, gleichzeitig die Intensität der niedermolekularen Fragmente ( $m/z$  51, 53, 65 und 77) deutlich angestiegen ist. Des Weiteren ist festzustellen, dass das sauerstoffhaltige Fragment ( $m/z$  105) bei der GC-MS eine deutlich höhere Intensität aufweist als bei der SFC-MS, während die sauerstofffreien Fragmente ( $m/z$  91, 103 und 115) in der SFC-MS stärker auftreten (s. Tab. 7).

**Tabelle 7:** Fragmente und deren Intensität in Abhängigkeit von der Ionisationsart (GC-EI und SFC-CI) am Beispiel von Cuminaldehyd

Masse m/z	Rel. Intensität GC-EI in %	Rel. Intensität SFC-CI in %	Änderung der Intensität	Fragment
51	21	30	↑	C <sub>4</sub> H <sub>3</sub> <sup>+</sup>
53	3	11	↑	C <sub>4</sub> H <sub>5</sub> <sup>+</sup>
65	7	21	↑	C <sub>5</sub> H <sub>5</sub> <sup>+</sup>
77	39	100	↑	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> <sup>+</sup>
91	31	43	↑	C <sub>7</sub> H <sub>7</sub> <sup>+</sup>
103	22	61	↑	C <sub>8</sub> H <sub>7</sub> <sup>+</sup>
105	79	50	↓	(M - 43) <sup>+</sup> ; (C <sub>7</sub> H <sub>5</sub> O) <sup>+</sup>
115	6	17	↑	C <sub>9</sub> H <sub>7</sub> <sup>+</sup>
119	34	16	↓	(M - 29) <sup>+</sup> ; (M - CHO) <sup>+</sup>
133	100	59	↓	(M - 15) <sup>+</sup> ; (M - CH <sub>3</sub> ) <sup>+</sup>
148	81	40	↓	Molpeak (M) <sup>+</sup>

Die Fragmentierung des Cuminaldehydes erscheint bei der SFC-MS-CI stärker und die Abspaltung sauerstoffhaltiger Bruchstücke leichter zu erfolgen. Alle für Cuminaldehyd geltenden Beobachtungen können an den Zerfallspektren von p-Cymen-7-ol (s. Abb. 15) bestätigt werden.

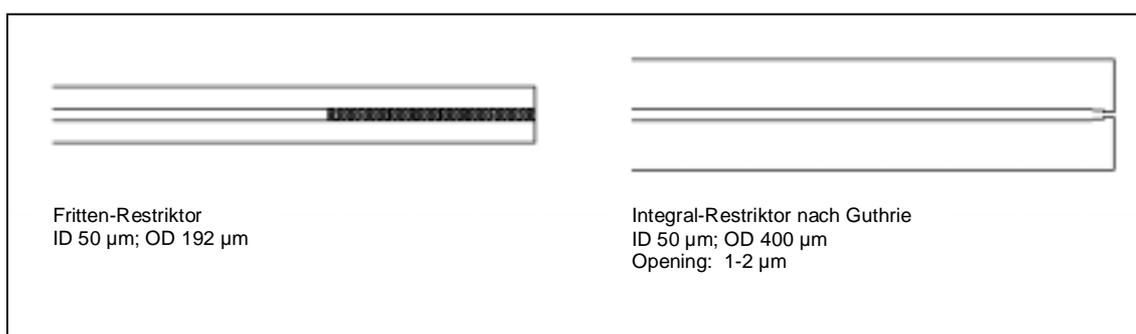


**Abbildung 15:** Massenspektren von p-Cymen-7-ol unter verschiedenen Ionisationsbedingungen (GC-EI und SFC-CI)

### 1.2.2.2.3 Hardware und Leistungsfähigkeit des SFC-MS-Systems

Weitere wesentliche Besonderheiten ergeben sich, wenn das MS unter SFC-MS Bedingungen mit einem DFI-Interface betrieben wird. Das dafür konstruierte Interface wird in Kap. E 2.3.2.1 näher beschrieben. Wichtigstes Bauteil ist eine sich am Ende des Restriktors befindende Tip-Heizung.

Die in der SFC-MS eingesetzten Restriktoren sind nicht nur im Wesentlichen verantwortlich für die Leistungsfähigkeit in der cSFC, sondern sie sind hinsichtlich ihrer Flussrate (Vel. ca. 0,5 cm/s) bei einer Aufgabemenge von 100 - 200 nl für SFC-Kapillaren mit 50  $\mu\text{m}$  ID der limitierende Faktor für die Ankopplung an ein hochauflösendes bzw. Quadrupol-MS wegen der Empfindlichkeit. Hauptsächlich Anwendung in der cSFC-MS finden die Restriktoren vom Fritten- und Integraltyp [52] (s. Abb. 16).

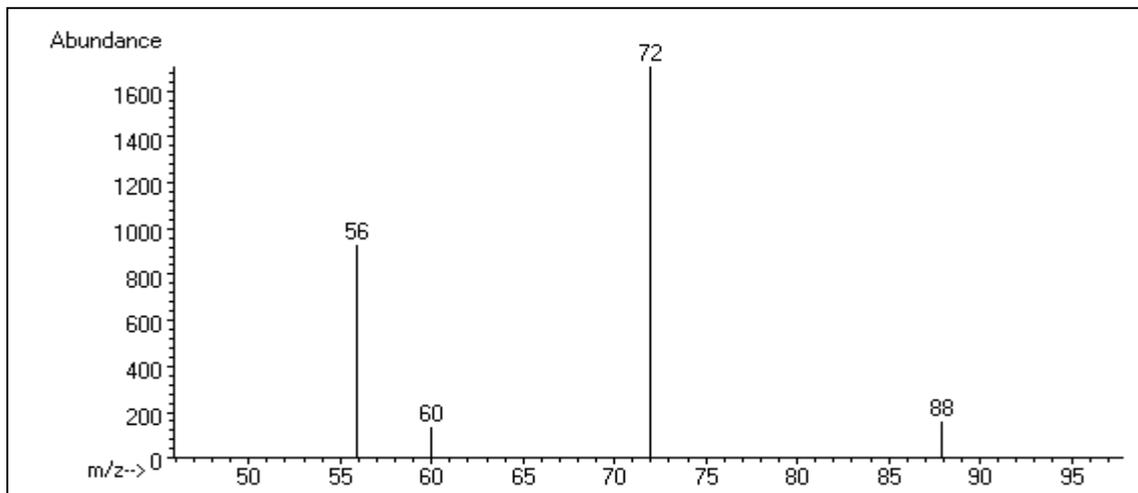


**Abbildung 16:** Bauweise und Größenmaße von Frittenrestriktor und Integralrestriktor

Beim Frittenrestriktor mit seiner ca. 2-3 cm langen Fritte erfolgt die Entspannung des SC-CO<sub>2</sub> in den gasförmigen Zustand niemals punktförmig wie beim Integralrestriktor. Deshalb müssen in Abhängigkeit vom anliegenden Druck das gasförmige CO<sub>2</sub> und die chromatographierten Substanzen einen unterschiedlich langen Weg durch die Fritte zurücklegen. Da die Fritte durch die Tip-Heizung bis auf mehr als 300 °C erwärmt wird, unterliegen die Substanzen einer hohen Temperaturbelastung. Trotzdem war ein Verlust thermisch labiler Substanzen in keinem Fall zu beobachten. Im Falle der Verstopfung der Fritte durch höhermolekulare und nicht flüchtige Substanzen musste der Frittenrestriktor ausgewechselt werden.

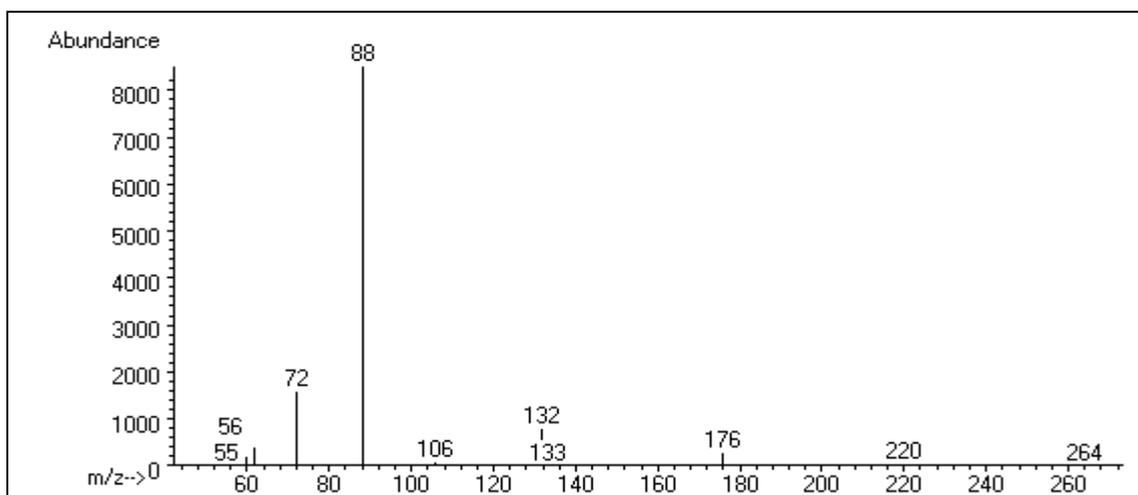
Die Steuerung der am Restriktorende anliegenden Temperatur durch die Tip-Heizung beeinflusst sowohl die Chromatographie (Retentionszeit) als auch den Entspannungsvorgang des SC-CO<sub>2</sub> und damit den Untergrund im SFC-MS Spektrum.

Bei 100 bar Säulendruck, 100 °C Interface-Temperatur und 200 °C Tip-Temperatur ist beim Frittenrestriktor keine Clusterbildung (Masse 88) des CO<sub>2</sub> zu beobachten. Erst bei Drücken von mehr als 300 bar wird die Masse 88 nachweisbar (s. Abb. 17).



**Abbildung 17:** Zerfallsspektrum des SC-CO<sub>2</sub> beim MS - Frittenrestriktor (Fa. Dionex) bei 350 bar und 200 °C Tip-Temperatur

Unter diesen hohen Drücken weist der Basepeak mit 72 amu lediglich eine Abundance von etwa 1700 auf, die Clustermasse 88 nur von etwa 200. Das im MS zu beobachtende Rauschen der Grundlinie (50 - 400 amu Aufnahme) besteht somit nur aus den beim Zerfall von CO<sub>2</sub> üblichen entstehenden Massen 72, 56, 60 und 64 amu.



**Abbildung 18:** Zerfallsspektrum des SC-CO<sub>2</sub> beim MS - Integralrestriktor (Fa. Machery & Nagel) bei 350 bar und 200 °C Tip-Temperatur

Beim Integralrestriktor nach Guthrie hingegen erfolgt die Entspannung der überkritischen Phase punktförmig. Eine hohe Tip-Temperatur hat bei diesem Restriktortyp eine große Auswirkung auf die Chromatographie und auf die Cluster-Bildung des CO<sub>2</sub> (s. Abb. 18). Das Rauschen der Grundlinie besteht bei diesem Restriktor nicht nur aus den

CO<sub>2</sub>-Massen, sondern darüber hinaus schon bei 100 bar aus dem Basepeak mit 88 amu, der sich korrelierend mit zunehmendem Säulendruck verstärkt und dabei bei 350 bar und 200 °C Tip-Temperatur mit den weiteren CO<sub>2</sub>-Clustern 132, 176, 220 und 264 ergänzt wird. Der Basepeak (88 amu) hat bei diesem Restriktortyp eine Abundance von fast 9000.

Diese erhebliche Zunahme an Fragmenten und Intensitäten erhöht das Grundrauschen, führt zu einem Empfindlichkeitsverlust und erfordert zwingend eine Auswerte-Software mit Untergrund-Substraktion.

Im Falle einer Verstopfung kann der Integralrestriktor durch höhere Temperatur an der Spitze (> 300 °C) und höherem Säulendruck (ca. 400 bar) wieder benutzbar gemacht werden, ohne dass sich die Durchflussrate wesentlich ändert.

Die beiden Restriktorentypen unterscheiden sich ebenfalls sehr deutlich hinsichtlich ihrer Flusscharakteristiken (s. Abb. 19 und 20).

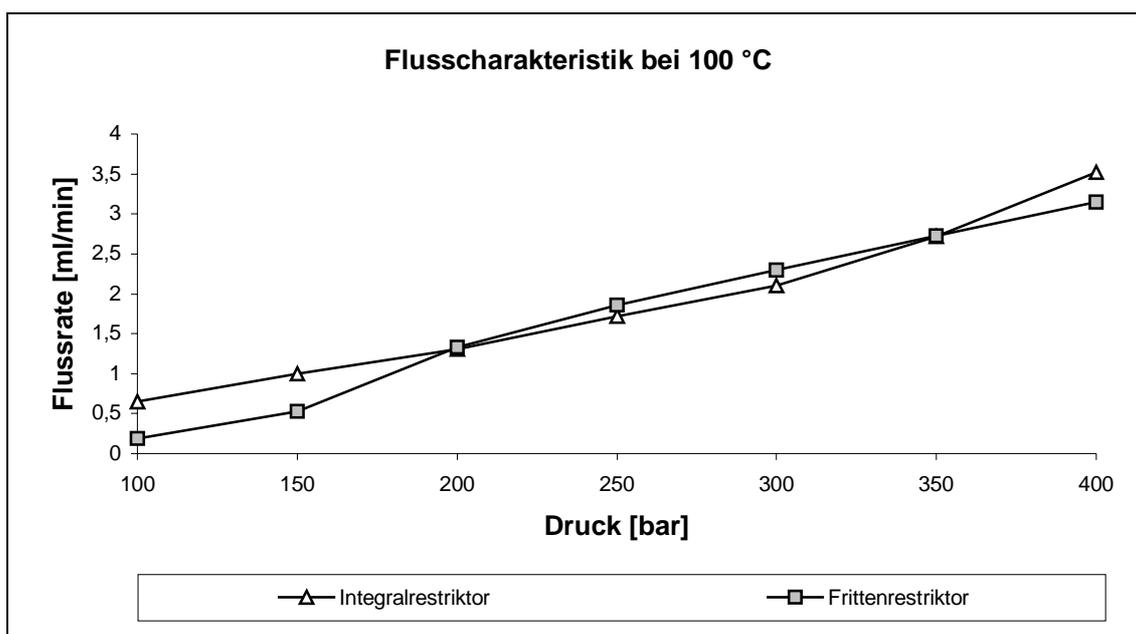


Abbildung 19: Flusscharakteristik der MS-Restriktor-Typen bei 100 °C und zunehmendem Druck

Der Integralrestriktor nach Guthrie zeigt eine streng lineare Abhängigkeit bis ca. 300 bar Säulendruck, d.h. die Verdopplung des Säulendrucks führt zu einer Verdopplung der Flussrate. Danach reagiert der Integralrestriktor mit einem überproportionalen Anstieg der Flussrate. Der Frittenrestriktor dagegen reagiert im unteren Druckbereich (100 - 200 bar) auf eine Steigerung des Säulendrucks mit einem überproportionalen Anstieg der Flussrate, während im höheren Druckbereich (ab 200 bar) eine strenge Linearität zu beobachten ist.

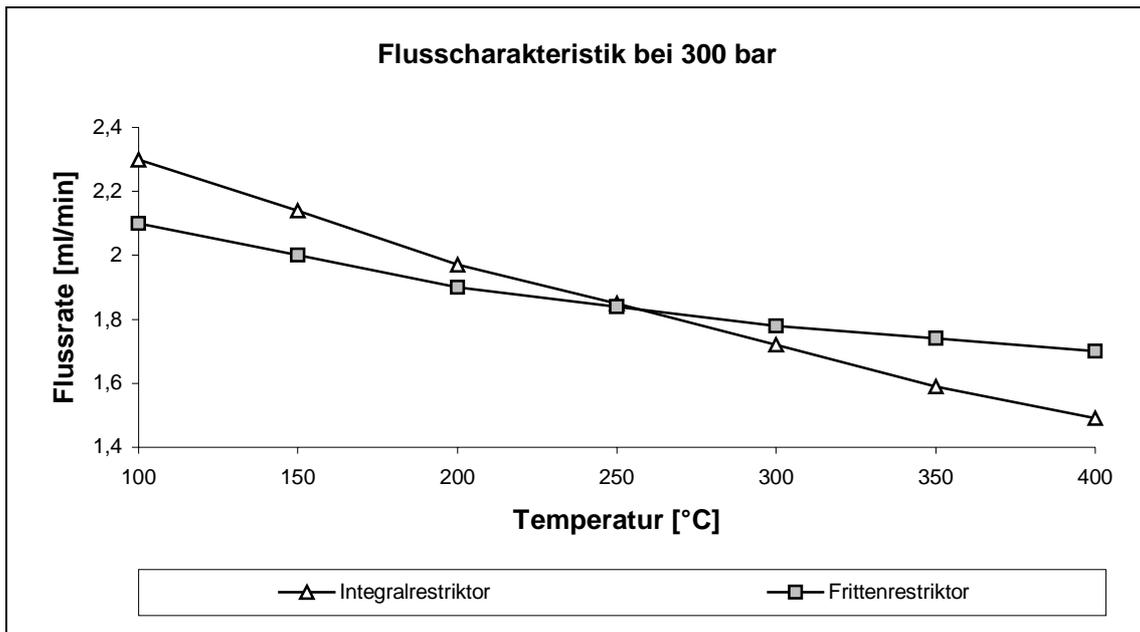


Abbildung 20: Flusscharakteristik der MS-Restriktor-Typen bei 300 bar und zunehmender Temperatur der Tip-Heizung

Bei höheren Drücken kann die Flussrate beim Integralrestriktor durch die Temperatur der Tip-Heizung besser geregelt werden als beim Frittenrestriktor. Diese zu beobachtenden Eigenschaften sind bauartbedingt und charakteristisch für diese beiden MS-Restriktoren (s. Abb. 20).

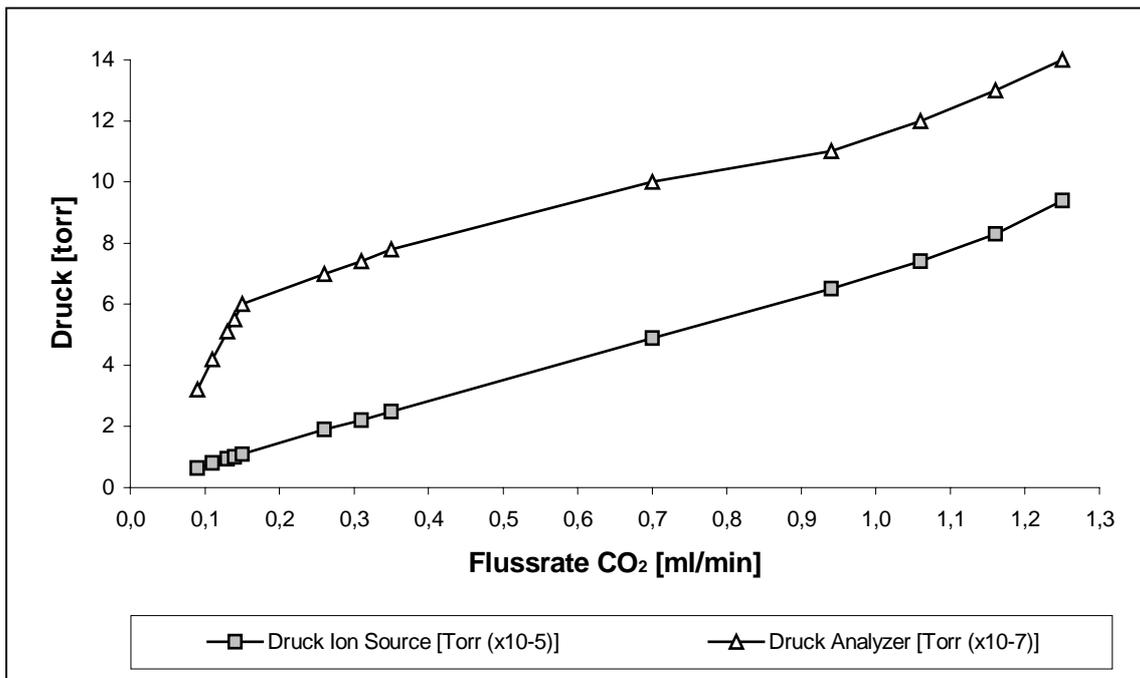


Abbildung 21: Zusammenhang zwischen Vakuum-Anzeige des MS (Quelle und Quadrupol) und Menge an einströmendem CO<sub>2</sub> in ml/min

Bei der cSFC erfolgt zumeist eine Chromatographie mittels eines Dichtegradienten, d.h. dass bei konstanter Temperatur und einem Druckprogramm (z.B. von 100 bis 400 bar) die Stoffe chromatographiert werden. Wie in Abbildung 19 dargestellt, nimmt somit die Flussrate des gasförmigen CO<sub>2</sub> bei 100 °C Tip-Temperatur von 0,5 ml/min bei 100 bar auf ca. 3,5 ml/min bei 400 bar zu. Abbildung 20 zeigt, dass bei 300 bar und sehr hohen Tip-Temperaturen (>300 °C) immer noch 1,8 ml/min CO<sub>2</sub> in das MS strömen. Die Menge des in die Quelle einströmenden CO<sub>2</sub> korreliert mit dem Vakuum des MS in Quelle und Detektor und somit mit dessen Empfindlichkeit. Abb. 21 zeigt den Zusammenhang.

Bereits bei sehr kleinen Flussraten (<0,2 ml/min) reagiert die Vakuum-Anzeige des Quadrupols mit einer Verschlechterung des Vakuums von  $3 \times 10^{-7}$  auf  $6 \times 10^{-7}$  Torr, und bei Zustrom von 1 ml/min CO<sub>2</sub> zeigt die nicht korrigierte Pirani-Gauge nur noch ein Vakuum von  $1,1 \times 10^{-6}$  im Quadrupol und  $6,5 \times 10^{-5}$  Torr in der Quelle an. Bei einem Zustrom von 1,3 ml/min CO<sub>2</sub> erreicht das Vakuum in der EI-Quelle den kritischen Wert von  $1 \times 10^{-4}$  Torr. Dieser Vakuumwert ist insofern kritisch, weil ab diesem Wert die Empfindlichkeit des MS drastisch herabgesetzt ist (Stoffe mit einer Konzentration von < 0,5 mg/ml können nicht mehr als vollständiges Spektrum aufgenommen werden) und die Ionisation der Substanzen verläuft nicht mehr vollständig unter EI-Bedingungen.

Beim DFI-MS strömt konstruktionsbedingt kontinuierlich CO<sub>2</sub> direkt in die Ionenquelle. U.a. führen das höhere Molekulargewicht, die höhere Dichte und Viskosität von CO<sub>2</sub> im Vergleich zu H<sub>2</sub>, He und N<sub>2</sub> zu einem erhöhten Druck in der Ionenquelle des MS. Zumindest die nicht korrigierte Anzeige der Pirani-Gauge lässt das vermuten. Durch deutlich verbesserte Pumpleistungen des MS, z.B. durch den Einbau von drei Cryo-Pumpen, lässt sich die Empfindlichkeit des MS verbessern [70]. Diese Empfindlichkeitssteigerung erfolgt jedoch nur bei sehr hohen CO<sub>2</sub>-Gasflüssen (oberhalb von 350 bar), während bei geringeren Drücken keine deutlichen Verbesserungen des Vakuums und damit der Empfindlichkeit erreicht werden können.

Es bleibt zunächst unklar, ob die drastische Abnahme der Empfindlichkeit bei höheren cSFC-Drücken seine Ursache im Ionisationsmechanismus (Problem in der Ionenquelle) oder in der Durchlässigkeit von Ionen von der Quelle zum Quadrupol hat (Problem außerhalb der Ionenquelle). Zumindest stellt die Pumpleistung der Turbomolekularpumpen beim Betrieb des MS mit CO<sub>2</sub> kein alleiniges Kriterium für den Empfindlichkeits-

verlust dar. Auch Versuche mit sehr offenen Ionenquellen [63,71] und alternativen mobilen Phasen (z.B. Lachgas) führen zu keiner Lösung.

Die o.a. Fakten belegen, dass bei der Kopplung der cSFC mit MS ein hoher Empfindlichkeitsverlust im Vergleich zur GC-MS hinzunehmen ist, der wesentlich auf zwei Faktoren zurückzuführen ist:

- Die Verwendung von CO<sub>2</sub> als mobile Phase
- Der ansteigende Dichtegradient in der cSFC und damit verbunden der vermehrte Einstrom von CO<sub>2</sub> in die Ionenquelle des MS.

Die nachfolgende Abbildung zeigt die Abnahme der Empfindlichkeit des MS bei zunehmendem Druck und zunehmendem Einstrom von CO<sub>2</sub> in die Quelle am Beispiel der Chromatographie eines Alkan-Standards (C10 bis C26 mit c= 0,5 mg/ml)

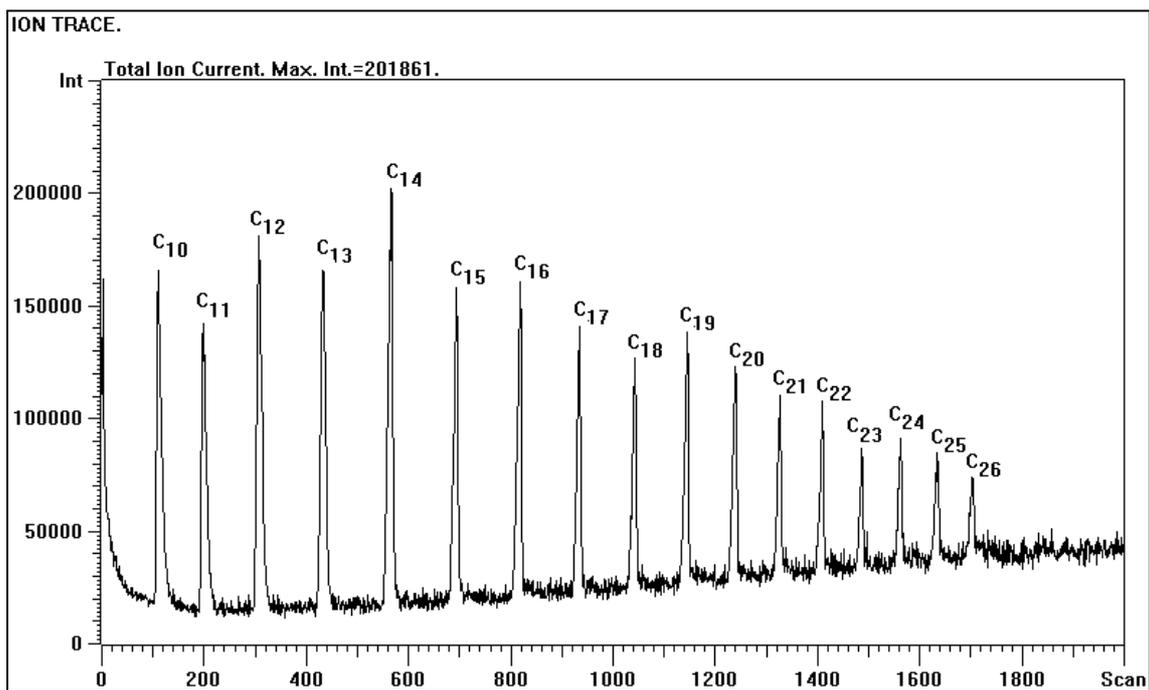


Abbildung 22: cSFC-MS eines Alkan-Standards (0,5 mg/ml) am Finnigan MS

Der Empfindlichkeitsverlust durch den Druckgradienten ist dabei erheblich. Im Bereich C10 bis C15 beträgt das Signal-/Rauschverhältnis ca. 25:1 und bei C23 bis C26 nur noch etwa 5:1. Eine dazu im Vergleich durchgeführte Detektion am FID zeigt bei gleichem Dichtegradienten keinerlei Empfindlichkeitsverlust.

Durch den während eines SFC-Laufes zunehmenden Einstrom an gasförmigem CO<sub>2</sub> verändern sich nicht nur die Empfindlichkeit des Detektors, sondern auch die Ionisations- und Detektionsbedingungen im MS. Eine Optimierung der tune-Bedingungen des MS erfolgt deshalb bei 250 bar Säulendruck, einer Tip-Temperatur von 230 °C und ko-axialem Einstrom von ca. 2 ml /min Helium. Lediglich die Temperatur der Ionenquelle, die Filamentspannung und das Anoden-/Kathodenpotential von 70 eV können beibehalten werden.

Aufgrund der in der cSFC sehr klein dimensionierten Trennsäulen (ID 50 bis 100 µm) und der damit geringen Fließgeschwindigkeit können im Vergleich zur Kapillar-GC (ID 250 bis 800 µm) nur sehr geringe Probenvolumina (ca. 20 - 200 nl) aufgebracht werden. Ferner wird die effektiv zur Detektion zur Verfügung stehenden Probenmenge durch die verwendete Injektionstechnik beeinflusst. Bei der verwendeten timed-split-Injektion spielen neben der Injektionszeit, des Injektionsdruckes und der Löslichkeit der Probe im CO<sub>2</sub> die Fließgeschwindigkeit der mobilen Phase zum Zeitpunkt der Injektion eine entscheidende Rolle. Diese ist wiederum abhängig von der Restriktion am Ende des chromatographischen Systems. Bei MS-tauglichen Restriktoren mit einem Fluss von ca. 0,5 - 0,7 cm/sec für den MS-Direkteinlass können nur Probenvolumina von ca. 20 - 50 nl ohne Verschlechterung der chromatographischen Trennleistung aufgegeben werden.

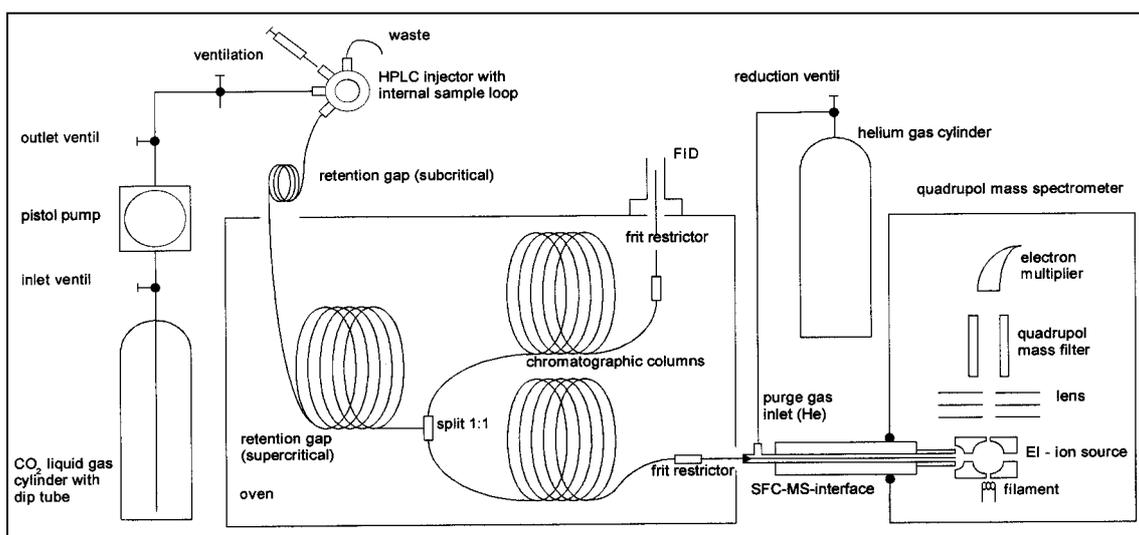


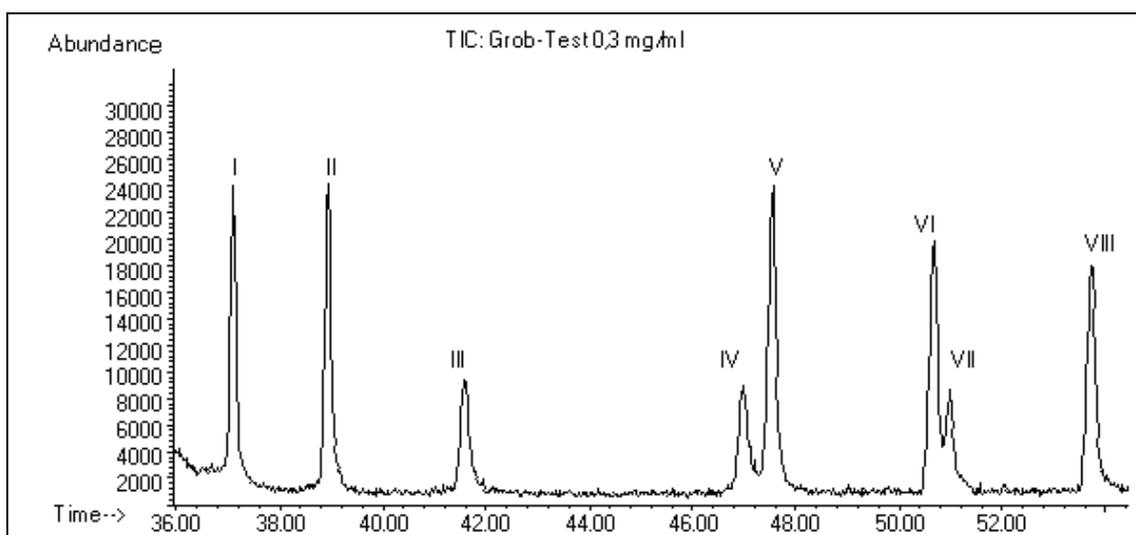
Abbildung 23: Aufbau der cSFC-FID-MS Kombination mit zwei Trennsäulen

In dem in Abb. 23 dargestellten System gelingt es, bedingt durch die Verwendung von 4,40 m langen Retention-Gaps [72] und einer Öffnungszeit des Injektionsventils von drei Minuten, insgesamt 500 nl ohne Verschlechterung der chromatographischen

Trennleistung aufzugeben und somit bei einem Säulensplitting von 1:1 jedem Detektor etwa 250 nl zuzuführen. Im Vergleich zur Kapillar-GC ergibt sich damit selbst unter optimierten Bedingungen eine deutlich verminderte Aufgabekapazität von annähernd nur 10%.

Die chromatographische Leistungsfähigkeit (einschließlich Nachweisempfindlichkeit) wird mit Hilfe einer 0,3 mg/ml konzentrierten Lösung verschiedener Substanzen in Anlehnung an eine Grob-Test-Mischung bestimmt (s. Abb.24). Unter diesen Bedingungen lassen sich für die verschiedenen Substanzgruppen bei einem angenommenen Signal/Rausch-Verhältnis von mindestens 5:1 für ein full-scan Spektrum folgende Nachweisgrenzen festlegen:

für Decan, Undecan, Fettsäuremethylester	ca.	10 ng
für 1-Octanol, Dimethylanilin, Dimethylphenol	ca.	30 ng
für Eicosan/Heneicosan	ca.	50 ng



**Abbildung 24:** SFC-MS Totalionenstrom einer Grob-Test-Mischung mit der Konzentration von 0,3 mg/ml  
 I Decan, II Undecan, III 1-Octanol, IV 2,6-Dimethylphenol, V Methyldecanoat, VI Methylundecanoat, VII 2,6-Dimethylanilin, VIII Methyl-dodecanoat

Zur Ermittlung der Trennleistungen des o.a. Systems in besonderem Hinblick auf die unterschiedlichen Detektoren FID (Normaldruck) und MS (Hochvakuum) sowie deren Einfluss auf die Chromatographie wird die Trennzahl bestimmt. Als Messlösungen dienen sowohl Kohlenwasserstoffe mit der Kettenlänge C10 bis C26 als auch Methylester der C10- bis C12-Fettsäuren in unterschiedlichen Konzentrationen. Für beide Substanz-

gruppen werden an beiden Detektoren Trennzahlen in der Größenordnung von 7-8 ermittelt (s. Tab. 8).

**Tabelle 8:** Ermittlung der Trennzahl im SFC-MS-FID System  
(Säule: 10 m SB-Biphenyl-30, ID 50 µm, OD 192 µm, Dionex)

Alternierende Substanzen	Konzentration	Trennzahl SFC-FID	Trennzahl SFC-MS
Tetradecan / Pentadecan	0,1 mg/ml	8	9
Eicosan / Heneicosan	0,5 mg/ml	6	7
Decansäuremethylester / Undecansäuremethylester	0,3 mg/ml	8	7
Undecansäuremethylester / Dodecansäuremethylester	3 mg/ml	8	7

Dabei ist kein signifikanter Unterschied in Abhängigkeit der eingesetzten Detektoren FID und MS feststellbar. Die damit in früheren Publikationen [73] aufgestellten Aussagen können an dem eingesetzten SFC-MS-FID System nicht nachvollzogen werden. Es wird lediglich festgestellt, dass die Trennleistung mit zunehmendem Molekulargewicht der Verbindung geringfügig abnimmt. Dieser Unterschied ist unabhängig vom eingesetzten Detektor. Mit der HRGC vergleichbare Trennleistungen sind mit der cSFC nicht möglich.

Die nachfolgend aufgeführten Substanzen (Tabelle 9) konnten mit Hilfe der cSFC-MS in Kamilleblüten detektiert und mit vollständigem Massenspektrum aufgenommen werden. Die z.T. unterschiedlichen Retentionszeiten (erhöhte Werte bei der SFE) sind nicht methodenbedingt, sondern Ursache der Säulenüberladung, welche erforderlich war, um auch Substanzen mit geringerem Gehalt detektieren zu können.

**Tabelle 9:** Auflistung aller durch cSFC-MS identifizierten Substanzen in Kamilleblüten

Nr.	Retentionszeit	Retentionszeit	Substanz	Vorkommen	Vorkommen
	SDE	SFE		SDE	SFE
1	44.9		Furfural	+	.*
2	45.3	45.5	Artemisiaketon	+	+
3	45.6	45.7	p-Cymol	+	+
4	55.3	57.7	β-Farnesen	+	+
5	60,4	62,6	Sesquiterpen	+	+
6	61,6	63,6	Sesquiterpen	+	+
7	66,6	70,9	Spathulenol	+	+
8	68,1	72,6	Sesquiterpen	+	+
9	69.5	73.1	Bisabolonoxid	+	+

10	74.4	79.1	Bisabololoxid A	+	+
11	77.8		Chamazulen	+	.*
12	81.0	82.7	Tricosan	+	+
13	84.5	88.4	En-In-Dicycloether MG 200	+	+
14	84.7	88.7	Herniarin	+	+
15	84.8	88.8	En-In-Dicycloether MG 214	+	+
16		93.7	Heptacosan	.*	+
17		96.9	Nonacosan	.*	+
18		100.5	Entriacontan	.*	+
19		103.2	Tritriacontan	.*	+
20		108.0	Pentatriacontan	.*	+

*\*Wenn in den Spalten "Vorkommen" Felder grau unterlegt sind, konnte in dem Destillat/Extrakt die aufgeführte Substanz mittels SFC-MS nicht nachgewiesen werden.*

Wenn dieselben Extrakte mit cSFC-FID untersucht werden (s. Abb. 4), können mehr als 80 Peaks im Chromatogramm detektiert werden. Durch die Ankopplung der cSFC über ein DFI an ein MS limitieren die o.a. systembedingten Grenzen der SFC-DFI-MS Kopplung die Detektionsmöglichkeiten und es lassen sich nur noch 20 Substanzen massenspektrometrisch identifizieren.

Es wurden von allen Pflanzenbestandteilen die Extrakte und bei Cumin und Anis zusätzlich die Fraktionen mit dieser Technik vermessen, dennoch ergab sich in keinem Fall (abgesehen von Cuticularwachsen und Fetten) eine Identifizierung von Substanzen, die das Spektrum der bereits mittels GC-MS identifizierten Komponenten erweiterte.

### 1.2.2.3 Particle-Beam Interface

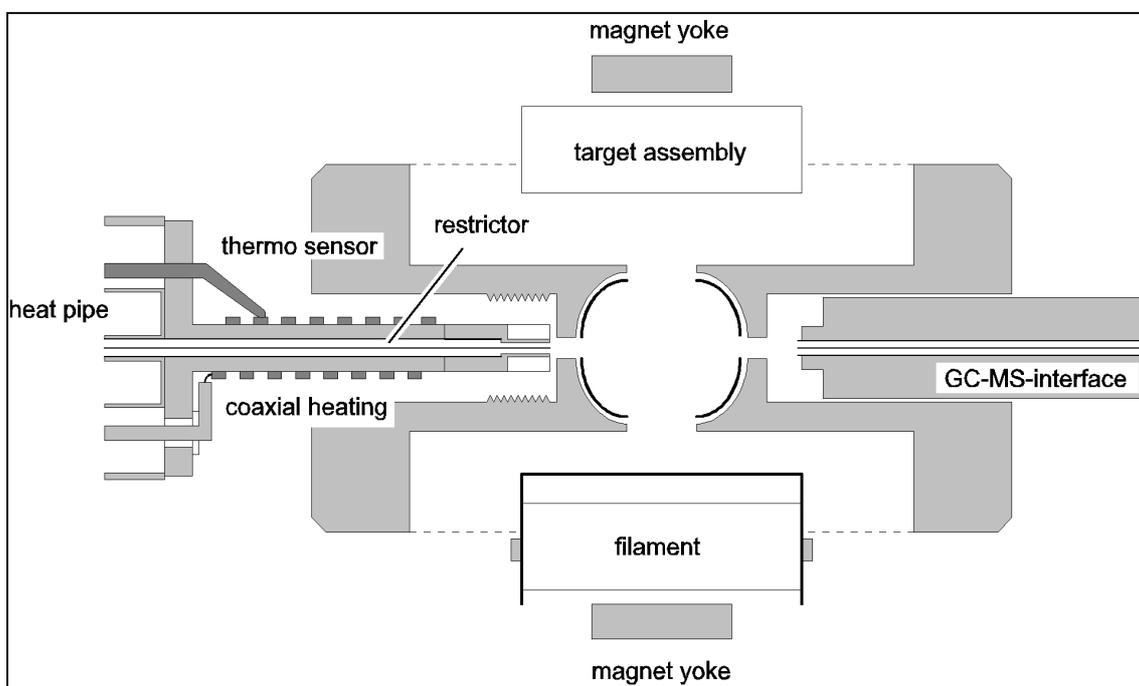
Mit Hilfe der Ankopplung von gepackten SFC-Säulen über das Particle-Beam Interface des HP-Massenspektrometers konnten keine weitergehenden Strukturinformationen gewonnen werden, die nicht auch mit der cSFC-DFI-MS Kopplung gegeben waren.

### 1.2.2.4 Thermospray Interface

Die Thermospray-Anordnung (Interface und Quelle) lieferte unter CO<sub>2</sub>-Einstrom keinerlei Information. Es konnten weder im „discharge-Modus“ noch im „filament-on Modus“ Spektren aufgenommen werden.

### 1.2.2.5 DFI Interface

Für die Ankopplung der cSFC an das Massenspektrometer HP 5989 B war die Neukonstruktion eines DFI-Interface erforderlich (Fa. Mplus in Bremen). Wesentliche Konstruktionsmerkmale sind dabei eine effektive Restriktorheizung (coaxial heating) auf den letzten zwei bis drei Zentimetern des Kapillarrestriktors sowie die koaxiale Zufuhr von Helium. Des Weiteren wurde das Interface so konzipiert, dass die übliche GC-MS Kopplung an der Engine weiter genutzt werden konnte, d.h. es erfolgte die Ankopplung der cSFC auf der Thermospray-/Particle Beam Seite (s. Abb. 25).



**Abbildung 25:** Konstruktion und Einbau des DFI-Interfaces für das Massenspektrometer HP 5989 auf der Particle-Beam / Thermospray Seite

Die DFI-Konstruktion wurde für das MS von HP optimiert. Die Montage der Interface-Kopplung erfolgt mit Hilfe einer Cajon-Hochvakuumverbindung (Swagelok, USA) an die Hochvakuumkammer des MS. Die exakte Positionierung wird durch verschiebbare Distanzringe und einer Schieblehre vorgenommen. Dabei ergibt sich die größte Nachweisempfindlichkeit, wenn der Kapillarrestriktor mit der Restriktorheizung abschließt bzw. maximal 1 mm vorsteht, das Interface im Abstand von 1-2 mm vor der Ionenquelle installiert wird und die koaxiale Zufuhr von ca. 2 ml/min Helium erfolgt.

Für die chromatographische Leistungsfähigkeit ist die programmierbare und schnell reagierende Tip-Heizung wichtig. Wie o.a., gibt es eine Korrelation zwischen Nachweisempfindlichkeit des MS und Zufuhr von CO<sub>2</sub> in die Quelle. Die Erhöhung der Tip-Temperatur während des chromatographischen Laufes (von 200 °C auf z.B. 350 °C) wirkt sich auf das Vakuum des MS wie ein sich langsam verschließender Restriktor aus. Es erhöhen sich damit zwar auch die Retentionszeiten der eluierenden Substanzen, aber der Vorteil der länger erhaltenen Empfindlichkeit des MS überwiegt.

## 2 Bestandsaufnahme der Apiaceen und Asteraceen

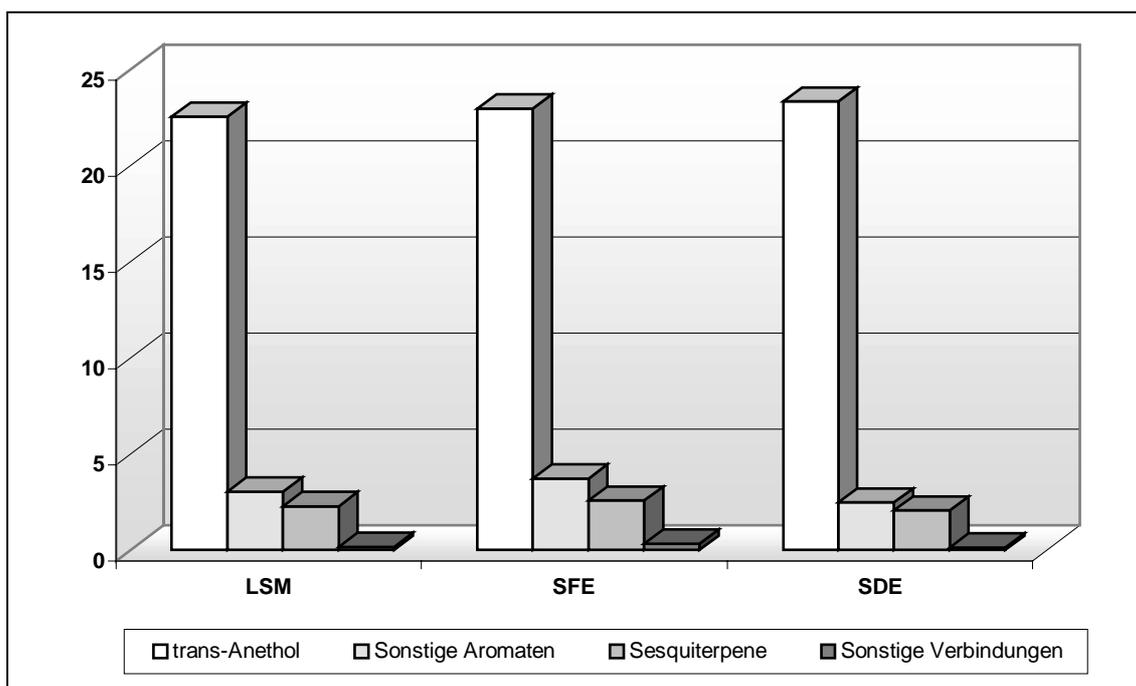
### 2.1 Anis

Die flüchtigen Verbindungen aus fein zerkleinerten spanischen Anisfrüchten (*Pimpinella anisum* L) sind mittels der in Kapitel E 1.1 bis 1.4 beschriebenen Methoden kalter Lösungsmittlextraktion mit Diethylether (LSM), simultaner Destillation-Extraktion (SDE) und durch Extraktion mit überkritischem Kohlendioxid (SFE) isoliert worden. In den untersuchten Extrakten wurden insgesamt mehr als 200 verschiedene Verbindungen nachgewiesen, wovon etwa 150 identifiziert werden konnten. Wegen des hohen Gehaltes an trans-Anethol musste, um eine Überbeladung des chromatographischen Trennsystemes zu vermeiden, auf eine exakte quantitative Bestimmung der Minorbestandteile (Gehalt < 20 mg/kg Anisfrucht) verzichtet werden (s. Tab. 10).

**Tabelle 10:** *Qualitative und quantitative Zusammensetzung von Anisextrakten und -destillaten in mg/kg Anisfrucht (Es werden nur Hauptkomponenten ab einer Konzentration von 20 mg/kg Anisfrucht erfasst)*

Sesquiterpene	R <sub>1</sub> TS2	R <sub>1</sub> TS3	LSM	SFE	SDE
δ-Elementen	1346	1362	64	72	59
β-Elementen	1400	1416	30	28	25
α-Himachalen	1465	1487	158	149	141
ar-Curcurmen	1491	1502	116	123	111
γ-Himachalen	1497	1518	1408	1665	1280
β-Bisabolen	1512	1527	223	279	184
β-Himachalen	1513	1537	196	234	199
β-Sesquiphellandren	1530	1545	33	38	33
β-Himachalenol	1589	1618	21	24	14
Isospathulenol	1640	1665	37	47	39

<b>Phenole und Aromaten</b>	<b>R<sub>1</sub>TS2</b>	<b>R<sub>1</sub>TS3</b>	<b>LSM</b>	<b>SFE</b>	<b>SDE</b>
Estragol (Methylchavicol)	1202	1212	394	395	400
cis-Anethol	1257	1270	51	46	49
Anisaldehyd	1273	1279	87	93	76
trans-Anethol	1293	1306	22556	22993	23348
1-(p-Methoxyphenyl-)propan-2-on	1398	1401	39	27	10
pseudo-Eugenol-2-methylbutanoat	1754	1781	16	21	5
(E)-pseudo-Isoeugenol-2-methylbutanoat	1839	1859	1487	1855	1407
Epoxi-pseudo-isoeugenol-2-methylbutanoat 1	1866	1892	4	24	1
Epoxi-pseudo-isoeugenol-2-methylbutanoat 2	1900	1920	918	1196	505
Anethol-dimeres II	2298	2315	40	69	16
<b>Sonstige</b>	<b>R<sub>1</sub>TS2</b>	<b>R<sub>1</sub>TS3</b>	<b>LSM</b>	<b>SFE</b>	<b>SDE</b>
2-Methylbuttersäure	896	825	24	47	1
Linolsäure, Petroselinensäure und Linolsäure-ethylester	2150		73	173	3
Petroselinensäureethylester	2163	2168	21	57	1
<b>Nicht identifizierte Verbindungen</b>	<b>R<sub>1</sub>TS2</b>	<b>R<sub>1</sub>TS3</b>	<b>LSM</b>	<b>SFE</b>	<b>SDE</b>
137-109,121,166,210	1626	1653	28	55	7
137-109,180-224	1681	1696	11	24	2
268-253145,121,161237-312	2467	2481	17	55	0
268-253-55,91,121237-312	2490	2525	58	69	0
<b>Summe der quantifizierten Hauptkomponenten in mg/kg Anisfrucht</b>			<b>28103</b>	<b>29857</b>	<b>27914</b>
<b>Summe der quantifizierten Hauptkomponenten in %</b>			<b>96,7</b>	<b>97,0</b>	<b>98,7</b>



**Abbildung 26:** Summarische Darstellung der gaschromatographisch erfassbaren Inhaltsstoffe in g/kg Anisfrüchten in Abhängigkeit vom Extraktionsverfahren

Die Summe der gaschromatographisch in den Extrakten quantifizierten Komponenten schwankt zwischen 27,9 und 29,8 g/kg Anisfrüchten (quantifiziert über den Standard Methyldecanoat ohne Ermittlung von Korrekturfaktoren), dies korreliert gut mit dem durch Wasserdampfdestillation bestimmten Gehalt an etherischen Öl von 2,7 %.

Die qualitative und quantitative Zusammensetzung der untersuchten Extrakte zeigt, dass neben geringen Anteilen an Monoterpenen vor allem Sesquiterpenverbindungen (LSM 8,1 %; SFE 9,6 %; SDE 7,4 %) und aromatische Komponenten (LSM 91 %; SFE 89 %; SDE 92 %) in den Extrakten enthalten sind. Der Anetholanteil in den einzelnen Extrakten beträgt 80,2 % (LSM), 77 % (SFE) bzw. 83,6 % (SDE).

**Tabelle 11:** Identifizierte Monoterpenverbindungen und Geijerene in Anisextrakten.  
(KG: Kieselgelfraktion; + = <10 ppm, ++ = 10-20 ppm)

	R <sub>1</sub> TS2	R <sub>1</sub> TS3	KG	LSM	SFE	SDE
<b>Monoterpene:</b>						
β-Citronellen	946	948	-	-	-	+
α-Pinen	938	951	F1	++	++	++
Camphen	958	971	-	-	-	+
Sabinen	976	987	F1	+	+	+
Myrcen	993	992	F1	+	+	+
β-Pinen	982	997	F1	+	+	+
p-Cymol	1032	1038	F1,2	++	++	++
Limonen	1034	1044	F1,2	++	++	++
1,8-Cineol	1038	1053	F3	+	+	+
γ-Terpinen	1065	1074	F1	++	++	++
Linalool	1104	1104	F4	++	++	++
Fenchon		1109	F3	-	+	+
Thujon ? <sup>a)</sup>	1124	1124	F3	+	+	-
Campher	1156	1171	F3	+	+	+
Menthon	1163	1173	F3	+	+	+
iso-Menthon	1172	1184	F3	-	-	+
Borneol	1183	1189	F4	+	+	+
Terpinen-4-ol	1192	1197	-	-	-	+
α-Terpineol	1200	1207	F4	+	+	+
Carvon	1252	1264	F3	+	+	+
<b>Geijerene:</b>						
isom. Geijeren	1151	1158	F1	+	+	+
Geijeren	1176	1165	F1,2	++	++	++

<sup>a)</sup> m/e 67,109,110,68,69,81,95

**Monoterpene und Geijerene:** In Tabelle 11 sind die identifizierten Monoterpenverbindungen wiedergegeben. Abgesehen von β-Citronellen und den isomeren Menthonon stellen diese Komponenten bekannte Aromastoffe von Anis dar [74-76]. β-Citronellen (3,7-Dimethyl-1,6-octadien) konnte durch Vergleich von Massenspektrum und Retenti-

onsindex (TS2) mit Literaturdaten [77] identifiziert werden. Auf der Dickfilm-Trennsäule (TS3) kommt es beim Citronellen, wie auch beim ebenfalls acyclischen Myrcen, zu einer Umkehrung der Elutionsreihenfolge, verglichen zu den jeweils benachbarten Pinenen. Die in Anis beschriebenen Monoterpenkohlenwasserstoffe 3-Caren,  $\alpha$ - und  $\beta$ -Phellandren, E und Z- $\beta$ -Ocimen,  $\alpha$ -Terpinen und Terpinolen [75] waren in den untersuchten Extrakten nicht nachweisbar.

Geijerene sind bekannte Inhaltsstoffe einiger Pimpinella-Arten und finden sich in Anispflanzen vor allem in den Wurzeln und im Kraut, nur geringe Mengen liegen in den Früchten vor [78]. Neben den in Tab. 11 beschriebenen beiden Geijerenkomponenten erscheint das Vorliegen eines weiteres Geijerenisomeres ( $R_T$ TS2 1143, m/e 79, 94, 147, 162) wahrscheinlich, welches allerdings auf TS3 nicht nachweisbar war. Pregeijeren [77,79], aus welchem das Geijeren durch Cope-Umlagerung hervorgeht, konnte in den untersuchten Aromaextrakten nicht identifiziert werden.

**Sesquiterpene:** Die in den untersuchten Extrakten identifizierten 23 Sesquiterpenkohlenwasserstoffe und 9 sauerstoffhaltigen Sesquiterpenderivate sind in Tab. 12 zusammengestellt.

**Tabelle 12:** Identifizierte Sesquiterpenverbindungen in Anisextrakten

Nr.	Sesquiterpene	$R_T$ TS2	$R_T$ TS3	KG	Ident.	LSM	SFE	SDE	Zitat
1	$\delta$ -Elemen	1346	1362	F1,2	R	64	72	59	[77,80]
2	$\alpha$ -Longipinen	1369	1384	F1,2	[50]	++	++	++	
3	$\alpha$ -Ylangen	1389	1398	F1,2	R	++	++	++	
4	$\alpha$ -Copaen		1402	F1	R		+		[77]
5	Longicyclen	1384	1409	F1	[50]	+	+	+	
6	$\beta$ -Elemen	1400	1416	F1,2	R	30	28	25	
7	E- $\alpha$ -Bergamoten	1440	1457	F1,2	R	++	++	++	[77,81]
8	E- $\beta$ -Farnesen	1455	1465	F1	R	++	++	++	[74,77]
9	$\alpha$ -Himachalen	1465	1487	F1,2	[50,51]	158	149	141	[77,80]
10	ar-Curcumen	1491	1502	F1	R	116	123	111	[74,77,78,80]
11	$\alpha$ -Zingiberen	1501	1512	F1,2	R	a)	a)	a)	[78]
12	$\gamma$ -Himachalen	1497	1518	F1,2	[50,51]	1408	1665	1280	[74,77,78,80]
13	$\beta$ -Bisabolen	1512	1527	F1,2	R	223	279	184	[77,78,80]
14	$\beta$ -Himachalen	1513	1537	F1,2	[50,51]	196	234	199	[77,80]
15	$\beta$ -Sesquiphellandren	1530	1545	F1,2	R	33	38	34	[77,81]
16	ar-dehydro- $\alpha$ -Himachalen		1546	F1,2	[50,51]	+	+	+	
17	$\delta$ -Cadinen	1531	1549	F1	R	+	+	+	[77,81]
18	Calamenen	1526	1555	F1	R	+	+	+	
19	ar-dehydro- $\gamma$ -Himachalen		1564	F1,2	[50,51]	+	+	+	

20	ar-Himachalen	1545	1571	F1,2	[51]	+	+	+	
21	$\alpha$ -Calacoren	1540	1575	F1,2	[50]	+	+	+	[80]?
22	$\beta$ -Calacoren	1572	1596	F1,2	[50]	+	+	+	[80]?
23	Cadalen	1678	1711	F1	[50]		+	+	
24	$\beta$ -Himachalen-1,8-epoxid		1609	F3,4	[50,52]		+	+	
25	Spathulenol	1581	1615	F3	R	++	++	++	
26	ar-Curcumen-2,3-epoxid		1617	F3	[53]		+		
27	$\beta$ -Himachalen-8-ol	1589	1618	F4	[52]	21	24	14	
28	$\beta$ -Himachalenoxid	1626	1655	F2,3	[50,54]	+	+	+	
29	Isospathulenol	1640	1665	F4	[55]	37	47	39	
30	Himachal-2-en-6-ol	1665	1692	F3	[56,57]	++	++	++	
31	$\alpha$ -Bisabolol	1684	1708	F4	R	+	+	++	
32	E- $\beta$ -Sesquiphellandrenol	1696	1724	F4	R		+	++	
	<b>Summe (in mg/kg Anisfrucht)</b>					<b>2286</b>	<b>2659</b>	<b>2072</b>	

KG = Kieselgelfraktion (F1-4), Ident. = Identifizierung; R = Vergleich von MS und  $R_1$  mit Referenzsubstanzen, ansonsten über Literaturdaten; Lit. = bereits in Anis beschrieben von ...

<sup>a)</sup> unter GC-Bedingungen nicht abgetrennt von  $\gamma$ -Himachalen

Die als Anisbestandteile beschriebenen Terpene  $\alpha$ -Humulen ( $R_1$ TS3 1488) [77],  $\beta$ -Caryophyllen ( $R_1$ TS3 1455) [76] und Germacren D ( $R_1$ TS3 1514) [77,78] waren in den untersuchten Extrakten nicht nachweisbar. Dies könnte allerdings darauf zurückzuführen sein, dass alle drei Komponenten unter den GC-Bedingungen nicht von retentionszeitgleichen und konzentrationsstärkeren Sesquiterpenen abgetrennt worden sind.

Auffällig ist sowohl bei den Bisabolanen, den Cadinanen und Himachalenen eine starke Tendenz zur Aromatisierung.  $\beta$ -Himachalenoxid kann mit Perchlorsäure zu 5,6-Dehydro-Himachalol, 2,5,7-Himachalatrien und ar-Himachalen umgesetzt werden [82]. Auch bei der Bildung von ar-dehydro- $\gamma$ -Himachalen aus  $\beta$ -Himachalen wird das 2,5,7-Himachalatrien als Zwischenstufe angesehen [83].

Unter den bislang nicht eindeutig identifizierten Sesquiterpen-Verbindungen im Anis finden sich 2  $C_{15}H_{22}$ -Komponenten (MG 202), bei denen es sich aufgrund der Massenspektren [84] um Himachalatriene handeln könnte:

Kohlenwasserstoff I ( $R_1$ TS2 1476,  $R_1$  TS3 1499,  $R_1$ CW20M 1737, m/e 131 (100%), 146 (54%), 202 (51%), 159 (49%), 91 (42%), 105 (42%), 119 (41%), 145 (39%), 132 (38%), 187 (19%); FTIR ( $cm^{-1}$ ) 703 (w), 785 (w), 1201 (w), 1380 (m), 1452 (m), 1660 (w), 2871 (m), 2925 (s), 2969 (s), 3032 (m); w = weak, m = medium, s = strong; GC-FTIR-Bedingungen vgl.[85]) und

Kohlenwasserstoff II ( $R_1$ TS2 1527,  $R_1$  TS3 1557,  $R_1$ CW20M 1811, m/e 146 (100%), 131 (78%), 91 (55%), 105 (51%), 159 (46%), 202 (24 %), 187 (17%); 117 (15%), FTIR

( $\text{cm}^{-1}$ ) 787 (m), 815 (w), 887 (m), 1202 (w), 1381 (m), 1444 (m), 1633 (w), 2873 (m), 2930 (s), 2969 (s), 3031 (m), 3083 (w)).

Beide Kohlenwasserstoffe sind Hauptkomponenten der 2. Kieselgelfraktion (Verhältnis I zu II 1:1,5 in F2), finden sich aber auch in F1 (I zu II 1,5:1) und in geringer Konzentration in F3 (I zu II = 1:2). Aufgrund der spektralen Daten und der Elutionsfolge am GC dürfte es sich bei Kohlenwasserstoff II um ein Himachalatrien mit exocyclischer Doppelbindung (wie C und D in Abb. 27) handeln, während für Kohlenwasserstoff I die Strukturen A und B (Abb. 27) in Frage kommen. Das Massenspektrum von Kohlenwasserstoff I entspricht weitgehend dem für das 2,5,7-Himachalatrien (A) publizierten Fragmentierungsmuster [84]. Die entsprechenden IR-Banden für die Doppelbindung können allerdings nicht bestätigt werden. Verbindung B (Abb. 27) könnte, wie beim Menthatrien der Petersilie bzw. beim Zingiberen in Ingwer beschrieben [86,87], über die Bildung von Endoperoxiden sowohl am cis-1,3-Dien-System des Cycloheptanringes wie auch des Cyclohexanringes, als Vorstufe für  $\beta$ -Himachalen-1,8-epoxid,  $\beta$ -Himachalen-8-ol bzw. ar-dehydro- $\gamma$ -Himachalen fungieren. Dem  $\beta$ -Himachalen werden insektizide [88] und entzündungshemmende [89] Eigenschaften nachgesagt, weshalb es nicht ungewöhnlich erscheint, dass auch andere Himachalenderivate einen Beitrag zu den pharmakologischen Eigenschaften des Anis leisten.

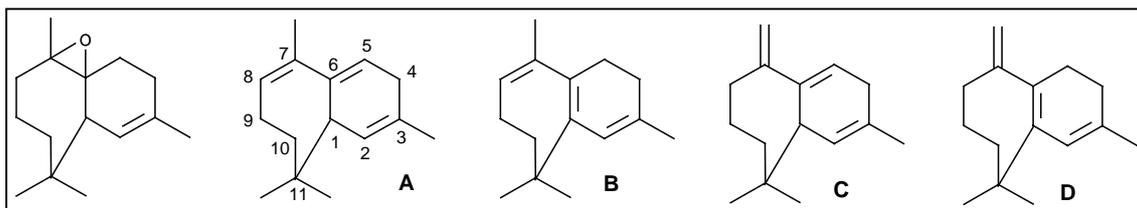


Abbildung 27:  $\beta$ -Himachalenoxid und die daraus herleitbaren Himachalatriene A-D

**Phenole und Aromaten:** Die in den untersuchten Extrakten vorliegenden phenolischen und aromatischen Verbindungen sind in Tab. 13 zusammen gestellt. Die Mehrzahl der Komponenten leitet sich strukturell von der Hauptkomponente Anethol ab. Die Bildung des Anethols erfolgt aus Zimtsäure über p-Cumarsäure und anschließende Methoxylierung [90]. Ein Hinweis auf das Vorliegen von Zimtsäure im Anis ist der Nachweis von Styrol (Vinylbenzol). Ebenso lassen sich Vinylanisol und Anisol mit der Methoxyzimtsäure sowie Vinylguajacol, Guajacol, und Vanillin mit Ferulasäure in Verbindung bringen. Da besonders die Vinylverbindungen thermische Decarboxylierungsprodukte der

entsprechenden Phenolcarbonsäuren darstellen, ist ihr Vorliegen im destillativ gewonnenen SDE-Extrakt nicht ungewöhnlich.

**Tabelle 13:** Identifizierte phenolische und aromatische Verbindungen in Anisextrakten (Abkürzungen, Anmerkungen etc. s. Tab. 12)

Nr.	Phenole und Aromaten	R <sub>1</sub> TS2	R <sub>1</sub> TS3	KG	LSM	SFE	SDE	Zitat
1	Styrol (Vinylbenzol)		902	-			+	
2	Guajacol (o-Methoxyphenol)	1098	1102	F4	+	+		
3	p-Methoxyphenol	1244	1232	F4	+	+		
4	Vinylguajacol ?		1342	-			+	
5	Anisol (Methoxybenzol)	922	926	F4	+	+	+	
6	Vinylanisol		1170	F2		+	+	
7	Methylchavicol (p-Allylanisol)	1202	1212	F2,1,3	394	395	400	[91,92]
8	cis-Anethol (p-Z-Propenylanisol)	1257	1270	F2,1,3	51	46	48	[91,92]
9	trans-Anethol (p-E-Propenylanisol)	1293	1301	F2,1,3	22556	22993	23348	[91,92]
10	Propylanisol		1220	F2,1	+	+		
11	Benzaldehyd	971	976	F2,3	+	+	+	
12	Phenylacetaldehyd		1058	-			+	
13	2-Hydroxy-Benzaldehyd		1064	F4,3	+	+		
14	Anisaldehyd	1273	1279	F4,3,2	87	93	76	[91,92]
15	1-(p-Methoxyphenyl)-ethan-1-on	1365	1375	F4	+	+	+	[92]
16	1-(p-Methoxyphenyl)-propan-2-on	1398	1401	F4,2,3	39	27	10	[91]
17	1-(p-Methoxyphenyl)-propan-1-on	1461	1473	F4,3	++	++	+	[91]
18	Vanillin	1407	1421	F4	+	+		
19	2-Hydroxy-4-methoxybenzaldehyd		1355	F4		+		
20	2,5-Dimethoxybenzaldehyd ?		1478	F4		+		
21	pseudo-Isovanillyl-2-methylbutanoat	1789	1811	F4		+		[93]
22	p-Methylacetophenon	1201	1202	F3,4		+	+	
23	Benzylalkohol	1049	1052	F4	+	+	+	
24	Phenylethanol		1136	F4	+	+	+	
25	Anisalkohol		1300	F4	+	+		[91,92]
26	1-(p-Methoxyphenyl)-ethan-1-ol	1328	1313	F4	+	+		
27	1-(p-Methoxyphenyl)-propan-2-ol ?	1407	1406	F4	+	+		
28	1-(p-Methoxyphenyl)-propan-1-ol	1413	1421	F4	+	++	+	
29	p-Methoxybenzoesäure (Anissäure)	1447	1437	F4	+	+		[91,92]
30	Methylanisat		1393	F4	+	+	+	
31	Ethylanisat		1467	F3		+		
32	Isobutylanisat	1603	1601	F3		+	+	
33	Methyltrimethoxybenzoat ?		1737	F4		+		
34	5-Methoxy-2-methylbenzofuran	1383	1388	F2	+	+	+	[89,94]
35	pseudo-Eugenol (PSEU)	1404	1413	F4	+	+	+	
36	(Z) pseudo-Isoeugenol		1485	F4	+	+	+	
37	(E) pseudo-Isoeugenol (PSIEU)	1518	1528	F4	++	++	+	
38	pseudo-Eugenolmethylether	1403	1407	F2	+	+	+	
39	(Z) pseudo-Isoeugenolmethylether	1433	1445	F2,3	+	+	+	
40	(E)-pseudo-Isoeugenolmethylether	1495	1504	F2,3	++	++	++	
41	pseudo-Isoeugenyl-Acetat ?		1550	F3		+		
42	(E)-PSIEU-2-methylpropanoat	1736	1761	F3,4	+	+	+	
43	PSEU-2-methylbutanoat	1754	1781	F3	16	21	+	
44	(E)-PSIEU-2-methylbutanoat	1839	1859	F3,2,1	1487	1855	1406	[78]

45	PSEU-2-methylbut-2-enoat		1886	F3	+	+	+	
46	(E)-PSIEU-2-methylbut-2-enoat	1921	1937	F3	+	+	+	
47	Epoxy-PSIEU-2-methylpropanoat		1816	F4		+		
48	Epoxy-PSIEU-2-methylbutanoat	1900	1920	F3,4,2	918	1196	505	[78]
49	Anethol-dimeres I	2259	2282	F3,2	++	++	+	[95]?
50	Anethol-dimeres II	2298	2315	F3,2	40	69	16	[95]?
51	Diethyldimethoxyphenanthren ?	2334	2355	F3	+	+		
52	Anisaldehyd-dimeres (Dianisoin)	2625	2617	F4		+		[95]
<b>Summe (in mg/kg Anisfrucht)</b>					<b>25588</b>	<b>26719</b>	<b>25810</b>	

Das ebenfalls aus Ferulasäure hervorgehende Eugenol (2-Methoxy-4-allylphenol) ist zwar mehrfach als Anisinhaltsstoff beschrieben [76,96], konnte jedoch in den untersuchten Extrakten nicht nachgewiesen werden. Allerdings wurden 3 isomere Verbindungen in der polaren Kieselgelfraktion (F4) detektiert, deren Massenspektren eine gewisse Ähnlichkeit mit Eugenol aufweisen (Tab. 13, Nr. 35 - 37, Verhältnis 1:1:20; R<sub>T</sub>TS3 1413, 1485, 1528, M<sup>+</sup> 164, ausgeprägtes Fragment m/e 149 (M<sup>+</sup> - CH<sub>3</sub>)). Durch Hydrierung (Pd/C) dieser Kieselgelfraktion können die drei Komponenten in ein gemeinsames Hydrierungsprodukt (R<sub>T</sub>TS3 1466; m/e (%) 137 (100), 166 (52), 109 (12), 77 (10), 151 (5)) überführt werden. Es muss sich demnach um Doppelbindungsisomere handeln. Analog dazu ergibt die Hydrierung von Eugenol (R<sub>T</sub>TS3 1375), cis- und trans-Isoeugenol (R<sub>T</sub>TS3 1428 bzw. 1470) das von unserem Hydrierungsprodukt verschiedene 2-Methoxy-4-propylphenol (R<sub>T</sub>TS3 1387; m/e (%) 137 (100), 166 (57), 122 (26), 94 (15), 77 (13)). Da trans-pseudo-Isoeugenol (4-Methoxy-2-propenylphenol) in Form seines 2-Methylbutanoates ein mengenmäßig hervortretender Inhaltsstoff von Anisfrüchten ist [78,93,97], erscheint es nicht unwahrscheinlich, dass auch der freie Alkohol im Anis vorliegt. Im Hydrolysat (KOH/Methanol) der Kieselgelfraktion 3 (E-pseudo-Isoeugenyl-2-methylbutanoat stellt in der Fraktion die Hauptkomponente dar, begleitet von ca. 1% eines früher eluierendem Isomeren, vgl. Tab. 13), finden sich als Hauptkomponente, neben Methyl-2-methylbutanoat, das Phenol Nr. 37 (begleitet von ca. 1 % Phenol Nr. 35). In Analogie zur Elutionsreihenfolge von Eugenol und den Isoeugenolen, sowie unter Berücksichtigung der Hydrierungs- und Hydrolysebefunde, können den Isomeren 35 - 37 folgende Strukturen zugeordnet werden: 35 = pseudo-Eugenol (4-Methoxy-2-allylphenol), 36 = cis-pseudo-Isoeugenol, 37 = trans-pseudo-Isoeugenol. Möglicherweise handelt es sich auch bei dem von Tabacchi et al. [74] beschriebenen Anisinhaltsstoff trans-Isochavibetol (2-Methoxy-5-propenylphenol) um das trans-pseudo-Isoeugenol.

Aus dem Hydrolyseexperiment ergibt sich auch die Zuordnung der PSEU- und EPSIEU-ester in Tab. 13. Die als Methylether der isomeren pseudo-Eugenole zugeordneten Peaks unterscheiden sich hinsichtlich ihrer Retentionszeiten kaum von den Methyl-estern der isomeren Eugenole. Im Massenspektrum ( $M^+$  178) fällt jedoch ein ausgeprägtes Fragment  $m/e$  135 ( $M^+ - C-O-CH_3$ ; >70 %) auf, welches bei den Eugenolmethylethern lediglich 10 % ausmacht. Die Hydrierung der Fraktion 2, in der alle drei Isomeren enthalten sind, liefert wiederum ein gemeinsames Hydrierungsprodukt (R<sub>1</sub>TS3 1409;  $m/e$  (%) 151 (100), 180 (96), 121 (49), 137 (33), 165 (24)), welches sich von dem aus Eugenolmethylether hervorgehenden 1,2-Dimethoxy-4-propylbenzol (R<sub>1</sub>TS3 1423;  $m/e$  (%) 151 (100), 180 (76), 107 (27), 135 (8), 165 (4), 121 (3)) deutlich unterscheidet. Auch die isomeren pseudo-Eugenolmethylether liegen in den Anisextrakten im Verhältnis 1:1:20 vor, wogegen in den Kieselgelfractionen der Anteil des cis-Isomeren erhöht ist (1:2:20), was auf Artefaktbildung an Kieselgel schließen lässt.

Eine Isomerisierung von trans-Anethol zum toxischen cis-Anethol erfolgt unter Licht-einfluss. Ferner entsteht dabei durch Selbstkondensation von Anethol das östrogen wirkende dimere Dianethol und durch Dimerisierung von Anisaldehyd in Form einer Benzoinkondensation Dianisoin [95]. Diese Artefakte können in geringen Mengen (cis-Anetholgehalt < 0,2 %) in den untersuchten Früchten nachgewiesen werden. Eine nennenswerte Zunahme dieser Komponenten bei der lichtgeschützten Lagerung tiefgekühlter Anisfrüchte hingegen kann nicht beobachtet werden. Auch in den gewonnenen Extrakten, welche in Ether gelöst, bei -18 °C, unter Stickstoff, im Dunkeln aufbewahrt wurden, ergaben sich keine wesentlichen Veränderungen, cis-Anethol nimmt dabei eher ab (vgl. Tab. 14).

**Tabelle 14:** Vergleich frischer Anis-Extrakte (LSM/SFE) mit 3 Jahre gelagerten Extrakten (LSM\*/SFE\*), Konzentrationsangaben in mg/kg Anisfrucht.

Komponente	LSM	LSM*	SFE	SFE*
trans-Anethol	22556	22463	22993	22902
cis-Anethol	51	13	46	12
Anethol-dimeres II	40	45	69	77

Analog zur Bildung von Anisaldehyd aus Anethol lässt sich auch die Bildung von pseudo-Isovanillin (5-Methoxy-2-hydroxybenzaldehyd) aus pseudo-Isoeugenol erklären. Durch Vergleich der Massenspektren mit entsprechenden Spektrenbibliotheken lassen sich ein isomeres Vanillin und ein 2,5-Dimethoxybenzaldehyd zuordnen (Tab. 13).

Ein weiterer Anisinhaltstoff stimmt im Massenspektrum sehr gut mit dem bei der Ozonolyse von PSIEU-2-methylbutanoat erhaltenen pseudo-Isovanillyl-2-Methylbutanoat überein [93]. Darüber hinaus finden sich auch Hinweise auf das Vorliegen von Keto- ( $M^+$  264) bzw. Hydroxyderivaten ( $M^+$  266) des pseudo-Isoeugenyl-2-methylbutanoates (analog zu den Anisketonen aus Anethol).

**Sonstige Inhaltsstoffe:** Neben den mengenmäßig vorherrschenden Anetholabkömmlingen und Himachalenderivaten finden sich noch eine Reihe von Minorbestandteilen, vor allem Ester der 2-Methylbuttersäure und langkettiger Fettsäuren (C14 bis C18,) in den Extrakten. Ebenso wie freie 2-Methylbuttersäure sind auch langkettige Fettsäuren (wie Palmitin-, Petroselin-, Linol- und Linolensäure) besonders im SFE- und LSM- Extrakt enthalten, wurden jedoch aufgrund ihres unzureichenden Elutionsverhaltens nicht weiter berücksichtigt. Einige Carbonylkomponenten, Pyrrole, Phytol- und Carotinoidabkömmlinge sowie das Furocoumarin Bergapten konnten ebenfalls nachgewiesen werden. Neophythadien [77] und Bergapten [98] sind als Inhaltsstoffe des Anis bereits beschrieben. Die Anwesenheit des ebenfalls beschriebenen 8-Methoxy-Psoraleins (Xanthotoxin,  $R_f$  2090 unter denselben GC-Bedingungen) [98] kann in den hier untersuchten Extrakten nicht bestätigt werden.

Im höhersiedenden Bereich, der nur mittels LSM bzw. SFE erfasst wird, finden sich darüber hinaus auch längerkettige Alkane (besonders n-Heptacosan und n-Nonacosan), Squalen sowie eine Reihe nicht näher charakterisierter Komponenten.

**Tabelle 15:** nicht identifizierte Anisinhaltstoffe

	m/e	$R_f$ TS2	$R_f$ TS3
<b>H</b>	137, 109, 121, 166, 77, 94, 210	1626	1653
<b>J</b>	137, 109, 180, 43, 77, 94, 224	1681	1696
<b>K</b>	268, 253, 145, 121, 161, 237 - 312	2467	2481
<b>L</b>	268, 253, 145, 121, 161, 237 - 312	2490	2525

Die Massenspektren und Retentionsdaten von vier bedeutsamen, nicht identifizierten Substanzen sind in Tab. 15 wiedergegeben. Auch diese Verbindungen finden sich besonders im SFE-Extrakt (Kieselgelfraktion 4) und allenfalls in Spuren im Destillat (Summe H und J: SFE 80 mg/kg, LSM 40 mg/kg, SDE <10 mg/kg Anisfrucht; Summe K und L: SFE 120 mg/kg, LSM 75 mg/kg, SDE 0 mg/kg Anisfrucht).

## 2.2 Kümmel

Die Früchte von *Carum Carvi* L. werden unter Kühlung innerhalb von 30 Sekunden zerkleinert und sofort extrahiert bzw. destilliert (Methoden s. Kap. E 1.1 bis 1.4). Die qualitativen und quantitativen Ergebnisse einer kalten Lösungsmittlextraktion mit Diethylether (LSM), einer Wasserdampfdestillation bei gleichzeitiger Extraktion (SDE) und einer Extraktion mit überkritischem Kohlenstoffdioxid (SFE) sind in der Tab.16 aufgelistet. Die quantitative Bestimmung von 40 Hauptkomponenten (Gehalt > 5mg/kg Kümmelfrucht) ermöglicht eine Gehaltsanalyse des jeweiligen Extraktes in der Größenordnung von 95,8 bis 99,7 % der mittels HRGC erfassbaren Inhaltsstoffe. Wegen der hohen Gehalte an Limonen und Carvon musste auf eine exakte quantitative Bestimmung der Minorbestandteile (Gehalt < 5 mg/kg Kümmelfrucht) verzichtet werden (s. Tab. 16), um eine Überbeladung des chromatographischen Trennsystemes zu vermeiden.

**Tabelle 16:** Aromastoffzusammensetzung von Kümmelextrakt und -destillaten in mg/kg Kümmelfrucht (Es werden nur Hauptkomponenten ab einer Konzentration von 5 mg /kg Kümmelfrucht erfasst; + = Gehalt < 5mg/kg)

Nr.	Monoterpene	R <sub>T</sub> TS2	LSM	SFE	SDE	Zitat
1	α-Pinen	945	12	15	12	[99-102]
2	Sabinen	978	23	27	22	[99-102]
3	β-Myrcen	994	135	159	132	[99-102]
4	Limonen	1042	15289	17654	15022	[99-102]
5	trans-β-Ocimen	1054	18	20	19	[102]
6	γ-Terpinen	1074	6	6	5	[99,100]
7	Linalool	1104	17	17	19	[99,100,102]
8	trans-2,8-p-Menthadien-1-ol	1129	11	15	14	[103]
9	Limonenepoxid	1142	12	12	12	[100]
10	α-Pinenoxid	1144	11	14	16	[77]
11	trans-Dihydrocarvon	1197	30	31	34	[99,100,102,104]
12	cis-Dihydrocarvon	1205	11	11	12	[99,100,102,104]
13	α-Terpineol	1214	22	23	22	[100]
14	trans-Carveol	1226	12	12	13	[99,100,104]
15	Isodihydrocarveol	1229	23	22	23	[99,100,102,104]
16	cis-Carveol	1236	30	29	31	[99,100,104]
17	Carvon	1258	16212	18154	18994	[99-102]
18	trans-Citral (Geranial)	1278	18	19	18	[103]
19	Perillaldehyd	1303	62	67	72	[102]
20	trans-Carvylacetat	1333	6	8	6	[105]
21	Geranylacetat	1385	5	3	8	[77]
	<b>Sesquiterpene</b>	<b>R<sub>T</sub>TS2</b>	<b>LSM</b>	<b>SFE</b>	<b>SDE</b>	<b>Zitat</b>
22	β-Caryophyllen	1431	49	50	41	[102]

23	$\gamma$ -Himachalen	1489	8	7	7	[77]
24	Germacren D	1494	8	7	5	[100]
25	Salvial-4(14)-en-1-on	1610	5	5	5	[77]
	<b>Sonstige</b>	<b>R<sub>T</sub>TS2</b>	<b>LSM</b>	<b>SFE</b>	<b>SDE</b>	<b>Zitat</b>
26	Oktadecan	1800	10	5	8	
27	Phytadien	1836	5	4	+	
28	Palmitinsäure	1977	16	23	16	[106]
29	Linolsäuremethylester	2093	5	5	-	[106]
30	Petroselin-/Ölsäuremethylester	2105	15	14	4	[106]
31	Linolsäure und Petroselin-/Ölsäure	2176	525	329	-	[106]
32	Stearinsäure	2204	55	29	-	[106]
33	Petroselin-/Ölsäureethylester	2208	45	11	-	[106]
	<b>Nicht identifizierte Verbindungen</b>	<b>R<sub>T</sub>TS2</b>	<b>LSM</b>	<b>SFE</b>	<b>SDE</b>	<b>Zitat</b>
34	93-108,77,150	1171	33	37	29	
35	55-67,82,96,110- 222,236	1672	8	+	-	
36	55-41,43,91,79,123,69-191,234	1849	7	5	4	
37	55-41,43,57,81,129-264,282,296	2482	37	25	-	
38	136,137-81,93,107,121,196,209,239...	2759	14	21	-	
39	69-81,41,95,109,121,136-410	2813	33	33	-	
40	81-137,95,67,55,41-280	2937	73	69	-	
	<b>Summe der quantifizierten Hauptkomponenten in mg/kg Kümmelfrucht</b>		<b>32925</b>	<b>36997</b>	<b>34622</b>	
	<b>Summe der quantifizierten Verbindungen in %</b>		<b>95,8</b>	<b>97,8</b>	<b>99,7</b>	

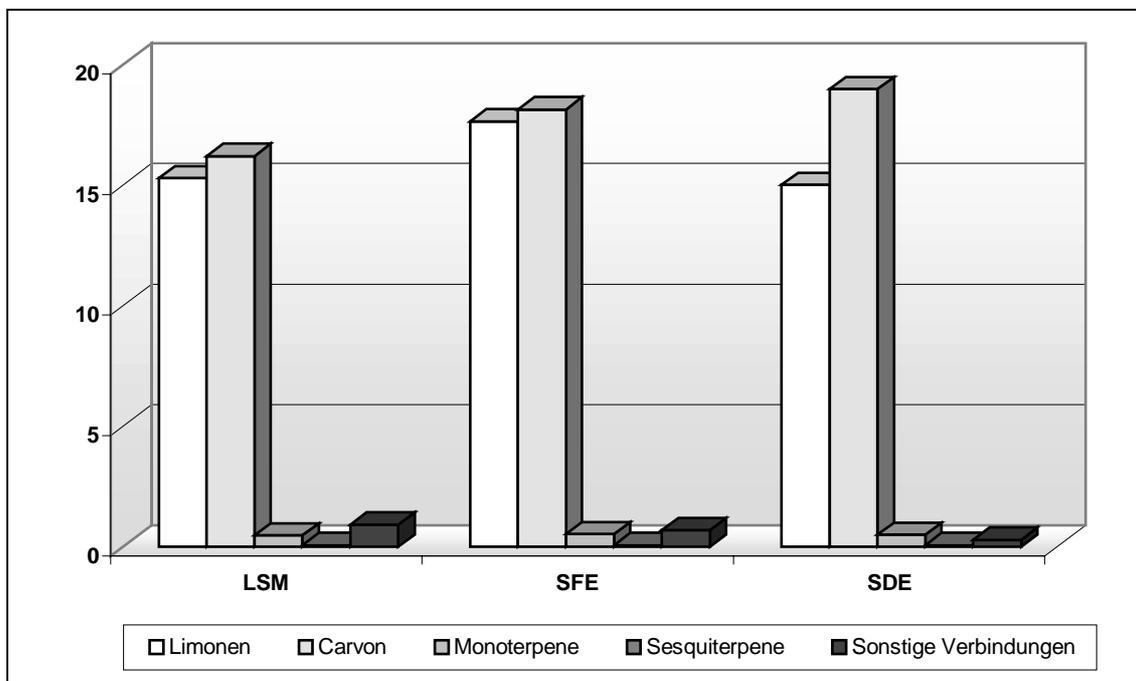


Abbildung 28: Summarische Darstellung der gaschromatographisch erfassbaren Inhaltsstoffe in g/kg Kümmelfrüchten in Abhängigkeit vom Extraktionsverfahren

Der Gehalt an gaschromatographisch bestimmbareren Komponenten beträgt in Abhängigkeit vom Extraktionsverfahren 32,9 (LSM), 34,6 (SDE) und 37,0 (SFE) g/kg Kümmelfrucht (s. Abb. 28) und stimmt gut mit dem nach DAB durch Wasserdampfdestillation bestimmten Gehalt an etherischem Öl von 3,7 % überein.

Die beiden Hauptkomponenten (S)-(+)-Carvon und (R)-(+)-Limonen liegen annähernd zu gleichen Teilen vor (1,05:1 bzw. 48 % zu 46 % bei LSM und SFE) und machen zusammen etwa 94 - 95 % der quantifizierten Inhaltsstoffe aus. Bei der SDE hingegen beträgt das Verhältnis Carvon/Limonen etwa 1,25:1, und es wird zugleich mit 19 g Carvon/kg Kümmelfrucht der höchste Carvon-Gehalt bestimmt.

Diese Konzentrationsverschiebung gegenüber den beiden anderen Extraktionsverfahren ist beschrieben und wird nicht nur auf Reifegrad und Zerkleinerungsgrad der Kümmelfrüchte zum Zeitpunkt der Destillation zurückgeführt [107], sondern auch auf das Verfahren Wasserdampfdestillation an sich [108]. Dabei soll das polare Carvon leichter und vollständiger extrahiert werden als das unpolare Limonen. Im vorliegenden Fall hingegen werden sowohl bei der Etherkaltextraktion (LSM) als auch bei der Destillation (SDE) annähernd gleich hohe Gehalte an Limonen (ca. 15,3 und 15,0 g / kg Kümmelfrucht) gefunden.

Die gefundenen Konzentrationsverhältnisse Carvon/Limonen liegen im Rahmen natürlicher Schwankungen von ca. 0,9:1 bis 1,84 : 1 [109] und haben bei kultiviertem Kümmel einen Durchschnittswert von ca. 1,15:1 [110] bzw. 1,05:1 [108]. Des Weiteren wurde gezeigt, dass das Carvon/Limonen-Verhältnis im Verlauf einer einjährigen Lagerung sich eher zugunsten des Carvongehaltes verändert, weil das vorliegende Limonen z.T. zu Carvon oxidiert [111] wird.

Daneben enthalten die Extrakte noch geringe Anteile an anderen Monoterpenen (1,4 % in allen Extrakten) und Sesquiterpenen (0,2 % in allen Extrakten). Ein größerer Unterschied in der Zusammensetzung besteht in den sonstigen Komponenten (LSM 2,8 %; SFE 1,9 %; SDE 0,1 %), bei denen es sich überwiegend um die schwerflüchtigen, länger-kettigen Fettsäuren Palmitinsäure, Petroselin- bzw. Ölsäure, Linolsäure und Stearinsäure sowie deren Methyl- und Ethylester handelt. Diese werden verfahrensbedingt bei der SDE in deutlich geringerem Ausmaß erfasst als bei den Extraktionsverfahren LSM und SFE.

Insgesamt wurden in den drei Extrakten mehr als 140 Substanzen detektiert (s. Kapitel G, Anhang) und etwa 100 anhand von Literaturdaten und Massenspektren identifiziert

und zugeordnet. Einige der nicht identifizierten Komponenten sind auch quantitativ bedeutsam (s. Tab. 16, Nr. 34 bis 40; LSM 0,7 %; SFE 0,5 %; SDE 0,1 %).

Im Bereich der Minorkomponenten (< 5mg/kg Kümmelfrucht) konnten folgenden Substanzen identifiziert werden, die in den Literaturstellen [99-112] noch nicht beschrieben worden sind (s. Tab. 17). Bis auf p-Menth-1-en-9-ol und Methylgeranoat sind die Komponenten in allen drei Anreicherungsverfahren LSM, SFE und SDE nachweisbar.

**Table 17:** *Identifizierte Minorkomponenten in Kümmelfrüchten*

Komponente	m/e	R <sub>T</sub> TS2	LSM	SFE	SDE
1,8-Cineol	43-81,71,108,111,154,139	1038	+	+	+
cis-β-Ocimen	93-92,91,77, 79-119,136	1045	+	+	+
Linalooloxid furanosid I	59-94,43,55,68,67,93,111	1084	+	+	+
trans-Sabinenhydrat	43-71,93,111,55,69,79,121,139	1085	+	+	+
α-Pinenoxid	43-94,79,108,67,81,93,41, ...123,137,152	1144	+	+	+
Carvonoxid	43-85,95,123,67,55,109 ... 166	1283	+	+	+
Thymol	135-107,79,150,77,91	1311	+	+	+
p-Menth-1-en-9-ol	94-67,79,107,121,136,154	1324	+	+	-
Perillalkohol	68-93,79,67,121,154	1325	+	+	+
Methylgeranoat	69-41,83,114,123,139,151,182	1332	+	+	-
δ-Element	121-93,41,91,105,161,107 ... 189, 204	1345	+	+	+
α-Longipinen	119 - 161,118,133,91	1353	+	+	+
Piperitenon	150-107,135,109,67,91	1362	+	+	+
Geranylacetat	41-43,69,68,67,93,80,121,136,196	1381	+	+	+
α-Copaen	105-91,95,119,161,204,107,93	1385	+	+	+
epi-Bicyclosesquiphellandren	161-105,79,41,119,81,91... 204	1443	+	+	+
α-Himachalen	93-91,105,79,109,41,67,119,189 ... 204	1448	+	+	+
β-Farnesen	69-41,93,133,120,161,204	1455	+	+	+
γ-Muurolen	91-161,81,41,105,77,79,119,67 ... 204	1465	+	+	+
γ-Decalacton	85-41,57,110,128 ...	1471	+	+	+
γ-Himachalen	93-119,94,189,204	1490	+	+	+
Bicyclogermacren	121-93,105,41,119,161,91,167, 204	1504	+	+	+
Selina-3,7(11)-dien	122-161,107,91...204	1535	+	+	+
Spathulenol	43-93,119,205,189 ... 220	1592	+	+	+

In der Tabelle 18 sind die fünf Isomerenpaare aufgeführt, welche ausschließlich im LSM- und SFE-Extrakt massenspektrometrisch nachweisbar sind. Insbesondere die Paare I bis III sind unter Betrachtung des Elutionsindex grundsätzlich der SDE zugänglich und könnten einen Hinweis auf thermolabile Komponenten in Kümmelfrüchten darstellen.

**Tabelle 18:** Nicht identifizierte Isomerenpaare in Kümmelfrüchten

Isomerenpaare	m/e	R <sub>T</sub> TS2	LSM	SFE	SDE
Ia	94-79,109,123,137,152	1083	+	+	-
Ib	94-79,109,123,137,152	1086	+	+	-
IIa	79-94,43,109,123,152	1088	+	+	-
IIb	79-94,43,109,123,152	1092	+	+	-
IIIa	109-108,82,54,91,137,152,168	1422	+	+	-
IIIb	109-108,82,54,91,137,152,168	1425	+	+	-
IVa	69-55,83,95,109,151,166...	1639	+	+	-
IVb	69-55,83,95,109,151,166...	1642	+	+	-
Va	81-137,95,67,55,41-280...	2884	+	+	-
Vb	81-137,95,67,55,41-280...	2937	+	+	-

Außer den in den Tabellen 16 bis 18 sowie im Kapitel F, Anhang 3 aufgeführten Komponenten wurden von anderen Autoren in Kümmelfrüchten noch Dihydrocuminaldehyd [112] und Myristicin [105] sowie die Verbindungen 2,4-Hexadienal [103], Furfural und Nonanal [100], 2- und 4-Methylbenzaldehyd und Methyl-3,7-dimethyl-2,6-octadienoat [103] identifiziert.

### 2.3 Koriander

Zur Beurteilung der Qualität von Extrakten und Destillaten von Korianderfrüchten (*Coriandrum sativum* L.) werden diese nach einem standardisierten Verfahren zerkleinert und auf unterschiedliche Weise extrahiert (Methoden s. Kap. E 1.1 bis 1.4). Die qualitativen und quantitativen Ergebnisse einer Lösungsmittlextraktion mit gekühltem Diethylether (LSM), einer Wasserdampfdestillation bei gleichzeitiger Extraktion (SDE) und einer Extraktion mit überkritischem Kohlenstoffdioxid (SFE) sind in der nachfolgenden Tabelle 19 nach Stoffgruppen geordnet aufgelistet.

Die quantitative Bestimmung von 34 Hauptkomponenten ermöglicht eine Gehaltsanalyse des jeweiligen Extraktes in der Größenordnung von 99,8 % der Inhaltsstoffe. Dabei erschwert der hohe Gehalt der Hauptkomponente Linalool die gaschromatographische Analyse. Zur Vermeidung einer Überbeladung des chromatographischen Trennsystems wurde auf eine quantitative Bestimmung der Minorbestandteile (Gehalt < 5 mg/kg Korianderfrucht) verzichtet.

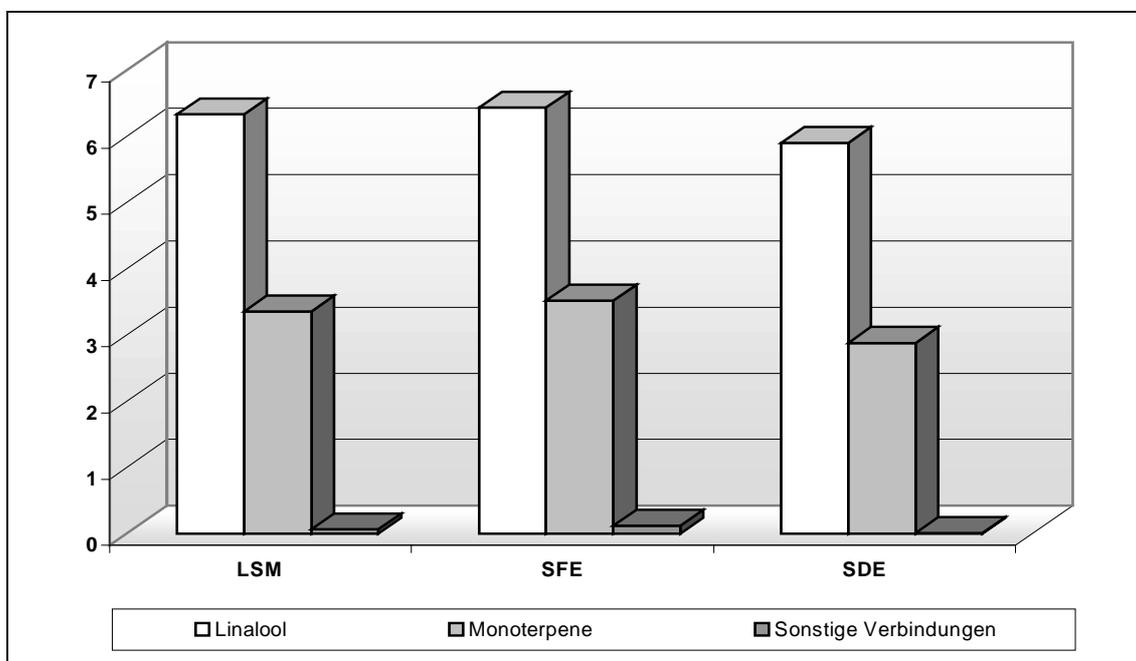
**Tabelle 19:** *Qualitative und quantitative Zusammensetzung von Korianderextrakten und -destillaten in mg/kg Korianderfrucht (Es werden nur Hauptkomponenten ab einer Konzentration von 5 mg/kg Korianderfrucht erfasst; + = Gehalt <5mg/kg)*

Nr.	Monoterpene	R <sub>1</sub> TS2	LSM	SFE	SDE	Zitat
1	α-Thujen	928	8	9	7	[113,114,116]
2	α-Pinen	945	808	844	675	[113-115]
3	Camphen	958	100	100	84	[113-115]
4	Sabinen	978	45	45	38	[113,115,116]
5	β-Pinen	982	62	63	51	[113-115]
6	β-Myrcen	994	110	110	90	[113-115]
7	α-Terpinen	1023	5	6	4	[116]
8	Limonen	1042	235	285	193	[113-115]
9	γ-Terpinen	1074	823	858	663	[113-115]
10	Linalooloxid, furanosid I	1082	4	5	13	[114-116]
11	trans-Sabinenhydrat	1085	8	8	7	
12	Terpinolen	1092	51	50	52	[114-116]
13	Linalool	1104	6333	6428	5902	[113-115]
14	Campher	1154	349	346	332	[113-115]
15	Citronellal	1163	6	6	6	
16	Borneol	1178	16	14	13	[113-115]
17	Terpinen-4-ol	1200	14	15	15	[114,116]
18	α-Terpineol	1214	24	26	25	[113,115,116]
19	Citronellol	1237	8	9	9	[113,115,116]
20	Carvon	1258	5	5	5	[116]
21	Geraniol	1268	221	236	218	[113,115,116]
22	trans-Citral (Geranial)	1278	7	10	7	[116]
23	Nerylacetat	1361	8	9	7	[116]
24	Geranylacetat	1381	307	325	250	[113-115]
	<b>Sesquiterpene</b>	<b>R<sub>1</sub>TS2</b>	<b>LSM</b>	<b>SFE</b>	<b>SDE</b>	<b>Zitat</b>
25	β-Caryophyllen	1431	8	11	7	[113,115,116]
	<b>Sonstige</b>	<b>R<sub>1</sub>TS2</b>	<b>LSM</b>	<b>SFE</b>	<b>SDE</b>	<b>Zitat</b>
26	6-Methyl-5-hepten-2-ol	999	5	5	5	[116]
27	p-Cymol	1037	127	135	113	[113,115]
28	p-Cymen-8-ol	1206	5	9	2	[116]
29	trans-Anethol	1296	4	9	3	[113,116]
30	Sedanolid	1736	5	6	4	
31	Palmitinsäure	1977	3	9	-	[117,118]
32	Linolsäure und Petroselin-/Ölsäure	2170	37	70	-	[117,118]
	<b>Nicht identifizierte Verbindungen</b>	<b>R<sub>1</sub>TS2</b>	<b>LSM</b>	<b>SFE</b>	<b>SDE</b>	<b>Zitat</b>
33	2 a	2493	16	11	-	
34	4 a	2710	12	35	-	
	<b>Summe der quantifizierten Verbindungen in %</b>		<b>99,8</b>	<b>99,8</b>	<b>99,9</b>	
	<b>Summe der quantifizierten Hauptkomponenten in mg/kg Korianderfrucht</b>		<b>9778</b>	<b>10112</b>	<b>8799</b>	

Mittels des im DAB vorgeschriebenen Verfahrens zur Gehaltsbestimmung von etherischem Öl in Korianderfrüchten wurden 0,8 % gefunden (s. Kap. E 7, Tab. 48). Dieser Gehalt ist etwas geringer als die Summe der gaschromatographisch bestimmbar und quantifizierbaren Komponenten, welche durch LSM (0,98 %), SFE (1,01 %) und SDE (0,88 %) aus Korianderfrüchten extrahiert wurden (s. Abb. 29).

Korianderfrüchte enthalten bis zu 1 % etherisches Öl, welches hauptsächlich aus Substanzen aus der Stoffklasse der Monoterpene besteht. Die Hauptkomponente ist (S)-(+)-Linalool mit einem Gehalt von 63 % (LSM), 65 % (SFE) und 67 (SDE) % des etherischen Öles. Diese sehr hohe Konzentration kommt nur vereinzelt vor [122] und dient deshalb als Qualitätskriterium (DAB 10). Lamparski und Klimes fanden 69 % [119], Lawrence sogar 70 % [120].

Weitere mengenmäßig dominierende Verbindungen sind  $\alpha$ -Pinen und  $\gamma$ -Terpinen mit je etwa 8 %, Campher mit 3,5 %, Geranylacetat mit 3%, Geraniol und Limonen mit etwa 2,5 % sowie p-Cymol,  $\beta$ -Myrcen und Camphen mit je ca. 1 %. Die Stoffklassen der Sesquiterpene sowie der Phenole und Aromaten haben mengenmäßig keinerlei Bedeutung [114,115,121,122].



**Abbildung 29:** *Summarische Darstellung der gaschromatographisch erfassbaren Inhaltsstoffe in g/kg Korianderfrüchten in Abhängigkeit vom Extraktionsverfahren*

Pino et al. [122] untersuchten Korianderfrüchte aus verschiedenen Anbaugebieten (Russland, Italien, Albanien und Indien) und zeigten u.a. die herkunftsabhängige Bandbreite des Gehaltes an Aromastoffen auf.

**Tabelle 20:** Vergleich von Korianderprovenienzen

Substanz	Pino et al. (Destillat in %)	bulgarischer Koriander (Destillat in %)
$\alpha$ -Pinen	3,1 - 5,4	7,6
p-Cymol	3,9 - 14,7	1,3
Linalool	49,2 - 57,4	66,7
Campher	4,8 - 9,6	3,8
$\alpha$ -Terpineol	0,5 - 2,9	0,3

In den untersuchten Korianderfrüchten bulgarischer Herkunft sind nur sehr geringe Mengen an  $\alpha$ -Terpineol, p-Cymol und Campher enthalten, hingegen ein auffällig hoher Gehalt an  $\alpha$ -Pinen, der bisher noch nicht in dieser Höhe gefunden wurde.

Daneben enthalten alle drei Extrakte noch geringe Anteile an Monoterpenen (Citronellal und trans-Sabinenhydrat), die bisher noch nicht beschrieben und quantifiziert worden sind. Des Weiteren konnte das bisher nur in anderen Apiaceen-Früchten beschriebene Sedanolid nachgewiesen werden.

Insgesamt wurden in den drei Extrakten mehr als 140 Substanzen detektiert (s. Kapitel F, Anhang) und etwa 100 anhand von Literaturdaten und Massenspektren identifiziert und zugeordnet. Auch von den nicht identifizierten Komponenten sind mindestens zwei mengenmäßig von Bedeutung (s. Tab. 19, Nr. 33 und 34). Ihr Vorkommen konnte nur im LSM- und SFE-Extrakt, nicht jedoch im Destillat nachgewiesen werden.

Im Bereich der Minorkomponenten (< 5mg/kg Korianderfrucht; <0,05% im etherischen Öl) konnten die folgenden Substanzen (s. Tab. 21) identifiziert werden, die in den Literaturstellen [113-123] in Zusammenhang mit Korianderfrüchten noch nicht beschrieben worden sind.

Dabei treten hinsichtlich der Nachweisbarkeit neuer Komponenten keinerlei Unterschiede zwischen den beiden Extraktionsverfahren LSM und SFE auf. Im Vergleich zur SDE fehlen jedoch Komponenten (s. grau unterlegte Felder in Tab. 21).

Tabelle 21: Identifizierte Minorkomponenten in Korianderfrüchten

Komponente	m/e	R <sub>f</sub> TS2	LSM	SFE	SDE
2-Pentanon	43-86,71,58	652	+	+	+
2-Methylbuttersäuremethylester	57-88,74,85,59,101	765	+	+	+
Heptenal	41-55,83,57,43,57,70,112	966	+	+	-
6-Methyl-5-hepten-2-on	43-55,108,41,69,93,83,126	990	+	+	+
Benzylalkohol	79-77,108,107	1049	+	+	-
Phenylethanol	91-92,122	1136	+	+	-
p-Menth-2-en-1-ol	43-55,69,83,98,111,139,154	1145	+	+	+
p-Menth-3-en-1-ol	81-43,136,121,96,55,58,107,154	1147	+	+	-
Pinocarvon	53-81,41,108,107,79,135,43,150	1176	+	+	+
Pinocampheol	43-55,69,84,95,107,121,137,152	1198	+	+	+
Lavandulol	41-69,93,81,111,123,137,152	1199	+	+	+
Myrtenol	79-91,108,77,109,107...121,152	1215	+	+	+
Methylsalicylat	120-152,92	1219	+	+	+
trans-Piperitol	84-83,41,139,154	1224	+	+	+
Verbenon	91-107,79,135,67,150	1225	+	+	+
Piperiton	82-110,95,137,152	1269	+	+	+
(Z,Z)-2,4-Decadienal	81-41,67,55,95,109,152	1330	+	+	-
Pinocarvylacetat	91-43,92,93,119,79,134,152	1334	+	+	+
Citronellylacetat	43-41,67,81,95,69,55,123,109,138	1352	+	+	+
Vanillin	152-151,81,51,123,109	1407	+	+	+
Pentadecan	57-31,71,85,99...212	1500	+	+	+
Nerolidol-Isomeres	69-55,93,79,107...119,136,161,222	1564	+	+	-
trans-Nerolidol	69-41,93,43,107...161,189,204,222	1572	+	+	+
Hexadecan	57-43,71,85,99...226	1600	+	+	+
Carotol	161-69,41,119,204...	1619	+	+	+
Heptadecanol	69-68,55,83,97,111,125...238,252	1767	+	+	-
Linolsäuremethylester	67-81,55,95,294	2093	+	+	-
5-Hexadecanolid	99-55,43,71,236,254	2153	+	+	-

Insbesondere im hochsiedenden Bereich (s. Tab. 22) können, bedingt durch das Anreicherungsverfahren, nur noch in den Extrakten LSM und SFE koriandertypische Komponentenpaare nachgewiesen werden.

Tabelle 22: Nicht identifizierte hochsiedende Komponentenpaare in Korianderextrakten

Komponentenpaare	m/e	R <sub>f</sub> TS2	LSM	SFE	SDE
1 a	95-110,69,43,55,81,130 ...	2478	+	+	-
2 a	82-96,67,236...166,180,208,222,404	2493	+	+	-
2 b	82-96,67,236...166,180,208,222,404	2521	+		-
3 a	201-57,43,97,83,168... 368	2575	+	+	-
1 b	95-110,69,43,55,81,130 ...	2636	+	+	-
4 a	173-55,160,229...285,339,382,406	2710	+	+	-
3 b	201-57,43,83,97,133,168...229,396	2768	+	+	-
2 c	82-96,67,236...166,180,208,222,404	2839	+		-
2 d	82-96,67,236...166,180,208,222,404	2846	+		-
4 b	173-55,160,229...285,339,382,406	2947	+	+	-

Neben den in den Tabellen 19 und 21 und Kapitel F, Anhang 3 aufgeführten identifizierten Inhaltsstoffen wurden bislang in Korianderfrüchten noch die Monoterpenverbindungen  $\alpha$ - und  $\gamma$ -Campholensäure,  $\alpha$ -Terpinylacetat [123], Linalylacetat [120], m-Cymol [114], cis-Dihydrocarvon und  $\beta$ -Citronellol [116], des Weiteren die Sesquiterpenverbindungen Copaen, Elemol [113], Bicyclogermacren [115] und  $\beta$ -Caryophyllenoxid [116] sowie die aromatischen Phenylpropanverbindungen Methylchavicol, Myristicin, Safrol [113], Dillapiol [115] und Eugenol [116] gefunden. Darüber hinaus berichten Lamparski und Klimes [119] über die Anwesenheit heterozyklischer Spurenkomponenten und deren Bedeutung für das Aroma von Koriander.

## 2.4 Kreuzkümmel

Mittels der in Kap. E 1.1 bis 1.4 beschriebenen Methoden kalter Lösungsmittlextraktion mit Diethylether (LSM), simultaner Destillation-Extraktion (SDE) und Extraktion mit überkritischem Kohlendioxid (SFE) sind überwiegend flüchtige Verbindungen aus den fein zerkleinerten bulgarischen Cuminfrüchten (*Cuminum cyminum* L.) isoliert worden. In den untersuchten Extrakten konnten mehr als 250 verschiedene Verbindungen nachgewiesen werden, davon wurden etwa 150 identifiziert.

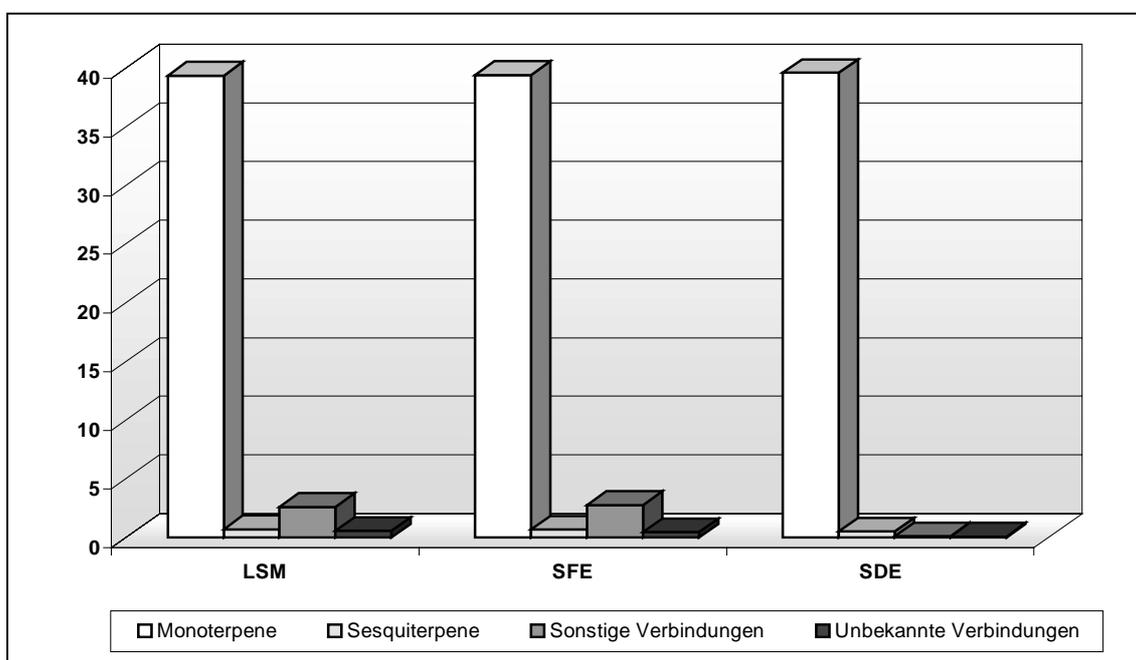
Die quantitativ wesentlichen, mittels HRGC erfassbaren Komponenten mit einem Gehalt von mehr als 20 mg/kg Cuminfrucht sind in der nachfolgenden Tabelle aufgelistet. Auf die exakte Bestimmung von Minorbestandteilen musste wegen der Überladung des chromatographischen Trennsystems verzichtet werden.

**Tabelle 23:** *Qualitative und quantitative Zusammensetzung von Cuminextrakten und -destillaten in mg/kg Cuminfrucht (Es werden nur Hauptkomponenten ab einer Konzentration von 20 mg /kg Cuminfrucht erfasst; + = Gehalt < 20 mg/kg)*

Nr.	Monoterpene	R <sub>T</sub> TS3	LSM	SFE	SDE	Zitat
1	$\alpha$ -Thujen	939	117	105	120	[124]
2	$\alpha$ -Pinen	951	342	325	348	[124-127]
3	Sabinen	987	261	285	194	[125-127]
4	Myrcen	992	350	315	359	[125-127]
5	$\beta$ -Pinen	997	6199	6153	6467	[124,125,127]
6	$\alpha$ -Phellandren	1022	55	25	66	[126,127]
7	$\alpha$ -Terpinen	1031	18	8	33	[125-127]
8	para-Cymol	1038	3052	3347	3321	[124-127]

9	Limonen	1044	180	190	60	[125-127]
10	$\beta$ -Phellandren	1050	39	44	40	[125-127]
11	$\gamma$ -Terpinen	1074	6639	6723	6696	[124-127]
12	trans-Sabinenhydrat	1085	18	23	18	[125-127]
13	Linalool	1104	28	33	24	[125-127]
14	cis-Sabinenhydrat	1116	28	33	24	[125-127]
15	trans-Pinocarveol	1166	29	34	31	
16	Terpinen-4-ol	1197	9	11	28	[125-127]
17	para-Menth-3-en-7-al	1212	111	178	121	[125-127]
18	Myrtenol	1219	20	21	22	
19	Cuminaldehyd	1263	4974	5979	5390	[124-127]
20	p-Cymen-7-ol (Cuminol)	1310	280	456	462	[124-127]
21	p-Mentha-1,4-dien-7-al	1314	6787	5756	6319	[125-127]
22	p-Mentha-1,4-dien-7-ol	1349	60	72	60	[125-127]
	<b>Sesquiterpene</b>	<b>R<sub>T</sub>TS3</b>	<b>LSM</b>	<b>SFE</b>	<b>SDE</b>	<b>Zitat</b>
23	Daucen	1406	56	59	46	[127]
24	$\beta$ -Cubeben	1416	25	29	5	
25	$\beta$ -Caryophyllen	1453	65	58	30	[124,127]
26	E- $\beta$ -Farnesen	1465	95	100	76	[124-126]
27	$\gamma$ -Muurolen	1501	33	28	28	
28	Germacren D	1512	30	27	30	
29	$\beta$ -Bisabolen	1528	27	36	22	[127]
30	Carotol	1640	53	53	49	[124]
	<b>Sonstige Verbindungen</b>	<b>R<sub>T</sub>TS3</b>	<b>LSM</b>	<b>SFE</b>	<b>SDE</b>	<b>Zitat</b>
31	Hexansäure	963	5	12	49	
32	Palmitinsäure	1962	42	92	2	[128]
33	Linolsäure	2193	120	214	0	[117,118,128]
34	Petroselinensäure	2197	419	511	0	[117,118,128]
35	Crispanon	2320	1283	1178	0	[129]
	<b>Nicht identifizierte Verbindungen</b>	<b>R<sub>T</sub>TS3</b>	<b>LSM</b>	<b>SFE</b>	<b>SDE</b>	<b>Zitat</b>
36	43-67,81,109,119-137,152	1180	34	29	36	
37	43-67,81,109,119-137,152	1184	37	32	40	
38	41-43,69,97,125,139,168	1371	54	53	5	
39	136-121,204	1565	23	20	5	
40	119-121,136,135-191,234	1796	11	9	32	
41	218-41,55,110,175	1863	34	34	24	
42	83,55-43,119-318	2311	23	29	0	
43	I - 83-55,290	2551	24	16	0	
44	II - 83-55,290	2559	37	22	0	
45	83,55-157,204-230,330	2755	144	96	0	
46	83,55-213,228-328	2815	109	96	0	
	<b>Summe der quantifizierten Hauptkomponenten in mg/kg Cuminfrucht</b>		<b>32379</b>	<b>32949</b>	<b>30682</b>	
	<b>Summe der quantifizierten Komponenten in %</b>		<b>98,1</b>	<b>98,0</b>	<b>98,6</b>	

In den Extrakten wurden 46 Komponenten gaschromatographisch bestimmt, über den Standard Methyldecanoat quantifiziert und ermöglichten so die qualitative und quantitative Zuordnung von ca. 98 % des gaschromatographisch bestimmbareren Anteiles der Extrakte. Die Summe aller Komponenten schwankt zwischen 30,7 und 32,9 g/kg Cuminfrucht und korreliert gut mit dem mittels Wasserdampfdestillation bestimmten Gehalt an etherischem Öl von 3,1 %. Die Komponente Hexansäure, die Monoterpene trans-Pinocarveol und Myrtenol sowie die Sesquiterpene  $\beta$ -Cubeben,  $\gamma$ -Muurole und Germacren D sind bisher in der Literatur in Zusammenhang mit Cuminfrüchten noch nicht beschrieben worden.



**Abbildung 30:** Summarische Darstellung der gaschromatographisch erfassbaren Inhaltsstoffe in g/kg Cuminfrüchten in Abhängigkeit vom Extraktionsverfahren

Die Extrakte aus Cuminfrüchten enthalten überwiegend Monoterpene (85 % bei LSM und SFE, 92 % bei SDE). Die fünf mengenmäßig dominierenden Komponenten in allen drei Extrakten sind  $\beta$ -Pinen, p-Cymol,  $\gamma$ -Terpinen, Cuminaldehyd und p-Mentha-1,4-dien-7-al. Alle fünf Substanzen gehören zur Fraktion der Monoterpene und machen dort mehr als 92 % aus. Dabei haben die Extraktionsverfahren keinen Einfluss auf das Verhältnis der Monoterpenkohlenwasserstoffe ( $\beta$ -Pinen, p-Cymol und  $\gamma$ -Terpenen) und der sauerstoffhaltigen Monoterpene (Cuminaldehyd und p-Mentha-1,4-dien-7-al) zueinander: 1,35:1 (LSM), 1,38:1 (SFE) und 1,41:1 (SDE). Die in der Literatur beschriebene annähernde Zusammensetzung des etherischen Öles verschiedener Cuminprovenienzen

[130] mit ca. 53% Monoterpenkohlenwasserstoffen, 3 % Sesquiterpenkohlenwasserstoffen und ca. 43 % sauerstoffhaltigen Komponenten kann auch bei dem untersuchten bulgarischen Cumin bestätigt werden.

Die Extrakte unterscheiden sich insbesondere bei den sonstigen Verbindungen: die drei Fettsäuren Palmitin-, Linol- und Petroselin säure sind aufgrund ihrer Flüchtigkeit im Destillat kaum vertreten, in den Extrakten jedoch mit 1,8 % (LSM) und 2,5 % (SFE) quantifizierbar. Weiterhin ist nur in den Extrakten die Komponente Crispanon (sowie im Spurenbereich die zugehörige Grundstruktur Crispan) nachweisbar [129] und mengenmäßig bedeutsam (3,6 - 4,0 %). Neben den o.a. Hauptkomponenten konnten nach Fraktionierung des Cuminhochdruckextraktes an Kieselgelsäulen (Methode s. Kap. E 1.6) und HRGS-MS 49 weitere, in Tabelle 24 aufgelistete Minorkomponenten (Gehalt < 20 mg/kg Cuminfrucht) identifiziert werden, die bisher in der Literatur noch nicht als Inhaltsstoffe von Cuminfrüchten genannt worden sind.

**Tabelle 24:** Identifizierte Minorkomponenten im Hochdruckextrakt von Cuminfrüchten  
(KG: Kieselgelfraktion; + = <10 ppm; ++ = 10-20 ppm)

	Monoterpen-Kohlenwasserstoffe	KG	m/e	R <sub>T</sub> TS3
1	2-Bornen	F1, +	93,121,108,136	920
2	m-Mentha-6,3(8)-dien	F1, +	93,136,121	1101
3	Perillen	F1, +	69,81-150	1107
	Sauerstoffhaltige Monoterpene	KG	m/e	R <sub>T</sub> TS3
4	Dehydro-1,8-Cineol	F2, +	109,43-152	1004
5	Linalooloxid 1, furanosid	F4, +	59,94,93-68	1086
6	Linalooloxid 2, furanosid	F4, +	59,94-68	1098
7	p-Menth-2-en-1-ol 1 (trans)	F1-4, +	43-55,69,83,98,111,139-154	1141
8	p-Menth-3-en-1-ol	F4, +	81,43-136,121,96,55,58,107-154	1152
9	p-Menth-2-en-1-ol 2 (cis)	F1-4, +	43-139-69,81,93,111-154	1159
10	trans - Pinocarveol	F2-4, +	41,55,92,93,70-109,134-152	1166
11	Sabinaketon	F4, +	81-95,96,41,67,55-138	1179
12	Pinocarvon	F3, +	108,81,53-150	1185
13	Borneol	F1-4, +	95-110	1189
14	Limonen-4-ol	F4, +	69,84,43,111	1195
15	p-Cymen-8-ol	F4, +	43-135,150	1200
16	Piperitol 1	F4, +	84-139,154	1218
17	Myrtenol	F1,+; F4,+	79,91,108-152	1219
18	β-Phellandren-6-ol	F1,+; F4,++	92,91-81,79,109,134-152	1225
19	Piperitol 2	F1, F4, +	84-139,154	1227
20	Carvotanacetone	F3, +	82-152,54,109	1274
21	Perillalkohol	F4, +	79,68,67,93,121,135	1320
22	Ascaridoldiepoxid B	F1-F3, +	43-97-71,79,55,107,60,125-168	1330
23	Piperitylacetat	F1-F3, +	121,84,93,43,136,154-196	1352
24	Methyl-Cuminoat 1	F2-F3, +	163-119,91,147-178	1355

25	Nerylacetat	F1-F2, +	69,41,43,93,68	1369
26	Methyl-Cuminoat 2	F1-F2, +	163-119,91,147-178	1393
27	Hydroxymenhenon 1	F4, +	98,70,69,126,111-168	1434
28	Hydroxymenhenon 2	F4, ++	98,111,70,69,126-168	1440
29	6-Hydroxy-p-menth-1-en-3-on	F4, +	98,126,69,70,124-138	1451
30	Geranylacetone	F3, +	43,69,107,125,136-151,194	1462
	<b>Sesquiterpen-Kohlenwasserstoffe</b>	<b>KG</b>	<b>m/e</b>	<b>R<sub>f</sub>TS3</b>
31	$\alpha$ -Cubeben	F1, +	161,119-105-134,204,91	1373
32	$\beta$ -Cubeben	F1, +	161-105,119,91,93,120,204	1416
33	cis- $\alpha$ -Bergamoten	F1, +	93,119-204	1438
34	$\alpha$ -Humulen	F1, +	93-80,147,121-204	1490
35	$\alpha$ -Zingiberen	F1, +	119,41,91-204	1512
36	$\beta$ -Sesquiphellandren	F1, ++	69,41,93,161,120-204	1545
37	$\delta$ -Cadinen	F1, +	161,119,105,134-204	1547
38	trans- $\gamma$ -Bisabolen	F1, +	93,107-135,204	1554
	<b>Sauerstoffhaltige Sesquiterpene</b>	<b>KG</b>	<b>m/e</b>	<b>R<sub>f</sub>TS3</b>
39	trans-Nerolidol	F2-F4, +	69-41,93,43-107-220?	1575
40	Spathulenol	F4, +	43,119,91,162-220	1615
41	Humulen-1,2-epoxid	F3, +	43-109,67,138-96,220	1652
	<b>Phenole und Aromaten</b>	<b>KG</b>	<b>m/e</b>	<b>R<sub>f</sub>TS3</b>
42	Phenol	F4, +	94-66	980
43	Benzylalkohol	F4, +	79,108,107,77	1049
44	2-Hydroxybenzaldehyd	F2-F4, +	122,121-65	1064
45	Kresol	F2, F4, +	107-108	1079
46	Methylsalicylat	F1, +	120,92,152,121	1216
47	Thymoquinon	F4, +	164-43,93,121,77,108,136,149	1269
48	Vanillin	F4, +	151-152	1421
49	Myristicin	F1-F3, +	192-91,119	1544

Weitere, bereits in der Literatur [125,131] beschriebene Substanzen des etherischen Öles von Cuminfrüchten konnten in den bulgarischen Cuminfrüchten nicht nachgewiesen werden. Dazu gehören Farnesol, Methyl- und Benzylcinnamat, Bornylacetat, Anisaldehyd und Carveol, deren Vorkommen in Cuminöl von Lawrence [132] kritisch bewertet wird. Das Vorkommen der Komponenten Isocaryophyllen, Carvacrol und Thymol [131] kann genauso wenig bestätigt werden wie das von  $\beta$ -Elemen und  $\alpha$ -p-Dimethylstyren [127].

Auffällig in den Cuminextrakten sind die in Tabelle 25 zusammengefassten Komponenten im höher siedenden Bereich ( $K_1 > 1700$ ) mit den gemeinsamen Massenfragmenten 83 und 55, bei denen es sich um Tiglinsäurederivate handeln könnte. Sie liegen ausschließlich in den LSM- und SFE-Extrakten vor und eluieren nach Kie-

selgelfraktionierung überwiegend in der 4. Fraktion, d.h. es handelt sich um eher polare Komponenten.

**Tabelle 25:** Höher siedende Komponenten in Cuminextrakten

Nr.	m/e	LSM	SFE	SDE	KG	R <sub>f</sub> TS3
1	83,55-93,133,169-236	+	+	-	F3	1717
2	83,55-93,119,202-302	+	+	-	F1	2128
3	83,55-159,132,202-320 (Crispan)	+	+	-	F1-3	2171
4	83,55-179,121-306	+	+	-	F4	2281
5	83,55-43,119,318	+	+	-	F4	2311
6	83,55-251,119,177-334 (Crispanon)	+	+	-	F4	2323
7	83,55-105,160,200,251,300	+	+	-	F4	2362
8	83,55-119,137,155,234,251-334	+	+	-	F4	2400
9	83,55-43, 175, 147, 218, 275-336	+	+	-	F4	2411
10	83,55-290	+	+	-	F4	2551
11	83,55-290	+	+	-	F4	2559
12	83,55-290	+	+	-	F4	2635
13	83,55-157,204-230,330	+	+	-	F4	2755
14	83,55-213,228-328	+	+	-	F4	2815

## 2.5 Kamille

Die echte Kamille (*Chamomilla recutita* L. - syn. *Matricaria chamomilla* L.) ist eine der gebräuchlichsten und bereits seit Jahrhunderten in der Volksmedizin verwendete Arzneipflanze. Zur Anwendung gelangen sowohl die Kamillenöle aus den blütenhaltigen Sprossspitzen (Häckselware) [133] als auch die aus den reinen Blütenköpfchen mit maximal 2 cm Blütenstiel (Pflückware - Qualitätsvorgaben der deutschen und europäischen Arzneibücher). Einen wesentlichen Einfluss auf Ausbeute und Qualität des etherischen Öles haben nicht nur die Anbau-, sondern auch die Erntebedingungen und zugehörige Trocknungstechnologie [134,135]. Die Arzneibücher schreiben getrocknete Kamillenblüten als Ausgangsware zur Gewinnung von Kamillenöl vor, obwohl frische Kamilleblüten eine bessere Qualität liefern [134].

Bei den untersuchten Kamillenblüten handelt es sich um ägyptische Ware nach Arzneibuchqualität, welche allen Anforderungen der Arzneibuchmonographie hinsichtlich Identität und Reinheit genügt. Die getrockneten hohlen Blütenköpfchen mit gelben Röhren- und weißen Zungenblüten werden fein zerkleinert und mittels der in Kapitel E 1.1 bis 1.5 beschriebenen Methoden kalter Lösungsmittlextraktion mit Diethylether

(LSM), Soxhletextraktion (SOX), simultaner Destillation und Extraktion (SDE) und durch Extraktion mit überkritischem Kohlenstoffdioxid (SFE) extrahiert bzw. destilliert. Es wurden in den Extrakten mehr als 200 verschiedene Verbindungen nachgewiesen, von denen mehr als 150 identifiziert werden konnten. Die quantitative Bestimmung von 63 Hauptkomponenten (Konzentration mehr als 5 mg/kg getrockneter Kamillenblüte) mittels HRGC ermöglicht eine Beurteilung der Zusammensetzung des flüchtigen Anteiles des Destillates und der Extrakte (s. Tab. 26).

Im ersten Teil der Tabelle (Verbindungen Nr. 1 bis 44) handelt es sich überwiegend um Terpene, aromatische Verbindungen und Dicycloether. Sie machen unabhängig vom Extraktionsverfahren zwischen 95 und 98% aller Komponenten aus, welche bis zur Palmitinsäure ( $K_f$  1970) von der GC-Säule eluieren und charakterisieren - von wenigen Ausnahmen im höhersiedenden Bereich (Teil II der Tabelle) abgesehen - das etherische Öl von Kamilleblüten. Die Summe der Verbindungen liegt, bezogen auf die getrockneten Kamillenblüten, zwischen 0,77 % und 0,83 %. Dieses Ergebnis stimmt gut überein mit dem mittels Wasserdampfdestillation ermittelten Gehalt von 0,7 % etherischem Öl. Die Arzneibuchvorgaben von mindestens 0,4 % (V/G) werden eingehalten.

**Tabelle 26:** Aromastoffzusammensetzung von Kamilleextrakten und -destillat in mg/kg getrockneter Kamilleblüte

*Teil I:* Es werden nur Hauptkomponenten ab einer Konzentration von 5 mg/kg getrockneter Kamilleblüte erfasst

(+ = Gehalt < 5mg/kg; bis  $K_f$  1970 - Palmitinsäure)

*Teil II:* wesentliche Hauptkomponenten im höhersiedenden Bereich (ab  $K_f$  1970 - Palmitinsäure)

**Teil I:** Hauptkomponenten bis zur Elution von Palmitinsäure ( $K_f$  1970)

Nr.	Komponente	RI	SOX	LSM	SFE	SDE	Zitat
1	Methyl-2-methylbutanoat	773	10	+	7	+	
2	Ethyl-2-methylbutanoat	843	42	32	32	14	[136-138]
3	Propyl-2-methylbutanoat	947	8	6	5	+	[136-138]
4	Hexansäure	963	26	21	28	27	[136]
5	Sabinen	987	5	5	+	+	[137]
6	6-Methyl-5-hepten-2-on	988	6	+	+	5	[137,139]
7	para-Cymol	1038	12	10	10	7	[136-138]
8	Limonen	1044	5	+	+	5	[137,140]
9	Phenylacetaldehyd	1058	0	0	0	7	
10	Artemisia-Keton	1066	38	29	25	23	[136,137]
11	Artemisia-Alkohol	1089	10	6	6	6	[136,137]
12	Borneol	1189	12	+	6	+	[140]
13	Terpinen-4-ol	1197	11	6	8	+	[137,139]
14	2-Hexenyl-3-methylbutanoat	1246	9	+	+	+	
15	69-41,83,98,123,151-166	1281	7	+	+	+	
16	Decansäure	1372	72	62	74	140	[138]
17	3-Methylbuttersäurebenzylester	1406	+	11	7	12	

18	E- $\beta$ -Farnesen	1464	713	646	751	349	[136,138,140]
19	Aromadendren	1496	+	5	5	7	
20	Germacren D	1512	12	34	41	24	[136-138,140]
21	$\beta$ -Selinen	1523	10	14	18	17	[137]
22	$\gamma$ -Cadinen	1547	16	75	7	25	[138]
23	Sesquiperillen	1586	13	+	10	22	
24	Spathulenol	1615	46	49	55	76	[139]
24	134-121,43,41,93-236	1652	+	+	+	26	
25	epi- $\alpha$ -Cadinol	1676	43	43	41	51	[139]
26	Bisabololoxid B	1686	339	258	158	233	[136-139]
27	94-125,43-236	1699	7	+	7	78	
28	181-196	1706	24	12	17	23	
29	$\alpha$ -Bisabolol	1708	94	135	98	130	[136-138,140]
30	43-99,194	1713	17	14	15	19	
31	Bisabolonoxid A	1718	327	260	284	335	[136-138]
32	Methyltetradecanoat	1727	59	103	41	45	
33	Herniarin	1770	189	23	190	+	[141]
34	Chamazulen	1779	+	+	+	157	[136-140]
35	Bisabololoxid A	1787	4161	3666	4000	3929	[136-140]
36	91-130,189,248	1840	22	13	16	24	
37	200-128,129,158,115	1882*	12	11	10	8	
38	101,43-143,151,193	1885	54	37	18	0	
39	cis-En-In-Dicycloether 200	1917	1623	1737	1757	1762	[136,139]
40	43-143, 125, 71, ...	1922*	65	43	32	0	
41	trans-En-In-Dicycloether 200	1926	150	230	214	113	[136,139]
42	Methylpalmitat	1929	17	16	26	11	
43	cis-En-In-Dicycloether 214	1951	17	10	14	9	[139]
44	trans-En-In-Dicycloether 214	1962	31	129	16	137	[139]
	<b>Summe der quantifizierten Hauptkomponenten in mg/kg Kamilleblüten</b>		<b>8344</b>	<b>7757</b>	<b>8057</b>	<b>7866</b>	
	<b>Summe der quantifizierten Komponenten in %</b>		<b>98,0</b>	<b>97,7</b>	<b>98,1</b>	<b>95,5</b>	

**Teil II: Hauptkomponenten ab der Elution von Palmitinsäure (K<sub>1</sub> 1970)**

Nr.	Komponente	RI	SOX	LSM	SFE	SDE	Zitat
45	Palmitinsäure	1970	381	88	303	138	[142]
46	Methylheptadecanoat	2030	39	22	25	5	
47	43-143,125,...	2039*	35	24	17	0	
48	43-143,125,...	2043*	33	26	19	0	
49	43-143,125...196	2101*	86	51	10	0	
50	Methylinoleat	2103	66	41	55	20	
51	Methylinolenat	2113	35	29	61	18	
52	Methylstearat	2129	15	10	15	37	
53	Linolensäure	2197	170	68	97	11	[142]
54	Linolsäure	2193	317	209	514	39	[142]
55	Stearinsäure	2199*	123	72	198	37	[142]
56	43-70,185,198,228	2252*	24	34	30	0	
57	Tricosan	2300	163	119	172	40	[139]
58	Methyleicosanoat	2326	96	103	101	0	[139]
59	Tetracosan	2400	54	39	76	12	[139,140]

<b>60</b>	Pentacosan	2500	754	512	806	130	[139]
<b>61</b>	Hexacosan	2600	37	228	60	0	[139]
<b>62</b>	Heptacosan	2700	523	310	550	40	[139]
<b>63</b>	Nonacosan	2900	468	251	525	0	[139]
	<b>Summe der quantifizierten Komponenten in mg/kg Kamilleblüten</b>		<b>3419</b>	<b>2236</b>	<b>3634</b>	<b>527</b>	
	<b>Summe der quantifizierten Komponenten in %</b>		<b>76,4</b>	<b>77,7</b>	<b>65,2</b>	<b>95,9</b>	
	<b>Gesamtsumme aller quantifizierten Komponenten in mg/kg Kamilleblüten</b>		<b>11777</b>	<b>10025</b>	<b>11710</b>	<b>8414</b>	
	<b>Gesamtsumme der quantifizierten Komponenten in %</b>		<b>91,0</b>	<b>92,4</b>	<b>86,2</b>	<b>99,8</b>	

\* - Die Indices wurden mit dem Trennsystem TS2 ermittelt.

Ab der Elution von Palmitinsäure (Verbindungen Nr. 45 bis 63 - Teil II der Tabelle) finden sich hingegen überwiegend Fettsäuren, Fettsäuremethylester und langkettige, verzweigte und unverzweigte Kohlenwasserstoffe. Diese Verbindungen tragen beim Destillat nur zu 0,5g/kg zur Gesamtgewichtsumme bei, beim Verfahren LSM bereits zu 2,2 g/kg und bei SFE und SOX sogar zu 3,6 g/kg bzw. 3,4 g/kg.

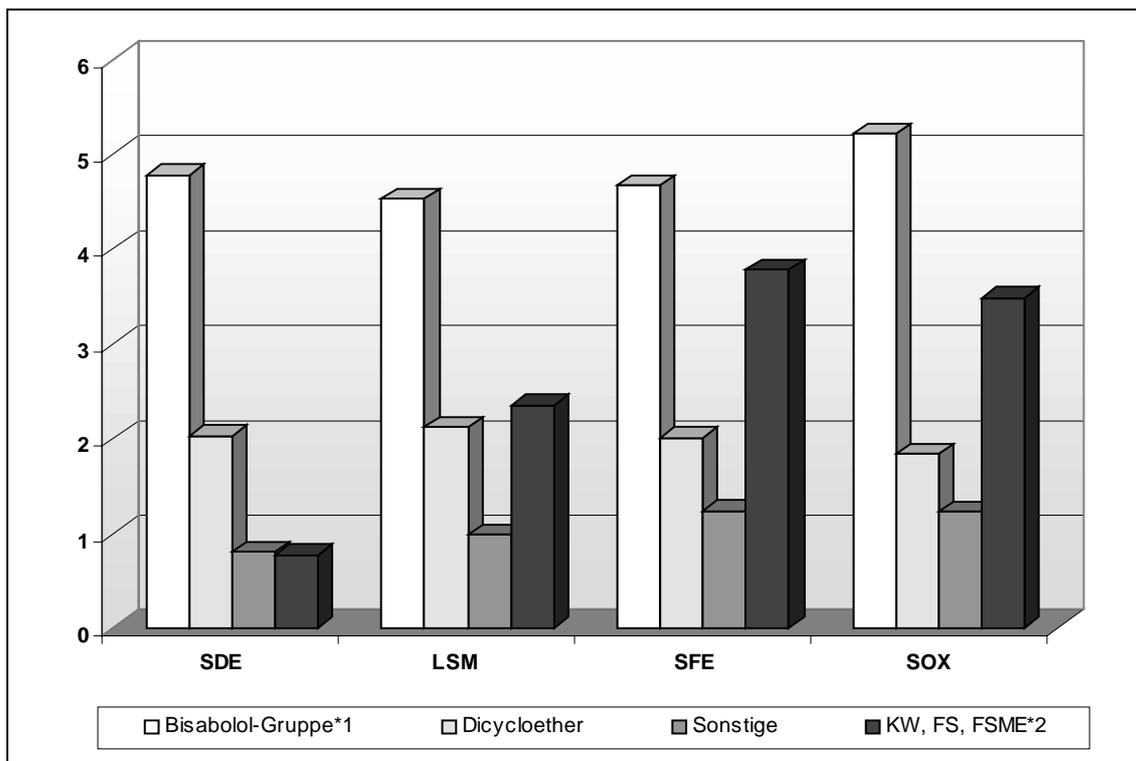
Beide Tabellenteile zusammen genommen zeigen die Unterschiede zwischen den Extraktionsverfahren auf:

Der gaschromatographisch bestimmbare Anteil aller Verbindungen bezogen auf das Trockengewicht der Kamillenblüten liegt bei den Verfahren SFE und SOX bei ca. 1,2 %, bei LSM noch bei 1,0 % und bei der SDE bei nur noch bei 0,8 %. Diese Konzentrationen entsprechen ebenfalls den in der Literatur genannten Schwankungsbreiten von 0,24 - 1,9 % [143], 0,65 - 1,15 % [144] bzw. 0,3 - 1,5 % (DAB).

Die prozentuale Abnahme des Gesamtextraktes von 1,2 % bei SFE und SOX auf nur noch 0,8 % bei der SDE hat ihre Ursache überwiegend in der Abnahme der Kohlenwasserstoffe, Fettsäuren und Fettsäuremethylester (s. Abb. 31).

Die mengenmäßig dominierende Hauptkomponente findet sich innerhalb der kamille-spezifischen Inhaltsstoffgruppe der Bisabolole. Das Bisabololoxid A macht bei der SDE 46,7 % aller Inhaltsstoffe aus, liegt bei den anderen Extraktionsverfahren immer noch zwischen 34 % und 37 % und führt somit zur Zuordnung der untersuchten Kamilleblüten zur chemischen Rasse vom Bisabololoxid-A-Typ (s. Tab. 27) [145]. Noch höhere

Gehalte an Bisabololoxid A (> 50 %) sind bereits bei ägyptischer Kamille gefunden worden [146,147].



**Abbildung 31:** Summarische Darstellung der gaschromatographisch erfassbaren Inhaltsstoffe in g/kg getrockneter Kamilleblüten in Abhängigkeit vom Extraktionsverfahren  
 \*1 - alle Bisabolole, Bisabolone und zugehöriger Oxide  
 \*2 - alle Kohlenwasserstoffe, Fettsäuren und Fettsäuremethylester ab einem Elutionsindex > 1970 (Palmitinsäure)

**Tabelle 27:** Konzentration der Bisabolole im Extrakt (Angabe in %)

Verbindung	SOX	SFE	LSM	SDE
Bisabololoxid A	35,3	34,2	36,6	46,7
Bisabololoxid B	2,9	1,3	2,6	2,8
α-Bisabolol	0,8	0,8	1,3	1,5
Bisabolonoxid A	2,8	2,4	2,6	4,0

Des Weiteren wurden unabhängig vom Extraktionsverfahren zwischen 1,8 und 2,2 g Spiroether (En-In-Dicycloether) / kg getrockneter Kamillenblüte gefunden, das entspricht einer Konzentration von 16 % bei der SOX, 17 % bei der SFE, 21 % bei der LSM und 24 % bei der SDE. Diese Gehalte sind für ägyptische Kamille sehr hoch.

Die SOX-, LSM- und SFE-Extrakte sind hellgelb gefärbt, lediglich das SDE-Destillat weist eine tiefblaue Farbe auf. Die Umwandlung des genuinen Proazulens und Sesquiterpenlactons Matricin über die Chamazulencarbonsäure zum blau gefärbten Chamazu-

len während der Wasserdampfdestillation ist bereits 1954 beschrieben [148,149]. Die Zersetzung des Matricins ist unvollständig, und vom gefundenen Chamazulengehalt ist kein Rückschluss auf den genuinen Matricingehalt möglich [150]. Chamazulenreiche tiefblaue Kamillenöle werden nach den Vorgaben der Arzneibücher als hochwertig angesehen. Im vorliegenden SDE-Destillat lag der Gehalt an Chamazulen bei nur 1,9 % und somit an der unteren Grenze der in der Literatur genannten Werte von 2 bis 4 % für ägyptische Kamille.

Die Gruppen der Monoterpene und oxidierten Monoterpene sind bei der Kamille von untergeordneter Bedeutung [135] und tragen zusammen weniger als 1 % zur Zusammensetzung der Extrakte bei. Die von anderen Autoren [136-139] ebenfalls in Spuren gefundenen Monoterpene  $\alpha$ -Pinen, Limonen, 1,8-Cineol, E- $\beta$ -Ocimen und  $\gamma$ -Terpinen, können bestätigt werden.  $\alpha$ -Terpineol, Linalool, Menthol und Pulegon wurden nicht gefunden, stattdessen können ebenfalls im Spurenbereich  $\alpha$ -Thujen,  $\alpha$ -Terpinen, Campher, Menthon, Lavandulol und iso-Menthon identifiziert werden.

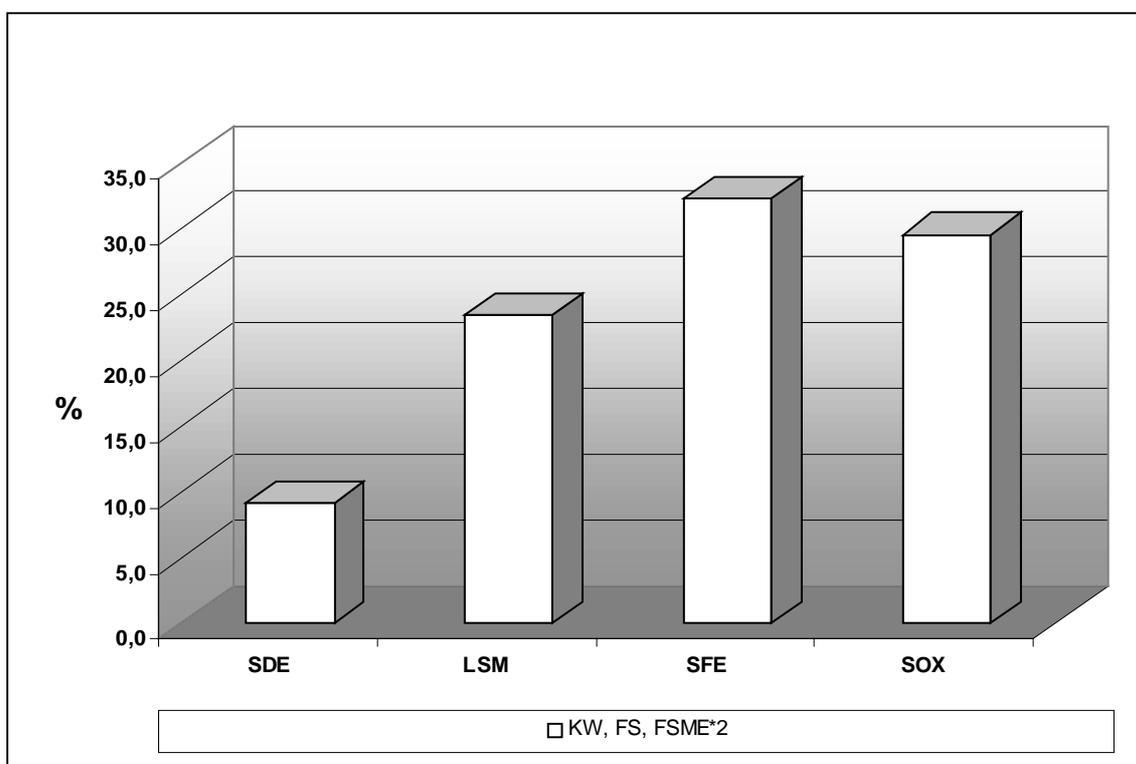
Innerhalb der Gruppe der Sesquiterpene dominiert das E- $\beta$ -Farnesen mit 4,2 % bei der SDE und 6,1 - 6,4 % in den anderen Extrakten vor den anderen Sesquiterpenkohlenwasserstoffen (Nr. 19 -22). Weiterhin werden im Spurenbereich  $\beta$ -Elemen,  $\beta$ -Caryophyllen,  $\delta$ -Cadinen,  $\alpha$ -Humulen, Bicyclogermacren und E-Nerolidol gefunden und bestätigt [136-139]. Zusätzlich werden  $\alpha$ -Longipinen,  $\alpha$ -Copaen, ar-Curcurmen,  $\gamma$ -Muurolen,  $\beta$ -Bisabolen und Calamenen identifiziert. Des Weiteren gelingt (nur in den Extrakten und nicht im Destillat) die Identifizierung der Sesquiterpenlacton-Verbindungen Achillin, „Dehydroachillin“ und Matricarin.

Die Gesamtheit der aufgeführten lipophilen Begleitstoffe am Gesamtextrakt ist beträchtlich und vom Extraktionsverfahren abhängig. Bei der SDE liegt dieser Anteil bereits bei 9 % und steigt über LSM (23 %) und SOX (30 %) bis auf 32 % bei der SFE an (s. Abb.32).

Auffällig in den Extrakten ist der hohe Gehalt an gesättigten Carbonsäuren. Allein die quantifizierten Fettsäuren (C6, C10, C16 und C18) machen beim LSM-Extrakt 2,4 %, bei der SDE 4,1 % und bei den SFE- und SOX-Extrakten sogar 5,1 % des Gesamtextraktes aus. Zusätzlich nachgewiesen wurden außerdem die Fettsäuren mit den Kettenlängen C3 - C5 und C8, C9, C12, C14 sowie C20, C22, C24 und C26. Die geradzahli-

gen Fettsäuren sind stärker vertreten als die ungeradzahligen. Verzweigte Carbonsäuren (Isobuttersäure, 2- und 3-Methylbuttersäure) sowie ungesättigte Carbonsäuren (2-Butensäure, Methyl-2-butensäure) sind genauso wie die ungesättigten längerkettigen Carbonsäuren (C16:1, C18:1, C18:2 und C18:3) wesentliche Inhaltsstoffe der Kamilleblüten. Zu jeder Carbonsäure kann der jeweilige Methylester identifiziert werden.

Des Weiteren sind die aus Cuticularwachsen stammenden Kohlenwasserstoffe mit der Kettenlänge C15 - C33 und 2-Methylkohlenwasserstoffe (Kettenlänge C26, C27, C29, C30, C31 und C32) nachweisbar [139]. Weiterhin wurden einfach ungesättigte Kohlenwasserstoffe der Kettenlänge C27, C29 und C31 identifiziert.



**Abbildung 32:** Anteil der lipophilen Begleitstoffe im Gesamtextrakt von Kamilleblüten in Abhängigkeit vom Extraktionsverfahren

Kamillenblüten wirken bei lokaler Applikation an Haut und Schleimhäuten antiphlogistisch, bei systemischer Applikation zusätzlich spasmolytisch im Magen-Darm-Kanal. Im pharmazeutischen Anwendungsbereich finden sich lipophile Extrakte und Destillate in galenischen Zubereitungen zur topischen Applikation wieder, alkoholische Auszüge hingegen werden überwiegend systemisch eingesetzt (DAB).

Die pharmakologisch wirksamen Inhaltsstoffe von Kamillenblüten lassen sich in eine lipophile und eine hydrophile Gruppe einordnen. Aufgrund der gewählten Extraktionsverfahren werden nur die lipophilen Wirkstoffe betrachtet.

Diese Wirkstoffgruppe umfasst die im etherischen Öl vorkommenden Substanzen (-)- $\alpha$ -Bisabolol, die Bisabololoxide, Chamazulen sowie die Spiroether (cis- und trans-En-In-Dicycloether). Dabei wird die antiphlogistische Wirkung, in-vitro getestet, überwiegend dem Inhaltsstoff (-)- $\alpha$ -Bisabolol zugeordnet [151-153]. Die chemische Rasse Bisabololoxid-A-Typ erscheint deshalb unter pharmakologischen Aspekten gegenüber der chemischen Rasse (-)- $\alpha$ -Bisabolol von untergeordneter Bedeutung. Neuere Erkenntnisse mit in-vivo-Versuchen bescheinigen jedoch auch den anderen Komponenten (Bisabololoxide A und B sowie cis-En-In-Dicycloether) eine dem (-)- $\alpha$ -Bisabolol vergleichbare antiphlogistische Wirksamkeit [154].

Mit dem Inhaltsstoff 7-Methoxycoumarin (Herniarin) ist eine spasmolytisch wirksame Komponente enthalten. Sie findet sich im SDE-Destillat nur in Spuren, im LSM-Extrakt zu 0,2 % und in den Extrakten SOX und SFE bis zu 1,6 %.

Zusammenfassend betrachtet würden die untersuchten Destillate und Extrakte insbesondere aufgrund der chemischen Rasse der Kamillenblüten hinsichtlich ihrer pharmakologischen Wirksamkeit und des daraus folgenden Einsatzes im kosmetischen und pharmazeutischen Bereiches als eher weniger wichtig eingestuft werden müssen [135].

## 2.6 Schafgarbe

Die gemeine Schafgarbe (*Achillea millefolium* L.) wird ebenfalls seit Jahrhunderten volksmedizinisch genutzt und hat ähnliche Anwendungsbereiche wie die Kamille. Sie ist eine taxonomisch schwierig zu gliedernde di-, tetra-, hexa- und octaploide Sammelart, bei der eine weitere Aufspaltung in Kleinarten bis heute allgemein nicht akzeptiert ist (EuAB). Die bisher vorgenommene Einteilung nach Ploidiegrad und Proazulenführung [155-158] wird als nicht mehr ausreichend erachtet, und eine Neueinteilung unter Berücksichtigung morphologischer, anatomischer und phytochemischer Merkmale erscheint notwendig [159-161]. Aufgrund der auch arzneilich bedingten Anwendung von Schafgarbenöl kommt dem Gehalt an Proazulen dabei eine besondere Bedeutung zu.

Das EuAB verlangt als Ausgangsware getrocknete, blühende Triebspitzen mit mindestens 0,2 % etherischem Öl und 0,02 % Proazulenen, berechnet als Chamazulen und bezogen auf die getrocknete Droge. Aufgrund dieser Vorgaben wird überwiegend das durch Wasserdampfdestillation gewonnene etherische Öl eingesetzt.

Bei den untersuchten Schafgarbenblüten handelt es sich um polnische Ware nach Arzneibuchqualität aus dem Erntejahr 1992. Die Droge wird fein zerkleinert und mittels der in Kapitel E 1.1 bis 1.5 beschriebenen Methoden kalter Lösungsmittelextraktion mit Diethylether (LSM), Soxhletextraktion (SOX), simultaner Destillation und Extraktion (SDE) und durch Extraktion mit überkritischem Kohlenstoffdioxid (SFE) extrahiert bzw. destilliert.

Mit Hilfe der HRGC wurden mehr als 200 verschiedene Verbindungen in den Extrakten nachgewiesen. Davon gelang bei etwa 130 Substanzen die Identifizierung durch Vergleichsspektren, Literaturdaten und Referenzsubstanzen. Die Quantifizierung von 66 Substanzen (s. Tab. 28), die im untersuchten getrockneten Pflanzenmaterial mit einem Gehalt von mehr als 20 mg/kg getrockneter Schafgarbenblüte vorkommen, ermöglicht eine Beurteilung der Zusammensetzung des flüchtigen Anteiles der Extrakte.

**Tabelle 28:** Aromastoffzusammensetzung von Schafgarbeextrakten und -destillat in mg/kg getrockneten Schafgarbeblüten

Teil I: Es werden nur Hauptkomponenten ab einer Konzentration von 20 mg/kg getrockneter Schafgarbenblüte erfasst

(+ = Gehalt < 20 mg/kg; bis  $K_f$  1900 - Nonadecan)

Teil II: wesentliche Hauptkomponenten im höhersiedenden Bereich (ab  $K_f$  1900 - Nonadecan)

**Teil I: Hauptkomponenten bis zur Elution von Nonadecan ( $K_f$  1900)**

Nr.	Komponente	RI	SOX	LSM	SFE	SDE	Zitat
1	3-Methylbuttersäure	814	20	+	+	27	
2	$\alpha$ -Pinen	951	57	41	54	37	[162-166]
3	Camphen	970	21	21	21	+	[162-166]
4	Sabinen	987	55	54	52	35	[162-166]
5	$\beta$ -Pinen	996	120	108	113	93	[162-166]
6	Yomogi-Alkohol	997*	+	+	+	30	[166]
7	para-Cymol	1038	56	67	50	50	[162-166]
8	1,8-Cineol	1053	122	134	130	99	[162-166]
9	Artemisiaketon	1066	78	76	86	69	[166]
10	Artemisiaalkohol	1089	23	25	24	25	[166]
11	cis-Thujon	1124	57	77	48	56	[163,165]
13	107-91,108,79-150	1143	36	35	27	23	
14	cis-Verbenol	1164	+	20	+	23	[162,165]
15	Campher	1171	264	284	275	261	[162-164,166]
16	Lavandulol	1175	33	26	23	30	[162,164,165]
17	Borneol	1189	158	136	150	226	[162-166]
18	Terpinen-4-ol	1197	+	+	+	34	[162-166]

19	$\alpha$ -Terpineol	1207	22	21	23	32	[162-165]
20	Fragranol	1231	17	+	31	24	
21	Verbenon	1232	28	33	55	44	
22	121-136,93-43	1262	+	+	+	26	
23	Piperiton	1278	+	27	+	+	[165]
24	43-69,93,136-196	1290	+	35	31	24	
25	109-127,43,81	1306	+	+	+	20	
26	Carvacrol	1311	+	+	+	21	
27	Bornylacetat	1323	71	45	51	31	[163-166]
28	Ascaridoldiepoxyd B	1330	47	72	63	47	[166]
29	Decansäure	1365	24	24	26	52	[162]
30	69-41,93,57-121,136	1379	+	+	+	21	
31	79-43,94-59	1427	43	43	31	+	
32	$\beta$ -Caryophyllen	1453	65	84	79	44	[162-166]
33	Germacren D	1512	45	62	63	24	[162,153,165,166]
34	E-Nerolidol	1575	30	32	25	32	[162,163,164,165]
35	Sesquisabinenhydrat	1600	72	67	71	36	
36	Spathulenol	1615	27	28	26	30	[162,165,166]
37	Caryophyllenoxid	1625	84	96	96	79	[163,165,166]
38	Viridiflorol	1635	56	57	55	53	
39	121-43,164,93-222	1643	46	24	49	52	
40	59,43-161,204-220	1659	41	38	39	41	
41	119,121,161-43,164-222	1670	61	65	60	50	
42	2(12),6(13)-Caryophylladien-5-ol	1677	27	30	+	30	[162]
43	$\beta$ -Eudesmol	1693	68	55	52	84	[165]
44	$\alpha$ -Bisabolol	1708	30	23	25	31	[166]
45	216-201,135,173	1713	29	25	+	35	
46	41-109,91-159,220	1727	106	84	87	91	
47	Chamazulen	1779	39	+	+	124	[162-164]
48	43-84,109,121-161,179,197,222	1813*	24	29	40	31	
49	6,10,14-Trimethylpentadecanon	1849	22	+	20	+	[163]
50	149-191,234	1883	32	+	38	+	
	<b>Summe der quantifizierten Hauptkomponenten in mg/kg Schafgarbeblüte</b>		<b>2256</b>	<b>2203</b>	<b>2189</b>	<b>2327</b>	
	<b>Summe der quantifizierten Komponenten in %</b>		<b>69,4</b>	<b>78,3</b>	<b>81,7</b>	<b>76,4</b>	

**Teil II: Hauptkomponenten ab der Elution von Nonadecan ( $K_f$  1900)**

Nr.	Komponente	RI	SOX	LSM	SFE	SDE	Zitat
51	Nonadecan	1900	47	30	43	+	
52	Methylpalmitat	1926	74	59	55	+	
53	Palmitinsäure	1969	255	93	263	+	
54	Methylolinoleat	2102	+	+	21	0	
55	Methylstearat	2126	34	+	35	0	
56	Linolsäure	2192	179	69	183	+	
57	Ölsäure	2194	295	+	331	0	
58	Arglanin	2218	82	21	81	0	
59	Achillin I	2222	111	51	88	0	[167]
60	67-143,107,216,248	2237	77	45	73	0	
61	Achillin II	2265	69	41	55	0	[167]

<b>62</b>	Tricosan	2300	63	40	74	+	
<b>63</b>	Tetracosan	2400	61	25	50	0	
<b>64</b>	Pentacosan	2500	157	87	161	+	
<b>65</b>	Heptacosan	2700	254	135	281	+	
<b>66</b>	Nonacosan	2900	729	332	618	0	[165]
	<b>Summe der quantifizierten Hauptkomponenten in mg/kg Schafgarbeblüte</b>		<b>2487</b>	<b>1028</b>	<b>2412</b>	<b>0</b>	
	<b>Summe der quantifizierten Komponenten in %</b>		<b>59,7</b>	<b>72,2</b>	<b>83,4</b>	<b>0</b>	
	<b>Gesamtsumme aller quantifizierten Hauptkomponenten in mg/kg Schafgarbeblüte</b>		<b>4774</b>	<b>3259</b>	<b>4630</b>	<b>2327</b>	
	<b>Gesamtsumme der quantifizierten Komponenten in %</b>		<b>64,1</b>	<b>76,3</b>	<b>82,6</b>	<b>76,6</b>	

\* - Die Indices wurden mit dem Trennsystem TS2 ermittelt.

Im ersten Teil der Tabelle (Komponenten Nr. 1 bis 50) sind die chemischen Substanzen aufgelistet, welche bis zum Nonadecan ( $K_I$  1900) von der GC-Säule eluieren, mengenmassig in den getrockneten Pflanzenbestandteilen mit mindestens 20 mg/kg vorhanden sind und das etherische Öl von Schafgarbeblüten charakterisieren. Die Summe der Verbindungen liegt in Abhängigkeit vom Extraktionsverfahren zwischen 2,2 und 2,4 g/kg getrockneter Schafgarbeblüten bei einem Chamazulen-Gehalt von 124 mg beim Destillat, gaschromatographisch bestimmt mit dem Innerem Standard Methyldecanoat ohne Ermittlung von Korrekturfaktoren.

Mit den Ergebnissen der im EuAB beschriebenen Gehaltsbestimmung von etherischem Öl durch Wasserdampfdestillation und der sich anschließenden, indirekten photometrischen Gehaltsbestimmung von Chamazulen besteht insofern Übereinstimmung, als mit diesen Verfahren ein Gehalt an etherischem Öl von 0,3 % (V/G) und ein Proazulengehalt von 0,021 % (G/G) ermittelt wurde. Die Abweichungen sind durch die verschiedenen Destillationsverfahren erklärbar. Im EuAB wird als Destillationsflüssigkeit mit einer Mischung von Wasser und Ethylenglykol (1 + 9) zur Siedepunkterhöhung gearbeitet, weil damit höhere Proazulengehalte ermittelt werden.

Die in Teil I der Tabelle aufgeführten Inhaltsstoffe tragen in Abhängigkeit vom Extraktionsverfahren nur zu etwa 70 - 80 % der Inhaltsstoffe im etherischen Öl bei, weil das untersuchte Schafgarbenöl keine konzentrationsmäßig dominierenden Hauptkomponenten im Vergleich zu den anderen Inhaltsstoffen enthält. Von den mehr als 200 detektierten Substanzen stammen etwa 180 aus diesem Elutionsbereich ( $K_I < 1900$ ). Davon

hat Campher als höchstkonzentrierte Komponente lediglich einen Gehalt von etwa 270 mg/kg Pflanzenmaterial und 12 % im etherischen Öl.

In Teil II der Tabelle handelt es sich um Substanzen des höher siedenden Bereiches (ab  $K_f$  1900), insbesondere um Fettsäuren, Fettsäuremethylester und Kohlenwasserstoffe. Beim Destillat (SDE) können diese Verbindungen mengenmäßig vernachlässigt werden (Summe 0 in Teil II der Tabelle), bei den Extraktionsverfahren hingegen steigt der Anteil von 1,03 g/kg (LSM) auf etwa 2,03 g/kg (SFE und SOX) im Gesamtextrakt an. Beide Tabellenteile zusammen betrachtet zeigen die Unterschiede der vier Anreicherungsverfahren auf:

Der gaschromatographisch bestimmbare Anteil aller Verbindungen bezogen auf das Trockengewicht des Pflanzenmaterials liegt beim Destillationsverfahren (SDE) bei 0,23 %, bei LSM bei 0,33 % und bei SFE und SOX sogar bei 0,46 bzw. 0,48 %. Ein Gehalt an etherischem Öl von 0,2% bis über 1 % ist üblich [168,169], es werden aber auch geringere Gehalte gefunden [162].

Der in Abhängigkeit vom Anreicherungsverfahren ansteigende Extraktgehalt beruht auf der Zunahme an Substanzen im höhersiedenden Bereich (Teil II der Tabelle).

Die mengenmäßig wichtigsten Einzelsubstanzen im etherischen Öl in absteigender Konzentration sind Campher (Nr. 15), Borneol (Nr. 17), 1,8-Cineol (Nr. 8),  $\beta$ -Pinen (Nr. 5), ein nicht identifiziertes sauerstoffhaltiges Sesquiterpen (Nr. 46) und  $\beta$ -Caryophyllen. Diese sechs Substanzen stellen zusammen etwa 37 % bis 39 % des etherischen Öles dar und, bezogen auf den Gesamtextrakt, 26 % beim Verfahren LSM und je 18 % bei SFE und SOX. Das Vorkommen dieser Inhaltsstoffe zu höheren Anteilen ist beschrieben [162-166] und typisch für *Achillea millefolium* Arten.

Innerhalb der Gruppe der Monoterpene können außer den in Tabelle 28 aufgeführten quantifizierten Komponenten noch die bereits von anderen Autoren [162-166] gefundenen Verbindungen Myrcen,  $\alpha$ -Terpinen, Limonen,  $\gamma$ -Terpinen, Cymenen und Terpinolen bestätigt werden. Im Spurenbereich werden zusätzlich Santolinatrien und Artemisatrien identifiziert.

Die sauerstoffhaltigen Monoterpene sind mit ca. 1,1 g/kg Schafgarbenblüte die mengenmäßig am stärksten vertretene Gruppe, und es konnten Schafgarbe-typische Verbindungen wie Ascaridoldiepoxid B, Artemisia-Keton, Artemisia-Alkohol und im Spurenbereich auch Artemisia-Acetat identifiziert werden. Neu identifiziert und quantifiziert

wurden Verbenon und Fragranol. Die Proportionen der sauerstoffhaltigen Monoterpene zueinander werden durch die Extraktionsverfahren nicht verändert, lediglich das Konzentrationsverhältnis Bornylacetat/Borneol verschiebt sich von ca. 1:3-4 bei SFE und SOX auf ca. 1:7 bei der SDE und weist auf eine thermische Belastung hin.

In der Gruppe der Sesquiterpene sind mengenmäßig nur  $\beta$ -Caryophyllen und Germacren D zu erwähnen. Die von anderen Autoren [162-166] gefundenen Sesquiterpene  $\alpha$ -Humulen,  $\alpha$ - und  $\gamma$ -Muurolen,  $\alpha$ -Copaen,  $\beta$ -Bourbonen,  $\beta$ -Cubeben,  $\beta$ -Elemen,  $\alpha$ - und  $\gamma$ -Curcurmen,  $\gamma$ - und  $\delta$ -Cadinen sowie Calamenen liegen nur in geringen Konzentrationen vor, Bicyclogermacren hingegen konnte nicht identifiziert werden.

Bei den sauerstoffhaltigen Sesquiterpenen (ca. 0,8 g/kg Schafgarbenblüte) dominieren das Caryophyllenoxid sowie der zugehörige Alkohol (Nr. 42) und das Oxid (Nr. 37). Fünf quantifizierte Substanzen mit den MG 220 und 222 (Nr. 39-41, Nr. 46 und Nr. 48) konnten nicht identifiziert werden.

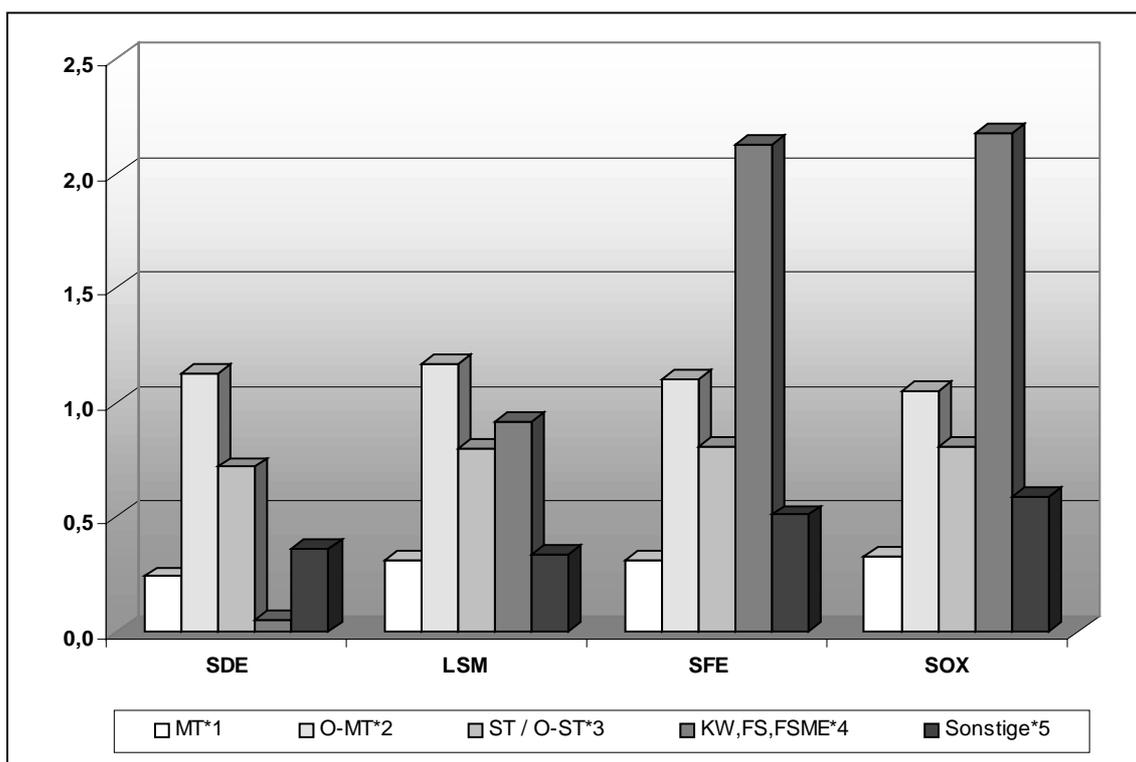


Abbildung 33:

Summarische Darstellung der gaschromatographisch erfassbaren Inhaltsstoffe in g/kg getrockneter Schafgarbenblüten in Abhängigkeit vom Extraktionsverfahren

MT\*1 -

O-MT\*2 -

ST / O-ST\*3 -

KW,FS,FSME\*4 -

Sonstige\*5 -

Monoterpene

sauerstoffhaltige Monoterpene

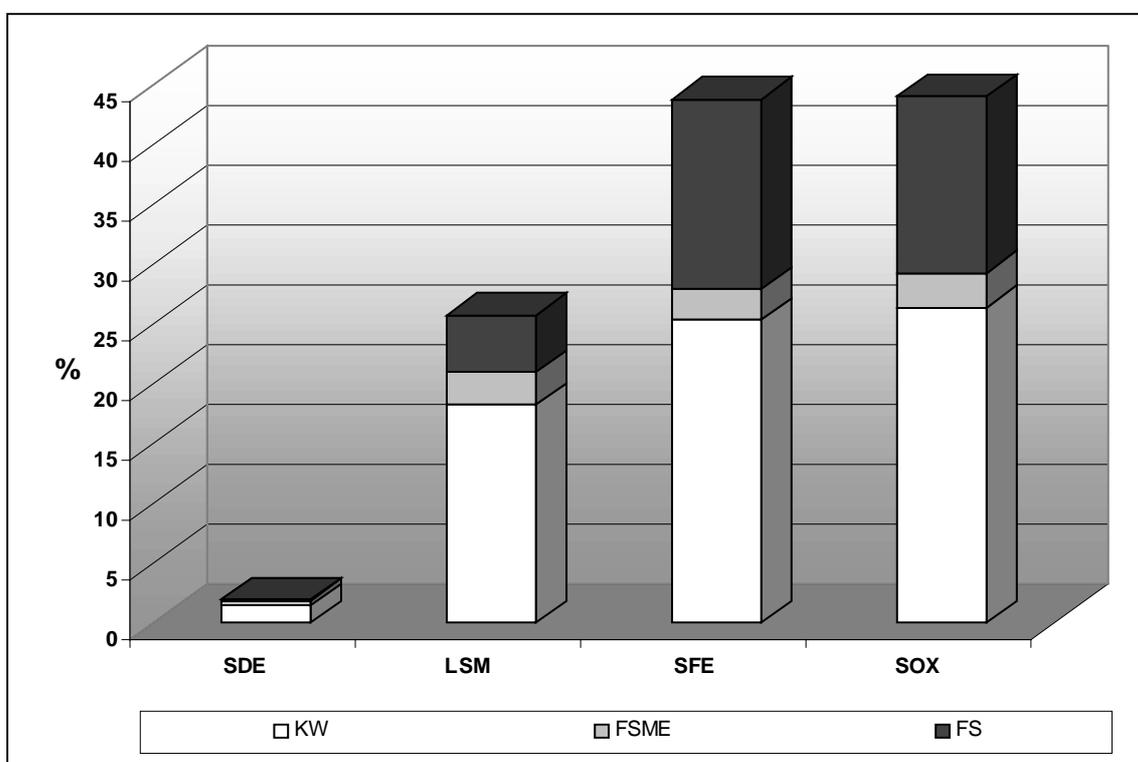
alle Sesquiterpene (auch sauerstoffhaltig)

Kohlenwasserstoffe, Fettsäuren und Fettsäuremethylester ab einem Elutionsindex > 1900

alle anderen, auch Sesquiterpenlaktone

Die höherkettigen lipophilen Begleitstoffe (Gruppe 4 in Abb. 33) setzen sich aus Fettsäuren, deren Methylestern sowie Kohlenwasserstoffen zusammen. Bei den Fettsäuren handelt es sich überwiegend um C10, C16, C18:1 und C18:2 Carbonsäuren und bei den Kohlenwasserstoffen überwiegend um unverzweigte und gesättigte Verbindungen aus den Cuticularwachsen mit den Kettenlängen C19, C23 - C25, C27 und C29. Geradzahlige Kohlenwasserstoffe mit der Kettenlänge C22, C26 und C28 sind nur im Spurenbereich nachweisbar.

Der Anteil der lipophilen Begleitstoffe am Gesamtextrakt ist beträchtlich und vom Extraktionsverfahren abhängig. Bei der SDE liegt dieser Anteil nur bei etwa 2 % und steigt über LSM (26 %) auf etwa 44 % bei SOX und SFE an (s. Abb. 34).



**Abbildung 34:** *Zusammensetzung der lipophilen Begleitstoffe im Gesamtextrakt von Schafgarbenblüten in Abhängigkeit vom Extraktionsverfahren*

Im Destillat sind alle drei Substanzgruppen Fettsäuren, Fettsäuremethylester und Kohlenwasserstoffe nur im Spurenbereich nachweisbar (Gesamtsumme 2 %). Beim Verfahren LSM werden die Fettsäuremethylester vollständig und die Kohlenwasserstoffe in größerem Umfang (etwa 50 %) erfasst. Mit den Verfahren SFE und SOX erfolgt eine weitestgehend vollständige Extraktion der drei lipophilen Stoffgruppen mit dementsprechend annähernd gleicher Zusammensetzung der Extrakte (s. Abb. 34).

**Tabelle 29:** *Sesquiterpenlactone im Extrakt- Chamazulen im Destillat  
(Angabe in g/kg Schafgarbeblüte)*

Verbindung	SOX	SFE	LSM	SDE
Arglanin	0,08	0,08	0,02	0
Achillin I	0,11	0,09	0,05	0
67 - 143,107, 216, 248	0,08	0,07	0,05	0
Achillin II	0,07	0,06	0,04	0
8-Hydroxyachillin	Spuren	Spuren	Spuren	0
Matricarin	Spuren	Spuren	Spuren	0
Chamazulen	Spuren	Spuren	Spuren	0,12
<b>Summe</b>	<b>0,34</b>	<b>0,30</b>	<b>0,16</b>	<b>0,12</b>
<b>Summe (in % bezogen auf den Extrakt)</b>	<b>6,9</b>	<b>6,2</b>	<b>4,5</b>	<b>5,0</b>

In der Gruppe der sonstigen Substanzen (s. Abb. 33) sind neben einigen nicht identifizierten Verbindungen (Nr. 22, 29, 31, 45 und 50) die Sesquiterpenlactone und das Chamazulen zusammengefasst. Der in der Abbildung dargestellte Konzentrationsanstieg dieser Gruppe in Abhängigkeit vom Extraktionsverfahren ist auch auf den Gehalt von Sesquiterpenlactonen zurückzuführen, welche ausschließlich in den Extrakten und nicht im Destillat zu finden sind. (s. Tabelle 29).

Im Vergleich zu den Sesquiterpenlacton-Gehalten erscheint der Chamazulen-Gehalt sehr niedrig. Bei der Umwandlung von Sesquiterpenlactonen zu Chamazulen während der Destillation reagieren jedoch nur die Proazulene [170,171], welche z.B. über eine 7,8-Guajanolid-Struktur verfügen. Achillin besitzt im Gegensatz zu 8-Hydroxyachillin und Matricarin diese chemische Struktur nicht. Weiterhin reagieren Verbindungen mit  $\alpha$ -Methylen- $\gamma$ -lacton-Teilstruktur nicht zum Chamazulen (m/z 184-169), sondern zu blaugrünen Folgeprodukten (sog. „Grünazulen“) (EuAB). Das dann anstatt des Chamazulens anzutreffende Dimethylvinylazulen mit den charakteristischen Massen m/z 182-167 kann im Destillat nachgewiesen werden.

### 3 Untersuchung qualitätsbestimmender Parameter

#### 3.1 Vergleich der Extrakte mittels IR

Es wurden die verschiedenen Extrakte (SDE, SFE und LSM) von Anis, Kümmel, Koriander und Cumin direkt auf NaCl-Küvetten aufgetragen und mittels IR untersucht. Die IR-Spektren weisen keine wesentlichen Unterschiede zwischen den einzelnen Extrakten der jeweiligen Pflanze auf. Die Ursache liegt u.a. darin begründet, dass in den Extrakten einige Hauptkomponenten dominieren und somit zu einer relativen Ähnlichkeit der IR-Spektren untereinander führen (trans-Anethol in Anis mit ca. 80 %, Linalool in Koriander mit ca. 65 %, Carvon und Limonen in Kümmel mit ca. 55 % bzw. 43 % sowie  $\beta$ -Pinen,  $\gamma$ -Terpinen, p-Mentha-1,3-dien-7-al und Cuminaldehyd im Cumin mit je ca. 17 - 22 %).

Dennoch sind Differenzen (s. Tabellen 30-33) zu beobachten, anhand derer die Extrakte und Destillate voneinander unterschieden werden können.

**Tabelle 30:** Unterschiede in den IR-Spektren bei Korianderextrakten/-destillaten

Wellenzahl	Transmission (%) - SDE	Transmission (%) - LSM	Transmission (%) - SFE	Strukturelement
2926	0	0	0	-CH <sub>2</sub> - , -CH <sub>3</sub>
1747-1738	69	22	57	C=O (Ester)
996	77	88	93	R-CH=CH <sub>2</sub>
920	63	87	85	R-CH=CH <sub>2</sub>

Bei allen drei Extrakten von Korianderfrüchten wird hauptsächlich das Spektrum von Linalool wiedergefunden und korreliert bis auf wenige zusätzliche Absorptionen sehr gut mit der Vergleichssubstanz.

Die dabei gefundenen zusätzliche Absorptionsbande bei 3088 basiert voraussichtlich auf C-H Valenzschwingungen, verursacht durch endständige Allen-Gruppierungen (z.B. Camphen, Limonen, und  $\beta$ -Myrcen). Als Hauptabsorptionsbande kann bei allen drei Extrakten die C-H - Valenzschwingung bei 2926 beobachtet werden. Ferner erfolgt bei ca. 1740 eine Absorption durch eine Ester-Gruppierung. Auffällig ist die geringe Absorption im Destillat sowie im SFE-Extrakt und die sehr starke Ausprägung im LSM-Extrakt, erklärbar durch mitextrahierte Begleitstoffe (z.B. Fette).

Darüber hinaus ist bei den Korianderextrakten zu beobachten, dass das IR - Spektrum des Destillates den größten Detaillierungsgrad aufweist und die Absorptionsbanden sehr scharf aufgezeichnet wurden. So sind z.B. die Deformationsschwingungen der endständigen Allen-Gruppierung (996 und 920) beim Destillat eindeutiger und weniger überlagert als bei den SFE- und LSM-Extrakt.

**Tabelle 31:** Unterschiede in den IR-Spektren bei Kümmelextrakten/-destillaten

Wellenzahl	Transmission (%) - SDE	Transmission (%) - LSM	Transmission (%) - SFE	Strukturelement
2923	44	0	27	-CH <sub>3</sub> , -CH <sub>2</sub> -
2856	66	21	27	-CH
1746 - 1738	92	26	54	C=O (Ester)
1677	0	19	0	α, β - ungesättigtes Keton
1646	66	67	38	Dien
1158	83	60	74	C=O
1144	86	58	77	C=O

Bei den Kümmelextrakten wird ein Mischspektrum aus hauptsächlich Carvon und Limonen aufgenommen. Zusätzliche Absorptionsbanden wurden nicht gefunden. Auch bei diesen Extrakten weist das Spektrum des Destillates den höchsten Detaillierungsgrad auf.

Die Hauptunterschiede der drei Extrakte sind jedoch sofort anhand der stärksten Schwingung erkennbar: im Destillat dominiert als Hauptabsorptionsbande die C=O Schwingung des Carvons bei 1677 sehr deutlich, im SFE-Extrakt sind die Absorptionen der C-H-Valenzschwingungen bei 2923 und 2856 ähnlich stark wie die der C=O-Schwingung, während im LSM-Extrakt bereits die C-H-Valenzschwingung bei 2923 zur stärksten Absorption führt.

Diese Unterschiede lassen sich nicht nur durch die Verhältnisse von Carvon und Limonen zueinander begründen. Co-extrahierte Substanzen, möglicherweise auch mit Ester-Gruppierung, welche beim LSM - Extrakt in noch höherem Ausmaße als im SFE-Extrakt vorliegen, sind die Ursache für diese Beobachtung.

Auch bei den Kümmelextrakten findet sich die bereits bei den Korianderextrakten beobachtete Absorption bei ca. 1740 durch eine Ester-Gruppierung wieder. Diese Absorptionsbande ist im Destillat am wenigsten und im LSM-Extrakt am stärksten ausgeprägt. Die begleitenden C=O – Valenzschwingungen bei 1144 und 1158 sind ebenfalls im LSM-Extrakt am stärksten.

**Tabelle 32:** Unterschiede in den IR-Spektren bei Anisextrakten/-destillaten

Wellenzahl	Transmission (%) - SDE	Transmission (%) - LSM	Transmission (%) - SFE	Strukturelement
3023	56,7	22,5	47,2	CH (Aryl)
2926	42,4	0,0	25,6	-CH <sub>3</sub> , -CH <sub>2</sub> -
2852	61,3	19,4	48,2	CH (Arylether)
1753-1746	77,6	18,9	15,0	C=O (Ester)

Bei den Anis-Extrakten ist die Hauptkomponente trans-Anethol für die weitgehend einheitlichen Spektren verantwortlich. Dabei ist das Spektrum des Destillates nahezu identisch mit dem der Reinsubstanz. Zusätzliche Absorptionsbanden wurden in keinem Spektrum der Extrakte gefunden. Die Spektren unterscheiden sich lediglich in der Intensität der Banden.

Die C-H - Valenzschwingungen im Bereich von 2852, 2926 und 3025 sind im Destillat und SFE-Extrakt annähernd gleich stark vertreten, während im LSM-Extrakt die C-H - Valenz, verursacht durch CH<sub>2</sub> - und CH<sub>3</sub> - Gruppierungen co-extrahierter Begleitstoffe, am stärksten ausgeprägt ist.

Ferner dominieren im LSM- und SFE-Extrakt die bei 1746-1753 durch die Ester-Gruppierung verursachte Absorptionsschwingung. Diese ist, wie auch bei den anderen Früchten, im Destillat kaum vorhanden.

**Tabelle 33:** Unterschiede in den IR-Spektren bei Cuminextrakten/-destillaten

Wellenzahl	Transmission (%) - SDE	Transmission (%) - LSM	Transmission (%) - SFE	Strukturelement
2962	2,7	20,1	11,2	CH-Valenz
2928	30,8	0,0	0,0	-CH <sub>3</sub> , -CH <sub>2</sub> -
1746	86,8	12,3	43,0	C=O (Ester)
1704	9,4	57,6	41,0	Arylaldehyd
1692	0,0	53,2	29,9	$\alpha,\beta$ -ungesättigter Aldehyd
1645	66,8	83,1	62,2	Diene, Triene
1229		60,8	73,7	C=O Valenz (Acetyl)

Die Spektren der Cumin-Extrakte werden durch die Komponenten  $\beta$ -Pinen,  $\gamma$ -Terpinen, p-Mentha-1,3-dien-7-al und Cuminaldehyd bestimmt. Im Destillat verursacht die funktionale Gruppe des  $\alpha$ - $\beta$ -ungesättigten Aldehydes Menthadienal die stärkste Absorptionsbande, gefolgt von uncharakteristischen CH-Valenzschwingungen bei 2962 sowie der C=O-Schwingung des Cuminaldehydes bei 1704. Beim SFE- und LSM-Extrakt da-

gegen erfolgen die Hauptabsorbtionen durch C-H Valenzen bei 2928. Die Absorptionen des Cuminaldehydes treten im Vergleich dazu deutlich in den Hintergrund.

Auch bei den Cumin-Extrakten ist in der Reihenfolge Destillat, SFE-Extrakt und LSM-Extrakt eine starke Zunahme der Ester-Absorptionsschwingung bei 1746 zu beobachten.

Zusammenfassend betrachtet, lassen sich die Extrakte und Destillate der Apiaceen-Früchte nach folgendem, einfachen Schema identifizieren:

Als 1. Entscheidungskriterium dient die CH-Valenzschwingung (2923-2928), die in der Reihenfolge SDE-SFE-LSM an Intensität zunimmt. Sofern die Transmission bei mehreren Extrakten 0 % beträgt, wird als 2. Kriterium die Transmission der Ester-Gruppierung (1738-1753) herangezogen. Die Intensität nimmt ebenfalls in der Reihenfolge SDE-SFE-LSM zu. Notwendig bleibt jedoch in allen Fällen eine vergleichende Betrachtung.

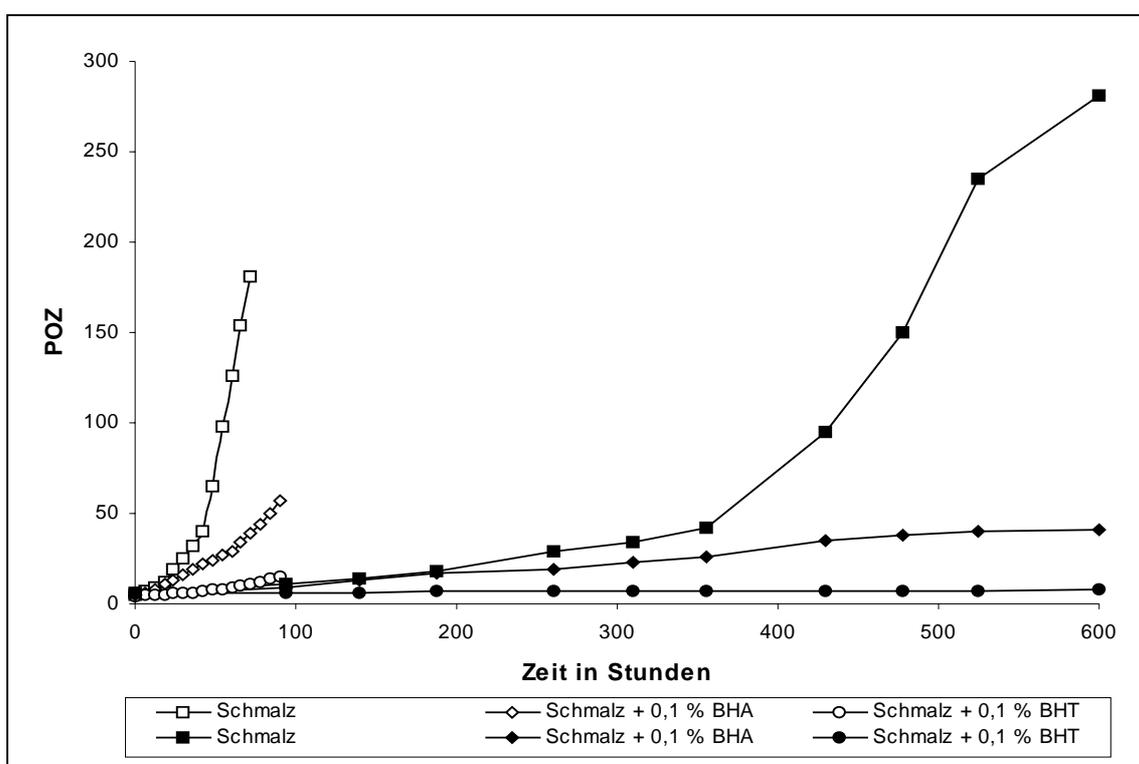
### 3.2 Untersuchungen zur antioxidativen Wirkung

Die Qualität pflanzlicher Extrakte wird neben vielen anderen Eigenschaften auch durch mögliche hemmende Wirkung auf die Fettoxidation bestimmt. Diese positive Wirkung ist von einigen Gewürzen seit langem bekannt und gut beschrieben [172,173]. Um die antioxidative Wirkung zerkleinerter Gewürze, deren Extrakte und Destillate bzw. isolierte Fraktionen und Einzelsubstanzen davon in komplexen, lebensmittelähnlichen Systemen zu bestimmen, wird in vielen Versuchen als Matrix handelsübliches, frisches Schweineschmalz verwendet [174-176] und einer Lagerung bzw. Stressung unter definierten Bedingungen unterworfen. Als Bezugssubstanzen bzw. Referenzsubstanzen zur Bestimmung der antioxidativen Wirkung dienen dabei häufig lebensmittelrechtlich zugelassenen Zusatzstoffe mit bekannter antioxidativer Wirkung wie z.B. Tokopherole, Butyrohydroxyanisol (BHA) und Butyrohydroxytoluol (BHT).

In den durchgeführten Versuchen werden alle untersuchten Pflanzenbestandteile, deren Extrakte und Destillate sowie die Rückstände davon dem Schweineschmalz in einer Konzentration von 0,5 % zugesetzt, lediglich die ständig mitgeführten Kontrollen BHA und BHT sind mit 0,1 % ausreichend hoch konzentriert. Die Bestimmung der POZ nach

DGF-Einheitmethoden ist der Maßstab für die Untersuchung der Oxidierbarkeit des Schweineschmalzes.

In Abweichung von Literaturangaben zeigen Vorversuche, dass Stressbedingungen des Schweineschmalzes von bis zu ca. 100 °C für die Untersuchung von Extrakten mit z.T. überwiegend flüchtigen Komponenten nicht geeignet sind. Um nicht die Flüchtigkeit zum Messkriterium werden zu lassen, sollte die maximale Temperaturbelastung für diese Substanzgruppen nicht mehr als 60 °C betragen. Damit verlängern sich die Versuchsbedingungen zur Bestimmung der Induktionsperiode von ca. 100 Std. bei 100 °C auf 600 Std. bei 60 °C (s. Abb 35).



**Abbildung 35:** Verlauf der oxidativen Stressung von Schweineschmalz mit und ohne Antioxidans bei 60 °C (schwarze Symbole) und 100 °C (weiße Symbole) anhand der POZ

Ferner zeigen die Vorversuche, dass von den sechs untersuchten Pflanzenbestandteilen, deren Extrakten, Destillaten und Extraktionsrückständen die Früchte von Koriander und Kreuzkümmel sowie die Blütenblätter der Schafgarbe keine antioxidativen Eigenschaften besitzen. Auch der methanolische Extrakt zeigt unter den gewählten Versuchsbedingungen keine antioxidative Wirkung. Die Belastungskurven würden im Maßstab der o.a. Abbildung nur wenig unterhalb der Kurve des Schweineschmalzes ohne Zusatz verlaufen.

Bei den Früchten von Anis und Kümmel dagegen sind insgesamt schwache antioxidative Eigenschaften nachweisbar (Abb. 36 und 37).

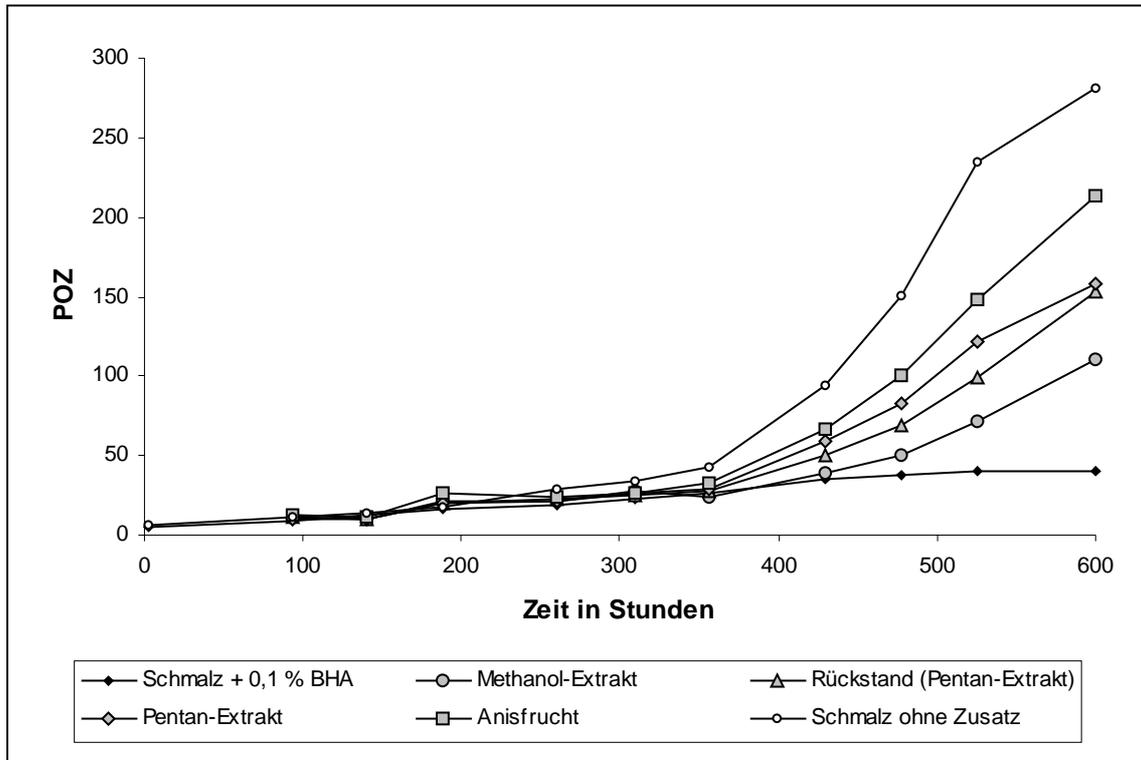


Abbildung 36: Verlauf der oxidativen Stressung von Schweineschmalz bei 60 °C unter Zusatz von zerkleinerten Anisfrüchten sowie Anisextrakten und deren Extraktionsrückständen

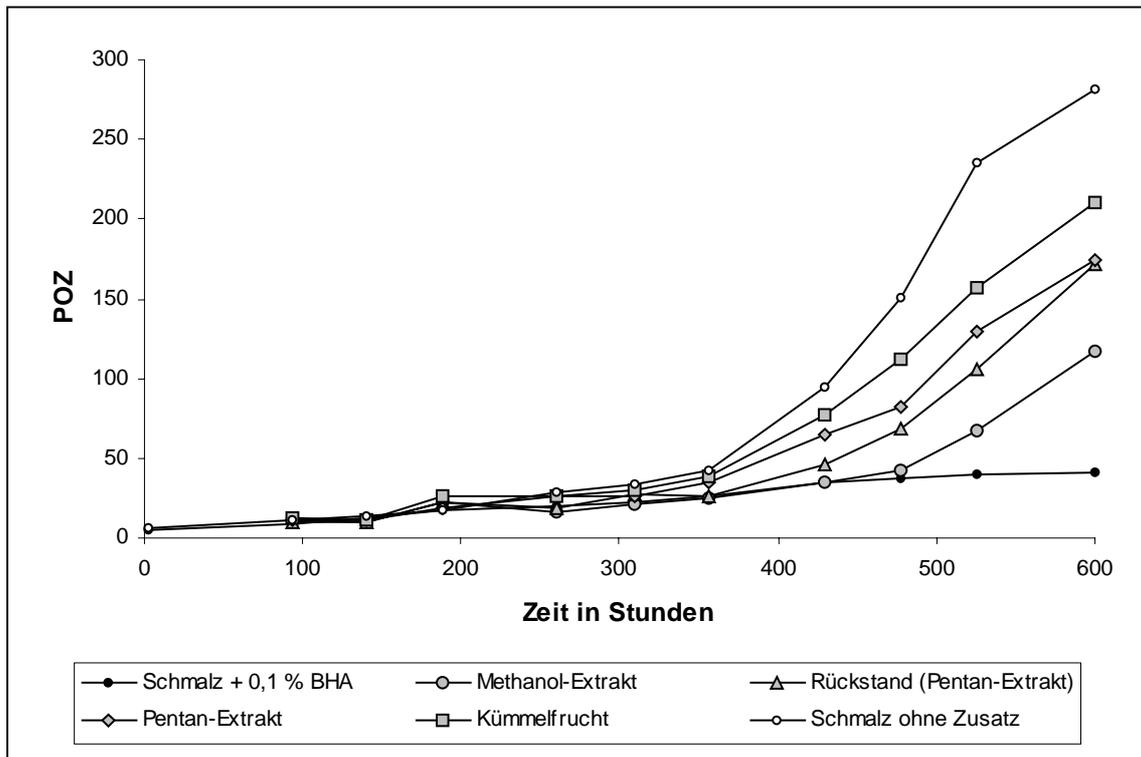
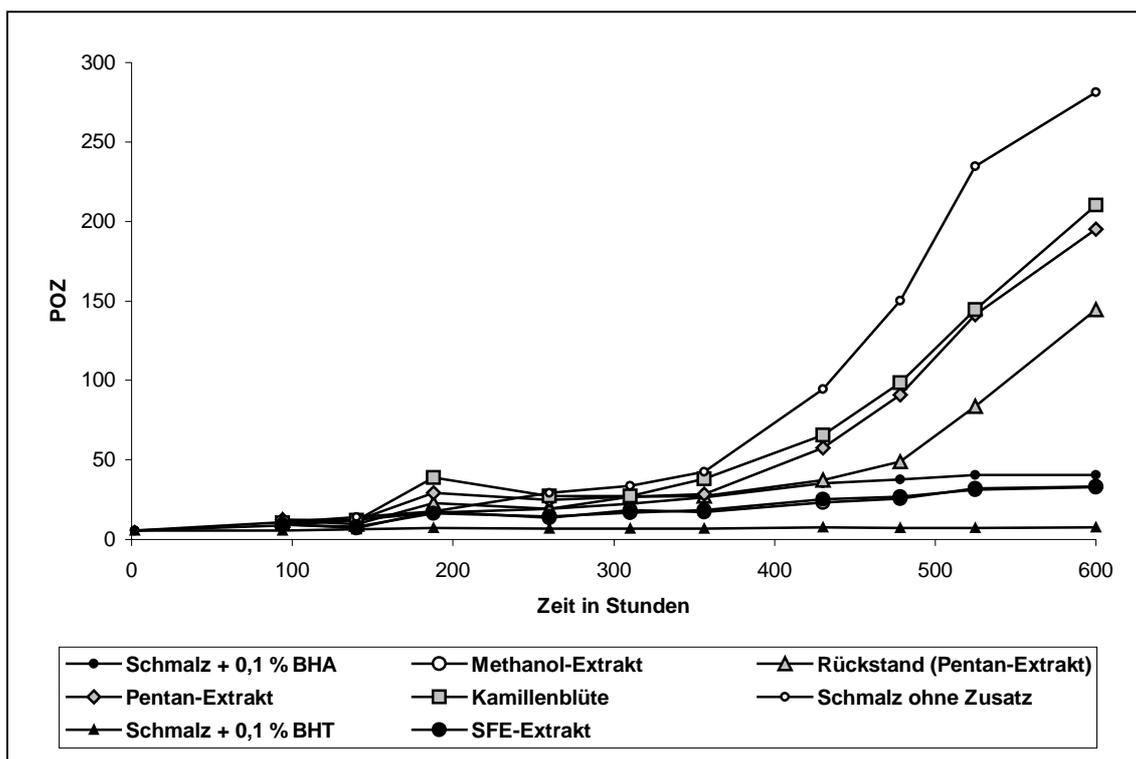


Abbildung 37: Verlauf der oxidativen Stressung von Schweineschmalz bei 60 °C unter Zusatz von zerkleinerten Kümmelfrüchten sowie Kümmelextrakten und deren Extraktionsrückständen

Bei beiden Apiaceen sind die zerkleinerten Früchte kaum wirksam; die Pentanextrakte sowie der verbleibenden Rückstände davon sind beide auch nur wenig wirksam. Allein die methanolischen Extrakte weisen eine schwache Wirksamkeit auf. Die antioxidative Stärke eines 0,1 %igen Zusatzes von BHA wird jedoch von keiner der beiden Pflanzen erreicht.



**Abbildung 38:** Verlauf der oxidativen Stressung von Schweineschmalz bei 60 °C unter Zusatz von zerkleinerten Kamilleblüten, Kamilleextrakten und deren Extraktionsrückständen sowie eines SFE-Extraktes (Fraktion II) - Erklärungen s. Text

Bei den untersuchten Kamillenblüten dagegen ergibt sich ein deutlich anderer Verlauf. Hier ist die zerkleinerte Kamillenblüte genauso wenig wirksam wie der Pentan-Extrakt. Eine recht starke Wirkung entfaltet dagegen der methanolische Extrakt, der in seiner antioxidativen Wirksamkeit die des 0,1 %igen Zusatzes von BHA übertrifft (Abb. 38). Zur Darstellung der Möglichkeiten der analytischen SFE werden Kamillenblüten zur fraktionierten SFE bei annähernd gleicher Dichte von 0,88 mg/ml SC-CO<sub>2</sub> eingesetzt.

Fraktion I: 250 bar, 40 °C

dann Öffnen der Extraktionszelle und Zugabe von Methanol als Modifier, anschließend

Fraktion II: 480 bar, 80 °C

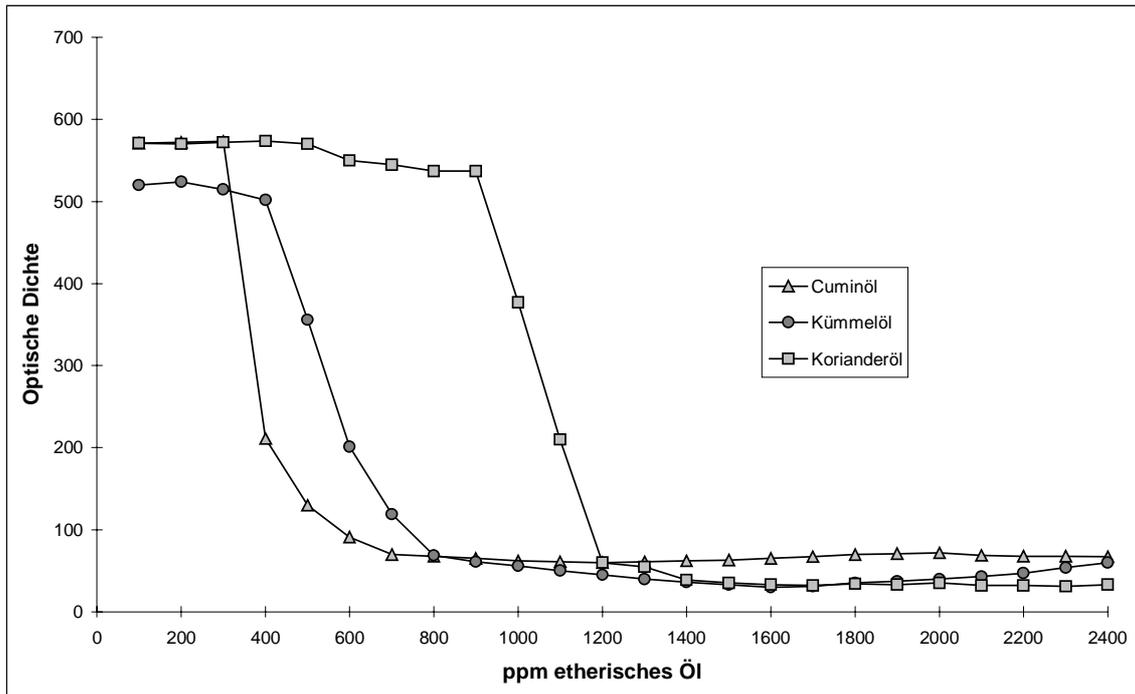
Die Fraktion I ist in ihrer antioxidativen Wirksamkeit mit dem Pentan-Extrakt und die Fraktion II mit dem methanolischen Extrakt vergleichbar (SFE-Extrakt Fraktion II s. Abb. 38). Die Fraktion II ist gelb-grün gefärbt und kann mit Hilfe der SFC und GC nicht analysiert werden. Es muss sich um Substanzen handeln, die ohne Derivatisierung diesen Chromatographie-Verfahren nicht zugänglich sind.

Trotz gleicher Dichte belegt die Fraktion II, dass die Extraktion bei erhöhter Temperatur in Verbindung mit dem statischen Einsatz eines polaren Modifiers zu einem völlig anderen Extrakt mit einer völlig anderen Wirkung führt.

### 3.3 Untersuchungen zur antimikrobiellen Wirkung

Ein wesentlicher qualitätsbestimmender Parameter von Pflanzenextrakten ist die mikrobielle Wirksamkeit. Die zu deren Bestimmung üblicherweise verwendeten Testmethoden (Agardiffusionstest und Turbidimetrischer Test) ergeben dabei methodenbedingt unterschiedliche, nicht immer vergleichbare Ergebnisse [177]. Vorversuche am Beispiel des Testkeimes *Staphylococcus aureus* haben ergeben, dass insbesondere bei der mikrobiologischen Wertbestimmung flüchtiger Bestandteile der Agardiffusionstest als quasi offenes System keine reproduzierbaren Ergebnisse vorweist. Dabei führt die hohe Flüchtigkeit des etherischen Öles unweigerlich zu einer erheblichen, unkontrollierten Konzentrationsminderung des etherischen Öles im Nährboden. Sollen wie bei dieser Aufgabenstellung Aromaextrakte gegeneinander getestet werden, so wird bei Anwendung der Agardiffusionsmethode die Flüchtigkeit der zu testenden Extrakte statt ihrer möglichen Wirksamkeit zum Testkriterium. Deshalb sind alle vorgestellten Ergebnisse in einem Flüssigkulturansatz von *Staphylococcus aureus* mit turbidimetrischer Bestimmung ermittelt worden. Dabei waren unter den gewählten Versuchsbedingungen während der Bebrütungsphase keine Aromastoffe geruchlich wahrnehmbar.

Zur Kontrolle der Versuchsmethodik wird die mikrobiologische Hemmwirkung der etherischen Öle von Cumin, Koriander und Kümmel bestimmt und mit Literaturwerten verglichen (s. Abb. 39). Die Angaben ppm beziehen sich dabei auf die Konzentration des etherischen Öls in der Messlösung. Die Optische Dichte ist die mit dem Faktor 1000 multiplizierte photometrische Extinktion.



**Abbildung 39:** Mikrobiologische Hemmwirkung der etherischen Öle von Cumin, Kümmel und Koriander auf *S. aureus*

Sieht man eine Optische Dichte von weniger als 100 als Nachweis einer ausreichenden Hemmwirkung an, so kann die folgende Aussage getroffen werden: Das Cuminöl ist wirksamer als Kümmel- und Korianderöl und vermag bereits ab Konzentrationen von 600 ppm das Wachstum von *S. aureus* wirksam zu hemmen. Für die gleiche Hemmwirkung werden vom Kümmelöl bereits 800 ppm und vom Korianderöl sogar 1200 ppm benötigt. Diese Angaben decken sich mit Literaturwerten und bestätigen die gewählte Versuchsanordnung [178,179].

Aufgrund der in Abschnitt 1 beschriebenen Bestandsaufnahme für Apiaceen ist erkennbar, dass sich die untersuchten Extrakte hinsichtlich des Gehaltes an etherischen Ölkomponenten nicht wesentlich unterscheiden, sondern die Unterschiede im Bereich der mitextrahierten bzw. mitdestillierten Komponenten zu suchen sind. So gibt es hinsichtlich der mikrobiologischen Hemmwirkung bereits erhebliche Unterschiede in Abhängigkeit davon, ob das zu testende Destillat ausschließlich als Wasserdampfdestillat (Kapitel E 3) oder im Rahmen der Simultanen Destillation-Extraktion (Kapitel E 1.4) hergestellt worden ist (s. Abb. 40).

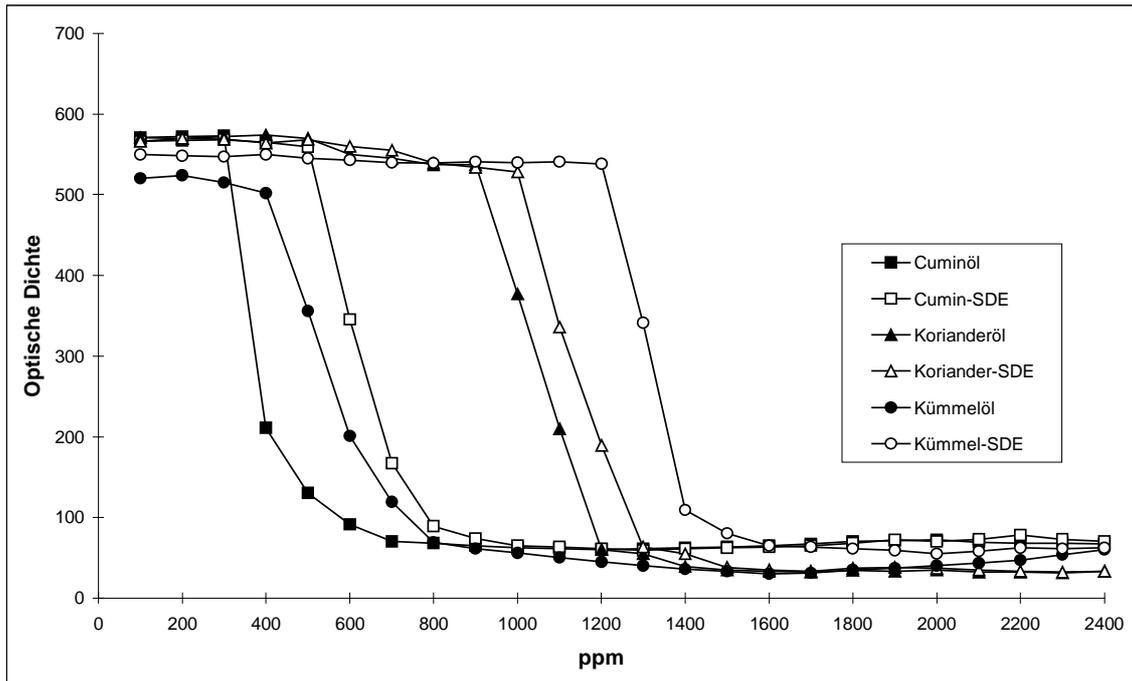


Abbildung 40: Mikrobiologische Hemmwirkung der durch Wasserdampfdestillation gewonnenen etherischen Öle von Cumin, Kümmel und Koriander im Vergleich zu den SDE-Destillaten

Bei allen untersuchten Pflanzenextrakten zeigt das SDE-Destillat eine zum Teil erheblich schlechtere mikrobiologische Hemmwirkung als das reine Wasserdampfdestillat.

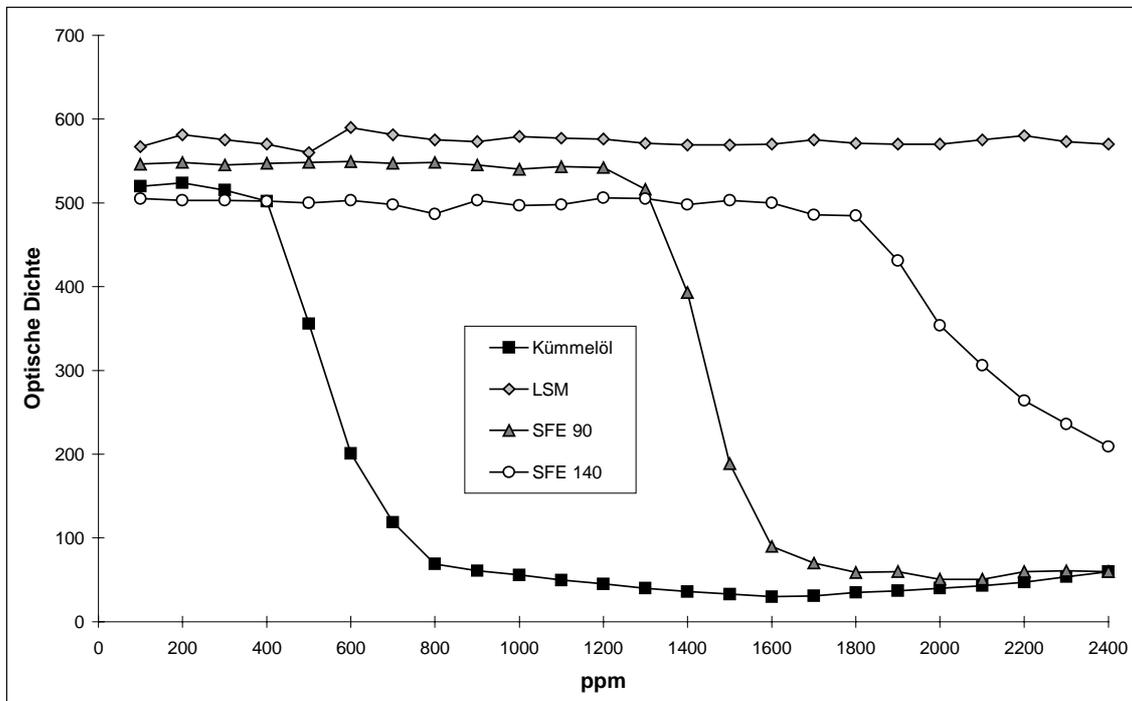


Abbildung 41: Mikrobiologische Hemmwirkung der unterschiedlichen Extrakte in Abhängigkeit vom Extraktionsverfahren am Beispiel von Kümmel

Zur Bestätigung der Aussage, dass das Extraktionsverfahren wesentlichen Einfluss auf die mikrobiologische Hemmwirkung besitzt, werden am Beispiel von Kümmel weitere Extrakte unter verschiedenen Bedingungen hergestellt und getestet. Dabei gelangen das ätherische Öl, ein mit 90 und 140 bar gewonnener Hochdruckextrakt (SFE 90 und SFE 140) sowie ein LSM-Extrakt (s. Kapitel E 1.2) zur Untersuchung (s. Abb. 41).

Die wesentlichen Unterschiede der Extrakte liegen in den in der Tabelle 34 dargestellten Stoffklassen. Mit zunehmender Konzentration an Fettsäuren, Kohlenwasserstoffen und anderen höhersiedenden Inhaltsstoffen sinkt die mikrobiologische Hemmwirkung des Extraktes.

**Tabelle 34:** *Zusammensetzung der unterschiedlichen Destillate und Extrakte am Beispiel von Kümmelfrüchten*

Verfahren	ätherisches Öl	Fettsäuren*	Kohlenwasserstoffe**	Höhsiedende Inhaltsstoffe u. Fette
<b>Eth. Öl</b>	3,7 %	0,01 %	0,01 %	-
<b>SDE</b>	3,8 %	0,01 %	0,01 %	-
<b>SFE 90</b>	3,6 %	0,03 %	0,02 %	0,5 %
<b>SFE 140</b>	3,7 %	0,06 %	0,03 %	2,6 %
<b>LSM</b>	3,7 %	0,08 %	0,03 %	16,6 %

\*auch als Fettsäuremethylester

\*\* ohne die Stoffklasse der Terpene und Terpenoxide

(Angaben in % bezogen auf die Frucht ermittelt durch Kapillar-GC bzw. cSFC)

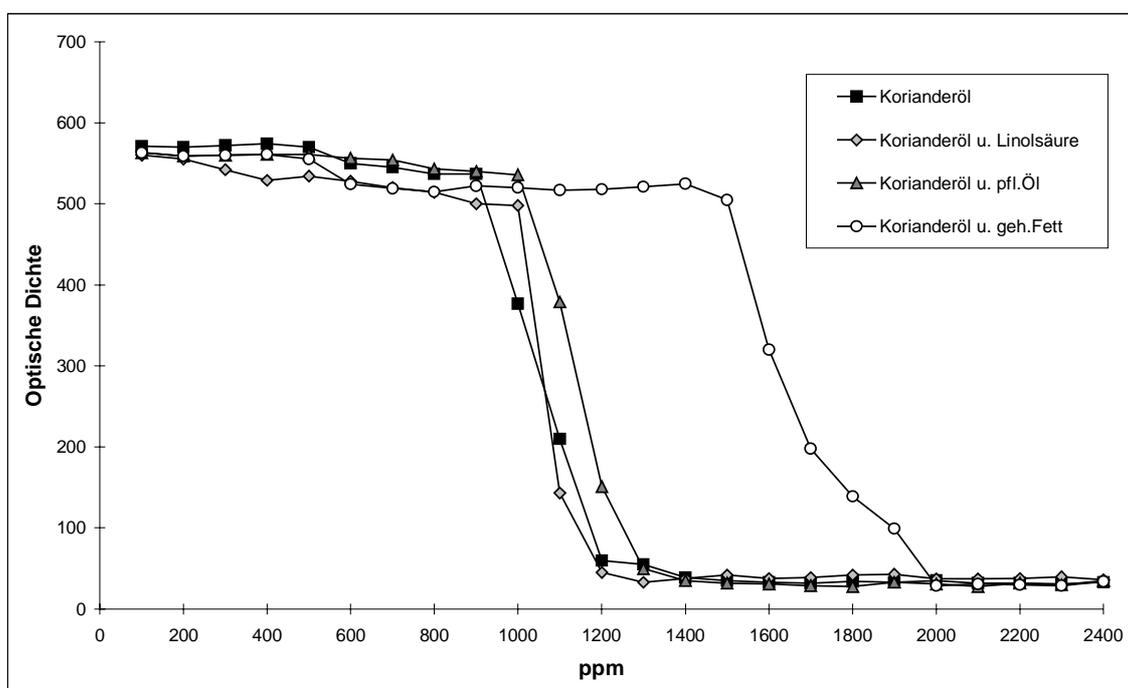
Zur Bestätigung dieser Beobachtung wird ein Soxhlet-Extrakt (s.Kapitel E 1.5) von Kümmelfrüchten hergestellt und für 90 Minuten im Trockenschrank bei 105 °C getrocknet. Der Trocknungsrückstand wird in Diethylether aufgenommen und frisch destilliertem Kümmelöl hinzugegeben. Bei der erneuten mikrobiologischen Testreihe im Konzentrationsbereich wie zuvor (0 bis 2400 ppm) kann keine mikrobiologische Hemmwirkung beobachtet werden.

**Tabelle 35:** *Auswirkungen der gewählten Destillations- und Extraktionsverfahren auf die mikrobiologische Hemmwirkung am Beispiel von Kümmelfrüchten*

Anreicherungsverfahren	Beginn der mikrobiologischen Hemmwirkung bei: (Angabe in ppm)	Mikrobiologische Hemmung bei: (Angabe in ppm)
Wasserdampfdestillat	500	800
SDE	1300	1500
SFE 90	1400	1600
SFE 140	1900	> 2400
Wasserdampfdestillat und Trocknungsrückstand	> 2400	> 2400
Lösungsmittelextrakt	> 2400	> 2400

Somit ergibt sich aufgrund dieser Testreihen das in Tabelle 35 aufgeführte Gesamtergebnis bezüglich der mikrobiologischen Hemmwirkung von Kümmel-extrakten. Die Reihenfolge ist nicht nur bei Kümmel-extrakten zu beobachten, sondern kann bei Cumin- und Koriander-extrakten bestätigt werden.

Zur weiteren Charakterisierung der die mikrobiologische Hemmwirkung beeinflussenden Stoffe erfolgt die Zugabe von je 20 ppm 9,12 - Linolsäure, pflanzlichem Salatöl und gehärtetem Fritierfett zum etherischen Öl. Die Ergebnisse sind am Beispiel von Korianderöl in Abb. 42 dargestellt.



**Abbildung 42:** *Beeinflussung der mikrobiologischen Hemmwirkung des etherischen Öles von Koriander durch Zugabe lipophiler Substanzen in der Konzentration von 20 ppm*

Die Zugabe von Linolsäure bzw. Salatöl zu Korianderöl bewirken keine signifikante mikrobiologische Wachstumshemmung von *S. aureus*. Die Grafik beweist jedoch, dass bereits 20 ppm gehärtetes Fritierfett die Hemmwirkung von Korianderöl deutlich beeinträchtigt. Bei noch höherer Zugabe von gehärtetem Fett kann die Hemmwirkung im gewählten Konzentrationsbereich sogar vollständig aufgehoben werden. Alle Aussagen sind im jeweiligen Konzentrationsbereich auch für Cumin- und Kümmelöl gültig.

### 3.4 Untersuchungen zur Aromaqualität

#### 3.4.1 Profilanalyse

Es werden mit drei unterschiedlichen Anreicherungsverfahren (Wasserdampfdestillation, CO<sub>2</sub>-Hochdruckextraktion und Lösungsmittelextraktion) von jeder Pflanze Extrakte und Destillate hergestellt und geruchlich beurteilt. Die Gesamtheit des Geruchseindrucks beträgt immer 100. Anhand einer Skalierung von Null (nicht wahrnehmbar) bis Siebzig (deutlich wahrnehmbarer Geruchseindruck) soll die Ausprägung der neun wesentlichen Geruchsqualitäten das Aroma beschreiben.

In den folgenden Abbildungen ist, jeweils auf eine Pflanze und die drei Extraktionsverfahren bezogen, die Profilanalyse in Form von Säulendiagrammen dargestellt. Dabei werden die Geruchseindrücke in neun Kategorien zusammengefasst und jede Kategorie in ihrer Ausprägung im SFE- und LSM-Extrakt sowie im SDE-Destillat bewertet.

- Frisch - umfasst alle frischen, grünen und herben Noten
- Würzig - umfasst alle würzigen, aromatischen und etherischen Noten
- Holzige - umfasst alle warmen, schweren und balsamigen Noten
- Modrig - umfasst alle negativen Noten, insbesondere modrig, muffig, schweißig, stinkig, aber auch phenolisch und beißend

Die negativ bewerteten Geruchseindrücke finden sich jeweils auf der rechten Seite der Grafik. Die Verhältnisse / Intensitäten aller Geruchseindrücke zueinander sind aufgrund gleicher Skalierung direkt vergleichbar.

Am Beispiel des Aromaprofiles von Anis (s. Abb. 43) ist zu erkennen, dass die positiv bewerteten Geruchseindrücke (frisch, fruchtig, würzig, blumig, süßlich und holzig) im Destillat schwächer ausgeprägt sind als im SFE- bzw. LSM-Extrakt. Im Gegensatz dazu sind die negativ bewerteten Geruchseindrücke (modrig und Kochnote) stärker ausgeprägt. Der Geruchseindruck „Kochnote“ erscheint nur im Destillat, spielt bei den schonenderen Extraktionsverfahren keine Rolle und ist somit auf ein Fehl aroma zurückzuführen, welches im Destillationsverlauf gebildet wird und dem Destillat dominierend anhaftet. Der „character impact compound“ (CIC) Geruch „anisartig“, wesentlich bedingt durch die Hauptkomponente trans-Anethol, ist ebenfalls im Destillat stärker vorhanden.

Somit weist das Gesamtaroma des Destillates deutliche Unterschiede auf im Vergleich zu den SFE- und LSM-Extrakten. Diese Unterschiede sind auf das Fehlen bestimmter Aromanoten (frisch, süßlich und holzig) einerseits sowie eine dominierende Anisnote und ein begleitendes Fehl aroma andererseits zurückzuführen. Als Ursache für die schlechtere Qualität des Destillates ist das Destillationsverfahren an sich anzuführen.

Im Gegensatz dazu sind die qualitativen Unterschiede zwischen dem SFE- und LSM-Extrakt erheblich geringer. Im SFE-Extrakt überwiegt die fruchtige Note, es fehlt jedoch der warm-holzige Geruchseindruck des LSM-Extraktes.

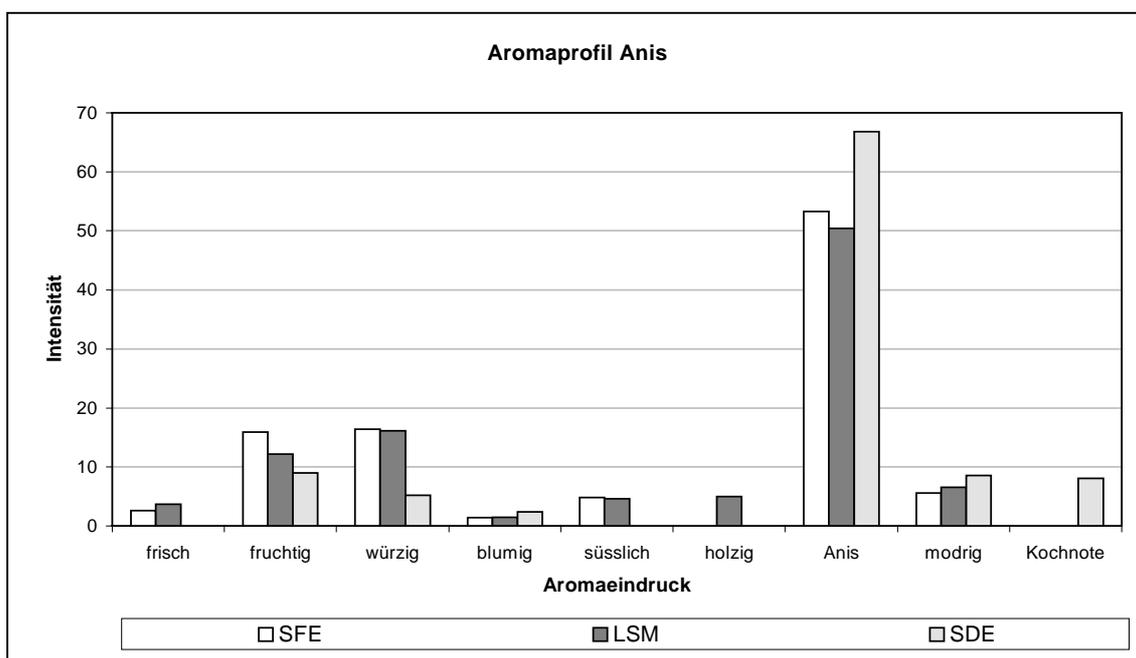
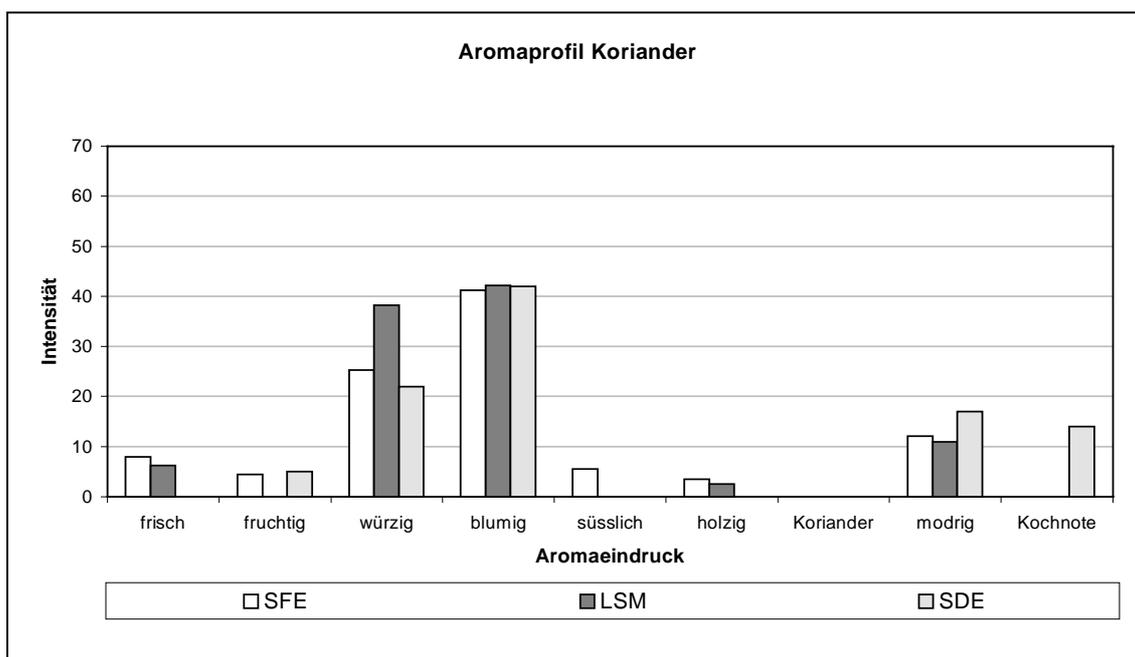


Abbildung 43: Aromaprofile von Destillaten und Extrakten aus Anisfrüchten

Im Vergleich zu den Aromaprofilen der Anisfrüchte weisen die der Korianderfrüchte einen wesentlichen Unterschied auf: Im Korianderdestillat/-extrakt gibt es keine CIC und somit keine dominierende Leitsubstanz. Der Geruchseindruck setzt sich somit aus mehreren Einzelkomponenten unterschiedlicher Konzentrationen zusammen, die in einem empfindlichen Gleichgewicht zueinander stehen. Deshalb sind Aromaveränderungen, z.B. bedingt durch Lagerung der Früchte oder durch das Destillationsverfahren, beim Koriander leichter wahrnehmbar als beim Anis.

Auch bei den Korianderfrüchten (Aromaprofil s. Abb. 44) fehlen im Destillat wichtige, positiv zu bewertende Geruchskomponenten (frisch, süßlich und holzig), bzw. sind als negativer Geruchseindruck überproportional stark vertreten (modrig). Ferner findet sich auch in diesem Destillat das durch das Destillationsverfahren bedingte Fehl aroma

„Kochnote“ deutlich wieder. Die Kochnote wirkt beim Korianderdestillat sehr dominant und führt ebenfalls zu der bereits beschriebenen Qualitätsminderung.



**Abbildung 44:** Aromaprofile von Destillaten und Extrakten aus Korianderfrüchten

Das Aromaprofil der Cuminfrüchte (s. Abb. 45) zeigt bei allen drei Anreicherungsverfahren die deutliche Dominanz von drei wesentlichen Geruchseindrücken: Cuminartig, modrig und würzig. Dabei ist auffällig, dass der negativ bewertete Aromaeindruck „modrig“ bei allen Extrakten und Destillaten stärker hervortritt als der Aromaeindruck „Cumin“, offensichtlich ein Ergebnis des bereits in der Literatur beschriebenen Aromaeindrucks „irritating, slightly pungent“ [180].

Auch hier fehlen im Destillat positive Geruchseindrücke (süßlich und holzig), dafür finden sich ein fruchtiger Geruchseindruck sowie die bereits erwähnte Kochnote. Auffällig ist weiterhin, dass im Destillat der Cuminfrüchte die Kochnote zwar ebenfalls zu einer Qualitätsminderung im Vergleich zu den LSM- und SFE-Extrakten führt, jedoch in seiner Auswirkung weniger bedeutsam erscheint als bei den zuvor beschriebenen Destillaten von Anis und Koriander.

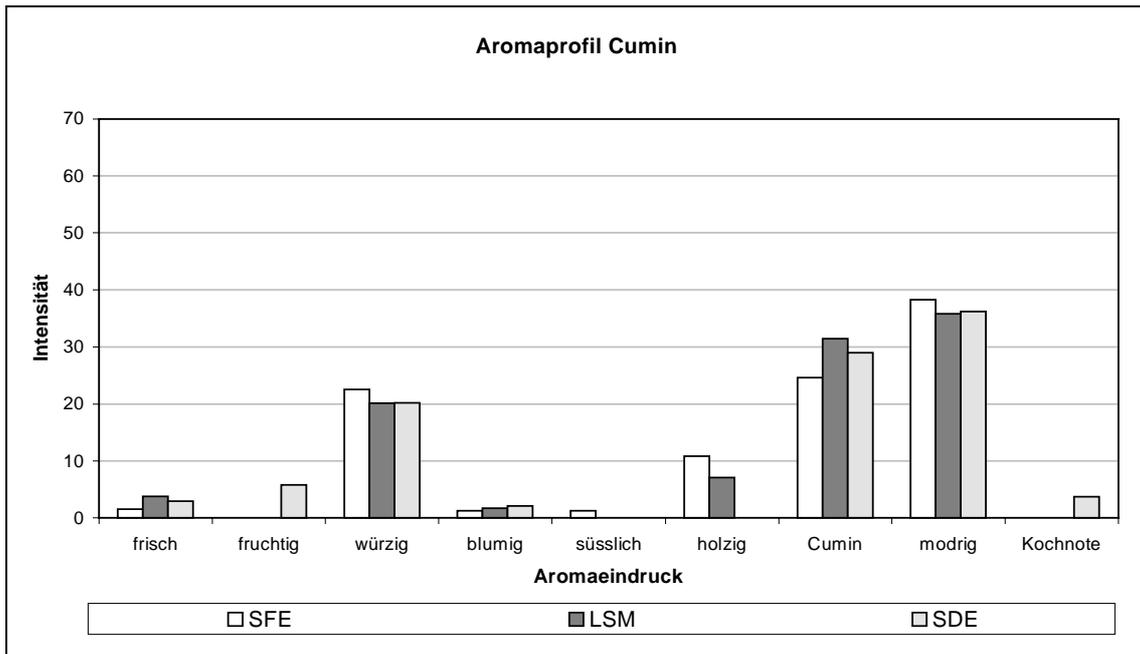


Abbildung 45: Aromaprofile von Destillaten und Extrakten aus Cuminfrüchten

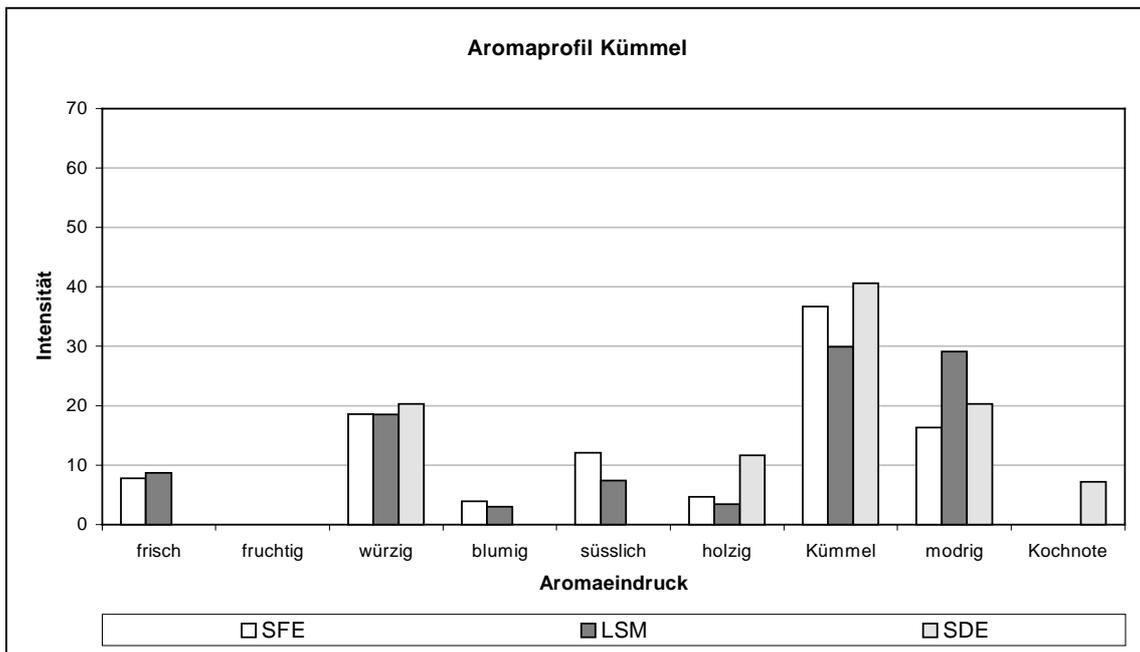


Abbildung 46: Aromaprofile von Destillaten und Extrakten aus Kümmelfrüchten

Die Aromaprofile der Kümmelfrucht zeigen hinsichtlich der SFE- und LSM-Extrakte weitestgehende Übereinstimmung, die Aromaqualität des Destillates weicht jedoch auch bei dieser Pflanze deutlich ab. Es fehlen auch hier positiv bewertete Geruchseindrücke (frisch, blumig, süßlich) bei gleichzeitiger Anwesenheit einer deutlich wahrnehmbaren Kochnote.

Für die Destillate der Asteraceen-Blüten ist einleitend ein wesentlicher Unterschied zu denen der Apiaceen-Früchte festzustellen. Nach EuAB müssen für die quantitative Gewinnung des etherischen Öles bei der Schafgarbe 180 Minuten und bei der Kamille sogar 240 Minuten destilliert werden (s. Kapitel E 1.4), d.h. dass die thermische Belastung dieser Destillate, bedingt durch die Destillationsdauer, nochmals höher ist. Ferner enthalten die Asteraceen-Blüten nicht soviel lipophile Begleitstoffe wie die Apiaceen-Früchte.

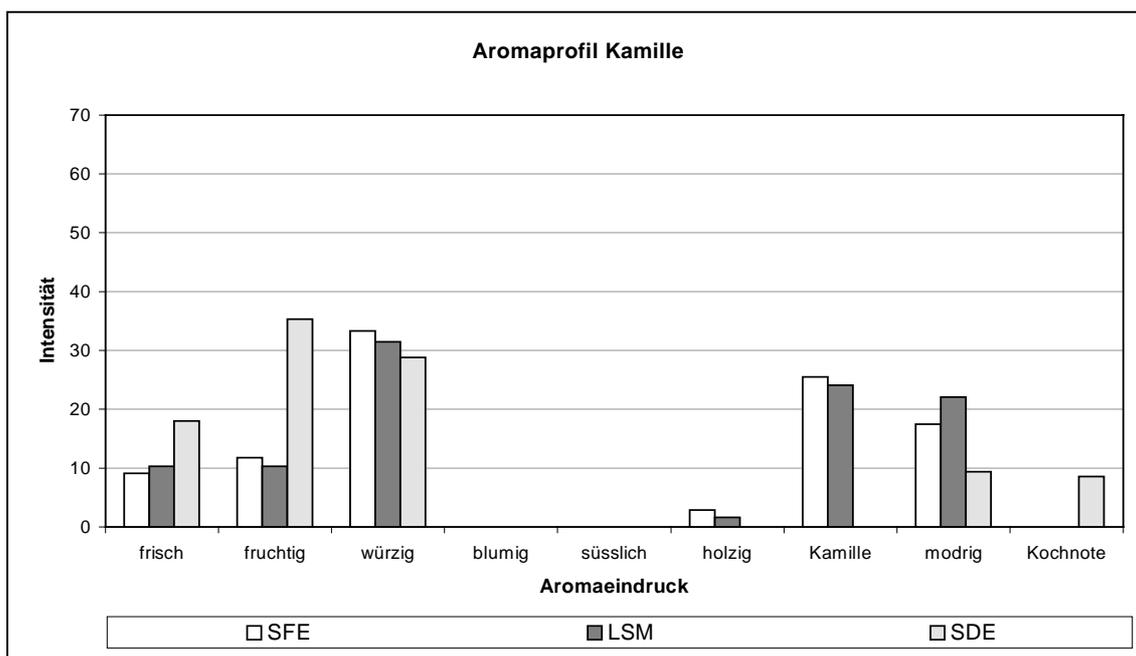


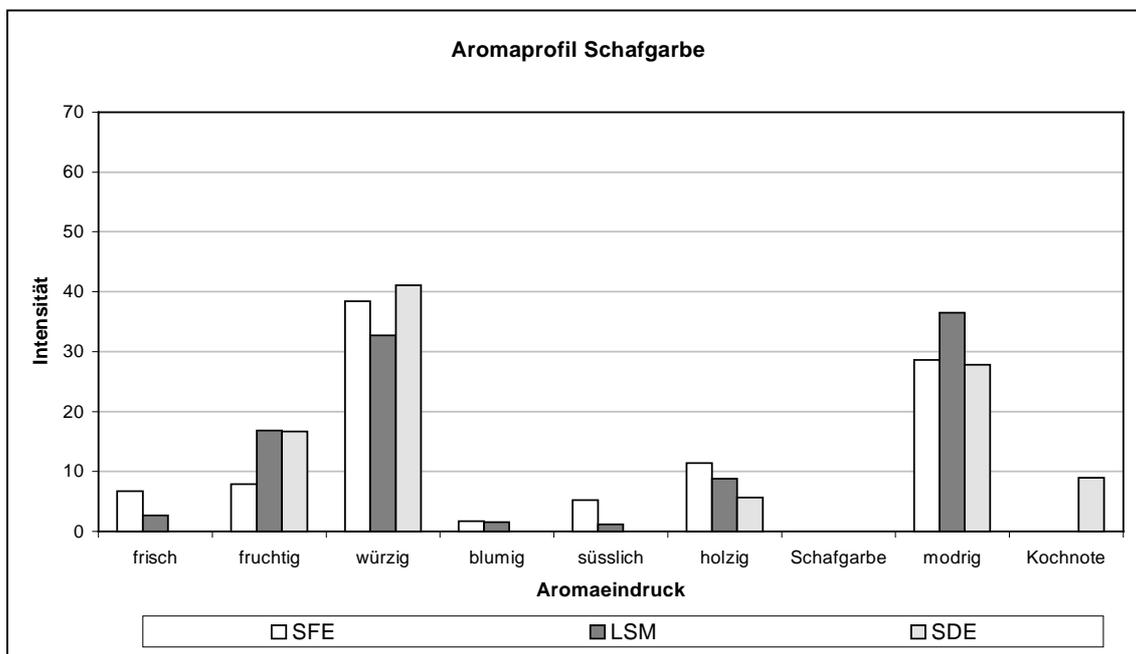
Abbildung 47: Aromaprofile von Destillaten und Extrakten aus Kamillenblüten

Es zeigt sich, dass die SFE- und LSM-Extrakte aus den Blütenköpfchen der Kamille bezüglich ihrer Aromaqualität keine Unterschiede aufweisen und zumindest bei dieser Art der Darstellung als annähernd gleichwertig erscheinen.

Im Unterschied dazu findet sich im Destillat eine völlig andere Qualität wieder. Es fehlt nicht nur ein als positiv empfundener Geruchseindruck (holzig), sondern es fehlen vor allem die Komponenten, die beim LSM- und beim SFE-Extrakt den kamilletypischen Geruch ausmachen und somit aromaprägend wirken. Der Geruchseindruck „kamilletypisch“ ist im Destillat nicht wahrnehmbar. Stattdessen findet sich das für die Destillation typische Kocharoma auch bei der Kamille wieder, in diesem Fall jedoch so stark ausgeprägt, dass der Geruch „kamilletypisch“ überlagert wird.

Das Kamillearoma ist weiterhin charakterisiert durch eine hohe Konzentration niedrig siedender Komponenten (Geruchseindrücke frisch, fruchtig und würzig), während

Komponenten im höher siedenden Bereich (holzig und kamilleartig) weniger stark vertreten sind.



**Abbildung 48:** Aromaprofile von Destillaten und Extrakten aus Schafgarbenblüten

Die Aromaprofile der Schafgarbenblüten zeigen, dass es bei dieser Asteraceae ebenfalls keine dominierende CIC gibt und sich das Aroma somit aus mehreren Einzelkomponenten zusammensetzt. Analog zur Kamille gibt es auch bei den Aromaprofilen dieser Blütenköpfchen eine große Übereinstimmungen zwischen denen der LSM- und der SFE-Extrakte. Im Destillat hingegen fehlen wichtige Geruchseindrücke (frisch, blumig und süßlich), so dass die zusätzliche Kochnote das Gesamtaroma so stark beherrscht, dass der „schafgarbetypische“ Geruchseindruck nicht mehr wahrgenommen werden kann.

Wird diesem Instrument der sensorischen Beurteilung ein chemisch analytisches Instrument in Form der Sniffing-GC gegenübergestellt, so ergibt sich eine fast vollständige Übereinstimmung der Aromaprofile des Hochdruckextraktes und des SDE-Destillates, wenn am Sniffing-GC 1 µl der Stammlösung injiziert und abgerochen werden und die wahrgenommenen Geruchseindrücke in o.a. Geruchskategorien unterteilt und zugeordnet sowie die Dauer des Geruchseindrucks als Kriterium für die Intensität des Aromaeindrucks gesetzt werden.

Somit ergibt sich unabhängig davon, welche Pflanzen und Pflanzenbestandteile untersucht werden, ein unterschiedlich starker Einfluss, den das jeweilig angewendete Anreicherungsverfahren auf die Aromaqualität des etherischen Öles ausübt. Wenn die Pflanzenbestandteile einer Destillation unterzogen werden, so ist das gewonnene Destillat aufgrund der Bildung von Artefakten und dem Fehlen aromaaktiver Substanzen im Vergleich zu anderen Extrakten in seiner Aromaqualität als minderwertig einzustufen. Bei allen sechs untersuchten Pflanzen ist diese Minderwertigkeit des Destillates sensorisch deutlich wahrnehmbar, unabhängig vom Pflanzenbestandteil sowie von der Zusammensetzung des etherischen Öles. Der Grund der Qualitätsminderung liegt in allen untersuchten Pflanzen einerseits begründet im Fehlen positiver Geruchseindrücke und andererseits an der intensiven Kochnote.

### **3.4.2 Beurteilung der Geruchsqualität in Abhängigkeit von der Zeit**

Ein weiterer wesentlicher Qualitätsunterschied, bedingt durch die Extraktionsverfahren, kann in den Aromaprofilidiagrammen nicht dargestellt werden. Dabei handelt es sich einerseits um die zeitliche Abfolge der Geruchseindrücke und andererseits um die damit verbundene Veränderung der Aromazusammensetzung in Abhängigkeit von der Zeit.

Zu unterscheiden sind dabei ebenfalls die Extrakte und Destillate, welche CIC's in großen Mengen enthalten (Anis, Kreuzkümmel und Kümmel) von denen, deren Aroma sich aus mehreren Komponenten zusammensetzt und somit ein empfindliches Gleichgewicht darstellen (Koriander, Kamille und Schafgarbe).

Bei der Beurteilung der Geruchsqualität gelangen auch Extrakte zur Anwendung, welche mit Hilfe des Soxhlet-Verfahrens (SOX) hergestellt worden sind und bei denen die lipophilen Begleitstoffe aufgrund des Anreicherungsverfahrens vollständig extrahiert worden sind.

Um die Abhängigkeit vom Zeitverlauf darzustellen, werden 200 µl des Extraktes bzw. Destillates auf ein Filterpapier aufgetragen und kontinuierlich alle 10 Sekunden über eine Gesamtdauer von zwei Minuten abgerochen. Der sich dabei verändernde Aromaeindruck wird nachfolgend beschrieben und in Abschnitten (I - IV, bzw. I - V) zusammengefasst.

**Tabelle 36:** Aromabeschreibung von Kamilleblütenextrakten, abhängig vom Zeitverlauf und Extraktionsverfahren

Kamille	I	II	III	IV	V
SFE	Grün, grasig, frisch	Würzig	Aromatisch	Heuartig	Nach Kamille
LSM	Grün, frisch	Würzig	Aromatisch		Nach Kamille
SOX	Grün, frisch	Würzig	Aromatisch		Nach Kamille
SDE	Kochnote, verbranntes Kraut			Heuartig	Nach Kamille, beißend

Am Beispiel der Kamille sind die fünf wesentlichen Abfolgen an Geruchseindrücken innerhalb der ersten zwei Minuten nach Auftragen auf das Filterpapier aufgeführt (s. Tab. 36). Dabei zeigen die Extrakte ein hohes Maß an Übereinstimmung. Lediglich der heuartige Geruchseindruck erscheint nur beim Hochdruckextrakt und beim Destillat. Typischerweise überlagert beim Destillat die Kochnote (verbranntes Kraut) zunächst alle anderen, leicht flüchtigen Geruchseindrücke, und erst nach mehr als einer Minute lässt sich nach einem heuartigen Aromaeindruck der Kamillegeruch wahrnehmen.

**Tabelle 37:** Aromabeschreibung von Schafgarbeblütenextrakten, abhängig vom Zeitverlauf und Extraktionsverfahren

Schafgarbe	I	II	III	IV
SFE	Grün, grasig, frisch	Heuartig	Aromatisch	Nach Schafgarbe
LSM	Grün, grasig, frisch	Heuartig	Aromatisch	Nach Schafgarbe, krautig
SOX	Grün, grasig, frisch	Heuartig	Aromatisch	Nach Schafgarbe, krautig
SDE	Kochnote, verbranntes Kraut			

Beim Destillat aus Schafgarbeblüten ist die nachhaltige Kochnote (verbranntes Kraut) aufgrund einer langen Destillationszeit (3 Stunden) und einem geringen Gehalt an ätherischem Öl (0,3 %) erwartungsgemäß noch stärker ausgeprägt als bei der Kamille. Dieser negative Geruchseindruck ist so dominant, dass beim Destillat der charakteristische Schafgarbe geruch auch gegen Ende der zwei Minuten immer noch nicht wahrnehmbar ist. Im Gegensatz dazu sind sich die Geruchsabfolgen der Extrakte sehr ähnlich und von großer Intensität. Insbesondere beim SOX- und der LSM-Extrakt ist nach einem kräftigen Schafgarbearoma zusätzlich eine krautige Komponente riechbar.

**Tabelle 38:** Aromabeschreibung von Korianderfrüchtenextrakten, abhängig vom Zeitverlauf und Extraktionsverfahren

Koriander	I	II	III	IV	V
SFE	Aromatisch	Würzig	Fruchtig, citrusartig	Nach Koriander	Aromatisch
LSM	Aromatisch	Würzig	Fruchtig, citrusartig	Nach Koriander	Aromatisch, würzig
SOX	-	-	Fruchtig, citrusartig	Nach Koriander, citrusartig	Nach Koriander, citrusartig
SDE	Kochnote	Würzig	Citrusartig	Nach Koriander	

Bei den Korianderfrüchten verhalten sich der SFE- und der LSM-Extrakt hinsichtlich ihres Aromaeindrucks sehr ähnlich. Lediglich der aromatische Geruchseindruck gegen Ende der zwei Minuten wird beim LSM-Extrakt noch unterstützt durch eine zusätzliche, würzige Komponente. Beim SOX-Extrakt fehlen die anfänglichen Aromaeindrücke aromatisch und würzig, dafür dauert der citrusartige Geruch länger an als bei allen anderen Extrakten und ergänzt die Koriandernote nachhaltig um diesen frischen Eindruck, so dass der Soxhlet-Extrakt als sehr hochwertig erscheint. Die Destillation führt dagegen zu negativen Veränderungen des Aromas: Eine anfängliche Kochnote überlagert den ersten Geruchseindruck Aromatisch und die Koriandernote wird nicht ergänzt oder unterstützt. Dem Gesamtaroma fehlt eine frische Komponente.

Beim Kümmel, Anis und Cumin sind aufgrund stark dominierender Hauptkomponenten weitergehende Differenzierungen und Detaillierungen nicht möglich.

Beim Anis ergibt sich bei den Extrakten eine sehr abgerundete Aromaqualität, im Destillat dagegen dominiert die Kochnote. Der Anisgeruch im Destillat ist niemals süßlich, aromatisch und warm, sondern immer stechend und aggressiv.

Beim Kümmel enthalten die Extrakte frische, citrusartige, aromatische Aromakomponenten mit hoher Qualität, im Gegensatz dazu riecht das Destillat verbrannt und stechend; der Kümmelton ist wahrnehmbar, aber zu keinem Zeitpunkt abgerundet und aromatisch.

Beim Cumin riechen alle Extrakte frisch und aromatisch nach Cumin. Auch hier riecht das Destillat verbrannt und wird als unangenehm stechend wahrgenommen.

Zur weitergehenden Beschreibung der Aromaqualität in Abhängigkeit von der Zeit wird folgender Versuch durchgeführt:

200 µl eines jeden Extraktes werden auf ein Filterpapier aufgetragen und nach definierten Zeitabständen abgerochen, erstmalig nach einer Minute (das Lösungsmittel Diethyl-

ether ist dann verdunstet) und letztmalig nach einer Woche. Während dieses Zeitraumes sind die Filterpapiere und die aufgegebenen Extrakte Licht und Luft ausgesetzt. Danach ergibt sich bei Zugrundelegung einer Bewertungsskala (1 - schlechte Aromaqualität; 5 - sehr gute Aromaqualität) von 1 bis 5 in Abhängigkeit von Zeit und Extraktionsverfahren der in Abb. 49 dargestellte Zusammenhang.

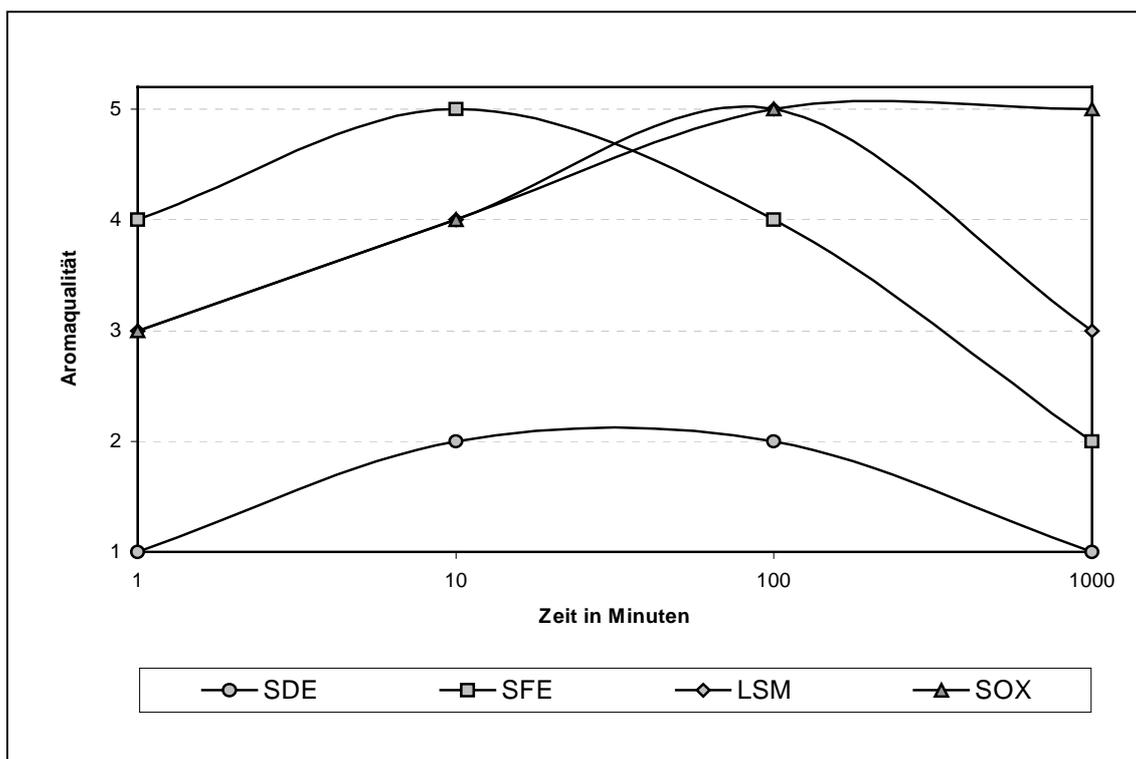


Abbildung 49: Veränderung der Aromaqualität in Abhängigkeit von Abriechzeit und Extraktionsverfahren

Nach Verdunsten des Lösungsmittels wird erstmalig nach 1 Minute abgerochen und ein Gesamturteil erstellt. Danach erreichen die SFE Extrakte nach ca. 10 Minuten ihre höchste Aromaqualität und fallen dann ab. Bereits innerhalb eines Tages (ca. 1.500 Minuten) verringert sich die Aromaqualität erheblich. Die Extrakte, welche mit den Extraktionsverfahren LSM und SOX hergestellt wurden, erreichen erst nach ca. 1½ Stunden (ca. 100 Minuten) ihr höchstes Qualitätsniveau. Nach ca. einem ¾ Tag (etwa 1.000 Minuten) fällt die Aromaqualität des LSM-Extraktes bereits ab, während die des SOX-Extraktes noch erhalten bleibt. Im Vergleich dazu erreichen die Destillate zu keinem Zeitpunkt eine hohe Qualitätsstufe. Die Kochnote dominiert hartnäckig auch noch nach mehreren Stunden und verhindert eine höhere Bewertung.

In der o.a. Abb. ist der Zeitraum 10.000 Minuten (1Woche) nicht mehr aufgetragen. Das liegt darin begründet, dass sich zu diesem Zeitpunkt die Extrakte und Destillate von Asteraceen-Blüten und Apiaceen-Früchten nicht mehr identisch verhalten.

Bei den Apiaceen sind bei Anis und Kümmel alle Extrakte und Destillate geruchslos geworden, d.h. das auch die Pflanze an sich nicht mehr identifizierbar ist. Beim Korian-der und Cumin dagegen sind nur die Destillate geruchslos, während die Extrakte von SFE, LSM und SOX riechen und qualitativ als annähernd gleichwertig bewertet werden. Im Unterschied dazu riechen sowohl bei Schafgarbe als auch bei Kamille alle Extrakte bzw. Destillate gleich. Die zu Anfang in den Destillaten sehr intensiven Kochnoten sind nicht mehr wahrnehmbar.

Damit kann nachgewiesen werden, dass ein Zusammenhang zwischen Aromaqualität und Anreicherungsverfahren besteht. Ferner wird gezeigt, dass sich die Aromaqualität im Laufe der Lagerzeit von 1 bis 10.000 Minuten in Abhängigkeit vom Anreicherungsverfahren einerseits und der Pflanze, bzw. der Etherisch-Öl Komponenten der extrahierten Pflanzenbestandteile andererseits verändert. Darüber hinaus kann grundsätzlich gesagt werden, dass sich die Aromaqualität des SFE-Extraktes schneller verändert als die der LSM- bzw. SOX-Extrakte.

Alle hier getroffenen Aussagen sind grundsätzlicher Art, beziehen sich auf alle sechs untersuchten Pflanzenbestandteile und zeigen den Einfluss des Anreicherungsverfahrens auf die Aromaqualität. Es darf aufgrund dieser Beobachtungen vermutet werden, dass das Anreicherungsverfahren zu stofflich unterschiedlich zusammengesetzten Extrakten bzw. Destillaten führt. Werden nun zur Bestimmung der Aromaqualität sensorische Analysenverfahren angewendet, die letztlich nach dem Prinzip der Flüchtigkeit eine Bewertung der Extrakte ermöglichen, so kann aufgezeigt werden, dass die Kinetik der Einzelkomponenten wie z.B. die Freisetzung aus der Extraktmatrix die Aromaqualität wesentlich beeinflussen.

### 3.4.3 SFE-Sniffing

Am Beispiel der SFE wird im Rahmen der Bestimmungen zur Aromaqualität mittels SFE-Sniffing untersucht, wann welche Aromastoffe und -eindrücke in Abhängigkeit von der Löslichkeit im überkritischen Kohlenstoffdioxid extrahiert werden. Die die Ex-

traktion von Stoffen aus einer Matrix beeinflussenden Parameter sind entsprechend den Versuchsbedingungen (Kapitel 2.2.5) konstant gehalten worden. Die dort beschriebene Schaltung (ohne chromatographische Trennung) ermöglicht sowohl das Abriechen der Aromastoffe über die Sniffing-Maske als auch die gleichzeitige Beobachtung der extrahierten Aromastoffe und co-extrahierten Begleitmatrix am FID. Jede Druckstufe wird für 15 Minuten konstant gehalten (die Extraktion ist dann noch nicht vollständig und erschöpfend), danach wird der Extraktionsdruck mit 20 bar/min bis zur nächsten Stufe gesteigert. Die höchste Druckstufe von 400 bar dient nur der annähernd vollständigen Extraktion und zugleich auch Reinigung des Extraktionssystems und hat für die Bewertung des Aromas keine Bedeutung. Da bereits bei 100 bar 25-30 ml CO<sub>2</sub> pro Minute ausströmen und der Gasfluss bei 220 bar auf mehr als 60 ml/min noch deutlich zunimmt, wurde zunächst geprüft, ob die hohen CO<sub>2</sub>-Gasflüsse die Wahrnehmung von aromaaktiven Substanzen nachteilig beeinflussen. Anhand der Kontrolle von Referenzsubstanzen konnte dieser Einfluss ausgeschlossen werden, nur bei zu intensivem Abriechen (wenn z.B. durch die Nase die Sniffing-Maske vollständig verschlossen wird und somit das gesamte CO<sub>2</sub> eingeatmet wird) gelangt über den Nasen-Rachen-Kanal etwas CO<sub>2</sub> auf die Zunge und erzeugt dort einen säuerlichen Geschmackseindruck.

In der nachfolgenden Tabelle (s. Tab. 39) sind die Elutionsreihenfolgen der Aromaeindrücke aller Bestandteile der sechs untersuchten Pflanzen dargestellt. Dabei wurden alle Druckstufen oberhalb von 220 bar ausgelassen, weil sich keine zusätzlichen Aromaeindrücke ergeben haben. Die hohe Druckstufe von 400 bar dient, wie oben erwähnt, ausschließlich der Reinigung des Extraktionssystems.

Die Geruchseindrücke bei den Kümmelfrüchten können mit Hilfe der SFE-Sniffing nicht differenziert werden. Der charakteristische Geruch des Carvons dominiert. Auch bei den Cuminfrüchten dominiert zunächst der starke, charakteristische Cumingeruch, lediglich ab 180 bar wird nach der Hauptkomponente ein Geruchseindruck „grün-grasig“ extrahiert.

Beim Anis beginnt die Extraktion bei 100 bar mit einem aromatischen, frisch-grünen Geruchseindruck, der bereits ab 120 bar vom Anisgeruch überlagert wird. Dieser Hauptgeruch ist ebenfalls so dominant, dass erst jenseits von 200 bar andere aromatisch-würzige Komponenten wahrgenommen werden können.

Bei der Schafgarbe sind bei allen Druckstufen z.T. ähnliche Geruchseindrücke (grün-grasig) zu beschreiben, teilweise ergänzt um heuartige und frische Wahrnehmungen. Eine weitergehende Differenzierung ist mittels SFE-Sniffing nicht möglich.

**Tabelle 39:** *Elutionsreihenfolge der Aromaeindrücke während der Hochdruckextraktion*

bar	Anis	Kümmel	Cumin	Kamille	Koriander	Schafgarbe
100	Aromatisch, frisch, grün			Aromatisch, etwas süßlich, dann schwach grün-grasig, fruchtig	Würzig, aromatisch	Schwach grün-grasig
120	Nach Anis	Nach Kümmel	Nach Cumin	Schwach nach Kamille	Aromatisch, nach Koriander, fruchtig, dann citrusartig	Grün, grasig
140	Schwach nach Anis	Nach Kümmel	Schwach nach Cumin	Schwach würzig, heuartig	Frisch, fruchtig, citrusartig	Grün, grasig, stärker werdend, heuartig
160	schwach nach Anis	Schwach nach Kümmel	Schwach nach Cumin, dann grün, grasig	Schwach würzig	Fruchtig, süßlich, schwächer werdend	Schwach grün-grasig
180	Nach Anis		Grün, grasig	Intensiv würzig, aromatisch, dann alkoholisch	Grün, frisch	Grün, grasig, heuartig, teilweise frisch
200	Schwach nach Anis		Grün, grasig	Intensiv würzig, aromatisch, Kamille	Intensiv grün, frisch	Intensiv grün-grasig, schwächer werdend
220	Schwach würzig, aromatisch			Kamille	Noch grün, frisch, schwächer werdend	
400*	Würzig, aromatisch			Kamille		metallisch

\* Die Druckstufen von 220 bis 400 bar sind sensorisch ohne Bedeutung; die noch wahrzunehmenden Geruchseindrücke oberhalb von 220 bar können in der Druckstufe von 400 bar, welche zugleich der Reinigung des Systems dient, zusammengefasst werden.

Die besten Differenzierungsmöglichkeiten ergeben sich bei der Extraktion von Kamilleblüten und Korianderfrüchten.

Zu Beginn der Extraktion bei 100 bar kann bei den Korianderfrüchten zunächst ein würzig-aromatischer Geruch wahrgenommen werden, der sich ab 120 bar in einen frischen und citrusartigen Geruch verändert. Während der typische Koriandergeruch schon ab 120 bar vorüber ist, wird die citrusartige und fruchtige Komponente noch länger bis 140 bar extrahiert. Der fruchtige Geruchseindruck ist sogar noch bei 160 bar wahr-

nehmbar und wird um eine süßlich-schwere Komponente erweitert. Ab 180 bar verändert sich der Geruchseindruck vollständig: Eine grünlich-frische Note wird ab 180 bar extrahiert und hat ihre höchste Konzentration bei ungefähr 200 bar, bevor sie bei 220 bar langsam verschwindet.

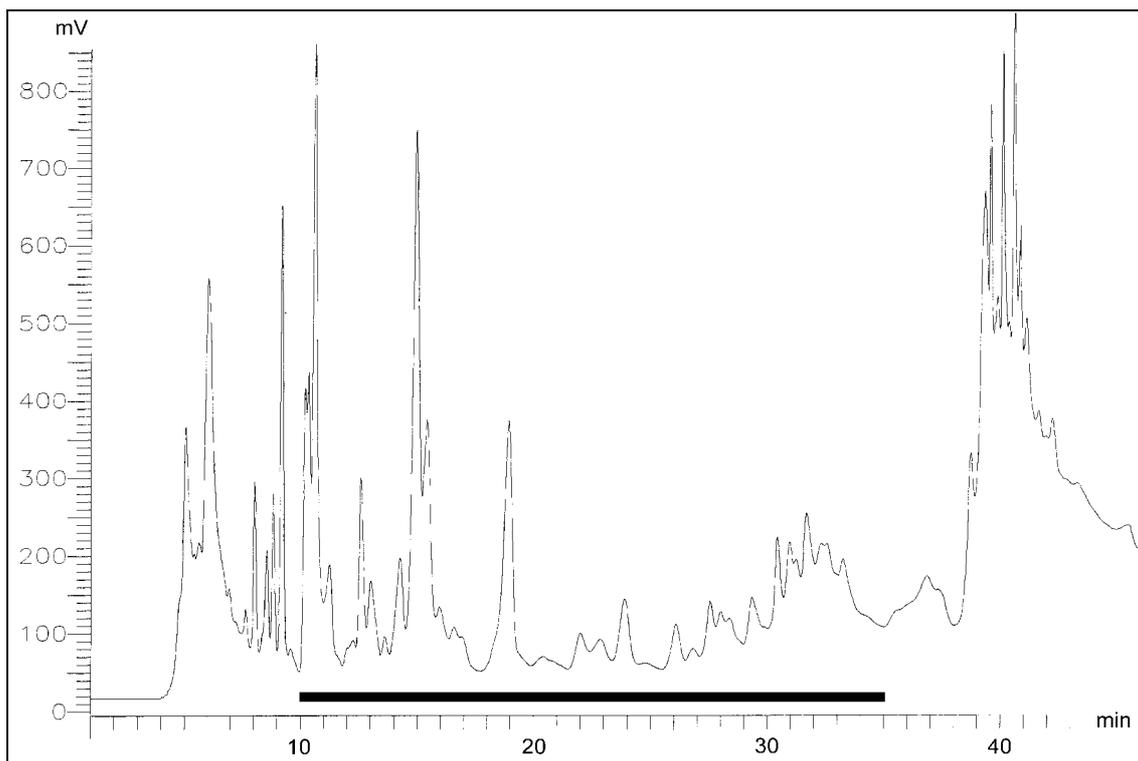
Bei der Kamille vermitteln die leicht extrahierbaren Komponenten bei 100 bar sehr unterschiedliche Geruchseindrücke: aromatisch-süßlich und dann grün-grasig, sogar schon sehr früh etwas fruchtig. Ab 120 bar wird erstmalig das kamilletypische Aroma wahrgenommen. Bereits ab 140 bar beginnt ein würzig-aromatischer Eindruck, der sich über mehrere Druckstufen verstärkt und erst ab 200 bar erneut durch ein kräftiges Kamillearoma abgelöst wird. Zusätzlich werden bei 140 bar eine heuartige Komponente und bei 180 bar eine stark alkoholisch riechende Komponente wahrgenommen.

Das SFE-Sniffing erlaubt jedoch keinen Rückschluss auf die Vollständigkeit der Extraktion, sondern beschränkt sich in seiner Aussage ausschließlich auf die Reihenfolge der eluierbaren, sensorisch wahrnehmbaren Stoffe in Abhängigkeit vom Extraktionsdruck. Die Substanzen, welche als erste eluieren, sind gut löslich in überkritischem CO<sub>2</sub>, sehr leicht aus der Matrix extrahierbar (sie befinden sich z.B. näher an der Oberfläche und haften nicht sehr stark an der Matrix) und stellen fast immer lipophile, kleine Moleküle dar.

#### 3.4.4 Sniffing-SFC

Alle bisherigen Ergebnisse basieren auf offline-Anwendungen, d.h. Extraktion und Chromatographie sind getrennt. Die folgende Grafik (s. Abb. 50) zeigt am Beispiel von Schafgarbeblüten eine online-SFE-cSFC Chromatographie mit FID und Sniffing-Detektion (Bedingungen s. Kapitel E 2.2.6), bei der die beim Sniffing wahrnehmbaren Aromastoffe in dem schwarz markierten Zeitraum von 10 bis 35 Minuten eluieren.

Die Online-Schaltung erweist sich gegenüber einer Sniffing-SFC, bei welcher der SFE-Extrakt über das timed-split Injektionsventil aufgegeben wird, als deutlich überlegen. Bei Aufgabe gleicher Extraktmengen wird in der nachfolgenden Tabelle (s. Tab. 40) der Unterschied zwischen den beiden Techniken dargestellt.



**Abbildung 50:** Online SFE-cSFC-FID am Beispiel von Schafgarbe (der schwarz markierte Bereich symbolisiert den Elutionszeitraum der Aromastoffe)

**Tabelle 40:** Vergleich der Geruchseindrücke von SFE-Extrakten (online und offline) mittels Sniffing-SFC am Beispiel von Schafgarbeblüten

Nr.	SFC-Sniffing	Zeit	Online-SFE-SFC-Sniffing	Zeit
1	-		Baldrianartig	13:35
2	-		Champignon	14:30
3	-		Champignon	15:45
4	Würzig, aromatisch	18:30	Würzig, aromatisch	17:25
5	-		Holzige	18:35
6	-		Eucalyptus	19:25
7	Schwach holzig	20:50	Holzige	20:00
8	Schwach aromatisch	21:25	Würzig, aromatisch	20:25
9	-		Holzige	20:45
10	Frisch, aromatisch	22:00	Citrusartig, frisch, fruchtig	21:15
11	Dumpf, modrig	23:30	Dumpf, modrig	23:35
12	Aromatisch, dann intensiv würzig	25:00	Frisch, grasig, dann würzig	24:20
13	-		Blumig	25:20
14	Fruchtig	27:10	Fruchtig	27:15
15	Schwach nach Vanille	28:00	Vanille	27:55
16	-		Holzige	28:15
17	-		Frisch, grün	29:40
18	Heuartig	30:00	Heuartig, dann aromatisch, würzig	30:45
19	Fruchtig	32:00	Grün, fruchtig	31:55
20	-		Heuartig, nach Schafgarbe	35:00

Die Online-Schaltung führt aufgrund der Injektionstechnik zu veränderten Retentionszeiten. Weiterhin werden deutlich mehr Geruchseindrücke wahrgenommen (20 statt 10) und anders geruchlich bewertet (Beispiel Nr. 10, 12 18 und 19 in Tabelle 40). Weil zu-

sätzlich bei der üblichen cSFC die Injektionsmenge volumenmäßig auf ca. 1 µl begrenzt ist, werden alle weiteren Versuche, die zur Bewertung der Aromaqualität mittels SFC erforderlich sind, mit der online-SFE-SFC durchgeführt.

Dazu werden die Aromaeindrücke in ihrer Zeitdauer erfasst und in acht Beschreibungen in Analogie zur Zusammensetzung der Aromaprofile (s. Kap. B 3.4.1) zusammengefasst. Es ist erkennbar, dass die Bewertung der Aromaqualität mittels SFC nicht nur von der Schaltungs- bzw. Injektionstechnik wie o.a. abhängt, sondern auch von den chromatographischen Eigenschaften des SFC-Systems.

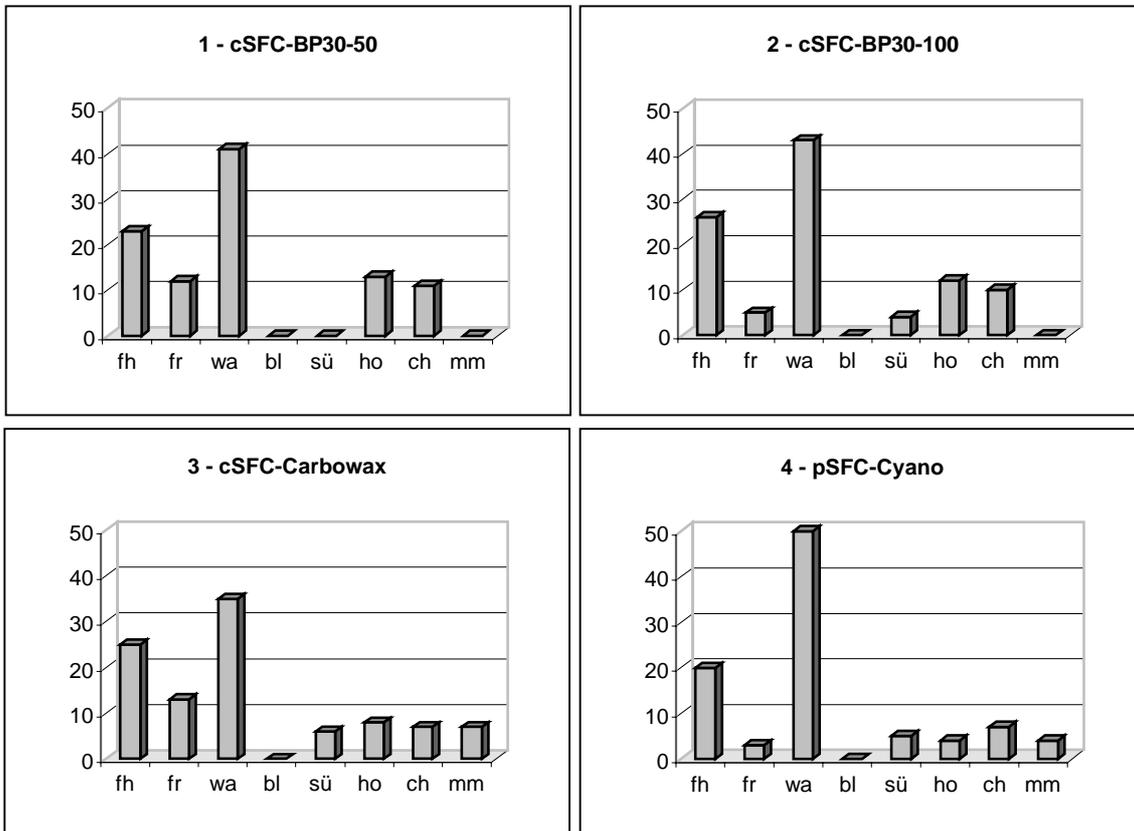
Die nachfolgenden Grafiken zeigen die unterschiedliche Bewertung der Aromaqualität von on-line Schafgarbe- und Cuminhochdruckextrakten in Abhängigkeit von den eingesetzten Trennsäulen (s. Abb. 51 und 53). Diese werden jeweils annähernd mit der gleichen Menge Extrakt beladen. Die Vergleichbarkeit ist sichergestellt durch die Berücksichtigung der Einwaage an Pflanzenmaterial in der Extraktionszelle sowie die Berücksichtigung des split-Verhältnisses im MPS 225 zum Zeitpunkt der Umschaltung vom Extraktions-Modus in den Chromatographie-Modus bei 100 bar. Die Gesamtzeit aller Aromaeindrücke pro Trennsystem stimmt bei allen Trennsäulen gut überein und liegt zwischen 800 und 900 Sekunden je Chromatogramm. Die Intensität des jeweiligen Aromaeindrucks ist prozentual dargestellt und einheitlich skaliert (y-Achse).

Beim Einsatz einer unpolare Kapillartrennsäulen (Säule 1 in Abb. 51) kann eine Aromabewertung erstellt werden, welche ausschließlich aus positiven Aromaeindrücken besteht und zunächst auch deshalb wenig differenziert erscheint, weil blumige, süßliche und negative Aromaeindrücke nicht wahrzunehmen sind.

Wird das Lumen der Säule vergrößert (doppelte Länge und doppelter Durchmesser) aber die gleiche Filmbeschichtung (30 % Biphenyl, 70 % Methylpolysiloxan, doppelte Filmdicke) verwendet (Säule 2), ist der Unterschied gering. Die größere und längere Trennsäule liefert zusätzlich einen süßlichen Aromaeindruck, wobei der fruchtige Eindruck weniger intensiv erscheint.

Die polare Carbowax-Säule (Säule 3) hingegen verändert den Aromaeindruck nachhaltig: Es können neben den süßlichen Komponenten wie bei Säule 2 erstmalig Komponenten mit einem negativen Eindruck, insbesondere mit der Beschreibung „muffig, modrig“, wahrgenommen werden. Zugleich bleibt der fruchtige Aromaeindruck so intensiv wie bei Säule 1.

Werden die Kapillaren gegen eine gepackte Säule mit polarem Material (Cyanophase) ausgetauscht, so treten die bei Säule 2 und 3 festgestellten Beobachtungen gemeinsam auf: es sind alle bisher beschriebenen Geruchseindrücke wahrnehmbar.



**Abbildung 51:**

*Aromaprofil von Schafgarbe-SFE-Extrakten, gewonnen mittels online SFE-SFC und abgerochen als Sniffing-SFC mit simultaner FID-Detektion*

*1 - Kapillare (50  $\mu\text{m}$  i.d.; 10 m; Dionex SB-Biphenyl 30)*

*2 - Kapillare (100  $\mu\text{m}$  i.d.; 20 m; Lee SB-Biphenyl 30)*

*3 - Kapillare (50  $\mu\text{m}$  i.d.; 10 m; Dionex Carbowax)*

*4 - gepackte Säule (1 mm i.d., 20 cm; Suprex Deltabond Cyanophase)*

*Abkürzungen in den Grafiken:*

*fh - frisch, grün, grasig, herb*

*fr - fruchtig*

*wa - würzig, aromatisch, etherisch*

*bl - blumig*

*sü - süßlich*

*ho - holzig, warm*

*ch - charakteristisch (daran kann die Pflanze identifiziert werden)*

*mm - muffig, modrige auch schweißige, negative Geruchseindrücke*

Um den Einfluss der aufgegebenen Extraktmenge hinsichtlich der Aromabewertung zu ermitteln, wird mit abgestuften Einwaagen an Schafgarbeblüten in die Extraktionszelle (Gewichtsangabe in den Überschriften der nachfolgenden Grafiken) der jeweilige Aromaeindruck aufgenommen (s. Abb. 52). Als Trennsystem wird die gepackte Säule (Cyanophase) im splitless-Modus eingesetzt.

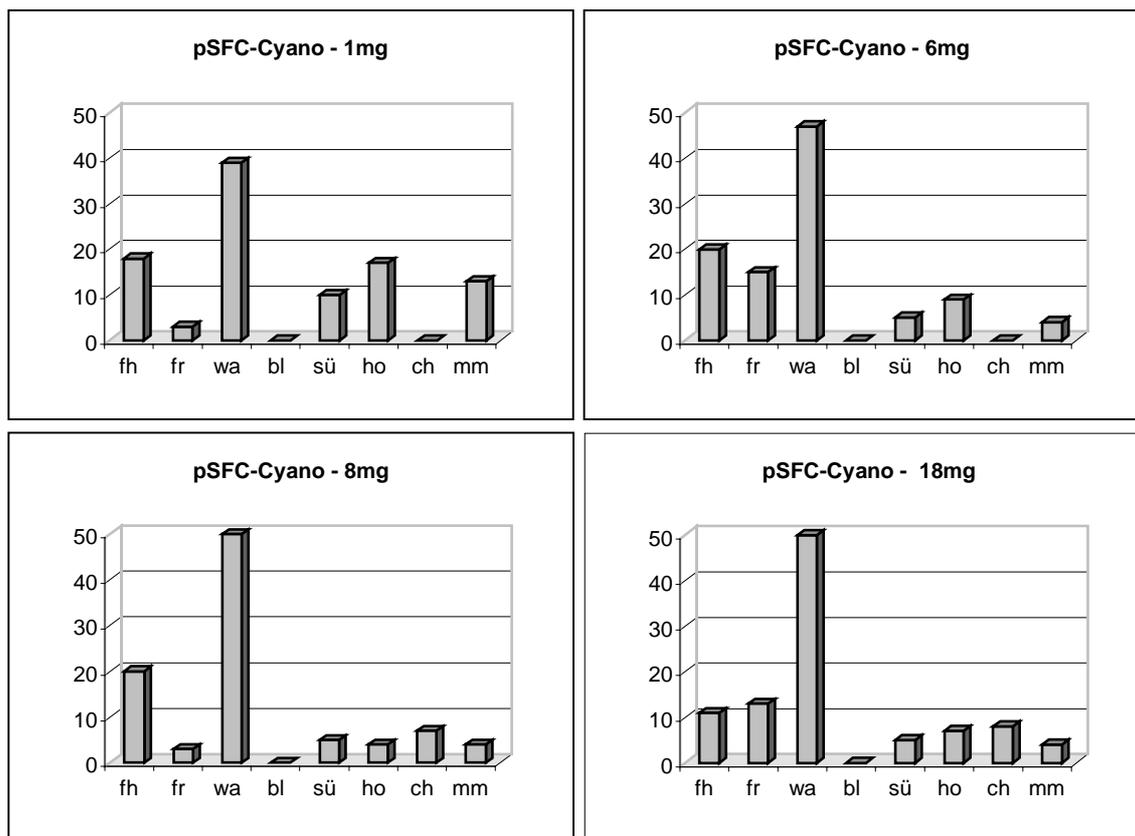


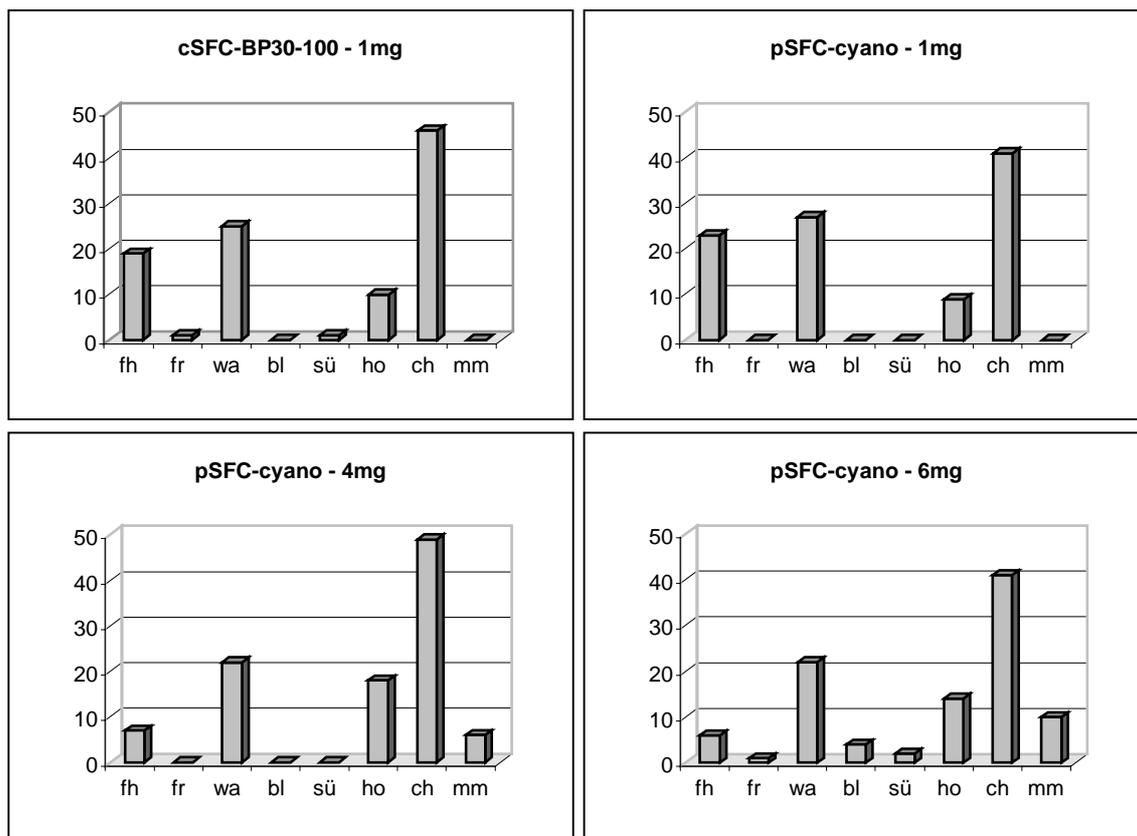
Abbildung 52:

*Aromaprofil von Schafgarbe-SFE-Extrakten mit verschiedenen Einwaagen, gewonnen mittels online SFE-SFC und abgerochen als Sniffing-SFC mit simultaner FID-Detektion*  
*Die Gewichtsangabe in der Überschrift gibt die Einwaagemenge an Schafgarbeblüten in die Extraktionszelle an (Modus: splitless).*  
*Trennsäule: gepackte Säule (1 mm i.d., 20 cm; Suprex Deltabond Cyanophase)*  
*Weitere Abkürzungen in den Grafiken: s. Abb. 51*

Die positiven Aromaeindrücke „frisch-herb“, „fruchtig“ und „würzig-aromatisch“ sind bei allen Konzentrationen wahrnehmbar und lediglich in der Intensität unterschiedlich. Die gleiche Aussage gilt für den negativen Aromaeindruck „muffig-modrig“. Dabei scheint der würzig-aromatische Eindruck in Korrelation zur Einwaage an Intensität zu gewinnen von etwa 39% bei 1 mg bis auf 57% bei 18 mg. Der blumige Aromaeindruck ist bei keiner Einwaage vertreten.

Auffällig ist weiterhin die Entwicklung des „charakteristischen“ Aromaeindruckes, dessen Intensität ebenfalls mit der Einwaagemenge korreliert (nicht wahrnehmbar bei 1 und 6 mg, 7% bei 8 mg und 8% bei 18 mg).

Untersuchungen am Beispiel von Kreuzkümmel-extrakten zeigen, dass die bisher gemachten Beobachtungen keine Eigenart des SFC-Sniffing-Systems darstellen, sondern auf das eingesetzte Pflanzenmaterial zurückzuführen sind (s. Abb. 53).

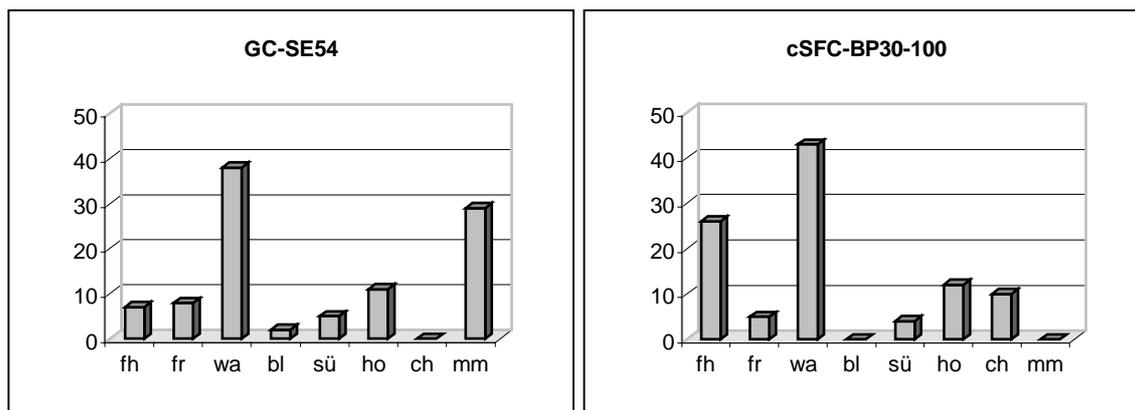


**Abbildung 53:** Aromaprofil von Kreuzkümmel-SFE-Extrakten mit verschiedenen Trennsystemen und Einwaagen, gewonnen mittels online SFE-SFC und abgerochen als Sniffing-SFC mit simultaner FID-Detektion  
 Weitere Abkürzungen in den Grafiken: s. Abb. 51 und 52

Die Aromaeindrücke bei Kreuzkümmel-extrakten sind unabhängig von den Trennsäulen (unpolare Kapillare Bild 1 - gepackte polare Säule Bild 2) annähernd identisch, sofern geringe Einwaagen (1 mg) online abgerochen werden. Mit steigender Einwaage (ab 4 mg) nimmt die Intensität des „frisch-herben“ Aromaeindrucks ab, zugleich wird erstmalig ein negativer Aromaeindruck wahrgenommen (muffig-modrig), dessen Intensität mit weiter steigender Einwaage (6 mg) zunimmt.

Im Vergleich des online SFE-SFC-Sniffing zum standardisierten GC-Sniffing ergeben sich wichtige Unterschiede, welche am Beispiel der Aromaprofile von Schafgarbe- und Kreuzkümmelhochdruckextrakten dargestellt werden.

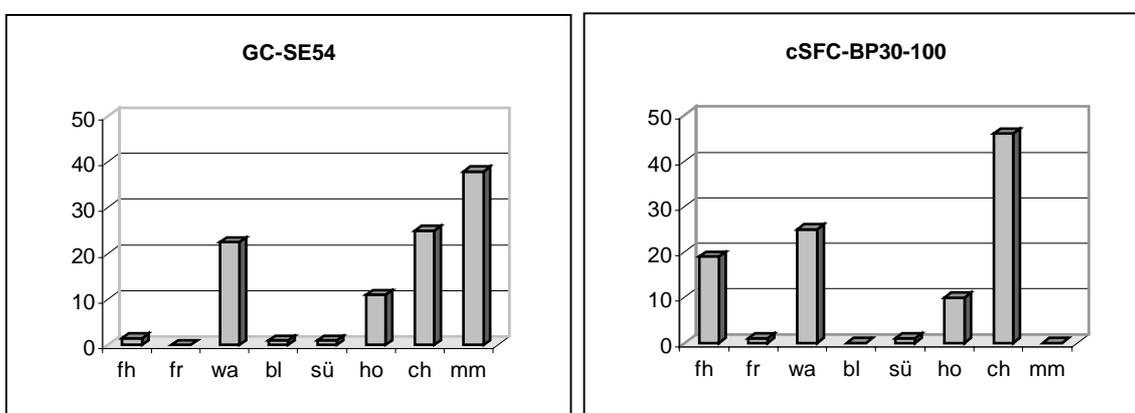
Dazu wird jeweils die gleiche Stoffmenge, bezogen auf 1 mg zur SFE eingesetztes Pflanzenmaterial, auf ein unpolares Trennsystem aufgegeben und abgerochen (s. Abb. 54). In der GC wird eine SE 54-Phase von Macherey & Nagel (100 % Methylpolysiloxan) und in der cSFC, wie in den Versuchen zuvor, die SB-Biphenyl Kapillare von Lee (i.d. 100 µm, 20 cm, 30 % Biphenyl, 70 % Methylpolysiloxan) eingesetzt.



**Abbildung 54:** Aromaprofil von Schafgarbe-SFE-Extrakten mit GC- und online SFE-SFC-Sniffing ermittelt  
 Weitere Abkürzungen in den Grafiken: s. Abb. 51 bis 53 und Text

Die Aromaeindrücke fruchtig, würzig-aromatisch, süßlich und holzig stimmen in ihrer Intensität bei beiden Systemen überein. Der blumige Aromaeindruck ist nur beim GC-Sniffing vorzufinden, allerdings nur sehr schwach ausgeprägt.

Die wesentlichen Unterschiede liegen in den frischen und herben (einschließlich grünen und grasigen) Aromaeindrücken, die mittels cSFC-Sniffing erheblich intensiver (26% zu 7%) wahrgenommen werden. Weiterhin ist der die Pflanze charakterisierende Aromaeindruck (ch) nur beim cSFC-Sniffing zu finden und fehlt vollständig beim GC-Verfahren. Da als weiterer wichtiger Unterschied der negative Aromaeindruck (alle modrigen, muffigen und schweißigen Komponenten) nur beim GC-Sniffing vorkommt, kann mittels cSFC-Sniffing ein Aromaprofil erstellt werden, welches dem natürlichen Aroma von Schafgarbehochdruckextrakten näher kommt als dasjenige, welches mit GC-Sniffing erstellt wurde.



**Abbildung 55:** Aromaprofil von Kreuzkümmel-SFE-Extrakten mit GC- und online SFE-SFC-Sniffing ermittelt  
 Weitere Abkürzungen in den Grafiken: s. Abb. 51 bis 53 und Text

Diese Aussage lässt sich durch die Untersuchung von Kreuzkümmelhochdruckextrakten erhärten (s. Abb. 55). Auch hier sind die Aromaeindrücke fruchtig, würzig-aromatisch, blumig, holzig und süßlich in der Intensität vergleichbar, der Aromaeindruck frisch-herb hingegen ist beim GC-Sniffing kaum vorzufinden. Die charakteristischen Aromaeindrücke sind beim SFC-Sniffing deutlich intensiver wahrnehmbar (46% zu 26%) und die negativen Aromaeindrücke (38 % beim GC-Sniffing) fehlen.

Im Ergebnis entsteht auch bei den Kreuzkümmelhochdruckextrakten ein mittels SFC-Sniffing erstelltes Aromaprofil, welches den gleichen Extrakt im Vergleich zu GC-Sniffing als hochwertiger erscheinen lässt.

### **3.4.5 Sniffing-GC-MS und Aromaverdünnungsanalyse mit Sniffing-GC-FID**

Zur Ermittlung der an der Ausbildung des Aromas beteiligten Verbindungen werden die Extrakte und Destillate aller untersuchten Bestandteile der sechs Pflanzen einer GC-MS-Sniffing Analyse unterworfen. Da die Aromaqualität von LSM- und SFE-Extrakten große Ähnlichkeiten aufweisen, werden hauptsächlich die Verfahren SFE und SDE miteinander verglichen.

Die Profilanalysen (Kap. B 3.4.1) lassen erhebliche Unterschiede in der Aromaqualität erkennen, welche wesentlich durch das Extraktionsverfahren bedingt sind. Um diese Unterschiede analytisch zu erfassen, werden Aromaverdünnungsanalysen durchgeführt, wobei jeweils die Extrakte und Destillate aus der gleichen Menge Rohstoff eingesetzt werden, um auf Basis dekadischer FD-Faktoren quantitative Unterschiede darzustellen. Die Ergebnisse beider Untersuchungsverfahren (Sniffing-GC-MS und Aromaverdünnungsanalyse) werden der entsprechenden Pflanze zugeordnet und tabellarisch vorgestellt.

#### **3.4.5.1 Anis**

Im sensorischen Gesamteindruck sind sich die LSM- und SFE-Extrakte der Anisfrüchte sehr ähnlich, während beim SDE-Extrakt die typische, sehr kräftige, süßlich-lakritzear-tige Anisnote von einer unangenehm dumpfen Röst- bzw. Kochnote begleitet wird.

Mittels Sniffing-GC-MS-Analyse lassen sich im SFE- und im SDE-Extrakt aus Anisfrüchten mindestens 33 geruchsaktive Substanzen eindeutig zuordnen (vgl. Tab. 41).

**Tabelle 41:** Geruchsaktive Komponenten in Extrakten (SFE) und Destillaten (SDE) aus Anisfrüchten

Nr.	R <sub>f</sub> TS3	Geruch	SFE <sup>a)</sup>	SDE <sup>a)</sup>	Aromastoff
1	763-780	fruchtig, süß, erdbeerartig	+	+	Methyl-2-Methylbutanoat
2	808-823	käsigt	+	+	3-Methylbuttersäure
3	839-854	fruchtig, erdbeerartig	+++	+++	Ethyl-2-Methylbutanoat
4	909-917	muffig, röstig, unangenehm	-	++	Methional
5	925-933	popcornartig	-	+	RT: 2-Acetyl-Pyrrolin?
6	984-993	champignonartig	+	+	RT: 1-Octen-3-on?
7	1059-1064	modrig, brenzlich, streng	-	++	Phenylacetaldehyd
8	1064-1068	schwach aromatisch	+	-	2-Hydroxy-Benzaldehyd ?
9	1102-1108	dumpf, rauchig, holzig	++	+	Guajacol
10	1105-1108	blumig	<sup>b)</sup>	++	Linalool
11	1109-1128	maggiartig	+	-	n. i.
12	1134-1138	alkoholisch, gärig	+	+	Phenylethanol
13	1152-1161	muffig, modrig	++	++	2-(Z)-Nonenal
14	1168-1171	modrig, dumpf, alt	++	++	2-(E)-Nonenal
15	1190-1197	erdig	+	+	Borneol
16	1210-1220	anisartig	++	++	Methylchavicol
17	1229-1235	dumpf	++	-	p-Methoxyphenol
18	1262-1267	muffig-modrig, schweißig	++	++	Cuminaldehyd ? <sup>c)</sup>
19	1275-1291	würzig, anisartig	++	++	Anisaldehyd
20	1300-1325	anisartig, süß	CIC <sup>f)</sup>	CIC <sup>f)</sup>	trans-Anethol
21	1340-1343	modrig, rauchig	-	+	Vinylguajacol
22	1388-1395	grillfleischartig	+	+	Methylanisat <sup>d)</sup>
23	1398-1406	herb, grün	+++	+	1-(p-Methoxyphenyl-)propan-2-on
24	1402-1406	fruchtig	<sup>e)</sup>	-	RT: β-Damascenon
25	1420-1433	vanilleartig	+++	+	Vanillin
26	1473-1484	herb, grün	+	-	2,5-Dimethoxybenzaldehyd
27	1485-1493	metallisch, grillfleischartig	+++	+	n. i.
28	1527-1542	grillfleischartig, rauchig	+	+	E-Pseudo-Isoeugenol
29	1576-1590	grün, herb, metallisch	+++	+	n.i. (m/e 135-92,107,77,180)
30	1594-1604	fruchtig, terpentin, säuerlich	+	-	n.i. (m/e 137,109, 77,94,182)
31	1614-1633	schwach aromatisch	+	+	n. i.
32	1698-1708	aromatisch, schwach anisartig	+	-	n.i. (m/e 137,43,109,77,94,214)
33	1810-1825	fruchtig, exotisch	+	+	pseudo-Isovanillyl-2-Methylbutanoat

<sup>a)</sup> + - in Stammlösung bzw. bei SFE auch in Verdünnung 1:10,  
 ++ - in Verdünnung 1:100,  
 +++ - in Verdünnung 1:1000 wahrnehmbar;

<sup>b)</sup> Geruch vom intensiveren Guajacol überdeckt;

<sup>c)</sup> mögliche Verunreinigung aus Cuminproben;

<sup>d)</sup> evtl. ist hier auch 5-Methoxy-2-Methylbenzofuran am Geruch beteiligt;

<sup>e)</sup> Die Kieselgelfraktionierung zeigt, dass im SFE-Extrakt hier zwei geruchsaktive Komponenten co-eluieren (Nr. 23a „fruchtig“ in F1-3 und Nr. 23 „grün“ in F4), der Sniffing-Eindruck im SFE-Gesamtextrakt ändert sich hier von grün nach fruchtig;

<sup>f)</sup> CIC - Character impact compound (Leitsubstanz).

Einige weitere Geruchseindrücke (z.B. beim Anisalkohol,  $\beta$ -Jonon,  $\alpha$ -Curcumen-2,3-epoxid und  $\beta$ -Himachalen-8-ol) waren bei Wiederholung der Sniffing-Analysen nicht hinreichend reproduzierbar und fanden daher keine Berücksichtigung.

Die sensorische Leitsubstanz („character impact compound“) der untersuchten Extrakte ist wie erwartet das trans-Anethol. Daneben ist auch das Ethyl-2-Methylbutanoat noch in 1000-facher Verdünnung der Stammlösungen (10 g Anisfrucht/ml Ether) geruchsaktiv. Im SFE-Extrakt können weiterhin dem Vanillin, der Peakgruppe 1-(p-Methoxyphenyl-)propan-2-on und  $\beta$ -Damascenon sowie 2 nicht identifizierte, schwerere flüchtige Komponenten (Nr. 27 und 29) ein recht deutlicher Aromabeitrag zugeschrieben werden. Besonders das Vanillin dürfte mit seiner süßlichen Hintergrundnote sehr zur Abrundung des Anisaromas beitragen. Im SDE-Extrakt ist Vanillin massenspektrometrisch nicht nachweisbar, wenngleich der typische Geruch beim Abriechen der Stammlösung zur entsprechenden Retentionszeit noch schwach vorhanden war. Darüber hinaus tragen auch Anisaldehyd, Methylchavicol und die isomeren 2-Nonenale (Nr. 13, 14, 16 und 19) zur Abrundung des Anisaromas in nennenswertem Umfang bei.

Guajacol und p-Methoxyphenol treten besonders im SFE-Extrakt sowohl in quantitativer Hinsicht als auch geruchlich hervor, wogegen ihr sensorischer Beitrag im SDE-Extrakt eher unbedeutend ist. Der starke Geruchseindruck des Guajacols überdeckt bei der Analyse des SFE-Extraktes den Geruch des Monoterpenalkohols Linalool fast völlig, während die „blumige“ Note des Linalools im SDE-Extrakt recht gut wahrnehmbar ist. Der als 2,5-Dimethoxybenzaldehyd identifizierte Substanz wird ein „herb, grüner“ Geruch zugeordnet. Dieser Aldehyd ist nur im SFE-Extrakt nachweisbar, was mit den Befunden für Vanillin korrespondiert. Unter den erstmals in Anis identifizierten Komponenten können dem E-Pseudo-Isoeugenol eine „rauchig-brenzlige“, in Verdünnung an „Grillfleisch“ erinnernde Note, sowie dem pseudo-Isovanillyl-2-Methylbutanoat eine „exotisch-fruchtige“ Note zugewiesen werden.

Im SDE-Extrakt können zusätzliche eher brenzlige Aromanoten bei den Streckeraldehyden Methional und Phenylacetaldehyd, zur Retentionszeit des 2-Acetylpyrrolins und beim Vinylguajacol wahrgenommen werden. Es kann davon ausgegangen werden, dass diese thermisch gebildeten Verbindungen [181,182] für die unangenehme Koch- bzw. Röstnote im Destillat verantwortlich sind.

## 3.4.5.2 Kümmel

Tabelle 42: Geruchsaktive Komponenten in Extrakten (SFE) und Destillaten (SDE) aus Kümmelfrüchten

Nr.	R <sub>T</sub> TS3	Geruch	SFE <sup>a)</sup>	SDE <sup>a)</sup>	Substanz
1	808-819	käsigt	+	+	3-Methylbuttersäure
2	840-847	würzig	+	+	n.i.
3	876-887	frisch, grün, dann käsigt	+	-	n.i. (m/z 91?)
4	909-917	muffig, röstig, unangenehm	-	++	Methional
5	925-933	popcornartig	-	+	RT: 2-Acetyl-Pyrrolin?
6	957-963	kiefernartig	+	+	α-Pinen
7	984-990	champignonartig	+	-	(1-Octen-3-ol) 1-Octen-3-on
8	996-1002	würzig	+	+	Myrcen
9	1051-1060	aromatisch, etherisch	+	+	Limonen
10	1059-1064	modrig, brenzlich, streng	-	+	Phenylacetaldehyd
11	1067-1071	schwach modrig	+	+	Heptansäure
12	1082-1084	champignonartig	+	+	n.i. (m/z 99?)
13	1097-1098	modrig	+	+	n.i.
14	1106-1112	blumig	++	+	Linalool
15	1131-1137	alkoholisch, vergoren	+	+	Phenylethanol
16	1155-1165	holzig, dann modrig	+++	+++	RT: α-Pinenoxid, 2-(Z)-Nonenal?
17	1170-1177	stinkig, modrig	+++	+++	RT: Campher, 2-(E)-Nonenal ?
18	1183-1189	erdig	+	+	n.i. (m/z 117?)
19	1191-1195	intensiv erdig	+	+	Borneol
20	1227-1231	terpentinartig	++	+	Dihydrocarvon
21	1264-1296	Kümmel	CIC <sup>b)</sup>	CIC <sup>b)</sup>	Carvon
22	1292-1299	fruchtig	+	+	Geranial
23	1309-1310	modrig	+	+	n.i.
24	1319-1324	alkoholisch, fruchtig	+	+	n.i. (m/z 94-79,93,67,68,121,154 ?, m/z 93-79,121,67,68 ? und Indol)
25	1326-1334	terpentinartig, modrig	++	++	Methylgeranoat
26	1377-1384	modrig, muffig, dumpf	++	++	γ-Nonalacton
27	1391-1397	schwach holzig	+	+	n.i. (m/z 153, 168, 98 ?)
28	1405-1410	süß, fruchtig	+	-	n.i. (m/z 71,100, dann 110 ?)
29	1422-1432	vanilleartig	+++	+	Vanillin
30	1446-1450	etwas dumpf	+	-	n.i.
31	1484-1498	intensiv modrig, stinkig	++	++	γ-Decalacton
32	1521-1524	uncharakteristisch	+	-	n.i. (m/z 82,93,119 ?)
33	1536-1542	süßlich, holzig	+	-	n.i. (m/z 83,55,111,182 ?)
34	1566-1573	aromatisch	+	-	RT: Dihydroactinidiolid
35	1677-1687	aromatisch, herb	+	-	n.i.
36	1748-1753	sehr würzig	+	-	n.i. (m/z 197 ?)

<sup>a)</sup> + - in Stammlösung bzw. bei SFE auch in Verdünnung 1:10,

++ - in Verdünnung 1:100,

+++ - in Verdünnung 1:1000 wahrnehmbar;

<sup>b)</sup> CIC - Character impact compound (Leitsubstanz).

Auch bei den Kümmelfrüchten haben der LSM und der SFE-Extrakt eine große Ähnlichkeit. Beide riechen zu Beginn sehr süß, fruchtig und aromatisch. Der Geruch ist sehr

kräftig und durchdringend mit einem etwas reizenden und beißenden Unterton versehen. Nach längerer Zeit verbleibt ein sehr schwerer Aromaeindruck, begleitet durch eine schwach medizinische Note, die auch etwas an Campher erinnert.

In den Extrakten und Destillaten von Kümmelfrüchten können 36 Geruchsstoffe gefunden und mittels simultaner Sniffing-GC-MS weitergehend bestimmt werden. Aufgrund sehr geringer Konzentrationen kann bei mehreren Komponenten (Nr. 2, 3, 12, 13, 18, 23, 30, 35 und 36) kein vollständiges Massenspektrum aufgenommen werden. Weiterhin kann bei einigen Gerüchen ein Massenspektrum aufgezeichnet werden, aber die Zuordnung zueinander ist nicht abgesichert (Nr. 24, 27, 28, 32 und 33).

Kümmelöl hat mit (+)-Carvon eine dominierende Leitsubstanz, die auch in Verdünnungen von 1:10.000 noch deutlich wahrnehmbar ist und als „character impact compound“ das typische Kümmelaroma prägt. Trotz dieser Leitsubstanz ist im Destillat eine schwache Kochnote wahrnehmbar.

Neben Carvon werden im Destillat und im Extrakt das Aroma wesentlich mitbestimmt durch die beiden modrig, z.T. stinkig riechenden Komponenten Nr. 16 und 17. Da sowohl  $\alpha$ -Pinenoxid als auch Campher bei den fraglichen Indices eluieren und vom Aroma her nicht Verursacher des unangenehmen Geruches sind, bleibt die Identifizierung fraglich. Aufgrund des Elutionsindex und der geruchlichen Einstufung - zumindest bei den im Extrakt und Destillat vorliegenden Konzentrationen - erscheint eine Zuordnung zu dem Isomerenpaar (E)- und (Z)-2-Nonenal in Analogie zu den Anisfrüchten wahrscheinlich. Eine weitere Hauptkomponente im Hochdruckextrakt ist ebenfalls wie beim Anis das Vanillin, was noch in der Verdünnung 1:1000 gerochen werden kann und im Destillat nur in Spuren vorhanden ist. Prägend für den Aromaeindruck sind weiterhin  $\gamma$ -Nonalacton (Nr. 26),  $\gamma$ -Decalacton (Nr. 31), Methylgeranoat (Nr. 25) sowie Linalool (Nr. 14) und Dihydrocarvon (Nr.20). Letztgenannte sind im Destillat schwächer vertreten als im Hochdruckextrakt.

Das Destillat unterscheidet sich in einigen weiteren Komponenten vom Hochdruckextrakt. Diese Unterschiede sind sowohl im niedrig siedenden Bereich zu finden durch die Ausbildung typischer Röst- und Brandnoten (Nr. 4 - Methional, Nr. 5 - wahrscheinlich 2-Acetyl-Pyrrolin und Nr. 10 - Phenylacetaldehyd) als auch im höher siedenden Bereich dadurch bedingt, dass einige Aromastoffe mit überwiegend positiven Geruchseindrücken im Vergleich zum Hochdruckextrakt nicht mehr wahrgenommen werden können (Nr. 30, 32 bis 36).

## 3.4.5.3 Koriander

Tabelle 43: Geruchsaktive Komponenten in Extrakten (SFE) und Destillaten (SDE) aus Korianderfrüchten

Nr.	R <sub>T</sub> TS3	Geruch	SFE <sup>a)</sup>	SDE <sup>a)</sup>	Substanz
1	774-783	fruchtig	+	+	Methyl-2-Methylbutanoat
2	815-828	käsigt	++	++	3-Methylbuttersäure
3	848-860	fruchtig	++	++	Ethyl-2-Methylbutanoat
4	909-917	muffig, röstig, unangenehm	-	++	Methional
5	925-933	popcornartig	-	+	RT: 2-Acetyl-Pyrrolin?
6	957-963	kiefernartig	+++	+++	α-Pinen
7	987-990	champignonartig	+	-	RT: 1-Octen-3-on ?
8	998-1002	grün, schwach terpeninartig	+	+	β-Myrcen
9	1054-1057	eukalyptusartig	++	++	1,8-Cineol
10	1059-1064	modrig, brenzlich, streng	-	++	Phenylacetaldehyd
11	1063-1069	herb, grün, metallisch	+	-	Salicylaldehyd
12	1076-1080	herb, terpeninartig	+	+	γ-Terpinen
13	1104-1118	blumig	+++	+++	Linalool
14	1118-1123	nach Koriander, etwas citrusartig	+	+	RT: cis-Sabinenhydrat?
15	1120-1131	muffig, modrig	+	+	n.i. (m/e 67-109,137 ?)
16	1159-1162	fruchtig, dann modrig	+++	+++	n.i., dann 2-(Z)-Nonenal
17	1171-1175	holzig	+	+	RT: Campher ?
18	1194-1196	muffig, modrig	+	+	RT: Dimethyloctadiendiol?
19	1212-1216	grün, herb, terpeninartig	+	-	Methylsalicylat
20	1226-1232	uncharakteristisch	+	+	Lavandulol
21	1235-1238	würzig, aromatisch	++	++	Citronellol
22	1255-1259	muffig, modrig	++	++	Neral
23	1259-1267	würzig, citrusartig	++	++	Geraniol
24	1275-1279	würzig, aromatisch, süß	++	++	Geranial
25	1299-1303	aromatisch	+	-	trans-Anethol
26	1308-1314	muffig, modrig, holzig	+++	++	Carvacrol
27	1325-1336	aromatisch, terpeninartig	+	+	Methylgeranoat
28	1338-1345	aromatisch, angenehm	++	+	Pinocarvylacetat
29	1372-1377	uncharakteristisch	+	-	1-Hydroxy-Linalool
30	1416-1427	vanilleartig	+++	+	Vanillin
31	1441-1443	stinkig, dann intensiv aromatisch	+	-	n.i.
32	1481-1485	muffig, modrig, schweißig	+	+	γ-Decalacton
33	1497-1503	schwach aromatisch	+	-	β-Ionon
34	1754-1764	maggiartig, würzig	++	-	Sedanolid

a) + - in Stammlösung bzw. bei SFE auch in Verdünnung 1:10;  
 ++ - in Verdünnung 1:100,  
 +++ - in Verdünnung 1:1000 wahrnehmbar.

LSM- und SFE-Extrakt ähneln sich sehr im sensorischen Gesamteindruck. Sie haben einen warmen, süßen, blumigen und etwas fruchtigen und exotischen Geruch, der begleitet wird von modrig-muffigen, aber auch holzigen, fast schon balsamischen sowie

terpenig riechenden Komponenten. Das Aroma ist kräftig, jedoch nicht reizend. Beim SDE-Extrakt hingegen ist dieses empfindliche Gleichgewicht vieler Komponenten durch eine unangenehm dumpfe Koch- und Röstnote gestört.

Im SFE-Extrakt von Korianderfrüchten werden 31 und im SDE-Destillat 25 aromaaktive Komponenten gefunden und mittels simultaner Sniffing-GC-MS bestimmt. Die Komponenten sind nach Retentionsindex und -zeit aufgeführt und ihr Geruchseindruck beschrieben (s. Tab. 43). Zwei Substanzen (Nr. 15 und 31), welche nur in der Stammlösung bzw. 1:10 Verdünnung wahrnehmbar sind, können aufgrund zu geringer Konzentration nicht identifiziert werden. Die identifizierten Aromastoffe des Hochdruckextraktes sind in der nachfolgenden Abbildung (s. Abb. 56) aufgeführt.

In der Aromaverdünnungsanalyse verbleiben beim SFE-Extrakt insgesamt fünf Komponenten, die auch in der Verdünnungsstufe 1:1000 noch geruchlich wahrnehmbar und identifizierbar sind und wesentlich zum koriandertypischen Aroma beitragen (s. Abb. 56). Eine sensorische Leitsubstanz ist dabei nicht zu beobachten. Bei diesen Hauptkomponenten handelt es sich um  $\alpha$ -Pinen (Nr. 6), Linalool (Nr. 13), Carvacrol (Nr. 26) und Vanillin (Nr. 30). Die Zuordnung von Nr. 16 als fünfte Verbindung bezieht sich lediglich auf den fruchtigen Teil des sich verändernden Geruchseindruckes. Der modrig riechende Bestandteil dominiert erst bei Verdünnungen kleiner 1:100 und kann als 2-(Z)-Nonenal identifiziert werden.

Beim Destillat hingegen sind die Aromastoffe Carvacrol und Vanillin in deutlich geringeren Konzentrationen vorhanden. Der charakteristische modrige, aber auch holzige begleitende Unterton, bedingt durch das Carvacrol, fehlt deshalb im Destillat genauso wie das aromafixierende Vanillin.

Diese Hauptkomponenten werden bereits ab der Verdünnung 1:100 um elf weitere, geruchlich aktive Inhaltsstoffe ergänzt, die ebenfalls aufgrund von Retentionszeit und Spektrum eindeutig zugeordnet werden können. Die Aromastoffe 2-Methylbuttersäureethylester (Nr. 3), 1,8-Cineol (Nr. 9), Citronellol, Neral, Geraniol und Geranial (Nr. 21 bis 24) tragen ebenfalls wesentlich zur Aromabildung bei. Besondere Bedeutung hinsichtlich der Aromaausbildung kommen dem angenehm aromatisch riechenden Pino-carvylacetat (Nr. 31) und im hochsiedenden Bereich dem Sedanolid (Nr. 34) aufgrund seines würzigen, maggiartigen Aromas und seiner hohen Intensität zu. Pinocarvalacetat ist im Destillat auch nachweisbar, Sedanolid hingegen nicht. Destillat und SFE-Extrakt unterscheiden sich ebenfalls hinsichtlich zweier Salicylat-Komponenten, Salicylaldehyd

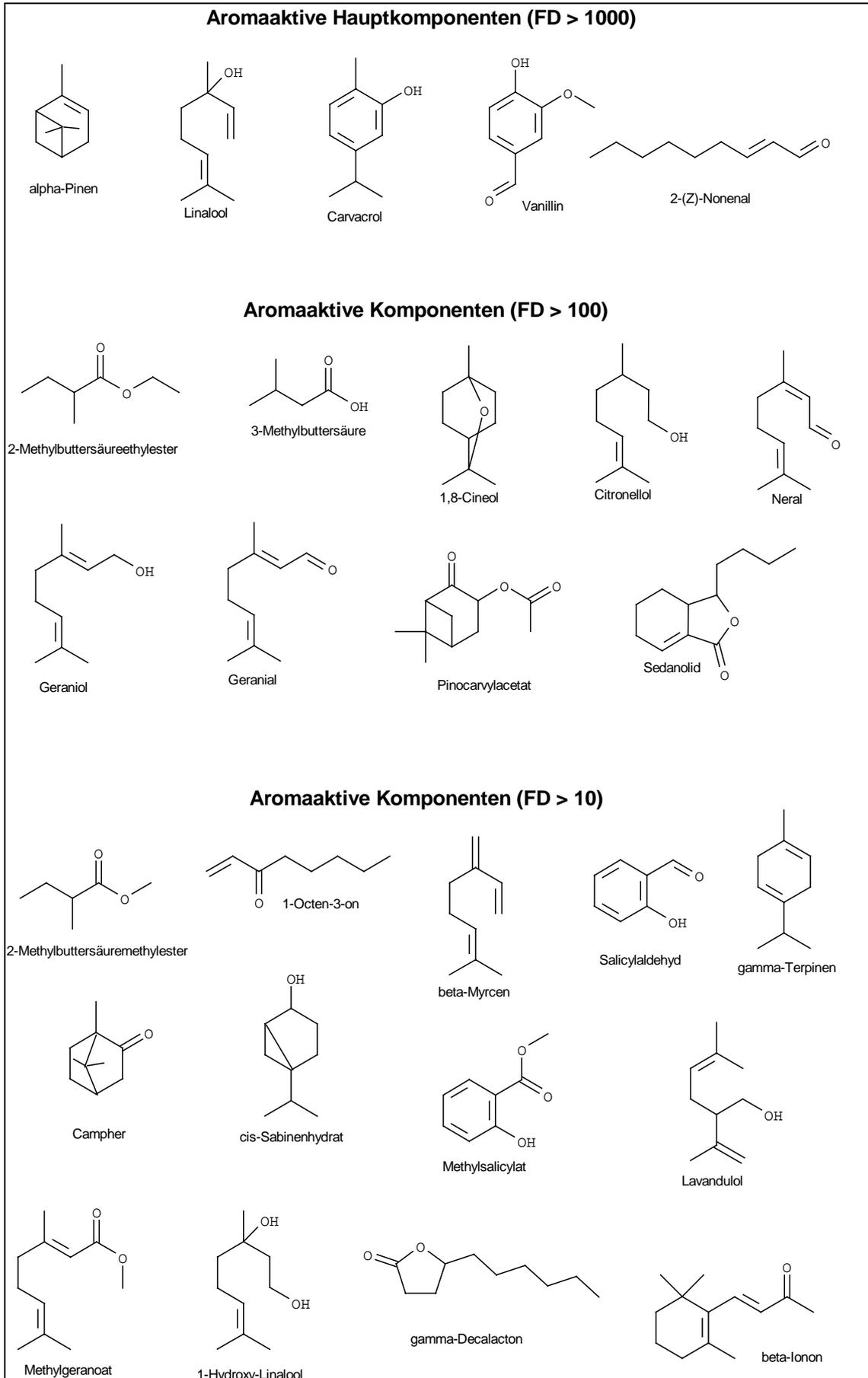


Abbildung 56:

Aromaaktive Komponenten im Korianderhochdruckextrakt

und Methylsalicylat (Nr. 11 und Nr. 19). Beide sind wichtig zur Ausbildung eines frisch-herben und grünen Geruchseindrucks und fehlen im Destillat.

Im SDE-Extrakt können zusätzlich brenzlige Aromaten in Form von Methional und Phenylacetaldehyd sowie zur Retentionszeit des 2-Acetylpyrrolins nachgewiesen werden. Es kann auch bei Korianderfrüchten davon ausgegangen werden, dass es sich um thermische, während der Destillation gebildete Artefakte handelt, die für die unangenehme Koch- bzw. Röstnote im Destillat verantwortlich sind.

### 3.4.5.4 Kreuzkümmel

**Tabelle 44:** Geruchsaktive Komponenten in Extrakten (SFE) und Destillaten (SDE) aus Kreuzkümmelfrüchten

Nr.	R <sub>T</sub> TS3	Geruch	SFE <sup>a)</sup>	SDE <sup>a)</sup>	Aromastoff
1	740	Knoblauch	+	+	n.i.
2	768	herb, grün	+	-	n.i.
3	775	aromatisch, fruchtig	-	+	Methyl-2/3-Methylbutanoat
4	800	dumpf, grün	-	+	Hexanal
5	818	käsige	++	++	3-Methyl-Buttersäure
6	827	käsige-grün	+	+	2-Methyl-Buttersäure
7	862	unangenehm	-	+	n.i.
8	883	stinkig, käsige	+	+	n.i.
9	913	stinkig, verbrannt	-	++	Methional
10	928	karamell	-	+	RT: 2-Acetylpyrrolidin
11	951	kiefenartig	++	++	α-Pinen
12	979	Champignon	+	+	RT: 1-Octen-3-on
13	991	herb, grün	+	+	n.i.
14	999	herb, grün	+	+	Myrcen
15	1044	dumpf, aromatisch, terpenartig	+	+	p-Cymol
16	1054	Eucalyptus	+	+	1,8-Cineol
17	1059	röstig, brenzlich	-	+	Phenylacetaldehyd
18	1063	muffig, grün, modrig	+	+	n.i.
19	1082	Champignon	++	++	n.i.
20	1083	herb, grün, metallisch	+	+	γ-Terpinen
21	1095	dumpf-modrig	+	+	n.i.
22	1105	aromatisch, blumig	++	++	Linalool
23	1111	würzig, maggiartig	+	-	n.i.
24	1132	alkoholisch	++	+	Phenylethanol
25	1157	muffig, modrig	+++	+++	n.i.
26	1169	muffig, modrig	++	++	n.i.
27	1180	Champignon	++	-	n.i.
28	1190	stinkig, schweißig	+	+	n.i.
29	1195	uncharakteristisch	++	+	n.i.
30	1212	grün, würzig, schweißig, modrig	+++	+++	p-Menth-3-en-7-al

31	1219	dumpf, grün	+	-	n.i.
32	1224	würzig, beißend	++	++	n.i.
33	1235	dumpf	+	-	n.i.
34	1251	aromatisch, würzig	-	+	Ethyl-Guajacol ?
35	1263	Kreuzkümmel	CIC <sup>b)</sup>	CIC <sup>b)</sup>	Cuminaldehyd
36	1303	exotisch, aromatisch	+++	+	n.i.
37	1309	Kreuzkümmel, dumpfer	+++	+	p-Mentha-1,3-dien-7-al
38	1320	Kreuzkümmel, dumpfer	CIC <sup>b)</sup>	CIC <sup>b)</sup>	p-Mentha-1,4-dien-7-al
39	1360	würzig, exotisch	+	-	n.i.
40	1374	aromatisch	+	+	Eugenol
41	1381	dumpf, modrig	+++	+	RT: $\gamma$ -Nonalacton
42	1399	aromatisch	+	-	n.i.
43	1410	exotisch, fruchtig	++	++	n.i.
44	1421	Vanille	+	-	Vanillin
45	1443	aromatisch	++	-	n.i.
46	1474	modrig	-	+	n.i.
47	1476	fruchtig, grün, metallisch	++	-	n.i.
48	1494	stinkig, schweißig	+	+	RT: $\gamma$ -Decalacton
49	1509	exotisch, fruchtig	-	+	RT: $\beta$ -Jonon
50	1545	würzig, modrig	+	-	n.i.
51	1589	schwach Cumin	+++	-	n.i.
52	1625	muffig, modrig	-	+	n.i.
53	1741	würzig, warm, holzig	+	+	n.i.

a) + - in Stammlösung bzw. bei SFE auch in Verdünnung 1:10;  
 ++ - in Verdünnung 1:100,  
 +++ - in Verdünnung 1:1000 wahrnehmbar.

b) CIC - Character impact compound (Leitsubstanz).

Die Kreuzkümmel-extrakte besitzen ein extrem starkes Aroma, welches sehr intensiv, penetrierend und auch reizend wirkt. Der dominierende Geruch nach „Cumin“ überdeckt die meisten anderen Noten. Das Gesamtaroma kann als sehr schwer, warm und würzig mit einem curry-ähnlichen, leicht beißenden aber auch frischen und grünen Begleitton beschrieben werden. Beim SDE-Extrakt ist trotz des überwältigenden Cumingeruches eine unangenehme und dumpfe Koch- und Röstnote wahrzunehmen. Mittels Sniffing-GC-MS-Analyse lassen sich im SFE- und im SDE-Extrakt aus Cuminfrüchten 53 geruchsaktive Substanzen eindeutig zuordnen (vgl. Tab. 44).

Der Cumingeruch taucht während der Dauer der Sniffing-Analyse insgesamt viermal auf (Nr. 35, 37, 38 und 51). Dabei haben Cuminaldehyd (Nr. 35) und p-Mentha-1,4-dien-7-al (Nr. 38) die Bedeutung einer sensorischen Leitsubstanz (CIC) und können beide in allen Extraktformen auch noch in Verdünnungen von unterhalb 1:1000 sensorisch nachgewiesen werden. P-Mentha-1,4-dien-7-al (Nr. 37) riecht nur im SFE-Extrakt noch in der Verdünnung 1:1000 und verliert im Destillat an Bedeutung. Die vierte

Komponente (Nr. 51) konnte nicht identifiziert werden und wird im Destillat nicht mehr wahrgenommen. Die sensorische Bedeutung sowie die eindeutige Zuordnung des Geruches zur jeweiligen chemischen Struktur ist bereits 1975 beschrieben worden [183]. Danach konnten in einem Duo-Trio Test die beiden Leitsubstanzen und das p-Mentha-1,3-dien-7-al sensorisch nicht unterschieden werden. In den in Zusammenhang mit dieser Arbeit durchgeführten Sniffing-Analysen wurde der jeweils 2. Cumingeruch, verursacht durch die beiden Menthadienale, als etwas „dumpfer“ beschrieben im Vergleich zum 1. durch Cuminaldehyd gegebenen Cumingeruch. Inwieweit dumpf und modrig riechende Begleittöne zum gleichen Zeitpunkt wie die Menthadienale coeluieren, kann noch nicht abschließend beurteilt werden.

Weitere deutliche Aromabeiträge, die im Cuminextrakt noch in der Verdünnung 1:1000 wahrgenommen werden, können drei weiteren, nicht identifizierten Substanzen zugeschrieben werden. Dabei handelt es sich um die muffig modrig riechenden Komponenten Nr. 25 und Nr. 41 ( $R_1\gamma$ -Nonalacton) sowie eine exotisch-aromatisch riechende Substanz (Nr. 36). Im Destillat sind die beiden letzteren deutlich schwächer vertreten.

In der Verdünnung 1:100 tragen 11 weitere Komponenten zur Abrundung des komplizierten Cuminaromas in nennenswerten Umfang bei. Davon sind im Destillat insbesondere die Komponenten mit sehr positiven Aromabeschreibungen in geringeren Konzentrationen oder gar nicht mehr enthalten: alkoholisch (Nr. 24, Phenylethanol), champignonartig (Nr. 27), aromatisch (Nr. 45) und fruchtig, grün (Nr. 47). Neben diesem Fehlen an positiven Geruchseindrücken können zusätzliche, eher brenzlige Aromanoten bei den Streckeraldehyden Methional und Phenylacetaldehyd sowie zur Retentionszeit des 2-Acetyl-Pyrrolins wahrgenommen werden.

### 3.4.5.5 Kamille

**Tabelle 45:** Geruchsaktive Komponenten in Extrakten (SFE) und Destillaten (SDE) aus Kamilleblüten

Nr.	R <sub>i</sub> TS3	Geruch	SFE <sup>a)</sup>	SDE <sup>a)</sup>	Aromastoff
1	757	käsigt	++	+	Buttersäure
2	775	aromatisch	+	+	Methyl-2-Methylbutanoat
3	800	grün	-	+	Hexanal
4	818	käsigt	+++	++	3-Methylbuttersäure
5	846	fruchtig, nach Kamille	++	++	Ethyl-2-Methylbutanoat

6	880	fruchtig, käsig	+ fruchtig	++ fruchtig, käsig	n.i.
7	902	grün	-	+	Heptanal
8	913	muffig, röstig, unangenehm	-	+	Methional
9	928	röstig	-	+	RT: 2-Acetyl-Pyrrolin?
10	947	aromatisch	++	++	Propyl-2-Methylbutanoat
11	960	fruchtig, frisch	+ fruchtig	+ frisch	n.i.
12	971	modrig, stinkig	+	+	Hexansäure
13	973	terpentinartig	-	+	n.i.
14	984	champignonartig	+	+	RT: 1-Octen-3-on?
15	986	schweißig, dumpf	+	+	n.i.
16	1039	herb	+	+	p-Cymol
17	1053	aromatisch	+	+	1,8-Cineol
18	1060	modrig, brenzlig, streng	-	++	Phenylacetaldehyd
19	1082	champignonartig	+	+	n.i.
20	1087	röstig	+	-	n.i.
21	1094	karamellartig	+	-	n.i. (m/e 115 ?)
22	1102	würzig, grillfleischartig	+ würzig	+ grillfl.	Guajacol
23	1104	aromatisch, blumig	+	+	Linalool ? (m/e 93,71,80)
24	1113	maggiartig	+	+	iso-Guajacol ? (m/e 109,81,124)
25	1132	alkoholisch	+	+	Phenylethanol
26	1148	aromatisch, holzig	+	+	n.i. (43-95,138-67,123)
27	1155	muffig	+++	+++	Benzylcyanid ? (m/e 117,90,116)
28	1169	erdig, modrig	+ erdig	+++ modrig	n.i.
29	1180	modrig	+	+	n.i.
30	1190	muffig, erdig	+	++	Borneol
31	1193	würzig	+	+	n.i.
32	1201	grillfleischartig	+	+	Methylacetophenon ? m/e 119,91,134
33	1209	würzig	+	+	n.i.
34	1223	herb	+	+	n.i. (m/e 96-138)
35	1246	erdig	++	+	2?-Hexenyl-?Me-Butanoat
36	1250	aromatisch	+	+	n.i. (m/e 83-55-99-166)
37	1255	terpentinartig	+	-	Benzothiazol
38	1257	stinkig	+	+	n.i. (m/e 43-124,125,67-182)
39	1264	stinkig	+	-	n.i.
40	1272	terpentinartig, nach Kamille	++	+	n.i.
41	1288	röstig	-	+	n.i.
42	1302	stinkig	+	+	n.i.
43	1327	terpentinartig, nach Kamille	++	++	n.i.
44	1333	grillfleischartig	-	++	Vinylguajacol
45	1359	dumpf	-	+	n.i. (m/e 43-84,55-125)
46	1372	rosig	-	+	n.i.
47	1374	würzig	++	-	Eugenol
48	1388	herb	++	+	n.i.

49	1391	fruchtig	+	++	n.i.
50	1400	fruchtig	-	+	RT: $\beta$ -Damascenon ?
51	1414	grillfleischartig	-	++	n.i. (m/e 150-107-79,121,91)
52	1425	Vanille	++	-	Vanillin
53	1448	dumpf, würzig	+ dumpf	+ würzig	$\alpha$ ?-Ionon ? (m/e 43,121,93,136-192)
54	1474	heuartig	+	+	Coumarin
55	1488	fruchtig, stinkig	+ fruchtig	+ stinkt	n.i.
56	1504	rosig, fruchtig	+++ rose	+ fruchtig	$\beta$ -Jonon
57	1548	würzig	+	+	n.i.
58	1692	fruchtig	+	+	Bisabololoxid B
59	1885	herb	+	-	n.i. (m/e 43,101,143-151,193)
60	1917	Kamille	++	++	cis-En-In-Dicycloether 200

<sup>a)</sup> + - in Stammlösung bzw. bei SFE auch in Verdünnung 1:10,  
 ++ - in Verdünnung 1:100,  
 +++ - in Verdünnung 1:1000 wahrnehmbar.

Die echte Kamille (*Chamomilla recutita* L. - syn. *Matricaria chamomilla* L.) wird überwiegend als Arzneipflanze eingesetzt (s. Kap. B 1.3.5). Die Verwendung von Teilen der Pflanze bzw. deren Extrakten und Destillaten als Aromaauszug ist nicht weit verbreitet. Der Geruch der Kamillenblüte ist jedoch charakteristisch und mittelstark ausgeprägt. Er kann als aromatisch, aber auch krautig und heuartig mit einem frischen, fruchtigen und auch etwas würzigen Unterton beschrieben werden und ist sowohl im LSM- als auch im SFE-Extrakt in dieser Form vorzufinden. Dabei ist die „kamilletypische“ Note jederzeit wahrnehmbar und dominiert.

Bei der Analyse des Kamillearomas im Hochdruckextrakt können 50 aromaaktive Substanzen beschrieben und davon etwa die Hälfte mit Hilfe der simultanen Sniffing-GC-MS identifiziert werden. Der typische Kamillegeruch ist sehr komplex zusammengesetzt, und die Sniffing-Analyse weist allein vier Aromaeindrücke mit der Beschreibung „nach Kamille“ auf (Nr. 5, 40, 43 und 60), ohne dass eine der Substanzen als Leitsubstanz einzustufen wäre. Bei Nr. 5 kann lediglich der fruchtige Geruchseindruck dem Ester zugeordnet werden, die Kamillenote ist nicht identifizierbar. Nr. 40 und Nr. 43 sind geruchlich identisch, aber aufgrund zu geringer Konzentrationen kann ein Massenspektrum nicht aufgenommen werden. Bei der Nr. 60 handelt es sich mit dem cis-En-In-Dicycloether um einen kamilletypischen Inhaltsstoff mit relativ hoher Konzentration (ca. 1,7g/kg Kamilleblüte).

In der Verdünnung 1:1000 verbleiben beim SFE-Extrakt drei Substanzen, welche das Gesamtaroma Kamille wesentlich bestimmen: die käsig riechende 3-Methylbuttersäure

(Nr. 4), eine muffig riechende Komponente (Nr. 27) - eine eindeutige Zuordnung zu Benzylcyanid muss noch abgesichert werden - sowie das rosig, fruchtig riechende  $\beta$ -Ionon.

Die Bedeutung der fruchtigen Noten, insbesondere in der Verdünnungsstufe 1:100), ist sehr wichtig für das Kamillearoma, erkennbar an den Estern der 2-Methylbuttersäure: Methyl- (Nr. 2), Ethyl- (Nr. 5), Propyl- (Nr. 10) und wahrscheinlich ein Hexenylester (Nr. 35). Das würzige Eugenol (Nr. 47) charakterisiert das Aroma genauso wie die herbe, nicht identifizierte Komponente (Nr.48) und das Vanillin (Nr. 52). Weitere Substanzen der Verdünnungsstufe 1:10 runden das komplexe Gesamtaroma ab.

Im Gegensatz zum SFE-Extrakt erinnert das Destillat an ein verbranntes Kraut mit Restaroma und ist nicht mehr als „kamilletypisch“ identifizierbar. Diese Veränderung begründet sich nicht nur in den durch 4-stündige Destillationdauer bedingten Koch- und Brandnoten (Nr. 8, Nr. 9, Nr. 18, Nr. 44) und deren Ausprägungsgrad, sondern insbesondere durch die Konzentrationsverschiebung der zuvor im SFE-Extrakt beschriebenen, für das Gesamtaroma wesentliche Komponenten. Diese Verschiebung ermöglicht erst die Dominanz der Koch- und Brandnoten im Destillat.

In der Verdünnung 1:1000 verbleibt nur die muffig riechende Substanz (Nr. 27), hinzu tritt in der 1:1000 Verdünnung ein modriger Geruchseindruck (Nr. 28). Die fruchtige Note ist abgeschwächt ( $\beta$ -Ionon, Nr. 56), die würzige Note (Eugenol, Nr. 47) sowie die „Kamillenote“ (Nr. 40) ebenfalls, das Vanillin (Nr. 52) kann nicht mehr wahrgenommen werden und stattdessen ist eine Zunahme und Verstärkung negativ zu bewertender Geruchseindrücke zu verzeichnen: Es sind fettig-grüne Noten entstanden (Hexanal, Nr. 3, Heptanal, Nr. 7), eine geruchlich als „grillfleischartig“ beschriebene nicht identifizierte Substanz (Nr. 51) und die Veränderung eines Geruchseindruckes von „fruchtig“ im SFE-Extrakt zu „stinkig“ im Destillat (Nr.55).

### 3.4.5.6 Schafgarbe

**Tabelle 46:** Geruchsaktive Komponenten in Extrakten (SFE) und Destillaten (SDE) aus Schafgarbeblüten

Nr.	R <sub>T</sub> TS3	Geruch	SFE <sup>a)</sup>	SDE <sup>a)</sup>	Verbindung
1	753	käsige	+	+	Buttersäure
2	773	baldrianartig	-	+	RT: Methyl-2-Methylbutanoat

3	814	käsigt	+	+	3-Methylbuttersäure
4	865	käsigt	-	++	n.i.
5	880	baldrianartig	+	+	n.i.
6	912	stinkig	-	++	Methional
7	929	röstig	-	+	RT: 2-Acetyl-Pyrrolin?
8	951	kiefernartig	+	+	$\alpha$ -Pinen
9	979	champignonartig	+	+	1-Octen-3-on
10	986	modrig	+	+	n.i.
11	1053	eukalyptusartig	++	++	1,8-Cineol
12	1058	röstig, brenzlich	+ röstig	++ brenzlich	Phenylacetaldehyd
13	1080	schweißig	+	+	n.i.
14	1084	blumig	+	-	n.i.
15	1088	röstig	+	-	n.i.
16	1101	süßlich	+	+	RT:Guajacol ?
17	1104	fruchtig, blumig	+ fruchtig	+ blumig	Linalool
18	1111	maggiartig	+	-	iso-Guajacol ? 109,81-124
19	1135	aromatisch	+	+	(E)-Thujon
20	1138	würzig	+	-	n.i. (m/e 55,98-83,111,126)
21	1153	muffig	+++	++	n.i.
22	1167	holzig, modrig	++ holzig	++ modrig	n.i.
23	1177	blumig, holzig	++ blumig	+ holzig	n.i. (m/e 81,109,96,95-152)
24	1189	aromatisch, würzig	++	++	RT: Borneol
25	1199	grillfleischartig	+	-	n.i.
26	1219	grün	+	-	n.i.
27	1224	beißend, holzig	++ beißend	++ holzig	n.i.
28	1249	aromatisch	+	+	n.i.
29	1255	stinkig	++	-	Benzothiazol
30	1266	würzig	+	-	n.i.
31	1275	würzig	++	+	Piperiton
32	1311	holzig	+	+	Carvacrol
33	1327	terpentinartig	++	+	n.i.
34	1339	schweißig	++	+	n.i. (m/e 109-168)
35	1374	aromatisch, würzig	++	+	Eugenol
36	1388	fruchtig	+	+	n.i. (m/e 43,71,55,83,112)
37	1400	apfelartig, fruchtig	++	++	$\beta$ -Damascenon
38	1421	Vanille	++	-	Vanillin
39	1485	holzig, dillartig	+ holzig	+ dillartig	n.i.
40	1504	fruchtig, rosig	+++	+	$\beta$ -Jonon
41	1530	fruchtig	+	-	n.i.
42	1679	fruchtig	+	+	n.i. (m/e 132-119)
43	1883	fruchtig	+	+	n.i. (m/e 149-191,234)

<sup>a)</sup> + - in Stammlösung bzw. bei SFE auch in Verdünnung 1:10;  
 ++ - in Verdünnung 1:100,  
 +++ - in Verdünnung 1:1000 wahrnehmbar.

In Analogie zur Kamille wird die Schafgarbe ebenfalls überwiegend arzneilich genutzt (s. Kap. 1.3.6). Sofern Aromaauszüge zur Anwendung gelangen, handelt es sich weni-

ger um das etherische Öl als vielmehr um alkoholische Extrakte, die aufgrund der Bitterstoffe der Schafgarbe (z.B. Achillein) in Verbindung mit anderen Bitterstoff-Drogen als Magentonika z.B. zur Appetitanregung eingesetzt werden [184].

Der lipophile SFE- und LSM-Extrakt weisen ein ähnliches Gesamtaroma auf. Dieses ist mittelstark ausgeprägt und als „schafgarbetypisch“ im Sinne von charakteristisch anzusehen. Darunter ist ein würzig-aromatischer durchdringender Grundton mit fruchtigen und blumig-süßlichen, aber auch frisch-herben Begleitnoten zu verstehen.

Der „Schafgarbe geruch“ ist ebenfalls komplex zusammengesetzt. Es können mittels Sniffing-GC 43 geruchsaktive Komponenten beschrieben und mittels Sniffing-GC-MS etwa ein Drittel identifiziert werden. Es gibt keinen dominierenden Geruchseindruck und keine Substanzbeschreibung „nach Schafgarbe“, so dass das Schafgarbearoma ein typisches Beispiel für eine Aromastoffmischung ist, bei der viele Einzelkomponenten in geringer Konzentration miteinander in einem empfindlichen Gleichgewicht stehen.

In der Verdünnung 1:1000 gibt es noch zwei wahrnehmbare Substanzen, das fruchtig-rosig riechende  $\beta$ -Ionon (Nr. 40) sowie eine nicht identifizierte, muffig riechende Komponente (Nr. 21), die aufgrund des Retentionsindex identisch sein könnte mit der Nr. 27 des Kamilleextraktes.

Bereits in der Verdünnung 1:100 wird das Aroma wesentlich mitbestimmt durch 12 weitere Substanzen, die mit den Geruchseindrücken würzig und aromatisch (1,8-Cineol - Nr. 11, Borneol - Nr.24, Piperiton - Nr. 31 und Eugenol-35), Vanille (Nr. 38), apfelartig, fruchtig ( $\beta$ -Damascenon - Nr. 37) sowie holzig (Nr. 22), blumig (Nr. 23) und terpenartig (Nr. 37) zu einem positiven Gesamtaroma beitragen. Aber auch nicht identifizierte Komponenten mit negativen Geruchsbeschreibungen sind in gleicher Stärke breit vertreten (beißend - Nr. 27, stinkig - Benzothiazol - Nr. 29 und schweißig - Nr. 34).

Im Destillat hingegen ergibt sich ein vollständig anderer Geruchseindruck. Eine dominierende Koch- und Brandnote überlagert das eigentliche Aroma so stark, dass der „schafgarbetypische“ Geruchseindruck nicht mehr wahrgenommen werden kann. Wie in den Destillaten zuvor wird das Koch- und Brandaroma charakterisiert durch die Komponenten Methional (Nr. 6) und Phenylacetaldehyd (Nr. 12) sowie die röstig riechende Substanz zur RT des 2-Acetyl-Pyrrolins (Nr. 7).

Aber auch die Konzentrationsverschiebung von aromaaktiven Substanzen im Destillat begründet einen anderen Aromaeindruck. Der fruchtige und blumige Eindruck hat sich

deutlich verringert.  $\beta$ -Ionon (Nr. 40) liegt in geringerer Konzentration vor, der blumige Eindruck der Komponente Nr. 23 ist im Destillat nicht mehr vorhanden, und die Komponenten Nr.14 und 41 sind nicht mehr wahrnehmbar. Zugleich fehlt das süßliche, aromafixierende Vanillin (Nr. 38) und der aromatisch-würzige Eindruck ist vermindert (die Substanzen Nr. 20, 30,31,33 und 35 liegen in verringerten Konzentrationen vor). Diese Verschiebung im Aromaspektrum und das gleichzeitige Fehlen einer CIC ermöglicht erst die Dominanz der Koch- und Brandnoten im Destillat.

## C DISKUSSION

### 1 Extraktionsmethoden

Die Extraktion komplexer Matrices bedeutet in der Probenvorbereitung der analytischen Chemie eine besondere Herausforderung. Dies gilt insbesondere dann, wenn die Probenmatrix biologischen Ursprunges ist, vielfältig und unterschiedlich zusammengesetzt sein kann und der Einfluss des Extraktionsverfahrens auf die stoffliche Zusammensetzung des Extraktes nicht ausreichend bekannt ist. Vor diesem Hintergrund haben sich in der Untersuchung von Pflanzenbestandteilen bisher überwiegend Extraktionsverfahren etabliert, die auf Basis von Lösungsmittelextraktionen (Mazeration, Digestion, Perkolation, Soxhlet etc.) und -destillationen (Wasserdampfdestillation, Hydrodiffusion) angewendet werden [185, EuAB]. Sofern die Extraktionen im analytischen Maßstab erfolgen und eine anspruchsvolle Bindung des Analyten an die Matrix vorliegt, kann auf Basis der Lösungsmittelextraktion die Ausbeute durch Einsatz von mikrowellenunterstützter Extraktion [186] oder unter Anwendung von erhöhtem Druck und erhöhter Temperatur (Accelerated Solvent Extraction - ASE) verbessert werden.

Die Art des Anreicherungsverfahrens wird zumeist durch die zu bestimmenden Stoffklassen festgelegt. Sofern es sich um lipophile und thermolabile Komponenten - insbesondere aus dem Naturstoffbereich - handelt, kommt der Extraktion mit verdichteten Gasen eine Schlüsselfunktion zu. Die Hochdruckextraktion wird aufgrund der Möglichkeit, die vollständige Bandbreite lipophiler Naturstoffe über alle Stoffklassen hinweg (etherisches Öl, höhere Terpene, Ester, freie Fettsäuren, fette Öle, Wachse, Harze und Farbstoffe) durch Steuerung von Dichte, bzw. Druck und Temperatur extrahieren und fraktionieren zu können, als etabliertes Verfahren angesehen [8]. Die gewonnenen Extrakte sollen aufgrund der schonenden Herstellungsweise - begründet durch die Eigenschaften des SC-CO<sub>2</sub> - keinerlei Hydrolyse, Oxidation, Veresterung oder thermisch bedingten Veränderungen unterliegen und sich somit qualitativ „nah am Original“ befinden [15].

Weiterhin wird neben technischen Vorteilen, wie u.a. der Fraktionierungsmöglichkeit, häufig eine bei SFE-Extrakten höhere Qualität als Argument genannt, wobei darunter im Lebensmittelbereich zumeist die Aromaqualität verstanden wird [187-189]. Im Arzneimittelbereich hingegen muss sich der Hochdruckextrakt in seiner pharmazeutischen

Qualität (arzneilichen Wirkung) mit bisher etablierten Destillaten und z.T. ethanolischen Auszügen messen lassen, d.h. dass eine Standardisierung des Hochdruckextraktes auf mindestens eine, zumeist arzneilich wirksame Leitsubstanz als Teil des Wirkungsnachweises sowie u.a. als Zulassungskriterium erforderlich wird [16]. In beiden Bereichen (Arzneimittel und Lebensmittel) wird deshalb bei einem Vergleich der Extraktionsverfahren zumeist die annähernde, quantitative Übereinstimmung der extrahierten Inhaltsstoffe in Form einer Bestandsaufnahme bzw. die Beurteilung des Extraktionsverfahrens nach der Ausbeute häufig als ausreichend erachtet.

Somit kommt in einem Vergleich der Anreicherungsverfahren zunächst der Entwicklung einer mit herkömmlichen Extraktionsmethoden vergleichbaren SFE-Methode eine große Bedeutung zu. Als Entscheidungskriterium zur Festlegung einer möglichst für alle Pflanzenbestandteile einheitlichen Extraktionsmethode dient deshalb neben Ergebnissen der gaschromatographischen Bestandsaufnahme die Beurteilung der Aromaqualität. Die Methode muss so robust sein, dass bei unterschiedlichen Pflanzenmatrices (Ölidioblasten in den Asteraceen-Blüten und Ölkavitäten in den Apiaceen-Früchten) die aromarelevanten Inhaltsstoffe auch im hochsiedenden Bereich vollständig erfasst werden und der zurückbleibende Extraktionskuchen annähernd geruchlos ist.

Voraussetzung dafür ist die Standardisierung des Extraktionsgutes. Während sich einerseits mit abnehmender Partikelgröße die Ausbeute an etherischem Öl erhöht, führt andererseits eine zu kleine Partikelgröße (<0,5 mm) zu einer Minderung der leichtflüchtigen Komponenten [190], bedingt durch Verluste beim Mahl- bzw. Zerkleinerungsprozess. Es wird gezeigt, dass eine schnelle Zerkleinerung (innerhalb von 30 Sekunden) auf eine Korngröße von 0,5 mm bei mehr als 80 % des eingewogenen Pflanzenmaterials zu optimierten und standardisierten Bedingungen führt.

Sehr wichtig für die Methodenentwicklung sind Kenntnisse über den Verlauf des Extraktionsverfahrens, um die wesentlichen Extraktionsparameter zu beobachten und zu beeinflussen. Üblicherweise erhält man diese Informationen erst nach Abschluss der Extraktion. Im Falle einer online-SFE-FID Schaltung [191] kann der Extraktionsverlauf jedoch direkt gemessen werden. Damit wird gezeigt, dass bei den Apiaceen-Früchten und Kamilleblüten bei einem Extraktionsdruck bis 140 bar zwischen 20 % und 50 % der mit SFE bis 400 bar extrahierbaren Stoffe im Extrakt zur Verfügung stehen. Bei den Schafgarbeblüten als sehr problematischem Extraktionsgut sind es hingegen nur 2,6 %. Zugleich wird Kenntnis darüber erlangt, wie viel Extrakt bei jeder Druckstufe und auch insgesamt (bei 400 bar) gewonnen werden kann.

Wenn zusätzlich Kenntnisse über die Extrahierbarkeit aromarelevanter Komponenten von Bedeutung sind, ermöglicht diese Kopplungstechnik bei Einbau eines Splitters und eines weiteren Restriktors (s. S. 178 Kap. E 2.2.5) die simultane Bestimmung extrahierbarer Komponenten am FID und am Sniffing-Port. Somit gelingt eine Abschätzung dahingehend, bei welchen Extraktionsbedingungen aromarelevante Verbindungen im Verhältnis zu anderen Komponenten extrahiert werden können.

So kann bereits mit dieser Kopplungstechnik gemessen werden, dass es bei höheren Extraktionstemperaturen (60 °C), bei gleichem Druck und verringerter Dichte (0,569 g/ml) sowie bei abnehmendem Druck (100 bar) und weiter abnehmender Dichte (0,301 g/ml) bei ansonsten vollständiger Extraktion und Elution teilweise zu längeren Extraktionszeiten sowie zu Verlusten von leicht flüchtigen Aromastoffen mit überwiegend aromatischen, fruchtigen und grünen Geruchseindrücken und somit zur Aromaveränderung des Extraktes kommt. Diese Feststellung kann auch chromatographisch nachgewiesen werden ( $K_I < 1000$  auf SE-54 GC-Phasen) und deckt sich mit Literaturangaben [192]. Die Temperaturbelastung des Extraktionsgutes ist deshalb nicht nur aufgrund der thermischen Belastung, sondern wegen der Verluste leichtflüchtiger, aromarelevanter Komponenten auf 40 °C zu beschränken.

Neben der Festlegung der Extraktionstemperatur sind Festlegung von Extraktionsdruck und -dauer wesentlich für das Verfahren. In der Literatur finden sich zur Extraktion etherischer Öle aus pflanzlichen Materialien sehr unterschiedliche Angaben. Einerseits ist die Anreicherung bereits mit flüssigem CO<sub>2</sub>, also bei unterkritischen Bedingungen möglich, andererseits finden sich dabei große Mengen unerwünschter Begleitstoffe aufgrund der mangelnden Selektivität des subkritischen CO<sub>2</sub> [6,23,139, 193-195]. Auch die angewendeten Extraktionsdrücke variieren sehr stark zwischen 90 und ca. 200 bar und geben wenig Hilfestellung. Dagegen erlauben die mit Hilfe der online-SFE-FID Kopplung beobachteten Extraktionsverläufe den Rückschluss, dass bei ausreichend langer Extraktionsdauer oberhalb von 140 bar bei den sechs untersuchten Pflanzen nicht mehr mit der Extraktion aromarelevanter Verbindungen zu rechnen ist (s. S. 9 Kap. B 1.1.2.2).

Weiterhin sind neben der Beschränkung der Temperaturbelastung die möglichst quantitative, modifierfreie Extraktion sowie die quantitative Abscheidung des Extraktes wesentliche Bestandteile der Methodenentwicklung. Diese Vorgabe stellt insbesondere bei der Extraktion von Aromastoffen einen hohen Schwierigkeitsgrad dar, und im analytischen und präparativen Maßstab müssen bis heute Verluste akzeptiert werden [24-34].

Bei der im Rahmen dieser Arbeit entwickelten SFE-Extraktionsmethode [196-199] hingegen wird am Beispiel des leichtflüchtigen, aromaaktiven Monoterpens  $\alpha$ -Pinen gezeigt, dass im analytischen Maßstab eine quantitative Extraktion dann möglich ist, wenn der Fluidextrakt auf eine kühlbare und inerte Festphase entspannt und anschließend quantitativ eluiert wird (s. Tab. 47). Diese Kombination aus SFE und Festphasenextraktion (SPE) macht jedoch neben der SFE-Methodenentwicklung auch eine SPE-Methodenentwicklung erforderlich [200].

**Tabelle 47:** *Quantitative SFE-Extraktion am Beispiel von  $\alpha$ -Pinen ( in mg/kg Pflanzenbestandteil)*

Verfahren	Schafgarbe	Kümmel	Koriander	Kreuzkümmel
LSM	41	12	808	342
SFE	54	15	844	325
SDE	37	12	675	348

Die Bestimmung der Extraktionsdauer bei festgelegter Dichte zur Optimierung der Extraktionsausbeute wird häufig als Funktion der Löslichkeit der jeweiligen Komponente im Fluid gesehen [5,6,13]. Die Schwierigkeiten und Grenzen einer rein theoretischen Betrachtung zur Vorhersage eines Extraktionsergebnisses zeigen sich jedoch an folgenden Sachverhalten: In die theoretischen Modelle sind Begleiteffekte, die sich aufgrund der speziellen Wechselwirkung zwischen Matrix, Komponente und Fluid ergeben, nur schwer mit einzubeziehen oder z.T. gar nicht bekannt [17,19,21]. Werden z.B. die Löslichkeitsdaten von Monoterpenen, Sesquiterpenen, Phenylpropanen, Kohlenwasserstoffen, Fettsäuren, Fettsäureestern sowie Di- und Triglyceriden in Korrelation gesetzt, so lässt sich eine eindeutige Tendenz erkennen: Mit zunehmendem Druck (bei gleicher Temperatur) und zunehmender Dichte steigt die Löslichkeit der Komponenten im SC-CO<sub>2</sub> an, bei zunehmender Temperatur (bei gleicher Dichte) und zunehmendem Druck steigt die Löslichkeit ebenfalls an, und mit zunehmender Temperatur (bei gleichem Druck) und verringerter Dichte dagegen nimmt die Löslichkeit ab [5,201-206]. So betragen die Löslichkeiten (in mg/g SC-CO<sub>2</sub>) z.B. bei 100 °C und 40 bar für C18 Fettsäuren und Triglyceride etwa <1 mg/g, für Ester etwa 40 mg/g, für Sesquiterpene etwa 80 mg/g und für Monoterpene etwa 120 mg/g. Da die Substanzklassen in den Apiaceen-Früchten in unterschiedlichen Konzentrationen vorkommen und sich gegenseitig in der Löslichkeit beeinflussen (Triglyceride stellen eine Art „Schleppermedium“ für ethe-

rische Öle dar), wird die theoretische Berechnung des Ergebnisses einer Hochdruckextraktion durch zu viele unbekannte Faktoren fast unmöglich gemacht.

Häufig ist vor der dynamischen Extraktion sogar eine statische Extraktion (zur besseren Benetzung der Matrix und Konkurrenz um Bindungsstellen) erforderlich [17,19,21]. Des Weiteren ist für jede Einzelkomponente die Optimierung der Extraktionsdauer notwendig und gestaltet sich in Abhängigkeit von Polarität und Gehalt unterschiedlich (s. S. 13 Abb. 2). Aufgrund der chemischen Komplexität des biologischen Materials einerseits, der heterogenen chemischen Zusammensetzung des etherischen Öls andererseits sowie der mangelnden Kenntnis über gegenseitige Beeinflussungen führt die Optimierung der Extraktionsdauer deshalb zwangsläufig zu einem gemittelten Wert, bei dem der größte Teil der Aromastoffe (>95%) extrahierbar ist. Dazu müssen 1g Pflanzenmaterial 30 Minuten bei einem Fluss von 0,5 ml SC-CO<sub>2</sub>/min extrahiert werden, dies entspricht 15 ml bzw. 11,6 g SC-CO<sub>2</sub>/g Pflanzenmaterial.

Vor diesem Hintergrund wird deutlich, warum neben der Hochdruckextraktion von biologischem Material auch die Fraktionierung der Hochdruckextrakte nicht einfach ist [23] und zumeist nur relative Anreicherungen erzielt werden können. Als Beispiel sei die Untersuchung industriell hergestellter Hochdruckextrakte aus Korianderfrüchten (s. S. 16 Kap. B 1.2.2.1) angeführt. Eine fraktionierte Abscheidung in Form einer scharfen Trennung zwischen etherischem Öl und mitextrahierten Glyceriden ist nicht möglich.

Weiterhin kann am Beispiel von Anisfrüchten gezeigt werden, dass sich das Konzentrationsverhältnis „lipophile Begleitstoffe/trans-Anethol“ von 0,01:1 bei 90 bar auf 10:1 bei 380 bar erhöht, d.h. um den Faktor 1000 gesteigert wird. Eine vollständige und scharfe Trennung (Fraktionierung) zwischen erwünschtem etherischen Öl und unerwünschtem fetten Öl ist auch bei dieser Frucht nicht möglich.

Alle Versuche, unterhalb von 140 bar bzw. oberhalb von 40 °C eine fraktionierte Extraktionsmethode für Aromastoffe zu etablieren, scheiterten daran, dass die Anreicherung von Aromastoffen immer nur relativ verlief und nicht vollständig war. Somit kann auch mit der analytischen SFE eine scharfe Abtrennung der Stoffklassen etherisches Öl einerseits und unerwünschte lipophile Begleitstoffe andererseits nicht erreicht werden, und die Co-Extraktion in Form von Fettsäuren, Methylestern, Cuticularwachsen und z.T. Di- und Triglyceriden muss in Kauf genommen werden.

Vordergründig ist somit eine grundsätzliche Vergleichbarkeit der Anreicherungsverfahren für den Bereich der aromarelevanten Komponenten gegeben. Die Destillations- und

Extraktionsverfahren unterscheiden sich jedoch in einem grundsätzlichen Prinzip voneinander: Bei der Wasserdampfdestillation erfolgt die Anreicherung von Komponenten entsprechend ihrer Löslichkeit in Wasser bzw. ihrer Flüchtigkeit in Wasserdampf. Dieses Prinzip limitiert zugleich das Verfahren [207-209]. Im Gegensatz dazu basieren herkömmliche Extraktionsverfahren ausschließlich auf dem Prinzip der Löslichkeit. Lediglich bei der SFE können aufgrund der besonderen Eigenschaften des überkritischen Fluides Anteile beider Prinzipien (in Abhängigkeit von Druck und Temperatur) beobachtet werden [5,17-19]. Dennoch haben die mit Hilfe der SFE gewonnenen Extrakte auch bei niedrigen Dichten aufgrund ihrer Zusammensetzung (s. S. 49 Kap. B 2) eine größere Ähnlichkeit mit den Lösungsmittelextrakten als mit den Destillaten [23].

## **2            Analysenmethoden**

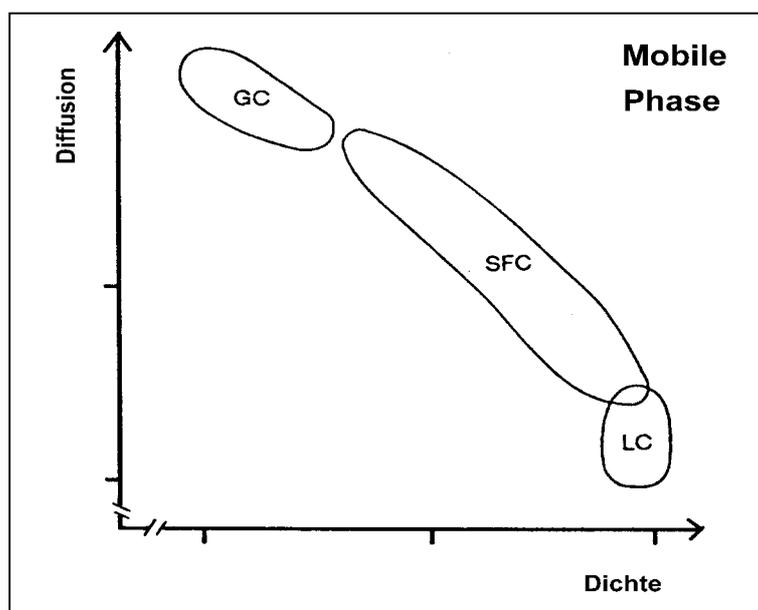
### **2.1         SFC-FID**

Zur qualitativen und quantitativen Analyse von Naturstoffextrakten werden neben der DC überwiegend GC-FID, GC-(FT)IR, GC-MS sowie HPLC-DAD, HPLC-FLD und HPLC-MS eingesetzt [1,95,181,210,EuAB]. Während einerseits die GC als etabliertes chromatographisches Verfahren für die Analyse flüchtiger Substanzen (z.B. etherischer Öle) angesehen wird [EuAB], sind DC und HPLC in ähnlicher Form etabliert als chromatographische Verfahren zur Untersuchung nichtflüchtiger Substanzen (z.B. pharmazeutischer Wirkstoffe) [210,EuAB]. Die Chromatographie mit überkritischen Fluiden hingegen ist in keinem Standardwerk als übliches chromatographisches Verfahren zur Analyse von Naturstoffen aufgeführt. Das ist umso erstaunlicher, da die SFC angetreten ist, exakt die chromatographische „Lücke“ zwischen der Chromatographie mit Gasen und Flüssigkeiten zu schließen [17-19].

Im Gegensatz dazu steht mit der Kombination GC-FID/MS ein ausgezeichnetes analytisches Messinstrument zur Erfassung der flüchtigen Komponenten zur Verfügung, wie in Kapitel B 2 (Bestandsaufnahme der Apiaceen und Asteraceen) dargestellt. Damit können etherische Öle als Destillate zu 100 % quantifiziert und im Idealfall auch identifiziert werden. Eine Einschränkung ist lediglich dann gegeben, wenn die Extrakte neben etherischem Öl auch Komponenten enthalten, welche der GC wegen nicht ausrei-

chender Flüchtigkeit oder Thermolabilität grundsätzlich nicht zugänglich sind [211]. Die dann durchgeführten gaschromatographischen Untersuchungen ermöglichen lediglich Erkenntnisse zum flüchtigen Anteil und lassen nur im Einzelfall einen Rückschluss auf den Gesamtextrakt zu (s. S. 50 Abb. 26, S. 60 Abb. 28, S. 65 Abb. 29, S. 70 Abb. 30, S. 77 Abb. 31 und S. 85 Abb. 33).

Aufgrund der besonderen Eigenschaften der überkritischen Fluide, sowohl einen eher „gasähnlichen“ Bereich mit geringerer Dichte und geringerer Lösungskraft der mobilen Phase als auch einen eher „flüssigen Bereich“ mit höherer Dichte und höherer Lösungskraft der mobilen Phase durch ein Dichteprogramm abbilden zu können, stellen sie eine sehr interessante mobile Phase dar (s. Abb. 57).



**Abbildung 57:** Schema zur Darstellung des Zusammenhangs zwischen gasförmigen (GC), überkritischen (SFC) und flüssigen (LC) Phasen anhand von Dichte und Diffusion, entnommen aus [17]

Dabei verspricht die geringe Viskosität in Verbindung mit hohen Diffusionskoeffizienten eine effiziente Trennung mit hoher Selektivität [17,19]. Da außerdem noch die in der GC und HPLC üblichen Detektoren (mit geringfügigen Modifikationen) verwendet werden können, erscheint die SFC als ein ideales chromatographisches Trennverfahren in besonderem Maße geeignet, komplexe Extrakte aufzutrennen zu können.

Vor diesem Hintergrund wird in Analogie zur HRGC-FID/MS eine analytische SFC-Chromatographie möglichst mit massenspektrometrischer Detektion aufgebaut, um so

zu weitergehenden Erkenntnissen in der Zusammensetzung von Hochdruckextrakten zu gelangen. Dabei steht der Gedanke im Vordergrund, die SFE-Extrakte im gleichen Medium ohne Modifier-Zusatz und unter Verwendung gaschromatographischer Detektoren zu chromatographieren, im Idealfall sogar als online-SFE-SFC-FID Kombination. Die Chromatographen (jeweils mit Extraktionsmodul und FID) der Fa. Dionex (Serie 600 - SFC) und Suprex (MPS 225) eignen sich für den Betrieb mit Kapillaren und gepackten Trennsäulen und bieten für diese Aufgabe die geeigneten Voraussetzungen. Die grundsätzliche Eignung des SFC-FID-Systems zur Analyse von Hochdruckextrakten pflanzlichen Ursprunges, auch als online-SFE-SFC-FID [35,41,212,213], ist in der Literatur beschrieben; die eventuell bestehenden Grenzen und Limitierungen sind jedoch nicht genannt.

Am Beispiel von Extrakten aus Anisfrüchten (s. S. 23 Abb. 7) wird aufgezeigt, wie mittels pSFC-FID als direkter Bestimmungsmethode die Veränderung der Extraktzusammensetzung bei sich ändernden Extraktionsbedingungen (Druckerhöhung bis 380 bar und Modifier-Zusatz von Methanol) nachvollzogen werden kann, dargestellt am Konzentrationsverhältnis trans-Anethol zu lipophilen Begleitstoffen.

Weiterhin wird am Beispiel eines industriell hergestellten und fraktionierten Korianderhochdruckextraktes dargestellt, wie mittels cSFC-FID durch die Bestimmung von 15 Hauptkomponenten (Gehalt > 1 % im Extrakt) in 90 Minuten ca. 95 % des eingewogenen Hochdruckextraktes quantifiziert werden können (s. S. 25 u. 26 Tab. 3 u. 4, Abb. 8 u. 9) und somit eine erste Beurteilung der Gesamtzusammensetzung der jeweiligen Fraktionen in einem einzigen Analysenlauf möglich ist. Dieses Ergebnis belegt des Weiteren, dass eine annähernd 100 %ige chromatographische Erfassung von Komponenten sowohl aus selektiv hergestellten Fraktionen als auch aus Totalextraktionen erreicht werden kann.

Beide Beispiele zeigen die Möglichkeiten der SFC-FID in Zusammenhang mit der Methodenentwicklung von Hochdruckextraktionen auf. Die SFC-FID als chromatographische Kontrollmethode eignet sich damit sowohl für die Entwicklung analytischer SFE-Extraktionen als auch für die Optimierung von Extraktions- und Abscheideparametern bei industriellen Hochdruckanlagen.

Bei der Untersuchung der Extrakte und Destillate von Apiaceen-Früchten mittels GC-FID und GC-MS wird nachgewiesen, dass die Extraktion des etherischen Öles bei allen drei Anreicherungsverfahren (SDE, SFE- und LSM-Extraktion) quantitativ verläuft.

Dabei beläuft sich der Anteil der co-extrahierten lipophilen Begleitstoffe, ermittelt durch GC, auf weniger als 1mg/g extrahiertes Pflanzenmaterial, bezogen auf alle Anreicherungsverfahren und alle Apiaceen-Früchte. Im Gegensatz dazu kann der Gehalt dieser Komponenten (incl. Fett) mit Hilfe der pSFC-FID direkt bestimmt werden und gibt Aufschluss über die Zusammensetzung der Extrakte (s. Tab. 48).

**Tabelle 48:** Angaben zu Menge und Konzentrationsverhältnis von Pflanzenfett und etherischem Öl bezogen auf 1g extrahierte Apiaceen-Frucht, bestimmt mit pSFC-FID

Pflanze	Wasser-	SFE	LSM	SFE	LSM
	dampfdestillat Etherisches Öl (%)	Fett (%)	Fett (%)	Verhältnis Fett/ eth. Öl	Verhältnis Fett/ eth. Öl
Anis	2,7	2,7	17,5	1:1	6,5:1
Kümmel	3,7	2,7	16,7	0,7:1	4,5:1
Koriander	0,8	2,7	16,9	3,4:1	21,1:1
Kreuzkümmel	3,1	2,7	18,3	0,9:1	5,9:1

Dabei ist festzustellen, dass mit der LSM-Extraktion etwa 6x bis 7x soviel Fett extrahiert wird wie bei der SFE-Extraktion bei 40 °C und 140 bar. Des Weiteren zeigt sich, dass die extrahierten Mengen Fett verfahrensabhängig bei der SFE-Extraktion mit 2,7 % und bei der LSM-Extraktion mit 17,3 %, bezogen auf 1 g zur Extraktion eingesetzte Frucht, annähernd konstant sind und somit eine Sättigung des Extraktionsmittels angenommen werden kann. Da der Gehalt an etherischem Öl bei den untersuchten Apiaceen-Früchten von 0,8 % (Koriander) bis 3,7 % (Kümmel) variiert, der Fettgehalt im Extrakt jedoch annähernd konstant ist, entstehen somit trotz standardisierter Extraktionsverfahren in Bezug auf das Verhältnis etherisches Öl/Fett völlig unterschiedliche Extrakte; im Ergebnis die Konsequenz einer auf die quantitative Extraktion von Aromastoffen hin optimierten Extraktionsmethode.

Die o.a. Anwendungen belegen, dass die SFC-FID zumindest bei den im Rahmen dieser Arbeit verwendeten fetthaltigen SFE-Extrakten von Apiaceen-Früchten deutliche Vorteile gegenüber der GC-FID hat. Die SFE-Extrakte können durch Direktbestimmung ohne weitere Aufarbeitungsschritte vollständiger und schneller analysiert werden. Im Gegensatz dazu erfordert die Anwendung der cSFC-FID zur Untersuchung der Zusammensetzung der Hochdruckextrakte von Asteraceen-Blüten im Vergleich zu den Extrakten der Apiaceen-Früchten eine deutlich weitergehende und detailliertere Zuordnung

auch von Komponenten mit geringerer Konzentration. Abb. 4 (s. S. 19) zeigt bei der Untersuchung von Kamille-SFE Extrakten mittels cSFC-FID die Detektion von mehr als 80 Peaks in einem Lauf, bei den Untersuchungen der Schafgarbe-Extrakte sind es sogar mehr als 100 Peaks. Eine Zuordnung kann nur noch mit Hilfe einer massenspektrometrischen Detektion bewältigt werden.

Es entsteht somit die berechtigte Frage, inwieweit die SFC zur Untersuchung von Hochdruckextrakten quasi als „Analysemethodenwahl“ neben der GC mit in Betracht gezogen werden muss, oder ob noch nicht erkannte Limitierungen die Anwendung beschränken. Einerseits findet die SFC in zunehmendem Maße Verbreitung in der Untersuchung von Naturstoffen (z.B. Öle und Fette, sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe wie Alkaloide, Terpenoide, Pigmente, Vitamine und Hormone), andererseits erfordern viele dieser Applikationen sehr hohe Dichten oder im Falle der Bestimmung von mittelpolaren Substanzklassen sogar die Zugabe von Modifiern zur Verbesserung der Lösungseigenschaften (höhere Polarität) des SC-CO<sub>2</sub> [17,19,214]. Beide Anforderungen sind in einem Kapillar-SFC-System nur sehr eingeschränkt umsetzbar. Zum Einen sind die Kapillarverbindungen häufig auf einen Anwendungsdruck von ca. 400 bar begrenzt und zum Anderen erfordert die Zugabe von Modifiern bei Kapillarsystemen einen erheblichen apparativen Aufwand und bleibt somit zumeist Trennsystemen mit gepackten Säulen und größerem Lumen vorbehalten.

## 2.2 SFC-MS

Die Literatur zu SFC-MS Kopplungen [48-73] beschreibt die Vorteile einer solchen Kopplungstechnik und führt viele Beispiele auch aus dem Naturstoffbereich zu erfolgreichen SFC-MS Kopplungen sowohl mit gepackten als auch mit Kapillarsäulen auf, ohne auf die Grenzen dieses Verfahrens zu verweisen. Die zur Kopplung eingesetzten SFC-Restriktoren (Integral- und Frittenrestriktor) werden lediglich in Bezug auf mögliche Verstopfungen betrachtet. Ansonsten sind keine wesentlichen Schwierigkeiten weder im EI-Modus noch im CI-Modus erwähnt. Die Kopplung erfordert ein differential gepumptes Massenspektrometer und erscheint ansonsten einfach und unproblematisch. Ein Empfindlichkeitsverlust gegenüber der GC-MS wird durch CO<sub>2</sub>-Cluster-Bildung bzw. durch höheres Untergrundrauschen begründet [56]. Zur Erhöhung der Probenauf-

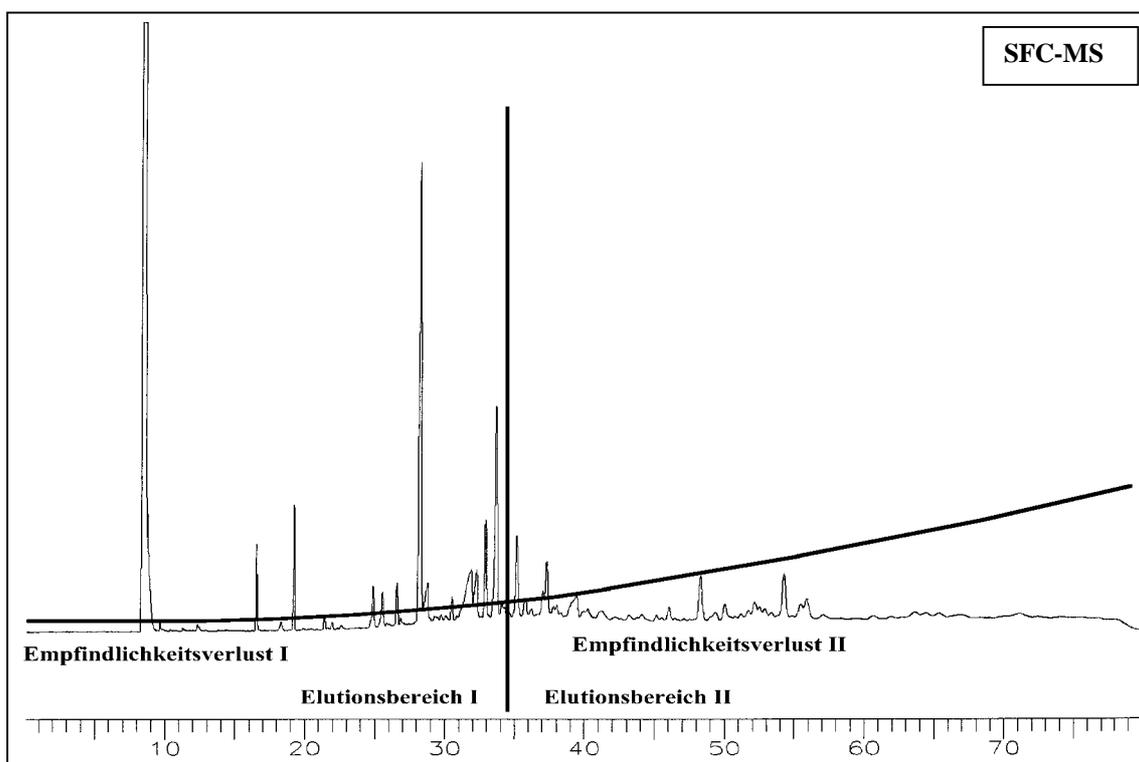
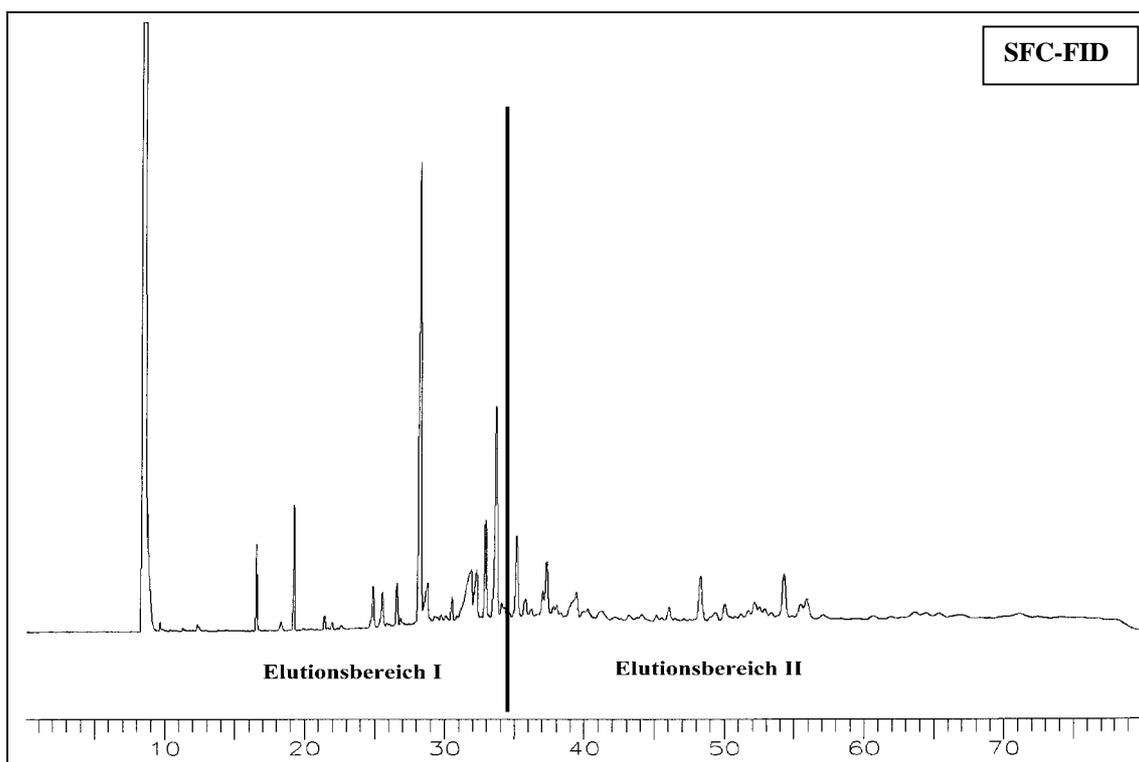
gabemenge auf das Trennsystem wird z.B. die Installation eines Retention-Gaps zur verbesserten Durchmischung von Lösungsmittel und SC-CO<sub>2</sub> vorgeschlagen [72].

Vor diesem Hintergrund wird eine cSFC-DFI-MS Kopplung mit Interface-Konstruktion (s. S. 48 Abb. 25) und differential gepumptem Quadrupol-MS aufgebaut, optimiert und betrieben (s. S. 38 Kap. 1.2.2.2.3). Zur chromatographischen Kontrolle erfolgt der parallele cSFC-Betrieb mit FID (s. S. 44 Abb. 23).

Dabei zeigt sich, dass bereits der Einstrom von ca. 0,3 ml CO<sub>2</sub>/min in das MS zu einem hohen Empfindlichkeitsverlust führt. Die nicht korrigierte Pirani-Gauge des MS zeigt im Vergleich zu 0,3 ml He/min einen enormen Druckanstieg in Quelle und Quadrupol um ca. 1 Zehnerpotenz an. Eine Cluster-Bildung des CO<sub>2</sub> kann unter diesen Ionisationsbedingungen nicht nachgewiesen werden, so dass die in der Literatur angeführte Ursache für den Empfindlichkeitsverlust [56] noch nicht nachvollzogen werden kann.

Weiterhin zeigt sich, dass die Empfindlichkeit des MS in direktem Bezug zur Menge des einströmenden CO<sub>2</sub> in die Ionenquelle steht und sich dieser Zusammenhang bei der Entwicklung einer SFC-MS Methode als besonders problematisch erweist, da die chromatographische Trennung unter überkritischen Bedingungen auf einem ansteigenden Dichte- bzw. Druckgradienten basiert und somit die Empfindlichkeit des MS-Detektors bei höheren Drücken weiter abnimmt (s. S. 21 Abb. 21).

Die damit verbundenen Auswirkungen auf die Detektion hochsiedender Komponenten werden stellvertretend für alle untersuchten Hochdruckextrakte am Beispiel des SFE-Extraktes von Kamilleblüten dargestellt (s. S. 148 Abb. 58). In Bild 1 (SFC-FID) finden sich die Komponenten des Destillates im Elutionsbereich I (bis ca. 35 Minuten), während im Elutionsbereich II (ab 35 Minuten) ausschließlich Komponenten aus dem SFE- bzw. LSM-Extrakt detektierbar sind. Der Elutionsbereich I erfasst somit den chromatographischen Teilbereich, der besser und einfacher mit GC zu analysieren ist, während der Elutionsbereich II entweder mit der GC konkurriert oder sogar besser mit der SFC analysiert werden kann. In Abb. 58 Bild 2 (SFC-MS) soll durch die zusätzliche schwarze Linie der bei der SFC-DFI-MS Kopplung auftretende Empfindlichkeitsverlust dargestellt werden. Dieser ist bereits deutlich ausgeprägt im Elutionsbereich I und erhöht sich, bedingt durch vermehrten CO<sub>2</sub>-Einstrom bei ansteigendem Dichtegradienten der SFC, weiter im Elutionsbereich II. Das MS wird ab 300 bar Chromatographiedruck regelrecht „blind“.



**Abbildung 58:** Bild SFC-FID Chromatogramm des Kamille-SFE-Extraktes mit cSFC-FID  
 Elutionsbereich I: Komponenten aus SDE sowie LSM- und SFE-Extrakten  
 Elutionsbereich II: nur noch Komponenten aus LSM- und SFE-Extrakten  
 Bild SFC-MS Empfindlichkeitsverluste durch die cSFC-DFI-MS Kopplung  
 Empfindlichkeitsverlust I: Verringerte Empfindlichkeit des MS durch CO<sub>2</sub>-Einstrom bei isobarer SFC  
 Empfindlichkeitsverlust II: Verringerte Empfindlichkeit des MS durch CO<sub>2</sub>-Einstrom bei SFC mit Dichtegradient

Diese grundsätzliche Problematik ist systembedingt und kann auch nicht durch einen Wechsel der mobilen Phase (SC-N<sub>2</sub>O anstatt SC-CO<sub>2</sub>) behoben werden. Einerseits erzwingt die nachlassende Empfindlichkeit des MS bei höheren Chromatographie-Drücken eine Begrenzung des CO<sub>2</sub>-Einstroms in das MS, und andererseits erfordert sie die Elution von möglichst viel Probensubstanz zur Detektion. Da Aufgabemenge und Säulenkapazität im SFC-Kapillarsystem ebenfalls limitiert sind, werden hiermit die Grenzen des cSFC-MS Systemes mit DFI-Interface aufgezeigt.

Diese Grenzen führen bei allen untersuchten Extrakten dazu, dass die eingangs genannte Aufgabenstellung, nämlich die in den Chromatogrammen der SFE- und LSM-Extrakte mit cSFC- und pSFC-FID detektierten Peaks mittels SFC-MS zu identifizieren und zuzuordnen, aufgrund der eingeschränkten Empfindlichkeit des MS-Detektors nur bei den Komponenten, die in hoher Konzentration vorliegen, erreicht wird. Es ergibt sich jedoch in keinem Fall (abgesehen von Cuticularwachsen und Fetten) eine Identifizierung von Substanzen, die das Spektrum der bereits mittels GC-MS identifizierten Komponenten erweitert. Auch die Kopplung pSFC-MS mit Particle-Beam Interface führt nicht zu neuen Ergebnissen.

Angesichts dieser erheblichen Beschränkung des Detektionssystemes sind andere Besonderheiten der SFC-MS Kopplung eher von zweitrangiger Bedeutung.

So wird die chromatographische Leistungsfähigkeit des cSFC-FID Systems teilweise höherwertiger eingeschätzt als die eines vergleichbaren cSFC-MS Systemes [56-58,62,66,68,73]. Diese Annahme begründet sich nicht nur in der höheren Empfindlichkeit des FID im Vergleich zum MS. Vielmehr wird die druck- und temperaturkontrollierte Entspannung der überkritischen Phase am Ende des Restriktors als wesentlich erachtet. Diese Kontrolle ist beim FID sehr einfach möglich, bei der SFC-MS hingegen ist eine deutlich aufwendigere und im Hochvakuum des MS zu betreibenden „inhouse“-Interface Konstruktion mit punktgenauer Tip-Heizung des Restriktors erforderlich. So wird eine beim cSFC-MS beobachtete geringere Trennleistung, bestimmt als Trennzahl (TZ) zwischen Decan- und Undecansäuremethylester (TZ 7 bei cSFC-MS und TZ 9 bei cSFC-FID), vor dem Hintergrund diskutiert, ob die Ursache dafür auf die Interface-Konstruktion oder das Hochvakuum-System zurückzuführen sei [73].

Die Trennzahlunterschiede sind bei Fettsäuremethylestern durch eigene Untersuchungen nachvollziehbar (TZ 7 bei cSFC-MS und TZ 8 bei cSFC-FID), können jedoch an-

hand anderer homologer Komponentenpaare (Kohlenwasserstoffe C14/C15 und C20/C21) nicht bestätigt werden (s. S. 48 Tab. 8) und lassen deshalb keinen Rückschluss auf den Einfluss durch Interface- oder Detektor zu. Vielmehr sinkt die Trennzahl (sowohl bei cSFC-FID als auch bei cSFC-MS) mit zunehmender Molekülgröße.

Bestätigt wird hingegen die Bedeutung der Tip-Heizung im SFC-Interface für die Leistungsfähigkeit der chromatographischen Trennung. Im Idealfall ist die Tip-Heizung sogar temperaturprogrammierbar und wirkt somit auf die cSFC wie ein sich langsam verschließender bzw. öffnender Restriktor ein (s. S. 40 u. 41 Abb. 19 u. 20). Wichtig ist die Temperaturführung der Tip-Heizung ebenfalls in Zusammenhang mit dem verwendeten Restriktor-Typ, weil nicht nur die Flusscharakteristik der mobilen Phase, sondern auch das Zerfallspektrum des SC-CO<sub>2</sub> beeinflusst wird. Beim Integralrestriktor sind bereits bei niedrigen Drücken (100 bar) CO<sub>2</sub>-Cluster nachweisbar, während beim Frittenrestriktor die Clusterbildung erst bei hohen Drücken (300 bar) zu beobachten ist (s. S. 39 Abb. 17 und 18). Hohe Temperaturen unterdrücken die CO<sub>2</sub>-Cluster Bildung wirksam und machen die Anwendung von Software, welche das Untergrundrauschen abziehen vermag, nicht zwingend erforderlich.

In der Literatur [48-73] finden sich immer wieder Hinweise, dass die Qualität der bei 70 eV unter CO<sub>2</sub>-Einstrom erhaltenen MS-Spektren denen der GC-MS entspricht. Gegenteilige Auffassungen sind nicht beschrieben. Bei den eigenen Untersuchungen kann diese Ansicht bei den meisten Komponenten bestätigt werden. Abweichungen sind nur bei bestimmten Molekülstrukturen (Alkohole und Aldehyde) in Verbindung mit bestimmten Ionenquellenkonfigurationen zu beobachten (Beispiele s. S. 33 - 37 Abb. 12 - 15 u. S. 37 Tab. 7). Inwieweit daraus bei den aufgeführten Beispielen auf einen unter CO<sub>2</sub>-Einstrom veränderten Ionisationsmechanismus geschlossen werden kann, bleibt weiteren Untersuchungen vorbehalten.

### **3 Qualitätsbestimmende Parameter**

#### **3.1 Antioxidative Wirksamkeit**

In der Lebensmitteltechnologie werden Gewürze sowie deren Extrakte und Inhaltsstoffe u.a. dazu eingesetzt, die Haltbarkeit und Lagerstabilität von Produkten zu verbessern.

Vor dem Hintergrund, im Rahmen der Lebensmittelqualität und -sicherheit synthetische Antioxidantien wie BHA und BHT möglichst gegen natürliche auszutauschen, spielt der Einsatz von antioxidativ wirksamen Extrakten bzw. Fraktionen oder auch Einzelkomponenten zur Erzielung einer verbesserten Haltbarkeit bestimmter Lebensmittel eine große Rolle.

Bereits Anfang der 50er Jahre wurden von Chipault und Mitarbeiter [215] systematisch 32 Gewürze mit Ethylalkohol und Petrolether extrahiert und die Extrakte nach thermischer Belastung in Schweineschmalz auf ihre antioxidative Wirksamkeit durch jodometrische Bestimmung der entstandenen Peroxide untersucht. Dabei waren die Extrakte von Apiaceen-Früchten hinsichtlich ihrer antioxidativen Wirkung eher unauffällig. Andere Versuche mit Apiaceen-Früchten, welche mit Petrolether extrahiert und bei denen die Petrolether unlösliche Fraktion untersucht wurde, ergaben für Anis und Koriander eine geringe antioxidative Wirksamkeit [216], die jedoch schwächer war als die der zum Vergleich mitgeführten Kontrollprobe mit 0,02 % BHA. Sofern einer der untersuchten Gewürzextrakte antioxidative Wirkungen aufgewiesen hat, waren diese eher in den mit Alkohol als in den mit Petrolether hergestellten Fraktionen feststellbar. Es liegt somit die Annahme nahe, dass antioxidativ wirksame Komponenten leichter mit polaren Lösungsmitteln angereichert werden können.

Die in dieser Arbeit untersuchten SFE-Extrakte (140 bar, 40 °C, Dichte 0,77 g/ml) aller sechs Pflanzen zeigen keine antioxidative Wirksamkeit. Auch mit Hilfe des Soxhlet-Verfahrens und Pentan als Extraktionsmittel gewonnene Extrakte haben keine antioxidative Wirksamkeit. Lediglich bei mit Methanol hergestellten Extrakten von Kamilleblüten sowie Anis- und Kümmelfrüchten sind antioxidative Eigenschaften nachweisbar. Diese sind beim Kamilleextrakt am stärksten ausgeprägt und noch wirksamer als eine mit 0,1 % BHA mitgeführte Kontrollprobe.

Dieses Ergebnis zeigt, dass bei den sechs untersuchten Pflanzen antioxidativ wirksame Komponenten mit Hilfe lipophiler Extraktionsverfahren nicht angereichert werden können und bestätigt die o.a. Annahme.

Im Gegensatz dazu zeigte jedoch Weinreich [217] am Beispiel von Rosmarin- und Salbei-Extrakten, dass antioxidativ wirksame Komponenten dieser beiden Pflanzen sowohl in Pentan- als auch in Methanol-Extrakten nachweisbar sind. Die antioxidative Wirkung alkoholischer Fraktionen ist lediglich auf Artefaktbildung zurückzuführen, während die genuinen Wirkstoffe nur im Pentan-Extrakt vorkommen und damit auch in SC-CO<sub>2</sub>

Hochdruckextrakten angereichert werden können. Besonders bedeutsam in Zusammenhang mit den SC-CO<sub>2</sub> Hochdruckextrakten ist die Tatsache, dass die mit SC-CO<sub>2</sub> bei höherer Temperatur (65 °C) und höherem Druck (320 bar) hergestellte Fraktion (Dichte 0,83 g/ml) stärker antioxidativ wirksam ist als die bei niedrigerer Temperatur (50 °C) und niedrigerem Druck (180 bar) hergestellte (Dichte 0,74 g/ml), also die antioxidativ wirksamen Komponenten nur bei höherem Druck und höherer Temperatur extrahierbar sind.

Vor diesem Hintergrund wird versucht, die antioxidativ wirksamen Komponenten aus Kamilleblüten mit Hilfe der SFE zu extrahieren. Bei Extraktionsbedingungen von 250 bar und 40 °C (Dichte 0,88 g/ml) bleibt der Extrakt weiterhin antioxidativ unwirksam. Werden hingegen die Extraktionsbedingungen drastisch verändert (480 bar, 80 °C, Dichte 0,88 g/ml, Methanol als Modifier), so entsteht ein Extrakt mit vergleichbaren antioxidativen Eigenschaften wie der methanolische Soxhlet-Extrakt.

Dieses Ergebnis liefert einerseits einen Beitrag dazu, dass Lösungsmittelextrakte (Pentan und Hexan) aufgrund der Polarität des Lösungsmittels in ihrer Zusammensetzung weitestgehend vergleichbar sind mit SFE-Extrakten, welche zu 100 % mit SC-CO<sub>2</sub> gewonnen werden. Andererseits eröffnet die analytische SFE unter drastischen Bedingungen die Möglichkeit, SFE-Fractionen zu erzeugen, die (zumindest hinsichtlich der antioxidativen Wirksamkeit) vergleichbare Eigenschaften wie methanolische Lösungsmittelextrakte besitzen.

Daraus ergibt sich, dass somit die Extraktion mit SC-CO<sub>2</sub> nicht nur unter dem Aspekt der Löslichkeit, des Massentransportes und der Dichte betrachtet werden sollte. Vielmehr führt die Deaktivierung von Bindungsstellen in der Matrix durch Einsatz polarer Modifier bei gleichzeitig höheren Temperaturen nachweislich zur Extraktion von Stoffklassen, welche der SFE mit reinem SC-CO<sub>2</sub> nicht zugänglich sind [21].

### 3.2 Antimikrobielle Wirksamkeit

Die antimikrobielle Wirksamkeit von Gewürz- und Arzneipflanzen auf den mikrobiellen Verderb von Lebensmitteln ist seit langer Zeit bekannt [218] und neben den antioxidativen Eigenschaften für die Haltbarkeit und Lagerstabilität von Lebensmitteln und Vorprodukten im Rahmen der Lebensmittelhygiene von Bedeutung [219]. Deshalb

werden sehr viele Pflanzenbestandteile sowie deren Extrakte und Destillate mikrobiologischen Testverfahren mit dem Ziel unterworfen, Kenntnis über Art und Ausmaß der Hemmwirkung auf Mikroorganismen zu erhalten [173].

Dabei kommt den üblicherweise verwendeten Bestimmungsmethoden (Agardiffusionstest und Turbidimetrischer Test) schon deshalb eine große Bedeutung zu, weil sie zu unterschiedlichen Ergebnissen führen können [220]. Die in Kap. B 3.3 (s. S. 95) dargestellten Ergebnisse am Beispiel des Testkeimes *Staphylococcus aureus* basieren auf dem turbidimetrischen Testverfahren, weil bei Anwendung des Agardiffusionstestes und einer Bebrütungsdauer von mehreren Stunden bei 36 °C eine erhebliche, unkontrollierte Abnahme der Stoffkonzentration in den zu testenden Destillaten und Extrakten und damit nicht mehr reproduzierbare Ergebnisse zu beobachten waren. Lediglich das turbidimetrische Verfahren führt bei der Testung leicht flüchtiger Substanzen zu reproduzierbaren Ergebnissen. Damit kann belegt werden, dass ein eigenes intaktes Testsystem auf Basis der Methode des EuAB (ursprünglich gedacht für die mikrobiologische Testung von Arzneistoffen, insbesondere Antibiotika) installiert wurde und zur Bestätigung von Literaturdaten herangezogen werden kann [179].

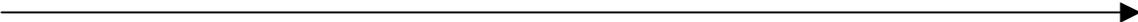
Der Einsatz ganzer Pflanzenteile (Blätter, Samen, Blüten etc.) bzw. sehr grober Zerkleinerungen davon dient zumeist dem Aussehen, dem Geschmack und der Aromatisierung des Lebensmittels. Bei der Anwendung hochkonzentrierter Aromaextrakte, konzentrierter Destillate und reiner etherischer Öle sind neben der Aromatisierung des Lebensmittels auch ausgeprägte mikrobiologische Wirkungen der Extrakte und Destillate zu beobachten. Vergleicht man die antimikrobielle Wirkung alkoholischer Auszüge mit denen von Destillaten und etherischen Ölen, so hat sich als Ergebnis der meisten Studien gezeigt, dass die Komponenten, welche zur antimikrobiellen Wirksamkeit beitragen, eher im etherischen Öl lokalisiert sind [173], wobei synergistische Effekte nicht auszuschließen sind. Die weitergehende Differenzierung der Extrakte sowie die Identifizierung der letztlich antimikrobiell wirksamen Komponenten führte bereits 1979 zur Testung von mehr als 500 Einzelkomponenten [220].

Der Ansatz dieser Arbeit ist es, den Einfluss des Anreicherungsverfahrens auf die Qualität des Extraktes und somit auch auf die mikrobiologische Hemmwirkung zu beschreiben.

Ausgehend von der Überlegung, dass bereits bei der SFE die Korngröße des Ausgangsmaterials (optimierter Zerkleinerungsgrad der Pflanzenbestandteile) und somit die Oberflächengröße der Matrix (Verfügbarkeit des Analyten) ein entscheidendes Krite-

rium für die Entwicklung der Extraktionsmethode ist, wird der Ansatz verfolgt, dass bei antimikrobiell wirksamen Aromastoffen der Verteilungskoeffizient zwischen lipophiler und hydrophiler Matrix als Kriterium für die antimikrobielle Wirksamkeit herangezogen werden kann. Aufbauend darauf wurde nachgewiesen, dass es unabhängig vom getesteten Pflanzenmaterial eine Eignungsreihenfolge der Destillate und Extrakte (gleiche Konzentration der antimikrobiell wirksamen Komponenten) hinsichtlich ihrer mikrobiellen Hemmwirkung gibt, die ausschließlich vom Anreicherungsverfahren abhängt [221].

Wasserdampfdestillat — SDE — SFE (90 bar) — SFE (140 bar) — LSM
---

- 
1. Abnahme der mikrobiellen Hemmwirkung
  2. Zunahme des Gehaltes lipophiler Begleitstoffe

Diese Reihenfolge korreliert mit der Zunahme an höhermolekularen lipophilen Bestandteilen im Destillat bzw. -extrakt insbesondere in Form von Triglyceriden und belegt die Abhängigkeit der mikrobiologischen Hemmwirkung z.B. vom Fettgehalt (s. S. 98 Tab. 35 u. S. 99 Abb. 42). Sofern einem Wasserdampfdestillat Fette bzw. Öle zugegeben werden, kann die mikrobiologische Hemmwirkung vermindert oder, je nach Menge, sogar aufgehoben werden.

Diese Ergebnisse liefern einen Beitrag zu der Erkenntnis, dass Gewürzextrakte in verschiedenen Lebensmitteln unterschiedliche mikrobielle Hemmwirkungen aufweisen [222,223] und deshalb die Übertragung von in mikrobiologischen Laborverfahren gewonnenen Testergebnissen auf ein komplexes Lebensmittel nicht einfach möglich sind. Zugleich wäre eine Forderung begründet, wonach z.B. mittels SFE hergestellte Selektivextrakte mit hoher antimikrobieller Wirksamkeit möglichst fettarm hergestellt sein sollten.

### 3.3 Sensorische Methoden

Da es sich beim Handel von Gewürzen und deren Extrakten um einen in Menge und Wert expandierenden Markt handelt [224], kommt der Beurteilung der Qualität eine be-

sondere Bedeutung zu. Deshalb ist neben antioxidativen und antimikrobiellen Eigenschaften insbesondere die Aromaqualität der Gewürzextrakte von großer Wichtigkeit [180,225-229].

Die Anwendung unterschiedlicher Anreicherungsverfahren hat nachweislich Einfluss auf die Aromaqualität des jeweiligen Extraktes [8,135,185,207,208,227,231]. Die Kenntnis dieses Einflusses ist wiederum wesentlich für die Herstellung, Qualitätskontrolle und Bewertung aromarelevanter Extrakte. Im Rahmen dieser Arbeit werden Anreicherungsverfahren angewendet, bzw. mit dem Ziel entwickelt, aromaaktive Substanzen möglichst vollständig erfassen, so dass die untersuchten Destillate und Extrakte den Charakter von Aromakonzentraten haben.

Zur Beurteilung der Aromaqualität wird zunächst eine Profilanalyse aufgenommen. Dazu werden alle Destillate und Extrakte sowohl sensorisch durch Aufgabe auf ein Filterpapier als auch durch Sniffing-GC abgerochen, die Geruchsempfindungen in neun Gruppierungen (s. S. 101 - 105 Abb. 43 - 48) zusammengefasst und in ihrer Intensität dargestellt.

Die Ermittlung der für das Aroma der Apiaceen-Früchte und Asteraceen-Blüten maßgeblichen geruchlich bedeutsamen Substanzen hingegen erfolgt in Anlehnung an die Aromaextraktverdünnungsanalyse (AEVA). Dabei werden in Abweichung von dem durch Grosch [181,230] beschriebenen Verfahren die Verdünnungsfaktoren (FD) nur in dekadischen Abständen bestimmt (s. S. 121 - 133 Tab. 41 - 46).

**Tabelle 49:** Anzahl der Haupt- und Minorkomponenten sowie Anzahl der aromaaktiven Substanzen in den sechs untersuchten Pflanzenbestandteilen

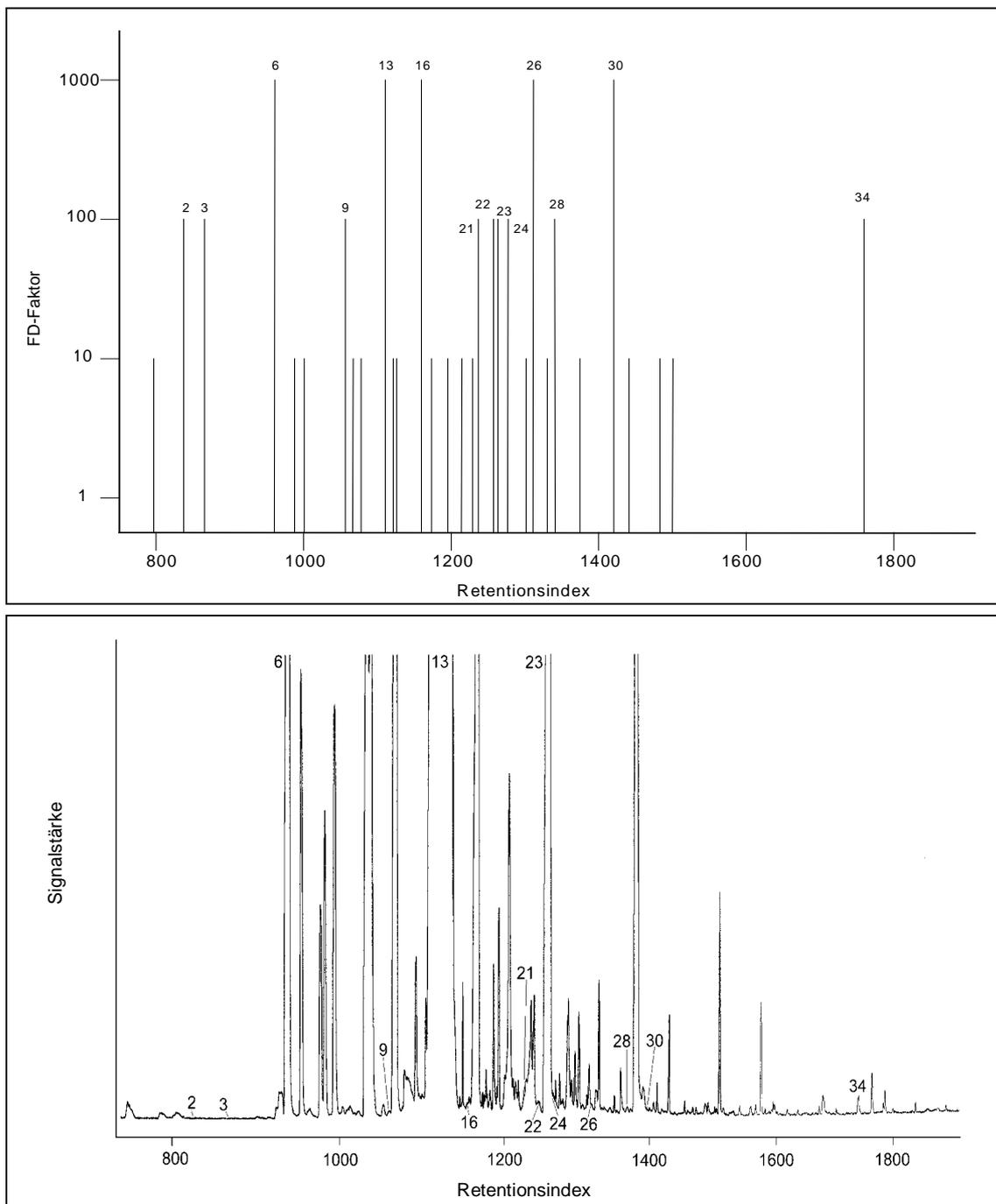
Pflanzenbestandteil	Kümmel-früchte	Koriander-früchte	Anis-früchte	Cumin-früchte	Kamille-blüten	Schafgarbe-blüten
Nachgewiesene Komponenten	> 140	> 140	> 200	> 250	> 200	> 200
davon Hauptkomponenten	40*	34*	27**	46**	63*	66**
davon Minorkomponenten	> 100*	> 100*	> 170**	> 200**	> 130*	> 130**
Aromaaktive Hauptkomponenten	7*	8*	3**	9**	7*	5**
Aromaaktive Minorkomponenten	26*	23*	27**	44**	43*	34**
Character Impact Compound	Ja	Nein	Ja	Ja	Nein	Nein

aus chromatographischen Gründen (Säulenüberladung) liegt die Konzentration für Hauptkomponenten

\* - > 5 mg/kg Pflanzenmaterial, bei Minorkomponenten < 5 mg/kg,

\*\* - > 20 mg/kg Pflanzenmaterial, bei Minorkomponenten < 20 mg/kg

Beide Methoden - Profilanalyse und AEVA - zeigen als ein Ergebnis, dass bei allen Extrakten und Destillaten von vielen flüchtigen Verbindungen nur wenige aromaaktiv sind und diese wiederum nur teilweise den Hauptkomponenten zugeordnet werden können (s. S. 155 Tab. 49).



**Abbildung 59:** *FD- und GC-Chromatogramm (FD  $\geq$  100) des SFE-Extrakt von Korianderfrüchten; die Nummern an den Komponenten beziehen sich auf Tab. 43 (s. S. 125).*

Die Grafik (s. Abb. 59) veranschaulicht am Beispiel des Hochdruckextraktes von Korianderfrüchten (stellvertretend für die weiteren untersuchten Pflanzenbestandteile) die-

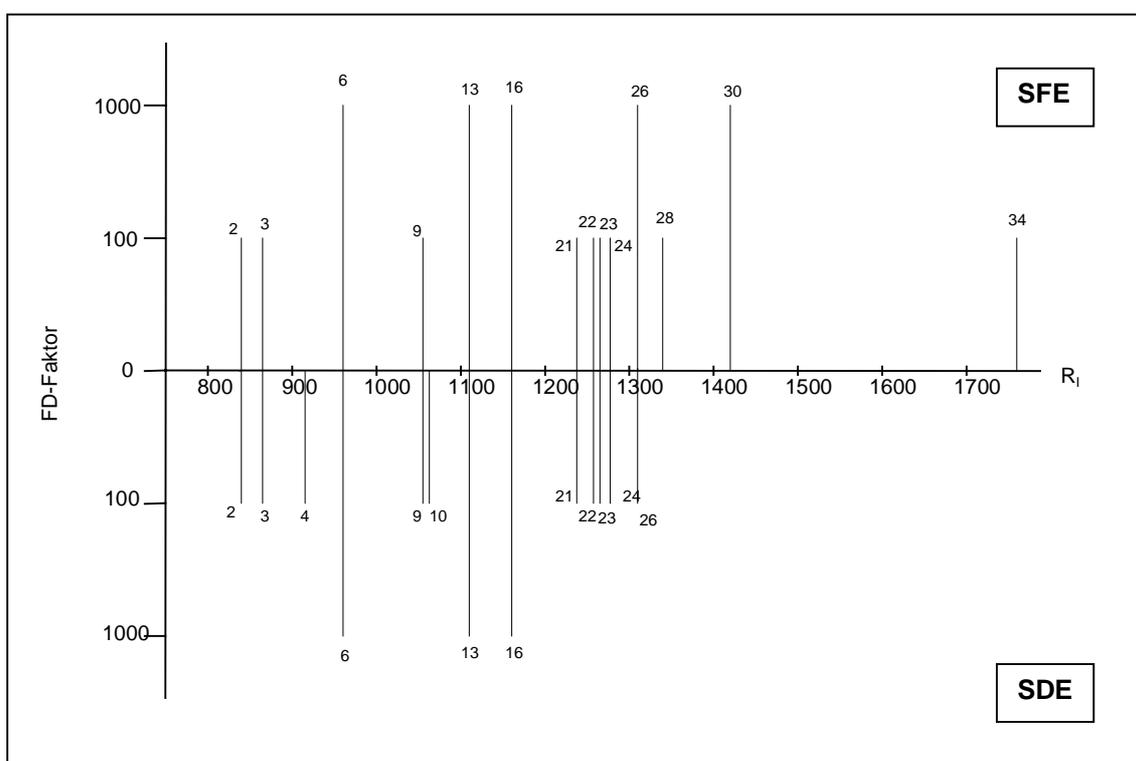
sen Zusammenhang: Mehr als 140 gaschromatographisch bestimmte Komponenten mit nur 34 Hauptkomponenten (Gehalt < 5 mg/kg Korianderfrucht); lediglich 8 Hauptkomponenten sind aromaaktiv, weitere 23 aromaaktive Substanzen sind dagegen den Minderkomponenten zuzuordnen.

Da das etherische Öl quantitativ angereichert und der Gehalt bei allen Extraktionsverfahren und allen untersuchten Pflanzenbestandteilen im Rahmen üblicher Schwankungen annähernd vergleichbar ist, kann die Menge des etherischen Öles nicht als mögliches Kriterium zur Erklärung von Qualitätsunterschieden von Destillaten und Extrakten herangezogen werden (s. Tab. 50).

**Tabelle 50:** Gehalt (in Gewichtsprozent) an etherischem Öl

Pflanzenbestandteil	SDE	LSM	SFE	SOX
Anisfrüchte	2,8	2,8	3,0	---
Kümmelfrüchte	3,3	3,3	3,7	---
Korianderfrüchte	0,9	1,0	1,0	---
Kreuzkümmelfrüchte	3,1	3,2	3,3	---
Kamillenblüten	0,8*	0,8*	0,8*	0,8*
Schafgarbeblüten	0,2*	0,2*	0,2*	0,2*

\*- Die Angaben beziehen sich auf den Anteil an Komponenten, welcher bei der HRGC bis zum  $K_1$  von 1900 (Nonadecan) bzw.  $K_1$  von 1970 (Palmitinsäure) eluiert (s. S. 74 Tab. 26 und S. 82 Tab. 28).



**Abbildung 60:** FD-Chromatogramm ( $FD \geq 100$ ) des Destillates und des SFE-Extraktes von Korianderfrüchten (SDE und SFE); die Nummern an den Komponenten beziehen sich auf Tab.43 (s. S. 125).

Deshalb sind die Auswirkungen des Anreicherungsverfahrens auf die Aromaqualität weniger bei den aromaaktiven Hauptkomponenten als vielmehr bei den aromaaktiven Minorkomponenten zu beobachten und können in FD-Chromatogrammen nachvollzogen werden. Als Beispiel sei die Gegenüberstellung von Destillat und Hochdruckextrakt aus Korianderfrüchten gezeigt (s. S. 157 Abb. 60).

Nach Auswertung der Ergebnisse beider Methoden (Erstellung eines Aromaprofils und AEVA) verbleiben somit drei charakteristische Unterschiede, die jeweils im Destillationsverfahren begründet liegen, bei allen sechs untersuchten Pflanzen zu beobachten werden können und grundsätzlicher Natur sind:

- eine fehlende süßliche Note beim Destillat
- ein Mangel an holzig-warmen, balsamigen und z.T. würzigen Noten im Destillat
- sowie eine zusätzliche Kochnote im Destillat.

Mittels Sniffing-GC-MS lässt sich festlegen, dass die fehlende süßliche Note im Destillat wesentlich auf das aromafixierende Vanillin zurückzuführen ist. Die Kochnote hingegen hat ihre Ursache in der Entstehung von Off-flavor-Komponenten (Methional, 1-Octen-3-on, 2-Acetyl-Pyrrolin, Phenylacetaldehyd, Vinylguajacol etc.) aus entsprechenden Vorstufen [181,182,231].

Es erscheint zulässig, den Aromastoff Vanillin als eine Art ubiquitäre Markersubstanz zu benennen, welche stellvertretend für viele andere wertgebende und schwerflüchtige Aromakomponenten steht, die mit Destillationsverfahren nur eingeschränkt angereichert werden können [181,231]. In Erweiterung bisheriger Kenntnisse gilt diese Aussage nicht nur bei stark fetthaltigem Extraktionsgut (Apiaceen-Früchte), sondern auch bei fettarmen, wachshaltigen pflanzlichen Materialien (Asteraceen-Blüten). Sowohl bei den quantitativen Untersuchungen im Rahmen der Bestandsaufnahme als auch bei Untersuchungen zur Aromaqualität muss hingenommen werden, dass im Vergleich zu den Extrakten die Komponenten des Destillates, gemessen auf einer unpolaren GC-Säule ab einem Elutionsindex von  $K_I > 1400$ , nicht mehr quantitativ angereichert werden.

Als Ergebnis des Vergleiches der Anreicherungsverfahren zur Aromaqualität ist festzustellen, dass einer annähernd vergleichbaren Aromaqualität bei den Extrakten eine erheblich verminderte Aromaqualität beim Destillat gegenübersteht.

Die bisherigen Ergebnisse zur Aromaqualität basieren lediglich auf einer Momentaufnahme und berücksichtigen nicht die Veränderung der Qualität in einem bestimmten Zeitraum. In Kap. B 3.4.2 (s. S. 106) wird dargelegt, dass der Wahl des Extraktionsverfahrens eine sehr große Bedeutung zukommt, weil damit die Aromaqualität nicht nur zu einem beliebigen Zeitpunkt, sondern nach einer Initialphase und Abganges leicht flüchtiger Verbindungen (s. S. 107 u. 108 Tab. 36 - 38) über einen längeren Zeitraum festgelegt wird. Ursache dafür können die zwischen Aromastoffen und Begleitstoffen (Fette bei den Apiaceen-Früchten sowie Cuticularwachse bei den Asteraceen-Blüten) auftretenden Wechselwirkungen sein, welche z.B. durch Retention ein schnelles Freisetzen von Aromastoffen aus der Matrix verhindern [181]. Aufgrund der chemischen Zusammensetzung der Destillate und Extrakte sowie des dargestellten Qualitätsverlaufes über einen Zeitraum (s. S. 109 Abb. 49) kann postuliert werden, dass in Korrelation zur Konzentration der lipophilen Begleitsubstanzen im Extrakt/Destillat auch der Zeitraum steigt, in dem die Aromaqualität annähernd gleich bleibt.

Für die Beurteilung der Aromaqualität von Hochdruckextrakten werden in dieser Arbeit erstmalig SFE-Extrakte „online“ ohne Lösungsmittelkontakt direkt nach der Extraktion mit und ohne SFC abgerochen. Das Geruchsempfinden wird durch die mobile Phase SC-CO<sub>2</sub> dabei nicht beeinträchtigt.

Das SFE-Sniffing (ohne SFC-Trennsäule) ermöglicht Rückschlüsse auf eine Fraktionierung zur Gewinnung von Aromaextrakten (s. S. 110 Kap B 3.4.3) dergestalt, dass Erkenntnisse abgeleitet werden können, in welcher Reihenfolge und in welchem Ausmaß die Elution von Aromastoffen aus der Pflanzenmatrix zu erwarten ist. Auf eine mögliche Elutionsreihenfolge in der SFC bzw. GC hingegen kann nicht geschlossen werden. Auffällig bleibt jedoch, dass mittels SFE-Sniffing bei keiner der sechs untersuchten Pflanzen negative Geruchseindrücke wahrgenommen werden können.

Der Vergleich verschiedener Sniffing-Verfahren führt zu wichtigen Erkenntnissen hinsichtlich der Bewertung der Aromaqualität, dargestellt am Beispiel von Schafgarbeblüten. Bei Aufgabe gleicher Extraktmengen können mit SFC-Sniffing 10 Geruchseindrücke, mit online-SFE-SFC-Sniffing 20 Geruchseindrücke (s. S. 114 Tab. 40) und mit dem etablierten GC-Sniffing sogar 43 Geruchseindrücke (s. S. 133 Tab. 46) wahrgenommen werden.

In Analogie zur Erstellung der Aromaprofile mittels GC-Sniffing werden auch beim SFC-Sniffing die Geruchseindrücke in acht Beschreibungen (ohne Kochnote) zusam-

mengefasst und entsprechend ihrer Geruchsdauer als Intensität dargestellt. Dabei zeigt sich am Beispiel von Schafgarbeblüten und Kreuzkümmelfrüchten (s. S. 116 - 118 Abb. 51 - 53), dass sowohl die Wahl der chromatographischen Trennsäule als auch die Menge an extrahiertem Probenmaterial das Aromaprofil beeinflussen. Insbesondere die Wahrnehmung negativer Geruchseindrücke ist nur bei polaren Säulen und hohen Einwaagen des Probenmaterials möglich.

Sofern im Vergleich zur GC unpolare Säulen eingesetzt und die gleiche Menge Extrakt untersucht und abgerochen werden, ergeben sich zwei wesentliche Unterschiede der beiden Systeme (s. S. 119 Abb. 54 u. 55): Die Aromakomponenten mit der Beschreibung „frisch, herb, grün, grasig“ (fh) sind mittels cSFC-Sniffing deutlich intensiver wahrnehmbar bei gleichzeitigem Fehlen der negativen Geruchseindrücke „modrig, muffig, stinkig, schweißig, beißend“ (mm). Diese Beobachtung wird bei beiden Pflanzen (Schafgarbeblüten und Kreuzkümmelfrüchte) gemacht.

Es ist jedoch zu bedenken, dass die im online-SFE-SFC-System abgerochenen Extrakte unter möglichst inerten Bedingungen in 40 Minuten bei 40 °C aus dem Pflanzenmaterial hergestellt und online bei nur 100 °C in nur 30 Minuten in SC-CO<sub>2</sub> chromatographiert und abgerochen werden, sodass thermische sowie sauerstoff- und lichtinduzierter Degradation weitestgehend ausgeschlossen werden können. Andererseits hat die cSFC eine deutlich geringere Trennleistung im Vergleich zur HRGC, und das hat unbestritten Auswirkungen auf die Wahrnehmung von Aromastoffen.

Die Antwort auf die entstehende Frage, inwieweit welcher Geruchseindruck wirklich im originären Pflanzenmaterial vorhanden ist oder lediglich durch „Systemfehler“ entsteht bzw. wegfällt, bleibt weiteren Untersuchungen vorbehalten.

## D ZUSAMMENFASSUNG

Es soll am Beispiel ausgewählter Pflanzenbestandteile (Blüten und Früchte) der Einfluss von Anreicherungsverfahren auf die Qualität der jeweiligen Extrakte im Vergleich zu den Destillaten untersucht werden. Dabei ist unter Qualität weniger die quantitative Ausbeute als vielmehr eine mit chemisch-analytischen, sensorischen und mikrobiologischen Methoden messbare Qualität wertgebender Inhaltsstoffe und Parameter zu verstehen.

Ziel dieser Arbeit ist deshalb nicht die Charakterisierung und Strukturaufklärung unbekannter Substanzen, sondern der qualitative und quantitative Vergleich eigener Bestandsaufnahmen sowie der selbst angewendeten Extraktions-, Destillations- und Chromatographieverfahren mit denjenigen der Literatur. Dabei kommt der Entwicklung einer analytischen SFE-Methode sowie der Überlegung, die Chromatographie mit überkritischen Fluiden auf ihre Eignung als eine Analysenmethode zur Qualitätskontrolle von Extrakten und Destillaten zu prüfen, eine besondere Bedeutung zu.

Bei den zur Untersuchung herangezogenen Pflanzenbestandteilen handelt es sich um fetthaltige Früchte von Kümmel, Cumin, Anis und Koriander aus der Familie der Apiaceae sowie um ganze Blütenstände von Schafgarbe und Kamille aus der Familie der Asteraceae. Auf Basis eines standardisiert zerkleinerten Pflanzenmaterials werden Destillate und Lösungsmittelextrakte (Mazerate und Soxhletextrakte) hergestellt und untersucht. Des Weiteren wird eine analytische SFE-Methode zur quantitativen Extraktion mit SC-CO<sub>2</sub> entwickelt, die aufgrund der gewählten Extraktions- und Elutionsbedingungen eine Vergleichbarkeit mit herkömmlichen Extraktions- und Destillationsmethoden zur Gewinnung etherischer Öle ermöglicht.

Bei der Optimierung der Extraktions- und Elutionsparameter der analytischen SFE-Methode werden die systembedingten Grenzen dieses Verfahrens aufgezeigt. Unter der Vorgabe, das etherische Öl sowie möglichst alle aromarelevanten Verbindungen in nur einem Extraktionsschritt vollständig zu erfassen, darf die Extraktionstemperatur nicht mehr als 40 °C betragen. Zugleich erfordert die quantitative Extraktion hochsiedender Aromastoffe aus den Blütenbestandteilen einen Extraktionsdruck von mindestens 140 bar. Die quantitative, chemisch-analytische Bestandsaufnahme sowie die Ergebnisse der

sensorischen Untersuchungen belegen, dass bei diesen Extraktionsbedingungen zwar die grundsätzliche Vergleichbarkeit von Hochdruckextrakten mit Lösungsmittelextrakten hinsichtlich wertgebender Inhaltsstoffe bei allen sechs untersuchten Pflanzenbestandteilen gegeben ist, aber die Co-Extraktion unerwünschter lipophiler Begleitstoffe hingenommen werden muss.

Bei der Anwendung chromatographischer Trennmethode zur Untersuchung der Destillate und Extrakte zeigt sich, dass die HRGC mit FID- und MS-Detektion die annähernd 100 %ige quantitative und qualitative Analyse von Destillaten ermöglicht, aber die Analyse von LSM- und SFE-Extrakten durch den zunehmenden Anteil nichtflüchtiger Komponenten limitiert ist. Die SFC mit dem universellen FID-Detektor hingegen vermag diese Grenze um den Bereich nichtflüchtiger, lipophiler Komponenten zu erweitern. Es wird am Beispiel der Methodenentwicklung zur Extraktion von Anisfrüchten sowie an der Untersuchung industriell hergestellter Hochdruckextrakte aus Korianderfrüchten gezeigt, dass die SFC-FID die quantitative Bestimmung des vollständigen SFE-Extraktes (einschließlich der nichtflüchtigen Bestandteile) ermöglicht und somit ein ideales Verfahren zur Qualitätskontrolle von Hochdruckextrakten darstellt.

Als problematisch hingegen erweist sich die Ankopplung an ein MS mittels eines eigens dafür konstruierten DFI-Interfaces. Die Grenzen der Leistungsfähigkeit dieses cSFC-MS-Systems, hervorgerufen durch miniaturisierte Trennsäulen mit eingeschränkter Probenkapazität einerseits sowie einer reduzierten Empfindlichkeit des SFC-MS im Vergleich zur GC-MS andererseits, können weder im offline- noch im online-SFE-SFC-Modus überwunden werden. Als Ergebnis führt diese Beschränkung dazu, dass im nichtflüchtigen Anteil der SFE-Extrakte lediglich die Hauptkomponenten identifiziert werden können, aber ein weitergehender Erkenntnisgewinn bei der Identifizierung von Minorkomponenten ohne weitergehende Fraktionierung der Extrakte nicht erreicht werden kann.

Der bereits in der Bestandsaufnahme festgestellte Unterschied zwischen Destillaten und Extrakten hinsichtlich ihrer chemischen Zusammensetzung hat seine Ursache in den unterschiedlichen Anreicherungsprinzipien Flüchtigkeit und Löslichkeit. Die Auswirkungen dieser Unterschiede auf die Qualität sind erheblich und werden mittels sensorischer und chemisch-analytischer Methoden bestimmt.

Die Destillate und Extrakte der untersuchten Pflanzenbestandteile weisen im IR-Spektroskop nur geringe Unterschiede auf und können nur im direkten Vergleich voneinander unterschieden werden.

Mögliche antioxidative Eigenschaften der Pflanzenbestandteile sind in den Destillaten und den lipophilen Extrakten nicht nachweisbar. Am Beispiel der Kamilleblüten kann jedoch gezeigt werden, dass mit Methanol gewonnene Extrakte im Gegensatz zu mit Diethylether und Pentan gewonnenen Extrakten antioxidativ wirksame Inhaltsstoffe enthalten. Diese können auch mit Hilfe der SFE extrahiert werden, jedoch nur unter drastischen Extraktionsbedingungen und Modifier-Zugabe.

Des Weiteren wird am Beispiel der Destillate und Extrakte von Kümmel-, Koriander- und Kreuzkümmelfrüchten belegt, dass die vorhandenen antimikrobiellen Eigenschaften, gemessen am Problemkeim *Staphylococcus aureus*, in Abhängigkeit vom gewählten Anreicherungsverfahren zu sehen sind. Die Korrelation zwischen dem Gehalt an etherischem Öl und dem Gehalt an co-extrahierten lipophilen Begleitstoffen besteht darin, dass mit zunehmendem Anteil an lipophilen Stoffen die mikrobielle Hemmwirkung sinkt.

Die sensorische Qualität wird ebenfalls wesentlich vom Anreicherungsverfahren bestimmt. Es wird nachgewiesen, dass in mittels SDE hergestellten Aromadestillaten im Gegensatz zu LSM- und SFE-Aromaextrakten weniger aromarelevante Verbindungen im hochsiedenden Bereich, bzw. die vorhandenen in geringerer Konzentration vorliegen. Dieser Mangel kann bei allen sechs Pflanzenbestandteilen am Beispiel des Vanillins, stellvertretend für aromarelevante hochsiedende Verbindungen durch die im Destillat verringerte Geruchsintensität nachgewiesen werden. Da zugleich eine intensive Kochnote (Off-flavor durch Methional, 1-Octen-3-on, 2-Acetyl-Pyrrolin, Phenylacetaldehyd, Vinylguajacol) im Destillat wahrnehmbar und identifizierbar ist, führen diese beiden Effekte zu einer erheblich geringeren Aromaqualität des Destillates.

Weiterhin kann gezeigt werden, dass die bei den Extraktionsverfahren co-extrahierten Begleitstoffe zu einer verbesserten Aromaqualität bzw. -stabilität über einen längeren Zeitraum beitragen.

Sofern die Aromaqualität der Destillate und Extrakte mit Hilfe der online-SFE-SFC-Sniffing bestimmt wird, ergibt sich für die Hochdruckextrakte eine erheblich höhere Qualitätseinstufung im Vergleich zur Bestimmung mit etablierten olfaktometrischen GC-Verfahren.

Zusammenfassend betrachtet, ist der Einfluss des Anreicherungsverfahrens auf die Qualität der Destillate und Extrakte als sehr hoch zu bewerten. Die Ergebnisse zeigen insbesondere, dass es nicht möglich ist, die unterschiedlichen Anwendungszwecke der Destillate und Extrakte mit der Optimierung nur eines Anreicherungsverfahrens abzudecken. Die Herstellung eines mikrobiologisch aktiven Konzentrates bzw. eines antioxidativ wirksamen Konzentrates erfordert ein anderes Anreicherungsverfahren als die Herstellung eines Aromakonzentrates. Auch eine höchst flexible und variable Extraktionsmethode wie die Hochdruckextraktion vermag nicht die vollständige Bandbreite der Anwendungszwecke abzudecken.

## **E MATERIAL UND METHODEN**

### **1 Präparative Methoden / Probenvorbereitung**

#### **1.1 Probenvorbereitung**

In einer Schlagmühle werden 10 g Pflanzenmaterial bei 20 °C für 30 Sekunden fein zermahlen und sofort zur Extraktion eingesetzt. Die Körngröße ist bei mehr als 80 % des Mahlgutes kleiner als 0,5 mm.

#### **1.2 Lösungsmittlextraktion (LSM)**

10 g der fein zerkleinerten Früchte bzw. Blüten werden unter Kühlung mit flüssigem Stickstoff dreimal in einer Reibschale für drei Minuten mit Diethylether extrahiert und über ein Faltenfilter in einen Rundkolben dekantiert. An einer Vigreux-Kolonnen erfolgt bei 40 °C die Aufkonzentration auf 5 ml. Die Konzentration des Lösungsmittlextraktes beträgt 2 g extrahiertes Pflanzenmaterial in 1,0 ml Diethylether.

#### **1.3 Supercritical Fluid Extraction (SFE)**

Es werden 1 g frisch gemahlene Früchte bzw. Blüten in einer Hochdruckextraktionsanlage bei 140 bar und 40 °C mit SC-CO<sub>2</sub> für 30 Minuten dynamisch extrahiert. Der Extrakt wird auf -20 °C gekühltem Festphasenmaterial quantitativ aufgefangen und mit Diethylether bei 20 °C eluiert. Die Konzentration des Hochdruckextraktes beträgt 1 g extrahiertes Pflanzenmaterial in 1,0 ml Diethylether.

Gerät:	SFE - Extraktor HP 7680 A
Probenmenge:	1,0 g
Volumen der Extraktionszelle:	7,5 ml

Kühlmittel: Kohlenstoffdioxid 3.5 mit Steigrohr (Linde)  
 Sorbens der Extraktionsfalle: Kieselgel Octadecyl, endcapped (C18ec);  
 40 µm Korngröße (Macherey und Nagel)

Extraktion:

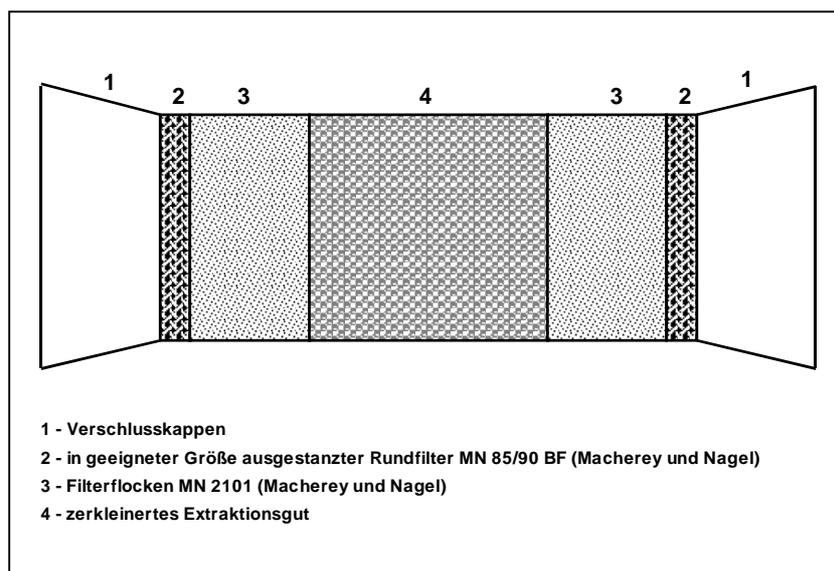
Temperatur: 40 °C  
 Dauer: 10 Minuten statisch, 30 Minuten dynamisch  
 Extraktionsmittel: Kohlenstoffdioxid 5.3 mit Steigrohr (Linde)  
 Flussrate: 0,5 ml/min  
 Extraktionsmittelvolumen: 15 ml  
 Temperatur der Extraktionsfalle: -20 °C

Elution:

Temperatur 20 °C  
 Elutionsdauer: 5 Minuten  
 Elutionsmittel: Diethylether (Pestanal – Riedel de Haen)  
 Flussrate: 0,2 ml/min  
 Elutionsmittelvolumen: 1,0 ml

Packung der Extraktionszelle:

Alle in der Extraktionszelle eingesetzten Hilfsstoffe (Rundfiltermaterial, Filterflocken) werden zuvor in einer Soxhlet-Apparatur mit Diethylether acht Stunden unter Rückfluss bei 40 °C vorextrahiert und dann getrocknet. Die Packung der Extraktionszellen erfolgt gemäß folgender Abbildung:



**Abbildung 61:**

*symmetrische Packung der Extraktionszelle*

Der Einbau der Extraktionszelle in den Extraktor ist aufgrund der streng symmetrischen Packungsart unabhängig von der Flussrichtung des SC-CO<sub>2</sub>. Das Rundfiltermaterial stellt einen zuverlässigen Schutz gegen das Ausschwemmen von Partikeln dar, so dass auch an den hochempfindlichen Ventilen der Extraktionsanlage keine durch das Extraktionsgut bedingte Störungen auftreten können. Die Filterflocken führen zu einer vollständigen Packung der Extraktionszelle und verhindern das Entstehen von Hohl- und Verwirbelungsräumen während der Extraktion, eine wesentliche Voraussetzung für reproduzierbare Ergebnisse.

### Funktionsbeschreibung:

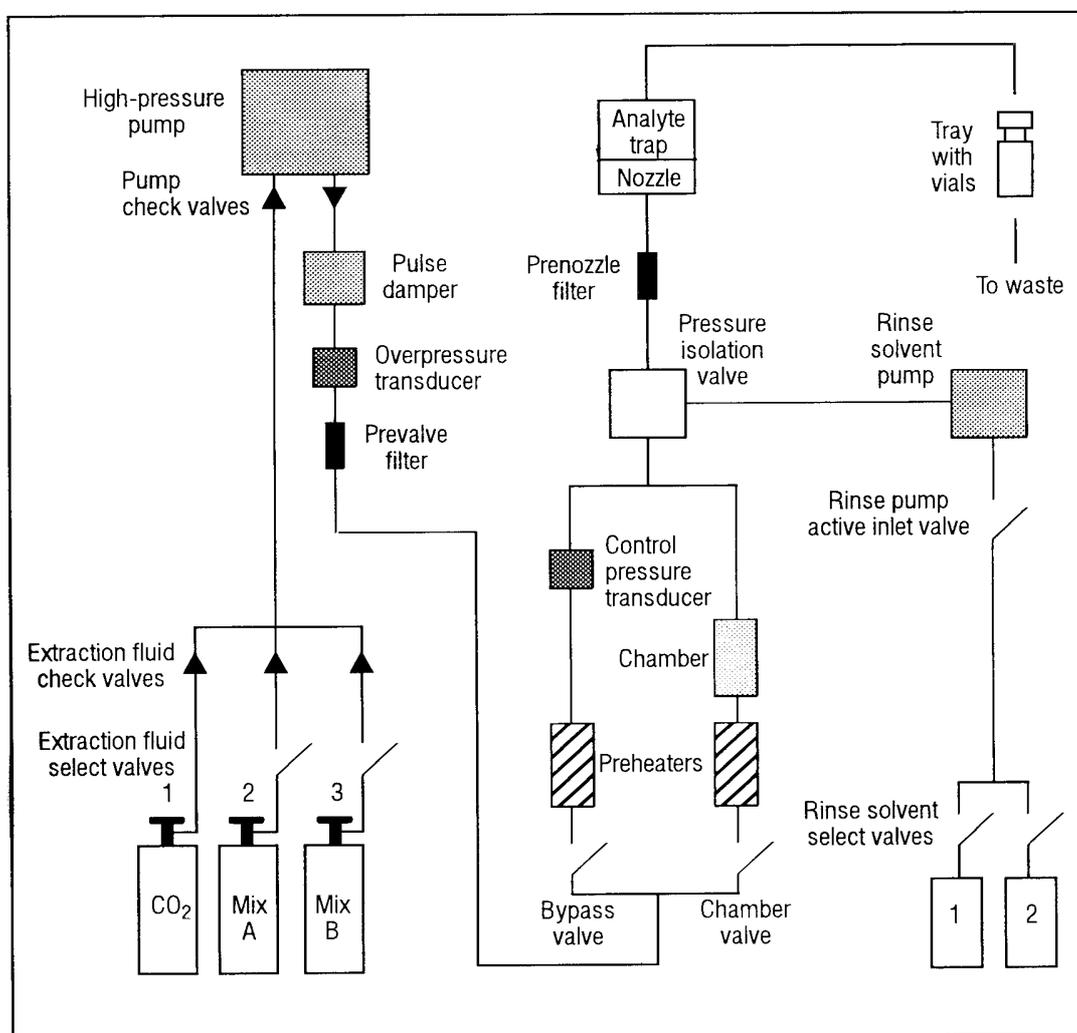


Abbildung 62: Funktionsschema des SFE-Extraktors HP 7680 A

Beim HP 7680 A Extraktor wird flüssiges CO<sub>2</sub> mit einem Druck von ca. 60 bar aus einer Gasflasche mit Steigrohrtechnik und ohne Heliumkopfdruck entnommen und mit einer Doppelkolbenpumpe (high pressure pump) auf den vorgegebenen Extraktions-

druck verdichtet. Bei Doppelkolbenpumpen werden auf der Hochdruckseite Pulsationsdämpfer (pulse damper) eingesetzt, um einen möglichst gleichmäßigen CO<sub>2</sub>-Fluss ohne größere Druckschwankungen zu gewährleisten. Das flüssige CO<sub>2</sub> wird erst kurz vor der Extraktionszelle (chamber) durch eine Heizung (preheater) erwärmt und somit bei konstant gehaltenem Druck in den überkritischen Zustand überführt.

Der HP 7680 A Extraktor ermöglicht sowohl eine statische als auch eine dynamische Extraktion. Bei der statischen SFE wird ein Eingangsventil (bypass valve) geöffnet, das zweite Eingangsventil (chamber valve) geschlossen - damit werden Verwirbelungen des Fluids vermieden - und das Ausgangsventil (pressure isolation valve) geschlossen. So wird die Extraktionszelle bei konstanter Temperatur unter Druck, die Probe mit überkritischem Fluid eingeweicht und ein Gleichgewichtszustand zwischen Extraktionsfluid und Probenmatrix eingestellt. Vor der statischen Extraktion kann ein Modifier direkt in die Extraktionszelle gegeben werden. Damit werden die Polarität des überkritischen Fluids erhöht und die Analyten von den aktiven Stellen der Matrix verdrängt. Bei der dynamischen SFE drückt die Hochdruckpumpe das überkritische Fluid mit konstantem Fluss durch die Extraktionszelle. Dazu wird das Eingangsventil (chamber valve) geöffnet, das andere Eingangsventil (bypass valve) geschlossen und das Ausgangsventil (pressure isolation valve) wiederum geöffnet.

Die Regelung des durchströmenden Eluenten erfolgt durch einen in der Durchflussmenge und Temperatur variablen Restriktor (nozzle). Ein feiner Filter (pre-nozzle filter) verhindert die Verstopfung des Restriktors durch z.B. sehr feine Partikel. Die regelbare Durchflussmenge liegt zwischen 0,5 und 2,0 mL Fluid pro Minute. Der Restriktor wird beheizt, um aufgrund des Joule-Thomson-Effekts das Zufrieren der Restriktorspitze bei der Entspannung des SC-CO<sub>2</sub> zu verhindern. Dabei entstehen bei einem Fluss von 1,0 ml Fluid (bei 40 °C und ca. 400 bar) bis zu 500 ml gasförmiges CO<sub>2</sub> pro Minute. Um einerseits die hohen Gasmengen abzuführen und andererseits den Probenextrakt aufzufangen, wird das Fluid direkt nach dem Restriktor in eine Extraktionsfalle (analyte trap) entspannt. Die Extraktionsfalle kann mit verschiedenen Sorbentien gefüllt werden und ermöglicht so bei gleichzeitiger Kühlung eine wirkungsvolle Fokussierung des Extraktes an einer großen Oberfläche.

Um den Extrakt von der Extraktionsfalle zu spülen, können mit einer Lösungsmittelpumpe (rinse solvent pump) bis zu zwei verschiedene Elutionsmittel über die Extraktionsfalle geleitet und anschließend fraktionsweise aufgefangen werden. Wird z.B. eine mit Sorbentien gefüllte Extraktionsfalle verwendet, so kann mit dem Spülschritt eine

wirkungsvolle Festphasenextraktion erreicht werden. Der eluierte Extrakt wird, je nach Methode, in ein oder mehrere Chromatographie-Gläser (Vials) gespült und steht dann der chromatographischen Trennung zur Verfügung.

#### 1.4 Simultane Destillation - Extraktion (SDE)

10 g der fein zerkleinerten Früchte bzw. Blüten werden in 250 ml demineralisiertem Wasser suspendiert, danach in einer nach Liekens-Nickerson modifizierten SDE-Apparatur die vorgegebene Zeit nach DAB, DAC bzw. EuAB destilliert und simultan mit 50 ml Diethylether extrahiert. Dabei sind in den Arzneibüchern, bzw. in der Literatur bei definierten Destillationsflüssen (ml/min) folgende Extraktionszeiten für eine erschöpfende Extraktion zur Bestimmung des etherischen Öles genannt:

Kümmel (Früchte):	90 min.
Anis (Früchte):	120 min.
Koriander (Früchte):	120 min.
Kamille (Blüten):	240 min.
Schafgarbe (Blüten):	180 min.
Kreuzkümmel (Früchte):	120 min.

An einer Vigreux-Kolonnen erfolgt bei 40 °C die Aufkonzentration auf 5 ml. Die Konzentration des SDE-Destillates beträgt 2 g extrahiertes Pflanzenmaterial in 1,0 ml Diethylether.

#### 1.5 Soxhlet-Extraktion

10 g der fein zerkleinerten Früchte bzw. Blüten werden in mit Diethylether vorextrahierte Extraktionshülsen gefüllt, mit vorextrahierter Watte verschlossen und anschließend mit 150 ml siedendem Diethylether über einen Zeitraum von acht Stunden erschöpfend extrahiert. An einer Vigreux-Kolonnen erfolgt bei 40 °C die Aufkonzentration auf 5 ml. Die Konzentration des Soxhlet-Extraktes beträgt 2 g extrahiertes Pflanzenmaterial in 1,0 ml Diethylether.

## 1.6 Säulenchromatographie

Zur Fraktionierung werden Glassäulen mit Temperiermantel (250 mm x 35 mm i.d.) verwendet und mit getrocknetem Kieselgel 60, Korngröße 0.063 – 200  $\mu\text{m}$  (70 – 230 mesh, Merck 7734), deaktiviert mit 7 % Wasser, befüllt. Mit Hilfe eines Kryostaten werden die Säulen auf 10 °C gekühlt und anschließend mit Pentan konditioniert. Nach Aufgabe von 10 ml Extrakt in Diethylether (entsprechend 20 g extrahiertem Pflanzenmaterial) erfolgt die Fraktionierung und anschließende Aufkonzentration an einer Vigreux-Kolonnen bei 40 °C auf wiederum 10 ml Endvolumen.

Fraktion I:	250 ml Pentan
Fraktion II:	250 ml Pentan / Diethylether (90/10)
Fraktion III:	250 ml Pentan / Diethylether (80/20)
Fraktion IV:	250 ml Diethylether

## 2 Analytische Methoden

### 2.1 Gaschromatographie

#### 2.1.1 GC-FID

Gerät:	GC HP 5840 mit FID und Integrator
Trennsäule:	SE 54, 50m x 0,32 mm i.d., $d_f$ 0,38 $\mu\text{m}$ (M&N Permabond)
Temperatur Injektor:	270 °C
Aufgabevolumen:	1 $\mu\text{l}$
Liner:	split-Liner gepackt mit Glaswolle und OV17
Temperatur Detektor:	270 °C
Temperaturprogramm:	60 °C / 5 min, 2 °C / min, 270 °C 20 min
Trägergas:	Helium
Headpressure:	13 psi

Brenngase:	1 - Luft mit 230 ml/min
	2 - Wasserstoff mit 25 ml/min
	3 - Stickstoff mit 15 ml/min
Säulenfluss:	1 ml/min
Splitverhältnis:	1:12

Zur quantitativen Bestimmung der Extrakte wird Decansäuremethylester als Standard zugesetzt. Die Quantifizierung erfolgt über die Peakflächen ohne Ermittlung der Korrekturfaktoren (TS1).

### 2.1.2 GC-Sniffing

Gerät: wie 2.1.1

Die untersuchten Extrakte werden gaschromatographisch aufgetrennt. Mittels Säulensplitter wird am Ende der analytischen Trennsäule der Trägergasstrom 1:1 geteilt und sowohl am FID detektiert als auch in einer mit 190 ml/min angefeuchteter Luft gespülten, selbst konstruierten Sniffing-Maske abgerochen. Die Sniffing-Analysen wurden gegen 10-12 Uhr vormittags von zwei darin geübten Mitarbeitern, die hinsichtlich Geruchsempfindlichkeit bzw. Anzahl der erkannten Gerüche besonders geeignet sind, durchgeführt.

## 2.2 Supercritical-Fluid-Chromatographie (SFC)

Alle chromatographischen Analysen erfolgen am SFE-SFC-System MPS 225 (Multi-Purpose-System) der Fa. Suprex. Dabei können am MPS 225 sowohl offline-Extraktionen (statisch und dynamisch) als auch Extraktionen mit anschließender online-Chromatographie sowohl an gepackten als auch an Kapillarsäulen durchgeführt werden. Eine dem komplexen Gerät angepasste elektronische Steuerung erlaubt Extraktion und Chromatographie bei unterschiedlichen Temperaturen.

Als Extraktionsmittel bzw. als mobile Phase wird ausschließlich reines Kohlenstoffdioxid 5.5 ohne Modifier mit Kopfdruck (Helium 6.0) eingesetzt. Durch den Kopfdruck kann der Flaschendruck von üblicherweise 55 - 60 bar bei Raumtemperatur auf mehr als

100 bar erhöht werden. Wenn die 250 ml Spritzenpumpe des MPS-Systemes mit SC-CO<sub>2</sub> von mehr als 100 bar vollständig gefüllt wird, können auch Extraktionen und chromatographischen Trennungen mit hohem CO<sub>2</sub>-Verbrauch durchgeführt werden, ohne dass zur erneuten Füllung der Spritzenpumpe die laufende Methode unterbrochen werden muss.

#### MPS 225 mit gepackten Säulen:

Standardmäßig ist das MPS 225 für Arbeiten mit gepackten Säulen konzipiert. Alle Kapillaren im MPS 225 (von der Spritzenpumpe bis zum Detektor) bestehen aus Edelstahl und haben einen i.d. von 1 mm. Die verwendeten gepackten Trennsäulen sind 10 - 25 cm lang und haben ebenfalls einen i.d. von 1 mm. Die Spezifikation erfolgt mittels eines 1000 ppm Standards (Suprex) im SFE-SFC-online Modus. Originär besitzt das MPS 225 einen elektronisch gesteuerten Injektor mit 1 µl - Rotor sowie einen Flammenionisationsdetektor, welcher für hohe Gasflüsse ohne „make-up“-Gas (> 500 ml CO<sub>2</sub>/min) ausgelegt ist.

#### MPS 225 mit Kapillarsäulen:

Für die Nutzung als Kapillarsystem ist ein vollständiger Umbau (insbesondere des Injektionssystems) mit Systemoptimierung für geringe Flüsse der mobilen Phase erforderlich. Wenn der Injektor zum dynamic-split Injektor umgebaut wird, können die originäre Edelstahleinlasskapillare und der 1 µl - Rotor dann beibehalten werden, wenn das Split-Verhältnis zwischen Trennsäule und Restriktor/Split auf ca. 1:10 bis 1:50 eingestellt wird.

Die verwendeten Kapillartrennsäulen sind 5 bis 10 m lang und haben einen i.d. von 50 bzw. 100 µm. Sie bestehen genauso wie die verwendeten Restriktoren aus deaktiviertem fused-silica, haben einen o.d. von 200 (Dionex) bzw. 400 µm (Macherey und Nagel) und erfordern für den Anschluss an den Injektor und an die 4- und 10-Wege-Ventile spezielle Adapter (temperatur- und druckbeständige vespel-ferrules), damit bei laufendem Betrieb und hohen Drücken die Dichtigkeit des gesamten Systems erhalten bleibt. Die Verbindung der fused-silica Kapillaren untereinander erfolgt idealerweise durch totvolumenarme, temperaturresistente und druckfeste Graphit-Konnektoren (Gerstel).

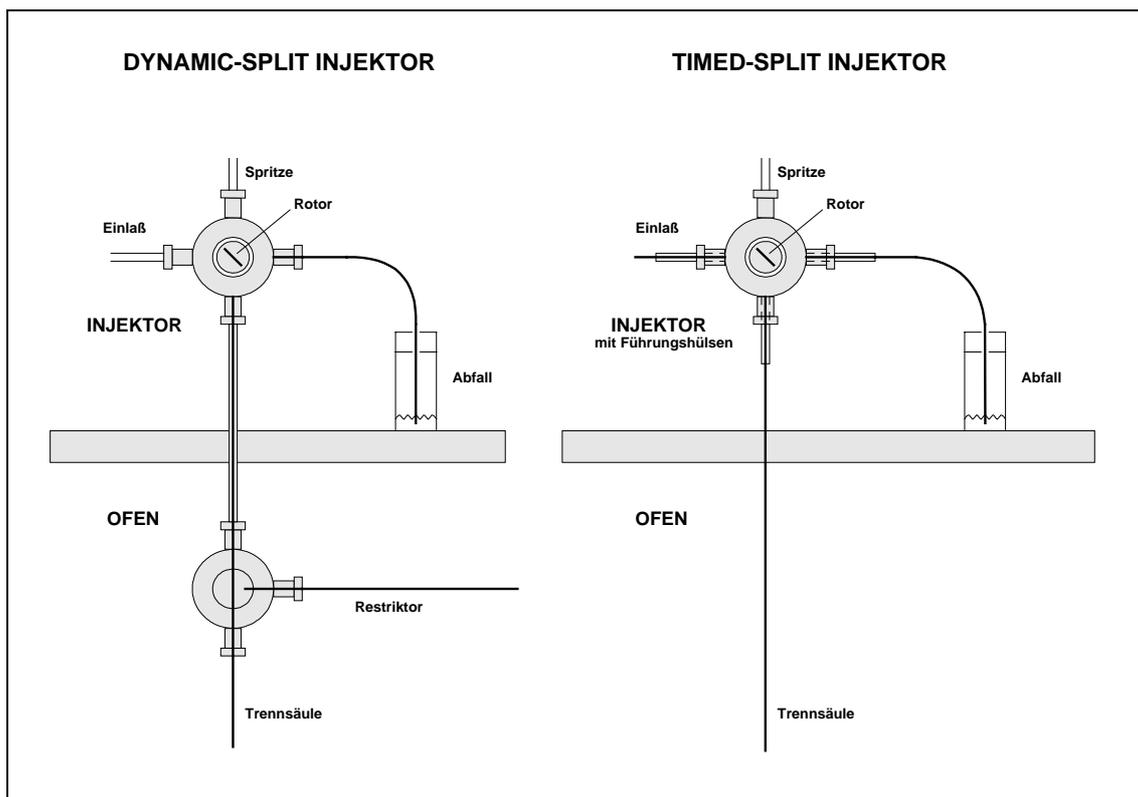
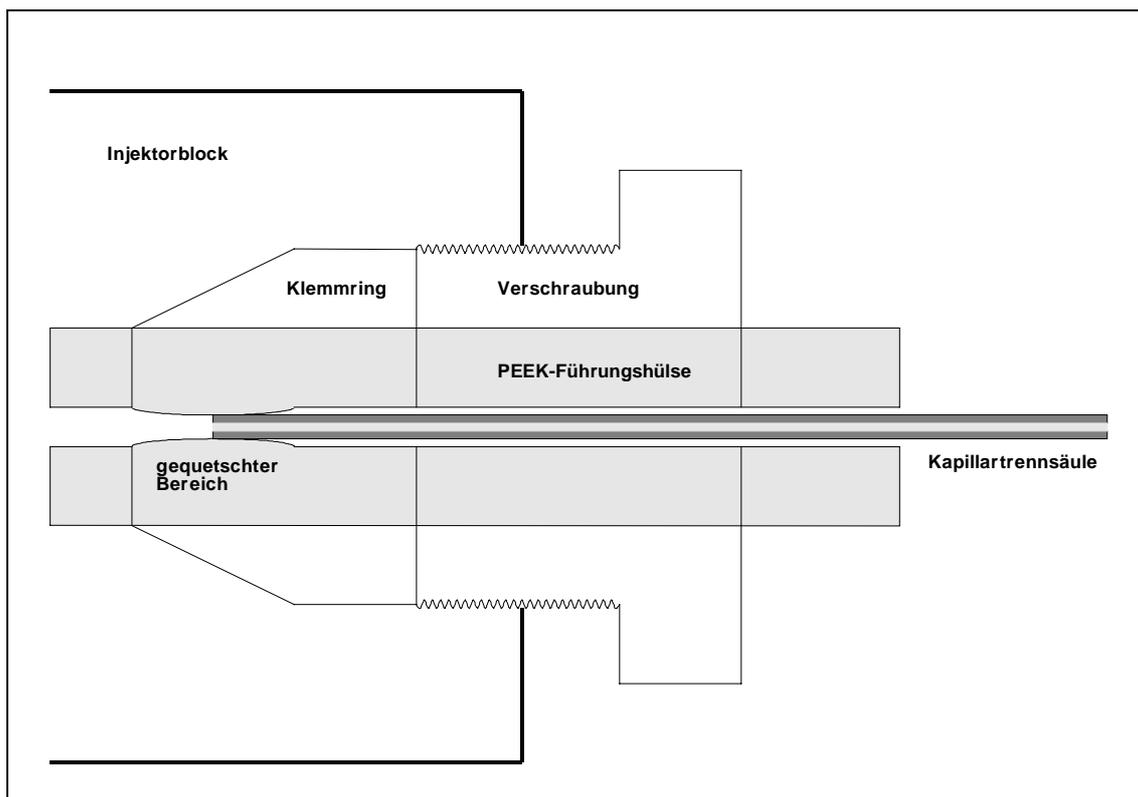


Abbildung 63: dynamic-split und timed-split Injektor im MPS 225

Im weiteren Verlauf der Methodenentwicklung wurde das elektronische Injektionssystem (auch bereits in der verbesserten Form als dynamic-split Injektor) durch einen pneumatisch (5 bis 7 bar) gesteuerten und mit Helium betriebenen timed-split Injektor ersetzt. Dieser erlaubt besser kontrollierbare und reproduzierbare Injektionen mit Volumina zwischen 0,06 und 0,2  $\mu\text{l}$  (Einbau unterschiedlicher Rotoren) sowie einer variablen Injektionszeit von 50 Millisekunden bis hin zu mehreren Minuten bei gleichzeitig verringerter Diskriminierung auch in Kapillarsysteme (Anm.: Im Gegensatz zum System mit gepackten Säulen muss nach der Injektion in Kapillarsysteme das Injektionsventil unbedingt wieder geschlossen werden!).

Der Einbau des timed-split Injektors (jetzt wird die Injektionszeit und nicht das Injektionsvolumen gesplittet!) erfordert eine Miniaturisierung und Perfektionierung des Injektionssystems. Es muss die  $\text{CO}_2$  zuführende Einlasskapillare ebenfalls durch eine fused-silica Kapillare mit gleichem i.d. wie die eingesetzte Trennsäule ersetzt werden. Spezielle Führungshülsen sind für den totvolumenarmen Anschluss erforderlich (s. Abb. 64)



**Abbildung 64:** Totvolumenarmer Anschluss einer SFC-Kapillartrennsäule über eine Führungshülse in den Injektorblock des MPS 225

Die Führungshülsen bestehen aus PEEK, haben einen i.d. von 0,25 mm für die Kapillaren mit 200  $\mu\text{m}$  o.d. und einen i.d. von 0,5 mm für Kapillaren mit 400  $\mu\text{m}$  o.d.. Sie passen in die 1/16 Zoll Anschlüsse des MPS 225, werden durch den Edelstahl-Klemmring an einer definierten Stelle gequetscht und arretieren dabei gleichzeitig die eingesetzte Kapillartrennsäule. Dabei entsteht im Idealfall kein Totvolumen (s. Abb. 64).

Die in der cSFC verwendeten Restriktoren lassen nach der Entspannung des SC-CO<sub>2</sub> in Abhängigkeit von der Dichte des SC-CO<sub>2</sub> nur noch Gasflüsse von ca. 0,1 bis 10 ml CO<sub>2</sub>/min zu. Deshalb muss der auf hohe Gasflüsse eingestellte FID optimiert und zusätzlich mit „make-up“-Gas (Stickstoff) versorgt werden.

Für die Ermittlung dieses Optimums werden analog zum HRGC-FID Empfindlichkeit, Rauschen, Peakform und eventuell auftretende Spikes berücksichtigt. Zusätzlich ist bei der cSFC jedoch der Anstieg der Grundlinie bei zunehmendem Druck im chromatographischen System von 100 bar auf ca. 400 bar zu beachten (s. Abb. 65).

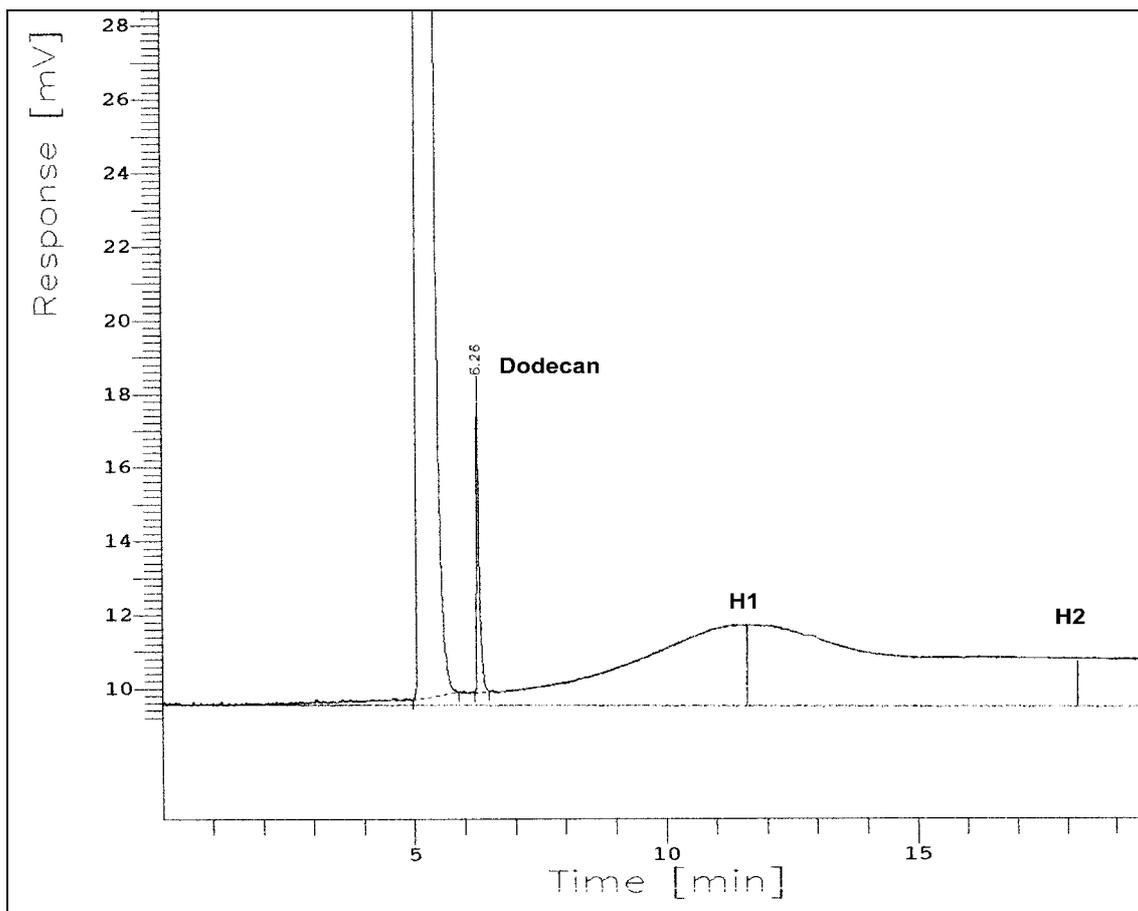


Abbildung 65: Optimierung des FID am MPS 225 für den Kapillarbetrieb (Erklärung s. Text)

Als Testlösung wird 1  $\mu\text{l}$  Dodecan in Hexan (0,3 mg/ml) bei einem dynamic-split von 1:25 aufgegeben. Die Injektionstemperatur beträgt 5 °C, die Ofentemperatur 110 °C; der Druck bleibt während der Injektion bei 120 bar für eine Minute konstant, steigt dann mit 12 bar/min auf 300 bar und bleibt dann bei 300 bar konstant. Die in der Abbildung gezeigten Werte H1 und H2 (in mV) zeigen die Empfindlichkeit des Systems auf die Druckerhöhung, bzw. die Reaktion des FID auf den erhöhten Gasfluss der mobilen Phase.

Die in Abschnitt 2.2.1 genannten Gasflüsse von Luft (500 ml/min), Wasserstoff (65 ml/min) und Stickstoff (100 ml/min) stellen für den FID des MPS 225 das Optimum für den Kapillarbetrieb dar.

### 2.2.1 cSFC-FID

Gerät: Suprex MPS 225 mit FID und timed-split Injektor

Temperatur Injektor: 5 °C durch Kryostat

Temperatur Detektor:	380 °C
Detektorgase:	1 - Luft 500 ml / min
	2 - Wasserstoff 65 ml / min
	3 - Stickstoff 100 ml / min
Temperatur Ofen:	100 °C
Mobile Phase:	Kohlenstoffdioxid 5.5 mit Kopfdruck (Helium 6.0)
Injektion:	timed-split, 10 bis 60 sec

### Methode 1

Zuführende Kapillare:	0,1 mm i.d. vor dem Injektor
Volumen der Rotoren:	0,1 µl und 0,2 µl
Trennsäule:	1 - Dionex SB-Biphenyl 30; 10 m x 0,05 mm, d <sub>f</sub> 0,25 µm
	2 - Dionex SB-Methyl 100; 10 m x 0,05 mm, d <sub>f</sub> 0,25 µm
	3 - Dionex Carbowax; 10 m x 0,05 mm, d <sub>f</sub> 0,25 µm
Restriktor:	1 - Dionex frit-restrictor, fused silica 0,05 mm i.d.
	2 - Macherey und Nagel Guthrie - Restriktor 0,05 mm i.d.
Flussraten(als Gas):	0,5 bis 1 ml CO <sub>2</sub> bei 100 bar und 100 °C
Verbindungsstücke:	Gerstel 0,2 / 0,2 mm i.d. für frit-restrictor und
	0,2 / 0,4 mm i.d. für Guthrie - Restriktor
Druckprogramm:	100 bar / 10 min, 3 bar / min, 370 bar / 20 min
Laufzeit:	120 Minuten

### Methode 2

Zuführende Kapillare:	0,1 mm i.d. vor dem Injektor
Volumen der Rotoren:	0,2 µl und 0,5 µl
Trennsäule:	Lee SB Biphenyl 30; 20 m x 0,1 mm, d <sub>f</sub> 0,5 µm
Restriktor:	1 - Dionex frit-restrictor, fused silica 0,1 mm i.d.
	2 - Macherey und Nagel Guthrie - Restriktor 0,1 mm i.d.
Flussraten(als Gas):	2 bis 4 ml CO <sub>2</sub> bei 100 bar und 100 °C
Verbindungsstücke:	Gerstel 0,2 / 0,2 mm i.d. für frit-restrictor und
	0,2 / 0,4 mm i.d. für Guthrie - Restriktor
Druckprogramm:	100 bar / 10 min, 3 bar / min, 340 bar / 20 min
Laufzeit:	110 Minuten

### 2.2.2 pSFC-FID

Gerät:	Suprex MPS 225 mit FID und timed-split Injektor	
Temperatur Injektor:	5 °C durch Kryostat	
Temperatur Detektor:	380 °C	
Detektorgase:	1 - Luft	700 ml / min
	2 - Wasserstoff	90 ml / min
Temperatur Ofen:	100 °C	
Mobile Phase:	Kohlenstoffdioxid 5.5 mit Kopfdruck (Helium 6.0)	
Injektion:	timed-split, 10 sec	
Zuführende Kapillare:	0,25 mm i.d. vor dem Injektor	
Volumen des Rotors:	1 µl	
Trennsäule:	1 - Suprex Deltabond Cyanophase; 20 cm x 1 mm, 2 - Suprex Deltabond Kieselgel; 20 cm x 1mm	
Restriktor:	Suprex Guthrie - Restriktor 0,25 mm i.d.	
Flussraten(als Gas):	25 bis 30 ml CO <sub>2</sub> bei 100 bar und 100 °C	
Verbindungsstücke:	Gerstel 0,4 / 0,4 mm i.d. für Guthrie - Restriktor	
Druckprogramm:	100 bar / 10 min, 3 bar / min, 340 bar / 20 min	
Laufzeit:	110 Minuten	

### 2.2.3 cSFC-Sniffing

Gerät: wie unter 2.2.1

Sniffing:

Die untersuchten Extrakte werden mit überkritischem Kohlenstoffdioxid aufgetrennt. Statt des FID befindet sich am Ende der analytischen Trennsäule eine mit 190ml/min angefeuchteter Luft gespülte, selbst konstruierten Sniffing-Maske, mit deren Hilfe die Extrakte abgerochen werden. Dabei wird der Kapillarrestriktor auf 280 °C erhitzt, um Verstopfungen zu vermeiden. Die Sniffing-Analysen wurden gegen 10-12 Uhr vormittags von zwei darin geübten Mitarbeitern, die hinsichtlich Geruchsempfindlichkeit bzw. Anzahl der erkannten Gerüche besonders geeignet sind, durchgeführt.

### 2.2.4 pSFC-Sniffing

Gerät: wie unter 2.2.2

Sniffing: wie unter 2.2.3

### 2.2.5 SFE-Sniffing / FID

Gerät: Suprex MPS 225 mit FID

Temperatur Ofen: 40 °C

Mobile Phase: Kohlenstoffdioxid 5.5 mit Kopfdruck (Helium 6.0)

Extraktionszelle: Suprex 0,5 ml und 1,0 ml

Einwaagen: 2 bis 20 mg Pflanzenmaterial

Splitter: Gerstel Kreuzstück 0,4 mm / 0,4 mm / 0,4 mm i.d.

Restriktor: Suprex Guthrie - Restriktor 0,25 mm i.d.

Flussraten(als Gas): 25 bis 30 ml CO<sub>2</sub> bei 100 bar und 100 °C

Druckprogramm: 100 bar / 15 min, 20 bar / min

120 bar / 15 min, 20 bar / min

140 bar / 15 min, 20 bar / min

160 bar / 15 min, 20 bar / min

180 bar / 15 min, 20 bar / min

200 bar / 15 min, 20 bar / min

220 bar / 15 min, 20 bar / min

400 bar / 15 min

Laufzeit: 135 Minuten

Sniffing:

Die fein zerkleinerten Pflanzenmaterialien werden in eine kleine Extraktionszellen (0,5 bis 1ml) eingewogen, mit überkritischem Kohlenstoffdioxid extrahiert und die Extrakte online ohne chromatographische Trennsäule über ein Kreuzstück zum einen in die mit 190 ml/min angefeuchteter Luft gespülte, selbst konstruierten Sniffing-Maske und zum anderen in den FID transportiert. Die an das Kreuzstück angeschlossenen Restriktoren haben gleiche Eigenschaften, so dass eine Auftrennung des Extraktes im Verhältnis 1:1 erfolgt. Die Sniffing-Analysen wurden gegen 10-12 Uhr vormittags von zwei darin ge-

übten Mitarbeitern, die hinsichtlich Geruchsempfindlichkeit bzw. Anzahl der erkannten Gerüche besonders geeignet sind, durchgeführt.

### 2.2.6 Online-SFE-SFC-Sniffing / -FID

Gerät: Suprex MPS 225 mit FID und timed-split Injektor  
Temperatur Detektor: 380 °C

#### Extraktion

Temperatur Ofen: 40 °C  
Druck: 140 bar  
Statische Extraktion: 10 Minuten  
Dynamische Extraktion: 30 Minuten  
Temperatur Extraktionsfalle: -20 °C  
Phase Extraktionsfalle: Kieselgel RP 18-ec; 40 µm Korngröße  
(Macherey und Nagel)  
Restriktor: Suprex Guthrie - Restriktor 0,25 mm i.d.  
Flussraten(als Gas): 25 bis 30 ml CO<sub>2</sub> bei 100 bar und 100 °C

#### online-Chromatographie mit Kapillarsäulen

Detektorgase: 1 - Luft 500 ml / min  
2 - Wasserstoff 65 ml / min  
3 - Stickstoff 100 ml / min  
Temperatur Extraktionsfalle: 100 °C  
Temperatur Ofen: 100 °C  
Trennsäulen: 1 - Dionex SB-Biphenyl 30; 10 m x 0,05 mm, d<sub>f</sub> 0,25 µm  
2 - Dionex SB-Methyl 100; 10 m x 0,05 mm, d<sub>f</sub> 0,25 µm  
3 - Dionex Carbowax; 10 m x 0,05 mm, d<sub>f</sub> 0,25 µm  
4 - Lee SB Biphenyl 30; 20 m x 0,1 mm, d<sub>f</sub> 0,5 µm  
Restriktoren: 1 - Dionex frit-restrictor, fused silica 0,05 mm i.d.  
2 - Dionex frit-restrictor, fused silica 0,1 mm i.d.  
3 - Macherey und Nagel Guthrie - Restriktor 0,05 mm i.d.  
4 - Macherey und Nagel Guthrie - Restriktor 0,1 mm i.d.

Flussraten(als Gas):	<u>für die Säulen 1 bis 3</u> 0,5 bis 1 ml CO <sub>2</sub> bei 100 bar und 100 °C <u>für die Säule 4</u> 2 bis 4 ml CO <sub>2</sub> bei 100 bar und 100 °C
Verbindungsstücke:	Gerstel 0,2 / 0,2 mm i.d. für frit-Restriktoren und Gerstel 0,2 / 0,4 mm i.d. für Guthrie-Restriktoren
Druckprogramm:	100 bar / 10 min, 3 bar / min, 370 bar / 20 min
Laufzeit:	120 Minuten

Anmerkung:

Der in Kapitel E 2.2 beschriebene „dynamic split“ muss im Falle der online-Chromatographie mit Kapillaren am 10-Wege-Ventil eingebaut werden, so dass der vollständige Extrakt beim Umschalten vom Extraktionsmodus in den Injektionsmodus durch das einschließende SC-CO<sub>2</sub> vollständig über das 10-Wege-Ventil „injiziert“ werden kann. Der dafür im 10-Wege-Ventil erforderliche hohe Fluss an SC-CO<sub>2</sub> kann nur durch den „dynamic split“ realisiert werden. Gleichzeitig ermöglicht der „dynamic split“ eine höhere Einwaage (bis zu ca. 25 mg) des Probenmaterials für die Extraktion.

online-Chromatographie mit gepackten Säulen

Detektorgase:	1 - Luft	700 ml / min
	2 - Wasserstoff	90 ml / min
Temperatur Extraktionsfalle:	100 °C	
Temperatur Ofen:	100 °C	
Trennsäule:	1 – Suprex Cyanophase; 20 cm x 1 mm, 2 – Suprex Kieselgel; 20 cm x 1mm	
Restriktor:	Suprex Guthrie - Restriktor 0,25 mm i.d.	
Flussraten(als Gas):	25 bis 30 ml CO <sub>2</sub> bei 100 bar und 100 °C	
Verbindungsstücke:	Gerstel 0,4 / 0,4 mm i.d. für Guthrie - Restriktor	
Druckprogramm:	100 bar / 10 min, 3 bar / min, 340 bar / 20 min	
Laufzeit:	110 Minuten	

Funktionsweise des SFE/SFC-FID Chromatographiesystems:

Die folgenden Abbildungen zeigen als schematischen Überblick die Arbeitsweise des Suprex MPS 225 im Extraktionsmodus und anschließender online Chromatographie am Beispiel mit gepackten Säulen und FID.

Statt einer Injektion von 0,2 bis 1,0 ml Volumen auf eine Kapillare bzw. gepackte Säule erfolgt zunächst die statische Extraktion (s. Abb. 66). Dabei strömt das Fluid durch das 10-Wege-Ventil durch die Ports 3 und 4 in die Extraktionszelle und benetzt das Proben-gut. Das 4-Wege-Ventil bleibt dabei geschlossen. Die mobile Phase kann die Extrakti-onszelle nicht verlassen.

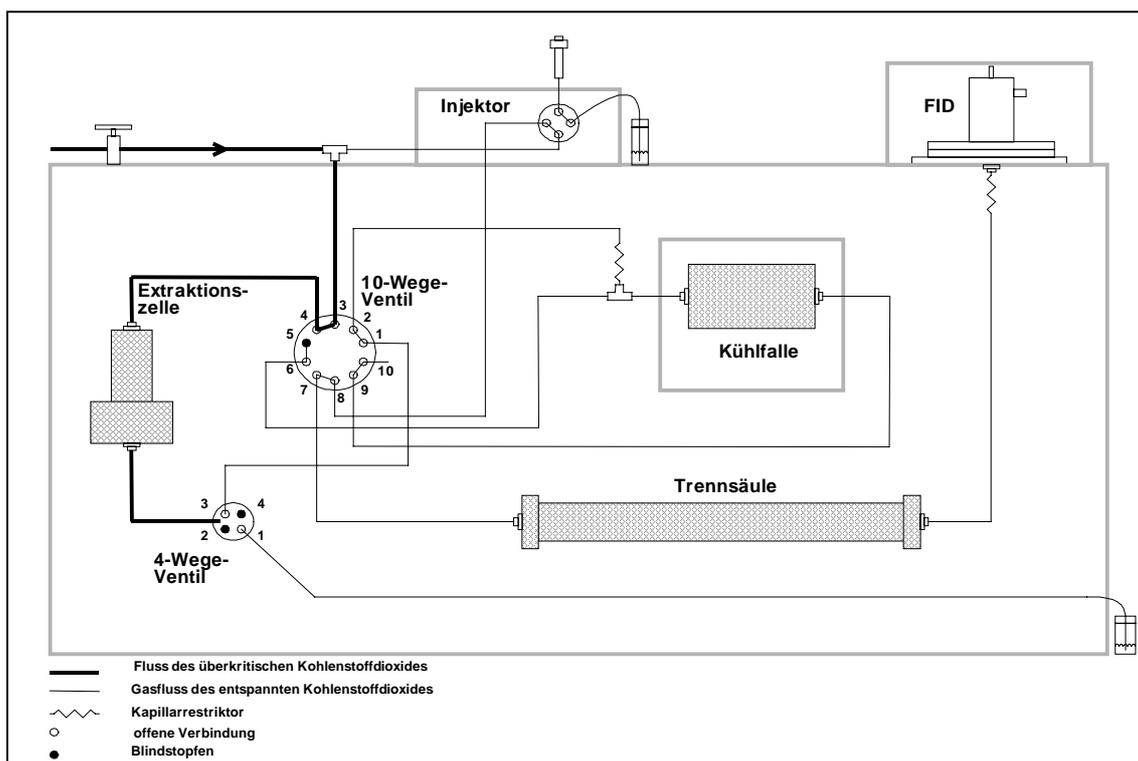


Abbildung 66: MPS 225 im Extraktionsmodus (statische Extraktion)

Nach der statischen Extraktion wird durch Öffnung von Port 3 im 4-Wege-Ventil der Übergang in die dynamische Extraktion eingeleitet. Der Extrakt wird somit durch das 4-Wege-Ventil anschließend durch die Ports 1 und 2 des 10-Wege-Ventils zum Restriktor transportiert. In der Extraktionsfalle entspannt sich das überkritische Fluid und der Extrakt wird versprüht (s. Abb. 67).

Wenn die (statische und dynamische) Extraktion abgeschlossen ist, erfolgt die Umschaltung vom „Extraktionsmodus“ in den „Inject-Modus“ (Umschaltung des 10-Wege-Ventils). Dadurch wird die Extraktionsfalle plötzlich in umgekehrter Richtung mit überkritischem Fluid gespült und eluiert. Der Extrakt wird somit über die Ports 6 und 7 des 10-Wege-Ventils „online“ auf die Trennkapillare „injiziert“ und nach der Trennung am FID detektiert (s. Abb. 68).

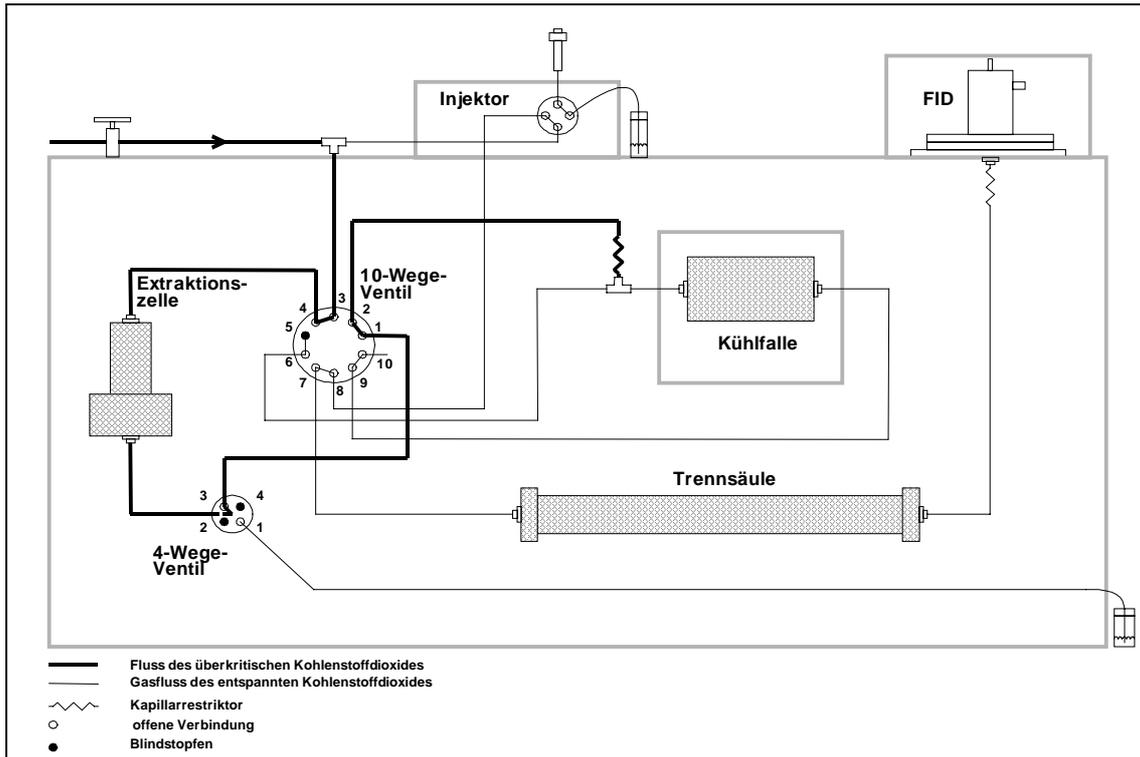


Abbildung 67: MPS 225 im Extraktionsmodus (dynamische Extraktion)

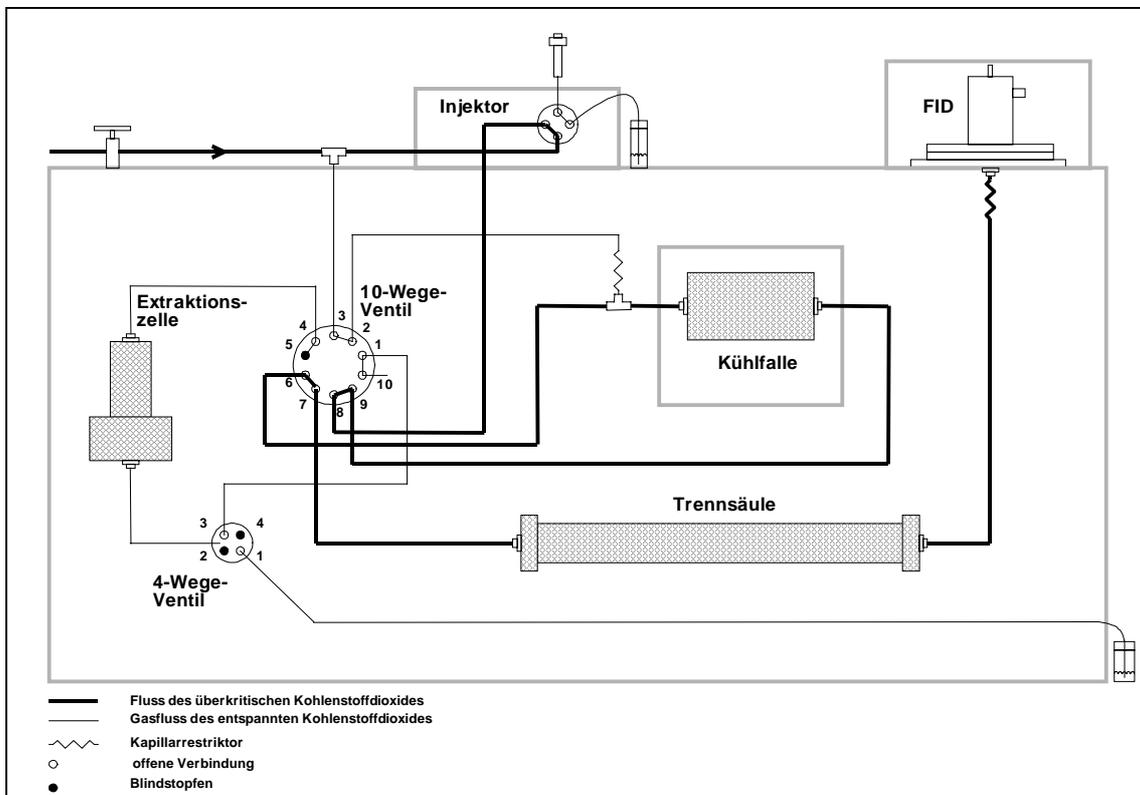


Abbildung 68: MPS 225 im Injektionsmodus (Chromatographie)

## 2.3 Massenspektrometrie

### 2.3.1 Gaschromatographie-Massenspektrometrie

#### 2.3.1.1 EI-Modus

wie bei der quantitativen GC-Analyse (2.1.1), statt des HP 5840 mit FID und Integrator diente das HP 5989B-MS (Engine) mit GC HP 5890 und Workstation. Es wurden auch andere GC-Trennsäulen mit gleicher Beschichtung, aber unterschiedlicher Länge und unterschiedlicher Filmdicke eingesetzt (TS2): SE 54, 50m x 0,2 mm i.d.,  $d_f$  0,33  $\mu\text{m}$  (Macherey und Nagel; Permabond).

#### Bedingungen des Massenspektrometers

Ionisierungsenergie:	70 eV
Temperatur Interface:	280 °C
Temperatur Ionenquelle:	200 °C
Temperatur Quadrupol:	100 °C
Massenbereich:	40-400 amu, 0,5 sec/scan

#### 2.3.1.2 CI-Modus

wie bei 2.3.1.1

#### Bedingungen des Massenspektrometers

Ionisierungsenergie:	230 eV
Temperatur Interface:	280 °C
Temperatur Ionenquelle:	200 °C
Temperatur Quadrupol:	100 °C
Massenbereich:	200-600 amu, 0,5 sec/scan
Reaktandgas:	Methan 4.5

Es werden die positiven Ionen (PCI) gemessen.

### 2.3.1.3 GC-MS-Sniffing

Durch simultane Sniffing-GC-MS erfolgt die Identifizierung an einem Siemens Sichromat II GC, der direkt über eine beheizte Transferline mit einem Finnigan 8222 Magnetsektorfeldgerät gekoppelt ist [232].

#### Bedingungen

Ionisierungsenergie:	70eV, Kathode 2 A, Emission 1 mA
Beschleunigungsspannung:	3 kV
Multiplierspannung:	1,4 kV
Massenbereich:	35-350amu (1sec/decade, 0,2 interscan delay; ca. 1,7 scan/sec)
Ionisierungskammer	180°C
Injektor:	250°C
Sniffing-Modul:	250°C
Transferline:	200°C
Trennsäule:	SE54, 30m x 0,53mm i.d., $d_f$ 1,5 $\mu$ m (Supelco 2-5305, „SPB-5“)
Trägergas:	Helium 3ml/min (100°C)
Split:	1:10
Temperaturprogramm:	100°C - 5°C/min - 250°C.

Der Trägergasstrom am Ende der Kapillartrennsäule wird über ein Live-T-Stück aufgesplittet zum MS und zur mit angefeuchteter Pressluft gekühlten Sniffing-Maske mit den Splitverhältnissen (MS:Sniffing-Ausgang) 1:0,9 für Undecan und 1:0,6 für Hexadecan. Unter den gewählten Bedingungen konnten die zwischen  $R_f$  800-1900 eluierenden Komponenten innerhalb von 35 Minuten abgerochen werden (TS3).

## 2.3.2 Supercritical-Fluid-Chromatographie-Massenspektrometrie

### 2.3.2.1 EI-Modus mit DFI

Für die Kopplung der cSFC mit dem Massenspektrometer HP 5890 (Engine) war nach Vorversuchen mit dem GC-eigenen Interface die Neukonstruktion eines Direct-Fluid-Interfaces erforderlich geworden (Fa. Mplus in Bremen). Die Arbeitsbedingungen des Massenspektrometers konnten damit soweit verbessert werden, dass die Besonderheiten der Kopplung mit cSFC berücksichtigt wurden (s. Kapitel 1.2.2.5). Wesentliches Konstruktionsmerkmal ist dabei eine effektive Restriktorheizung (coaxial heating) auf den letzten zwei bis drei Zentimetern des Kapillarrestriktors sowie die koaxiale Zufuhr von Helium. Das Interface wurde so konstruiert, dass die übliche GC-MS Kopplung an der Engine weiter genutzt werden konnte, d.h. es erfolgte die Ankopplung der cSFC auf der Thermospray-/Particle Beam Seite.

Gerät:	Suprex MPS 225 mit FID und timed-split Injektor	
Temperatur Injektor:	5°C durch Kryostat	
Temperatur Detektor:	380°C	
Detektorgase:	1 - Luft	500 ml / min
	2 - Wasserstoff	65 ml / min
	3 - Stickstoff	100 ml / min
Temperatur Ofen:	100°C	
Mobile Phase:	Kohlenstoffdioxid 5.5 mit Kopfdruck (Helium 6.0)	
Injektion:	timed-split, 10 bis 60 sec	
Zuführende Kapillare:	0,1 mm i.d. vor dem Injektor	
Volumen der Rotoren:	0,1 µl und 0,2 µl	
Trennsäule:	1 - Dionex SB-Biphenyl 30; 10 m x 0,05 mm, d <sub>f</sub> 0,25 µm	
	2 - Dionex SB-Methyl 100; 10 m x 0,05 mm, d <sub>f</sub> 0,25 µm	
Restriktor:	1 - Dionex frit-MS-restrictor, fused silica 0,2 mm i.d.	
	2 - Macherey u. Nagel Guthrie-MS-Restriktor 0,4 mm i.d.	
Flussraten(als Gas):	0,1 bis 0,2 ml CO <sub>2</sub> bei 100 bar und 100 °C	
Verbindungsstücke:	Gerstel 0,2 / 0,2 / 0,2 mm i.d. frit-Restriktor und 0,2 / 0,2 / 0,4 mm i.d. für Guthrie-Restriktor	
Druckprogramm:	100 bar / 15 min, 2 bar / min, 250 bar / 20 min	

Laufzeit:	110 Minuten
<u>Interface</u>	
Temperatur Interface:	100 °C
Temperatur Restriktor:	200 bis 300 °C
<u>Massenspektrometer</u>	
Ionisierungsenergie:	70 eV
Temperatur Ionenquelle:	200 °C
Temperatur Quadrupol:	100 °C
Massenbereich:	50-400 amu, 0,5 sec/scan

### 2.3.2.2 CI-Modus mit DFI

Wie zuvor, lediglich die Quelle wird über die Software in den CI-Modus geschaltet und Methan dient als Reaktandgas.

#### Bedingungen des Massenspektrometers

Ionisierungsenergie:	230 eV
Temperatur Ionenquelle:	200 °C
Temperatur Quadrupol:	100 °C
Massenbereich:	200-600 amu, 0,5 sec/scan
Reaktandgas:	Methan 4.5

Es werden die positiven Ionen (PCI) gemessen.

### 2.3.2.3 EI-Modus (mit GC-Interface)

Das Massenspektrometer wird softwaremäßig in den CI-Modus geschaltet. Durch Entfernen des braunen Kabels von der Ionenquelle bleibt die Quelle hardwaremäßig in EI-Position. Der Einlass des CI-Gases kann durch diese Schaltung trotzdem software- und hardwaremäßig genutzt werden. Als CI-Gas dient Helium, so dass man unter den dann herrschenden Ionisationsbedingungen eine EI-ähnliche Fragmentierung der Moleküle erhält.

### 2.3.2.4 Particle-Beam

Gerät:	Suprex MPS 225 mit FID und timed-split Injektor
Temperatur Injektor:	5 °C durch Kryostat
Temperatur Detektor:	380 °C
Detektorgase:	1 - Luft                      700 ml / min 2 - Wasserstoff            90 ml / min
Temperatur Ofen:	100 °C
Mobile Phase:	Kohlenstoffdioxid 5.5 mit Kopfdruck (Helium 6.0)
Injektion:	timed-split, 10 sec
Zuführende Kapillare:	0,25 mm i.d. vor dem Injektor
Volumen des Rotors:	1 µl
Trennsäule:	1 - Suprex Cyanophase; 20 cm x 1 mm, 2 - Suprex Kieselgel; 20 cm x 1mm
Restriktor:	Suprex Guthrie - Restriktor 0,25 mm i.d.
Flussraten(als Gas):	25 bis 30 ml CO <sub>2</sub> bei 100 bar und 100 °C
Verbindungsstücke:	Gerstel 0,4 / 0,4 mm i.d. für Guthrie - Restriktor
Druckprogramm:	100 bar / 10 min, 3 bar / min, 340 bar / 20 min
Laufzeit:	110 Minuten
<u>Interface Particle Beam:</u>	
Temperatur Interface:	40 °C
Druck:	0,9 Torr
<u>Massenspektrometer</u>	
Ionisierungsenergie:	70 eV
Temperatur Ionenquelle:	200 °C
Temperatur Quadrupol:	100 °C
Massenbereich:	50-400 amu, 0,5 sec/scan

### 2.3.2.5 Thermospray

Die Ankopplung der pSFC an die Engine war aus elektrischen Gründen nicht möglich. Die Ionenquelle zeigte sowohl bei eingeschalteter als auch ausgeschalteter Discharge-Elektrode kein Signal.

### **3 Gehaltsbestimmung des etherischen Öles**

In einer Neo-Clevenger Apparatur werden die Ausgangsmaterialien einer Wasserdampfdestillation nach den Vorgaben der Arzneibücher unterzogen. Das dabei gewonnene etherische Öl liegt in reiner unverdünnter Form vor und die Menge wird mittels einer Volumenskala in der Apparatur ermittelt. Die Destillation verläuft quantitativ.

### **4 Methoden zur Bestimmung der antioxidativen Wirkung von Extrakten und Destillaten**

Mittels der achtstündigen Extraktion nach Soxhlet wurden Extrakte mit Pentan, Diethylether und Methanol in einer Konzentration von 2 g Pflanzenmaterial/ml Lösungsmittel hergestellt. Neben diesen Extrakten, deren Rückständen und den durch Destillation gewonnenen etherischen Ölen wurde auch das zerkleinerte Pflanzenmaterial in einer Konzentration von 0,5 % dem handelsüblichen, verpackten Schweineschmalz als Trägermaterial (Substrat) zugesetzt und gründlich vermischt. Als Kontrollen dienten in allen Versuchen reines Schweineschmalz sowie Schweineschmalz mit einem Zusatz von je 0,1 % BHA und BHT. Die Bestimmung der POZ nach DGF-Einheitsmethoden unter Temperaturbelastung war der Maßstab für die Untersuchung der Oxidierbarkeit des Schweineschmalzes.

Alle Proben wurden in Bechergläsern unter Licht- und Sauerstoffausschluss aufbewahrt, im Trockenschrank gestresst und in regelmäßigen Zeitabständen auf die POZ untersucht. Bei Vorversuchen erfolgte die Stresslagerung bei 100 °C, um bei der Vielzahl der Proben kurze Untersuchungszeiträume zu erhalten; die Hauptversuchen wurden dagegen bei 60 °C Lagerungstemperatur durchgeführt.

## 5 Methoden zur Bestimmung der antimikrobiellen Wirkung von Extrakten und Destillaten

### Testkeim

Als Testkeim dient *Staphylococcus aureus* ATCC-Stamm Nr. 6538 der Deutschen Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ). Der Testkeim ist nach Angaben des Deutschen Arzneibuches (DAB) geeignet für antibiotische Zwecke und Sterilitätstests.

### Nährmedium

Sojapepton - Caseinpepton - Medium (Caso - Bouillon) von Oxoid Art. Nr. CM 129 wird als Nährmedium eingesetzt und ist nach Angaben der United States Pharmacopoe (USP) und DAB sehr geeignet für Aerobier. Die Herstellung erfolgt nach Angaben der Fa. Oxoid. Das Nährmedium enthält insgesamt 2 % Tween 20 (Polyethylenglycolsorbitanmonolaurat) als Emulsionshilfsmittel vom Typ „Öl in Wasser-Emulsion“.

### Reinheit und Eignung

Es werden pro hergestellter Charge 50 Reagenzröhrchen mit 10 ml abgefüllt, davon werden 5 Röhrchen unbeimpft 7 Tage bei  $35 \pm 1^\circ\text{C}$  bebrütet und somit auf Reinheit getestet.

Zur Prüfung des Nährmediums auf Eignung wird eine Keimsuspension von *S. aureus* in gepuffertem Pepton-Wasser (Merck, Art. Nr. 107228) mit 1000 kbE/ml hergestellt. Davon gibt man 0,1 ml (entspricht  $10^2$  Keime/ml) in je ein Reagenzröhrchen mit Caso-Bouillon und bebrütet 7 Tage bei  $35 \pm 1^\circ\text{C}$  (fünffacher Ansatz). Am 3., 5. und 7. Tag werden 0,1 ml der Suspension auf drei Platten Columbia-Blutagar (Schafblut - Agar, Fa. Merck Art. Nr. 10455) und drei Platten Baird-Parker (Fa. Merck, Art. Nr. 5406) ausgestrichen und für 48 h bei  $35 \pm 1^\circ\text{C}$  bebrütet. Die Beurteilung der Kolonien erfolgt hinsichtlich Reinkulturen und charakteristischem Wachstum. Bei der Auszählung der Kolonien werden nur 10 bis 100 kbE berücksichtigt.

## **6 Sensorische Methoden**

### **6.1 Aromaverdünnungsanalyse**

Die Analysen werden mit dem unter 2.1.2 beschriebenen Gerät zur GC-Sniffing-Analyse durchgeführt. In Abweichung zu der in der Literatur beschriebenen Methode Aromaextraktverdünnungsanalyse wird hier der Aromaextrakt nicht schrittweise um den Faktor 2 verdünnt, sondern jeweils um den Faktor 10. Die Verdünnungsstufen sind somit beschränkt auf die Faktoren 1, 10, 100 und 1000 und ergeben einen Überblick über die FD-Faktoren der zugehörigen aromaaktiven Stoffe.

### **6.2 Profilanalyse**

Es werden die verschiedenen Extrakte und Destillate in ihrer Gesamtgeruchsqualität beurteilt. Anhand einer Skala von 0 bis 70 wird die Ausprägung von neun wesentlichen, das Aroma charakterisierenden Geruchsqualitäten beurteilt. Dazu werden die Extrakte auf Filterpapier aufgebracht. Nach einigen Sekunden ist das Lösungsmittel (Diethylether) verdunstet und die olfaktorische Beurteilung kann durch unterwiesene und mit dem Verfahren vertraute Prüfpersonen durchgeführt werden.

## **7 Untersuchungsmaterial**

Für die Untersuchungen wurden getrocknete Früchte der Apiaceen und getrocknete Blüten der Asteraceen aus dem Erntejahr 1992 eingesetzt. Innerhalb der Apiaceen dienten die Früchte von Koriander, Kümmel, Kreuzkümmel und Anis als Ausgangsmaterial, und bei den Asteraceen gelangten die Blüten von Kamille und Schafgarbe zur Untersuchung.

Vor Beginn der analytischen Arbeiten wurden alle pflanzlichen Ausgangsmaterialien einer detaillierten Identitäts- und Reinheitsprüfung nach Vorgabe der Arzneibücher un-

terzogen. Die Arzneibuchqualität konnte bei allen sechs Pflanzenmaterialien bestätigt werden.

Während des Zeitraumes der Untersuchung lagerten die Ausgangsmaterialien unter Ausschluss von Licht, Wärme und Sauerstoff. Die Behältnisse wurden nur zum Zwecke der Entnahme geöffnet und anschließend wieder mit Stickstoff begast. Die in der nachfolgenden Tabelle dargestellten Ausgangswerte konnten auch nach mehrjähriger Lagerung (drei Jahre) bestätigt werden.

**Tabelle 51:** *Herkunft und Reinheitsprüfung der untersuchten Pflanzenbestandteile*

<b>Pflanze</b>	<b>Herkunft</b>	<b>Aschegehalt [%]</b>	<b>Fremde Bestandteile [%]</b>	<b>Trocknungs- verlust [%]</b>	<b>Etherisches Öl [%]</b>
<b>Kümmel</b>	Polen/Slowakei	6,4	0,5	4,6	3,7
<b>Anis</b>	Spanien	7,7	2,0	6,8	2,7
<b>Koriander</b>	Bulgarien	5,1	1,6	7,4	0,8
<b>Kreuzkümmel</b>	Indien	6,7	1,0	8,6	3,1
<b>Kamille</b>	Ägypten	9,4	0,8	3,2	0,7
<b>Schafgarbe</b>	Polen	6,8	0,7	2,2	0,3

**F LITERATURVERZEICHNIS**

- [1] Ziegenmeyer, J., Hagers Handbuch der pharmazeutischen Praxis, Band 2, Methoden, 1015-1032, 1991, Springer-Verlag
- [2] Hänsel, R., Trunzler, G., Wissenswertes über Phytopharmaka, 1989, Braun, Karlsruhe
- [3] Falbe, J., Regitz, M., (Herausgeber), Römpp Chemie Lexikon 1991, Thieme Verlag Stuttgart New York
- [4] Schneider, G.M., Stahl, E., Wilke, G., Extraction with Supercritical Gases, Verlag Chemie Weinheim, 1980
- [5] Stahl, E., Quirin, K.-W., Gerard, D., Verdichtete Gase zur Extraktion und Raffination, Springer Verlag Berlin, Heidelberg, 1987
- [6] Quirin, K.-W., Gerard, D., Kraus, J., Hochdruckextraktion mit Kohlendioxid, *Gordian* **9**, 1986, 156-159
- [7] Rizvi, S.S.H., Benado, A.L., Zollweg, J.A., Daniels, J.A., Supercritical Fluid Extraction: Fundamental Principles and Modeling Methods, *Food Tech.* **40**, 1986, 55-65
- [8] Brogle, H., CO<sub>2</sub> als Lösungsmittel - Eigenschaften und Anwendungen, *Alimenta* **21**, 1982, 87-94
- [9] Palmer, M.V., Ting, S.S.T., Applications for Supercritical Fluid Technology in Food Processing, *Food Chem.* **52**, 1995, 345-352
- [10] Lee, S., Supercritical Decaffeination, *Tea-and Coffe-Trade-Journal* **160** (8), 1988, 3-5
- [11] Schneider, G.M., Stahl, E., Wilke, G. (Edit.), Extraction with Supercritical Gases, Verlag Chemie Weinheim, 1980
- [12] Gardner, D.S., Industrial Scale Hop Extraction with Liquid CO<sub>2</sub>, *Chem. Ind.*, 1982, 402-405
- [13] Gähns, H.J., Hochdruckextraktion, ein thermisches Trennverfahren mit breitem Anwendungsspektrum für die Lebensmittelindustrie, *ZFL* **35** (4), 1984, 301-306
- [14] Bundschuh, E., Baumann, G., Gierschner, K., Hochdruckextraktion in der Lebensmitteltechnologie, *ZFL* **37** (8), 1986, 525-534

- [15] Pellerin, P., Supercritical Fluid Extraction of Natural Raw Material for the Flavor and Perfume Industry, *Perfum. Flavor.* **16** (4), 1991, 37-39
- [16] Rote Liste<sup>®</sup> 2001, Arzneimittelverzeichnis für Deutschland, Rote Liste<sup>®</sup> Service GmbH, Editio Cantor Verlag, Frankfurt
- [17] Lee, M.L., Markides, K.E., Analytical Supercritical Fluid Chromatography and Extraction, Chromatography Conferences Inc., 1990
- [18] Dean, J.R., Applications of Supercritical Fluids in Industrial Analysis, Black Academic & Professional, 1993
- [19] Wenclawiak, B., Analysis with Supercritical Fluids: Extraction and Chromatography, Springer Verlag Berlin Heidelberg 1992
- [20] Lide, D.R., Handbook of Chemistry and Physics, CRC Press, Inc., London, 1995
- [21] Hawthorne, S.B., Analytical Scale Supercritical Fluid Extraction, *Anal. Chem.* **62**, 1990, 633A-642A
- [22] Raynie, D.E., Warning Concerning the Use of Nitrous Oxide in Supercritical Fluid Extractions, *Anal. Chem.* **65**, 1993, 3127-3128
- [23] Reverchon, E., Supercritical Fluid Extraction and Fractionation of Essential oils and Related Products, *J. Supercrit. Fluids* **10**, 1997, 1-37
- [24] McDaniel, L.H., Taylor, L.T., Modification of the Collection Solvent to Enhance Liquid Trapping Efficiencies After Supercritical Fluid Extraction, *J. Chromatogr. Sci.* **37**, 1999, 203-209
- [25] Scheuer, C., CO<sub>2</sub>-Extraktion von etherischen Ölen – Entwicklung eines quantitativen Abscheidesystems, Diplomarbeit der Techn. Univ. München, Juli 1992
- [26] Mulcahey, L.J., Taylor, L.T., Collection Efficiency of Solid Surface and Sorbent Traps in Supercritical Fluid Extraction with Modified Carbon Dioxide, *Anal. Chem.* **64**, 1992, 2352-2358
- [27] Mulcahey, L.J., Hedrick, J.L., Taylor, L.T., Collection Efficiency of Various Solid-phase Traps for Off-line Supercritical Fluid Extraction, *Anal. Chem.* **63**, 1991, 2225-2232
- [28] Yang, Y., Hawthorne, S.B., Miller, D.J., Comparison of Sorbent and Solvent Trapping after Supercritical Fluid Extraction of Volatile Petroleum Hydrocarbons from Soil, *J. Chromatogr.* **699**, 1995, 265-267

- [29] Ashraf-Khorassani, M., Houck, R.K., Levy, J.M., Cryogenically Cooled Adsorbent Trap for Off-line Supercritical Fluid Extraction, *J. Chromatogr. Sci.* **30**, 1992, 361-366
- [30] Langenfeld, J.J., Burford, M.D., Hawthorne, S.B., Miller, D.J., Effects of Collection Solvent Parameters and Extraction Cell Geometry on Supercritical Fluid Extraction (SFE) Efficiencies, *J. Chromatogr.* **594**, 1992, 297-307
- [31] Thompson, P.G., Taylor, L.T., Richter, B.E., Porter, N.L., Ezzell, J.L., Trapping Efficiencies of Various Collection Solvents after Supercritical Fluid Extraction, *J. High Resolut. Chromatogr.* **16**, 1993, 713-716
- [32] Thompson, P.G., Taylor, L.T., Liquid Trapping after Supercritical Fluid Extraction with Modified Carbon Dioxide, *J. High Resolut. Chromatogr.* **17**, 1994, 759-764
- [33] Wenclawiak, B.W., Maio, G., Van Holst, Ch., Darskus, R., Solvent Trapping of some Chlorinated Hydrocarbons after Supercritical Fluid Extraction from Soil, *Anal. Chem.* **66**, 1994, 3581-3586
- [34] Porter, N.L., Rynaski, A.F., Campbell, E.R., Saunders, M., Richter, B.E., Swanson, J.T., Nielsen, R.B., Murphy, B.J., Studies of Linear Restrictors and Analyte Collection via Solvent Trapping after Supercritical Fluid Extraction, *J. Chromatogr. Sci.* **30**, 1992, 367-373
- [35] Saito, M., Yamauchi, Y., Okuyama, T., Fractionation by Packed-Column SFC and SFE, VCH Verlagsgesellschaft mbH Weinheim 1994
- [36] White, C.M., *Modern Supercritical Fluid Chromatography*, Hüthig, Heidelberg, 1988
- [37] Klesper, E., Corwin, A.H., Turner, D.A., High Pressure Gas Chromatography above Critical Temperatures, *J. Org. Chem.* **27**, 1962, 700-701
- [38] Novotny, M., Spingston, S.R., Peaden, P.A., Fjeldsted, J.C., Lee, M.L., *Anal. Chem.* **53**, 1981, 407 ff
- [39] Randall, L.G., *Ultra High Resolution Chromatography*, ACS Symposium Series 250, American Chemical Society, Washington, DC, 1984
- [40] Smith, R.M., *Supercritical Fluids in Separation Science - the Dreams, the Reality and the Future*, *J. Chromatogr.* **856**, 1999, 83-115
- [41] Jinno, K., *Hyphenated Techniques in Supercritical Fluid Chromatography and Extraction*, *Journal of Chromatography Library - volume 53*, Elsevier 1992

- [42] Kuei, J.C., Tarbet, B.J., Jackson, W.P., Bradshaw, J.S., Markides, K.E., Lee, M.L., n-Octylmethylpolysiloxane Stationary Phase for Capillary Column Gas and Supercritical Fluid Chromatography, *Chromatographia* **20**, 1986, 25-30
- [43] Odgen, M.W., McNair, H.M., Synthesis of Siloxane Stationary Phases for Capillary Gas Chromatography and Supercritical Fluid Chromatography, *J. High Resol. Chromatogr.* **8**, 1985, 816-823
- [44] Guthrie, E.J., Schwartz, H.E., Integral Pressure Restrictor for Capillary SFC, *J. Chromatogr. Sci.* **24**, 1986, 236-241
- [45] Sanagi, M.M., Smith, R.M., Applications of a Packed Column Supercritical Fluid Chromatograph with Flame Ionisation Detector, *Anal. Proc.* **24**, 1986, 304-306
- [46] Novotny, M., New Detection Strategies Through Supercritical Fluid Chromatography, *J. High Resol. Chromatogr.* **9**, 1986, 137-144
- [47] Jennings, W., Shibamoto, T., Qualitative Analysis of Flavor and Fragrance Volatiles by Glass capillary Gas Chromatography, Academic Press New York, 1980
- [48] Randall, L.G., Wahrhaftig, A.L., Dense Gas Chromatograph/Mass Spectrometer Interface, *Anal. Chem.* **50**, 1978, 1703-1705
- [49] Randall, L.G., Wahrhaftig, A.L., Direct Coupling of a Dense (Supercritical) Gas Chromatograph to a Mass Spectrometer Using a Supersonic Molecular Beam Interface, *Rev. Sci. Instrum.* **52**, 1981, 1283-1295
- [50] Smith, R.D., Felix, W.D., Fjeldsted, J.C., Lee, M.L., Capillary Column Supercritical Fluid Chromatography/Mass Spectrometry, *Anal. Chem.* **54**, 1982, 1883-1885
- [51] Smith, R.D., Fjeldsted, J.C., Lee, M.L., Direct Fluid Injection Interface for Capillary Supercritical Fluid Chromatography-Mass Spectrometry, *J. Chromatogr.* **247**, 1982, 231-243
- [52] Smith, R.D., Kalinowski, H.T., Udseth, H.R., Fundamentals and Practice of Supercritical Fluid Chromatography-Mass Spectrometry, *Mass Spectrom. Rev.* **6**, 1987, 445-496
- [53] Matsumoto, K., Tsuge, S., Hirata, Y., Development of Direct Coupled Supercritical Fluid Chromatography-Mass Spectrometer with Self-Spouting and Vacuum Nebulizing Assisted Interface, *Anal. Sci.* **2**, 1986, 3-7

- [54] Berry, A.J., Games, D.E., Perkins, J.R., Supercritical Fluid Chromatographic and Supercritical Fluid Chromatographic-Mass Spectrometric Studies of some Polar Compounds, *J. Chromatogr.* **363**, 1986, 147-158
- [55] Crowther, J.B., Henion, J.D., Supercritical Fluid Chromatography of Polar Drugs Using Small-Particle Packed Columns with Mass Spectrometric Detection, *Anal. Chem.* **57**, 1985, 2711-2716
- [56] Zaugg, S.D., Deluca, S.J., Holzer, G.U., Vorhees, K.J., J. Simplified Interface for Electron Ionization Supercritical Fluid Chromatography / Mass Spectrometry, *J. High Resol. Chromatogr. / Chromatogr. Commun.* **10**, 1987, 100-101
- [57] Hawthorne, S.B., Miller, D.J., Analysis of Commercial Waxes Using Capillary Supercritical Fluid Chromatography-Mass Spectrometry, *J. Chromatogr.* **388**, 1987, 397-409
- [58] Smith, R.D., Udseth, H.R., Mass Spectrometer Interface for Microbore and High Flow Rate Capillary Supercritical Fluid Chromatography with Splitless Injection, *Anal. Chem.* **59**, 1987, 13-22
- [59] Huang, E.C., Jackson, B.J., Markides, K.E., Lee, M.L., Direct Coupling of Capillary Fluid Chromatography to High Resolution Mass Spectrometry with Minimum Modification, *Chromatogr.* **1**, 1988, 51-54
- [60] Bücherl, T., Gruner, A., Palibroda, N., Rapid Analysis of Polymer Homologues and Additives with SFE/SFC-MS Coupling, *Pack. Techn. and Sci.* **7**, 1994, 139-154
- [61] Mertens, M.A.A., Janssen, H.G., Cramers, C.A., Genuilt, W.J.L., v. Velzen, G.J., Dirkzwager, H., v. Binsbergen, H., Development and Evaluation of an Interface for Coupled Capillary Supercritical Fluid Chromatography / Magnetic Sector Mass Spectrometry, *J. High Resol. Chromatogr.* **19**, 1996, 17-22
- [62] Berry, A.J., Games, D.E., Mylchreest, I.C., Perkins, J.R., Pleasance, S., Capillary and Packed Column SFC/MS, *J. High Resol. Chromatogr. / Chromatogr. Commun.* **11**, 1988, 61-64
- [63] Lee, E.D., Hsu, S., Henion, J.D., Electron-Ionization-Like Mass Spectra by Capillary Supercritical Fluid Chromatography / Charge Exchange Mass Spectrometry, *Anal. Chem.* **60**, 1988, 1990-1994
- [64] Arpino, P.J., Cousin, J., Application of a Combined Supercritical Fluid Chromatograph - Mass Spectrometer to the Investigation of Gas Phase Ion-Molecule Reactions, *Rap. Communic. in Mass Spectrom.* **1**, 1987, 29-33
- [65] Hesse, M., Meier, H., Zeeh, B., *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie*, Georg Thieme Verlag Stuttgart, 1991

- [66] Van Leuken, R., Mertens, M., Janssen, H.-G., Sandra, P. Kwakkenbos, G., Deelder, R., Optimization of Capillary SFC-MS for the Determination of Additives in Polymers, *J. High Resol. Chromatogr.* **17**, 1994, 573-576
- [67] Arpino, P.J., Haas, P., Recent Developments in Supercritical Fluid Chromatography - Mass Spectrometry Coupling, *J. Chromatogr.* **703**, 1995, 479-488
- [68] Mertens, M.A.A., Leclercq, P.A., Janssen, H.-G-M., Possibilities and Limitations of Interfaces for Combined SFC-MS, *LC-GC-Int.* **8**, 1995, 328-330
- [69] Houben, R.J., Leclercq, P.A., Cramers, C.A., Ionization Mechanisms in Capillary Supercritical Fluid Chromatography - Chemical Ionization Mass Spectrometry, *J. Chromatogr.* **554**, 1991, 351-358
- [70] Pinkston, J.D., Bowling D.J., Investigation of Cryopumping for Enhanced Performance in Supercritical Fluid Chromatography / Mass Spectrometry, *Anal. Chem.* **65**, 1993, 3534-3539
- [71] Murugaverl, B., Voorhees, K.J., DeLuca, S.J., Utilization of a Benchtop Mass Spectrometer with Capillary Supercritical Fluid Chromatography, *J. Chromatogr.* **633**, 1993, 195-205
- [72] Chester, T.L., Innis, D.L., Quantitative Open-Tubular Supercritical Fluid Chromatography Using Direct Injection onto a Retention Gap, *Anal. Chem.* **67**, 1995, 3057-3063
- [73] Blum, W., Grolimund, K., Jordi, P.E., Ramstein, P., Simultaneous Coupling Of Capillary Supercritical Fluid Chromatography and High Temperature Glass Capillary Gas Chromatography to a Mass Spectrometer, *J. High Resol. Chromatogr. / Chromatogr. Commun.* **11**, 1988, 441-448
- [74] Tabacchi, R., Garnero, J., Buil, P., Contribution à l'étude de la composition de l'huile essentielle de fruits d'anis de Turquie, *Riv. Ital. Essenze - Profumi - Piante Off. - Aromi - Saponi - Cosmetici - Aerosol*, **56**, 1974, 683-697
- [75] Lawrence, B. M., Progress in Essential Oils, *Perfumer & Flavorist* **8**, 1983, 65-68
- [76] Embong, M. B., Hadziyev, D., Molnar, S., Essential oils from spices grown in Alberta. Anise oil (*Pimpinella anisum*), *Can. J. Plant Sci.* **57**, 1977, 681-688
- [77] Adams, R. P., Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy, Allured Publ. Corp., Carol Stream, Illinois/USA (1995)
- [78] Kubeczka, K. H., Bohn, I., Formacek, V., New Constituents from the Essential Oils of *Pimpinella* Species, in Brunke, E. J. (Ed.), Progress in Essential Oil Research, de Gruyter, Berlin, 1986, 279-299

- [79] Burkhardt, G., Reichling, J., Martin, R., Becker, H., Terpene Hydrocarbons in *Pimpinella anisum* L., Pharm. Weekblad Sci. Ed. **8**, 1986, 190-193
- [80] Schultze, W., Lange, G., Heinrich, G., Massenspektrometrische Untersuchungen an Arzneipflanzen, II. Direkte massenspektrometrische Analyse von *Anisi fructus*, Dtsch. Apoth. Ztg. **126**, 1986, 2787-2793
- [81] Borges, P., Pino, J. und Rosado, A., The Isolation of Volatile Oil from Coriander Fruit by Steam Distillation, Die Nahrung **34**, 1990, 831-834
- [82] Narula, A. P. S., Sukh Dev,  $\beta$ -Himachalen Epoxide - Stereochemistry and Solvolysis, Tetrahedron **33**, 1977, 813-816
- [83] Shankaranarayan, R., Bisarya, S. C., Sukh Dev, Oxidohimachalene, a Novel Sesquiterpoid from the Wood of *Cedrus Deodara* Loud, Tetrahedron **33**, 1977, 1207-1210
- [84] Joshi, V. S., Damodaran, N. P., Sukh Dev, Organic Reactions in a Solid Matrix - II Alumina-induced Oxirane Rearrangements, Tetrahedron **27**, 1971, 459-474
- [85] Kollmannsberger, H., Nitz, S., Säureamide in Hochdruckextrakten aus Muntok-Pfeffer, Chem. Mikrobiol. Technol. Lebensm. **14**, 1992, 87-94
- [86] Wechner, S., Untersuchungen zur Qualität und Stabilität von CO<sub>2</sub>-Hochdruckextrakten aus Ingwer (*Zingiber officinale* Rosc.), Dissertation, Technische Universität München, Weihenstephan, 1997
- [87] Nitz, S., Kollmannsberger, H., Spraul, M. H., Drawert, F., Oxygenated Derivatives of Menthatriene in Parsley Leaves, Phytochemistry **28**, 1989, 3051-3054
- [88] Singh, D., Agarwals, S. K., Himachalol and  $\beta$ -Himachalene: Insecticidal Principles of Himalayan Cedarwood Oil, J. Chemical Ecology **14**, 1988, 1145-1152
- [89] Lenfeld, J., Motl, O., Trka A., Anti-inflammatory activity of extracts from *Conyza canadensis*, Pharmazie **41**, 1986, 268-269
- [90] Martin, R., Reichling, J., NIH-Shift during Biosynthesis of epoxy-Pseudoisoeugenol-(2-Methylbutyrate) in Tissue cultures of *pimpinella anisum*, Phytochemistry **31**, 1992, 511-514
- [91] Boelens, M. H., in Maarse, H. (Ed.) Volatile Compounds in Food and Beverages, Marcel Dekker, New York, 1991, 449-482
- [92] Maarse, H., Visscher, C. A., Volatile Compounds in Food, 6.Ed., Vol. I, TNO-Civo, Zeist, NL, 1989, 272-273

- [93] Carter, G. T., Schnoes, H. K., Lichtenstein, E. P.,  
4-Methoxy-2-(trans-1-Propenyl)Phenyl ( $\pm$ )-2-Methylbutanoate from Anise  
Plants, *Phytochemistry* **16**, 1977, 615-616
- [94] Stahl, E., Herting, D., Die Verteilung von Inhaltsstoffen in drei Pimpinella-  
Arten, *Phytochemistry* **15**, 1976, 999-1001
- [95] Wagner, H., *Pharmazeutische Biologie*, 4. Aufl., Gustav Fischer Verlag,  
Stuttgart, 1988
- [96] El-Wakeil, F., Morsi, M. K. S., Farag, R. S., Shihata, A. A., Badei, A. Z. M. A.,  
Biochemical Studies on the Essential Oils of some Fruits of Umbellifereae  
Family, *Seifen, Oele, Fette, Wachse* **112**, 1986, 77-80
- [97] Kubeczka, K. H., Massow, F. von, Formacek, V., Smith, M. A. R., A New Type  
of Phenylpropane from the Essential Fruit Oil of *Pimpinella anisum* L.,  
*Z. Naturforsch.* **31B**, 1976, 283-284
- [98] Ceska, O., Chaudhary, S. K., Warrington, P. J., Ashwood-Smith, M. J.,  
Photoactive Furocoumarins in Fruits of some Umbellifers,  
*Phytochemistry* **26**, 1987, 165-169
- [99] Putievsky, E., Ravid, U. Dudai, N. Katzir, I., A new Cultivar of Caraway  
(*Carum carvi* L.) and its Essential Oils,  
*J. Herbs Spices Medical Plants* **2**, 1994, 81-84
- [100] Lawrence, B.M., *Progress in Essential Oils*,  
*Perfumer & Flavorist* **7**, 1983, 20-24
- [101] Formacek, K., Kubeczka, K.H., *Essential Oils Analysis by Capillary  
Chromatography and Carbon-13 NMR Spectroscopy*,  
J.Wiley & Sons, New York 1982
- [102] Royal Society of Chemistry, *Application of Gas - Liquid Chromatography to  
the Analysis of Essential Oils - Part XIV. Monographs for Five Essential Oils*,  
*Analyst* **113**, 1988, 1125-1136
- [103] Kallio, H., Kerrola, K., Alhonmäki, P., Carvone and Limonene in Caraway  
Fruits (*Carum carvi* L.) analyzed by Supercritical Carbon Dioxide Extraction-  
Gas Chromatography, *J. Agric. Food Chem.* **42**, 1994, 2478-2485
- [104] Salveson, A., Baerheim-Svendsen, A.B., *Gas Liquid Chromatographic  
Separations and Identification of the Constitutents of Caraway Seed Oil*,  
*Planta Medica* **30**, 1976, 93-96

- [105] Karim, A., Ashraf, M., Pervez, M., Bhattay, M.K., Studies on the Essential Oils of the Pakistan Species of the Family Umbelliferae - Part VIII. Carum Carvi L. (Caraway, Kala Zira) Oil of the Mature and Immature Seeds and the whole Immature Plant, Pakistan J. Sci. Ind. Res. **20**, 1977, 100-102
- [106] Salzer, U.J., Über die Fettsäurezusammensetzung einiger Gewürze, Dtsch. Lebensmittel-Rdsch. **60**(1), 1964, 446-447
- [107] Fleisher, A. Fleisher, Z., The Essential Oil of Annual Carum Carvi L. grown in Israel, in Flavors and Fragrances: A World Perspective, Edits. Lawrence B.M., Mookherjee, B.D., Willis, B.J., Elsevier Science Publ., B.V. Amsterdam, 1988, 33-40
- [108] Bouwmeester, H.J., Davies, J.A.R., Toxopeus, H., Enantiomeric Composition of Carvone, Limonene and Carveols in Seeds and Annual and Biennial Caraway Varieties, J. Agric. Food Chem. **43**, 1995, 3057-3064
- [109] Lawrence, B.M., Progress in Essential Oils, Perfumer & Flavorist **21**, 1996, 62-63
- [110] Galambosi, B., Peura, P., Agrobotanical Features and Oil Content of Wild and Cultivated Forms of Caraway (Carum carvi L.), J. Essent. Oil Res. **8**, No. 4, 1996, 389-397
- [111] Puschmann, G., Stephani, V., Fritz, D., Untersuchungen zur Variabilität von Kümmel (Carum carvi L.), Gartenbauwissenschaft **57**, 1992, 275-277
- [112] Bourrel, C., Vilarem, G., Michel, G., Gaset, A., Étude des propriétés bacteriostatiques et fongistatiques en Milieu solide de 24 Huiles essentielles préablement analysées, Rivista Ital. EPPOS No. 16, 1995, 3-12
- [113] Lawrence, B.M., Progress in Essential Oils, Perfumer & Flavorist **6**, 1981/1982, 43-48
- [114] Kerrola, K., Kallio, H., Volatile Compounds of Carbon Dioxide Extracts of Coriander (Coriandrum sativum L.) Fruits, J. Agric. Food Chem. **41**, 1993, 785-790
- [115] Pino, J. A., Rosado A., Fuentes V., Chemical Composition of the Seed Oil of Coriandrum sativum L. from Cuba, J. Essent. Oil Res. **8**, 1996, 97-98
- [116] Anitecu, G., Doneanu, C., Radulescu, V., Isolation of Coriander Oil: Comparison Between Steam Distillation and Supercritical CO<sub>2</sub> Extraction, Flavour and Fragrance J. **12**, 1997, 173-176

- [117] Griffiths, D.W., Robertson, G.W., Milliam, S., Holmes, A.C., The Determination of the Petroselinic Acid Content of Coriander (*Coriandrum sativum*) Oil by Capillary Gas Chromatography, *Phytochemical Analysis* **3**, 1992, 250-253
- [118] Thies, W., Determination of the Petroselinic Acid Content in Seeds of *Coriandrum sativum* by Gas Liquid Chromatography, *Fat Sci. Technol.* **1**, 1993, 20-23
- [119] Lamparsky, D., Klimes, I., Heterocyclic Trace Compounds in the Essential Oil of Coriander, *Perfumer & Flavorist* **13**, 1988, 17-25
- [120] Lawrence, B.M., Progress in Essential Oils, *Perfumer & Flavorist* **5**, 1980, 6-10
- [121] Borges, P., Pino, J. und Rosado, A., The Isolation of Volatile Oil from Coriander Fruit by Steam Distillation, *Die Nahrung* **34**, 1990, 831-834
- [122] Pino, J., Borges, P., Roncal, E., Composition Differences of Coriander Fruit Oils from Various Origins, *Die Nahrung* **37**, 1993, 119-122
- [123] Lawrence, B.M., Progress in Essential Oils, *Perfumer & Flavorist* **9**(2), 1984, 23-31
- [124] Anon, Analytical Methods Committee, Application of gas-liquid Chromatography to the Analysis of Essential Oils. Part XVI. Monographs for Five Essential Oils, *Analyst* **118**, 1993, 1089-1098
- [125] Agarwal, S.G., Thappa, R.K., Dhar, K.L., C.K. Atal, C.K., Essential Oils of the Seeds of *Bunium bulbocastanum* L., *Carum gracile* Lindle and *Cuminum Cyminum* L., *Indian Perfum.* **23**, 1979, 34-37
- [126] Baser, K.H.C., Kurkcuoglu, M., Ozek, T., Composition of the Turkish Cumin Seed Oil, *J. Essent. Oil Res.* **4**(2), 1992, 133-138
- [127] Verghese, J., Cumin, *Perfumer & Flavorist* **16**, 1991, 61-64
- [128] Hemavathy, J., Prabhakar, J.V., Lipid Composition of Cumin (*Cuminum cyminum* L.) Seeds, *J. Food Sci.* **53**(5), 1988, 1578-1579
- [129] Spraul, M., Strukturaufklärung wertgebender Inhaltsstoffe aus Petersilienblättern, -wurzeln, -samen sowie aus Dillblüten, Dissertation, Technische Universität München, Weihenstephan, 1991
- [130] On Essential Oils from Aromatic Spices, in *On Essential Oils*, Verghese, J., Ed., Synthite Industrie Chemicals Ltd., 1988, 57-58

- [131] Georgiev, E., Farid Badr, H.M., Kostadinova, S.I., Comparative Studies on Bulgarian, Egyptian and Turkish Cumin (*Cuminum cyminum* L.), Nauchni Tr.-Vissh Inst. Khranit. Vkusova Prom-st., (Plovdiv), **35**, 1988, 239-248
- [132] Lawrence, B.M., Progress in Essential Oils, Perfumer & Flavorist **17**(4), 1992, 42-44
- [133] Food Chemicals Codex, 3<sup>rd</sup> ed., S. 81, National Academy Press, Washington 1981
- [134] Carle, R., Gomoa, K., Effect of Technology on the Quality of Chamomile Flowers and Essential Chamomile Oil, Pharm. Ztg. Wiss. **137**, 1992, 71-77
- [135] Carle, R., Kamillenöl - Gewinnung und Qualitätsbeurteilung, Dtsch. Apoth. Ztg. **136**, 1996, 2165-2176
- [136] Surburg, H., Guentert, M., Harder, H., Volatile Compounds from Flowers. Analytical and Olfactory Aspects. In: Bioactive Volatile Compounds from Plants. Edits., Teranishi, R., Buttery, R.G., Sugisawa, H., 168-186, ACS Symposium Series No. 525, Amer. Chem. Soc., Washington 1993
- [137] Brunke, E.J., Hammerschmidt, F.J., Schmaus, G., Flower Scent of some Traditional Medical Plants. In: Bioactive Volatile Compounds from Plants. Edits., Teranishi, R., Buttery, R.G., Sugisawa, H., 168-186, ACS Symposium Series No. 525, Amer. Chem. Soc., Washington 1993
- [138] Shaath, N.A., Azzo, N.R., Essential Oils of Egypt. In: Food Flavors, Ingredients and Composition. Edit., Charalambous, 591-603, Elsevier Sci. Publ. B.V., Amsterdam 1993
- [139] Reverchon, E., Senatore, F., Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Chamomile Essential Oil and its Analysis by Gas Chromatography - Mass Spectrometry, J. Agric. Food Chem. **42**, 1994, 154-158
- [140] Cartoni, G., Goretti, G., Russo, M.V., Zacchei, P., Microcapillary Gas Chromatography Analysis of Chamomile, Annali di Chimica **80**, 1990, 523-535
- [141] Redalli, C., Formentini, L., Santaniello, E., Bonomelle, S.P.A., High Pressure Liquid Chromatographic Determination of Coumarines in *Matricaria chamomilla*, Plant Med. **43**, 1981, 412-413
- [142] Hirata, T. et al., Lipid Constituents of Oil Bodies in the Cultured Shoot Primordia of *Matricaria chamomilla*, Phytochemistry **41**(5), 1996, 1275-1279
- [143] Kustrak, D., Benzinger, F., Chamomillae Flowers - Study of Yugoslavian Chamomile Flowers with Reference to Drug Production Quality Criteria, Farm. Glas. **33**, 1977, 331-353

- [144] Franz, Ch., Hölzl, J., Vömel, A., Preliminary Morphological and Chemical Characterization of Some Populations and Varieties of *Matricaria chamomilla* L., *Acta Hort.* **73**, 1978, 109-114
- [145] Schilcher, H., Neuere Erkenntnisse bei der Qualitätsbeurteilung von Kamillenöl, *Dtsch. Apoth. Ztg.* **112**, 1972, 1497-1500; *Planta Med.* **23**, 1973, 132-144
- [146] Motl, O., Felklova, M., Lukes, V., Jasicova, M., Zur GC Analyse und zu chemischen Typen von Kamillenöl, *Arch. Pharm.* **310**, 1977, 210-215
- [147] Piccaglia, R., Marotti, M., Characterization of Several Aromatic Plants Grown in Northern Italy, *Flavour and Fragrance J.* **8**, 1993, 115-122
- [148] Stahl, E., *Chem. Ber.* **87**, 202, 205, 1954, 1626
- [149] Cekan, V., Herout, V., Sorm, F., *Coll. Czech. Chem. Commun.* **19**, 1954, 798 und *Prochazka* **24**, 1959, 1554
- [150] Schmidt, P.C., Weibler, K., Soyke, B., Kamillenblüten und -extrakte: Matricin- und Chamazulenbestimmung - Vergleich von GC, HPLC und photometrischen Methoden, *Dtsch. Apoth. Ztg.* **131**, 1991, 175-181
- [151] Jakovlev, V., Issac, O., Flaskamp, E., Untersuchungen zur antiphlogistischen Wirkung von Chamazulen und Matricin, *Planta Med.* **49**, 1983, 67-73
- [152] Jakovlev, V., Isaac, O., Thiemer, K., Kunde, R., Neue Untersuchungen zur antiphlogistischen Wirkung des (-)- $\alpha$ -Bisabolols und der Bisabololoxide, *Planta Med.* **35**, 1979, 125-140
- [153] Ammon, H.P.T., Sabieraj, J., Kaul, R., Kamille - Mechanismus der antiphlogistischen Wirkung von Kamilleextrakten und -inhaltsstoffen, *Dtsch. Apoth. Ztg.* **136**, 1996, 1821-1834
- [154] Hempel, B., Hirschelmann, R., Kamille - Entzündungshemmende Wirkung von Inhaltsstoffen und Zubereitungen in vivo, *Dtsch. Apoth. Ztg.* **138**, 1998, 4237-4242
- [155] Ehrendorfer, F., *Liste der Gefäßpflanzen Mitteleuropas*, 1973, Gustav Fischer Verlag
- [156] Ehrendorfer, F., *Ber. Deutsch. Bot. Ges.* 1962, 75-138.
- [157] Kastner, U., Saukel, J., Zitterl.-Eglseer, K., Länger, R., Reznicek, G., Jurenitsch, J., Kubelka, W., *Scienta Pharmaceutica* **60**, 1992, 87-99

- [158] Michler, B., Preitschopf, A., Erhard, P., Arnold, C.-G.,  
Achillea millefolium: Zusammenhänge zwischen Standortfaktoren, Ploidiegrad,  
Vorkommen von Proazulenen und Gehalt an Chamazulenen im ätherischen Öl,  
Pharm. Ztg. Wiss. **137**, 1992, 23-30
- [159] Saukel, J., Länger, R., Achillea pratensis SAUKEL & LÄNGER, spec. Nova,  
eine tetraploide Sippe der Achillea millefolium-Gruppe,  
Phyton **32**(1), 1992, 159-172
- [160] Saukel, J., Länger, R., Die Achillea millefolium - Gruppe (Asteraceae) in Mittel-  
europa, Phyton **31**(2), 1992, 185-207, Teil I und **32**(1), 1992, 47-78, Teil 2
- [161] Kastner, U. et al., Sci. Pharm. **61**, 1993, 59
- [162] Hofmann, L., Fritz, D., Nitz, S., Kollmannsberger, H., Drawert, F., Essential Oil  
Composition of Three Polyploids in the Achillea millefolium „Complex“,  
Phytochemistry **31**, 1992, 537-542
- [163] Motl, O., Ochir, G., Kubeczka, K.-H., Composition of Achillea asiatica Serg.  
Essential Oil, Flavour and Fragrance J. **5**, 1990, 153-155
- [164] Figueiredo, A.C., Barroso, J.G., Pais, M.S.S., Scheffer, J.C., Composition of the  
Essential Oils from Two Populations of Achillea millefolium L. ssp. Millefolium,  
J. Chromatogr. Sci. **30**, 1992, 392-395
- [165] Kokkalou, E., Kokkini, S., Hanlidou, E., Volatile Constituents of Achillea  
millefolium in Relation to their Infraspecific Variation,  
Biochem. System. and Ecology **20**(7), 1992, 665-670
- [166] Maffei, M., Mucciarelli, M., Scannerini, S., Essential Oils from Achillea Species  
of Different Geografic Origin, Biochem. System. and Ecology **22**(7), 1994,  
679-687
- [167] Smolenski, S.J., Bell, C.L., Bauer, L., The Isolation of Achillin from Achillea  
millefolium L., Lloydia **30**, 1967, 144-149
- [168] Orth, M., Van den Berg, T., Czygan, F.-C.,  
Die Schafgarbe - Achillea millefolium L. - Portrait einer Arzneipflanze,  
Zeitschrift für Phytotherapie **15**, 1994, 176-182
- [169] Willuhn, G.: In Teedrogen (ed. M. Wicht), S. 263-266, 430,  
Wissenschaftl. Verlagsgesellschaft, Stuttgart, 1989
- [170] Kastner, U. et al, Phytochemistry **31**, 1992, 1992

- [171] Kastner U., Jurenitsch, J., Glasl, S., Follrich, B., Gavanelli, A., Schröder, H., Schubert-Zsilavec, M., Schmidt, W., Haslinger, E., Kubelka, W., Longipinen- und Achillifolin-Derivate aus *Achillea millefolium*-Typ „DIS-A“, *Pharmazie* **51**, 1996, 503-505
- [172] Gebhardt, U., Schröter, A., Antioxidative Wirkung von Gewürzen, *Gordian* **9**, 1983, 171-176
- [173] Nakatani, N., *Spices, Herbs and Edible Fungi - Antioxidative and Antimicrobial Constituents of Herbs and Spices*, Elsevier Science B.V., 1994, 251-267
- [174] Palitzsch, A., Schulze, H., Metzl, F., Baas, H., Untersuchungen über die Wirkung von Naturgewürzen, Gewürzextrakten, ätherischen Ölen, Extraktionsrückständen und synthetischen Antioxidantien auf den Abbau von Schweinefett und Modell-Lipiden, *Die Fleischwirtschaft*, 1969, 1349-1353
- [175] Schulze, H., Baas, H., Palitzsch, A., Lotter, G., Untersuchungen über die Wirkung von Naturgewürzen, Gewürzextrakten, ätherischen Ölen, Extraktionsrückständen und synthetischen Antioxidantien auf den Abbau von Schweinefett und Modell-Lipiden, *Die Fleischwirtschaft*, 1971, 303-306
- [176] Palitzsch, A., Schulze, Lotter, G., Streichele, A., Untersuchungen über die Wirkung von Naturgewürzen, Gewürzextrakten, ätherischen Ölen, Extraktionsrückständen und synthetischen Antioxidantien auf den Abbau von Schweinefett und Modell-Lipiden, *Die Fleischwirtschaft*, 1974, 63-68
- [177] Morris, J.A., Keth-Ry, A., Seitz, E.W., Antimicrobial Activity of Aroma Chemicals and Essential Oils, *J. Am. Oil Chem. Soc.* **56**, 1979, 595-603
- [178] Syed, M., Hanif, M., Chaudray, F.M., Bhatti, M.K., Antimicrobial Activity of the Essential Oils of the Umbelliferae Family, *Pakistan J. Sci. Ind. Res.* **29**, 1986, 183-188
- [179] Farag, R.S., Daw, Z.Y., Hewedi, F.M., El-Barotly, G.S.A., Antimicrobial Activity of Some Egyptian Spice Essential Oils, *J. Food Prot.* **52**, 1989, 665-667
- [180] Heath, H.B., *Flavor Technology: Profiles, Products, Applications*, AVI Publishing Comp. Westport, 1978
- [181] Belitz, H.-D., Grosch, W., *Lehrbuch der Lebensmittelchemie*, 5. Überarbeitete Auflage, Springer Verlag Berlin Heidelberg, 2001
- [182] Schieberle, P., Grosch, W., Identification of the Volatile Flavor Compounds of Wheat Bread Crust - Comparison with Rye Bread Crust, *Z Lebensm Unters Forsch* **180**, 1985, 474-478

- [183] Tassan, C.G., Russell, G.F., Chemical and Sensory Studies on Cumin, *J. Food Sci.* **40**, 1975, 1185-1188
- [184] Pahlow, M., Das große Buch der Heilpflanzen, Schafgarbe, 1985, Gräfe und Unzer Verlag München
- [185] Stahl, E., Schild, W., Pharmazeutische Biologie, Drogenanalyse II: Inhaltsstoffe und Isolierungen, Gustav-Fischer Verlag Stuttgart, 1981
- [186] Jean, F-I., Collin, G.J., Lord, D., Essential Oils and Microwave Extracts of Cultivated Plants, *Perfumer & Flavorist* **17**, 1992, 35-41
- [187] Moyler, D.A., Extraction of Essential Oils with Carbon Dioxide, *Flavor Fragrance J.* **8** (5), 1993, 235-247
- [188] Hartmann, G., Einsatz von Hochdruckextrakten in der Lebensmittelproduktion, *Fleischwirtschaft* **73** (4), 1993, 404-414
- [189] Hartmann, G., Hochdruckextrakte als Alternative zu Naturgewürzen und konventionellen Aromen, *ZFL* **44** (5), 1993, 245-246
- [190] Meireles, M.A.A., Nikolov, Z.L., Spices, Herbs and Edible Fungi - Extraction and Fractionation of Essential Oils with Liquid Carbon Dioxide, Elsevier Science B.V., 1994, 171-199
- [191] Miller, D.J., Hawthorne, S.B., Determination of Solubilities of Organic Solutes in Supercritical CO<sub>2</sub> by On-Line Flame Ionization Detection, *Anal. Chem.* **67**, 1995, 273-279
- [192] Smith, R.M., Burford, M.D., Optimization of Supercritical Fluid Extraction of Volatile Constituents from a Model Plant Matrix , *J. Chrom.* **600**, 1992, 175-181
- [193] Moyler, D.A., Extraction of Essential Oils with Carbon Dioxide, *Flavour Fragrance J.* **8** (5), 1993, 235-247
- [194] Reverchon, E., Della Porta, G., Supercritical CO<sub>2</sub> Extraction and Fractionation of Lavender Essential Oil and Waxes, *J. Agric. Food Chem.* **43** (6), 1995, 1654-1658
- [195] Roy, B.C., Goto, M., Kodama, A., Hirose, T., Supercritical Fluid Extraction of Essential Oils and Cuticular Waxes from Peppermint Leaves, *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **67** (1) 1996, 21-26
- [196] Knipe, C.R., Miles, W.S., Rowland, F., Randall, L.G., Designing a Sample Preparation Method that Employs Supercritical Fluid Extraction, 1993, Hewlett-Packard Company

- [197] Pipkin, W., Fundamental Considerations for SFE Method Development, LC-GC INTL **5** (1), 1992, 8-10
- [198] Gere, Dennis, R., Derrico, Ellen, M., SFE Theory to Practice - First Principles and Method Development, Part I, LC-GC INTL **7** (6), 1994, 325-331
- [199] Gere, Dennis, R., Derrico, Ellen, M., SFE Theory to Practice - First Principles and Method Development, Part II, LC-GC INTL **7** (7), 1994, 370-375
- [200] Koinecke, A., Kreuzig, R., Bahadir, M., Effects of Modifiers, Adsorbents and Eluents in Supercritical Fluid Extraction of Selected Pesticides in Soil, J. Chrom. A **786**, 1997, 155-161
- [201] Gomez de Azavedo, E., Matos, E., Nunes da Ponte, M., Simoes, P.C., Phase Equilibria of Systems Containing Limonen, Cineole and Supercritical Dioxide, in: M. Perrut (Ed.), Proceedings of the First International Symposium on Supercritical Fluids, 1988, 135 ff
- [202] Richter, M., Sovova, H., Kucera, J., Solubility of Monoterpenes in Supercritical Carbon Dioxide, in: Proceeding of the Second International Symposium on High Pressure Engineering, 1990, 306 ff
- [203] Di Giacomo, G., Brandani, V., Del re, G., Mucciante, V., Solubility of Essential Oil Components in Compressed Supercritical Carbon Dioxide, Fluid Phase Equilib. **52**, 1989, 405-409
- [204] Matos, H.A., Gomes de Avazedo, E., Nunes da Ponte, M., Simoes, P.C., Carrondo, M.T., Phase Equilibria of Natural Flavorss and Supercritical Solvents, Fluid Phase Equilib. **52**, 1989, 357-361
- [205] Reverchon, E., Russo, P., Stassi, A., Solubilities of Solid Octacosane and Triacotane in Supercritical Carbon Dioxide, J. Chem. Eng. Data **38**, 1993, 458-462
- [206] Bamberger, T., Erickson, J.C., Cooney, C.L., Kumar, S.K., Measurement and Model Prediction of Solubilities of Pure Fatty Acids, Pure Triglycerides, and Mixtures of Triglycerides in Supercritical Carbon Dioxide, J. Chem. Eng. Data **33**, 1988, 327-332
- [207] Koedam, A., Scheffer, J.J.C., Baerheim Swendson, A., Comparison of Isolation Procedures for Essential Oils, Z. Lebensm. Unters. Forsch. **168**, 1979, 106-111
- [208] Koedam, A., Scheffer, J.J.C., Baerheim Swendson, A., Comparison of Isolation Procedures for Essential Oils, IV. Leyland Cypress, Perfum. Flavor. **5**, 1980/1981, 56-61
- [209] Meyer-Warnod, B., Natural Essential Oils, Extraction Processes and Application to Major Oils, Perfum. Flavor. **9**, 1984, 93-98

- [210] Stahl, E., Schild, W., Pharmazeutische Biologie, Drogenanalyse II: Inhaltsstoffe und Isolierungen, Gustav Fischer Verlag, 1981
- [211] Pellerin, P., Feral, G., Collomp, J.C., Misitano, A., 7<sup>th</sup> Essential Oils International Days, Digne, 1988
- [212] Anderson, M.R., Swanson, J.T., Porter, N.L., Richter, B.E., Supercritical Fluid Extraction as a Sample Introduction Method for Chromatography, J. Chromatogr. Sci. **27**, 1989, 371-377
- [213] Kohler, M., Haerdi, W., Christen, P., Veuthey, J.-L., Extraction of Artemisinin and Artemisinic Acid from *Artemisia annua* L. using Supercritical Carbon Dioxide, J. Chrom. A **785**, 1997, 353-360
- [214] Chester, T.L., Pinkston, J.D., Raynie, D.E., Supercritical Fluid Chromatography and Extraction, Anal. Chem. **70**, 1998, 301R-319R
- [215] Chipault, J.R., Mizuno, G.R., Lundberg, W.O., The Antioxidant Properties of Natural Spices, Food Research **20**, 1952, 46-55
- [216] Saito, Y., Kimura, Y., Sakamoto, T., The Antioxidant Effect of Petroleum Ether Soluble Fractions from Spices, J. of the Jap. Soc. Of Food and Nutrition **29**, 1976, 505-510
- [217] Weinreich, B., Untersuchungen zur Struktur und zum Extraktionsverhalten antioxidativ wirksamer Inhaltsstoffe aus Rosmarinus- und *Salvia officinalis* L., Dissertation Technische Universität München, Weihenstephan, 1989
- [218] Sinell, H.J., Einführung in die Lebensmittelhygiene, Parey's Studentexte 21, 3. überarbeitete Auflage 1992, Parey, Berlin und Hamburg
- [219] Lebensmittelrechtshandbuch, V - Hygienerecht, Juli 2000, Beck-Verlag, München
- [220] Morris, J.A., Ketthray, A., Seitz, E.W., Antimicrobial Activity of Aroma Chemicals and Essential Oils, J. Am. Oil Chem.Soc. **56**, 1979, 595-603
- [221] Fricke, G., Hoyer, H., Wermter, R., Paulus, H., Einfluss lipophiler Stoffe auf die mikrobiologische Hemmwirkung von Aromaextrakten am Beispiel von *Staphylokokkus aureus*, Archiv Lebensmittelhygiene **49**, 1998, 107-111
- [222] Shelef, L.A., Antimicrobial Effects of Spices, J Food Safety **6**, 1983, 29-44
- [223] Zaika, L.L., Spices and Herbs: Their Antimicrobial Activity and its Determination, J Food Safety **9**, 1988, 97-118

- [224] Retail Business Market Surveys, Market Survey 3, Herbs and Spices, Retail Business **473**, 1997, 69-91
- [225] Ziegler, E., Die natürlichen und künstlichen Aromen, Alfred Hüthig Verlag Heidelberg, 1982
- [226] Ohloff, G., Riechstoffe und Geruchssinn: Die molekulare Welt der Düfte, Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York, 1990
- [227] Maarse, H. (Edit.), Volatile Compounds in Foods and Beverages, Marcel Dekker, New York, 1991
- [228] Gerhardt, U., Gewürze in der Lebensmittelindustrie: Eigenschaften - Technologien - Verwendung, Behr's Verlag, Hamburg, 1990
- [229] Melchior, H., Kastner, H., Gewürze, Botanische und Chemische Untersuchung, Verlag Paul Parey Berlin, Hamburg, 1974
- [230] Grosch, W., Neuere Entwicklungen in der Aromaforschung, Lebensmittelchemie **47**, 1993, 129-134
- [231] Nitz, S., Kollmannsberger, H., Punkert, M., CO<sub>2</sub> - Hochdruckextraktion von Gewürzen, Adv. Food Sci. (CMTL) **14**, 1992, 108-116
- [232] Nitz, S., Drawert, F., Gellert, U., A Variable Effluent Splitter for Simultaneous Sniffing-MS-Monitoring, Chromatographia **22**, 1986, 51-54

## G ANHANG

### 1 Tabelle der Apiaceen-Inhaltsstoffe (nur die fraktionierten Extrakte von Anis und Cumin)

Verbindung	m/e	R <sub>f</sub> TS3	Pflanze
<b>Hexan</b>		<b>600</b>	
Ethylacetat	43,45,61,88	605	A
Methyldioxolan	73-45,43,58	641	A
2-Pentanon	43-86,71,58	667	A
3-Pentanon	57-86	682	A, Cu
2-Pentanol	45-43,55	682	A, Cu
2-Pentanon	43-86,71,58	691	Cu
3-Pentanol	59-41	695	A, Cu
<b>Heptan</b>		<b>700</b>	
2-Methyl-1-butanol	43,57,56,70	717	A
3-Methylpentan-2-on	43-57,55,72,100	746	A
Buttersäure	60-73	750	A
Methyl-2-methylbutanoat	88,57-85,101,59	767	A
3-Methylbutanol	42,55,70	771	Cu
2-Methylbutanol	41,57,56,70	773	Cu
Toluol	91-92	775	A, Cu
2,4-Pentandion	43-85,100	791	Cu
Hexanal	41,44,56	794	A
<b>Octan</b>		<b>800</b>	
3-Methylbuttersäure	43,71-75,58-104 60-87	808 812	Cu A
	43,71,59-75	813	A
2-Methylbuttersäure	74-57,41	825	A
Furfural	95-96	838	A
Ethyl-2-methylbutanoat	57,102,41-85,74,115 43,71,57,61-104 43,71,57,75,61-104	843 846 852	A Cu A
C <sub>9</sub> H <sub>16</sub> ?	109-124	854	Cu
Pentansäure	60-73	855	A
2E-Hexenal	55,41,69,83,98	856	A
Hexanol		865	A
	41,70,69	870	Cu
2-Methyl-2-butensäure	100,55-54,39,82,85	877	Cu
Xylol	91-106	883	Cu
3-Heptanon	57,85,73,114	885	A
2-Heptanon	43,58,71,114 43-71,85,55	890 892	A A, Cu
<b>Nonan</b>		<b>900</b>	
Styrol	43,56,57,72 104-	901 902	A A
	43,57,72,98	909	A
Methional	48-104	912	A
2-Bornen	93,121,108,136	920	Cu

4-Butanolid	42-86,56	920	A
	55,71,43,83-126	925	Cu
Anisol	108,78,65	926	A
$\alpha$ -Thujen	93-77,91,92	939	Cu
N,N-Diethylformamid	58,101-45,57,72,86	939	A
Isopropylidencyclohexan ?	81,67,41,124,109,82,95	944	Cu
$\beta$ -Citronellen	41,55,67,69,82,95-123,138	948	A
$\alpha$ -Pinen	93,92,91	951	A, Cu
	43-57-85 ???	956	A
	55,83,70,84-112	960	Cu
Hexansäure	60-73	963	A, Cu
C10H16	93,108-136	967	Cu
Camphen	93,121,79,107	971	A, Cu
Benzaldehyd	105,106,77,51	976	A, Cu
Phenol	94-66	980	Cu
1-Octen-3-on	55-70	982	Cu
2,3-Octandion	43-99,71	983	A
Isopropylcyclohexadien ?	79,78,122,77,91,107	983	Cu
	45-44,58,57-71,88,103	984	A
(RT: 1-Octen-3-on)	55-70	987	A
Sabinen	93-136	987	A, Cu
6-Methyl-5-hepten-2-on	43,55,58,108,111,126	988	A, Cu
Myrcen	41,69,93	992	A, Cu
$\beta$ -Pinen	93-69,79,91,41-136	997	A, Cu
	43-67,82,97,110-126	999	Cu
<b>Decan</b>		<b>1.000</b>	
Isobutyl-2-methylbutanoat	57,85,103,56	1.003	A
Dehydro-1,8-Cineol	109,43-152	1.004	Cu
Octanal	41,43,57,84	1.005	A
2-Formylpyrrol	95,94,66	1.015	A
$\alpha$ -Phellandren	93,91,77,136	1.022	Cu
3-Caren	93-91,77,79-136	1.027	Cu
$\alpha$ -Terpinen	93-121	1.031	Cu
	81-96,124-146?	1.034	Cu
Dichlorbenzol	146,148-111,75	1.034	A
	43,81-96	1.037	A
p-Cymol	119,91,134	1.038	A, Cu
Limonen	68-93-136	1.044	A, Cu
Benzylalkohol	79,108,107,77	1.049	A, Cu
$\beta$ -Phellandren	93,91,77-136	1.050	Cu
1,8-Cineol	43-71-93-111-154	1.053	A, Cu
E- $\beta$ -Ocimen	93-91,79,77,80	1.055	Cu
Phenylacetaldehyd	91-120,92	1.058	A, Cu
	41,69,82,67,95-138	1.064	Cu
2-Hydroxybenzaldehyd	122,121-65	1.064	A, Cu
	43-56-72,98	1.066	A
2-Acetylpyrrol	94,109-66	1.071	A
$\gamma$ -Terpinen	93-91,121,136	1.074	A, Cu
Kresol	107-108	1.079	Cu
	99-138	1.080	Cu
	55-41,70,80,123	1.080	Cu
Sabinenhydrat 1 (trans)	43-71,93,81,111-139-154	1.085	Cu
Linalooloxid 1, furanosid	59,94,93-68	1.086	Cu

	109,67,95-79,123-138	1.090	Cu
	43-87,86-131,159-71,58	1.091	A
	98,97-43,69,70,82	1.097	Cu
	79-59,71-43,41,85	1.097	Cu
Linalooloxid 2, furanosid	59,94-68	1.098	Cu
3-Methylbutyl-2-methylbutanoat	57,70,85-103,74	1.099	A
<b>Undecan</b>		<b>1.100</b>	
m-Mentha-6,3(8)-dien	93,136,121	1.101	Cu
Terpinolen	93,121,136	1.101	Cu
Guajacol	109,81,124	1.102	A
p-Cymenen	132-117	1.104	Cu
Linalool	93,71,80	1.104	A, Cu
2-Methylbutyl-2-methylbutanoat	85,70,57-103	1.107	A
Perillen	69,81-150	1.107	Cu
Fenchon	81-152	1.109	A
	109-81,124 ?	1.115	A
Sabinenhydrat 2 (cis)	43-71,93,111,139,154	1.116	Cu
	41,67,71,69,81,91,109-152	1.123	Cu
cis-Thujon	81,110,68,69,67,95,109	1.124	A
	109-43,69,95,82,119-134,152	1.130	Cu
trans-Thujon	110,81,69,95,68,67	1.135	Cu
Phenylethanol	91,92,122	1.136	A
p-Menth-2-en-1-ol 1 (trans)	43-55,69,83,98,111,139-154	1.141	Cu
	43-55,83,98,69-154	1.142	A
$\alpha$ -Campholenal ?	108,93-67-152	1.146	Cu
Pinan-2-ol (trans?)	99-81,93,71,55-108,136	1.147	Cu
	69,41-109-152	1.148	Cu
p-Menth-3-en-1-ol	81,43-136,121,96,55,58,107-154	1.152	Cu
	79,110-95,53-152	1.154	Cu
2Z-Nonenal	83,69,70,55,56,41,96	1.155	A
Menthatrien ?	91,119,134	1.156	Cu
Geijeren isomeres	79,94-	1.158	A
p-Menth-2-en-1-ol 2	43-139-69,81,93,111-154	1.159	Cu
	79-110-95,67-152	1.162	Cu
$\beta$ -Pinon ?	83,55,81,95,109,138	1.163	Cu
Geijeren	79,94-	1.165	A
trans - Pinocarveol	41,55,92,93,70-109,134-152	1.166	Cu
	109-81,67,43	1.166	Cu
	81-138-96,67,95	1.168	Cu
2E-Nonenal	43-55,70,83	1.169	A
Vinylanisol	134-91,119,65	1.170	A
Campher	95-81-152	1.171	A
	109-67,43,81-95,123-166	1.171	Cu
	69,41-154,85	1.171	Cu
Menthon	112,41,69-154	1.173	A, Cu
	69,41-109,85-154	1.175	Cu
Sabinaketon	81-95,96,41,67,55-138	1.179	Cu
	43-67,81,109,119-137,152	1.180	Cu
	43-67,81,109,119-137,152	1.184	Cu
iso-Menthon	112,69-154	1.184	A
Pinocarvon	108,81,53-150	1.185	Cu
	43-81,92,91,79,59-109-134-150	1.187	Cu
Borneol	95-110	1.189	A, Cu
Limonen-4-ol	69,84,43,111	1.195	Cu

Terpinen-4-ol	109-67,81,108-152 71,111,93,86-154	1.195 1.197	Cu A, Cu
<b>Dodecan</b>		<b>1.200</b>	
p-Cymen-8-ol	43-135,150 69,41-109,55,83,124-152	1.200 1.201	Cu Cu
p-Methylacetophenon	119,91,134	1.201	A
$\alpha$ -Terpineol	59,93,81	1.207	A, Cu
Caran-3-on ?	81-95,96,110,109-152	1.207	Cu
Crypton	96,95-67,81-138	1.208	Cu
Estragol (Methylchavicol)	148-147,117,121	1.212	A
p-Menth-3-en-7-al	109,81,79,41,67,121-152	1.212	Cu
Methylsalicylat	120,92,152,121	1.216	Cu
Piperitol 1	84-139,154	1.218	Cu
Myrtenal	79,91,107-150	1.218	Cu
Myrtenol	79,91,108-152	1.219	Cu
Propylanisol	91,121-150	1.220	A
$\beta$ -Phellandren-6-ol	92,91-81,79,109,134-152	1.225	Cu
Piperitol 2	84-139,154	1.227	Cu
p-Methoxyphenol	109-124,81-53 69,93-136,150 93,41-92,91,79,67,55-107-150	1.232 1.234 1.234	A Cu Cu
Cumamol (Isopropylphenol) 1	121-91,77,103,136	1.240	Cu
Hexyl-2-methylbutanoat	103,57-84 41,69-154 41,43,97-69,55,123-152,166?	1.240 1.242 1.244	A Cu Cu
Thymolmethylether ?	149-164,91,77,117,119 139-67,53 43-126,111-71,97-168?	1.245 1.247 1.248	A A Cu
Cumamol (Isopropylphenol) 2	121-136,91,77,103,65	1.249	Cu
Benzothiazol	135,108,69,91	1.255	A
Phellandrenol-Isomer	92,91-81-109,134,152 109-154	1.260 1.262	Cu A
Cuminaldehyd	105,133,148	1.263	A, Cu
Carvon	82,54,108-150	1.264	A
Thymoquinon	164-43,93,121,77,108,136,149	1.269	Cu
cis-Anethol	148-	1.270	A
Carvotanacetone	82-152,54,109	1.274	Cu
Piperiton	82,110-54,67,137,152	1.278	Cu
Anisaldehyd	135,136-77,92-107 93,121-79,67,43-154 109,127,81	1.279 1.285 1.291	A Cu A
Perillaldehyd	68,67,79,41,53,107-152	1.297	Cu
Phellandral ?	109-81,79,41,95,67,55-152	1.300	Cu
<b>Tridecan</b>		<b>1.300</b>	
Anisalkohol	109-138-77,121,137,94	1.300	A
trans-Anethol	148-147 135-150-91,107	1.301 1.301	A, Cu Cu
Bornylacetat	95,43-136,121,154-196	1.304	Cu
p-Mentha-1,3-dien-7-al	79,107-150,121,135,91,77	1.309	A, Cu
p-Cymen-7-ol	135,105,79,107,119-150	1.310	Cu
1-(p-Methoxyphenyl)-ethan-1-ol	152-137-81,109	1.313	A
p-Mentha-1,4-dien-7-al	107,79-77,105,91,121,150	1.314	Cu
Pinocarvylacetat ?	43,91,92,119,134	1.318	Cu
Perillalkohol	79,68,67,93,121,135	1.320	Cu

	95,110,67	1.327	Cu
Ascaridoldiepoxid B	43-97-71,79,55,107,60,125-168	1.330	Cu
	74-43,109,137,152,170	1.333	A
	149-164-121,91,77,103,135	1.333	Cu
6-Hydroxycarvotanacetone ?	82-54,168	1.336	Cu
	43-126-71,111	1.341	Cu
	93,92,91,41,121,134	1.341	Cu
Vinylguajacol ?	135-150,107,77	1.342	A
	43-126-71,111,95,93	1.343	A
	149,164-121,91,77,135	1.348	Cu
p-Mentha-1,4-dien-7-ol	43,79,91,92-134-152	1.349	Cu
	70,55,71,41-97,126	1.351	Cu
Piperitylacetat	121,84,93,43,136,154-196	1.352	Cu
	149,164-121,91,77,135	1.354	A
	55,70,41,71,79,69	1.354	Cu
Methylcuminoat 1	163-178	1.355	Cu
2-Hydroxy-4-methoxybenzaldehyd	151-152-95	1.355	A
	134,133-105,77	1.358	A
$\delta$ -Elemen	121,93,136-204	1.362	A
	91,77,107,121,164	1.364	Cu
	147,162,43-91,119	1.367	Cu
Nerylacetat	69,41,43,93,68	1.369	Cu
Terpendiepoxid 1	43,97-55,69,107,125,139-168	1.371	Cu
ST	161,91,204-119,118,120	1.373	A
$\alpha$ -Cubeben	161,119-105-134,204,91	1.373	Cu
1-(p-Methoxyphenyl)-ethan-1-on	135,150-77,107,92	1.375	A
	122-168-79,109?	1.378	A
	43-93,79,134,58,168-194	1.379	Cu
Terpendiepoxid 2	43,97,69,55,107,125-168	1.379	Cu
	135,150,81,95,41	1.383	Cu
	41,69-95,123,138,166	1.384	Cu
$\alpha$ -Longipinen	119,105,133-204	1.384	A
	79,91-105,133,148	1.384	Cu
5-Methoxy-2-methylbenzofuran	162-147,119,91,65	1.388	A
Methylanisat	135-166-77,92,107,64	1.393	A
Methylcuminoat 2	163-119,91,147-178	1.393	Cu
	105-91,79,120,43-178	1.397	A
	91,92-43-119,134-180	1.398	Cu
$\alpha$ -Ylangen	105,161,119,120,93,-204	1.398	A
<b>Tetradecan</b>		<b>1.400</b>	
Tetradecan		1.400	A, Cu
(RT: $\beta$ -Damascenon ?)		1.400	A
1-(p-Methoxyphenyl-)propan-2-on	121-164-77,78,91	1.401	A
$\alpha$ -Copaen	161,105,119-204	1402	A, Cu
	93,92,91,136,107,77,79,80-175	1.403	Cu
1-(p-Methoxyphenyl-)propan-2-ol ?	121-166-77,78,107	1.406	A
Daucen	161,121-93-204	1.406	Cu
pseudo-Eugenolmethylether	178-135,105,91,163	1.407	A
Longicyclen	94-105,91,119-204	1.409	A
	71-109	1.411	Cu
Pseudo-Eugenol	71,100,111-41,127-164	1.413	A
$\beta$ -Elemen	81-68,93,107-204	1.416	A
$\beta$ -Cubeben	161-105,119,91,93,120,204	1.416	Cu
	43,71-95,67,100,111,123	1.416	Cu

1-(p-Methoxyphenyl-)propan-1-ol	137-109,166,94,77	1.421	A
	43-91,151,67,79,109,123-194	1.421	Cu
Vanillin	151-152	1.421	A, Cu
	43,149,164	1.430	Cu
	105,161,119	1.430	Cu
ST	161-204-133,105,91,	1.433	A
Hydroxymenonon 1	98,70,69,126,111-168	1.434	Cu
Methylmenthadienoat ?	137-105,77,91,93,43-180	1.436	Cu
ST	93,107,41,69,119,133-204	1.437	A
p-Methoxybenzoesäure („Anissäure“)	135,152-77,92	1.437	A
cis- $\alpha$ -Bergamoten	93,119-204	1.438	Cu
	135-77,175-218	1.439	A
Hydroxymenonon 2	98,111,70,69,126-168	1.440	Cu
	93,136-121-107,161,204	1.444	Cu
(Z)-pseudo-Isoeugenolmethylether	178-135-105,163,91	1.445	A
	55,71,67,95	1.451	Cu
6-Hydroxy-p-menth-1-en-3-on	98,126,69,70,124-138	1.451	Cu
ST	161,120-81,69,204,189	1.451	A
$\beta$ -Caryophyllen	41-93,133,69	1.453	A
E- $\alpha$ -Bergamoten	93,119,41,69,107-204	1.457	A, Cu
Geranylaceton	43,69,107,125,136-151,194	1.462	Cu
	43-91,105,79,120-145-160,178	1.462	A
	177-93,69,43,135-220	1.465	A
E- $\beta$ -Farnesen	41,69,93,133,120-204	1.465	A, Cu
Ethylanisat	135,180,77,92,107	1.457	A
	41,43,69,97,125,168,139	1.468	Cu
	41,69,98,126,109-163-194	1.472	Cu
1-(p-Methoxyphenyl-)propan-1-on	135-77,107,92-164 (123?)	1.473	A
	69,81,95,123-206	1.474	Cu
ST	161-105,119-91,133,204	1.475	A
epi- $\beta$ -Santalen ?	94,41-122,161,204	1.476	Cu
2,5-Dimethoxybenzaldehyd ?	166-151,120,95,137,63,80	1.478	A
	95,123,91,77,122,43-166	1.478	Cu
ST	119-93,105,161,204	1.479	A
	135-77,92,107,43,64-178	1.481	A
	159-202	1.481	A
(Z)-pseudo-Isoeugenol	164,149-91,103,165,180-221,236	1.485	A
$\beta$ -Santalen ?	94,93,122-41,161,204	1.485	Cu
	43-59,109-165,180-221,236	1.486	Cu
	163-91,107-206	1.486	A
$\alpha$ -Himachalen	93,119,94,189-204	1.487	A
	177-220-41,91,136,149,205,192	1.490	A
$\alpha$ -Humulen	93-80,147,121-204	1.490	A, Cu
	177,220,207,222,135	1.490	Cu
	187-202,91,105,131	1.491	A
	43-121,153,83,55-220	1.491	Cu
	161-105,94-204	1.493	Cu
A1	151-135-121,91,77-178,196	1.493	A
	161-119,105,91,81-204	1.496	A
	177,220,207,222,135	1.496	A
	43-121,153,83,55-220	1.497	A
	43-93,95	1.499	Cu
	131-202,146,159,119,105,91-218	1.499	A

Pentadecan		1.500	
$\gamma$ -Muurolen	161-105,119,81-204	1.501	Cu
ar-Curcumen	132,119,105-202	1.502	A
$\beta$ -Jonon	43,177-192	1.504	A,Cu
(E)-pseudo-Isoeugenolmethylether	178-135,105,163	1.504	A
A2	151-135,178,121,91,77	1.507	A
Germacren D	161-93-41,105,133,204	1.512	Cu
$\alpha$ -Zingiberen	119,41,91-204	1.512	A, Cu
	79-91,105,133,204-222	1.513	A
	159,202,187	1.514	A
E,E- $\alpha$ -Farnesen	93-41,69,55-119,107,123	1.517	Cu
	137-109,77,94,202	1.517	A
	202,159,187	1.518	A
$\gamma$ -Himachalen	105,133,93,91-204	1.518	A
	151-180,91	1.519	A
	43-55-127,137,148-180	1.522	A
	43-55,127,126,81,100	1.524	Cu
$\beta$ -Bisabolen	41,69,93,79,67-204	1.527	A,Cu
(E)-pseudo-Isoeugenol	164,149-121,91,77	1.528	A
$\beta$ -Himachalen	119,134,105,91-204	1.537	A
	43,124-71,134,41-220	1.538	Cu
	93-41,121,68,134-189,204	1.538	Cu
	83,55-111,151,182	1.539	A
cis- $\gamma$ -Bisabolen ?	93,107,119-204	1.540	Cu
	159,160,145,91-205	1.544	Cu
Myristicin	192-91,119	1.544	Cu
	165,137-121,77,43,91,121-208	1.545	A
$\beta$ -Sesquiphellandren	69,41,93,161,120-204	1.545	A, Cu
ar-dehydro- $\alpha$ -Himachalen	157,185,143-200	1.546	A
$\delta$ -Cadinen	161,119,105,134-204	1.547	A, Cu
	43,124,71,134-220	1.547	Cu
	135-43,72,77,91-120,162-208	1.547	A
	151,164-120,43-194,208	1.549	A
pseudo-Isoeugenylacetat ?	164,43-206	1.550	A
trans- $\gamma$ -Bisabolen	93,107-135,204	1.554	Cu
Calamenen	159-202	1.555	A
	146-131,91-105,159,187,202-234	1.557	A
	149,164-103,77	1.559	Cu
ar-dehydro- $\gamma$ -Himachalen	185-200,157,171, 170	1.564	A
	137-109,77-124-196	1.564	A
	70-149	1.565	Cu
	136-121-204	1.565	Cu
ar-Himachalen	187,145,202,131,105,91	1.571	A
	148-43,77,111,137,147-180,192	1.571	A
	43-93-81,120-151,166	1.571	Cu
	161-82,218	1.573	A
trans-Nerolidol	69-41,93,43-107-220	1.575	Cu
$\alpha$ -Calacoren	157-142,141,200,115	1.575	A
	135-92,107,77,64-180	1.580	A
	41,69,96,138	1.582	Cu
	163-194,179,193-238	1.587	A
	137-163,238	1.587	A
	127-99	1.588	A
	127-99	1.589	Cu

	43-79,106,91,93,109-177,220	1.592	Cu
	119-91,43,147,162-218	1.593	A
	135-77,196-119,147,162	1.594	A
	162-121,135,131,161,91-220	1.594	A
	109,152,177,220	1.595	Cu
	137,109,77,94-182	1.596	A
$\beta$ -Calacoren	157-142,141,200,115	1.596	A
	95-110	1.599	Cu
<b>Hexadecan</b>		<b>1.600</b>	
Isobutylanisat	202-187,119,91,43,159	1.601	A
	135,152,77,107,208	1.601	A
	137-109,77,94-182	1.601	A
	91,105,119,139,161-218	1.603	Cu
	66-132,91-177-220	1.609	A
$\beta$ -Himachalen-1,8-epoxid	161-91,119,147,218	1.609	A
	43,123-207,138,119-222	1.611	Cu
Spathulenol	43,119,91,162-220	1.615	A, Cu
ar-Curcumen-2,3-epoxid	132-119,118,145,218	1.617	A
$\beta$ -Himachalen-8-ol	202-159,137,187-220	1.618	A
	136-121,105,107,91,43	1.620	A
	164,149,93,121	1.623	A
	41-107,79,93,91	1.624	A
	105,133,119,91-175,218	1.626	A
Caryophyllenoxid	43,41-79,93,109-220	1.627	Cu
	43-59,93,119,177-219,234	1.628	A
	43-134,109-93,159,202-236	1.629	Cu
Salvial-4(14)-en-1-on	123,81-41-220	1.635	A
	41,69-119,55,95,94,123,138-222	1.636	A
Carotol	161-69,41-119,204-179,220	1.640	Cu
	59-149,204	1.642	A
	41-93,94-79,121,136-220	1.645	A
	161-105,43,119,81,204	1.646	Cu
Humulen-1,2-epoxid	43-109,67,138-96,220	1.652	Cu
H	137-109,121,166,210	1.653	A
	185-200	1.653	A
Methylbutyrat von MT-A	133,57,85,150,107-234	1.654	Cu
$\beta$ -Himachalenoxid	110,95,151,69-220	1.655	A
	93,95,136-220 - 94,137?	1.663	A
	107,133,150,57,85-234	1.664	Cu
Isospathulenol	119-43,91,162,105,220	1.665	A
	135-109,77-162-220	1.665	A
	179-161,204	1.671	A
	91,147-220	1.679	A
Daucol ?	151-93,43-194,136-238	1.684	Cu
	126-81,93,94-220	1.685	A
Himachal-2-en-6-ol	119-109,95,82,204,222	1.692	A
	93-136,55,83-193-236	1.695	Cu
J	137-109,180-224	1.696	A
Methylbutyrat von MT-B	92,91-57,134,119-85-234	1.700	Cu
<b>Heptadecan</b>		<b>1.700</b>	
	157-200	1.702	A
	95-41,69,55,83,109-222	1.705	Cu
$\alpha$ -Bisabolol	119-69,109,204,222	1.708	A
Methylbutenoat von MT-A	133,83-232,55	1.709	Cu

Cadalen	183-198	1.711	A	
	59-95-149,81,204,207-222	1.713	Cu	
	137-109,164-236?	1.713	A	
	109-67,41-220	1.717	A	
	83,55-93,133,169-236	1.717	Cu	
	122-41,79,206	1.722	Cu	
	E- $\beta$ -Sesquiphellandrenol	69,41,118,55-220	1.724	A
		136-91,107	1.724	A
	Methyltetradecanoat	74-87-242	1.727	A
		137-109,164-43,77,94-224?	1.730	A
105,175,218-91,134,147		1.736	Cu	
Methyltrimethoxybenzoat ?	226-211-109	1.737	A	
	203-157,218-252	1.743	A	
	159-131,202,91	1.745	A	
	110,41,69,95,55,138	1.745	Cu	
	152-165,135,181-43-238	1.749	A	
	91,92-134,119,55,83-232	1.756	Cu	
Methylbutenoat von MT-B (E)-pseudo-Isoeugenol- 2-methylpropanoat	164,149,91,43-71-234	1.761	A	
	135-203,218,107	1.768	A	
pseudo-Eugenol-2-methylbutanoat	164,149,57-248	1.781	A	
	143-236	1.787	Cu	
	135-77,91,147-218	1.788	A	
	121,105,218-147,43-234	1.790	A	
	135-77,92,153,180	1.794	A	
	88-101	1.794	A	
Ethyltetradecanoat " ST-C "	119,121,136,135,91,55-191,234	1.796	Cu	
		<b>1.800</b>		
pseudo-Isovanillyl-2-methylbutanoat	95,195-222	1.804	Cu	
	164-79,149-234	1.806	A	
Epoxi-pseudo-Isoeugenol- 2-methylpropanoat	152,57-137,41-236,85	1.811	A	
	137-163,151,180-250-43,71	1.816	A	
Methylpentadecanoat	41-79,133-218	1.818	A	
	93,92-136	1.823	Cu	
	74,87-256	1.828	A	
	110-135,95,43,162-236	1.840	A	
	148,147,162-218	1.840	A	
ein Phythadien	68,82,95,57,43,123-278	1.842	A	
	68,82,95,57,43,123-278	1.843	Cu	
6,10,14-Trimethylpentadecan-2-on	119-43-175,147,131,203-236	1.845	A	
	43,58-71,110,250	1.849	A, Cu	
	120,135-91,77-208	1.857	A	
(E)-pseudo-Isoeugenol- 2-methylbutanoat	164,149,57-248	1.859	A	
	123-110,175,218	1.860	Cu	
Diisobutylphthalat	218-41,55,110,175	1.863	Cu	
	41,109,55-177,220-252	1.870	Cu	
	43-152,135-218	1.877	A	
	135-43,77,92,152-194-250?	1.883	A	
	149-223	1.885	Cu	
	164,83,55-246	1.886	A	
pseudo-Eugenol-2-methylbut-2-enoat				
Epoxi-pseudo-isoeugenol- 2-methylbutanoat 1	151,180,162,137,57,85-264	1.892	A	

Hydroxi?-pseudo-Isoeugenol- 2-mebutanoat ?	41,69,119,100-232	1.897	Cu
	57-85-137,121,135,222-266	1.898	A
	162-189,203,218,161,134-246?	1.899	A
<b>Nonadecan</b>		<b>1.900</b>	
Methylhexadecenoat	55,41,81,74,152-268	1.906	A
	177-43,55,84,134-237,280	1.912	Cu
Epoxi-pseudo-isoegenol- 2-methylbutanoat 2	57-137,163,180-85-264	1.920	A
	74-87,43-270	1.926	A
Methylpalmitat (E)-pseudo-Isoegenol- 2-methylbut-2-enoat	83,164-55,149-246	1.937	A
	43-55,100,109,159,220	1.948	Cu
Palmitinsäure	137-164,57-109,94,77,85-266	1.950	A
	73,44,60-256	1.962	A
	147-248	1.967	A
Epoxi-pseudo-isoegenol- 2-methylbutanoat 3	57,137,180-264	1.967	A
	149-223	1.973	A, Cu
Phthalat ?	88,101-284	1.992	A
Ethylpalmitat	57-148,123-137,149,166-85-250	1.998	A
<b>Eicosan</b>		<b>2.000</b>	
"Acetat von ST-C (RI 1796)"	57-172,198,137,216-85-300	2.053	A
	43-136,155,191,234-276,294	2.054	Cu
	240-225,164,207-55,83	2.092	A
<b>Heneicosan</b>		<b>2.100</b>	
Methylinoleat	67,55,81-294	2.102	A
	135,91-242-65,77-164,196-256	2.103	A
Methyloleat/-petroselinat	55,41,74,96-264-296	2.106	A
Methylinolenat	79,41-292	2.110	A
	93-43,92,136,165-299,300	2.113	Cu
Methoxypsoralen	173-216	2.114	A
	151-71,43,57,85,123-266-232	2.122	Cu
Phytol	71-41,81,123,57-296	2.123	A
	74-298	2.126	A
Methylstearat	55,83-93,119,202-302	2.128	Cu
	71,43,175,147,132-235,295	2.135	Cu
	162-57,41,55-264,284-348?	2.147	A
	93,107,43-135,136-302	2.152	Cu
5-Hexadecanolid	99-41,55,71-236-254	2.155	A, Cu
Ethyllinoleat	67,81-308	2.165	A
Ethylleat/-petroselinat	55,41-264-310	2.168	A
"Crispan"	83,55-159,132,202-320	2.171	Cu
Ethyllinolenat	79-306	2.174	A
Ethylstearat	88,101-312	2.192	A
	41,55,67-278	2.192	A
Linolsäure	41-55,67,81,95-220,280	2.193	Cu
Petroselin-/Ölsäure	41-55,67,83,97,222,282	2.197	Cu
<b>Docosan</b>		<b>2.200</b>	
Anethol-dimeres I	81,110,125-43,53,67-168	2.223	A
	179-55,83-121-306	2.281	Cu
	148-296	2.282	A
	227-	2.292	A

<b>Tricosan</b>		<b>2.300</b>	
	165,124-77,91,57,147,227-281	2.300	A
	83,55-43,119-318	2.311	Cu
	181,208-250	2.312	Cu
Anethol-dimeres II	148-296	2.315	A
"Crispanon"	83-240,225,55-251-284,334	2.320	A, Cu
	267-	2.333	A
	109-43,93,152,149,134-300	2.355	Cu
Diethyldimethoxyphenanthren ?	294-279-264-135	2.355	A
	149-209-188,240-296	2.361	A
	83,55-105,160,200,251,300	2.362	Cu
	99-159-267-310	2.365	A
5-Octadecanolid	99-57,70-282	2.368	Cu
<b>Tetracosan</b>		<b>2.400</b>	
	83,55-119,137,155,234,251-334	2.400	Cu
	83,55-43,175,147,218,275-336	2.411	Cu
	227,164-120,135-77,91,256-300	2.443	A
	164-120,135,227-91,77-256-300	2.456	A
	164-135,120-91,77,227-256-300	2.473	A
K	268-253-145,121,161-237-312	2.481	A
<b>Pentacosan</b>		<b>2.500</b>	
	208,181-85,83,57,55-292-334	2.508	Cu
	268-253-145,121,161-237-312	2.510	A
L	268,253-55,91,121-237-312	2.525	A
	55-	2.527	Cu
	83,55-290	2.551	Cu
	163-135-326-270,189	2.553	A
Diisooctylphthalat	149,167-279	2.555	Cu
	83,55-290	2.559	Cu
<b>Hexacosan</b>		<b>2.600</b>	
Anisaldehyd-dimeres (Dianisoin)	135,137,164,165,77-272-326	2.617	A
	83,55-290	2.635	Cu
<b>Heptacosan</b>		<b>2.700</b>	
"Inucrithmolid" ?	83,55-157,204-230,330	2.755	Cu
<b>Octacosan</b>		<b>2.800</b>	
	83,55-213,228-328	2.815	Cu

## 2 Tabelle der Apiaceen-Inhaltsstoffe (nur die Extrakte von Koriander und Kümmel)

Verbindung	m/e	R <sub>1</sub> TS2	Pflanze
<b>Hexan</b>		<b>600</b>	
2-Pentanon	43-86,71,58	652	Ko
<b>Heptan</b>		<b>700</b>	
2-Methylbuttersäuremethylester	57-88,74,85,59,101	765	Ko
2,4-Pentandion	43-58,71,85,100	782	Ko
<b>Octan</b>		<b>800</b>	
Octan	43-71,57,41,85-114	800	Ko, Kü
Hexanal	44-41,56,67,82	806	Ko, Kü
<b>Nonan</b>		<b>900</b>	
Nonan	57-43,71,85-128	900	Ko
Heptanal	43-57,42,44,70,55,41,72,58,71,88, 96...	908	Ko
γ-Butyrolacton	42-41,6,86	919	Ko, Kü
Tricyclen	93-91,77, 79,92-105,121,136	924	Ko
α-Thujen	93-91,77,92,41,79,136	928	Ko, Kü
α-Pinen	93-91,92,77,79,136	945	Ko, Kü
Camphen	93-121,79,67,107,41,136	958	Ko, Kü
Heptenal	41-55,83,57,43,57,70,112	966	Ko, Kü
Sabinen	93-77,91,79,121,80,136	978	Ko, Kü
β-Pinen	93-41,69,79,136	982	Ko, Kü
6-Methyl-5-hepten-2-on	43-55,108,41,69,93,83,126	990	Ko
3-Octanon	43-57,72,99,71,85 ... 128	992	Kü
β-Myrcen	41-93,69,136	994	Ko, Kü
6-Methyl-5-hepten-2-ol	95-69,41,68,85,110,128	999	Ko
<b>Decan</b>		<b>1.000</b>	
Decan	57-43,71,85-142	1.000	Ko
Octanal	41-57,44,43,84,56,85,82,68	1.011	Kü
δ-3-Caren	93-91,79,77,92,41,80,121,136	1.011	Ko, Kü
α-Phellandren	93-91,77,136	1.012	Ko, Kü
	81-135,150	1.019	Ko
Capronsäure	60-73,41,43,45,87	1.020	Ko
α-Terpinen	93-121,91,136,77,79	1.023	Ko, Kü
p-Cymol	119-134,91	1.037	Ko, Kü
1,8-Cineol	43-81,71,108,111,154,139	1.038	Ko, Kü
Limonen	68-67,93,79,94,136	1.042	Ko, Kü
β-Phellandren	93-77,91,136	1.043	Ko, Kü
cis-β-Ocimen	93-92,91,77, 79-119,136	1.045	Ko, Kü
Benzylalkohol	79-77,108,107	1.049	Ko, Kü
trans-β-Ocimen	93-80,91,79,77	1.054	Ko, Kü
Dimethyloctadien	69-41,95,123,109,138	1.058	Kü
	55-70,83,97,111 ...	1.068	Kü
γ-Terpinen	93-91,136,77,121,43,92,79,41	1.074	Ko, Kü
Linalooloxid, furanosid I	59-94,43,55,68,67,93,111	1.082	Ko, Kü
Ia	94-79,109...137,152	1.083	Kü
trans-Sabinenhydrat	43-71,93,111,55,69,79,121,139	1.085	Ko, Kü
Ib	94-79,109...137,152	1.086	Kü

Ila	93-67,79,41,108 ... 123,137,152	1.087	Kü
Ilb	79-94,43,109 ... 123,152	1.088	Ko, Kü
Terpinolen	94 - 109,79,95,152,81	1.092	Kü
Linalooxid, furanosid II	93-121,136,91,79,41,43,105,107	1.092	Ko, Kü
p-Cymenen	59-94,55,43,111,68	1.094	Ko
	132-117,91	1.095	Kü
	43-55,56,69,83 ... 97,111	1.097	Kü
<b>Undecan</b>		<b>1.100</b>	
Undecan	57-43,71,85, 99-156	1.100	Ko, Kü
Linalool	71-93,43,41,55,69,67,80-121,136	1.104	Ko, Kü
trans-2,8-p-Menthadien-1-ol	43-94,79,109,121,137,93,41,67,152	1.129	Kü
	121 - 43, 91, 79, 105, 77, 41, 136	1.135	Kü
Phenylethanol	91- 92,122	1.136	Ko
2,6-Dimethyl-2,4,6-octatrien (Allo-Ocimen)	121-105,79,136,91,77,93	1.139	Ko
Limonenepoxid	43-67,41,79,109,93,44,81,123,137,152	1.142	Kü
$\alpha$ -Pinenoxid	43-94,79,108,67,81,93,41,123,137,152	1.144	Kü
p-Menth-2-en-1-ol	43-55,69,83,98,111,139,154	1.145	Ko
p-Menth-3-en-1-ol	81-43,136,121,96,55,58,107,154	1.147	Ko
Campher	95-81,108,152	1.154	Ko, Kü
	55-67,95,110,79-137,152	1.159	Ko
Citronellal	41-69,55,95,56,111,121,67-139,154	1.163	Ko
	93-108,91,77,79,150	1.171	Kü
Menthon	69-112,41,55,139,154	1.172	Ko, Kü
	55-68,82,110-137,152	1.175	Ko
Pinocarvon	53-81,41,108,107,79,135,43,150	1.176	Ko
Borneol	95-110,41,43,55,67, 96-139,154	1.178	Ko
	95-43,71,41,55,110-121,136,139,154	1.179	Ko
Linalooloxid, pyranosid I	68-94,59,67,43,79,108-119,137,152	1.190	Ko
Dihydrocarveol	79-41,43,67,107,93,121,136,154	1.192	Kü
trans-Dihydrocarvon	67-41,95,68,82,69,55,79,109,108,152	1.197	Kü
Pinocampeol	43-55,69,84,95,107,121,137,152	1.198	Ko
Lavandulol	41-69,93,81,111,123,137,152	1.199	Ko
<b>Dodecan</b>		<b>1.200</b>	
Dodecan	57-43,71,85,99 ... 170	1.200	Kü
Terpinen-4-ol	71-93,111,86,136,139,154	1.200	Ko
cis-Dihydrocarvon	67-95,41,68,152,82,69,55,81,109,108	1.205	Kü
p-Cymen-8-ol	43-135,91,150	1.206	Ko
$\alpha$ -Terpineol	59-93,121,136,81	1.214	Kü, Ko
Myrtenol	79-91,108,77,109,107-121,152	1.215	Ko
Decanal	41-43,57,55,67,81,95,110-156	1.216	Ko, Kü
3Z-Hexenylbutanoat	67-82,71,43...	1.218	Ko
Methylsalicylat	120-152,92	1.219	Ko
trans-Piperitol	84-83,41,139,154	1.224	Ko
Verbenon	91-107,79,135,67,150	1.225	Ko
trans-Carveol	109-84,41,55,83,69,43,67,119,136,152	1.236	Kü
Nerol	69-41,111,93,67,121-139,154	1.228	Ko
iso-Dihydrocarveol	79-41,43,67,107,93,121,136,154	1.229	Kü
	43-71,83,98,97,55-121,153,168	1.232	Ko
cis-Carveol	109-84,41,55,83,69,43,67,119,136,152	1.236	Kü
Citronellol	41-69,55,67, 81,95-123,138,156	1.237	Ko
	71-43,84,69 ...	1.241	Ko
cis-Citral (Neral)	41-69,67,59,109,119,137,152	1.248	Ko
Carvon	82-54,108,150	1.258	Ko, Kü

Geraniol	69-41, 67,81,93,84,55,123,111,139,154	1.268	Ko
Piperiton	82-110,95,137,152	1.269	Ko
2-trans Decenal	41-55,70,81,83,95,97,107-121 ...	1.270	Ko, Kü
trans-Citral (Geranial)	41-69,84,94,95,83,109,123,137,152	1.278	Ko, Kü
Carvonoxid	43-85,95,123,67,55,109,166	1.283	Kü
	67-71,43,82,55,137,152	1.287	Ko
	43-67,95,110,80,140	1.293	Ko
<b>Tridecan</b>		<b>1.300</b>	
Tridecan	57-43,71,85,99-184	1.300	Ko
p-Mentha-1,3-dien-7-al	79-107,150,121,135,91,77	1.301	Ko
Perillaldehyd	68-67,79,41,53,107,152	1.303	Kü
Thymol	135-150,107	1.311	Ko, Kü
Undecanal	41-43,57,55, 81,95,97-110,124,170	1.315	Ko
	43-41,97,69,55,79,107,166	1.315	Ko
(E,Z)-2,4-Decadienal	81-41,67,55,83,53,95 ... 123,152	1.319	Kü
Carvacrol	135-150,107,91,115	1.321	Ko
p-Menth-1-en-9-ol	94-67,79,107,121,136,154	1.324	Kü
Perillalkohol	68-93,79,67,121,154	1.325	Kü
Methylgeranoat	69-41,83,114,123,139,151,182	1.329	Ko, Kü
(Z,Z)-2,4-Decadienal	81-41,67,55,95,109,152	1.330	Ko, Kü
trans-Carvylacetat	43-109,91,119,84,134,152	1.333	Kü
Pinocarvylacetat	91-43,92,93,119,79,134,152	1.334	Ko
cis-Carvylacetat	43-109,152,41,84,42,57,91,105,119,134	1.341	Kü
δ-Element	121-93,136,204	1.345	Kü
	43-109,152,41,84,42,57,91,105,119,134	1.347	Kü
Citronellylacetat	43-41,67,81,95,69,55,123,109,138	1.352	Ko
α-Longipinen	119-105,133,204	1.353	Kü
	43-71,67,41,69,108,55,58,82,93,152	1.359	Kü
γ-Nonalacton	85-41,57,139,157	1.360	Kü
Nerylacetat	69-41,43,93,68,42,93,80,121-136,154	1.361	Ko
Piperitenon	150-107,135,109,67,91.	1.362	Kü
Carvylacetat III ?	43-84,109,91,118,134,152	1.365	Kü
	69-41,100,123-168	1.373	Ko
Geranylacetat	41-43,69,68,67,93,80,121,136,196	1.381	Ko, Kü
α-Copaen	105-91,95,119,161,204,107,93	1.385	Kü
	98- 69,70,41,108,166	1.386	Kü
	93-43,82,69,67,121,136 ...	1.394	Ko
<b>Tetradecan</b>		<b>1.400</b>	
Tetradecan	57-43,71,85,99-198	1.400	Ko, Kü
β-Element	81-68,93,107,204	1.400	Kü
Vanillin	152-151,81,123,109	1.407	Ko
Dodecanal	41-55,57,67,69,81,95,109,123,138,140	1.410	Ko, Kü
IIIa	109-108,82,79,91 ... 123,151	1.422	Kü
IIIb	109-108,82,79,91 ... 123,151	1.425	Kü
	131-94, 121	1.428	Kü
	120-161,105,91,81,93,204	1.431	Kü
β-Caryophyllen	41-93,69,91,79,133,105-161,189,204	1.431	Ko, Kü
γ-Element	93-41,121,105-161,189,204	1.437	Kü
epi-Bicyclosesquiphellandren	161-105,79,41,119,81,91,204	1.443	Kü
α-Himachalen	93-119,94,189,204	1.448	Kü
	43-67,93,134,119,161,204	1.452	Kü
β-Farnesen	69-41,93,133,120,161,204	1.455	Ko, Kü
Methylnaphthol	158-115,129,128	1.463	Ko, Kü
γ-Muurolen	91-161,81,41,105,77,79,119,204	1.465	Kü

$\alpha$ -Humulen	93-41,80,121,147,189,204	1.467	Ko, Kü
2-trans-Dodecenal	41-70,55,83,97,111-121-182	1.468	Ko
	43-69,83,95,110,135 ...	1.471	Ko
$\gamma$ -Decalacton	85-41,57,110,128,153,171	1.475	Ko, Kü
$\alpha$ -Curcurmen	119-132,202	1.484	Ko
$\gamma$ -Himachalen	93-119,94,189,204	1.489	Ko, Kü
Germacren D	161-105,119,91,81,133, 41,204	1.494	Kü
	189-147,133,204,93	1.495	Kü
<b>Pentadecan</b>		<b>1.500</b>	
Pentadecan	57-31,71,85,99-212	1.500	Ko, Kü
	43-84,152	1.502	Kü
Bicyclogermacren	121-93,105,41,119,161,91,167, 204	1.504	Kü
	83-111,55,43,126,155,182	1.524	Kü
	81-96,182	1.525	Ko
	69-41,67,95,81,55,109,137,163,180,208	1.528	Kü
$\delta$ -Cadinen	161-204,134,119	1.530	Kü
Selina-3,7(11)-dien	122-161,107,91,79,67,133	1.535	Kü
	69-43,84,41-107,109,122,135,150 ...	1.540	Ko
Phenylethyl-2-methylbutanoat	104-43,91	1.543	Kü
Nerolidol-Isomeres	69-55,93,79,107-119,136,161-222	1.564	Ko
Laurinsäure	41-43,73,60,55,129,157,200,171	1.571	Ko
trans-Nerolidol	69-41,93,43,107-161,189,204,222	1.572	Ko
2-trans-Tridecenal	41-70,55,83,97-121,152,196	1.576	Ko
Spathulenol	43-93,119,205,189,220	1.592	Kü
	109-43,41,79,93,67,161,177,189,204,222	1.594	Kü
Hexadecen	41-55,69,83,97,111,125-224	1.594	Ko
	79-109,41,165,196	1.598	Ko
<b>Hexadecan</b>		<b>1.600</b>	
Hexadecan	57-43,71,85,99-226	1.600	Ko, Kü
Salvial-4(14)-en-1-on	123-81,41,220	1.610	Kü
Carotol	161-69,41,119,204 ...	1.619	Ko
	131-43,81,121,163...	1.622	Kü
	81-43,69,105,161,204,207	1.633	Ko
IVa	69-55,83,95,109,151,166...	1.639	Kü
IVb	69-55,83,95,109,151,166...	1.642	Kü
	55-67,82,96,110...222,236	1.672	Kü
	81-96,67,41,110,121-166,193,236	1.673	Ko
	81-95,123,133,151... 222	1.674	Kü
Heptadecen	55-70,83,97,111,125-238	1.681	Ko, Kü
	85- 128...	1.691	Kü
	93-67,141,178...	1.694	Kü
<b>Heptadecan</b>		<b>1.700</b>	
Heptadecan	57 - 43,71,85,99 ... 240	1.700	Kü
Sedanolid	108-80,79,109,81-194	1.736	Ko
	68-55,83,97,111...238	1.764	Kü
Heptadecanol	69-68,55,83,41,97,111,125,210,238,252	1.767	Ko
Myristinsäure	41-43,73,60,228	1.781	Ko
Octadecen I	41-43,55,57,69,83,97,111,125,139,252	1.786	Ko, Kü
	81-95,123 ... 184	1.790	Kü
Octadecen II	55-69,41,83,97,111,125,139-252	1.790	Ko
<b>Octadecan</b>		<b>1.800</b>	
Octadecan	57 - 43, 71, 41, 69, 85, ... 254	1.800	Kü
Phytadien	68-95,82,57,81,67,123,179,193,208,234	1.836	Kü

6,10,14-Trimethyl-2-pentadecanon	43-58,71,110,250 55-41,43,91,79,123,69 ... 191,234 43-55,69,83 ... 123,159,177,220	1.842 1.849 1.887	Ko, Kü Kü Kü
<b>Nonadecan</b>		<b>1.900</b>	
Nonadecan	57-43,71,41,85,99,113-408	1.900	Ko, Kü
Palmitinsäuremethylester	74 - 43,87,41,143,270	1.925	Kü
Palmitinsäure	60-73,256	1.977	Ko, Kü
Palmitinsäureethylester	88 - 101,284	1.991	Kü
<b>Eicosan</b>		<b>2.000</b>	
Eicosan	57 - 43,71,85,41,99 ...282 98-67-197 98-41,43,83,81,67,197,227,264	2.000 2.055 2.083	Kü Ko Kü
Linolsäuremethylester	67-81,55,95,294	2.093	Ko, Kü
<b>Heneicosan</b>		<b>2.100</b>	
Petroselin-/Ölsäuremethylester	41-55,74,96,264,296 98-55,41,67,81-197,185,220	2.105 2.136	Ko, Kü Ko
5-Hexadecanolid	99-55,43,71,236,254	2.153	Ko
Linolsäure	41-55,67,81,95-220,280	2.170	Ko, Kü
Petroselin-/Ölsäure	41-55,67,83,97,222,282	2.180	Ko, Kü
<b>Docosan</b>		<b>2.200</b>	
Linolsäureethylester	55-69,88 ... 101,123,222,264,265,308	2.203	Ko, Kü
Stearinsäure	60-73,129,284	2.204	Ko, Kü
Petroselin-/Ölsäureethylester	67-81,95 ... 109,123,220,262,263,310 82-96,67,124,236 ...	2.208 2.259	Kü Ko
<b>Tricosan</b>		<b>2.300</b>	
	57-116,43,84, 98,129-185-239 ... 55-69,83,97,111,173,264-336	2.300 2.381	Ko Ko
<b>Tetracosan</b>		<b>2.400</b>	
1 a	84-55,43,67,98 ... 123,180,222,264 84-55,43,98,152,264 129-55,67,81-185,264,295,338 95-110,69,43,55,81,130 .... 55-41,43,57,67,81,129...264,281,296	2.433 2.433 2.467 2.478	Kü Ko Ko Ko
2 a	82-96,67,55,236-166,180,208,222-404	2.482 2.493	Kü Ko
<b>Pentacosan</b>		<b>2.500</b>	
2 b	82-96,67,55,236-166,180,208,222-404 55-95,194-278,360 165-164,205,166,43,55,57,41,218	2.521 2.553 2.567	Ko Ko Kü
3 a	201-57,43,97,83,168-368	2.575	Ko
<b>Hexacosan</b>		<b>2.600</b>	
1 b	110-95,69,55 ... 131-41,43,67,101,203,264,315,344,412	2.636 2.645	Ko Ko,Kü
<b>Heptacosan</b>		<b>2.700</b>	
4 a	173-55,160,229-339,382,406 136-107,93,81,121... 151-69,191,149,107,206,231, 264,280 137-81,95,41,107...	2.710 2.714 2.725 2.731	Ko Kü Kü Kü
5 a	69-41,93,121,136,154-390 136-137-81,93,107,121...196,209,239...	2.741 2.759	Ko Kü
3 b	201-57,43,83,97,133,168-229,396	2.768	Ko
<b>Octacosan</b>		<b>2.800</b>	
	69-81,41,95,109,121,136...410 69-81,218,95,136,203-340 218-189,203,81,255-394,408	2.813 2.813 2.827	Kü Ko Ko

2 c	82-96,109,124...208,222,236,250...	2.837	Kü
2 d	82-96,67,55,236-166,180,208,222-404	2.839	Ko
V b	82-96,67,55,236-166,180,208,222-404	2.846	Ko
	81-137,95,67,55,41...280...	2.884	Kü
<b>Nonacosan</b>		<b>2.900</b>	
5 b	148-81,69,396-213,255,288-484	2.915	Ko
V b	69-41,93,121,136,151,165 ...	2.915	Ko
	81-137,95,67,55,41...280...	2.937	Kü
	173-160,55,229...	2.945	Kü
4 b	173-55,160,229-285,339,382,406	2.947	Ko
	267-121,159,149,133-444	2.983	Ko

### 3 Tabelle der Asteraceen-Inhaltsstoffe (nur die Extrakte von Schafgarbe und Kamille)

Verbindung	m/e	R <sub>1</sub> TS3	Pflanze
<b>Hexan</b>		<b>600</b>	
Propansäure	74,45,57,73	661	Ka, Sch
2-Ethylfuran	81,96-53	696	Sch
<b>Heptan</b>		<b>700</b>	
Isobuttersäure	43-73,55,88	728	Ka, Sch
Buttersäure	60-73	753	Ka, Sch
Methyl-2-methylbutanoat	57,88,41,101	773	Ka, Sch
Toluol	91-92	775	Ka, Sch
Octen ?	84,55,41-112	788	Sch
2-Butensäure	39,41,86-68,69	796	Ka
<b>Octan</b>		<b>800</b>	
Hexanal	44,41,56-67,82	800	Ka, Sch
3-Methylbuttersäure	60-87	814	Ka, Sch
2-Methylbuttersäure	74-57,41	825	Sch
Furfural	95-96	838	Sch
Ethyl-2-methylbutanoat	57,102,41-85,74,115	843	Ka
Furfurol	41,98,69,81	854	Ka, Sch
2E-Hexenal	55,41,69,83,98	856	Sch
Pentansäure	60-73	859	Ka, Sch
2-Methyl-2-butensäure (E?)	100-55-82,85	872	Ka, Sch
	43-55,56,-126	890	Sch
2-Heptanon	43,58,71,114	890	Ka, Sch
	96,81,68,42-142	893	Ka
<b>Nonan</b>		<b>900</b>	
Heptanal	41,43,44,70	902	Ka
2-Methyl-2-butensäure (Z?)	55,100-85,82	904	Sch
	43-72,84,82-100,127	907	Ka
Santolinatrien	93,79,121-136	907	Sch
Methional	48-104	912	Ka, Sch
2-Acetylfuran	95-110	919	Ka
4-Butanolid	42-86,56	920	Ka, Sch
Dimethylsulfon ?	79-94	922	Ka
Methylhexanoat	74,87-99,59	924	Ka
Ethyl-?-methyl-2-butenat	83-128-55-100	924	Ka
		928	Ka
Artemisiatrien	93,121-77,136	928	Sch
		929	Sch
$\alpha$ -Thujen	93-77,91,92	939	Ka, Sch
Propyl-2-methylbutanoat	57,103,85-74,116	947	Ka
$\alpha$ -Pinen	93,92,91	951	Ka, Sch
		960	Ka
Hexansäure	60-73	963	Ka, Sch
Camphen	93,121,79,107	970	Ka, Sch
		973	Ka
5-Methylfurfural	110,109,53	975	Ka
Benzaldehyd	105,106,77,51	976	Ka, Sch

1-Octen-3-ol	57-72	979	Sch
1-Octen-3-on	55-70	979	Sch
Phenol	94-66	980	Ka, Sch
Sabinen	93-136	987	Ka, Sch
6-Methyl-5-hepten-2-on	43,55,58,108,111,126	988	Ka
Myrcen	41,69,93	992	Sch
6-Methyl-5-hepten-2-ol	41,69,95-110,128	995	Ka
2-Pentylfuran	81-138	995	Ka
$\beta$ -Pinen	93-69,79,91,41-136	996	Sch
	43,59-142	997	Ka
Yomogi-Alkohol	43-59,81,97-139,154	999	Sch
<b>Decan</b>		<b>1.000</b>	
2,3-Dehydro-1,8-cineol	109-	1.003	Sch
Octanal	41,43,57,84	1.005	Ka
Trimethylbenzol	105-120	1.007	Sch
2-Formylpyrrol	95,94,66	1.015	Ka, Sch
	111,112-81	1.018	Ka
	91,119,77,134	1.018	Sch
	54,110,82	1.023	Sch
Methylheptanoat	74-87	1.024	Ka
	72,71-142	1.027	Ka
$\alpha$ -Terpinen	93-121	1.031	Ka, Sch
p-Cymol	119,91,134	1.038	Ka, Sch
Butyl-2-methylbutanoat	57,103,101,85-74	1.043	Ka
Limonen	68-93-136	1.044	Ka, Sch
Benzylalkohol	79,108,107,77	1.049	Ka
1,8-Cineol	43-71-93-111-154	1.053	Ka, Sch
"Lavender-Lacton"	111,43,55,67-71,98,126	1.054	Sch
E- $\beta$ -Ocimen	93-91,79,77,80	1.055	Ka
Phenylacetaldehyd	91-120,92	1.058	Ka, Sch
Artemisiaketon	83,55-152	1.066	Ka, Sch
2-Acetylpyrrol	94,109-66	1.071	Ka
$\gamma$ -Terpinen	93-91,121,136	1.074	Ka, Sch
3-Methylcyclohex-2-en-1-on	82-54,110	1.074	Ka
	99,43,71-142	1.079	Sch
Kresol	107-108	1.079	Ka, Sch
E-Sabinenhydrat	43,93,71,111	1.082	Ka, Sch
Linalooloxid 1, furanosid	59,94,93-68	1.086	Ka
Artemisiaalkohol	85-41-67,70-154	1.089	Ka, Sch
2-Nonanon	43,58,71-142	1.094	Ka
	115?	1.094	Ka
Linalooloxid 2, furanosid	59,94-68	1.098	Ka, Sch
3-Methylbutyl-2-methylbutanoat	57,70,85-103,74	1.099	Ka
<b>Undecan</b>		<b>1.100</b>	
Terpinolen	93,121,136	1.101	Sch
p-Cymenen	117-132	1.101	Sch
Guajacol	109,81,124	1.102	Ka, Sch
Linalool	93,71,80	1.104	Ka, Sch
Nonanal	57,41-70-98	1.107	Ka
2-Methylbutyl-2-methylbutanoat	85,70,57-103	1.107	Ka
Perillen	69,81-150	1.107	Sch
Methylbenzoat	105,77,136-51,	1.108	Ka
iso-Guajacol ?	109,81-124	1.111	Ka, Sch
Z-Sabinenhydrat	43,71-111	1.114	Ka, Sch

cis-Thujon	43-69,68-110	1.121	Ka
Methyloctanoat	81,110,68,69,67,95,109	1.124	Sch
Phenylethanol	74-87	1.125	Ka
trans-Thujon	91,92-122	1.129	Ka, Sch
	110,81,69,95,68,67	1.135	Sch
	55,98-83,111,126	1.138	Sch
	55,98-83,111,126	1.139	Ka
3,5,5-Trimethylcyclohex-2-en-1-on (Isophoron)	82-138	1.139	Ka, Sch
	107,91,108,79-150	1.143	Sch
	43-95,138-67,123	1.148	Ka
	68,109-81-152	1.152	Sch
Benzylcyanid ?	117,90,116	1.155	Ka
	91,134-119	1.156	Sch
4-Oxoisophoron	68,96-152	1.157	Ka, Sch
	94-109	1.161	Sch
cis-Verbenol	109-81,41,55,94-152	1.164	Sch
Octansäure	60-73	1.168	Ka
Campher	95-81-152	1.171	Ka, Sch
	85-	1.171	Ka
Benzoessäure	105,122,77	1.172	Ka
Menthon	112,41,69-154	1.173	Ka
Lavandulol	69,41-111-154	1.175	Ka, Sch
	81,109,96,95-152	1.177	Sch
	59,94,79	1.183	Sch
Isomenthon	112,69-154	1.184	Ka
Pinocarvon	108,81,53-150	1.185	Sch
Linalooloxid, pyranosid	68,59,94	1.186	Ka
Methylphenylacetat	91-150	1.188	Ka
Borneol	95-110	1.189	Ka, Sch
Terpinen-4-ol	71,111,93,86-154	1.197	Ka, Sch
p-Cymen-8-ol	43-135,150	1.198	Ka, Sch
<b>Dodecan</b>		<b>1.200</b>	
Methylacetophenon	119,91,134	1.201	Ka
Methylguajacol	123,138-95,67	1.207	Ka
α-Terpineol	59,93,81	1.207	Sch
Sheryllacton 1	86,85,45	1.212	Ka
Estragol (Methylchavicol)	148-147,117,121	1.212	Ka, Sch
Myrtenal	79,91,107-150	1.218	Sch
Myrtenol	79,91,108-152	1.218	Sch
	107,91,121,150	1.220	Ka
	96-138	1.223	Ka
Methylnonanoat	74-87	1.223	Ka
Piperitol	84-	1.224	Sch
	120-91	1.228	Ka
Sheryllacton 2	86,85,45	1.229	Ka
Fragranol	68,67-109	1.231	Sch
Verbenon	107,135,91,150	1.232	Sch
3Z-Hexenyl-2-methylbutanoat	82-67,57,41,85,103-184	1.239	Ka
	55,96,42,54-99,112	1.241	Ka
2?-Hexenyl-3-methylbutanoat	85,57,41-55,67,83,184	1.246	Ka
Chrysanthenylacetat	43-119,134	1.248	Sch
	83-55-99-166	1.250	Ka
Benzothiazol	135,108,69,91	1.255	Ka, Sch



Vanillin	151-152	1.421	Ka, Sch
	162-147-91,41-204?	1.423	Ka
	43,69,93-121,	1.424	Sch
	79,43,94-59	1.427	Sch
	119-91,41-192	1.435	Ka
Dimethylnaphthalin ein Methylbutanoat	156-141	1.436	Ka
	41,85,57-103,74	1.442	Ka
	161-204-189	1.442	Ka
	43-67,69-106	1.445	Sch
$\alpha$ ?-Jonon ?	43,121,93,136-192	1.448	Ka
	43-56,67,82	1.449	Ka
	161-120,91-204	1.449	Ka
$\beta$ -Caryophyllen	41-93,133,69	1.453	Ka, Sch
	91,123,77,43-150	1.460	Ka
	43,41-69-161-204	1.460	Sch
	69,41-98-166	1.464	Sch
E- $\beta$ -Farnesen	41,69,93-133,120-204	1.465	Ka, Sch
	43-135,107	1.470	Sch
Coumarin	146,118-90,89	1.474	Ka
Methylmaphthalinol	158,129,115,128	1.477	Ka
	59-43-110	1.480	Sch
4-Decanolid	85-128	1.484	Ka, Sch
	94-	1.484	Sch
	43-109-94,79	1.487	Ka
$\alpha$ -Humulen	93-80,147,121-204	1.490	Ka, Sch
$\gamma$ -Curcumen	119-93,121,41,105-204	1.495	Sch
Aromadendren	41-119,91,105-161,204	1.496	Ka
$\alpha$ -Curcumen	119,132-202	1.497	Ka, Sch
<b>Pentadecan</b>		<b>1.500</b>	
	161-119,91,189,204	1.501	Sch
	43-175,190	1.501	Ka
$\gamma$ -Muurolen	161-105,119,81-204	1.501	Ka
$\beta$ -Jonon	43,177-192	1.504	Ka, Sch
$\beta$ -Jonon-epoxid	123-	1.506	Ka
Phenylethyl-2-methylbutanoat	104,43,91	1.506	Ka
Germacren D	161-93-41,105,133,204	1.512	Ka, Sch
	137-180	1.519	Ka
$\beta$ -Selinen	41-93,105,204-79,67,55	1.523	Ka
Methyldodecanoat	74-87	1.526	Ka
	119,93,105-161,204	1.526	Sch
$\beta$ -Bisabolen	41,69,93-94-204	1.527	Ka, Sch
Bicyclogermacren	121-93,105,41,119,161,91,167, 204	1.528	Ka
Sesquicineol	43-139-204,69,95-222	1.535	Sch
	83,55-111-182	1.540	Ka
	157-142-171,186	1.540	Ka
$\gamma$ -Cadinen	161-204-105,133,119,91	1.545	Ka, Sch
$\delta$ -Cadinen	161-204,134,119	1.547	Ka, Sch
Calamenen	159-202	1.553	Ka, Sch
Sesquicineol-Isomeres	43-139-95,81	1.554	Sch
Sesquisabinenhydrat I	41,69-55,82,93-204	1.563	Sch
	59-79,91,109-202,220	1.568	Sch
Dodecansäure	60-73	1.569	Ka
	43,93,120 ?	1.570	Ka
Dihydroactinidiolid	111,43,137-180	1.571	Ka, Sch

E-Nerolidol	69-41,93,43-107-220?	1.575	Ka, Sch
	138-96-41,95,67,109-220	1.581	Sch
	41,43-69-79,109,138	1.582	Ka
Sesquiperillen (Dendrolasin)	69,81,41-123,136-175,203	1.586	Ka
	125-43	1.587	Sch
	127-	1.587	Sch
ar-Turmerol	119-	1.597	Sch
	127-99-172	1.598	Ka
Sesquisabinenhydrat II	41,69,82,93,119-222	1.600	Sch
<b>Hexadecan</b>		<b>1.600</b>	
	149-	1.610	Sch
Spathulenol	43-205,119,91,159-220	1.615	Ka, Sch
Caryophyllenoxid	43,41-79,93,109-220	1.627	Ka, Sch
Salvial-4(14)-en-1-on	123,81-41-220	1.635	Ka, Sch
Viridiflorol	43-109,69-161,204-222	1.635	Sch
	43-139	1.638	Sch
	121-43,164,93-222	1.643	Sch
	41,93-67,79-220	1.643	Ka
	134-121,43,41,93-236	1.652	Ka
Humulen-1,2-epoxid	43-109,67,138-96,220	1.652	Sch
	59,43-161,204-220	1.659	Sch
	119,121,161-43,164-222	1.670	Sch
epi- $\alpha$ -Cadinol	161,204-43,81,105	1.676	Ka
2(12),6(13)-Caryophylladien-5-ol	41,136-220	1.677	Sch
	132-119	1.679	Sch
Bisabololoxid B	43,143-105-161	1.686	Ka, Sch
$\beta$ -Eudesmol	59-149,164-222	1.693	Sch
	94-125,43-236	1.699	Ka
<b>Heptadecan</b>		<b>1.700</b>	
$\alpha$ -Bisabolol	43,69,109,119-204	1.708	Ka, Sch
	216-201-135,173	1.713	Sch
	43-99-194	1.713	Ka
	43-67,95,137	1.716	Sch
Bisabolonoxid A (furanosid)	93,94,43-141-236	1.718	Ka
	41,109,91-159,220	1.727	Sch
Methyltetradecanoat	74-87-242	1.727	Ka
	41,69-107,135-193,236	1.736	Sch
	132-117,158,176	1.747	Ka
Tetradecansäure	43,73,60-228	1.763	Ka, Sch
Herniarin (7-Methoxycoumarin)	176-133,148	1.770	Ka
Bisabolon	137,110,135,109-220	1.772	Sch
Chamazulen	184-169	1.779	Ka, Sch
Bisabololoxid A (pyranosid)	143-43.93,71,107,125	1.787	Ka, Sch
Dimethylvinylazulen	182-167	1.799	Ka, Sch
<b>Octadecan</b>		<b>1.800</b>	
	43-84,109,121-161,179,197,222	1.813	Sch
Methylpentadecanoat	74,87-256	1.828	Ka
	91,130-189,248	1.840	Ka
6,10,14-Trimethylpentadecan-2-on	43,58-71,110,250	1.849	Ka, Sch
	164-149-248	1.859	Ka, Sch
	41,43-55,123	1.871	Sch
	43,185,125	1.875	Ka
	200-128,129,158,115	1.882	Ka
	149-191,234,123,83	1.883	Ka, Sch

	43,101,143-151,193 109-41,55	1.885 1.899	Ka Sch
<b>Nonadecan</b>		<b>1.900</b>	
Nonadecan	57-43,71-324	1.900	Sch
cis-En-In-Dicycloether 200	200-115,76,170 57-137,163-180,264 43-143,125,71 ...	1.917 1.918 1.922	Ka Sch Ka
trans-En-In-Dicycloether 200	200-115,76,170	1.926	Ka
Methylhexadecanoat	74-87,43-270 41-125,151-236	1.929 1.937	Ka, Sch Sch
cis-En-In-Dicycloether 214	214-156,115,76	1.951	Ka
trans-En-In-Dicycloether 214	214-156,55,115	1.962	Ka
Hexadecansäure	73,44,60-256 149-	1.970 1.979	Ka, Sch Sch
<b>Eicosan</b>		<b>2.000</b>	
Methylheptadecanoat	74,87-284 43-143,125... 69,93,41 43-143,125...	2.030 2.039 2.040 2.043	Ka Ka Ka Ka
Methyloleat	55,41,74,96-264-296	2.093	Ka, Sch
<b>Heneicosan</b>		<b>2.100</b>	
Methylinoleat	43-143,125-196	2.101	Ka
Methylinolenolat	67,55,81-294	2.102	Ka, Sch
Methylinolenolat	79,41-292	2.110	Ka, Sch
4-Hexadecanolid	85-	2.122	Sch
Methyloctadecanoat	74-298	2.126	Ka, Sch
Octadecansäure	73,44,60-280 94,112,163-260	2.170 2.184	Ka Sch
Vulgarin	249-264-98,203,175	2.186	Sch
Linolsäure	55,67,81,41-280	2.193	Ka, Sch
Ölsäure	41-55,67,83,97,222,282	2.194	Sch
Linolensäure	67,79-278	2.197	Ka
<b>Docosan</b>		<b>2.200</b>	
Arglanin	247-98,262,229,201	2.218	Sch
Achillin I	246-173,145,91,217	2.222	Ka, Sch
„Dihydroachillin“	67,143,107,216,152-248.. 43-70,185,198,228	2.237 2.252	Sch Ka
Achillin II	246-91,173,217	2.265	Sch
„Dehydroachillin“	244-91,145,183 230-163,91,53-... 41-55,95,81,119-177-308	2.268 2.269 2.282	Ka Sch Sch
<b>Tricosan</b>		<b>2.300</b>	
Tricosan	57-43,71-324	2.300	Ka, Sch
Methyleicosanoat	74,87-326	2.326	Ka
Eisosansäure	73,44,60-308	2.369	Ka
<b>Tetracosan</b>		<b>2.400</b>	
Tetracosan	57-43,71-338	2.400	Ka, Sch
8- $\alpha$ -Hydroxyachillin	262-91,189,145,173,171,159,201,216 ...	2.421	Sch
Matricarin	304-244,43-91,159	2.441	Ka, Sch
<b>Pentacosan</b>		<b>2.500</b>	
Pentacosan	57-43,71-352	2.500	Ka, Sch
Methyldocosanoat	74,87-354	2.528	Ka
<b>Hexacosan</b>		<b>2.600</b>	
Hexacosan	57-43,71-366	2.600	Ka, Sch

Methyltricosanoat	57-43,71-366	2.627	Ka, Sch
Heptacosen	41-55,69-378	2.694	Ka, Sch
<b>Heptacosan</b>		<b>2.700</b>	
Heptacosan	57-43,71-380	2.700	Ka, Sch
Methyltetracosanoat	74,87-368	2.731	Ka, Sch
Nonacosen	41-55,69-406	2.894	Ka, Sch
<b>Nonacosan</b>		<b>2.900</b>	
Nonacosan	57-43,71-408	2.900	Ka, Sch
Methylhexacosanoat	74,87-396	2.930	Ka, Sch
Entriaconten	41-55,69-434	3.094	Ka, Sch
<b>Entriacontan</b>		<b>3.100</b>	
Entriacontan	57-43,71-436	3.100	Ka, Sch