

Schlussbericht

zum Verbundvorhaben

Thema:

Ressourceneffiziente Gewinnung pharmazeutischer Wirkstoffe aus Wasserdampf-Hydrolaten und Destillationsrückständen

Zuwendungsempfänger:

Teilvorhaben 1: Technische Universität Clausthal – Institut für Thermische Verfahrens- und Prozesstechnik

Teilvorhaben 2: Julius-Kühn-Institut Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen (JKI) – Institut für Ökologische Chemie, Pflanzenanalytik und Vorratsschutz

Förderkennzeichen:

Teilvorhaben 1: 22013713

Teilvorhaben 2: 22021517

Laufzeit:

01.11.2018 bis 31.10.2022

Monat der Erstellung: **11/2022**

Datum der Veröffentlichung: **31.01.2024**

Gefördert durch:



Bundesministerium
für Ernährung
und Landwirtschaft

aufgrund eines Beschlusses
des Deutschen Bundestages

Das diesem Bericht zugrundeliegende Vorhaben wurde aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages mit Mitteln des Bundesministeriums für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL) über die Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e.V. (FNR) als Projektträger des BMEL für das Förderprogramm Nachwachsende Rohstoffe unterstützt. Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt beim Autor.

SCHLUSSBERICHT

I. Ziele

1. Aufgabenstellung

Ziel des Vorhabens ist die wirtschaftliche und Ressourcen-effiziente Gewinnung pflanzlicher Wertkomponenten. Hierbei soll ein dreistufiges, kaskadenartiges Verfahrenskonzept erarbeitet werden. Zunächst werden die ätherischen, also die flüchtigen Komponenten mittels Wasserdampfdestillation gewonnen. Hierbei verbleiben jedoch sehr häufig gering wasserlösliche Komponenten wie z.B. Thymol und Carvacrol im sogenannten Hydrolat zurück, die dann in der Regel verworfen werden. Um auch diesen Anteil entsprechend nutzen zu können, soll eine Festphasenkartusche integriert werden, um die Wertkomponenten des Hydrolats auf funktionalisiertem Kieselgel zu binden. Nach Abschluss der Wasserdampfdestillation werden die nicht wasserlöslichen Komponenten des Pflanzenmaterials mittels konventioneller Solventextraktion bzw. mittels sogenannter „Grüner Extraktionsverfahren“, wie beispielsweise der Heißwasserextraktion (PHWE), extrahiert. Parallel dazu erfolgt die Elution der gebundenen Komponenten von der Festphasenkartusche mittels organischer Lösungsmittel, wie beispielsweise Ethanol. Durch eine Variation von Betriebsparametern soll außerdem der Einfluss auf die Qualität und die Quantität der erhaltenen Komponenten bewertet werden. Eine sich an den Prozess anschließende Aufreinigung der erhaltenen Extrakte bzw. ätherischen Öle gewährleistet die jeweils erforderliche Produktreinheit in Pharmaqualität. Dieser Prozess soll anhand ausgewählter Beispielsubstanzen und Pflanzen exemplarisch untersucht werden. Durch eine anschließende physiko-chemische Modellierung des Prozesses wird ein allgemein anwendbares Auslegungswerkzeug für eine integrierte Gewinnung von hochreinen Substanzen aus Pflanzen erarbeitet. Anhand von Skalierungsstudien im industriellen Umfeld wird diese bewertet.

Arbeits- und Zeitplan	11/2018 – 11/2019				11/2019 – 11/2020				11/2020– 11/2021			
	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
AP 1 „Labor“												
Drogenbeschaffung/Anbau	JKI ITVP	JKI ITVP	JKI ITVP									
Herstellung von äth. Ölen und Hydrolaten und analytische Charakterisierung	JKI	JKI	JKI	JKI								
Herstellung von Pflanzenextrakten und analytische Charakterisierung	ITVP	ITVP	ITVP	ITVP								
Prüfung von Kapazität, Elutionsmitteln und Säulen- Standzeiten für Hydrolate und Extrakte	JKI ITVP	JKI ITVP	JKI ITVP	JKI ITVP								
Meilenstein 1				x								
Entwicklung neuer Methoden zur Herstellung reiner Stoffe aus Hydrolaten und Reinstoffen aus Pflanzenextrakten			ITVP JKI	ITVP JKI	ITVP JKI	ITVP JKI	ITVP JKI	ITVP JKI				
Meilenstein 2								x				
AP 2 „Technikum“												
Prozessmodellierung und Simulation					ITVP	ITVP	ITVP	ITVP	ITVP	ITVP	ITVP	ITVP
Scale-up in Mini-Plant- Maßstab					ITVP JKI	ITVP JKI	ITVP JKI	ITVP JKI	ITVP JKI	ITVP JKI		
Wirtschaftliche Betrachtung							ITVP	ITVP	ITVP	ITVP	ITVP	ITVP
AP 3 „Technologietransfer“												
Scale-up in den Produktionsmaßstab								ITVP JKI	ITVP JKI	ITVP JKI	ITVP JKI	ITVP JKI
Abschließende wirtschaftliche Beurteilung										ITVP	ITVP	ITVP
Ausarbeitung eines Konzepts zur Qualitätssicherung (Quality-by-Design)	ITVP JKI	ITVP JKI	ITVP JKI	ITVP JKI	ITVP JKI	ITVP JKI	ITVP JKI	ITVP JKI	ITVP JKI	ITVP JKI	ITVP JKI	ITVP JKI
Zwischenbericht					ITVP JKI				ITVP JKI			
Veröffentlichung (Tagungen, Patente, Artikel)				ITVP JKI				ITVP JKI				ITVP JKI
Meilenstein 3												x
Abschlussbericht												ITVP JKI

Arbeitspaket 1 „Labor“ (AP 1)

Das Arbeitspaket Labor befasst sich zunächst mit der Bereitstellung des Pflanzenmaterials. Dazu wird parallel Material gekauft und gleichzeitig am JKI in Berlin kultiviert, um möglichst realitätsnahe Spannen an Wirkstoffgehalten untersuchen und deren Auswirkung auf den Gesamtprozess bewerten zu können. Nicht alle Drogen lassen sich aber ohne weiteres am JKI kultivieren bzw. handelt es sich um mehrjährige Pflanzen, deren Entwicklung die Dauer des Projektes übersteigt. Daher werden von bestimmten Kulturen Handelsproben zugekauft, die in Markt-üblicher Qualität untersucht werden sollen. Ausgehend vom Pflanzenmaterial werden systematisch Versuche mit den beiden Prozessen durchgeführt.

Bei der Wasserdampfdestillation wird zunächst eine Destillation nach dem Europäischen Arzneibuch durchgeführt, um das neu entwickelte Verfahren mit einem bereits etablierten Prozess vergleichen zu können. Bei der konventionellen Extraktion werden die Verfahren Mazeration, Perkolation aber auch die sogenannten Heißwasserextraktion (auch Pressurized Hot Water Extraction, PHWE oder Accelerated Solvent Extraction genannt) oder die ultraschallunterstützte Extraktion objektiv miteinander verglichen und hinsichtlich ihrer Wirtschaftlichkeit und der Qualität der Extrakte eingeordnet. Gleichzeitig soll nach geeigneten Adsorbentien für die Festphasenextraktion gesucht und der Belade- sowie der Entladezyklus hinsichtlich Lösungsmittelbedarf, Wiederfindung und Fraktionierung optimiert werden. Letzteres ermöglicht eine erste Aufreinigung der verschiedenen Substanzen und kann damit die nachgeschalteten Grundoperationen entlasten, da weniger Verunreinigungen mitprozessiert werden müssen. Der Prozess wird so insgesamt wirtschaftlicher und auch produktiver. Die experimentellen Arbeiten schließen eine umfassende analytische Charakterisierung mittels Gaschromatographie, Flüssigkeitschromatographie, mit ein, die von beiden Partnern für ihre jeweiligen Versuche durchgeführt werden. Darüber hinaus werden Proben ausgetauscht um eine einwandfreie Qualität der Ergebnisse gewährleisten zu können.

Arbeitspaket 2 „Technikum“ (AP 2)

Das Arbeitspaket „Technikum“ schließt sich an das AP 1 „Labor“ an und beinhaltet die Modellierung und Simulation der Laborversuche, sowie die experimentelle Validierung und Pilotierung im Miniplant-Maßstab. Entsprechendes Equipment ist in Form einer vollintegrierten Miniplant-Anlage am ITVP vorhanden. Damit können alle thermischen Grundoperationen verschalten werden und ein flüssig vorliegender Produktstrom von etwa 2 L/h ATEX- und GMP-konform prozessiert werden.

Die physiko-chemische Prozessmodellierung ist ein essentieller Bestandteil moderner Verfahrenstechnik. Sie bietet die Möglichkeit, Prozesse in-silico zu optimieren bzw. Machbarkeitsgrenzen auszuloten. Dadurch werden erhebliche Kosten bei Material, Versuchs- und Entwicklungszeit eingespart. Aus den erhaltenen Daten aus AP 1 werden bereits bestehende Prozessmodelle erweitert bzw. im Bedarfsfall neu aufgebaut. Besonders eine realitätsnahe Verschaltung der einzelnen Schritte Wasserdampfdestillation, Festphasenextraktion und anschließende lösungsmittelbasierte Extraktion erlaubt eine ganzheitliche Prozessbetrachtung und Optimierung.

Die Prozessmodelle werden anhand von Miniplant-Versuchen validiert und weiter verbessert. Zudem dienen die Miniplant-Versuche dazu, von Industriepartnern bereitgestelltes Pflanzenmaterial zu prozessieren, um Skalierungseffekte, wie beispielsweise Fouling, zu charakterisieren und gleichzeitig die Qualität und die Ausbeute im vergrößerten Maßstab zu untersuchen. Dies führt letztlich zu einer ersten Wirtschaftlichkeitsbetrachtung.

Arbeitspaket 3 „Technologietransfer“ (AP 3)

Die letzte Stufe des Entwicklungsprozesses beinhaltet den Technologietransfer hin zum Produktionsmaßstab. Durch diesen weiteren Skalierungsschritt werden Mustermengen für interessierte Industriepartner (LOIs MAWEA GmbH, Dr. Otto GmbH & Co. KG) bereitgestellt. Zudem kann die Güte der durch Laborexperimente erhaltenen Daten und der Modellierung hinsichtlich der korrekten Vorhersage des Betriebs einer Großanlage bewertet werden. Dies dient retrospektiv dazu, einzelne Aspekte der Versuchsplanung im Sinne einer schnellen und Ressourcen-effizienten Prozessauslegung zu ändern bzw. anders zu priorisieren. Zudem werden die entwickelten Methoden und Ergebnisse im AP 3 mittels Vorträgen auf Fachtagungen, Veröffentlichungen und Weiterbildungskursen einem breiten Fachpublikum zugänglich gemacht. Darüber hinaus beinhaltet dieses Arbeitspaket die Erarbeitung eines Konzepts zur Qualitätssicherung (Quality-by-Design). Dieses Konzept dient dazu, nicht wie bisher feste Betriebsparameter für die Produktion von Arzneistoffen zuzulassen, sondern ganze Kennfelder, sogenannte „Design Spaces“. Dadurch gewinnt die Produktion an Flexibilität und Robustheit, die dringend benötigt wird, da mit Naturstoffen und den damit einhergehenden natürlichen Schwankungen gearbeitet wird. Für eine moderne Prozessentwicklung ist dieser Schritt unumgänglich.

Die Erarbeitung des aufgezeigten Konzepts erfolgt an verschiedenen Pflanzenarten und Wirkstoffen parallel. Nur so kann gewährleistet werden, dass ein allgemeines Auslegungsschema entwickelt wird. Das Projekt endet mit dem dritten Meilenstein, der Anwendung aller Ergebnisse aus AP 1-3 auf erste reale Industrieproben. Alle Ergebnisse einschließlich der Wirtschaftlichkeitsbetrachtungen werden in einem Abschlussbericht zusammengefasst.

2. Stand der Technik

Die positiven Eigenschaften pflanzlicher Inhaltsstoffe werden seit Jahrhunderten von Menschen genutzt (Sigley 2015). Die Einsatzgebiete reichen dabei von Ernährung über Kosmetik und Pflegeprodukte bis zu medizinischen Anwendungen. Allein die Produktgruppe der ätherischen Öle erzeugt deutschlandweit einen Umsatz von 1800 Millionen Euro (vgl. Abbildung 1).

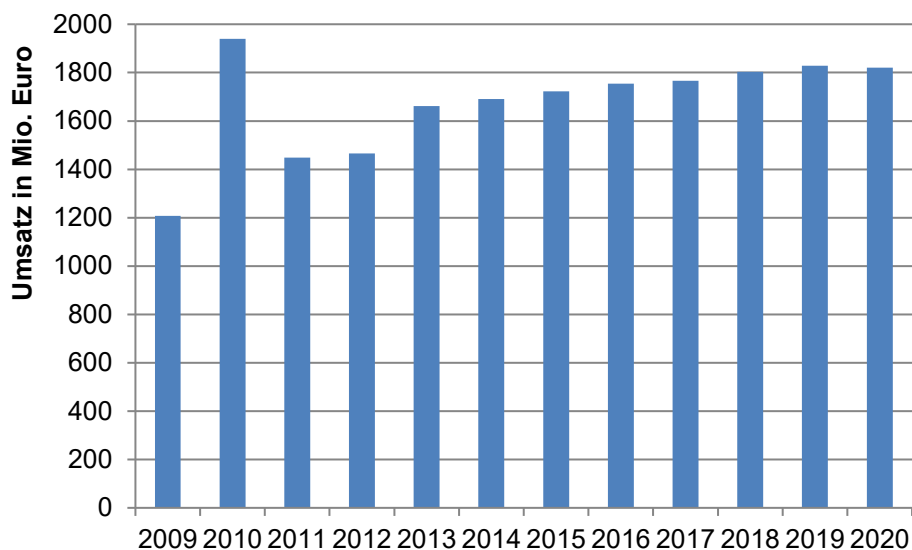


Abbildung 1: deutschlandweiter Umsatz im Handel mit ätherischen Ölen (Sigley 2015).

Der hohen Akzeptanz und der jahrhundertelangen Erfahrung im Umgang mit pflanzlichen Präparaten steht ein relativer Mangel an wissenschaftlich fundiertem Wissen gegenüber (Sigley 2015). Die regulatorischen Behörden arbeiten verstärkt daran, das gesamte Potential von Pflanzen für die Menschheit nutzbar zu machen und an medizinische Sicherheitsstandards anzupassen (Kroes 2014; He u. a. 2015).

Viele Produkte auf der Basis bekannter Pflanzenarten sind in den letzten Jahren diesbezüglich grundlegend charakterisiert worden (European Medicines Agency 2015, 2016).

Traditionell werden Pflanzen auf unterschiedliche Arten verarbeitet und angewendet, um ihre Inhaltsstoffe bestmöglich nutzbar zu machen. Verstärkt rückt dabei die Aufklärung der Wirkmechanismen in den Fokus der Forschung, die die jeweils aktiven Komponenten in Pflanzen identifiziert. Durch Isolation dieser Komponenten aus traditionell wenig genutzten Prozessströmen kann eine intensivere Nutzung des Pflanzenmaterials erreicht und zugleich Ressourcen-effizienter verarbeitet werden.

Ätherische Öle

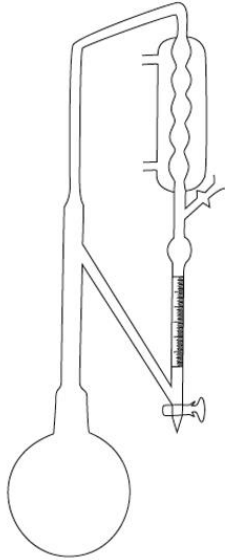
Eine Produktgruppe mit besonderer Bedeutung für die Aroma- und Kosmetikindustrie bilden die leicht flüchtigen Inhaltsstoffe, die sich insbesondere in ätherischen Ölen wiederfinden. Diese Pflanzeninhaltsstoffe werden auch heute noch in zahlreichen phytopharmazeutischen Präparaten eingesetzt oder als Geruch- bzw. Geschmacksstoffe in der Nahrungsmittelindustrie verwendet (Kaufmann 1950).

Entsprechend dem jeweiligen Herstellprozess unterscheidet man im wesentlichen vier Gruppen, die entsprechend der ISO 9235 bezeichnet werden:

Extrakt	Exsudat	Destillat	Enfleurage
<ul style="list-style-type: none"> • Concrète • Resinoid • Oleoresin • SF-Extrakt • Absolute 	<ul style="list-style-type: none"> • Oleoresin • Harz • Resin 	<ul style="list-style-type: none"> • Alkoholat • Hydrolat • Ätherisches Öl 	<ul style="list-style-type: none"> • Pomade

Nur mittels Hydrodestillation hergestellte Produkte dürfen im Sinn von ISO 9235 dabei strenggenommen als *ätherische Öle* bezeichnet werden.

Destillation



Die Destillation ist eine klassische, gut etablierte und verstandene Technik der thermischen Trennverfahren. Die Destillation wird zu Trennung von flüssigen Stoffgemischen durch Verdampfen und anschließende Kondensation des Gasstroms eingesetzt. Die Destillation ist für die Trennung von Komponenten mit unterschiedlichen Siedepunkten geeignet (Kind, Mersmann, und Stichmair 2005). Die Gewinnung von ätherischen Ölen erfolgt durch eine Trägerdampfdestillation, die auf dem Prinzip der Siedepunktserniedrigung nicht mischbarer Gemische basiert.

Übersteigt die Summe der partiellen Dampfdrücke der Mischung den Systemdruck, beginnt das Gemisch zu sieden. In der Folge gehen die Komponenten des Gemisches in den gasförmigen Zustand über und können abgezogen und kondensiert werden. Die Zusammensetzung des Kondensats entspricht dabei anschließend dem Verhältnis der Satttdampfdrücke der Gemischkomponenten (Sattler 2012).

Die Gewinnung von Wertstoffen aus Aromapflanzen wird technisch in Apparaten umgesetzt, die dem in Abbildung 2 gezeigten Aufbau entsprechen. Im Gegensatz zur klassischen Destillation wird bei der Gewinnung von ätherischem Öl zerkleinertes Pflanzenmaterial in der Destillationsapparatur vorgelegt, wie in Abbildung 3 dargestellt.

Abbildung 2: Clevenger-Apparatur [1].

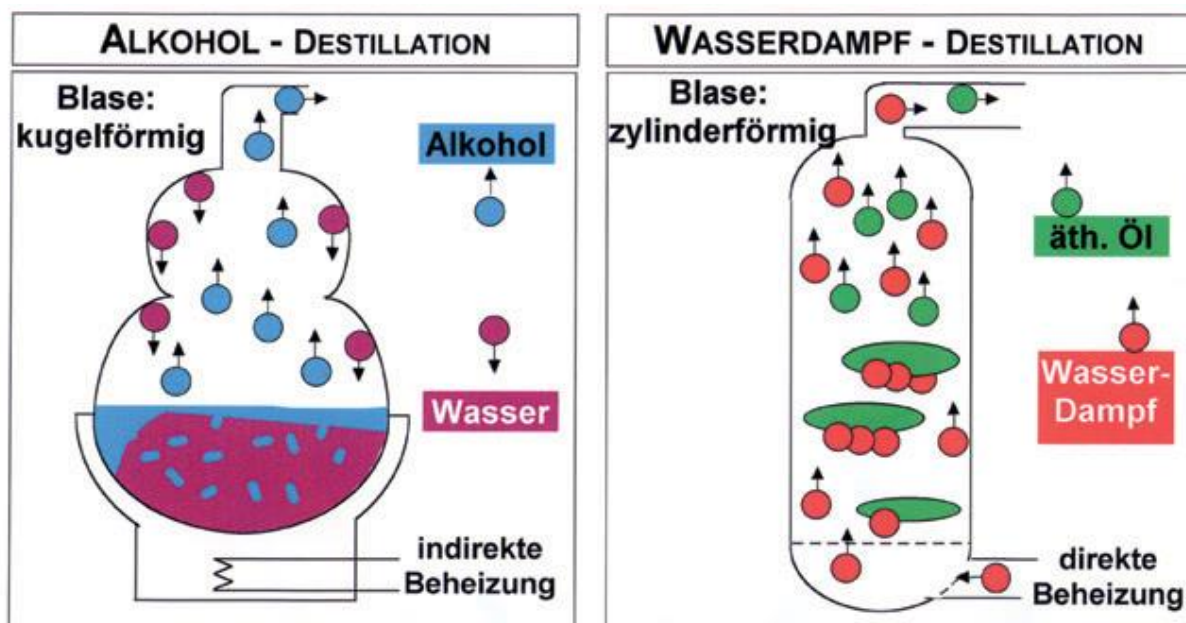


Abbildung 3: Vergleich der Destillationsverfahren (Bayrische Landesanstalt für Landwirtschaft 1992).

Im Zuge der Destillation werden die ätherischen Ölkomponenten aus dem Pflanzenmaterial ausgetrieben und anschließend in einem Abscheider vom Destillat getrennt.

Je nach Art der Wärmezufuhr wird zwischen drei Destillationstechniken zur Gewinnung von ätherischen Ölen unterschieden:

- Hydrodestillation,
- Wasser und Dampfdestillation,
- Dampfdestillation.

Die direkte Erwärmung des Pflanzenmaterials im entsprechenden Auszugsmittel wird als Hydrodestillation bezeichnet. Diese einfachste Technik der Gewinnung von ätherischen Ölen ist aufgrund des geringen technischen Aufwandes bereits früh entwickelt worden, weshalb es besonders in traditionellen, landwirtschaftlichen Infrastrukturen der Entwicklungsländer eingesetzt wird.

Da das Pflanzenmaterial während der Hydrodestillation in direktem Kontakt zur Wärmequelle steht, besteht die Gefahr des Verkohlens der Pflanzenteile und der Verunreinigung des ätherischen Öls mit thermischen Abbauprodukten der Zielkomponenten. Gleichzeitig ist eine gleichmäßige Wärmezufuhr schwer zu realisieren und der Destillationsvorgang dauert in der Regel deutlich länger als bei den Alternativen der Wasser- und Dampfdestillation.

Eine technische Weiterentwicklung der traditionellen Hydrodestillation ist die Wasser- und Dampfdestillation. Im Gegensatz zur Hydrodestillation wird dabei der Prozessdampf getrennt vom Pflanzenmaterial erzeugt. Bei der Wasser- und Dampfdestillation wird dabei das Pflanzenmaterial durch ein Gitter vom geheizten Lösungsmittel getrennt. Auf diese Weise ist es möglich, den thermischen Abbau des Pflanzenmaterials zu verhindern und gleichzeitig die Prozesszeit deutlich zu reduzieren. Eine weitere Möglichkeit der Prozessintensivierung ist die Technik der Kohobation. Durch das Zurückführen des Destillats und eine erneute Verdampfung kann eine so die Ausnutzung des Lösemittels verbessert werden (Bayrische Landesanstalt für Landwirtschaft 1992).

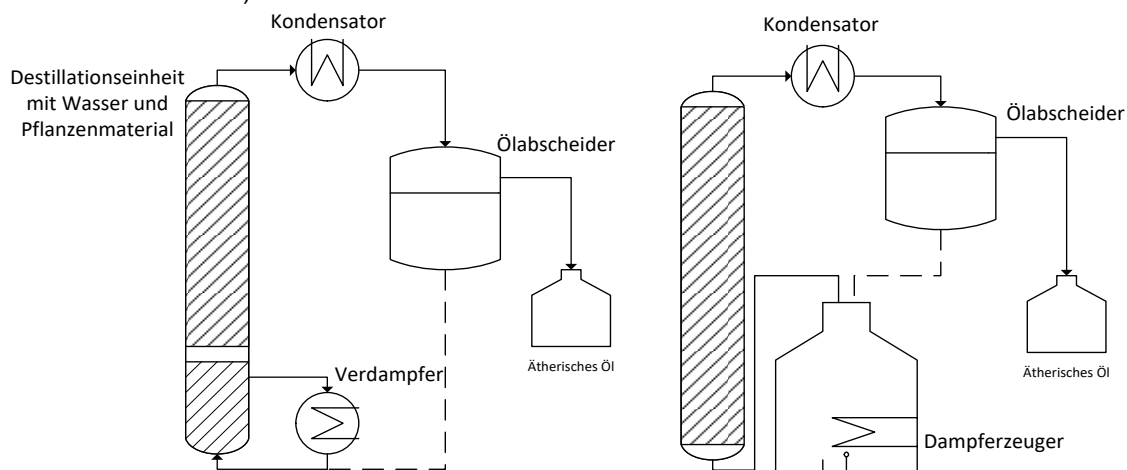


Abbildung 4: Prozessvergleich Wasserdampfdestillation, Kohobation und Dampfdestillation

Durch die räumliche Abkopplung der Dampfproduktion in einen modernen Dampferzeuger, der in der Lage ist, Dampf mit höherem Druck und Energiegehalt zu erzeugen, kann eine weitere Effizienzsteigerung des Gewinnungsprozesses erreicht werden. Dieses Verfahren der Wasserdampfdestillation erzeugt die höchste Produktqualität, ist allerdings im Vergleich zu anderen Destillationsprozessen mit höheren Investitionskosten verbunden (Ziegler 2007).

Hydrolat und Alkoholat

Abhängig vom verwendeten Lösungsmittel wird zwischen alkoholischer und wässriger Destillation unterschieden. Das entstehende Destillat wird entsprechend als Alkoholat oder Hydrolat bezeichnet. Je nach Herstellungstechnik und Zusammensetzung des jeweiligen ätherischen Öls enthält das Destillat einen signifikanten Anteil der wertgebenden Aromastoffe und weitere polare Komponenten (Ziegler 2007). Bis auf wenige Ausnahmen werden gegenwärtig Hydrolate nicht wertschöpfend genutzt (Ziegler 2007; Pangarkar 2008).

Adsorptionsverfahren

Unter die Adsorptionsverfahren fallen alle Techniken, die die reversible Bindung eines Adsorptivs an ein Adsorbens zur Reinigung eines Fluidstroms nutzen. Diese Verfahren finden häufig in der Reinigung von Abluft oder Abwasser Anwendung. Auch zur Gewinnung von Aromastoffen werden heute vermehrt adsorptive Verfahren in Prozessen eingesetzt (Brennecke u. a. 2010).

Adsorptive Verfahren werden durch das Adsorptionsgleichgewicht des Adsorbens und die Adsorptionskinetik beschrieben. Ein optimales Verfahren nutzt dabei insbesondere Material mit einer hohen spezifischen

Oberfläche, um eine hohe Beladung zu garantieren. Gleichzeitig ist eine schnelle Adsorptionskinetik vorteilhaft, eine gute Ausnutzung des eingesetzten Adsorbens zu ermöglichen. Diese Verfahren sind in der technischen Umsetzung gut etabliert und in der Fachliteratur umfassend beschrieben (ULLMANN'S ENCYCLOPEDIA OF INDUSTRIAL CHEMISTRY 2000).

Weiterhin sind Adsorptionsverfahren in Form der Festphasen-Mikroextraktion (SPME) heute ein fester Bestandteil in der Pflanzen- und Lebensmittelanalytik. Die Adsorption der Analyten aus dem Gasraum des Probengefäßes an ein Adsorbens und eine anschließende Desorption und chromatographische Analyse ermöglichen die Bestimmung der jeweiligen Probenzusammensetzung ohne Einsatz von Lösemitteln.

Aktueller Stand der Forschung

Aromastoffe und ätherische Öle haben nicht nur seit vielen Jahren die Wissenschaft interessiert, sondern haben auch eine hohe wirtschaftliche Bedeutung. Der Blick auf die Anzahl der jährlichen Veröffentlichungen in Abbildung 5 zeigt das große wissenschaftliche Interesse an ätherischen Ölen. Dabei richtet sich der Fokus der meisten Arbeiten auf die Charakterisierung von Inhaltsstoffprofilen einzelner Pflanzenarten sowie der Identifikation wirksamer Komponenten. Lediglich 137 der fast 40.000 Veröffentlichungen nehmen Bezug auf das Destillat als Rückstand des Herstellungsprozesses (Thomson Reuters 2017).

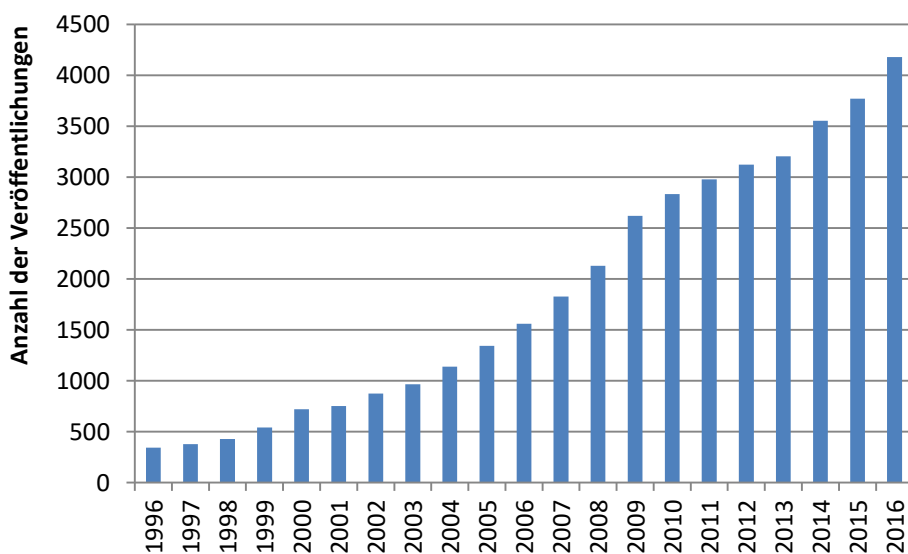


Abbildung 5: Veröffentlichungen unter dem Stichwort Essential Oil aus (Thomson Reuters 2017).

Die Entwicklung einer Möglichkeit zur Effizienzsteigerung durch Nutzung des Hydrolats knüpft dabei an Projekte auf dem Gebiet der Gewinnung ätherischer Öle an. Die Verbesserung des klassischen Herstellprozesses und eine umfangreichere Nutzung der Pflanzeninhaltsstoffe profitieren dabei besonders von hochwertigen und ertragreichen Pflanzen. Damit ist das hier vorgestellte Vorhaben eine Ergänzung zur Entwicklung ausgewählter Medizinal- und Aromapflanzen, die seitens der FNR beispielsweise im *Demonstrationsprojekt Arzneipflanzen (KAMEL)* gefördert wurden (Forschungsvereinigung der Arzneimittel-Hersteller e.V. 2012).

Weiterhin ist eine zusätzliche Aufwertung der erzeugten Produkte durch Methoden, die im Bereich des Projektes *Entwicklung eines innovativen Verfahrens zur Herstellung von Reinsubstanzen und Biofeinchemikalien aus Pflanzeninhaltsstoffen* entwickelt wurden, möglich (Stollberg und FNR 2011).

Patente

Die traditionellen Methoden der Destillation von ätherischen Ölen sind bereits lange Zeit bekannt, jedoch in den vergangenen Jahren wenig weiter erforscht worden. Die Recherche aktueller Patente auf dem Gebiet der Hydro-, Wasser- und Dampfdestillation (IPC-Klasse B01D3/38) in den Datenbanken der WIPO, EPO und DPMA hat 18 Patente ergeben (McClelland 1996; Kokoška u. a. 2016) Die Innovation dieser Patente liegt dabei vor allem im Bereich einer verbesserten technischen Fertigung und Mobilität der betreffenden Anlagen. Keines dieser Patente nimmt Bezug auf einen Destillationsprozess, der eine Nutzung der Hydrolat-Komponenten vorsieht. Eine Recherche der Patente im Bereich der adsorptiven Verfahren zur Reinigung von Fluidströmen hat keine Schutzrechte im Bezug zu ätherischen Ölen gezeigt.

II. Ergebnisse

1. Erzielte Ergebnisse

Das Ziel des Verbundvorhabens besteht in der „Ressourceneffizienten Gewinnung pharmazeutischer Wirkstoffe aus Wasserdampf-Hydrolaten und Destillationsrückständen“.

Teilvorhaben 1: Gewinnung aus festen Destillations- und Extraktionsrückständen (Pflanzenmaterial, Trägermaterialien)

Das Teilvorhaben am ITVP Clausthal-Zellerfeld ist die Entwicklung von Extraktionsprozessen und Prozessmodellen für die effiziente Gewinnung von Wertstoffen aus Pflanzenmaterial, das durch Dampfdestillation verarbeitet wird.

Die für das Projekt benötigten **Ausgangsmaterialien Kümmel und Lavendel** konnten planmäßig aus dem Handel beschafft werden. Zusätzliche Materialproben (**Fenchel, Kamille und Thymian**) werden von Projektpartnern bereitgestellt.

Die Analyse der Zielkomponenten der untersuchten Extrakte erfolgt hauptsächlich mithilfe der Gaschromatographie. Die Analytik ermöglicht die Quantifizierung der Zielstoffe mithilfe von Kalibriergeraden.

Die **PHWE** soll im Rahmen des Projektes zur Aufreinigung von Inhaltsstoffen im Pilotmaßstab genutzt werden. Mit diesem Ziel wurde die bestehende Miniplant-Anlage erweitert und modifiziert, um Druck und Temperatur für die Extraktion von bis zu 1 Liter Pflanzenmaterial zu ermöglichen. Das Anlagenschema ist im Folgenden dargestellt. Die Arbeiten dienen zur Vorbereitung des Arbeitspaketes II AP 6. Die Anlage zur Extraktion ermöglicht die Kontrolle des Druckes und Einstellung von Temperatur und Volumenstrom des Extraktionsmediums. Das Extraktionsmittel kann mithilfe einer Temperier-Einheit auf Betriebstemperatur eingestellt werden. Das Extrakt wird unmittelbar nach der Säule durch einen Kryostat gekühlt. Die Anlage kann zentral über eine Anlagensteuerungseinheit gesteuert werden.

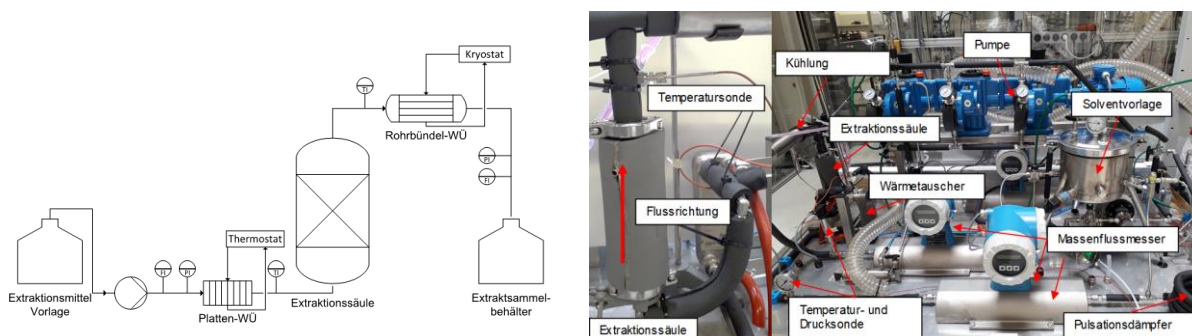


Abbildung 6: Aufbau des zur PHWE am ITVP, inklusive Beschriftung der funktionellen Einheiten.

Die Anwendung der Heißwasserextraktion auf die Gewinnung von Komponenten des ätherischen Öls aus Gewürzpflanzen, am Beispiel des Kümmels ist in der folgenden Tabelle gezeigt. Dabei wurden Kümmelsamen extrahiert und die Ausbeute der Ölkompnenten durch Gaschromatographie mithilfe eines FID (Flammenionisationsdetektor) analysiert. Die Messunsicherheit, die durch Doppelbestimmung der Extraktion ermittelt wird, ist kleiner als 5 %. Die wässrige Extraktion unter Druck und Temperatur ermöglicht dabei die Extraktion von Komponenten, die unter normalen Bedingungen nicht wasserlöslich sind. Diese Technik ermöglicht damit den Verzicht auf organische Lösungsmittel.

Tabelle 1: Übersicht über die Ausbeute der PHWE abhängig von der Temperatur des Extraktionsmediums.

Temperatur [°C]	Masse Carvon [mg]	Masse Limonen [mg]	Limonen/ Carvon - Verhältnis [%]	Trockenmasse [mg]	Ausbeute Carvon [mg/g]	Ausbeute Limonen [mg/g]	Reinheit Carvon [%]	Reinheit Limonen [%]
100	24.31	0	0.00	1020	23.8	0.00	93.11	0.00
140	31.31	9.88	31.56	1020	30.7	9.70	72.16	22.77
180	49.30	11.79	23.91	1020	48.3	11.6	66.46	15.89

Tabelle 1 zeigt, dass mit zunehmender Temperatur die Ausbeute der betrachteten Komponenten steigt. So wird bei einer Temperatur von 100 °C etwa 24 mg Carvon und kein Limonen extrahiert, während bei 180 °C

49 mg Carvon und 11 mg Limonen im Extrakt gefunden werden kann. Der Anteil des Limonens, als unpolare Komponente steigt dabei von 0 % auf etwa 15 % im Gesamtextrakt. Die PHWE erlaubt somit, durch Einstellung der Temperatur, die Beeinflussung der Selektivität des Extraktionsvorganges.

Die PHWE zeigt also großes Potential für die zweite Extraktion des Tresters im Sinne der Kaskadennutzung.

Die Auswahl der **Adsorbentien** erfolgt auf Basis von Literaturdaten zur Anwendung und den Eigenschaften der Zielstoffe. Die untersuchten Referenzsysteme beinhalten unpolare Inhaltsstoffe, die den Einsatz von unpolaren Adsorbentien begünstigen. Aus diesem Grund werden RP-18 Chromatographie-Adsorbentien eingesetzt und mit XAD-4 als polymerbasiertes Adsorptionsmedium verglichen.

Die Trennsäulen müssen, vor dem Einsatz im Prozess, fachgerecht gepackt werden. Anschließend werden die Säulenparameter in Tracerversuchen ermittelt und ausgewertet. Das Ziel ist dabei, eine Asymmetrie nahe dem Wert von 1 zu erreichen.

Verschiedene Elutionsmittel müssen auf ihre Eignung zur Rückgewinnung der Komponenten untersucht werden. Dabei haben sich besonders Wasser/Ethanol Mischungen, aufgrund des unbedenklichen Einsatzes und der guten Elutionsleistung als aussichtsreiche Option bestätigt.

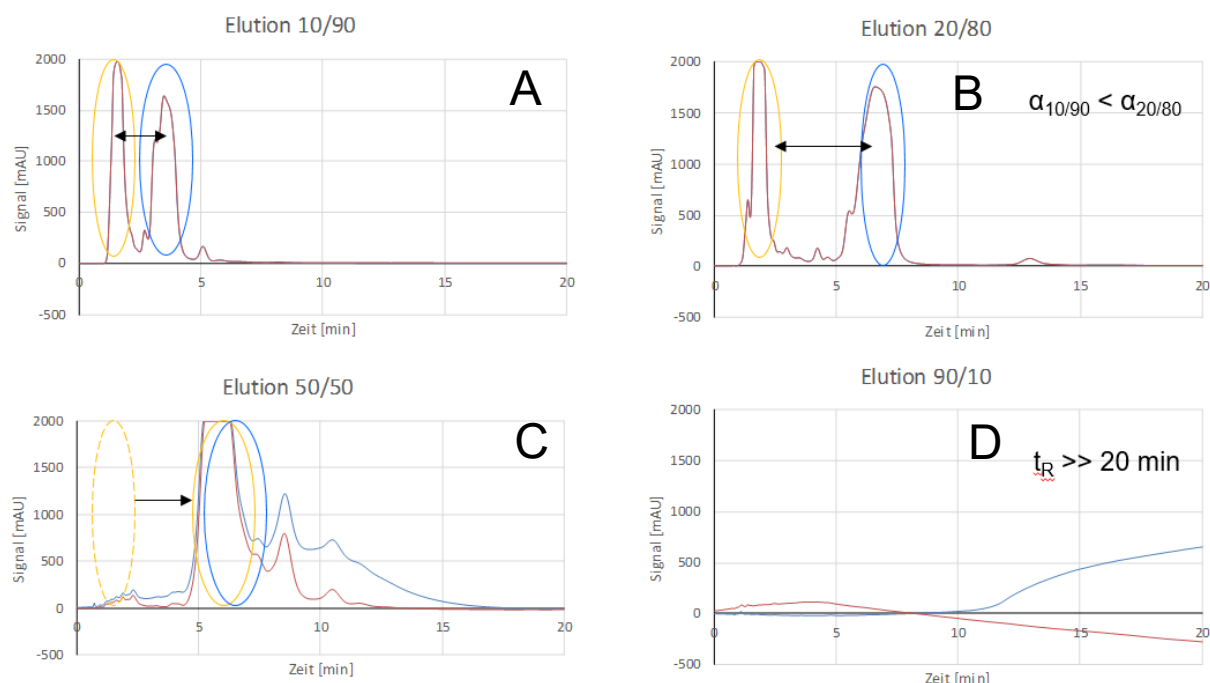


Abbildung 7: Wasser/Ethanol (A 10 % Wasser/ 90 %Ethanol; B 20 % Wasser/ 80 %Ethanol, C 50 % Wasser/ 50 %Ethanol, B 90 % Wasser/ 10 %Ethanol) für die Elution von Fraktionen des Kümmelöls.

Abbildung 7 zeigt dabei exemplarisch den Verlauf einer Auftrennung der Inhaltsstoffe des ätherischen Öles bei einem Elutionsmittel zwischen 90 vol.% Ethanol (A) und 10 vol.% Ethanol (D). Als Adsorbens wird Pharmprep RP18 mit einer Partikelgröße von 20µm in einer Götec-Säule gepackt. Die Charakterisierung des Trennverhaltens erfolgt bei Raumtemperatur und einer Beladung von 10 µL Kümmelöl. Die Detektion der Trennung erfolgt mithilfe eines DAD-Detektors bei einer Wellenlänge von 200 nm.

Es zeigt sich, dass die Inhaltsstoffe basierend auf der Polarität der Inhaltsstoffe aufgetrennt werden können. Dabei bildet sich eine Fraktion an polaren Komponenten, die bereits nach einer kurzen Zeit detektiert werden kann. Das Signal der Komponenten im Diodenarray-Detektor ist in Abbildung 7 orange gekennzeichnet. Die Fraktion der unpolaren Komponenten eluiert, bei einem Wasseranteil von 20 % (B), nach ca. 6 Minuten.

Im untersuchten Zeitraum (D) von 20 Minuten konnten die betrachteten Komponenten nicht von der Säule eluiert werden. Ein hoher Anteil Ethanol zwischen 80 vol.% und 90 vol.% ermöglicht die Trennung der Fraktionen. Wie in (C) dargestellt, eluieren beide Fraktionen, bei einer Mischung aus gleichen Anteilen an Ethanol und Wasser, zu dem gleichen Zeitpunkt. Durch eine Optimierung der Trennung hin zu einem höheren Ethanolanteil, lassen sich die Inhaltsstoffe besser separieren (B). Es ergeben sich eine polare, Carvon reiche Fraktion, hier orange markiert und eine unpolare, Limonen reiche Fraktion, hier in blau markiert.

Die chromatographischen Adsorbenzien ermöglichen dabei die Gewinnung verschiedener Fraktionen, auf Basis von unterschiedlicher Polarität der Inhaltstoffe. Diese Methode lässt sich prinzipiell auch auf andere Pflanzensysteme übertragen und konnte auf Lavendelöl angewendet werden. Die Komplexität der Trennaufgabe steigt dabei allerdings mit Zunahme der relevanten Wertstoffe an.

Die Beladungskapazität der Säulen wird durch die Auswertung der Durchbruchkurven ermittelt. Die Durchbruchskurve für die Beladung von Kümmelöl ist in der folgenden Abbildung dargestellt. Eine Feedmischung, die die Zielkomponenten enthält, wird dabei auf eine Trennsäule geladen und das Beladungsverhalten untersucht. Mit dem Erreichen der Kapazität der stationären Phase kommt es zum Durchbruch der Zielkomponenten, der in der nachfolgenden Abbildung 8 gezeigt ist.

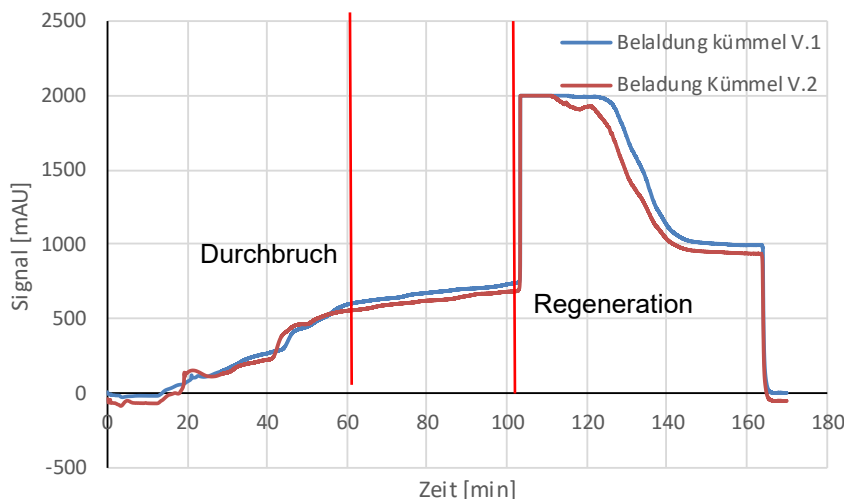


Abbildung 8: Durchbruchskurve für Kümmelöl auf RP-18 Adsorbens mit angeschlossener Regeneration in Ethanol.

Die Beladung, wie in Tabelle 2 dargestellt, ist dabei für das betrachtete Adsorbens im Betriebszustand etwa 70 % der maximalen dynamischen Beladung für Kümmel und 94 % für Lavendelöl. Dabei wurde für die maximale dynamische Beladung angenommen, dass der Durchbruch am Ende des Beladungszeitraums (nach 90 min) erfolgt und somit die maximal mögliche Menge an Zielkomponenten auf der Festphase gebunden wird, siehe Abbildung 8.

Tabelle 2 Charakterisierung der Kapazität und Beladungsverhalten bei mehrfacher Beladung

Probe	Konzentration C_{Feed} [mg/mL]	Durchbruch t_R [min]	Beladung q [mg/mL]	Verminderung der Beladung q_{verlust} [%]
Maximal	10	90	437.61	
Kümmel V.1	10	ca. 63	306.33	
Kümmel V.2	10	ca. 58	282.02	8
Lavendel V.1	10	ca. 85	413.30	
Lavendel V.2	10	ca. 68	330.64	20

Bei mehrfacher Beladung zeigt sich, dass die nutzbare Arbeitsbeladbarkeit der stationären Phase bis zu 20 % verringert wird. Die Regeneration der Trennsäule erfolgte zwischen den Beladungen jeweils mit einer bestimmten Menge reinem Ethanol, da es sich hierbei um ein prozesstechnisch unbedenkliches Lösemittel handelt. Wie bereits gezeigt, führt dies allerdings zu einer nicht vollständigen Regeneration der Säule, sodass im weiteren Verlauf in Intervallen der Regenerationsschritt verstärkt werden muss.

Das Stoffsystem Lavendel besitzt mehr Zielkomponenten (5) als Kümmel (2). Daher werden zur Vereinfachung drei Fraktionen für die Zielkomponenten des Lavendels definiert. Zudem werden nur die Mischungsverhältnisse zwischen 10/90 und 30/70 betrachtet, da sich bei höherem Wasseranteil die Fraktionen überschneiden.

Tabelle 3 Elutionsmittelscreening von Wasser/Ethanol (v/v) für Lavendel auf LiChrospher.

Zusammensetzung Wasser/Ethanol	$t_{R,1}$ (min)	$t_{R,2}$ (min)	$t_{R,3}$ (min)	k'_{1}	k'_{2}	k'_{3}
10/90	1,48	3,09	5,09	1,03	3,26	3,15
20/80	1,98	5,67	12,94	1,74	6,87	16,98
30/70	2,02	11,93	16,24	1,81	15,57	21,55

Tabelle 4 Trennfaktoren für Elutionsmittelscreening von Wasser/Ethanol (v/v) für Lavendel auf LiChrospher.

Zusammensetzung Wasser/Ethanol	α_{21}	α_{32}	α_{31}	α_{ges}
10/90	3,15	1,84	5,82	3,61
20/80	3,94	2,47	9,73	5,38
30/70	8,60	1,38	11,91	7,30

Der höchste Gesamttrennfaktor liegt bei dem Verhältnis 30 vol.% Wasser zu 70 vol.% Ethanol vor. Allerdings geht dies einher mit deutlich verlängerten Retentionszeiten der zweiten und dritten Fraktion und einem sehr geringen Trennfaktor zwischen diesen Fraktionen. Bei dem Mischungsverhältnis 20 vol.% Wasser zu 80 vol.% Ethanol hingegen sind die Retentionszeiten kleiner und der Trennfaktor ist ebenfalls größer. Es ergibt sich ein immer noch ausreichend großer Gesamttrennfaktor. Daher wird auch bei diesem Stoffsystem das Mischungsverhältnis 20 vol.% Wasser zu 80 vol.% Ethanol gewählt. Auch in diesem Fall, sind in Abbildung 9 beispielhaft die Chromatogramme der unterschiedlichen Mischungsverhältnisse gezeigt.

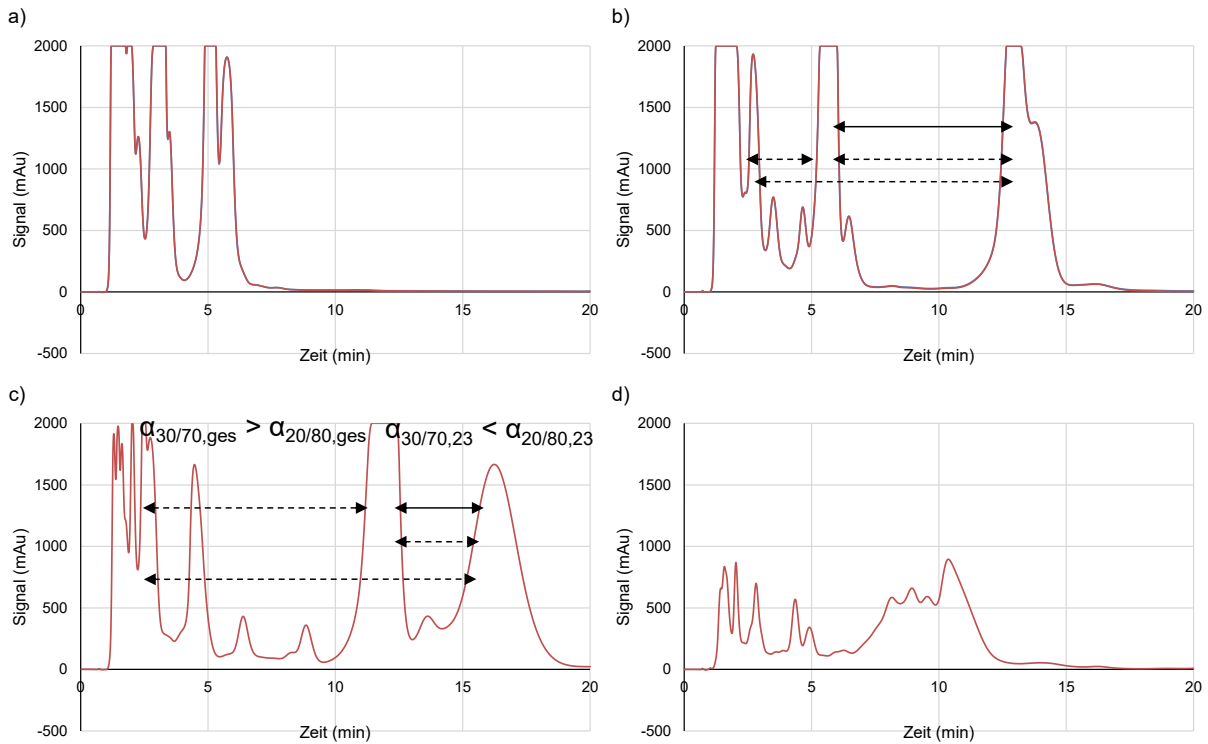


Abbildung 9: Chromatogramme für Elutionsmittelscreening von Wasser/Ethanol (v/v) a) (10/90), b) (20/80), c) (30/70), d) (50/50) für Lavendel auf LiChrospher.

Hier wird nochmal deutlich, dass das Verhältnis von 20 vol.% Wasser zu 80 vol.% Ethanol aufgrund des höheren Trennfaktors zwischen Fraktion 2 und 3 (2,47 gegen 1,84 und 1,38) am besten geeignet ist. Weiterhin lässt sich erkennen, dass bei einem hohen Wasseranteil von 30 % sich die Fraktionen überlagern und unscharf werden.

Für die Abtrennung der Wertkomponenten aus den Hydrolaten stehen wie oben erläutert jeweils unterschiedlichen RP- und hydrophobe-Träger Adsorbentien zur Verfügung. Eine Übersicht über die Untersuchten Adsorbentien, sowie die wichtigsten Kenngrößen aller verwendeten Materialien sind in Tabelle 5 aufgeführt.

Tabelle 5 Kenngrößen verwendeter Adsorptionsmedien.

	PharmPrep P100 RP18e	LiChrospher 100 RP18	LiChroprep® RP- 18	Amberlite XAD- 4
Adsorbens	Silica mit Octadecyl derivat endcapped	Silica mit Octadecylderivat	Silica mit Octadecylderivat	Styrol- divinylbenzol
Partikelform	sphärisch	sphärisch	irregulär	irregulär
Partikelgröße (µm)	10	5	18-25	490-690
Porengröße (nm)	10	10	10	10
Porenvolumen (ml/g)	0,8	1,25	0,95-1,03	0,98
Spez. Oberfläche (m ² /g)	370	350	330-380	750

Die verschiedenen Adsorbentien werden nach der Beladung mit dem Hydrolat jeweils über 30, bzw. 120 Minuten für die Elution der Komponenten mit Ethanol überströmt. Für das sog. TRAP-Material Amberlite XAD-4 reicht eine 120-minütige Elutionsphase mit Ethanol aus, um Ausbeuten nahe der 100 % zu erreichen.

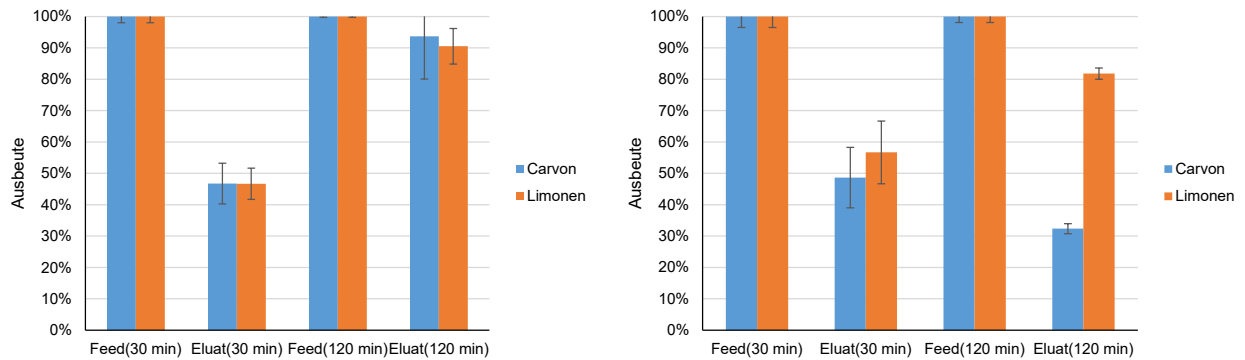


Abbildung 10: Elution mit Ethanol auf Amberlite XAD-4 (links) und LiChroprep (rechts).

Im Anschluss wurde die Trennung der Komponenten Limonen und Carvon auf dem Chromatographie-Material LiChroprep untersucht. Hier lässt sich erkennen, dass die polarere Komponente Carvon erwartungsgemäß als erstes bei geringeren Ethanolanteilen im Elutionsmittel eluiert und die apolarere Komponente Limonen erst bei höheren Ethanolanteilen eluiert werden kann.

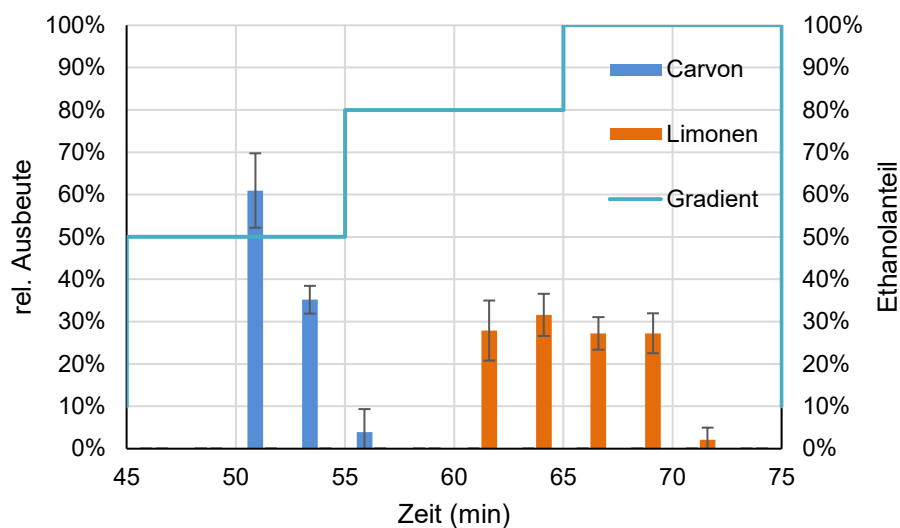


Abbildung 11: Fraktionierte Trennung der Komponenten Limonen und Carvon auf LiChroprep.

Sog. Traps stellen also eine geeignete Grundoperation dar, um Wertstoffe selektiv zu binden und damit zu stabilisieren, zu lagern, zu transportieren und für ggfs. zentrale weitere Prozessschritte bereitzustellen.

Parallel zu der Entwicklung adsorptionsbasierter Trennverfahren wurde als Alternative zu Traps die Eignung eines **Membrankontaktors** zur Rückgewinnung der Ätherisch Öl Komponenten aus den Hydrolaten untersucht. sind zwei unterschiedliche Lösungsmittel untersucht worden, Ethanol und Butylacetat. Für Ethanol ist zu erkennen, dass Phasenverhältnisse mit größeren Hydrolatanteilen dazu führen, dass größere Anteile beider ätherisch Öl Komponenten des Kümmels in die organische Gegenphase übertreten.

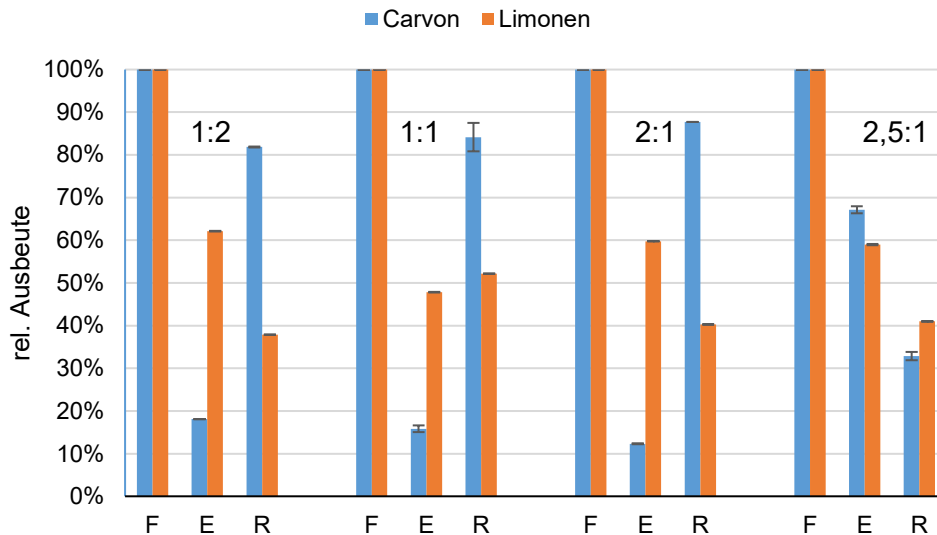


Abbildung 12: Ausbeuten für verschiedene Phasenverhältnisse Hydrolat zu Ethanol in den Phasen Feed (F), Extrakt (E) und Raffinat (R).

Wird Butylacetat als organische Gegenphase verwendet, führt ein gegenteiliges Phasenverhältnis zu besseren Ergebnissen. Für Butylacetat würde entsprechend ein größeres Volumen des organischen Lösungsmittels benötigt werden.

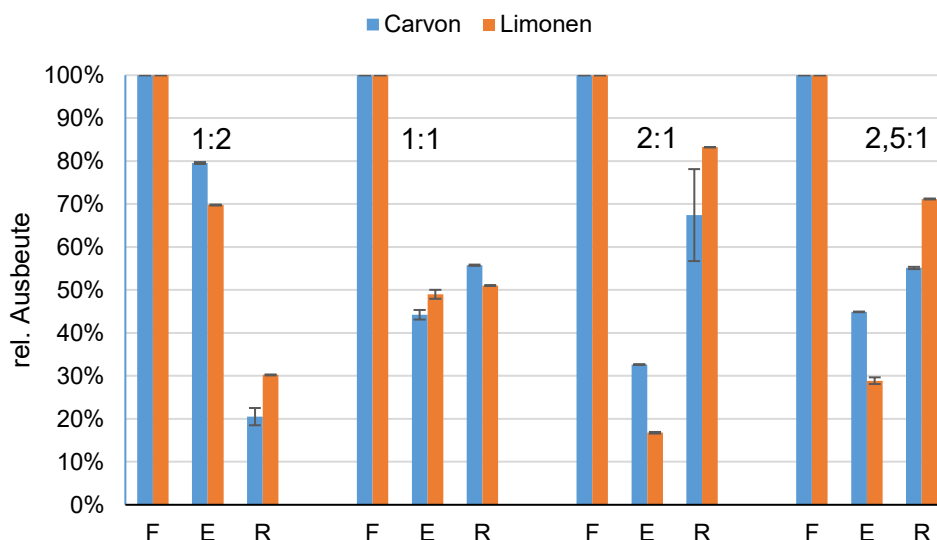


Abbildung 13: Ausbeuten für verschiedene Phasenverhältnisse Hydrolat zu Butylacetat in den Phasen Feed (F), Extrakt (E) und Raffinat (R).

Somit sind für diese Applikationen Membrankontaktoren den sog. Traps grundsätzlich unterlegen.

Die Herstellung von ätherischen Ölen wird industriell durch Dampfdestillation realisiert. Erste Modellierungsansätze zur Wasser- und Dampfdestillation lassen sich Ende des 20. Jahrhunderts finden. Die Übersicht zeigt, dass die meisten Modelle für das ätherische Öl eine Pseudokomponente verwenden. Lediglich im Modell von Sartor et al. (2011) und Cerpa, Mato, und José Cocero (2008) werden die Einzelkomponenten des ätherischen Öls betrachtet. Zudem ist erkennbar, dass in den meisten Modellen der Übergang in die Gasphase und der Abtransport des ätherischen Öls vernachlässigt werden. Lediglich in den Modellen von Denny (1979), Cerpa, Mato, und José Cocero (2008) und Sartor et al. (2011) wird die Gasphase mitbetrachtet. Das entwickelte physikochemische Modell soll als Kernteil den Stofftransport der Dampfdestillation darstellen. Dabei sollen im Gegensatz zu den vorgestellten Arbeiten beide Extraktionswege und der Abtransport in die Gasphase abgedeckt werden

Die Erstellung eines Prozessmodells, wie es im Arbeitspaket II AP 5 *Prozessmodellierung und Simulation* vorgesehen ist, benötigt ein Modellkonzept und experimentelle Modellparameter. Dabei muss auf eine korrekte Skalierung des Herstellungsprozesses in den Labormaßstab geachtet werden. Die Destillation erfolgt in der industriellen Umsetzung als Dampfdestillation, dabei wird das Pflanzenmaterial mit dampfförmigem Wasser in Kontakt gebracht, wie schematisch in Abbildung 14 dargestellt, und so erhitzt und die ätherischen Komponenten freigesetzt. Eine Ableitung von Prozessparametern aus Laborversuchen ist nur möglich, wenn diese ebenfalls für eine Dampfdestillation ermittelt werden. Aus diesem Grund können Prozessparameter nicht aus dem im Arzneibuch beschriebenen Verfahren für die Gewinnung von ätherischen Ölen bestimmt werden, da es sich bei diesem Verfahren um eine Wasserdestillation in einer Clevenger-Apparatur handelt.

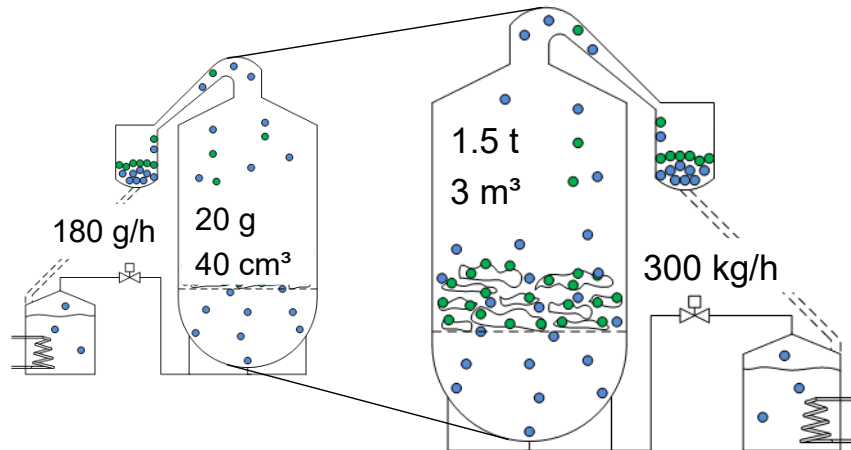


Abbildung 14: Skalierung des Dampfdestillationsprozesses der AG Schackstedt in den Labormaßstab

Als Referenzprozess wird die Dampfdestillationsanlage der AG Schackstedt herangezogen, um die Anwendbarkeit des Modells und die Verwertungsmöglichkeit im Rahmen des Projektes zu garantieren.

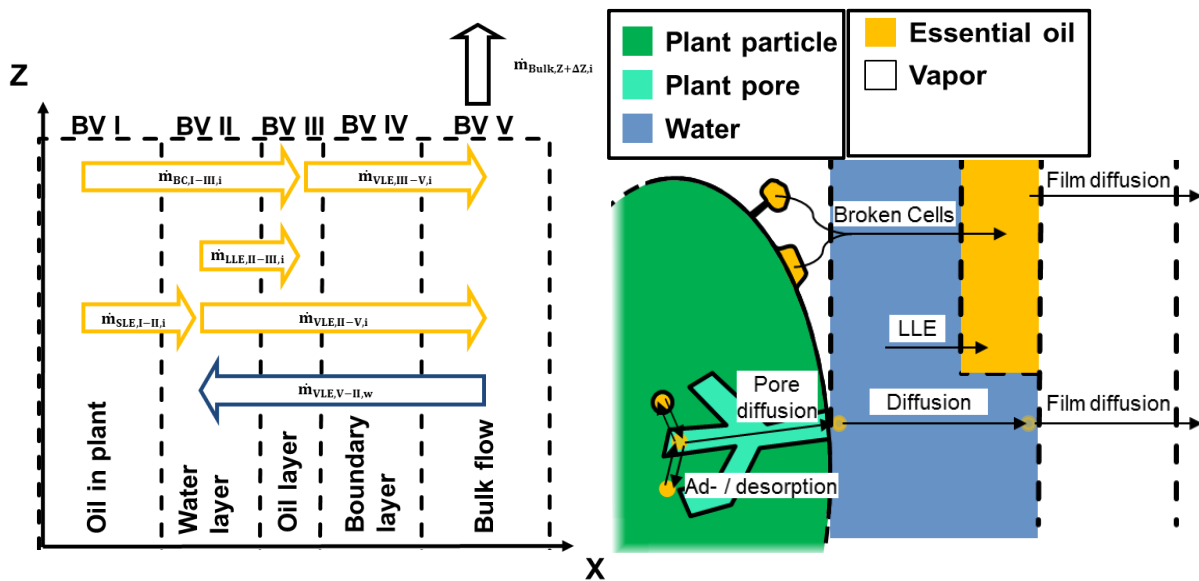


Abbildung 15: Bilanzräume der Dampfdestillation

Das Modellkonzept ermöglicht die Identifikation der relevanten Stofftransportprozesse und Bilanzräume. Für die Beschreibung der Dampfdestillation als Prozess müssen verschiedene Bilanzräume berücksichtigt werden.

Das ätherische Öl kann auf verschiedene Weise am Pflanzenpartikel vorliegen. Das Modell soll die Abbildung von verschiedenen Ausgangsmaterialien ermöglichen. Das ätherische Öl kann sowohl innerhalb des Partikels als auch in Pflanzenhärcchen, sogenannten Trichomen, auftreten, was in Bilanzvolumen I (BVI) beschrieben ist. Das Öl muss vor dem Verdampfen aus den Speicherzellen freigesetzt werden und durch die Poren der Pflanzenpartikel diffundieren. Anschließend muss das Öl die Wasserschicht (BVII) überwinden, wobei sich auf der Oberfläche ein Ölfilm (BVIII) ausbildet, der in einem Gleichgewicht mit der Wasserphase (BVII) steht. Das

verdampfte Öl muss anschließend durch den Dampffilm des vorbeiströmenden Wasserdampfes diffundieren, bevor es in die Bulkströmung (BV V) übergeht.

Die benötigten Modellparameter werden in experimentellen Versuchen in einer Laboranlage am ITVP ermittelt.

Zu diesen Parametern gehören das fest-flüssig Gleichgewicht, der flüssig-flüssig Verteilungskoeffizienten und das Flüssig-Gas Gleichgewicht der betrachteten Komponenten. Der Einfluss von unterschiedlichem Vorkommen des ätherischen Öles wird dabei im Model berücksichtigt und die Implementierung durch die Untersuchung von Lavendel als zweites Referenzsystem, neben Kümmel, überprüft.

Die Modellgleichungen und das Modellparameterbestimmungskonzept sind in der folgenden Abbildung dargestellt.

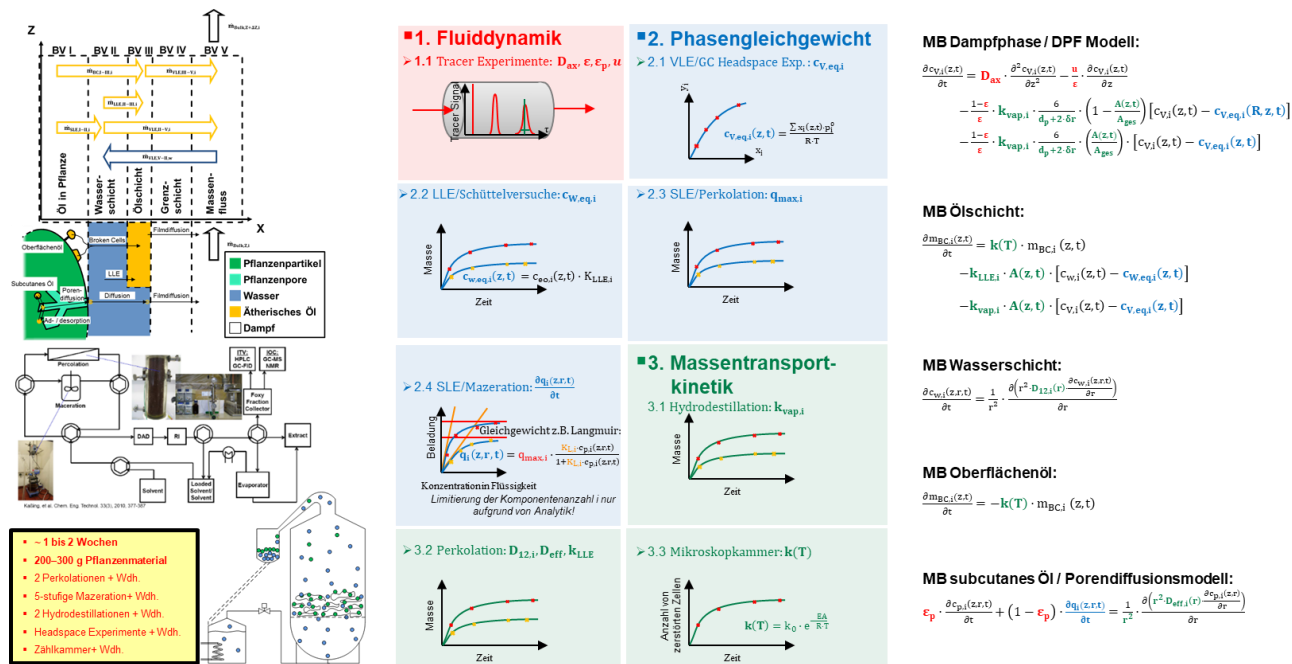


Abbildung 16: Modellparameterbestimmungskonzept und Modellgleichungen für die Hydrodestillation.

Für die Modellierung und Validierung des Modells ist ein experimentelles DoE mit den Stoffsystemen *Carum carvi* L. und *Lavandula angustifolia* Mill. durchgeführt worden. In den Experimenten am Zentralpunkt wird eine Masse von 378 ± 16 mg Carvon und eine Masse von 16 ± 1 mg Limonen erhalten. Dies entspricht einer Ausbeute von 87 ± 6 % Carvon und einer Ausbeute von 9 ± 1 % Limonen. Die Simulation berechnet für das Carvon eine Masse von 364 mg und für das Limonen eine Masse von 17 mg. Dies entspricht einer Ausbeute von 84 % des Carvons und einer Ausbeute von 9 % des Limonens. Aus diesen Werten folgt, dass die Simulation den zentralen Punkt des Versuchsplanes mit einer hohen Genauigkeit wiedergibt. Die Streuung der Simulationsergebnisse durch Fehler der Modellparameterbestimmung beträgt für die Masse von Carvon ± 13 mg, für die Masse von Limonen ± 3 mg, für die Ausbeute von Carvon ± 6 % und für die Ausbeute von Limonen ± 2 %. Die Simulationsergebnisse des Carvons besitzen am zentralen Punkt des Versuchsplans eine höhere Präzision als die Ergebnisse der dazu durchgeführten Experimente. Die Simulationsergebnisse des Limonens sind unpräziser als die Experimente. Die Vorhersagegenauigkeit verdoppelt sich und steigt von 7 % auf 16 %. Dies liegt vor allem an der geringen zu extrahierenden Masse und an der geringen Wasserlöslichkeit des Limonens. Diese Effekte haben bereits bei der Modellparameterbestimmung zu Problemen geführt. Trotz geringerer Präzision gibt das Modell eine gute Vorhersage der Simulationsergebnisse für den Fall des Kümmels. Somit ist das Modell am Zentralpunkt des Versuchsplans validiert. Die Versuchs- und Simulationsergebnisse sind in der folgenden Abbildung dargestellt.

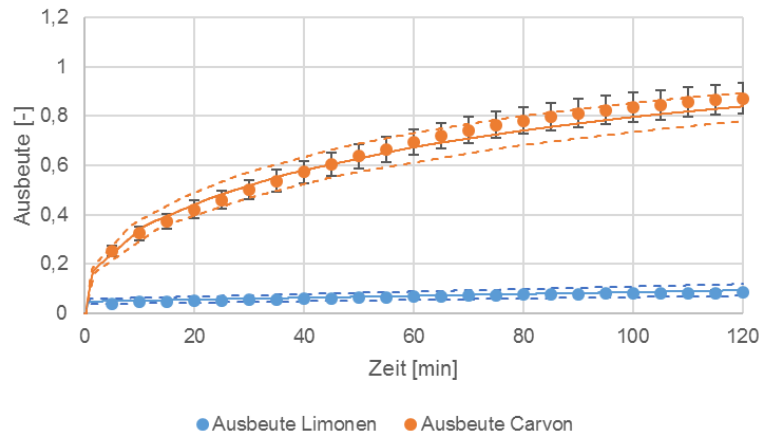


Abbildung 17: Mess- und Simulationsergebnisse mit Schwankungsbereichen für das Stoffsystem Kümmel.

Außerdem wird das Modell für das Stoffsystem Lavendel getestet. Da die Extraktion nach 50 Minuten abgeschlossen ist, werden für die Diskussion von Genauigkeit und Präzision die Werte bei 40 Minuten verwendet. In den Experimenten wird eine Masse von 21 ± 1 mg Campher und eine Masse von 13 ± 1 mg Linalool erhalten. Dies entspricht einer Ausbeute von 96 ± 4 % Campher und einer Ausbeute von 96 ± 4 % Linalool. Die Simulation berechnet für Campher eine Masse von 21 mg und für das Linalool eine Masse von 13 mg. Dies entspricht einer Ausbeute von 94 % Campher und einer Ausbeute von 94 % Linalool. Diese Werte zeigen, dass die Simulation am zentralen Punkt des Versuchsplans eine hohe Genauigkeit besitzt. Die Streuung der Simulationsergebnisse durch Fehler der Modellparameterbestimmung beträgt für die Masse von Campher 2 mg, für die Masse von Linalool 2 mg, für die Ausbeute von Campher 1 % und für die Ausbeute von Linalool 1 %. Die Simulationsergebnisse besitzen am zentralen Punkt des Versuchsplans eine höhere Präzision der Ausbeute als die Ergebnisse der dazu durchgeführten Experimente. Die Vorhersagegenauigkeit verdoppelt sich und steigt von 1 mg auf 2 mg. Dies liegt vor allem an der geringen zu extrahierenden Masse und der großen Unsicherheit bei der Maximalbeladung der Pflanzenpartikel. Wird die Maximalbeladung mit einer höheren Präzision bestimmt, verbessert sich auch die Präzision der Simulationsergebnisse. In den Abbildungen fällt allerdings auch auf, dass die Simulation die Extraktionsgeschwindigkeit am Anfang unterschätzt und am Ende überschätzt werden.

Die Ergebnisse für das Stoffsystem Lavendel sind in der folgenden Abbildung dargestellt. Die Vorhersagegenauigkeit des Modells ist hinreichend gut.

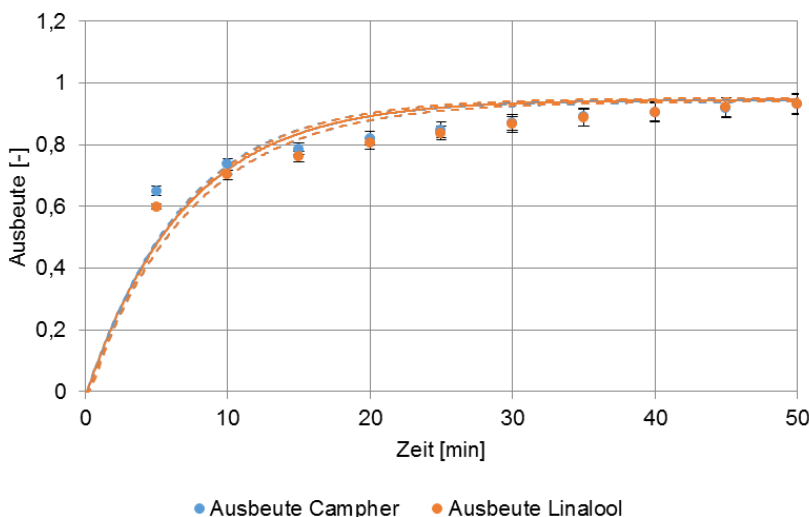


Abbildung 18: Mess- und Simulationsergebnisse mit Schwankungsbereichen für das Stoffsystem Lavendel.

Die **Scale-up Studien** fußen auf anlagentechnischen Rahmenbedingungen, welche in Zusammenarbeit mit der AG Schackstedt festgelegt wurden.

Als Industriemaßstab wird eine Blase mit einem Durchmesser von 1,4 m und einer Höhe von 2,65 m verwendet. Dies entspricht einem Volumen von $4,08 \text{ m}^3$. Die Füllhöhe der Schüttung beträgt $4/5$ der Blasenlänge. Die Schüttung wird mit 300 kg Wasserdampf pro Stunde für 2,5 Stunden durchströmt. Nach 30 Minuten werden die ersten Produktropfen erhalten. Die Destillation wird nach Erhalt der ersten Tropfen

2 Stunden fortgeführt. Die Simulationen starten zu dem Zeitpunkt, an dem der erste Produkttropfen die Destillationsblase verlässt.

In Abbildung 19 ist die simulierte Ausbeute des Kümmelsystems dargestellt.

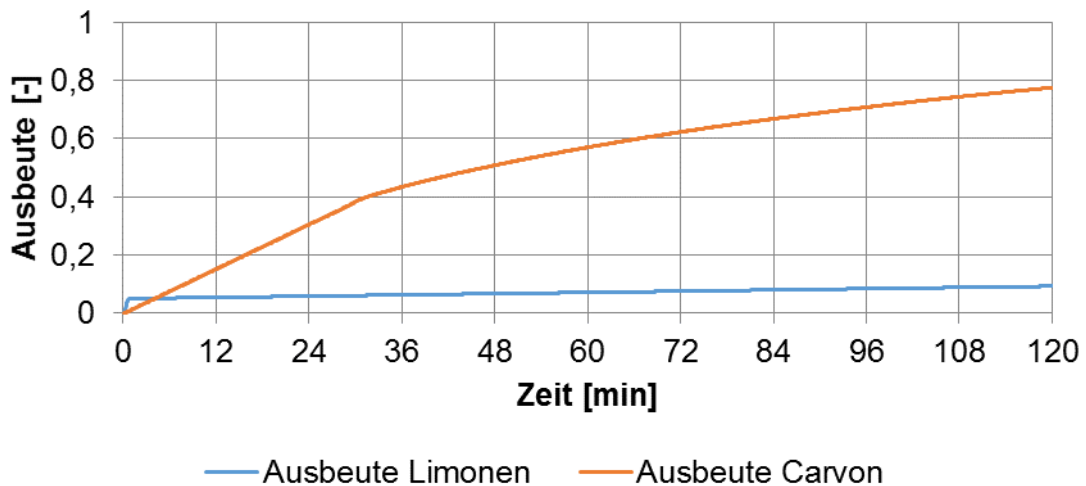


Abbildung 19: Simulierte Ausbeute des Kümmelsystems im Industriemaßstab.

In der Abbildung ist zu erkennen, dass das Pflanzenmaterial nach zwei Stunden noch nicht vollständig erschöpft ist. Von den ursprünglich 46,5 kg des im Pflanzenmaterial enthaltenen ätherischen Öls verbleiben nach Abschluss der Destillation noch etwa 12,5 kg Limonen und 7,3 kg Carvon in den Pflanzenpartikeln. Dies entspricht einer Gesamtausbeute von 57 %. Wenn die Destillation fortgesetzt wird, kann noch weiteres Carvon gewonnen werden. Die Gewinnung von weiterem Limonen gestaltet sich aufgrund der Diffusionsbarriere im Partikel schwierig. Das Limonen schafft es ab Minute 1 und das Carvon ab Minute 32 aufgrund der Diffusionsbarriere nicht mehr, die Gasphase komplett zu sättigen. Vor dem Zeitpunkt wird die maximal mögliche Menge an ätherischem Öl pro Zeiteinheit gewonnen. Dies ist an der konstanten Zunahme des ätherischen Öls zu erkennen. Nach diesem Zeitpunkt wird die Ausbeutezunahme geringer, da die Bereitstellung der Komponenten an der Flüssig-Dampf-Grenzfläche immer schwieriger wird.

Eine Steigerung der Ausbeute kann durch einen besseren Aufschluss der Pflanzenpartikel erreicht werden. Dabei wird mehr des subkutanen Öls freigelegt und es kann besser verdampfen. In der Abbildung 20 sind die Ausbeuten der Komponenten bei einem verbesserten Aufschlussgrad von 30 % gezeigt. In dem Pflanzenmaterial liegen nach der Dampfdestillation nur noch 9 kg Limonen und 4 kg Carvon vor. Es werden somit 6,8 kg Öl mehr gewonnen und die Ausbeute steigt auf 72 %. Allerdings ist ein höherer Aufschlussgrad mit einem höheren mechanischen Energieeintrag gekoppelt. Zudem führt ein Aufschluss außerhalb der Destillationsblase zu Verlusten durch zum Beispiel Verdampfen der aufgeschlossenen Komponenten. Folglich sollte bei bekannten Daten für die Aufschlusskosten eine Optimierung des Aufschlussprozesses durchgeführt werden.

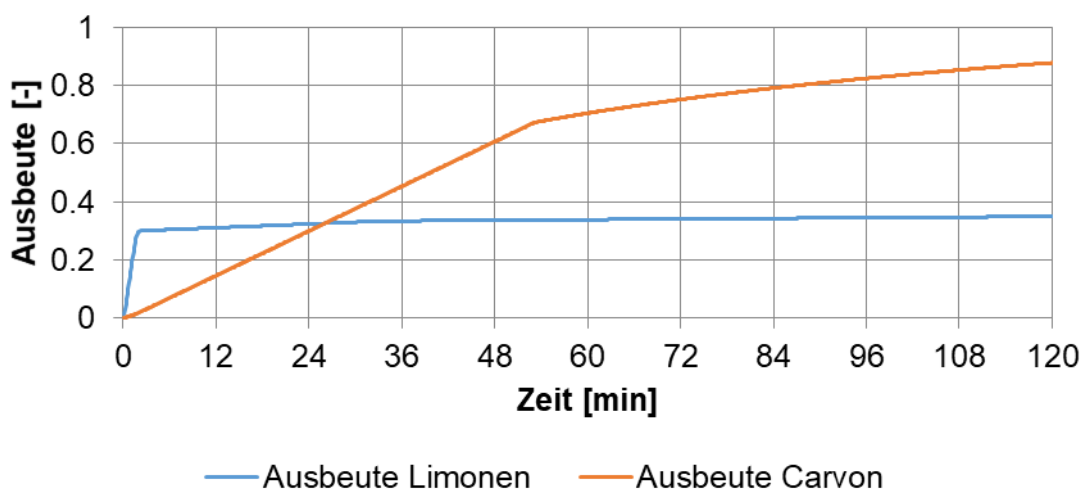


Abbildung 20: Optimierte simulierte Ausbeute des Kümmelsystems im Industriemaßstab.

In der folgenden Abbildung ist die simulierte Ausbeute des Lavendelsystems dargestellt.

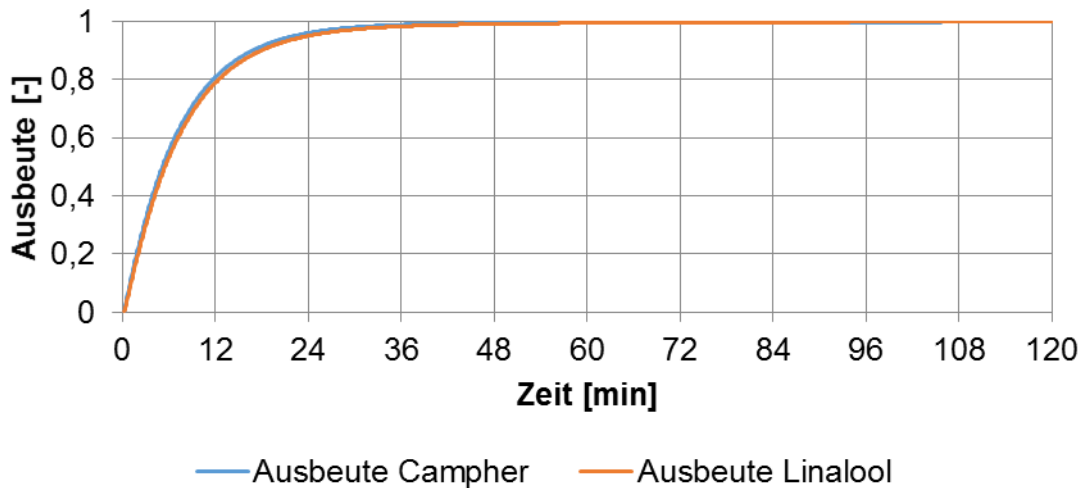


Abbildung 21: Simulierte Ausbeute des Lavendelsystems im Industriemaßstab.

In der Abbildung ist erkennbar, dass das gesamte ätherische Öl während der Dampfdestillation extrahiert wird. Zudem ist zu sehen, dass die beiden Stoffe nicht durch die Dampfphase limitiert sind. Dies ist daran zu erkennen, dass die Ableitung der Funktion stetig ist. Eine Optimierung ist daher nur auf wirtschaftlicher Basis sinnvoll.

Die wirtschaftliche Betrachtung wird auf Grundlage der in III. AP 1 durchgeführten Scale-up Studie auf Modellbasis durchgeführt. Im Rahmen der wirtschaftlichen Betrachtung wird geprüft, wie lange eine Fortführung der Dampfdestillation wirtschaftlich ist. Dabei werden Kosten von 60 € pro Tonne Wasserdampf angenommen. Zudem wird ein Mitarbeiter zum Betrieb der Dampfdestillation benötigt. Für den Mitarbeiter werden pro Jahr 100.000 € veranschlagt. Das ätherische Öl des Kümmels gibt es für 0,695€ pro Milliliter in der Drogerie zu erwerben. Von diesem Preis werden 20 % für Steuern, 40 % für Marketing und Vertrieb, 15 % für das benötigte Pflanzenmaterial und 5 % für Wartung und Investitionen benötigt. Die übriggebliebenen 20 % teilen sich auf die Betriebskosten und die Rendite der Dampfdestillation auf. Abbildung 22 folgenden Abbildung sind die Kosten und der Umsatz der Produktion von Kümmelöl des ausbeuteoptimierten Systems pro Zeitschritt der Simulation aufgetragen. Es ist erkennbar, dass der Betrieb der Anlage nach 120 Minuten immer noch rentabel ist, weil der Umsatz immer noch über den Kosten liegt, wäre ein kleiner Gewinn denkbar.

Der Peak in Abbildung 22 in den ersten 5 Minuten der Extraktion entspricht der Ausbeute des freigelegten Limonens. Das anschließende Plateau entsteht durch den Abschnitt, in dem der Dampfstrom mit Carvon gesättigt ist. Der Abfall bei 53 Minuten entsteht dadurch, dass ab diesem Zeitpunkt die Ausbeute von Carvon pro Zeiteinheit aufgrund von Diffusionshemmungen nicht mehr optimal ist.

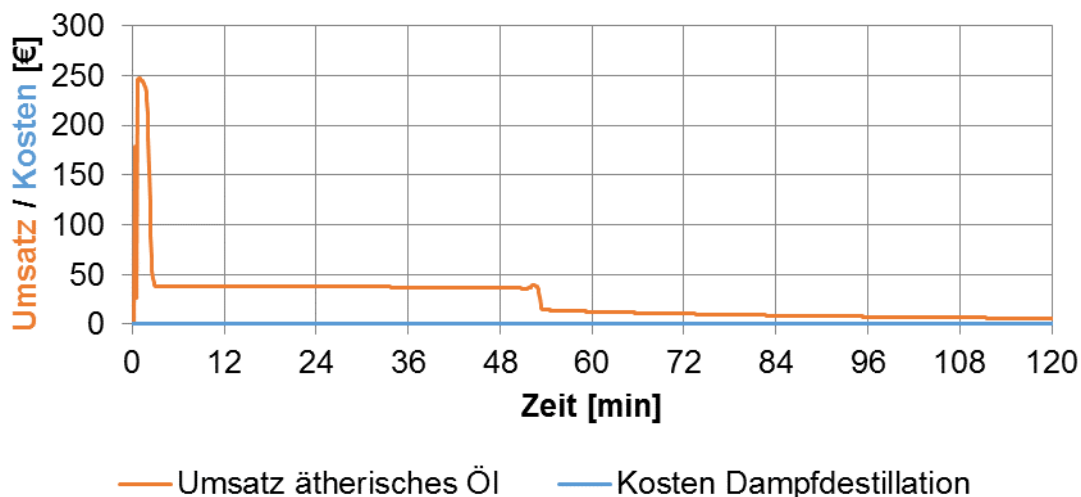


Abbildung 22: Umsatz und Kosten der Dampfdestillation pro Zeit für das Stoffsystem Kümmel im Industriemaßstab.

Zur Optimierung der Dampfdestillation von Lavendel wird ebenfalls überprüft, wie lange die Fortführung der Destillation wirtschaftlich ist. Dafür werden die gleichen Annahmen wie bei der Betrachtung des Kümmelsystems getroffen. Lediglich der Preis für Lavendelöl wird angepasst und liegt bei 0,595 € pro Milliliter Lavendelöl in der Drogerie. In der folgenden Abbildung sind die Ergebnisse der Optimierung gezeigt.

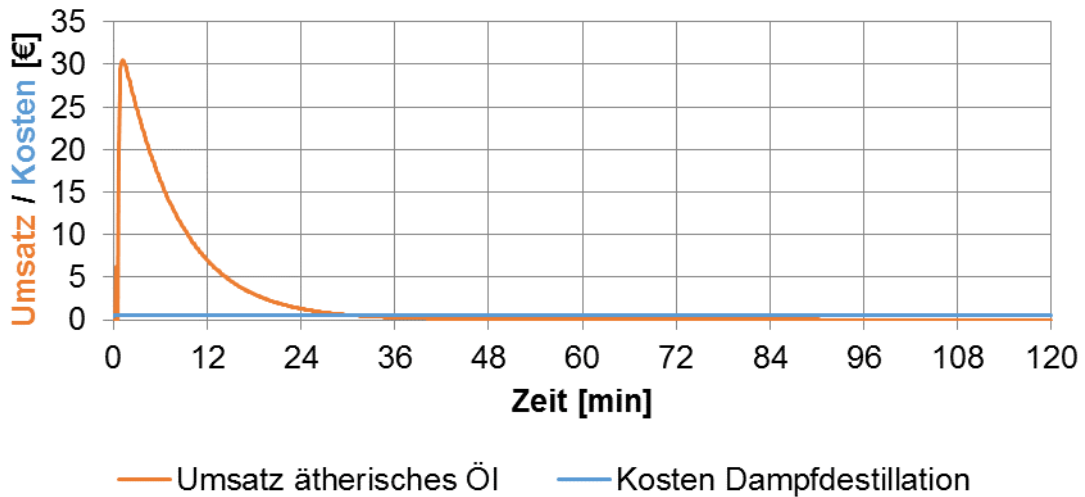


Abbildung 23.: Umsatz und Kosten der Dampfdestillation pro Zeit von Lavendel im Industriemaßstab.

In der Abbildung ist erkennbar, dass die Dampfdestillation nach 40 Minuten vollständig abgeschlossen ist. Es werden während der Destillation insgesamt 3,2 kg ätherisches Öl gewonnen. Allerdings übersteigen die Kosten den Gewinn schon nach 32 Minuten. Folglich kann die Extraktion nach dieser Zeit abgebrochen werden. Dies entspricht einer Einsparung von 440 kg Wasserdampf und von 95 € an Personalkosten. Zudem ist die mehr als die doppelte Anzahl an Dampfdestillationsvorgängen in der gleichen Zeit möglich. Dies führt zu einem gesteigerten Durchsatz an Pflanzenmaterial.

Wie in der folgenden Tabelle zusammenfassend dargestellt ist, erfolgt die Gewinnmaximierung bei diffusionsgehemmten Pflanzensystemen, wie dem Kümmelsystem, durch eine Erhöhung des Aufschlussgrades. Diffusionsgehemmte Systeme werden durch den Stofftransport aus dem inneren des Partikels an die Oberfläche, wo das Öl schließlich abtransportiert werden kann, limitiert. Ein vorangehender Aufschluss verringert Diffusionswege, sodass der Stofftransport schneller ablaufen kann.

Durch diese Erhöhung steigt der Umsatz, der pro Batch in 120 Minuten erreicht wird. Bei Pflanzensystemen mit oberflächlichem Öl, d.h. schnell verfügbarem Öl mit kurzen Transportwegen im Partikel, wie dem Lavendelsystem, benötigt die Extraktion keine 120 Minuten. Somit wird die Gewinnmaximierung bei oberflächlichem Öl durch eine Erhöhung des Durchsatzes erreicht.

Tabelle 6: Zusammenfassung der modellbasierten Optimierungen für die Dampfdestillationen.

Pflanzen-system	Istzustand	Optimierungsparameter	Optimierungszustand
Kümmel	57 % Ausbeute	Aufschlussgrad	72 % Ausbeute
	120 Minuten		120 Minuten
	14.800 € Umsatz pro Batch		18.600 € Umsatz pro Batch
	2 Destillationen pro Tag		2 Destillationen pro Tag
Lavendel	100 % Ausbeute	Extraktionszeit	100 % Ausbeute
	120 Minuten		32 Minuten
	2.400 € Umsatz pro Batch		2.400 € Umsatz pro Batch
	2 Destillationen pro Tag		3 Destillationen pro Tag

An den Simulationsergebnissen im Industriemaßstab ist erkennbar, dass die Simulationen ein besseres Verständnis des Extraktionssystems liefern und dass es möglich ist, die Ausbeute und den Gewinn zu maximieren.

Die Entwicklung eines robusten verfahrenstechnischen Prozesses muss auf die auftretenden **Risiken** abgestimmt sein, die auf Basis von Einflussgrößen, wie Equipment, Material, Organisation und Umwelt

auftreten (Uhlenbrock 2021; Uhlenbrock u. a. 2020; Uhlenbrock, Sixt, und Strube 2017; Roth, Uhlenbrock, und Strube 2020). Zusätzlich muss die Kontrollierbarkeit der betrachteten Prozessparameter berücksichtigt werden.

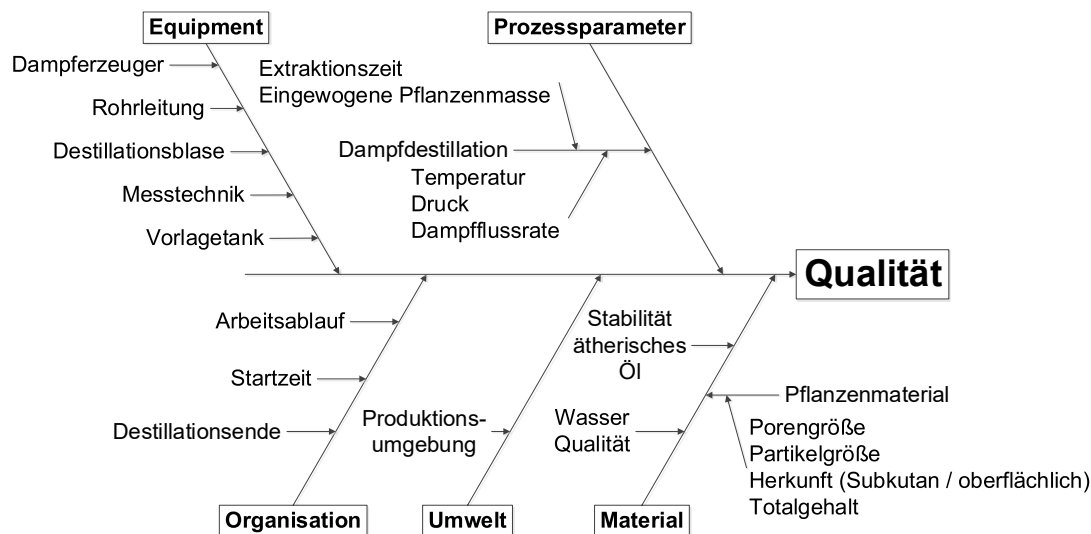


Abbildung 24: Ishikawa-Diagramm zur Veranschaulichung von Qualitätseinflüssen der Dampfdestillation

Das Risikoassessment ist die Grundlage für die Entwicklung eines robusten Prozesses. Die Vermeidung der Risikoeinflüsse, die aus organisatorischen Abläufen und Equipment entstehen, kann durch die Entwicklung eines Wartungs- und Ablaufplanes für die Durchführung der Destillation erreicht werden.

Die Dampfdestillation wird weiter maßgeblich von den Eigenschaften des eingesetzten Materials beeinflusst. Die Eigenschaften des Pflanzenmaterials sind deshalb in der modelltheoretischen Beschreibung des Dampfdestillationsvorganges zu untersuchen und zu charakterisieren. Wichtige Eigenschaften, die Einfluss auf die anschließende Verarbeitung mittels Destillation haben des Pflanzenmaterials ist der totale Gehalt an Zielkomponente, der sich an den Partikeln befindet, sowie deren Größe und Porosität. Ein weiterer wichtiger Parameter ist die Stabilität der Pflanzenpartikel unter thermischer Belastung, da während der Dampfdestillation Temperaturen um die 100 °C zu erwarten sind. Zudem ist der Speicherort des ätherischen Öles ein wichtiger Parameter, der für die Beschreibung des Stofftransportes maßgeblich sein kann.

Das Verfahren zur modelgestützten Risikobewertung kann anschließend auf weitere Pflanzensysteme übertragen werden und beschleunigt so die Entwicklung von zukünftigen Trennprozessen.

In der Risikobewertung zeigt sich, dass das Modell neben der Dampfflussrate als Prozessparameter auch die Materialparameter des Pflanzenmaterials, wie zum Beispiel des Totalgehaltes oder des Speicherortes, abbilden können muss. Dies liegt an den hohen natürlichen Schwankungen, die bei den Pflanzen vorliegen können. Die Einschätzungen der Relativen Häufigkeit und der relativen Auswirkung auf den Prozess sind in der folgenden Abbildung dargestellt.

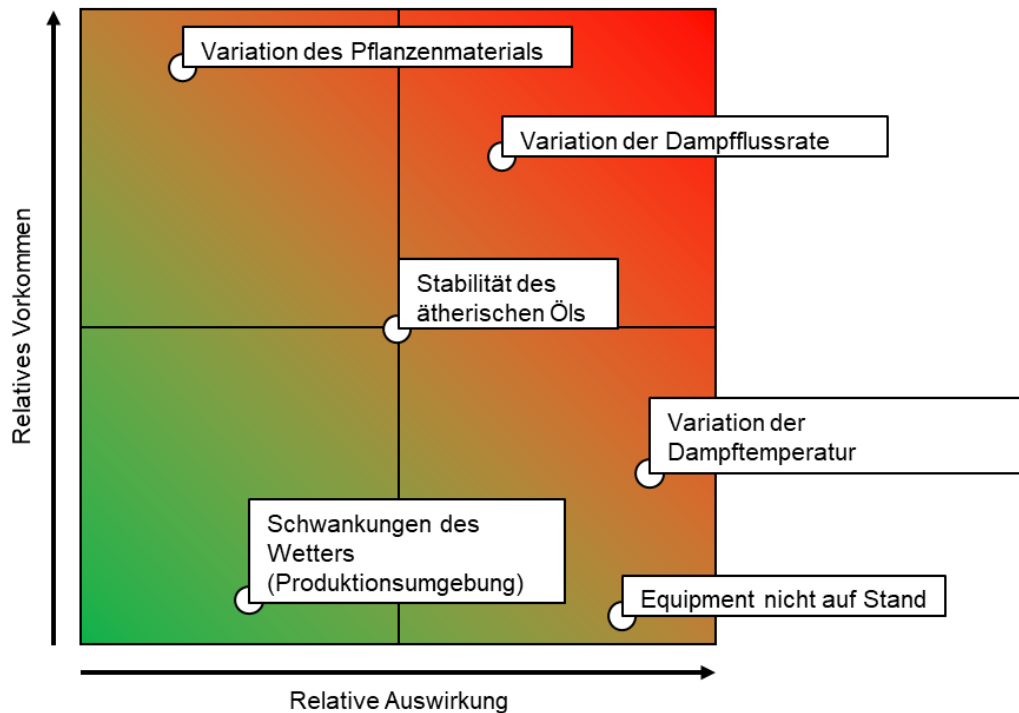


Abbildung 25: Fehlermöglichkeits- und Einflussanalyse der Dampfdestillation.

Aus dem DoE können die Einflüsse der unterschiedlichen Prozess- und Materialparameter mit statistischen Methoden ausgewertet und bewertet werden. Einer Übersicht über die untersuchten Parameter und ihre Schwankungsbereiche liefert die folgende Tabelle.

Tabelle 7: Betrachteter Bereich der Modellparameter im Labormaßstab für das Pareto Diagramm und betrachteter Einfluss.

Modellparameter	Einheit	Bereich	Einfluss Ausbeute
Dampfflussrate (flüssig)	[mL/min]	1 - 7	Moderat
Herkunft (inneres / äußeres)	[-]	0 - 1	Hoch
Effektiver Diffusionskoeffizient	[cm ² /s]	6·10 ⁷ - 6·10 ⁵	Hoch
Aufbruchrate	[1/min]	0,01 - 0,5	Hoch
Dampfdruck	[bar]	0,01 - 0,2	Moderat
Sättigungskonzentration SLE	[g/L]	0,01 - 10	Hoch
Gleichgewichtskonstante SLE	[-]	100 - 1000	Gering
Einschichtbeladung SLE	[g/L]	0,0001 - 0,05	Gering
Schüttungsporosität	[-]	0,3 - 0,5	Moderat
Partikelporosität	[-]	0,5 - 0,7	Gering
Maximalbeladung	[g/L]	5 - 30	Moderat
Massentransport LLE	[cm/s]	90 - 110	Gering
Gleichgewichtskonstante LLE	[-]	0,01 - 0,001	Gering
Partikelradius	[cm]	0,1 - 0,2	Moderat

Die bestimmten, standardisierten Effekte werden für die Ausbeute bei 5 Minuten in Abbildung 26 und für die Ausbeute bei 30 Minuten in Abbildung 27 in einem Pareto Diagramm dargestellt.

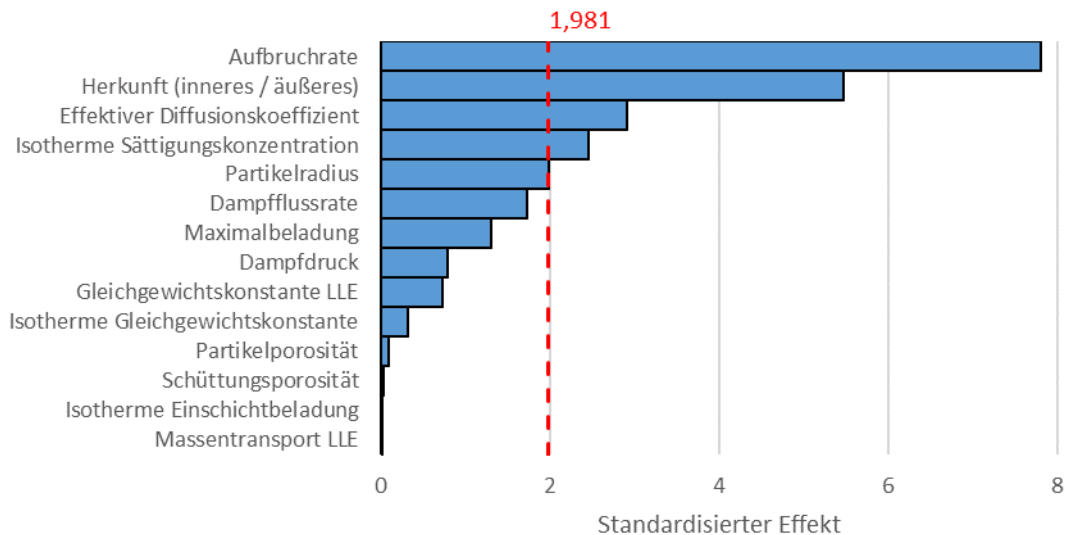


Abbildung 26: Pareto Diagramm der standardisierten Effekte für die Ausbeute bei 5 Minuten (Alpha=5%).

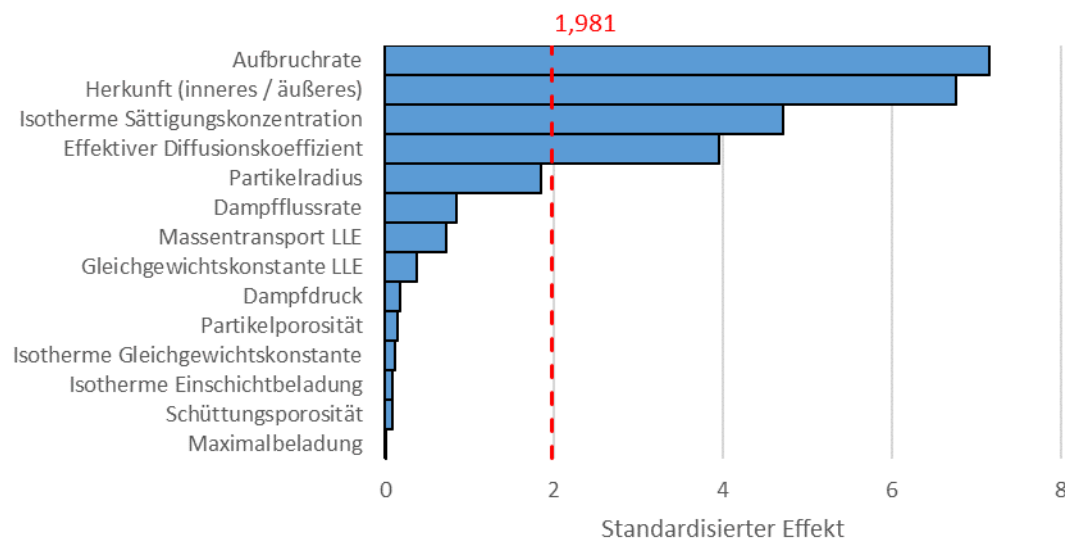


Abbildung 27: Pareto Diagramm der standardisierten Effekte für die Ausbeute bei 30 Minuten (Alpha=5%).

In den Pareto Diagrammen ist erkennbar, dass die Aufbruchrate, die Herkunft, die Sättigungskonzentration in der Flüssigphase, der effektive Diffusionskoeffizient und der Partikelradius signifikant sind. Zudem ist erkennbar, dass in den beiden Pareto Diagrammen die Reihenfolge von effektiven Diffusionskoeffizient und Sättigungskonzentration in der Flüssigkeit getauscht ist. Die Ergebnisse sind sinnvoll, da die Wasser- und Dampfdestillation hauptsächlich von den Stofftransportvorgängen im Pflanzenmaterial abhängt.

Abschließend wurden die unterschiedlichen, im Projekt untersuchten **Prozessmöglichkeiten einzeln bewertet hinsichtlich ihres Aufwandes und des Einflusses auf Global Warming Potential, Produktausbeute und Kosten**. Außerdem wird die Gesamtprozessverbesserung je Verbesserungsansatz ausgehend vom Originalprozess bewertet. Im Bereich der Hydrodestillation ergeben sich die Möglichkeiten modellbasiert Optimierung, der Erweiterung der Messtechnik um weitere Temperatur, Druck und Flussmessstellen und einer Optimierung der Phasentrennung in Öl- und Hydrolatphase. Der Destillationstrester, also das destillierte Pflanzenmaterial, kann anschließend in einer Heißwasserextraktion ein weiteres Mal extrahiert werden. Das Hydrolat kann, dort wo möglich, direkt im Pflanzenschutz eingesetzt werden, oder über Traps oder Membrankontaktoren in die Einzelkomponenten aufgereinigt werden.

Process

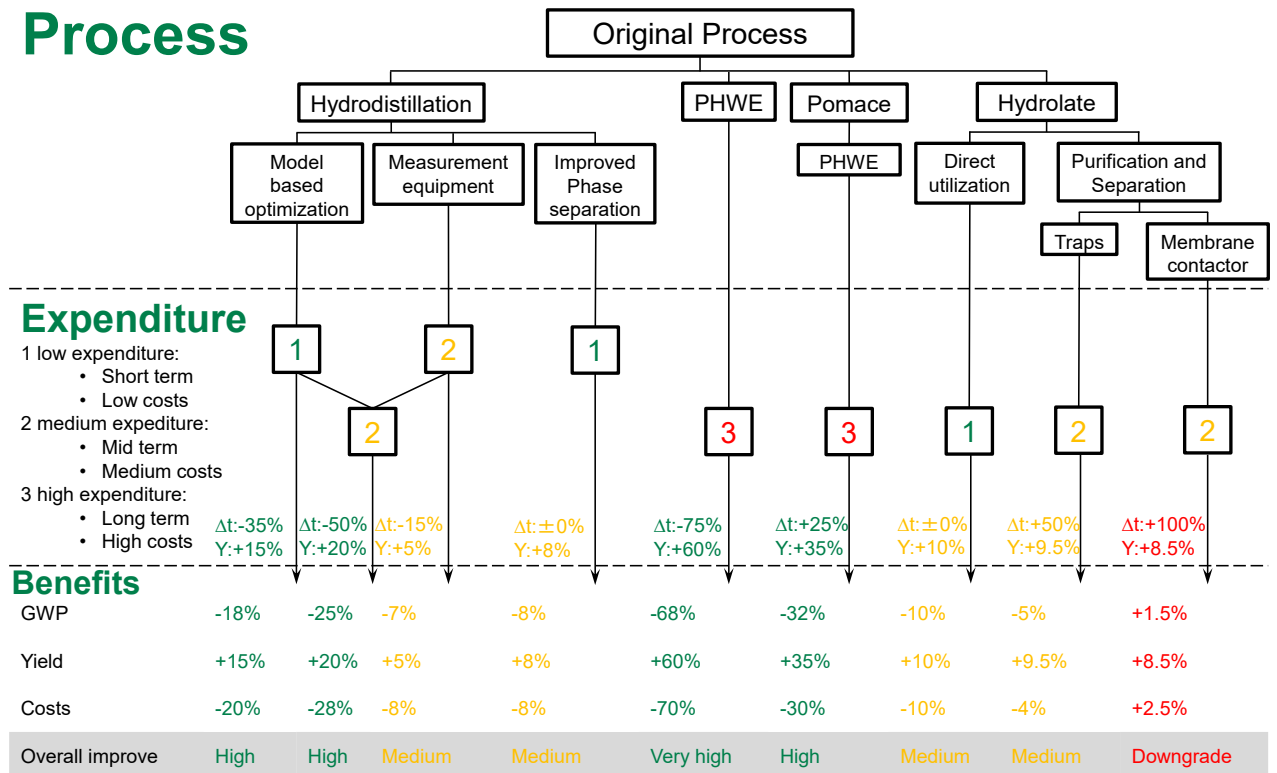


Abbildung 28: Übersicht und Bewertung der Untersuchten Methoden und Verfahrensalternativen zur Herstellung von ätherischen Ölen und Reinstoffen aus Gewürzpflanzen.

Die untersuchten Methoden und Prozessmöglichkeiten lassen sich in unterschiedlichen Prozesskonfigurationen verschalten. Diese Prozessmöglichkeiten sind in Abbildung 29 dargestellt. Vor allem die genauere Untersuchung der Phasenseparation und die Implementierung von Traps sind verhältnismäßig leicht, schnell und kostengünstig umzusetzen. Den größten Gewinnzuwachs in allen Bereichen bringt allerdings die Implementierung einer Heißwasserextraktion zur zweiten Nutzung des Pflanzenmaterials, also eine Kaskadennutzung. Neben den ätherisch-Öl Komponenten, welche extrahiert werden können, fallen ebenfalls andere Bestandteile der Pflanzenmatrix wie zum Beispiel Proteine und Strukturkohlenhydrate, bspw. beta-Glucane, an. Diese können ebenfalls verschiedenen Anwendungen zugeführt werden. Kombiniert man die vorgeschlagenen Maßnahmen ergeben sich Verbesserungspotentiale der Prozesse in der Größenordnung 50 % in den Bereichen GWP-Reduktion, Ausbeute- und Gewinnsteigerung.

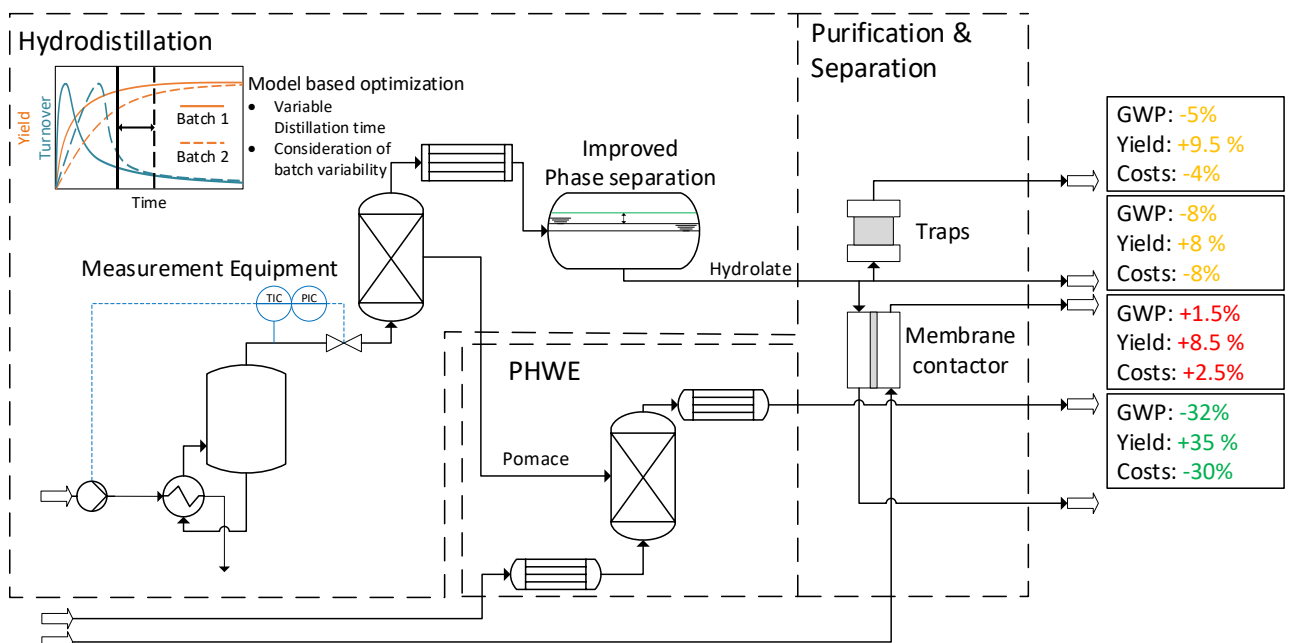


Abbildung 29: Übersicht über verschiedene Prozessmöglichkeiten zur Herstellung von Reinstoffen aus Gewürzpflanzen.

Durch dieses Projekt konnten die Methoden für eine effiziente ganzheitliche und scale-up fähige Prozessentwicklung robuster Verfahren im Sinne der Kaskadennutzung etabliert werden. Unter zu Hilfenahme Digitaler Zwillinge, welche durch Methoden wie PAT erweitert werden, können die Prozessentwicklung und der Produktions-Betrieb prozesstechnisch und wirtschaftlich optimiert werden (Jensch u. a. 2021). Die damit verbundene Steigerung der Wertschöpfung und einer ganzheitlichen stofflichen Nutzung der pflanzlichen Rohstoffe ermöglicht zusätzlich eine Reduktion des GWPs.

Bei der Beurteilung der Global Warming Potentiale der unterschiedlichen Prozessvarianten ist vor allem die Trocknung der Pflanzenmaterialien vor der Verarbeitung ins Gewicht gefallen, welche bis zu 90 % des gesamten GWP verursacht (Schmidt, Uhlenbrock, und Strube 2020). Zur Erreichung der Klimaneutralität bis zum Jahr 2045 ist dafür eine Untersuchung und Etablierung von Prozessen zur Nutzung frischer, nicht getrockneter Pflanzen unbedingt notwendig. Zur Verkürzung von Lieferwegen und Lieferzeiten, welche das Pflanzenmaterial beschädigen könnten, ist daher eine Prozessanlage im Containerformat anzustreben. Diese sollte durch die Integration von PAT und fortschrittlicher Prozessregelungsmethoden als autonom Betrieben Anlage entwickelt werden.

Teilvorhaben 2: Gewinnung aus flüssigen Destillations- und Extraktionsrückständen (Wasserdampf-Hydrolate, Destillationsmittel und Extraktionsmittel)

Das Ziel des Teilvorhabens am JKI-ÖPV ist die Untersuchung aller flüssigen Restphasen auf verbleibende pflanzliche Wertstoffe sowie deren Isolierung.

Dazu wurden am JKI Kulturen basierend auf ihrer Bedeutung im Anbau und in der Produktion ätherischer Öle in Deutschland Tabelle 8 ausgewählt und angebaut: **Kamille, Majoran, Salbei, Thymian, Oregano**. Zusätzlich wurde Material von Kümmel vom JKI-ZG sowie Arzneifenchel der LLG Sachsen-Anhalt (Bernburg) zur Verfügung gestellt. Diese dienten als Untersuchungsmaterial für die destillative Verarbeitung und die Bereitung wässriger Extrakte durch den Projektpartner ITVP sowie der Charakterisierung der Zusammensetzung der ätherischen Öle und Ausbeuten. Dazu erfolgten am JKI Destillationen und Analysen in Anlehnung an der European Pharmacopoeia (2020). Zusätzlich wurden von den Projektpartnern aus der Industrie Proben von ätherischen Ölen und Hydrolaten bezogen und am JKI auf deren Zusammensetzung untersucht.

Tabelle 8 Auswahl der im ResiDest zu betrachtenden Pflanzensysteme basierend auf ihrer Bedeutung im heimischen Anbau und der verarbeitenden Industrie mit Angaben aus Quellen (Achleitner, Hoppe, und Verein für Arznei- und Gewürzpflanzen Saluplanta 2013; Hoppe 2018; Bauer u. a. 2016)

Pflanze	Wirtschaftliche Bedeutung	Anbaufläche in D [ha]; Marktvolumen in D [Mio.€]
Echte Kamille <i>Matricaria chamomilla</i> L. syn. <i>M. recutita</i> L.	-bedeutendste Arzneipflanze nach Anbaufläche und Menge verarbeiteter Drogen in Deutschland (4500 t) -Industriepartner Anbau und Destillationsunternehmen Kistler und Co. GmbH (Bayern)	1.200 (v.a. Sachsen u. Thüringen); 16,9
Majoran <i>Origanum majorana</i> L.	-als Arzneipflanze geringe Bedeutung, v.a. als Gewürz -Industriepartner MAWEA Aschersleben (Sachsen-Anhalt)	402 (Sachsen-Anhalt); 7
Salbei <i>Salvia officinalis</i>	-als Arzneipflanze Bedeutung, v.a. als Teedroge -Industriepartner Anbau Bombastus Werke AG (Sachsen)	51 (Sachsen, Hessen); k.A.
Thymian <i>Thymus vulgaris</i>	-bedeutende Arzneipflanze -Industriepartner Destillationsunternehmen Dr. Otto GmbH (Wittenberge)	174 (Sachsen-Anhalt, Mecklenburg-Vorpommern); 2,9
Arzneifenchel <i>Foeniculum vulgare</i>	- sehr bedeutend, Menge verarbeiteter Droge in Deutschland 4000 t	426 (Hessen, Sachsen, Sachsen-Anhalt); 7
Kümmel <i>Carum carvi</i>	- sehr bedeutend	282 (Sachsen-Anhalt, Baden Württemberg, Thüringen), 5

Die Hydrodestillation der Drogen am JKI-ÖPV nach dem Ph. Eur. (2020) ergab die in Tabelle 9 aufgeführten Gehalte ätherischer Öle.

Tabelle 9 Ätherisch-Öl-Gehalte Drogen aus Anbau am JKI-ÖPV, Angabe Mittelwert (MW), Wasserdampf-Destillation Richtwerte nach DAB; (n=min.3)

Pflanzenspezies, Drogen	Volumen ätherisches Öl MW [ml/kg TG]	Forderung DAB bzw. Richtwerte [ml/kg TG]
<i>Matricaria chamomilla</i> , Blüten frisch Blüten mit Stiel frisch	7,17 3,78	4
<i>Origanum majorana</i> , Blätter frisch 1. Ernte 2. Ernte	10,35 15,43	7,7 bis 39,5 berechnet laut HAGP
<i>Salvia officinalis</i> "Extrakta", Blätter frisch getrocknet	15,52 17,55	15
<i>Thymus vulgaris</i> "Deutscher Winter", Blätter frisch	4,97	12
<i>Foeniculum vulgare</i> „Berfena“, Samen getrocknet	104,31	40
<i>Origanum vulgare ssp.</i> <i>hirtum</i>	3,13	NA
<i>Carum carvi</i> „Sprinter“, Samen getrocknet	37,84	30

Die ätherisch-Öl-Gehalte der untersuchten Pflanzenproben entsprechen den gestellten Anforderungen nach dem *Ph. Eur.* 8.1 (2015) und einschlägiger Literatur weitestgehend.

Zusammensetzung von ätherischen Öl von *M. chamomile* var. *Manzana* im Verlauf der Destillation

Der Verlauf der Destillation wurde am Beispiel der von Kamille für die Prozessierung durch die Kistler GmbH untersucht. Die Drogen (Kamillenblüten mit bis zu 7 cm Stielanteil) unterlagen einer kurzen Lagerzeit von 1,2 bzw. 3h oder einer langen Lagerzeit von 10, 16, 17 bzw. 23 h. Die Destillation erfolgte in 9 Durchgängen unter Nutzung von 3 Tanks. Dem Prozess wurden zu festgelegten Zeitpunkten Ölproben vom Beginn des Auftretens erster Öle bis über 8h Prozessöl entnommen, die die Zusammensetzung zum jeweiligen Zeitpunkt der Destillation repräsentieren. Zusätzlich erfolgte die Entnahme von Mischproben aus dem Vorratsgefäß für die Sammlung des Öles. Die GC-FID/MS-Analyse der ätherischen Öle ergab 104 Komponenten. Ein Vergleich der Retentionsindices und der Massenspektren mit der Datenbank Adams 2014 ermöglichte eine Zuordnung von 38 Komponenten, welche einen Bereich von 95,3 bis 98,5 % aller Komponenten im Chromatogramm abdecken. Die Tabelle 10 listet die Hauptkomponenten auf, und gibt die jeweiligen Bereiche der Konzentrationen für die Komponenten an in den Prozessölen, sowie in den Mischproben an.

Tabelle 10 Ausgewählte Komponenten des ätherischen Öles von *M. chamomile* var. *Manzana*: Hauptkomponenten über den Verlauf der Destillation (min-max des Mittelwertes mit > ~ 1%) "Prozessöl" von 0 bis 480 min verglichen mit "Mischöl" von 70 bis 480 min, Komponenten gelistet mit abnehmendem Anteil im Öl, Betrachtung unabhängig von der Lagerung der Drogen

Komponente	R _I gemessen	Prozess-öl Konzentration min. [%]	Prozess-öl Konzentration max. [%]	Vorschrift gemäß Ph. Eur.(2020) [%]	Misch-öl Konzentration min. [%]	Misch-öl Konzentration max. [%]
<i>trans</i> -β-Farnesen	1467	40,4	57,3	NA	49,4	50,4
epi-α-Bisabolol	1698	13,9	37,1	10-65	21,6	23,0
<i>trans</i> -α-Farnesen	1513	5,0	8,2	NA	7,3	8,0
Chamazulen	1750	2,9	5,8	> 1	3,5	4,9
D-Germacren	1497	3,0	5,7	NA	4,7	5
<i>trans</i> -β-Ocimen	1054	0,1	3,4	NA	0,9	1,0
α-Bisabolol oxid B	1669	0,8	1,8	> 20% inkl. Bisabolol oxide	1,4	1,4
Bisabolol oxid A	1762	0,3	0,8		0,5	0,6
Spathulenol	1593	0,1	0,2	NA	0,1	0,1

Die Mischöle enthalten vorwiegend *trans*-β- und *trans*-α-Farnesen, epi-α-Bisabolol, Chamazulen und D-Germacren, wie es in Bisabolol-haltigem Öl zu erwarten ist. *trans*-β-Farnesen weist den größten Anteil am ätherischen Öl dieser Kamille auf. Farnesene finden sich hauptsächlich in den grünen Teilen der Pflanzen (Bucko und Salamon 2007). Alle Mischöle erfüllen die Kriterien der Vorschriften gemäß (European Pharmacopoeia (Ph. Eur.) 2020). Demnach reicht eine Destillation über 70 min aus um diese Kriterien zu erfüllen, sofern der Ertrag an ätherischem Öl ausreicht. Die Abweichung in der Komposition der Einzelkomponente wie α-Bisabolol nehmen mit zunehmender Ölerträgen ab.

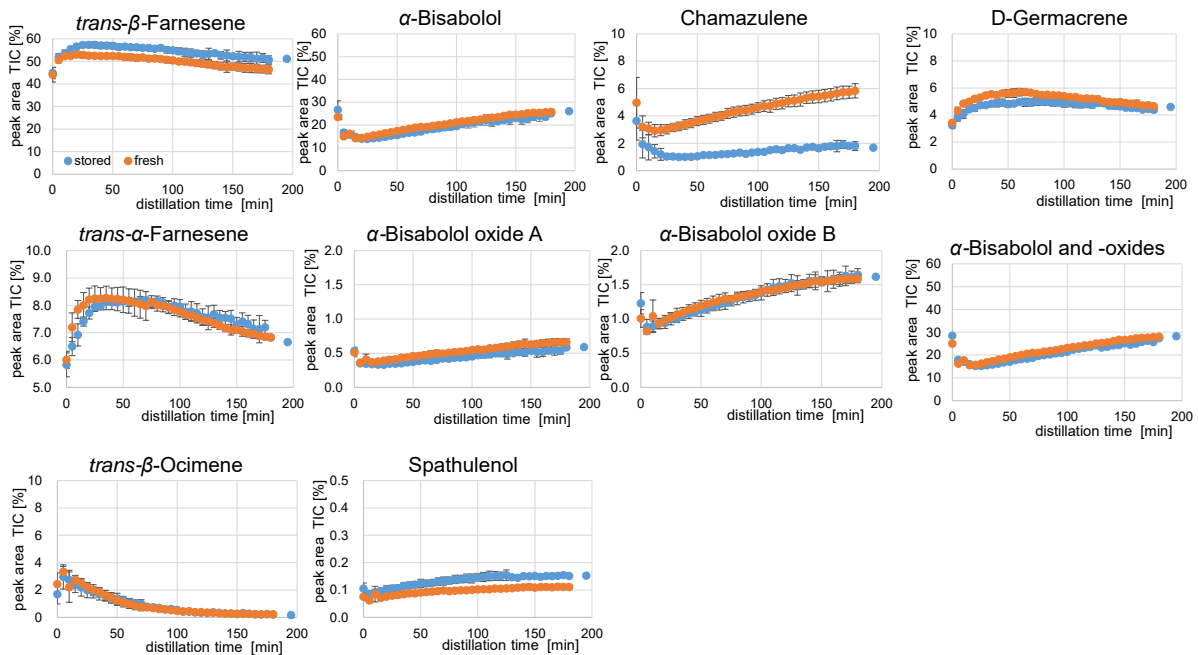


Abbildung 30 Anteil ausgewählter Komponenten des ätherischen Öles von *M. chamomilla* var. *Manzana* [% TIC] im Verlauf der Destillation von kurz (orange) bzw. lang-gelagerter Droge (blau), Mittelwert ± Standardabweichung, n=3-4 (kurz), n=5 (lang)

Über den Verlauf der Destillation zeigen 10 der Hauptkomponenten einen zeitabhängigen Verlauf ihrer Konzentration im kondensierenden Öl (Abbildung 30). Komponenten mit niedrigem Siedepunkt, wie β -Ocimen, D-Germacrene und Farnesene weisen einen abnehmenden Anteil in kondensierten Öl auf. Für α -Bisabolol und -oxide, Chamazulen und Spathulenol nahm die Konzentration im Kondensat im Verlauf der Destillation zu. Die Konzentration der Spiroether (E-, Z-) im Kondensat blieb über den zeitlichen Verlauf der Destillation konstant. Weiterhin zeigten Chamazulen, β -Farnesen und Spathulenol in Abhängigkeit von der Lagerzeit der Droge einen unterschiedlichen Verlauf. Je frischer das Material war, desto höhere Anteile wurden für Chamazulen, der wert- und farbgebenden Komponente des Kamilleöles, im Kondensat erzielt.

Die Konzentration von β -Farnesen nahm bei kurz-gelagerter Droge rapide zu mit einem Maximum von 53 % bei 20 min der Destillation. Bis ca. 100 min sank die Konzentration von β -Farnesen leicht, anschließend intensiver. Bei lang-gelagerter Droge lag der Bereich der höchsten Konzentration im Kondensat zwischen 20 und 110 min der Destillation mit einem Maximum bei 25 bis 35 min mit 57 % β -Farnesen. Nach 115 min sank die β -Farnesen Konzentration intensiv. Der erzielte maximale Anteil von β -Farnesen im Kondensat der kurz-gelagerten Droge weicht um 4,3 % von dem Wert für die lang-gelagerte Droge ab. Daher beeinflusst die Lagerungszeit den maximalen Anteil an β -Farnesen im Kondensat nur geringfügig.

Die Konzentration an α -Farnesen nimmt bei kurz-gelagerter Droge von Beginn der Destillation rapide zu und erreicht nach 30 min Destillation ein Maximum mit 8,3 %. Bis 105 min nimmt die Konzentration leicht zu und sinkt anschließend rapide ab. Bei lang-gelagerter Droge lag die höchste Konzentration im Kondensat zwischen 35 bis 80 min der Destillation mit einem Maximum nach 65 bis 70 min von 8,2 % α -Farnesen. Nach 2 h Destillation nahm die Konzentration an α -Farnesen rapide ab. Der erzielte maximale Anteil von α -Farnesen im Kondensat der kurz-gelagerten Droge weicht um 0,1 % von dem Wert für die lang-gelagerte Droge ab. Daher beeinflusst die Lagerungszeit den maximalen Anteil an α -Farnesen im Kondensat nur geringfügig.

α -Bisabolol ist eine der Komponenten des Kamilleöles, welche die Qualität und biologische Aktivität des Öles beschreiben. Die Konzentration an α -Bisabolol im Kondensat steigt ab 20 min bei kurz-gelagerter bzw. ab 30 min bei lang-gelagerter Droge an, bis die Destillation gestoppt wurde. Der höchste Anteil an α -Bisabolol mit 23 % im Kondensat wurde nach 130 min in kurz-gelagerter Droge bzw. nach 150 min bei lang-gelagerter Droge beobachtet. Der Übergang von α -Bisabolol in das Kondensat erfolgt ca. 35 bis 40 min der Destillation besonders intensiv mit einer Transferrate von 6,6 % (35 min) für kurz-gelagerte Droge. Nach 165 min sinkt die Transferrate für α -Bisabolol auf 1,6 % im Mittel und anschließend einem Plateau von 0,7 % für kurz-gelagerte Droge. Bei lang-gelagerter Droge lag das Maximum der Transferrate für α -Bisabolol bei 75 min der Destillation mit 4,7 % und nahm anschließend im Mittel ca. 1 % zu bis zum Stop der Destillation. Das für kurz-gelagerte Droge beobachtete Plateau des Überganges von α -Bisabolol in das Kondensat wurde im Zeitraum der Destillation nicht erreicht. Folglich verschiebt sich mit Erhöhung der Lagerzeit der Droge der Übergang von α -Bisabolol aus der Droge in das Kondensat zeitlich nach hinten.

Die Konzentration an Chamazulen im Kondensat steigt nach 20 min der Destillation bei kurz-gelagerter Droge bzw. 45 min bei lang-gelagerter Droge der Destillation und erreicht ein Maximum bei 180 min (5,8 %) bei kurz-gelagerter Droge bzw. 170 min (1,9 %) bei lang-gelagerter Droge. Der Übergang von Chamazulen aus dem Material ist bei kurz-gelagerter Droge nach 30 min am intensivsten mit einer Transferrate von 5,8 %. Nach ca. 145min wird ein Plateau für den Übergang bei einer Transferrate von 1 % im Mittel bis zum Stop der Destillation erreicht. Aus lang-gelagertem Material schwankt der Übergang von Chamazulen mit höchsten Transferraten bei 55 (8,6 %), 110 (9,6 %), 125 (10,1 %) und 140 min (10,5%) der Destillation. Die minimalen Transferraten liegen bei 90 (-6,9 %), 120 (-4,5 %), 135 (-6,7 %) und 175 min (-5,2 %). Kurz- und lang-gelagerte Drogen zeigen eine Zunahme der Transferrate um 50% im Vergleich zu dem Beginn der Destillation. Der für lang-gelagerte Drogen beobachtete maximale Anteil an Chamazulen im Kondensat liegt jedoch bei 30 % des für die kurz-gelagerten Drogen beobachteten Anteile. Ein Destillationsansatz mit lang-gelagerter Droge zeigte das Maximum für den Anteil von Chamazulen im Kondensat von 3,4 % nach 8 h Destillationszeit. Dieser repräsentiert jedoch nur 59 % des für kurz-gelagerte Drogen ermittelten maximalen Anteils im Kondensat. Daher sollte bevorzugt frisches Material prozessiert werden um hohe Level der wertgebenden Komponente Chamazulen im Öl zu sichern.

Die Zeit für die Lagerung und die Destillation beeinflussen die Zusammensetzung des ätherischen öles, wie dargestellt in Tabelle 11. Die Lagerungszeit zeigte den stärksten Effekt auf Spathulenol, gefolgt von β -Farnesen > Chamazulen > Bisabolol oxid A > D-Germacren > Bisabolol und -oxide sowie α -Bisabolol. α -Farnesen, Bisabolol oxid B and β -Ocimen sind durch die Lagerungszeit nur geringfügig beeinflusst. Die Destillationszeit beeinflusst den Anteil aller Komponenten signifikant. Der größte Einfluss zeigte sich auf β -Ocimen, gefolgt von Bisabolol oxid B > Bisabolol und -oxide > α -Bisabolol > Bisabolol oxid A > β -Farnesen > D-Germacren > Spathulenol > α -Farnesen > Chamazulen.

Tabelle 11 Einfluss der Destillations- und Lagerungszeit auf ausgewählte Hauptkomponenten von *M. chamomilla* var. *Manzana* Öl mittels 2-faktorieller Varianzanalyse (ANOVA) ($\alpha = 0.05$) für Prozessöle und maximale Erträge im Mischöl in Bezug auf die Lagerungszeit der Droge

Komponente	P-Wert Lagerungszeit	P-Wert Destillationszeit	Max. Ertrag [%] (Zeit [h]) kurz	Max. Ertrag [%] (Zeit [h]) lang
Chamazulen	5,37E-03	1,13E-22	4,9 (7,1)	4,3 (3,5)
β -Farnesen	9,29E-16	3,46E-24	49,0 (3,0)	50,4 (7,3)
α -Farnesen	2,27E-11	7,47E-01	7,5 (3,0)	8,0 (6,0)
α -Bisabolol	2,81E-21	6,70E-08	23,0 (7,1)	22,3 (7,3)
Bisabolol oxid A	5,59E-18	4,70E-18	0,6 (7,1)	0,6 (8,0)
Bisabolol oxid B	3,48E-23	4,60E-01	1,4 (1,2)	1,4 (7,3)
Bisabolol and -oxide	1,49E-21	4,92E-08	25,0 (7,1)	24,2 (7,3)
Spathulenol	4,89E-13	1,11E-24	0,1 (7,1)	0,1 (7,3)
β -Ocimen	4,72E-24	4,64E-01	1,0 (6,6)	1,0 (6,0)
D-Germacren	2,52E-14	7,13E-18	5,0 (6,6)	5,0 (6,0)

In Bezug auf die Mischöle lag der maximale Ertrag für die Hauptkomponenten nach 7 ± 1 h bei lang-gelagerter bzw. 6 ± 2 h bei kurz-gelagerter Droge. Eine Destillationszeit von 1,2 h für kurz-gelagerte bzw. 2 h für lang-gelagerte Droge ist ausreichend um einen Ertrag von 97 % der Hauptkomponenten im Öl zu erzielen. Folglich scheint eine Destillationszeit von bis zu 8 h nicht erforderlich zu sein. Um dies jedoch tiefer gehend zu analysieren sollte der bei der Destillation erzielte Ertrag an Öl in Betracht gezogen werden, was bei diesen Versuchen nicht berücksichtigt wurde.

Die Prozessöle entsprechen über den gesamten Destillationsprozess in Europa geltenden Vorschriften bezüglich des Anteiles an α -Bisabolol von 10 bis 65 % im Kamilleöl. Bei den Mischölen im Sammelgefäß wird diese Vorgabe nach 90 min Destillation bei den kurz-gelagerten Drogen bzw. nach 125min bei den lang-gelagerten Drogen erreicht. Den Mindestgehalt an Chamazulen von 1 % erreichen die Prozessöle der kurz-gelagerten Drogen von Beginn der Destillation. Lang-gelagerte Drogen erfüllen diese Anforderung erst nach 50 min der Destillation. Der Vorgabe von > 20 % Bisabolol und -oxide entsprechen kurz-gelagerte Drogen bereits nach 3h Destillation. Lang-gelagerte Drogen erfordern hier eine Destillationszeit von mindestens 3 h. Somit kann die Destillationszeit für Kamilledrogen durch die Verwendung von Material, welches nicht länger als 3 h gelagert wurde auf 1,5 h reduziert werden. Lang-gelagerte Drogen erfordern eine Mindest-Destillationszeit von 2 h und unterliegen gleichzeitig Einbußen an dem Gehalt von wertgebenden Komponenten wie Chamazulen.

Extraktion und Analyse von Hydrolaten und wässrigen Extrakten

Neben den ätherischen Ölen der Destillation von Kamille wurden anfallende Hydrolate hinsichtlich der enthaltenen Rückstände an ätherischen Ölen untersucht. Die Hydrolat-Proben der wurden vor und nach einer Behandlung mittels Koalisierfilter (KF) gewonnen. Die Rückstände ätherischer Öle wurden mittels n-Hexan aus der wässrigen kondensierten Phase extrahiert. Dafür erfolgte eine Schüttelextraktion mit anschließender Aufkonzentration des Extraktes durch Rotationsverdampfung. Anschließend wurden die Inhaltstoffe mittels GC-FID/MS nach Ph. Eur. (2020) analysiert. Die Hydrolat-Proben der Kamilledestillation wurden vor und nach einer Behandlung mittels Koalisierfilter (KF) gewonnen. Die chemische Zusammensetzung ist in Tabelle 12 dargestellt.

Das aus dem Hydrolat extrahierte ätherische Öl weist im Wesentlichen die Komponenten auf, welche im Kamillenöl klassischer Weise zu finden sind. Die Hauptkomponenten stellen, wie auch im Öl (Abbildung 30), α -Bisabolol und β -Farnesen dar. Die wertgebende Komponente α -Bisabolol wird durch den Koalisierfilter nur unwesentlich aus dem Hydrolat entfernt (ca. 4-7 %). β -Farnesen wird weitaus intensiver aus dem Hydrolat abgereinigt mit ca. 12 bis 22 %. Allerdings nimmt der Anteil an Bisabololoxiden im verbleibenden Hydrolat nach der Filtration zu: α -Bisabololoxid B (ca. 2 bis 10 %), Bisabolonoxid (0,1 bis 0,5 %) sowie Bisabololoxid A (1,6 bis 5,3 %). Ebenso steigt der Anteil an Chamazulen nach der Filtration um 2,7 bis 8,5 %. In der Zusammensetzung werden die Anforderungen bezüglich der Zusammensetzung des Kamillenöles aus dem DAB für alle Hydrolatextrakte erfüllt, mit Ausnahme des Hydrolates nach der Filtration aus Ansatz 3+4. Somit wäre das aus dem Hydrolat gewonnene reine Öl marktfähig.

Tabelle 12 Rückstände ätherischer Öle in Hydrolaten von Kamille vor bzw. nach Behandlung mit Koalierfilter (KF), jeweils 2 Ansätze zusammengefasst (1+2 sowie 3+4)

Komponente	RI	Anteil [%]			
		Ansatz 1_2 vor KF	Ansatz 3_4 vor KF	Ansatz 1_2 nach KF	Ansatz 3_4 nach KF
β -Farnesen	1673	23,66	26,23	11,75	4,40
α -Farnesen	1766	0,32	0,89	NA	NA
α -Bisaboloxid B	2164	7,31	4,63	17,41	6,73
Bisabolonoxid A	2213	0,61	0,35	1,09	0,42
α -Bisabolol	2228	42,81	16,60	36,00	12,76
Chamazulen	2440	7,08	3,12	15,54	5,86
Bisaboloxid A	2447	5,35	1,64	NA	NA

Basierend auf den Vorerkenntnissen für das Kamillehydrolat erfolgte ein umfangreiches Screening von Hydrolaten und wässrigen Extrakten, die vom Projektpartner am ITVP erzeugt, von Industriepartnern bereitgestellt wurden oder der eigenen Herstellung am JKI-ÖPV nach dem Deutschen Arzneibuch (DAB) (2015) entstammen. Die Extraktion der Rückstände ätherischer Öle aus den Hydrolaten erfolgte durch Schüttelextraktion mittels n-Hexan und Aufkonzentration durch Vakuumverdampfung. Die Zusammensetzung der gewonnenen Öle und deren Rückstände in Hydrolaten wurde mittels GC-FID/MS untersucht.

Tabelle 13 Inhaltsstoffliche Zusammensetzung von Hydrolaten und PHWE-Extrakten (E)

Pflanze-Herkunft	Extrakt [H,E]	Konzentration Öl MW [g/L]	Konzentration Öl SD [g/L]	RI	Komponente	Anteil MW [%]	Anteil SD [%]
<i>Origanum vulgare</i> – DAB JKI	H	1,88	0,01	1063	<i>cis</i> -Sabinenhydrat	0,99	0,02
				1094	Linalool	0,56	0,02
				1160	(+)-Borneol	1,69	0,01
				1172	Terpinen-4-ol	0,97	0,02
				1185	α -Terpineol	0,31	0,06
				1289	Thymol	0,2	0,17
				1297	Carvacrol	95,29	0,30
<i>Thymus vulgare</i> – Dr. Otto GmbH	H	1,60	0,02	1289	Thymol	94,93	1,09
				1297	Carvacrol	5,07	1,09
<i>Pinus sylvestris</i> – VER GmbH	H	1,57	0,02	1173	p-Cymen-8-ol	60,1	k.A.
				1176	α -Terpineol	13,8	
				1201	Verbenon	25,5	
<i>Carum carvi</i> „Sprinter“ ITVP	H	1,65	0,05	1213	<i>trans</i> -Carveol	1,92	0,04
				1243	Carvon	98,08	0,04
<i>Carum carvi</i> „Aprim“ ITVP	H	1,72	0,30	1213	<i>trans</i> -Carveol	0,53	14,52
				1243	Carvon	99,47	0,08
<i>Carum carvi</i> „Sprinter“ ITVP	E	1,50	0,05	1197	(-)- <i>cis</i> -Dihydrocarvon	11,42	0,14
				1209	(-)-trans-Dihydrocarvon	58,63	0,56

				1222	(-)-Iso-Dihydrocarveol	20,91	0,26
				1236	(-)-Neoiso-Dihydrocarveol	9,04	0,31
<i>Carum carvi</i> „Aprim“ ITVP	E	1,53	0,04	1197	(-)- <i>cis</i> -Dihydrocarvon	9,74	0,18
				1209	(-)-<i>trans</i>-Dihydrocarvon	69,44	1,14
				1222	(-)-Iso-Dihydrocarveol	20,82	0,97
<i>Foeniculum vulgare</i> „Berfena“ ITVP	H	1,54	0,03	1086	(+)-Fenchon	56,15	1,05
				1282	<i>trans</i>-Anethol	33,11	1,36
				1306	Alkan/Derivat	4,34	0,13
				1315	Alkan/Derivat	6,4	0,19
<i>Foeniculum vulgare</i> „FOE 25“ ITVP	H	1,52	0,07	1182	p-Cymen-8-ol	1,51	0,00
				1282	<i>trans</i> -Anethol	2,46	0,06
				1306	Alkan/Derivat	0,46	0,40
				1315	Alkan/Derivat	0,24	0,42
				1337	Piperitenon	8,99	0,26
				1362	Piperitenon oxid	85,39	1,38
				1397	Durohydroquinon	0,51	0,44
1489	unknown	0,44	0,38				
<i>Foeniculum vulgare</i> „Berfena“ ITVP	E	1,52	0,07	1086	(+)-Fenchon	39,81	5,86
				1282	<i>trans</i>-Anethol	50,55	4,86
				1306	Alkan/Derivat	2,45	4,24
				1315	Alkan/Derivat	7,19	6,22
<i>Foeniculum vulgare</i> „FOE 25“ ITVP	E	1,51	0,02	1315	Alkan/Derivat	21,62	0,94
				1362	Piperitenon oxid	50,37	0,46
				1397	Durohydroquinon	28,01	0,64
<i>Origanum majoranum</i> Schackstedt	H	12,78	0,41	1099	Linalool	3,7	1,80
				1190	Terpinen-4-ol	72,3	6,50
				1198	α -Terpineol	14,1	3,20

Tabelle 13 gibt einen Überblick über die Zusammensetzung der Hexanextrakte aus den wässrigen Lösungen. Die Hauptkomponenten der Hydrolate stellen polarere Verbindungen aus den ätherischen Ölen wie beispielsweise Thymol, Carvacrol dar. Mit der Abhängigkeit der Komponenten von der Wasserlöslichkeit ergibt sich ein eingeschränktes Spektrum an Komponenten in den Hydrolaten im Vergleich zu den ätherischen Ölen. Wie das Beispiel des Arzneifenchels zeigt weicht die Zusammensetzung von der des reinen ätherischen Öles (Gudi u. a. 2014) ab. Die aus den Trestern der Destillation bereiteten wässrigen Extrakte zeigen eine ähnliche Zusammensetzung wie aus den Drogen erhaltene ätherische Öle auf.

Das Kümmelhydrolat beider untersuchten Sorten „Sprinter“ und „Aprim“ zeigen Carvon als Hauptkomponente. Die in den PHWE-Extrakten hauptsächlich vorgefundenen Komponenten Dihydrocarvon und Dihydrocarveol sind Abbauprodukte von Carvon (Huang u. a. 2022).

Für Majoran wurde die Zusammensetzung des Hydrolates im zeitlichen Verlauf über die Destillation mit Probenahmen ab dem Auftreten des ersten Öles alle 30min untersucht. Die Hauptkomponenten des Majoranhydrolates stellen Linalool, Terpinen-4-ol und α -Terpineol dar. Die inhaltstoffliche Zusammensetzung des Hydrolates bzgl. der Komponenten Linalool, *cis*-Sabinenhydrat, Terpinen-4-ol und α -Terpineol ändert sich

nicht über den zeitlichen Verlauf der Destillation. Bezüglich des enthaltenen Öles wurde ein signifikanter Unterschied zwischen den untersuchten Zeiträumen festgestellt (P-Wert =0,00175). Die Gruppierung des Ölgehaltes ergibt jedoch keinen zeitlichen Zusammenhang. Es wird vermutet, dass die Öle vor dem Transport von Industriepartner z.T. verdampft sind, da die Probenflaschen z.T. nicht vollständig verschlossen waren. Der Ölgehalt liegt bei ca. 15 g/L zum Zeitpunkt des Auftretens des ersten Öles im Sammelgefäß.

Spektrale Analyse von Hydrolaten und Ölen

Mit dem Ziel der Entwicklung einer prozessbegleitenden Analyse der Wirkstoffe in wässrigen Lösungen der Wasserdampfdestillationen wurden Spektren von Hydrolaten und Tee-Extrakten von Fenchel, Kamille und Thymian mit dem für das Projekt beschafften Raman-Handheld-Gerät (Bravo) aufgezeichnet. Dabei stellte sich heraus, dass die Konzentrationen der in diesen Lösungen enthaltenen ätherischen Öle vermutlich zu gering sind um auswertbare Ergebnisse zu erzielen. Die Raman-Spektren der Hydrolate ähneln sich bei den verschiedenen Pflanzenarten sehr stark. Die Messung von ätherischem Öl, wie beispielhaft dargestellt für ätherisches Kamilleöl, zeigte auswertbare Ergebnisse (Abbildung 31). Somit kann diese Technik für die Analyse von ätherischen Ölen, nicht jedoch wie im Projekt geplant zur Charakterisierung der wässrigen Lösungen genutzt werden. Anders als bei der FTIR-Spektroskopie ist Wasser nicht Raman-aktiv und es sind keine störenden, die ätherischen Komponenten überlagernde Streubanden von Wasser zu erwarten gewesen. Daher wurde die Raman-Spektroskopie als vielversprechende Technik für eine inline-Analytik eingeschätzt. Die sehr geringen Konzentrationen der im Hydrolat verbliebenen ätherisch-Öl-Komponenten und das Fehlen weiteren mengenmäßigen Anreicherungen von Substanzen im Hydrolat stellen die Raman-Spektroskopie hier aber vor messtechnische Problemstellungen, die nur durch Schritte weiterer Aufkonzentration zu lösen wäre. Dennoch stellt die Raman-Spektroskopie ein Mittel der Wahl zur Analytik und Diskriminierung ätherischer Öle dar, da die entsprechenden Spektren besonders charakteristische Muster für die CH-Molekülgerüste zeigen und damit sehr geeignet für die terpen-reichen ätherischen Öle.

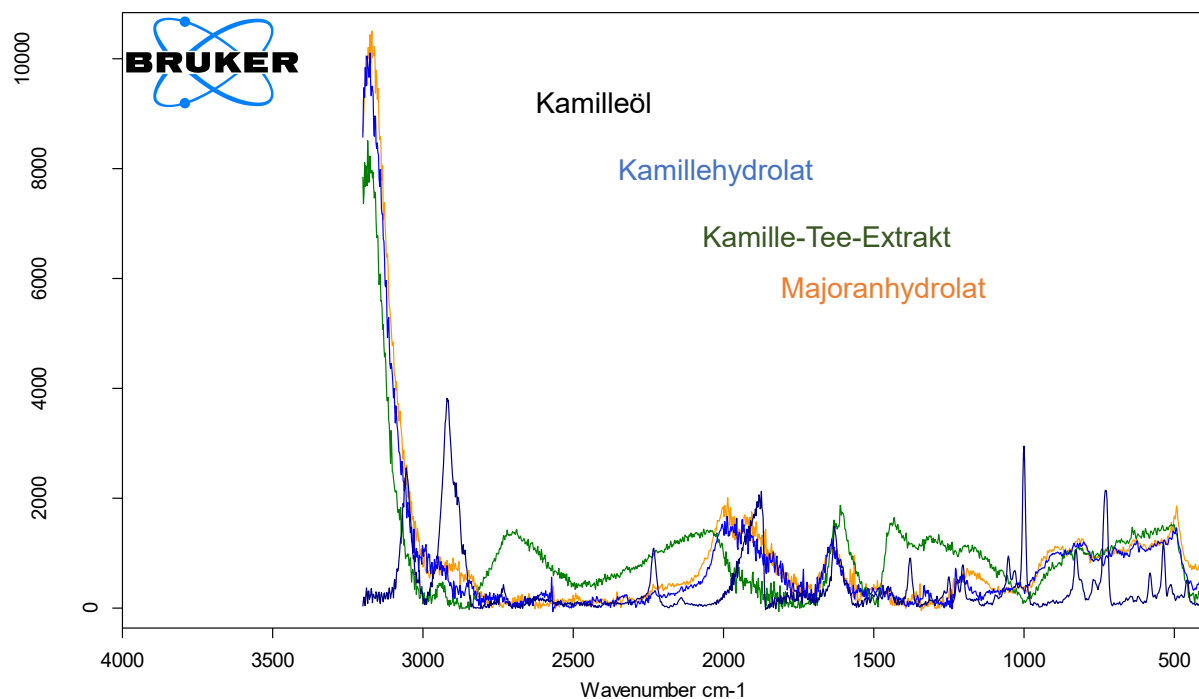


Abbildung 31 Raman-Spektrum von Kamilleöl, -hydrolat, -Tee-Extrakt und Majoranhydrolat

Auf Grundlage der volatilen Eigenschaften an ätherisch Öl-Komponenten und deren Vorkommen in geringen Konzentrationen werden Hydrolate mit einem geringen Risiko für Mensch und Umwelt eingestuft (D'Amato u. a. 2018; Konstantinović u. a. 2022). Weiterhin sind für ätherische Öle zahlreiche bioaktive Wirkungen bekannt (Pavela und Benelli 2016), die deren Einsatz als Alternative zu chemisch-synthetischen Mitteln im Pflanzenschutz interessant machen. Die Kommerzialisierung scheitert jedoch zumeist an der Verfügbarkeit in den im Pflanzenschutz erforderlichen Mengen. Die für die Wirkung verantwortlichen Komponenten sind z.T. auch in den Hydrolaten enthalten. Mit der nachhaltigen Nutzung der Ressource Arzneipflanze und ihrer Nebenströme bei der Wasserdampfdestillation zur Gewinnung ätherischer Öle in der Kreislaufwirtschaft im Sinne der Bioökonomie und der Farm-to-Fork-Strategie ergab sich zu Beginn des Projektes den Einsatz der wässrigen Lösungen im Pflanzenschutz zu erforschen.

Versuche zur Orientierung von Rapsglanzkäfern gegenüber wässrigen-ätherisch Öl-Lösungen und Hydrolaten

Zusätzlich erfolgte die Untersuchung der Wirkung von Hydrolaten und wässrigen Extrakten gegen phytopathogene Pilze und Schadinsekten im Rapsanbau. Thymianhydrolat zeigte im ersten Versuch eine stark abschreckende Wirkung, so dass in Folgeversuchen eine Verdünnung auf 1:1 getestet wurde. Käfer, die nichtgelaufen sind oder keine Wahl getroffen haben, d.h. nicht innerhalb von 5 min die Abzweigung überschritten haben, wurden aus der Auswertung eliminiert. Ebenso wurden Tests mit Laufzeiten von länger als 5 min nicht ausgewertet. Insgesamt wurden 636 Versuche durchgeführt. Davon ergeben sich 372 Testläufe zur Auswertung. Für jede Behandlung wurden für die jeweiligen Versuchstage Repellenz Indices nach (Pavela 2011) errechnet. In Tabelle 14 sind die Ergebnisse für beide Geschlechter getrennt, sowie auch in Summe zusammengefasst dargestellt. Der Repellenz Index liegt für Luft als Referenz im Bereich von -33 bis 33 % (Min-Max) über alle Geschlechter einzeln und getrennt. Damit wird eine repellente Wirkung erst ab einen RI von 50 % erwartet. Die intensivste repellente Wirkung mit RI-Werten von ca. 80 % (m+w) zeigten das Fenchel-Ölpräparat und der wässrige Extrakt aus dem Trester der Destillation von Arzneifenchel. Die Wirkung dieser beiden Behandlungsmittel ist besonders stark gegen über Männchen ausgeprägt (ca. 90 (m) bzw. 80 % (w), gegenüber ca. 60 (m) bzw. 25 % (w)). Mit ca. 70 % (m+w) zeichnet sich Kieferhydrolat durch eine etwas geringere repellente Wirkung aus, bei den Weibchen etwas intensiver (80 %) als bei den Männchen (60 %). Thymianhydrolat hat eine ähnlich intensive repellente Wirkung auf Männchen (ca. 60 %), aber geringere Wirkung auf die Weibchen (ca. 40 %). Das Hydrolat vom Arzneifenchel zeigt eine äußerst repellente Wirkung auf die Männchen (ca. 80 %), gegenüber Weibchen war die Wirkung mit ca. 25 % eher gering. Das Verhältnis von Männchen zu Weibchen variierte zwischen den Behandlungsmethoden im Bereich von 1 bis 1,7 (KIE).

Tabelle 14 Olfaktometrieversuche Daten: Anzahl gelaufener Testorganismen (N), Anzahl durchgeführter Experimente (n), Repellenz Index (RI) mit jeweils Mittelwert (MW), Standardabweichung (SD) und Median (Md) für Männchen (m), Weibchen (w) und beide (m+w)

Behandlung	N, m	n Exp, m	MW RI [%], m	SD RI [%], m	Md RI [%], m	N, w	n Exp, w	MW RI [%], w	SD RI [%], w	Md RI [%], w	N, m+w	n Exp, m+w	MW RI [%], m+w	SD RI [%], m+w	Md RI [%], m+w
Luft	47	7	10	23	20	36	7	9	23	20	83	7	10	10	13
FOE-25-E	5	1	60	NA	60	5	1	-60	NA	-60	10	1	0	NA	0
FOE-25-H	9	2	-15	50	-15	9	2	-35	21	-35	18	2	-25	35	-25
FOE-25-O	32	5	90	22	100	22	5	66	34	60	54	5	78	26	83
FOE-B-E	7	2	60	57	60	6	2	100	0	100	13	2	80	28	80
FOE-B-H	9	2	80	28	80	8	2	25	35	25	17	2	53	4	53
KIE	32	4	58	13	60	19	4	76	26	80	51	4	66	14	70
KUEM-E	10	2	-15	50	-15	8	2	25	106	25	18	2	7	25	7
KUEM-H	17	4	30	48	10	13	4	28	88	55	30	4	41	10	41
THY	17	4	61	34	55	15	4	36	63	46	32	4	55	31	44

Um die Signifikanz der Unterschiede in dem Repellenz Index zwischen den Behandlungsmethoden zu identifizieren, erfolgte ein Kruskal-Wallis-Test. Für alle Geschlechter ergibt sich ein P-Wert von 0,002, für Männchen lag dieser bei 0,017 bzw. für Weibchen bei 0,07. Somit werden mit einem $P < 0,05$ v.a. die Männchen von der Behandlung signifikant beeinflusst. Der paarweise Vergleich nach Wilcoxon (Tabelle 15) zeigt, dass die Behandlungen für beide Geschlechter getrennt und zusammen keinen signifikanten Einfluss auf den Repellenz Index aufweisen. Effekte wurden nur gegenüber Luft als Kontrolle beobachtet, nicht untereinander zwischen den Behandlungen. Untereinander zwischen den Behandlungen lag der P-Wert bei 1. Damit zeichnen sich repellente, jedoch nicht signifikante Effekte für Kieferhydrolat und das Fenchel-25-Öl-Präparat insbesondere auf Männchen, sowie zusätzlich von Kümmel- und Thymianhydrolat für beide Geschlechter ab.

Da die Anzahl der Stichproben insbesondere bei getrennter Betrachtung der Geschlechter (siehe Tabelle 14) relativ gering und z.T. kleiner 5 ist, sollte die Signifikanz der Unterschiede über den Exakten Test nach Fisher überprüft werden. Der Exakte Test nach Fisher liefert für alle Geschlechter zusammen im Vergleich mit der Behandlungsmethode der Behandlungsmethode einen P-Wert von $1 \cdot 10^{-6}$. Für beide Geschlechter getrennt liegt der P-Wert für die Männchen bei 0,0006 bzw. für die Weibchen bei 0,08. Somit zeigen die Behandlungsmethoden für beide Geschlechter, insbesondere die Männchen mit einem P-Wert $< 0,05$ signifikant unterschiedliche Repellenz Indices, wie auch der Kruskal-Wallis-Test. Die Effektstärke der Behandlungsmethoden für die Geschlechter nach Cohens W liegt bei beiden Geschlechtern bei 2,2, für Männchen und Weibchen einzeln jeweils bei 1,7. Somit ist die Effektstärke sehr hoch.

Tabelle 15 Paarweise Wilkoxon-Vergleich der Repellenz Indices für die Behandlungen (Korrektur nach Bonferroni)

Behandlung	P-Wert Luft, m	P-Wert Luft, w	P-Wert Luft, m+w
FOE-25-E	1,00	1,00	1,00
FOE-25-H	1,00	1,00	1,00
FOE-25-O	0,21	0,96	0,24
FOE-B-E	1,00	1,00	1,00
FOE-B-H	1,00	1,00	1,00
KIE	0,45	0,45	0,45
KUEM-E	1,00	1,00	1,00
KUEM-H	1,00	1,00	0,44
THY	1,00	1,00	0,45

Für ätherisches Öl von Arzneifenchel beobachteten Pavela et al. (2011) in ihrer Studie die geringste repellente Wirkung gegen Rapsglanzkäfer. Dieses enthielt zu ca. 66 % E-Anethol und 20 % Fenchon. Im Hydrolat von Arzneifenchel (FOE-B-H) liegt der Anteil an E-Anethol bei 33 % und Fenchon bei 56 %. Im wässrigen Extrakt vom Arzneifenchel (FOE-B-E) wurden 51 % E-Anethol und 40 % Fenchon vorgefunden. Für ätherisches Öl der Pinie („HELIOSOL®“ 2022) mit Terpeneol als Hauptbestandteil (50 bis 100 %) erreichten Daniel et al. (2014) ebenso hohe Repellenzindizes. Dies stimmt mit der beobachteten repellenten Wirkung für Kiefernhydrolat in diesen Untersuchungen überein. Bei Kümmel wird insbesondere Carvon die insektizide Wirkung zugesprochen. Dies stellten Willow et al. (2020) heraus, die für Kümmel mit einem Verhältnis von Carvon zu Limonen von 1:1 im Gegensatz zu Pavela et al. (2011) mit 1:2 eine geringere Effektivität gegen den Rapsglanzkäfer beobachteten. In unseren Untersuchungen stellte Carvon in den Hydrolaten und Extrakten die einzige Hauptkomponente dar und verspricht somit eine bessere Effektivität gegen Insekten. Die ätherischen Öle von Thymian und Kümmel hatten bereits bei Pavela et al. (2011) eine repellente Wirkung auf Rapsglanzkäfer gezeigt. Allerdings scheinen die Wirkungen in den bei uns betrachteten wässrigen Extrakten und Hydrolaten nicht signifikant zu sein. Dies könnte in der ggf. geringen Konzentration liegen mit ca. 1,5 g/L im Hydrolat oder Extrakt bzw. 10 g/L bei Pavela et al. (2011). Neben Carvon ist auch für Dihydrocarvon eine abschreckende Wirkung gegen vorratsschädliche Insekten bekannt (Liu u. a. 2022; Zhang u. a. 2022). Zusätzlich sind für Carvon und dessen Abbauprodukte auch antifungale und antimikrobielle Wirkungen beschrieben (Zhang u. a. 2022).

Versuche zur Wirkung von Hydrolaten und wässrigen ätherischen Ölen gegen den Rapsglanzkäfer im Semi-Freiland

Die Untersuchungen im Freiland erfolgen in Kulturen der Winterraps-Sorten Bender (2020) und Avatar (2021, 2022). Rapsglanzkäfer treten im Feld insbesondere im Entwicklungsstadium (BBCH) von 53 bis max. 61 auf (Cook u. a. 2004). Die Behandlung der Versuchspflanzen erfolgte daher bei einem Entwicklungsstadium der Pflanzen von BBCH 55 (Median über alle Applikationsversuche je Behandlungsmittel) (Tabelle 16). Nach 2 bis 3 Tagen im Feld lag der BBCH der Pflanzen im Median bei 57 über alle Applikationsversuche für alle Behandlungsmittel. Die Anzahl der Käfer unterschritt für alle Behandlungsvarianten und die Kontrolle deutlich die vorgegebene Schadschwelle (im BBCH-Stadium 53-55: 8 Käfer pro Pflanze (4 bei schwachem Raps) bzw. im BBCH-Stadium 57-59 bei 10 Käfern pro Pflanze (5 bei schwachem Raps) (Bartels, Habelah-Korr, und Schäfer 2020).

Tabelle 16 Semi-Freilandversuche Daten

Datum Applikation	Datum Ernte	N Pflanzen je Behandlungsmittel	BBCH (Median) vor	BBCH (Median) nach
27.03.2020	30.03.2020	15	55	57
07.04.2020	09.04.2020	15	55	60
20.04.2021	22.04.2021	15	55	57
26.04.2022	28.04.2022	8	55	60
29.04.2022	02.05.2022	15	53	57

Die Auswertbarkeit Ergebnisse hängt stark von der Witterung bei der Durchführung der Versuche ab. Die Witterung bestimmt über das Auftreten der Schädlinge und deren Aktivität in Bezug auf den Schaden. Im Versuchsjahr 2020 trat bei der Durchführung der zweiten Wiederholung sowie bei der ersten Durchführung 2021 während der Aufstellung der behandelten Pflanzen im Feld leichter Niederschlag auf. Bei der zweiten Durchführung 2021 lag die Temperatur im Mittel bei 4,1 °C. 2022 lag bei der ersten Durchführung unter 10 °C und während der Aufstellung im Feld trat leichter Niederschlag auf. Dieser Regen und die niedrigen Temperaturen führten zu einer geringen Abundanz und Aktivität der Rapsglanzkäfer und somit nicht auswertbaren Ergebnissen. Diese Daten wurden aus bei der Auswertung ausgeschlossen. Die, in die Auswertung einbezogenen Datenreihen sind in Tabelle 14 dargestellt. Bei der Applikation am 26.04.2022 standen nicht ausreichend Pflanzen im erforderlichen Entwicklungsstadium zur Verfügung.

Der mittlere Befall der Pflanzen mit den Rapsglanzkäfern lag in den unbehandelten Kontrollen bei 0,73 (2020); 1,73 (2021) bzw. 0,76 (2022) je Pflanze. Damit variiert der Schädlingsdruck zwischen den Versuchsjahren, liegt jedoch weit unterhalb der o.g. Schadensschwelle. Die Behandlung der Versuchspflanzen erbrachte eine signifikante Reduktion der Anzahl der Käfer sowie der beobachteten Fraßschäden an den Blütenknospen der Versuchspflanzen (Tabelle 17). Die Applikation von Thymianhydrolat reduzierte die Anzahl der Fraßschäden am intensivsten mit knapp 50 %. Mit den Hydrolaten und Präparaten von Kiefer, Kümmel und Thymian mit Benetzungsmittel ergab sich eine Reduktion der Fraßschäden um >30 %. Für das Fenchel-Öl-Präparat zeigte sich eine vergleichsweise schwache Wirkung mit <20 %. Das Besprühen mit Wasser scheint das Auftreten der Käfer und der Fraßschäden zu begünstigen mit einer Zunahme um ca. 20 % der Fraßschäden sowie um 70 % für die der Anzahl der Käfer. Seimandi-Corda et al. (2021) zeigten, dass das Zählen der Fraßschäden an der Hauptinfloreszenz in Vergleich zum Zählen der Schäden aller Infloreszenzen der Pflanze bereits eine akkurate und schnelle Einschätzung des Schädlingsdruckes ermöglicht. Dies bestätigen auch die Werte bezüglich der Reduktion der für die Hauptinfloreszenz ermittelten Fraßschäden in den Versuchen. Die Faktoren für die Reduktion der Fraßschäden weichen von der Hauptinfloreszenz zur Summe aller Fraßschäden über die ersten vier Infloreszenzen um weniger als 5 % ab (Tabelle 17).

Tabelle 17 Semi-Freilandversuche 2020-2022 mit wässrigen ätherischen Ölen gegen Rapsglanzkäfer im Raps, einfaktorielles ANOVA, abweichende Buchstaben verdeutlichen Signifikanz, 2020: 2 Wiederholungen, 2021:1 Durchgang, 2022: 2 Wiederholungen

Behandlungsmittel	N Käfer je Pflanze	N Fraß gesamt je Pflanze MW	N Fraß gesamt je Pflanze SD	N Fraß gesamt je Pflanze Median	Faktor Reduktion Fraß gesamt	Signifikanz	N Fraß Hauptinfloreszenz je Pflanze MW	Faktor Reduktion Fraß Hauptinfloreszenz
THY	0,53	5,12	7,53	2,00	46,66	a	2,79	48,77
THY-PRO	0,79	6,05	8,26	3,00	36,90	ab	3,81	30,19
KIE	0,72	6,23	8,68	2,00	35,03	ab	3,79	30,39
FOE-O-PRO	0,79	7,19	9,55	4,00	25,06	ab	4,22	22,66
KUEM-PRO	0,67	6,02	8,49	3,00	37,27	ab	3,69	32,31
H2O-PRO	0,69	8,34	9,71	5,00	13,07	abc	4,54	16,80
H2O	0,96	11,71	13,08	7,00	-22,02	bc	6,39	-17,27
Kontrolle	0,80	9,59	11,76	5,00		c	5,45	

Antifungale Eigenschaften gegen phytopathogene Pilze

Unter Anwendung eines Papierfilter-basierten Diffusionsassays wurde die Wirksamkeit von Hydrolaten der für das Projekt ausgewählten Blüten-, Kraut- und Fruchtdrogen von Kamille, Oregano, Majoran, Salbei, Thymian, Kiefer, Kümmel und Fenchel gegen phytopathogene Pilze *in vitro* untersucht. Hierfür wurde der tägliche radiale Zuwachs des Pilzmyzels (siehe Abbildung 32) bestimmt. Als Referenz dienten Kontrollansätze mit Wasser (Positiv-Kontrolle) für die Hydrolatproben. Für die Negativ-Kontrollansätze mit Thymianöl-Standard erfolgte der Bezug auf Kontrollansätze mit wässriger Tween 80-Lösung. Die Berechnung der Hemmung des Myzelwachstums (MGI) wurde nach Soyly, Soyly, und Kurt (2006) durchgeführt. Die Hydrolate zeigten eine unterschiedlich stark ausgeprägte Hemmwirkung gegen die Pilze *Botrytis cinerea*, *Fusarium culmorum* und *F. sambucinum*, Hydrolate mit einer Hemmwirkung > 50 % sind in Abbildung 33 dargestellt.

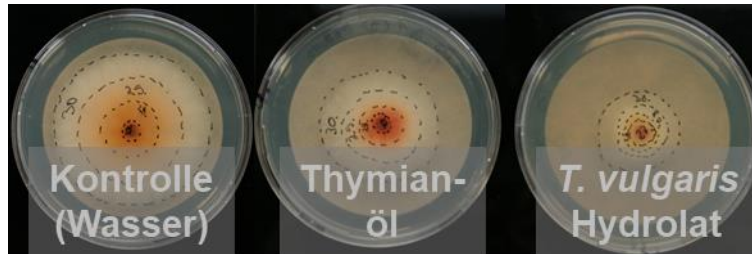


Abbildung 32 Hemmwirkung von Thymianöl (0,43 % (V/V)) und Thymianhydrolat auf *Fusarium culmorum* im Papierfilter-Diffusionsassay

Von den untersuchten Hydrolaten zeigte Thymianhydrolat für alle 3 Pilzspezies mit über 80 % über die ersten 2-3 Tage die intensivste Hemmwirkung auf das Myzelwachstum. Oregano erzielte eine Hemmwirkung > 50 % für *B. cinerea* und *F. culmorum* über den Untersuchungszeitraum. Bei *F. sambucinum* wurde dies nur am ersten Tag nach der Behandlung erreicht.

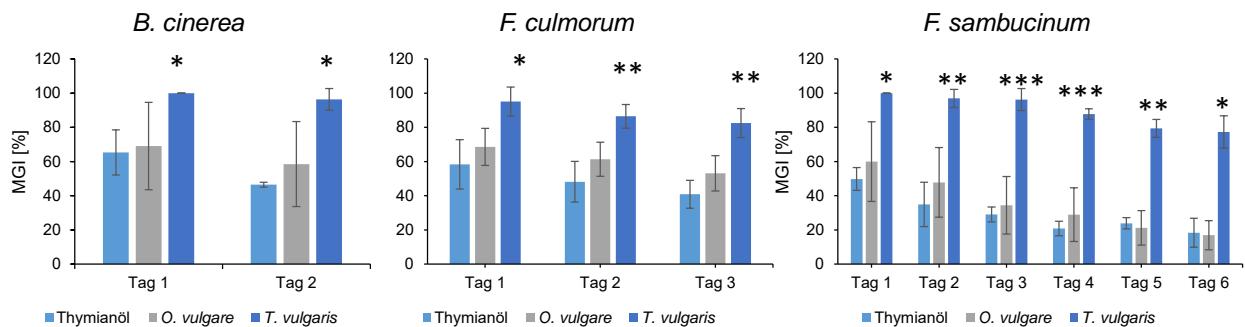


Abbildung 33 Hemmung des Myzelwachstums (MGI > 50 %) phytopathogener Pilze durch flüchtige Komponenten ausgewählter Hydrolate, Kultur auf Kartoffel-Dextrose-Agar in Petrischale, dunkel *Botrytis cinerea* bei 26 °C, *Fusarium sp.* bei 20 °C, 3 unabhängige Experimente mit je Ansatz in Duplikaten; *, **, ***: P-Wert < 0,05; 0,01; 0,001 (einfaktorielle ANOVA)

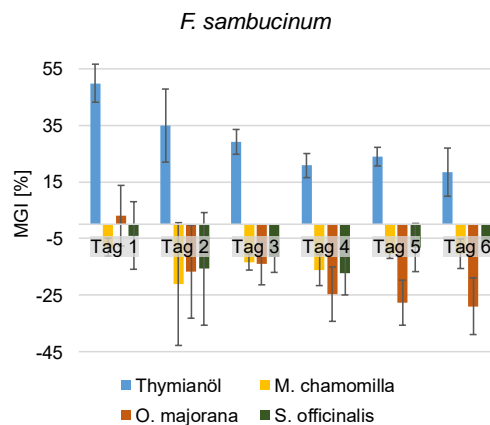


Abbildung 34 Effekt der Förderung des Myzelwachstums bei *F. sambucinum* durch Zugabe von Hydrolaten

Bei Behandlung von *F. sambucinum* mit Hydrolaten von Kamille, Majoran und Salbei wurde eine Intensivierung des Myzelwachstums im Vergleich zur Kontrollkultur beobachtet (Abbildung 34). Die Ursache dafür ist bisher nicht bekannt.

Einfluss von Hydrolaten auf Nichtzielorganismen

Biologisch-basierte Pflanzenschutzmittel gelten zunehmend als vielversprechende Alternative zu chemisch-synthetisch hergestellten Pflanzenschutzmitteln. Die Vorteile liegen u.a. in ihrer kostengünstigen und umweltfreundlichen Herstellung, sicheren Handhabung sowie auch der geringeren Wahrscheinlichkeit zur Ausbildung von Resistenzen durch die Schaderreger, Allerdings unterliegen auch biologisch-basierte Pflanzenschutzmittel und Wirkstoffe verschiedenen z.T. noch unbekanntem Abbaumechanismen in der Natur, Bisher gibt es nur wenig Informationen über die Umwelteffekte von biologischen Pflanzenschutzmitteln (M. Rosa Pino-Otín u. a. 2019). Daher ist es unabdingbar die ökotoxikologische Wirkung bei der Entwicklung der Pflanzenschutzmittel zu untersuchen und die Effekte auf Nichtzielorganismen zu betrachten. Für die in den

vorangegangenen Untersuchungen als vielversprechend herausgestellten Hydrolate von Thymian und Kiefer erfolgte am JKI-ÖPV die Untersuchung der Effekte auf Mikroorganismen, die für die Stickstoffmineralisierung im Boden verantwortlich sind, sowie Regenwürmer als Makroorganismen im Boden.

N-Mineralisierung in Nitrifikation im Boden

Die Bestimmung der Stickstoffmineralisierung und Nitrifikation erfolgte nach DIN EN ISO 14238:2014 (2013) unter Verwendung von LUFA 2,2 Standardboden und Zugabe von Hydrolaten der Kiefer sowie Thymian in den Konzentrationsstufen 0; 30; 60 sowie 120 ml je kg Bodentrockenmasse. Mikroorganismen im Boden bewirken die Mineralisierung des in organischen Verbindungen im Boden gebundenen Stickstoffs über die Ammonifizierung Ammonium. Diesem Prozess schließt sich die Nitrifikation an, bei dem durch mikrobielle Oxidation Ammonium zu Nitrit und Nitrat umgesetzt wird. Störungen dieser Prozesskette können die Bodenfruchtbarkeit beeinflussen.

Der Einfluss der Kiefer- und Thymianhydrolate auf den Ammoniumgehalt im Boden ist für Konzentrationen bis 120 ml/kg Bodentrockenmasse in dem betrachteten Untersuchungszeitraum von 56 Tagen mit gering einzuschätzen (Abbildung 35 B). Bei Zugabe von Thymianhydrolat zum Boden zeichnete sich zu Beginn des Versuches ein erhöhter Ammoniumgehalt im Boden ab. Die Ursache dafür wird darin vermutet, dass Thymol bei der Bestimmung von Ammonium gemäß der Berthelotreaktion mit den Analysenreagenzien reagiert. Aus Monochloramin, einem Zwischenprodukt der Extraktionslösung entsteht mit Thymol unter Katalyse durch Nitroprussid N-Chlor-2-isopropyl-5-methylchinon-monoimin. Mit einem weiteren Thymolmolekül reagiert dieses zu dem Farbstoff Indophenolblau, welcher bei der photometrischen Messung miterfasst wird. Zum Versuchsende verdunstet Thymol aus dem Bodensubstrat und ermöglicht dadurch eine Einschätzung des Einflusses der Thymianhydrolatzugabe gemäß DIN EN ISO 14238:2014 (2013).

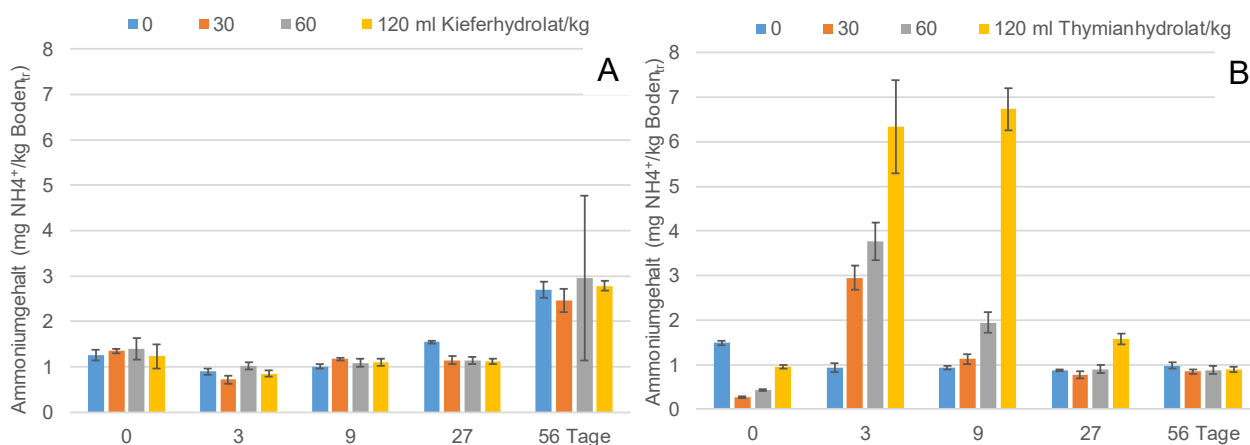


Abbildung 35 Effekt der Hydrolate *Pinus sylvestris* (A) bzw. *Thymus vulgaris* (B) auf Ammonium (NH₄⁺)-gehalt nach DIN EN ISO 14238:2014 (2013); 4 Wiederholungen in LUFA 2,2 inkl. N-haltiges Substrat (C:N 15:1) bei 20 °C, Bodenfeuchte 50 % der maximalen Wasserhaltekapazität, dunkel

Mit Hinblick auf die Nitrifizierung stellte trotz der starken Streuung der Messwerte sich eine Tendenz heraus, dass eine Konzentration von bis zu 60 ml Hydrolat/kg Bodentrockenmasse eine akzeptable Auswirkung auf die Bodenmikroorganismen zeigt (Abbildung 36). Die Nitritgehalte der Bodenproben lagen unterhalb der Bestimmungsgrenze und wurden daher nicht in die Auswertung einbezogen.

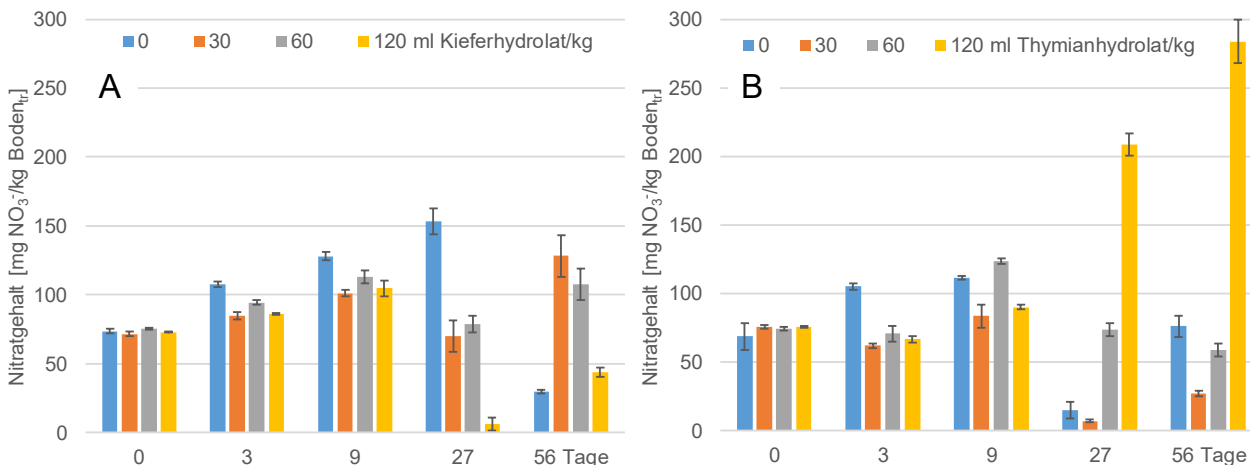


Abbildung 36 Effekt der Hydrolate *Pinus sylvestris* (A) bzw. *Thymus vulgaris* (B) auf Nitrat (NO₃⁻)-Gehalt nach DIN EN ISO 14238:2014 (2013); 4 Wiederholungen in LUFA 2,2 inkl. N-haltiges Substrat (C:N 15:1) bei 20 °C, Bodenfeuchte 50 % der maximalen Wasserhaltekapazität, dunkel

Effekte auf den Kompostwurm

Die Wirkung von Hydrolaten auf den Kompostwurm *Eisenia fetida* S. wurde nach dem Fluchttest ISO/FDIS 17512-1 (2008) sowie der Bestimmung der akuten Toxizität EN ISO 11268-1 (2015) untersucht. Basierend auf den Ergebnissen der Biotests erfolgte die Bestimmung nach Zugabe von den Hydrolaten der Kiefer sowie Thymian in den Konzentrationsstufen 0; 30 sowie 120 ml je kg Bodentrockenmasse (LUFA 2.2 Standardboden). Ab einer Vermeidung von über 20 % liegt eine Limitierung des Habitats vor, ab 80 % ein deutlicher Effekt auf das Verhalten der Testorganismen. Ab einem Biomasseverlust von 20 % wird dieser gemäß EN ISO 11268-1 (2015) als kritisch eingestuft.

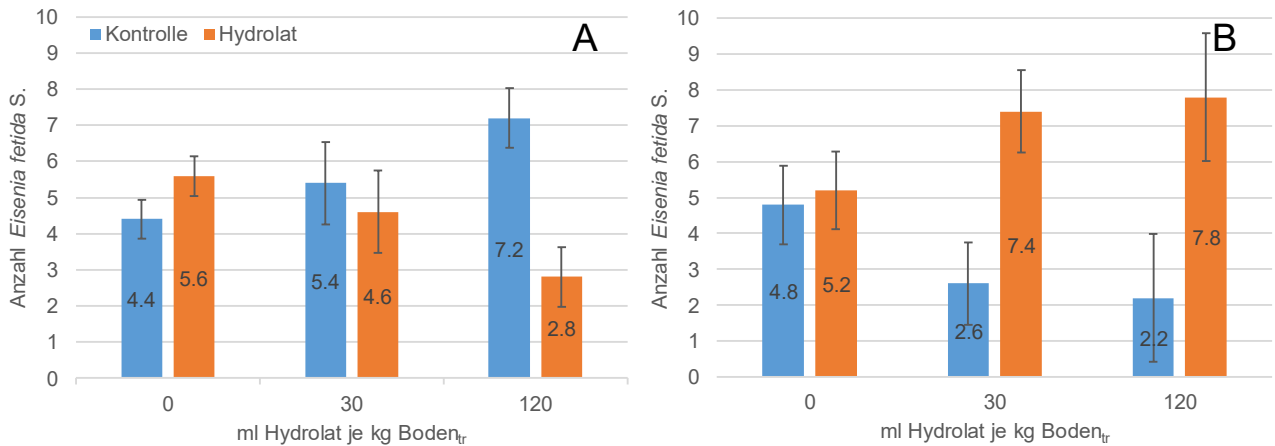


Abbildung 37 Fluchttest nach ISO/FDIS 17512-1 (2008): Auszählung nach 48 h mit Hydrolat von *Pinus sylvestris* (A) bzw. *Thymus vulgaris* (B); n = 10 Versuchstiere je Ansatz, 5 Wiederholungen in LUFA 2.2 bei 20 °C, Bodenfeuchte 50 % der maximalen Wasserhaltekapazität, Beleuchtung mit 1000 Lux mit 16/8 h Licht/Dunkel

Ab einer Konzentration von 120 ml/kg Bodentrockenmasse zeigt *E. fetida* gegenüber Kieferhydrolat eine Limitierung des Habitats vom behandelten Boden in den unbehandelten Kontrollböden (siehe Abbildung 37A sowie Tabelle 18). Das Fluchtverhalten (Tabelle 18) zeigt bei der Varianzanalyse mit den prozentualen Vermeidungen für die jeweilige Konzentrationsstufe mit einem P-Wert von 0,001 einen signifikanten Effekt. Für den o.g. Freilandversuch gegen den Rapsglanzkäfer wurden je kg trockenen Boden etwa 30 ml Hydrolat pro Pflanze appliziert. Dies entspricht der geringsten Konzentrationsstufe in dem Fluchttest und zeigte folglich für Kieferhydrolat keine Beeinflussung der Würmer im Fluchtverhalten. Bei Zugabe von Thymianhydrolat zum Testboden zeigte sich bei beiden untersuchten Konzentrationsstufen eine Abwanderung aus dem Kontrollboden in den mit Hydrolat behandelten Sektor mit einer Abwanderung von ca. 50 % (siehe Abbildung 37B sowie Tabelle 18) mit signifikantem Effekt (P=0,02). Es wird vermutet, dass in dem Hydrolat für die Tiere verwertbare Substanzen enthalten sind, welche eine Abwanderung erklären könnten. Die Extraktion des Thymianhydrolates mit n-Hexan zeichnete sich Thymianhydrolat durch einen hohen Thymol-Anteil im Hexanextrakt aus. Ob Thymol ein für *E. fetida* verwertbares Substrat darstellt, ist nicht bekannt.

Tabelle 18 Fluchtverhalten von *Eisenia fetida* S, gegenüber Hydrolaten im Boden, LUFA 2.2

Zugabe Hydrolat [ml/ kg Bodentrockenmasse]	Vermeidung [%] <i>Pinus sylvestris</i>	Vermeidung [%] <i>Thymus vulgaris</i>
0	-12	-4
30	8	-48
120	44	-56

In den Versuchsreihen zur akuten Toxizität der Hydrolate überlebten alle Versuchstiere die Behandlung des Bodens mit *P. sylvestris* sowie *T. vulgaris* – Hydrolat. Ebenso zeigten sich keine Hinweise auf eine Verhaltensänderung bei den behandelten Tieren. Die Untersuchungen zur akuten Toxizität der Hydrolate ergaben, dass in Gegenwart von *P. sylvestris* - Hydrolat mit zunehmender Konzentration die Biomasse der Regenwürmer im Boden abnimmt (Abbildung 38A). Diese liegt bei der höchsten Konzentration von 120 ml/kg im Mittel bei 0,32 g Feuchtgewicht je Prüfgefäß und damit unter 10 % und unterscheidet sich signifikant (P=0,004) von den anderen Varianten. Bei Exposition mit *T. vulgaris* - Hydrolat zeigte sich mit zunehmender Konzentration des Hydrolates eine Zunahme der Biomasse der Regenwürmer über den Versuchszeitraum (Abbildung 38B). Dieser Effekt ist mit einem P-Wert von 0,02 deutlich weniger signifikant als für Kieferhydrolat beobachtet wurde. Der mittlere Biomasseverlust liegt für beide Hydrolate bei beiden Konzentrationsstufen < 10 % und somit kann eine akut toxische Wirkung gemäß (EN ISO 11268-1) vernachlässigt werden (siehe

Abbildung 38). Damit zeigten beide Hydrolate mit bis zu 120 ml/kg Boden verträgliche ökologische Nebenwirkungen auf die Makroorganismen im Boden und stellen eine vielversprechende Grundlage für die Entwicklung von diesen Hydrolaten als Pflanzenschutzmittel dar.

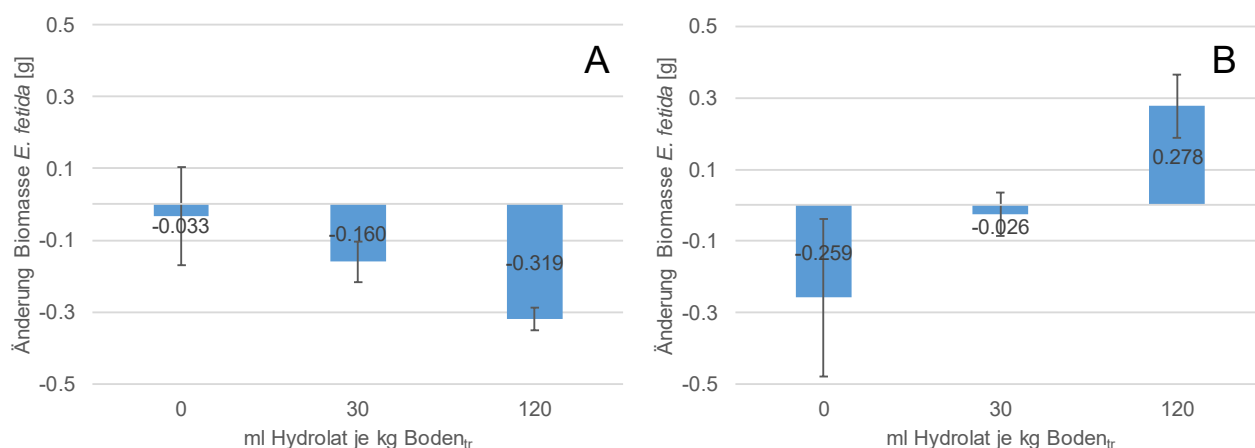


Abbildung 38 Bestimmung der akuten Toxizität Hydrolat auf *Eisenia fetida* über Gewichtsänderung nach 14 d gemäß (EN ISO 11268-1) für *Pinus sylvestris* (A) bzw. *Thymus vulgaris* (B); n = 10 Versuchstiere je Ansatz, 4 Wiederholungen in LUFA 2,2 bei 20 °C, Bodenfeuchte 50 % der maximalen Wasserhaltekapazität, Beleuchtung mit 1000 Lux mit 16/8 h Licht/Dunkel

Hydrolate werden weit verbreitet mit einer geringen Umweltauswirkung eingeschätzt. Allerdings zeigten erste Studien mit Hydrolaten von Lavendel und *Artemisia* bereits Auswirkungen auf einzelne Organismen und Gemeinschaften in Gewässern und edaphischen Umgebungen (María Rosa Pino-Otín u. a. 2022). Für Hydrolat von *Satureja montana*, welches Carvacrol mit 24 mg/L und Thymol mit 1 mg/L als Hauptkomponenten enthält zeigte sich eine Mortalität der Regenwürmer mit einem LC₅₀ von 4,25 % bzw. LC₁₀ von 0,34 % (María Rosa Pino-Otín u. a. 2022). Diese Mortalität war somit höher, als zuvor bei Hydrolat von Lavendel und *Artemisia* beobachtet worden war. Die Toxizität von ätherischen Ölen mit Carvacrol und Thymol als Hauptkomponenten wird hingegen minimal eingeschätzt (Benelli, Pavela, Petrelli, u. a. 2019; Benelli, Pavela, Maggi, u. a. 2019). Die Ursache für die abweichende Wirkung wird in der höheren Bioverfügbarkeit der Wirkstoffe in der wässrigen Lösung gesehen, da Thymol vergleichsweise gut in Wasser löslich ist.

2. Verwertung

2.1 Wirtschaftliche Erfolgsaussichten nach Projektende (mit Zeithorizont) - z.B. auch funktionale/wirtschaftliche Vorteile gegenüber Konkurrenzlösungen, Nutzen für verschiedene Anwendergruppen/-industrien am Standort Deutschland, Umsetzungs- und Transferstrategien (Angaben, soweit die Art des Vorhabens dies zulässt)

Kategorie	Verwertung	Instrumente	Zeithorizont	Ausführender	Detaillierung
3.4.1. Wirtschaftliche Erfolgsaussichten der Verwertung	• Schaffung neuer Prozesse und Verfahren	• Prozessentwicklung • Prozesspatent	• mittelfristig • langfristig	• ITVP/JKI	Neue Prozesse und Verfahren sollen entwickelt, dann veröffentlicht oder patentiert werden.
	• Schaffung neuer Produkte	• Produktentwicklung • Produktpatent	• mittelfristig • mittelfristig	• Dritte	Basierend auf entwickelten Verfahren erfolgt Produktentwicklung durch Partner.
	• Sicherung vorhandener / Schaffung neuer Arbeitsplätze	• Sicherung der Produktionskapazität • Erweiterung der Produktionskapazität	• kurz-mittelfristig • langfristig	• Dritte	Durch neuartige Prozesse werden langfristig Arbeitsplätze gesichert und erweitert.
	• Steigerung von Ertrag und Umsatz	• Erhöhung der Prozesseffizienz • Erhöhung Betriebszeiten von Anlagen	• kurz-mittelfristig	• Dritte	Durch eine Erhöhung der Prozesseffizienz kann eine höhere Wertschöpfung bewirkt werden.
	• Nachhaltigkeit bei der Produktion Effizienzsteigerung in der Wertschöpfungskette	• Vermeidung von Abfallströmen • Verwertung von Abfallströmen • Energieeinsparungen • Prozessintegration • Automatisierung/Digitalisierung	• mittel-langfristig • kurz-mittelfristig • kurz-mittelfristig • mittel-langfristig • kurz-mittelfristig	• Dritte	Durch moderne Verfahren und der Vermeidung bzw. Nutzung von Abfallströmen kann die Effizienz und die Nachhaltigkeit gefördert werden. Langfristig sollen Prozesse in intelligenten, automatisierten Anlagen intensiviert werden.
	• Verzahnung von Wissenschaft und Industrie	• Vorbereitung weiterer Kooperation • Wissenstransfer durch Weiterbildung	• mittel-langfristig • kurzfristig	• Dritte/ITVP/ JKI • ITVP/JKI	Durch das Projekt wird auch langfristig ein Wissenstransfer von Forschung zu Industrie und umgekehrt etabliert.
	• Vielfalt der Anwendergruppen	• Neue Zuchtziele durch ökonomisch relevante Nebeninhaltsstoffe • Verwertung von Reststoffen • Erweiterung der Produktvielfalt	• mittel-langfristig	• Dritte	Die Verwertung der Ergebnisse spricht eine Vielzahl von Nutzergruppen an: Pflanzenbau und -züchtung, Produzenten pflanzenbasierter Produkte, Hersteller pfl. Reinstoffe...)
	• Erschließung neuer Märkte	• Erweiterung der Nutzerkreise durch neue Technologie/Produkte	• Mittel-langfristig	• Dritte	Hersteller von Destillations-/Extraktionsanlagen und Bauteilen, Produzenten von Analysegeräten zur Prozessüberwachung, Produktkontrolle...

Der Anbau von Pflanzen zur Gewinnung ätherischer Öle ist in Deutschland nur für wenige Pflanzensysteme wirtschaftlich sinnvoll (FNR, Marktanalyse 2007). Arznei- und Gewürzpflanzen erfahren aktuell in Deutschland eine geringe Bedeutung als Kulturpflanze. Mit der anvisierten Ressourcen-effizienten Nutzung von pflanzlichen Rohstoffen wird nicht nur der heimische Anbau von Arznei- und Gewürzpflanzen, sondern auch die verarbeitende Industrie gefördert. Damit ist es auch möglich der Arznei- und Gewürzpflanze als solches, welche aktuell in Deutschland eine geringe Bedeutung als Kulturpflanze erfährt, eine zusätzliche Wertschätzung zu bieten. Durch einen weiteren Nutzen der Restströme und eine Verbesserung der Effizienz der Prozesse erfahren die Rohstoffe aus dem Anbau eine zusätzliche Wertschöpfung, welche kurz bis mittelfristig

zu einer Verbesserung der Chancen zur Vermarktung und damit Gewinnsteigerung für die Produkte sowie des Umsatzes der beteiligten Unternehmen beitragen kann. Durch die Verwertung von Reststoffen und die Erweiterung der Vielfalt der Produkte ergeben sich mittel- bis langfristig vielfältige Anwendergruppen wie beispielsweise aus dem Pflanzenbau, der Pflanzenzüchtung sowie Herstellern pflanzenbasierter Produkte allgemein.

Mit dem Projekt werden bei der Nutzung der Restströme mittel- bis langfristig neue Prozesse und Verfahren sowie auch neue Produkte z. B. biobasierte Pflanzenschutz- bzw. -stärkungsmittel geschaffen, wodurch langfristig Arbeitsplätze gesichert und erweitert werden können.

Aus der Bearbeitung dieser anwendungsorientierten Fragestellung zusammen mit Partnern und Interessenten aus der Industrie erschließt sich kurz- bis mittelfristig eine enge Verzahnung in Kooperation und gegenseitigem Wissensaustausch zwischen den wissenschaftlichen Forschungseinrichtungen JKI und ITVP mit der Industrie sowie einer langfristigen Kooperationsbereitschaft.

2.2 Wissenschaftliche und/oder technische Erfolgsaussichten nach Projektende (mit Zeithorizont) - u.a. wie die geplanten Ergebnisse in anderer Weise (z.B. für öffentliche Aufgaben, Datenbanken, Netzwerke, Transferstellen etc.) genutzt werden können. Dabei ist auch eine etwaige Zusammenarbeit mit anderen Einrichtungen, Firmen, Netzwerken, Forschungsstellen u.a. einzubeziehen,

Das in dem Projekt erarbeitete Wissen und technische Entwicklungen werden fortlaufend in Form von Veröffentlichungen und Vorträgen verbreitet. Von den Projektpartnern wurden in Bezug auf die wissenschaftlichen und technischen Erfolgsaussichten im Berichtszeitraum folgende Maßnahmen zur Verwertung durchgeführt:

Kategorie	Verwertung	Instrumente	Zeithorizont	Ausführender	Detaillierung
3.4.2. Wissenschaftliche und/ oder technische Erfolgsaussichten	• Schaffung von Know-how	• Tagungen • Weiterbildung • Veröffentlichungen	• kurzfristig • kurzfristig • kurzfristig	• ITVP/JKI	Das erarbeitete Wissen wird in Form von Veröffentlichungen und Vorträgen verbreitet. Ein entsprechender Weiterbildungskurs ist ebenfalls am ITVP bereits eingerichtet.
	• Steigerung der wissenschaftlichen Konkurrenzfähigkeit	• Erstellung von Prozessmodellen • Kostenrechnungen	• kurz-mittelfristig • kurzfristig	• ITVP/JKI	Prozessmodelle und Kostenrechnungen werden vertieft und durch Veröffentlichungen verbreitet.
	• Erschließung des Anwendungspotentials	• Standardisierung von Messapparaturen und experimentellen Prozeduren	• kurz-mittelfristig	• ITVP/JKI	Entwickelte Apparaturen für Routinemessungen sollen standardisiert und entsprechende Arbeitsanweisungen veröffentlicht werden.
	• Transfer zu Nutzergruppen	• Tagungen • Veröffentlichungen • Gremienarbeit (Dechema) • Weiterbildung	• Kurzfristig • Kurzfristig • Kurzfristig • kurzfristig	• ITVP/JKI	Hier dienen die Werkzeuge Tagungen/Veröffentlichungen/Weiterbildung. Zudem wird die Gremienarbeit u.a. in der ProcessNet Fachgruppe Phytoextrakte intensiviert.
	• Heranbildung von (wissenschaftlichem) Nachwuchs	• Abschlussarbeiten • Promotionen • Weiterbildung • Praktika	• kurzfristig • mittelfristig • kurzfristig • kurzfristig	• ITVP/JKI	Wissenschaftlicher Nachwuchs wird durch Themenvergabe in Abschlussarbeiten, Praktika während des Studiums und anschließender Promotionsmöglichkeit gefördert.
	• Nutzen für öffentliche Aufgaben	• Transfer von Know-how von TU Clausthal an Land Niedersachsen • Transfer von Know-how von JKI an Bundesrepublik Deutschland	• kurz-mittelfristig • kurz-mittelfristig	• ITVP/JKI • ITVP/JKI	Über die TU Clausthal wird Wissen für das Land Niedersachsen verfügbar. Das JKI macht als Bundesinstitut Wissen direkt für D/EU verfügbar.

Maßnahmen zur Verwertung	Geleistete Beiträge	Zeitraum
Schaffung von Know-how, Transfer zu Nutzergruppen durch Publikationen und Konferenzbeiträge	<p>JKI:</p> <p>Posterbeiträge, Fachvorträge auf Konferenzen</p> <p>Bspw. Bernburger Winterseminar 2019,2020 und 2022, DPG Arbeitskreis Raps 2021, Deutsche Pflanzenschutztagung 2021, Besuch der Agrarattachées 2022 am JKI Berlin, YSM (JKI) 2022</p> <p>Buchkapitel The potential use of steam distillation residues from medicinal plant material as a natural agricultural agent in: MEDICINAL AGROECOLOGY: reviews, case studies and research methodologies, ISBN 978-0-367-70556-5</p> <p>ITVP:</p> <p>Open-Access Veröffentlichungen: https://doi.org/10.3390/pr8050594 https://doi.org/10.3390/pr8070818</p> <p>Dritte Veröffentlichung Anfang 2022 geplant</p> <p>Fachvorträge und Posterbeiträge, Bernburger Winterseminar, ProcessNet Fachgruppentagung Phytoextrakte,...</p>	gesamter Projektzeitraum
Erschließung des Anwendungspotentials	<p>JKI:</p> <p>Erstellung standardisierter Arbeitsanweisungen für die Materialgewinnung, die Bedienung von Apparaturen zur Wasserdampf-Destillation und Routineanwendungen in der Analytik sowie der Durchführung der Biotests</p> <p>ITVP:</p> <p>Entwicklung von Methoden und Modellen für die Prozessentwicklung und den Scale-Up.</p> <p>Aufbau einer Pilotanlage für die Pilotierung.</p>	<p>gesamter Projektzeitraum</p> <p>gesamter Projektzeitraum</p>
Heranbildung von (wissenschaftlichem) Nachwuchs	<p>JKI:</p> <p>Betreuung von 3 studentischen Arbeiten, Auszubildenden und Schülern:</p> <p>Praktika und Praxisphasen</p> <p>Vorstellung des Projektes und Versuche beim Girls-Day 2022</p> <p>ITVP:</p> <p>Betreuung von studentischen Arbeiten:</p> <p>2 Masterarbeiten, 1 Bachelorarbeit</p> <p>Einarbeitung von studentischen Hilfskräften</p> <p>Entwicklung von Versuchen zur Vorstellung im Rahmen der Schülerinformationstage/ Zukunftstage</p>	gesamter Projektzeitraum

2.3 Wissenschaftliche und wirtschaftliche Anschlussfähigkeit für eine mögliche notwendige nächste Phase bzw. die nächsten innovatorischen Schritte zur erfolgreichen Umsetzung der Ergebnisse.

3.4.3. Wissenschaftliche und wirtschaftliche Anschlussfähigkeit	<ul style="list-style-type: none"> • Folgeprojekte 	<ul style="list-style-type: none"> • Vertiefung der Zusammenarbeit mit Partnern 	<ul style="list-style-type: none"> • mittel- langfristig 	<ul style="list-style-type: none"> • Dritte/ ITVP/ JKI 	Durch aufgedeckte Potentiale ergeben sich weitere Forschungsmöglichkeiten, die wahrgenommen werden.
	<ul style="list-style-type: none"> • Kontaktaufnahme zu Verwertern/Aktoren 	<ul style="list-style-type: none"> • Tagungen, Messen, Weiterbildung • Gremienarbeit (Dechema, FAH...) 	<ul style="list-style-type: none"> • kurzfristig • kurzfristig 	<ul style="list-style-type: none"> • ITVP/ JKI 	Mittels Gremienarbeit und vor allem Messen werden weitere Anwender angesprochen und in das Netzwerk integriert.

Durch regelmäßigen Austausch von Untersuchungsmaterial und Forschungsergebnissen zwischen den Forschungseinrichtungen am ITVP, am JKI und den interessierten bzw. beteiligten Partnern aus der Industrie wird die Zusammenarbeit mittel- bis langfristig vertieft. Dabei aufkommende weiterführende Fragestellungen, welche aufgrund Ihrer Komplexität bzw. fehlender Expertise seitens der Partner (noch) nicht in dem Projekt bearbeitet werden können, stellen die grundlegenden Ideen für förderfähige Anschlussprojekte dar. Fortlaufend über den Bearbeitungszeitraum des Projektes wird der Kontakt zu weiteren Verwertern für die Ergebnisse dieses Projektes gesucht um ein möglichst engmaschiges Netzwerk für den Nutzen der Projektergebnisse aufzubauen. Dieses soll ebenfalls der Erarbeitung und Sicherung anschlussfähiger Projektideen dienen.

Mit dem aufgedeckten Potential der vielfältigen Anwendungsmöglichkeiten für wässrige Hydrolate und auch Pflanzenextrakte, z. B. im Pflanzenschutz, ergeben sich vielfältige weitere Forschungsmöglichkeiten. Diese sollen im Rahmen nachgeschalteter Projekte beispielsweise mit anderen Fachinstituten des JKI oder auch weiteren potentiellen Partnern näher etabliert werden.

3. Erkenntnisse von Dritten

Eine umfangreiche Literaturrecherche über die Nutzung von Restströmen der Wasser(dampf)-Destillation stellte vielfältige Arbeiten zur Analyse der Zusammensetzung von Hydrolaten sowie auch der destillierten Biomasse heraus. Ein Großteil der Arbeiten konzentriert sich auf die Betrachtung von Pflanzensystemen, welche für den heimischen Anbau von geringer Bedeutung sind. Beispiele hierfür sind Lavendel (*Lavandula augustifolia* und *L. latifolia*) (Šmigielski u. a. 2013; Méndez-Tovar u. a. 2015; Parejo u. a. 2002; Santana-Méridas, González-Coloma, und Sánchez-Vioque 2012; Ortiz-de Elguea- Culebras u. a. 2017; Prusinowska u. a. 2016) und Rosmarin (Wollinger u. a. 2016; Hay u. a. 2015). Daneben wurden Arbeiten zu Salbei (Sağdıç und Özcan 2003; Tornuk u. a. 2011; Santana-Méridas, González-Coloma, und Sánchez-Vioque 2012; Veličković u. a. 2008) und Thymian (Santana-Méridas, González-Coloma, und Sánchez-Vioque 2012; Tabti u. a. 2014; Tornuk u. a. 2011; Hay u. a. 2015) beschrieben, welche in dem Projekt als Grundlage dienen und als Referenz herangezogen werden. Einzelne Arbeiten beschreiben die stoffliche Zusammensetzung der Restströme, aber nicht die gleichzeitig die Anwendung dieser. Für die Analyse der stofflichen Zusammensetzung von z. B. Hydrolaten wird kein einheitliches Verfahren beschrieben, was einen Vergleich der Erkenntnisse erschwert. Neben der stofflichen Zusammensetzung erfolgten für einige Pflanzenspezies Untersuchungen zum antioxidativen Potential (Prusinowska u. a. 2016; Di Leo Lira u. a. 2009; Wollinger u. a. 2016), jedoch auch hier unter Verwendung verschiedener Methoden. Ebenso wird für einzelne Pflanzenspezies über antimikrobielle (Tornuk u. a. 2011; Di Leo Lira u. a. 2009; Sağdıç und Özcan 2003), insektizide (Zekri u. a. 2016; Petrakis u. a. 2015; Traka u. a. 2018) und auch fungizide (Tabti u. a. 2014) Eigenschaften berichtet z. T. ohne Belege über die stoffliche Zusammensetzung (Sağdıç und Özcan 2003). Zudem entstammen die Hydrolate zumeist Destillationsprozessen der Hydrodestillation im Labormaßstab (Prusinowska u. a. 2016; Sağdıç und Özcan 2003; Tornuk u. a. 2011), wobei unklar ist, ob die damit gewonnenen Erkenntnisse direkt auf industriell gewonnenen Hydrolate übertragen werden können.

Bei der Durchführung des Vorhabens sollten Methoden zum Einsatz kommen, welche einen Vergleich der erzielten Erkenntnisse untereinander sowie mit der Literatur ermöglichen.

Im Rahmen der Recherche zum Stand der Technik der Modellierung der Dampfdestillation als Verfahren zur Gewinnung von ätherischen Ölen und der adsorptiven Trennung von ätherischen Ölkomponenten sind keine Ergebnisse bekannt geworden, die für die Durchführung des Vorhabens relevant sind.

4. Veröffentlichungen

Die Ergebnisse des Projektes wurden in verschiedenen Poster- und Fachvorträgen verbreitet. Darunter regelmäßige Beiträge bei den Bernburger Winterseminaren, dem Phytotag der Dechema und den ProcessNet Fachgruppentagungen der FG Phytoextrakte, sowie der Achema Pulse 2021 und dem DPG Arbeitskreis Raps 2021, der Deutschen Pflanzenschutztagung 2021 und dem Young Scientist Meeting (JKI) 2019 und 2022.

Bisher wurden die Ergebnisse des Projektes in den Veröffentlichungen „Distinct and Quantitative Validation for Predictive Process Modelling in Steam Distillation of Caraway Fruits and Lavender Flower Following a Quality-By-Design (QbD) Approach“ und „Technical Potential for Energy and GWP Reduction in Chemical–Pharmaceutical Industry in Germany and EU—Focused on Biologics and Botanicals Manufacturing“ in dem Open Access Journal „Processes“ des Verlags MDPI veröffentlicht. Eine dritte Veröffentlichung ist aktuell in Bearbeitung.

Der Einsatz und die Möglichkeiten von Hydrolaten im Pflanzenschutz wird in dem Buchkapitel „The potential use of steam distillation residues from medicinal plant material as a natural agricultural agent“ beschrieben, welches ab voraussichtlich 2023 verfügbar ist. Eine weitere Veröffentlichung zur Wirkung von Hydrolaten gegen phytopathogene Pilze und Schadinsekten im Raps ist in Vorbereitung für Ende 2022. Ebenso ist eine Publikation zur Destillationsbegleitenden Analytik von Kamille mittels Spektroskopie in Bearbeitung, Ziel ist Veröffentlichung im 1. Halbjahr 2023.

ANHANG

Teilvorhaben 22013713

1. Ziel und Gegenstand des Teilvorhabens

Das Ziel des Verbundvorhabens: Ressourceneffiziente Gewinnung pharmazeutischer Wirkstoffe aus Wasserdampf-Hydrolaten und Destillationsrückständen; Teilvorhaben 1: Gewinnung aus festen Destillations- und Extraktionsrückständen (Pflanzenmaterial, Trägermaterialien) ist die Entwicklung von Extraktionsprozessen und Prozessmodellen für die effiziente Gewinnung von Wertstoffen aus Pflanzenmaterial, das durch Dampfdestillation verarbeitet wird.

2. Bearbeitete Arbeitspakete

Arbeitspaket 1: In diesem Arbeitspaket wurden Beschaffungsmöglichkeiten für die untersuchten Stoffsysteme untersucht, bewertet und die Beschaffung des Probenmaterials organisiert und durchgeführt. Außerdem enthielt dieses Arbeitspaket die Bereitstellung der Extrakte, Hydrolate und Öle für die weiteren Arbeitspakete beider Projektpartner. Daher wurden fortlaufen Hydrodestillationen und Heißwasserextraktionen durchgeführt. Ferner sind Phasenscreenings und Elutionsmittel für die Aufreinigung der Hydrolate mittels Festphasenextraktion durchgeführt worden. Aus diesen Prozesseinzelschritten sind dann ganzheitliche Prozesse entwickelt worden.

Arbeitspaket 2:

In diesem Arbeitspaket sind physikochemische Modelle für die verschiedenen Stoffsysteme entwickelt und bewertet worden. Anschließend sind diese für Simulationsstudien verwendet worden. Außerdem wurden die entwickelten Laborprozesse in den Technikumsmaßstab überführt und Adaptionen an den Technikumsanlagen vorgenommen. Ausgehend von den neuen Erkenntnissen und den Simulationswerkzeugen sind Wirtschaftlichkeitsbetrachtungen durchgeführt worden.

Arbeitspaket 3: In diesem Arbeitspaket sind die Prozesse in-silico in den Produktionsmaßstab erhoben worden. Nach der Quality by Design Methode wurden außerdem alle relevanten Parameter ermittelt, bewertet und entsprechend so unter Kontrolle gebracht, dass robuste Prozesse garantiert werden konnten. Die verschiedenen Verfahrensmöglichkeiten und die unterschiedlichen Prozesskonfigurationen sind abschließend anhand ihrer Wirtschaftlichkeit, ihrer Ausbeutesteigerung und ihrer Umweltverträglichkeit bewertet worden. Außerdem wurde der Einsatz von Digitalen Zwillingen etabliert, welche über PAT und APC in noch zu entwickelnden Containerlösungen für autonom betriebene Anlagenkonzepte eingesetzt werden können und eine Chargenfreigabe in Echtzeit ermöglichen.

3. Wesentliche Ergebnisse des Teilvorhabens

Im Rahmen des Teilvorhabens wurden vom Pflanzenmaterial, bis zum Öl und Reinstoff alle benötigten Prozessschritte in den unterschiedlichen Maßstäben betrachtet. Die Prozesse wurden physiko-chemisch modelliert und für die Modelle wurden die benötigten Modellparameterbestimmungskonzepte entworfen. Die Modelle wurden über verschiedene Simulationsstudien so validiert, dass diese den real ablaufenden Prozess prädiktiv beschreiben können und sogar die Reproduzierbarkeit dieser Prozesse für verschiedene Stoffsysteme abbilden kann. Durch die gezielte Auslenkung von Prozessparameter können somit Störfälle simuliert und bewertet werden. Darauf aufbauend und begleitend wurden für die Prozesse nach dem Vorbild des Quality by Design Konzeptes entsprechende Studien durchgeführt und bewertet, welche zu einem Umfassenden Konzept zur Qualitätssicherung führen. Es wurden die kritischen Parameter und ihr Einfluss auf den Hydrodestillationsprozess bewertet und quantifiziert.

Für die Aufarbeitung der Hydrolate wurden umfassende Phasenscreenings durchgeführt und Trennversuche mit Hydrolaten zur Abtrennung der Zielkomponenten aus der Hydrolatphase durchgeführt. Außerdem wurde durch Fraktionierung gezeigt, dass die verschiedenen Komponenten im Hydrolat voneinander in Reinstoffe getrennt werden können. Eine zweite Extraktion des Tresters mittels der grünen Extraktionsmethode PHWE wurde ebenfalls erfolgreich untersucht und etabliert. Die Gewinnungspotentiale von im Trester verbliebenen Zielkomponenten stellen sich als vielversprechend heraus.

In den Upscaling und Wirtschaftlichkeitsstudien konnten Schwachpunkte in den aktuellen realen Prozessen identifiziert werden und es wurden Lösungsvorschläge gemeinsam mit den Industriepartnern erarbeitet. Entstanden ist schlussendlich eine Übersicht verschiedener Verfahrensmöglichkeiten mit einer Bewertung hinsichtlich ihrer Ausbeute, Wirtschaftlichkeit und Umweltverträglichkeit. Eine geschickte Verschaltung dieser verschiedenen Prozessmöglichkeiten, welche mit Abschluss des Projektes allesamt einsatzbereit sind, ermöglicht Gesamtprozessverbesserungen von bis zu 50 % verglichen mit dem herkömmlichen Prozess, der einfachen Hydrodestillation.

Durch dieses Projekt konnten die Methoden für die scale-up fähige Prozessentwicklung robuster Verfahren im Sinne der Kaskadennutzung etabliert werden. Unter zu Hilfenahme Digitaler Zwillinge, welche durch Methoden wie PAT erweitert werden, können die Prozessentwicklung und der Betrieb prozesstechnisch und wirtschaftlich optimiert werden. Die damit verbundene Steigerung der Wertschöpfung und einer ganzheitlichen stofflichen Nutzung der pflanzlichen Rohstoffe ermöglicht obendrein eine Einsparung von Kohlenstoffdioxid-Emissionen.

Bei der Erarbeitung der Global Warming Potentiale der unterschiedlichen Prozessvarianten ist vor allem die Trocknung der Pflanzenmaterialien vor der Verarbeitung ins Gewicht gefallen, welche bis zu 90 % des gesamten GWP verursacht. Zur Erreichung der Klimaneutralität bis zum Jahr 2045 ist dafür eine Untersuchung und Etablierung von Prozessen zur Nutzung frischer, nicht getrockneter Pflanzen unbedingt notwendig. Zur Verkürzung von Lieferwegen und Lieferzeiten, welche das Pflanzenmaterial beschädigen könnten, ist daher eine Prozessanlage im Containerformat anzustreben. Diese sollte durch die Integration von PAT und fortschrittlicher Prozessregelungsmethoden als autonom Betrieben Anlage entwickelt werden.

Teilvorhaben 22021517

1. Ziel und Gegenstand des Teilvorhabens

Das Ziel des Verbundvorhabens: Ressourceneffiziente Gewinnung pharmazeutischer Wirkstoffe aus Wasserdampf-Hydrolaten und Destillationsrückständen; Teilvorhaben 2: Gewinnung aus flüssigen Destillations- und Extraktionsrückständen (Wasserdampf-Hydrolate, Destillationsmittel und Extraktionsmittel) ist die Untersuchung aller flüssiger Restphasen auf verbleibende pflanzliche Wertstoffe sowie deren Isolierung.

2. Bearbeitete Arbeitspakete

Arbeitspaket 1: Für das Projekt wurde Pflanzenmaterial zur weiteren Bearbeitung im Projekt bereitgestellt. Am JKI-ÖPV erfolgte der Anbau von Kamille, Salbei, Thymian, Majoran, Fenchel und Oregano. Weiteres Material wurde durch (Industrie-)Partner zur Verfügung gestellt. In umfangreichen Analysen erfolgte die destillative Aufarbeitung der Drogen und analytische Charakterisierung der Öle. Hydrolate wurden mittels n-Hexan extrahiert und der gewonnene Rückstand ätherischer Öle ebenfalls mittels GC-FID/MS charakterisiert. Ebenso erfolgte die Charakterisierung von Heißwasserextrakten aus der destillierten Biomasse, welche durch den Projektpartner ITVP zur Verfügung gestellt wurden. Die spektrale Analyse der Hydrolate und Tee-Extrakte mit dem im Projekt dafür beschafften Raman-Spektrometer Bravo zeigte keine auswertbaren Spektren für diese Anwendung, da die in den wässrigen Lösungen enthaltenen Rückstände ätherischer Öle zu gering sind. Eine Charakterisierung ätherischer Öle wäre jedoch möglich.

Arbeitspaket 2:

Für den Einsatz von wässrigen Restströmen der Wasserdampfdestillation, insbesondere Hydrolaten im Pflanzenschutz wurde die antifungale Wirkung verschiedener Hydrolate gegen phytopathogene Pilze *Botrytis cinerea*, *Fusarium culmorum* und *F. sambucinum* untersucht. Daneben erfolgten Biotests zur Orientierung von Rapsglanzkäfern als Hauptschaderreger im Winterraps gegenüber Hydrolaten und wässrigen Extrakten sowie die Applikation der Lösungen im Semi-Freiland.

Neben den anvisierten Wirkmechanismen wurden für Thymian- und Kieferhydrolat auch die Effekte auf Mikroorganismen im Boden (Stickstoffmineralisierung) sowie Effekte auf den Kompostwurm untersucht.

3. Wesentliche Ergebnisse des Teilvorhabens

Im Rahmen des Teilvorhabens wurden wässrige Lösungen aus der Gewinnung ätherischer Öle mittels Wasserdampf-Destillation näher betrachtet. Der Fokus lag auf Pflanzenarten, die in Deutschland sowohl im Anbau als auch in der destillativen Verarbeitung relevant sind.

Die analytische Charakterisierung der Hydrolate und wässrigen Extrakte zeigte eine abweichende Zusammensetzung der Lösungen von den reinen ätherischen Ölen. Die Hydrolate enthalten v.a. polarere Komponenten des ätherischen Öles wie z.B. Carvon bei Kümmel, Thymol bei Thymian, Carvacrol bei Oregano und terinen-4-ol bei Majoran. Somit ergeben sich Anwendungsgebiete für diese Restströme, für die die reinen ätherischen Öle nicht geeignet sind. Im Pflanzenschutz gelten u.a. ätherische Öle zunehmend als biobasierte Alternativen zu chemisch synthetischen Pflanzenschutzmitteln. Die Öle konkurrieren hierbei jedoch mit der viel wertbringenderen Anwendung im Bereich Pharma und Kosmetik. Die Verwendung von bisher nicht vollständig wertschöpfend genutzter Reststoffe wie Hydrolate und Heißwasserextrakte der destillierten Biomasse im Pflanzenschutz stellt hier eine geeignete Alternative dar.

Zur Abschreckung von Rapsglanzkäfern zeigten ein Öl-Präparat der Fenchelsorte FOE25 sowie der wässrige Extrakt des Arzneifenchels die intensivste repellente Wirkung mit RI-Werten von ca. 80 % über beide Geschlechter. Kiefer- und Thymianhydrolate erzielten hier etwas geringere Werte von 70 bzw. 50 % im Mittel für beide Geschlechter. Insgesamt zeigen sich jedoch keine signifikanten Wirkungen der Behandlungen auf die Orientierung der Rapsglanzkäfer gegenüber Luft. In den Semi-Freilandversuchen konnte die Anzahl der Fraßschäden durch die Behandlung mit Hydrolaten bzw. wässrigen Lösungen signifikant gegenüber den Kontrollen mit Wasser sowie unbehandelten Pflanzen reduziert werden. Die stärkste Reduktion der Fraßschäden zeigte Thymianhydrolat mit knapp 50 % je Pflanze. Thymianhydrolat zeigte bei der Untersuchung der Hemmwirkung auf die phytopathogenen Pilze neben Oregano eine intensive Hemmung des Myzelwachstums in vitro. Damit ergeben sich neue Einsatzgebiete der wässrigen Lösungen bzw. Restströme der Wasserdampfdestillation im Pflanzenschutz. In den im Semi-Freiland eingesetzten Mengen an Hydrolat zeigten sich keine negativen Auswirkungen auf diese Nichtzielorganismen. Diese Untersuchungen sollten jedoch auf weitere Wirkstofflösungen und auch Nützlinge ausgeweitet werden.

Literatur

- Bartels, Anette, Verena Habelah-Korr, und Bernd Carl Schäfer. 2020. „Leitlinie des integrierten Pflanzenschutzes im Rapsanbau“. UNION ZUR FÖRDERUNG VON OEL- UND PROTEINPFLANZEN E. V. (UFOP). https://www.nappflanzenschutz.de/fileadmin/SITE_MASTER/content/IPS/Integrierter_Pflanzenschutz/Leitlinien_IPS/Raps.pdf.
- Bayrische Landesanstalt für Landwirtschaft. 1992. „Wasserdampf-Destillation Ätherischer Öle Aus Frischen Oder Angewelkten Pflanzen“.
- Benelli, Giovanni, Roman Pavela, Filippo Maggi, Joice Guileine Nkuimi Wandjou, N' Guessan Bra Yvette Fofie, Diénéba Koné-Bamba, Gianni Sagratini, Sauro Vittori, und Giovanni Caprioli. 2019. „Insecticidal Activity of the Essential Oil and Polar Extracts from *Ocimum Gratissimum* Grown in Ivory Coast: Efficacy on Insect Pests and Vectors and Impact on Non-Target Species“. *Industrial Crops and Products* 132 (Juni): 377–85. doi:10.1016/j.indcrop.2019.02.047.
- Benelli, Giovanni, Roman Pavela, Riccardo Petrelli, Loredana Cappellacci, Fabrizio Bartolucci, Angelo Canale, und Filippo Maggi. 2019. „*Origanum Syriacum* Subsp. *Syriacum*: From an Ingredient of Lebanese 'Manoushe' to a Source of Effective and Eco-Friendly Botanical Insecticides“. *Industrial Crops and Products* 134 (August): 26–32. doi:10.1016/j.indcrop.2019.03.055.
- Brennecke, Stefan, Andreas Degenhardt, Berthold Weber, Birgit Kohlenberg, und Gerhard Krammer. 2010. Flavor extracting device for isolation or analysis of volatile compounds. United States US20100242571A1, filed 24. März 2010, und issued 30. September 2010. <https://patents.google.com/patent/US20100242571A1/en>.
- Bucko, D., und I. Salamon. 2007. „THE ESSENTIAL OIL QUALITY OF CHAMOMILE, *MATRICARIA RECUTITA* L., AFTER ITS LARGE-SCALE DISTILLATION“. *Acta Horticulturae*, Nr. 749 (August): 269–73. doi:10.17660/ActaHortic.2007.749.34.
- Cerpa, Manuel G., Rafael B. Mato, und María José Cocero. 2008. „Modeling Steam Distillation of Essential Oils: Application to Lavandin Super Oil“. *AIChE Journal* 54 (4): 909–17. doi:10.1002/aic.11438.
- Cook, Samantha M, Nigel P Watts, Fiona Hunter, Lesley E Smart, und Ingrid H Williams. 2004. „Effects of a turnip rape trap crop on the spatial distribution of *Meligethes aeneus* and *Ceutorhynchus assimilis* in oilseed rape“. *IOBC/wprs Bull* 27 (10): 199–206.
- D'Amato, Serena, Annalisa Serio, Clemencia Chaves López, und Antonello Paparella. 2018. „Hydrosols: Biological activity and potential as antimicrobials for food applications“. *Food Control* 86 (April): 126–37. doi:10.1016/j.foodcont.2017.10.030.
- Daniel, Claudia. 2014. „OLFACTOMETER SCREENING OF REPELLENT ESSENTIAL OILS AGAINST THE POLLEN BEETLE (*MELIGETHES* SPP.)“. In *Building Organic Bridges*, herausgegeben von G. Rahmann und U. Aksoy, 4:1035–38. Braunschweig, Germany: Johann Heinrich von Thünen-Institut. doi:10.3220/REP_20_1_2014.
- Denny, EFK. 1979. „Steam distillation of the superficial essential oils: Hypotheses from studies with lavenders and mints“. *Perfum. Flavor* 4 (5): 14–18.
- Deutscher Apotheker-Verlag Doktor Roland Schmiedel. 2015. *Deutsches Arzneibuch 2015 (DAB 2015) Amtliche Ausgabe*.
- Di Leo Lira, P., D. Retta, E. Tkacik, J. Ringuet, J. D. Coussio, C. van Baren, und A. L. Bandoni. 2009. „Essential oil and by-products of distillation of bay leaves (*Laurus nobilis* L.) from Argentina“. *Industrial Crops and Products* 30 (2): 259–64. doi:10.1016/j.indcrop.2009.04.005.
- „DIN EN ISO 11268-1 Bodenbeschaffenheit - Wirkungen von Schadstoffen auf Regenwürmer - Teil 1: Bestimmung der akuten Toxizität auf *Eisenia fetida*/*Eisenia andrei* (ISO 11268-1:2012); Deutsche Fassung EN ISO 11268-1:2015“. 2015. <https://www.din.de/de/mitwirken/normenausschuesse/naw/wdc-beuth:din21:239816157>.
- „DIN EN ISO 14238:2014-03, Bodenbeschaffenheit_- Biologische Verfahren_- Bestimmung der Stickstoffmineralisierung und -nitrifizierung in Böden und der Einflüsse von Chemikalien auf diese Prozesse (ISO_14238:2012); Deutsche Fassung EN_ISO_14238:2013“. 2013. Beuth Verlag GmbH. doi:10.31030/2081435.
- European Medicines Agency. 2015. „Herbal Medicine: Summary for the Public *Matricaria Oil*, *Matricaria Recutita* L., *Aetheroleum* (2015)“.
- . 2016. „Assessment Report on *Salvia Officinalis* L., *Folium* and *Salvia Officinalis* L., *Aetheroleum* (2016)“.
- European Pharmacopoeia (Ph. Eur.), 10th Edition. 2020. „European Pharmacopoeia 10th Edition“. *European Pharmacopoeia Online*. <https://pheur.edqm.eu/home>.
- Forschungsvereinigung der Arzneimittel-Hersteller e.V. 2012. „Demonstrationsprojekt Arzneipflanzen (KAMEL)“.
- Gudi, Gennadi, Andrea Krähmer, Hans Krüger, Lothar Hennig, und Hartwig Schulz. 2014. „Discrimination of Fennel Chemotypes Applying IR and Raman Spectroscopy: Discovery of a New γ -Asarone Chemotype“. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 62 (16): 3537–47. doi:10.1021/jf405752x.
- Hay, Yann-Olivier Marie, Abril Sierra Ma, Tellez M, Sequeda C. Lg, Tellez A. An, Bonnafous C, und Raynaud C. 2015. „Phytochemical, Antioxidant and Antimicrobial Parameters of Essential Oils and Hydrosols

- of Colombian Thyme and Rosemary Obtained Using Two Different Steam Distillation Methods“. *International Journal of Phytocosmetics and Natural Ingredients* 2 (1): 7–7. doi:10.15171/ijpni.2015.07.
- He, Tian-Tian, Carolina Oi Lam Ung, Hao Hu, und Yi-Tao Wang. 2015. „Good Manufacturing Practice (GMP) Regulation of Herbal Medicine in Comparative Research: China GMP, CGMP, WHO-GMP, PIC/S and EU-GMP“. *European Journal of Integrative Medicine*, A Special Issue: Traditional and Integrative Approaches for Global Health, 7 (1): 55–66. doi:10.1016/j.eujim.2014.11.007.
- „HELIOSOL®“. 2022. Zugegriffen Oktober 21. <https://www.sumiagro.de/Promasprodukte/56.htm>.
- Huang, Chenyu, Wenwen Zhou, Chuanfei Bian, Long Wang, Yuqi Li, und Baotong Li. 2022. „Degradation and Pathways of Carvone in Soil and Water“. *Molecules* 27 (8). Multidisciplinary Digital Publishing Institute: 2415. doi:10.3390/molecules27082415.
- „ISO 17512-1 - 2008-12, Bodenbeschaffenheit - Vermeidungsprüfung zur Bestimmung der Bodenbeschaffenheit und der Auswirkungen von Chemikalien auf das Verhalten - Teil 1: Prüfung von Regenwürmern (Eisenia fetida und Eisenia andrei)“. 2008. <https://www.beuth.de/de/norm/iso-17512-1/115305854>.
- Jensch, Christoph, Larissa Knierim, Martin Tegtmeier, und Jochen Strube. 2021. „Development of a General PAT Strategy for Online Monitoring of Complex Mixtures—On the Example of Natural Product Extracts from Bearberry Leaf (Arctostaphylos Uva-Ursi)“. *Processes* 9 (12). Multidisciplinary Digital Publishing Institute: 2129. doi:10.3390/pr9122129.
- Kaufmann, HP. 1950. „Lothar von Jaminet, Ätherische Öle, Riechstoffe, Riechdrogen. Verlag Cram, de Gruyter & Co., Hamburg 1949, 120 S., Preis DM 12,—“. Wiley Online Library.
- Kind, Matthias, Alfons Mersmann, und Johann Stichlmair. 2005. *Thermische Verfahrenstechnik: Grundlagen und Methoden*. Springer.
- Kokoška, Ladislav, Klára Urbanová, Irena Valterová, Jaroslav Havlík, und Pavel Klouček. 2016. Způsob přípravy extraktu z oleje černuchy seté se zvýšeným obsahem thymochinonu. CZ305844B6, filed 23. Januar 2015, und issued 6. April 2016. <https://patents.google.com/patent/CZ305844B6/en?q=KOKO%C5%A0KA+Process+for+preparing+black+caraway+oil+extract+increased+content+of+thymoquinone.&dq=KOKO%C5%A0KA++Process+for+preparing+black+caraway+oil+extract+with+increased+content+of+thymoquinone>.
- Konstantinović, Bojan, Milena Popov, Nataša Samardžić, Milica Acimović, Jovana Šučur Elez, Tijana Stojanović, Marina Crnković, und Miloš Rajković. 2022. „The Effect of Thymus Vulgaris L. Hydrolate Solutions on the Seed Germination, Seedling Length, and Oxidative Stress of Some Cultivated and Weed Species“. *Plants* 11 (13). Multidisciplinary Digital Publishing Institute: 1782. doi:10.3390/plants11131782.
- Kroes, Burt H. 2014. „The Legal Framework Governing the Quality of (Traditional) Herbal Medicinal Products in the European Union“. *Journal of Ethnopharmacology*, Regulation of herbal and traditional medicinal products – European and global strategies (International Symposium TradReg2013), 158 (Dezember): 449–53. doi:10.1016/j.jep.2014.07.044.
- Liu, Jinjia, Jiangchao Zhang, Jinshan Shen, Huiting Zhao, Weihua Ma, und Yusuo Jiang. 2022. „Differences in EAG Response and Behavioral Choices between Honey Bee and Bumble Bee to Tomato Flower Volatiles“. *Insects* 13 (11). Multidisciplinary Digital Publishing Institute: 987. doi:10.3390/insects13110987.
- McClelland, George D. 1996. Hydrodistillation process for essential mint oils. United States US5582694A, filed 21. September 1994, und issued 10. Dezember 1996. <https://patents.google.com/patent/US5582694A/en>.
- Méndez-Tovar, Inés, Baudilio Herrero, Silvia Pérez-Magariño, José Alberto Pereira, und M. Carmen Asensio-S.-Manzanera. 2015. „By-product of Lavandula latifolia essential oil distillation as source of antioxidants“. *Journal of Food and Drug Analysis* 23 (2): 225–33. doi:10.1016/j.jfda.2014.07.003.
- Ortiz-de Elguea-Culebras, Gonzalo, María I. Berruga, Omar Santana-Méridas, David Herraiz-Peñalver, und Raúl Sánchez-Vioque. 2017. „Chemical Composition and Antioxidant Capacities of Four Mediterranean Industrial Essential Oils and Their Resultant Distilled Solid By-Products“. *European Journal of Lipid Science and Technology* 119 (12): 1700242. doi:10.1002/ejlt.201700242.
- Pangarkar, V.G. 2008. „Microdistillation, Thermomicrodistillation and molecular Distillation Techniques“. *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants*, 129–45.
- Parejo, Irene, Francesc Viladomat, Jaume Bastida, Alfredo Rosas-Romero, Nadine Flerlage, Jesús Burillo, und Carles Codina. 2002. „Comparison between the Radical Scavenging Activity and Antioxidant Activity of Six Distilled and Nondistilled Mediterranean Herbs and Aromatic Plants“. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50 (23): 6882–90. doi:10.1021/jf020540a.
- Pavela, Roman. 2011. „Insecticidal and Repellent Activity of Selected Essential Oils against of the Pollen Beetle, Meligethes Aeneus (Fabricius) Adults“. *Industrial Crops and Products* 34 (1): 888–92. doi:10.1016/j.indcrop.2011.02.014.
- Pavela, Roman, und Giovanni Benelli. 2016. „Essential Oils as Ecofriendly Biopesticides? Challenges and Constraints“. *Trends in Plant Science* 21 (12): 1000–1007. doi:10.1016/j.tplants.2016.10.005.
- Petrakis, E.A., A.C. Kimbaris, D.P. Lykouressis, M.G. Polissiou, und D.C. Perdakis. 2015. „Hydrosols evaluation in pest control: Insecticidal and settling inhibition potential against Myzus persicae (Sulzer)“. *Journal of Applied Entomology* 139 (4): 260–67. doi:10.1111/jen.12176.

- Pino-Otín, M. Rosa, Jonatan Val, Diego Ballester, Enrique Navarro, Esther Sánchez, und Ana M. Mainar. 2019. „Impact of Artemisia Absinthium Hydrolate Extracts with Nematicidal Activity on Non-Target Soil Organisms of Different Trophic Levels“. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 180 (September): 565–74. doi:10.1016/j.ecoenv.2019.05.055.
- Pino-Otín, María Rosa, Juliana Navarro, Jonatan Val, Francisco Roig, Ana M. Mainar, und Diego Ballester. 2022. „Spanish Satureja Montana L. Hydrolate: Ecotoxicological Study in Soil and Water Non-Target Organisms“. *Industrial Crops and Products* 178 (April): 114553. doi:10.1016/j.indcrop.2022.114553.
- Prusinowska, Renata, Krzysztof Śmigielski, Agnieszka Stobiecka, und Alina Kunicka-Styczyńska. 2016. „Hydrolates from lavender (*Lavandula angustifolia*) – their chemical composition as well as aromatic, antimicrobial and antioxidant properties“. *Natural Product Research* 30 (4): 386–93. doi:10.1080/14786419.2015.1016939.
- Roth, Thorsten, Lukas Uhlenbrock, und Jochen Strube. 2020. „Distinct and Quantitative Validation for Predictive Process Modelling in Steam Distillation of Caraway Fruits and Lavender Flower Following a Quality-By-Design (QbD) Approach“. *Processes* 8 (5). Multidisciplinary Digital Publishing Institute: 594. doi:10.3390/pr8050594.
- Sağdıç, Osman, und Musa Özcan. 2003. „Antibacterial activity of Turkish spice hydrosols“. *Food Control* 14 (3): 141–43. doi:10.1016/S0956-7135(02)00057-9.
- Santana-Méridas, Omar, Azucena González-Coloma, und Raúl Sánchez-Vioque. 2012. „Agricultural Residues as a Source of Bioactive Natural Products“. *Phytochemistry Reviews* 11 (4): 447–66. doi:10.1007/s11101-012-9266-0.
- Sartor, Rafael B., Argimiro R. Secchi, Rafael de P. Soares, und Eduardo Cassel. 2011. „Dynamic Simulation of Rosemary Essential Oil Extraction in an Industrial Steam Distillation Unit“. *Industrial & Engineering Chemistry Research* 50 (7). American Chemical Society: 3955–59. doi:10.1021/ie1015848.
- Sattler, Klaus. 2012. *Thermische Trennverfahren: Grundlagen, Auslegung, Apparate*. John Wiley & Sons.
- Schmidt, Axel, Lukas Uhlenbrock, und Jochen Strube. 2020. „Technical Potential for Energy and GWP Reduction in Chemical–Pharmaceutical Industry in Germany and EU—Focused on Biologics and Botanicals Manufacturing“. *Processes* 8 (7). Multidisciplinary Digital Publishing Institute: 818. doi:10.3390/pr8070818.
- Seimandi-Corda, Gaëtan, Todd Jenkins, und Samantha M. Cook. 2021. „Sampling Pollen Beetle (*Brassicogethes Aeneus*) Pressure in Oilseed Rape: Which Method Is Best?“ *Pest Management Science* n/a (n/a). doi:https://doi.org/10.1002/ps.6310.
- Sigley, Gary. 2015. „Tea and China’s Rise: Tea, Nationalism and Culture in the 21st Century“. *International Communication of Chinese Culture* 2 (3): 319–41. doi:10.1007/s40636-015-0037-7.
- Śmigielski, Krzysztof B., Renata Prusinowska, Krzysztof Krosowiak, und Magdalena Sikora. 2013. „Comparison of qualitative and quantitative chemical composition of hydrolate and essential oils of lavender (*Lavandula angustifolia*)“. *Journal of Essential Oil Research* 25 (4): 291–99. doi:10.1080/10412905.2013.775080.
- Soylu, E. Mine, Soner Soylu, und Sener Kurt. 2006. „Antimicrobial Activities of the Essential Oils of Various Plants against Tomato Late Blight Disease Agent *Phytophthora Infestans*“. *Mycopathologia* 161 (2): 119–28. doi:10.1007/s11046-005-0206-z.
- Stollberg, C., und FNR. 2011. „Entwicklung Eines Innovativen Verfahrens Zur Herstellung Von Reinsubstanzen Und Biofeinchemikalien Aus Pflanzeninhaltsstoffen Entwicklung Eines Innovativen Verfahrens Zur Herstellung Von Reinsubstanzen Und Biofeinchemikalien Aus Pflanzeninhaltsstoffen“.
- Tabti, Leila, Mohammed El Amine Dib, Nassim Djabou, Nassira Gaouar Benyelles, Julien Paolini, Jean Costa, und Alain Muselli. 2014. „Control of Fungal Pathogens of Citrus Sinensis L. by Essential Oil and Hydrosol of *Thymus Capitatus* L.“ *Journal of Applied Botany and Food Quality*; 87; 279-285. doi:10.5073/jabfq.2014.087.039.
- Thomson Reuters. 2017. „Web of Science. Veröffentlichungen Mit Dem Stichwort Essential Oil.“ [Http://apps.Webofknowledge.Com/Search.Do?Product=WOS&SID=X13Wjo6PmniMNFgur9K&search_mode=GeneralSearch&prID=5a1f8ceb-685d-47de-827c-04667dc53430](http://apps.webofknowledge.com/Search.Do?Product=WOS&SID=X13Wjo6PmniMNFgur9K&search_mode=GeneralSearch&prID=5a1f8ceb-685d-47de-827c-04667dc53430).
- Tornuk, Fatih, Hasan Cankurt, Ismet Ozturk, Osman Sagdic, Okan Bayram, und Hasan Yetim. 2011. „Efficacy of various plant hydrosols as natural food sanitizers in reducing *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella Typhimurium* on fresh cut carrots and apples“. *International Journal of Food Microbiology* 148 (1): 30–35. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2011.04.022.
- Traka, Ch. K., E. A. Petrakis, A. C. Kimbaris, M. G. Polissiou, und D. Ch. Perdikis. 2018. „Effects of *Ocimum basilicum* and *Ruta chalepensis* hydrosols on *Aphis gossypii* and *Tetranychus urticae*“. *Journal of Applied Entomology* 142 (4): 413–20. doi:10.1111/jen.12486.
- Uhlenbrock, Lukas. 2021. „Quality-by-Design zur systematischen Entwicklung von Wertschöpfungsprozessen pflanzlicher Rohstoffe“. Technische Universität Clausthal.
- Uhlenbrock, Lukas, Christoph Jensch, Martin Tegtmeier, und Jochen Strube. 2020. „Digital Twin for Extraction Process Design and Operation“. *Processes* 8 (7). Multidisciplinary Digital Publishing Institute: 866. doi:10.3390/pr8070866.
- Uhlenbrock, Lukas, Maximilian Sixt, und Jochen Strube. 2017. „Quality-by-Design (QbD) Process Evaluation for Phytopharmaceuticals on the Example of 10-Deacetylbaicatin III from Yew“. *Resource-Efficient Technologies* 3 (2): 137–43. doi:10.1016/j.refit.2017.03.001.

ULLMANN'S ENCYCLOPEDIA OF INDUSTRIAL CHEMISTRY. 2000.

- Veličković, Dragan T., Dragan M. Milenović, Mihailo S. Ristić, und Vlada B. Veljković. 2008. „Ultrasonic extraction of waste solid residues from the Salvia sp. essential oil hydrodistillation“. *Biochemical Engineering Journal* 42 (1): 97–104. doi:10.1016/j.bej.2008.06.003.
- Willow, Jonathan, Silva Sulg, Eve Kaurilind, Ana Isabel Silva, Riina Kaasik, Guy Smagghe, und Eve Veromann. 2020. „Evaluating the Effect of Seven Plant Essential Oils on Pollen Beetle (*Brassicoglyphus Aeneus*) Survival and Mobility“. *Crop Protection* 134 (August): 105181. doi:10.1016/j.cropro.2020.105181.
- Wollinger, Alexander, Élodie Perrin, Jamal Chahboun, Valérie Jeannot, Didier Touraud, und Werner Kunz. 2016. „Antioxidant activity of hydro distillation water residues from *Rosmarinus officinalis* L. leaves determined by DPPH assays“. *Comptes Rendus Chimie, Workshop on alternative solvents for extraction, purification and formulation (WAS2014)*, 19 (6): 754–65. doi:10.1016/j.crci.2015.12.014.
- Zekri, Nadia, Nadia Handaq, Abdelhamid El Caidi, Touria Zair, und Mohamed Alaoui El Belghiti. 2016. „Insecticidal Effect of *Mentha Pulegium* L. and *Mentha Suaveolens* Ehrh. Hydrosols against a Pest of Citrus, *Toxoptera Aurantii* (Aphididae)“. *Research on Chemical Intermediates* 42 (3): 1639–49. doi:10.1007/s11164-015-2108-0.
- Zhang, Lu-Lu, Yan Chen, Zhi-Jian Li, Xiao Li, und Gang Fan. 2022. „Bioactive Properties of the Aromatic Molecules of Spearmint (*Mentha Spicata* L.) Essential Oil: A Review“. *Food & Function* 13 (6). Royal Society of Chemistry: 3110–32. doi:10.1039/D1FO04080D.
- Ziegler, Herta. 2007. *Flavourings: Production, Composition, Applications, Regulations*. John Wiley & Sons.