



DIPLOMARBEIT

Titel der Diplomarbeit

„Vergleichende Untersuchung zur Extraktion von Arzneidroge(n)“

verfasst von

Dorothea Hartl

angestrebter akademischer Grad

Magistra der Pharmazie (Mag.pharm.)

Wien, Juni 2015

Studienkennzahl lt. Studienblatt:

A 449

Studienrichtung lt. Studienblatt:

Pharmazie

Betreut von:

ao. Univ. Prof. Mag. Dr. Gottfried Reznicek

Ich erkläre an Eides statt, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als angegebene Quellen und Hilfsmittel nicht direkt benutzt und die benutzten Quellen wörtlich und inhaltlich entnommenen Stellen als solche erkenntlich gemacht habe.

Ort und Datum: Wien, 08.06.2015

Verfasser: Dorothea Hartl

Unterschrift:

*Das Gewöhnliche geschieht nicht immer auf glattem, gewöhnlichem Weg
der Langsamste, der sein Ziel nicht aus den Augen verliert,
geht immer noch geschwinder als der, der ohne Ziel herumirrt.*

q.e.d.

Danksagung

Zu Beginn möchte ich all jenen herzlich danken, die zum guten Gelingen der Diplomarbeit beigetragen haben.

Danke an Frau Univ.-Prof. Dr. Verena Dirsch, für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes am Department für Pharmakognosie.

Ao. Univ. Prof. Mag. Dr. Gottfried Reznicek für die Möglichkeit diese Arbeit durchführen zu können. Für das Vertrauen und die Denkanstöße Probleme selbstständig lösen zu können, sowie für die, teils humorvollen, fachlichen Diskussionen und die Betreuung während des Arbeitens.

Allen Mitarbeitern des Department der Pharmakognosie, und besonders Ing. Christina Dangl. Sie ermöglichten es meine Arbeit in einem sehr kollegialen und offenen Umfeld durchführen zu können und standen mir mit Rat und Tat zur Seite.

Meinen Eltern und meiner Familie, dass sie stets an mich geglaubt haben, mich durch die langen Jahre des Studiums unterstützt haben und viel Verständnis für verschiedene Launen hatten. Sie legten den Grundstein für das was ich bis jetzt erreicht habe und hoffentlich noch erreichen werde.

Meinem Partner Michael Pock, der mich mit seinem chemischen Fachwissen, den Kenntnissen von Office, der Kunst des Formatierens und vor allem mit viel Geduld, Verständnis und Humor die Jahre des Studiums begleitet und unterstützt hat.

Meinen Freunden und besonders Mag. Britta Eggenreich die oft Verständnis für wenig Zeit haben mussten, jedoch es immer wieder schafften mir ein Lächeln abzugewinnen.

Frau Ostr. Dr. Waltraut Brunner die in mühevoller Kleinarbeit diese Arbeit auf Punkt und Komma und ihre grammatikalische Richtigkeit überprüfte.

1.	Einleitung und Problemstellung.....	1
2.	Material	3
2.1.	Drogen	3
2.1.1.	Thymian (Thymi herba).....	3
2.1.2.	Salbei (Salviae off. folium)	6
2.1.3.	Holler (Sambuci flos).....	8
2.2.	Reagenzien	11
2.3.	Geräte	12
2.3.1.	Mühle.....	12
2.3.2.	Siebanalyse.....	13
2.3.3.	Ultraschallbad	13
2.3.4.	Ultra- Turrax	14
2.3.5.	Turboextraktor	14
2.3.6.	Gaschromatograph.....	15
2.3.7.	Zentrifuge.....	15
2.3.8.	Rotorvapor	15
2.3.9.	UV/VIS- Spektrophotometer.....	15
3.	Methoden der Extraktion	16
3.1.	Mazeration.....	16
3.2.	Perkolation.....	17
3.3.	Ultraschallbad	18
3.4.	Ultra- Turrax- Extraktion.....	19
3.5.	Turboextraktion.....	19
3.6.	Optimierung der Extraktionsparameter (Ultraschallbad, Ultra-Turrax und Turboextraktion)	20
3.6.1.	Ultraschallbad	21
3.6.2.	Ultra-Turrax.....	22
3.6.3.	Turboextraktion.....	22
3.7.	Tee	23
3.8.	Übersicht der Extraktionsmethoden	24
3.9.	Droge- Extrakt Verhältnis (DEV)	25
4.	Verwendete Analysenmethoden	26
4.1.	Gaschromatographie	26
4.2.	UV/Vis- Spektrophotometrie	28
4.3.	EuAB Monographien.....	30
4.3.1.	Thymian	30

4.3.2. Salbei	30
4.3.3. Gehaltsbestimmung der Inhaltstoffe in Thymian und Salbei.....	31
4.3.4. Holler	33
5. Ergebnisse.....	35
5.1. Thymian	35
5.2. Salbei	40
5.3. Holler	45
5.4. Droge- Extrakt- Verhältnis (DEV).....	48
6. Diskussion.....	49
7. Zusammenfassung.....	51
8. Literaturverzeichnis	53
9. Abbildungs- und Tabellenverzeichnis	55
10. Abkürzungsverzeichnis	57
11. Anhang	58
12. Curriculum vitae	61

1. Einleitung und Problemstellung

Pharmazie beschreibt die Wissenschaft von den Arzneimitteln, von ihrer Herkunft, ihrer Herstellung und Überprüfung. Die Natur bietet eine Vielzahl von Arzneistoffquellen und die Erforschung und Anwendung dieser Arzneipflanzen wird seit Anbeginn der Menschheit genutzt. Die älteste Aufzeichnung der Eigenschaften von Heilpflanzen ist der Papyrus Ebers, der im sechzehnten Jahrhundert vor Christus verfasst wurde. Ab diesem Zeitpunkt bauten vor allem Griechen und Römer auf diesem Wissen auf und erweiterten es.

Heute ist in Österreich neben dem Österreichischen vor allem das Europäische Arzneibuch gültig. Ein Arzneibuch schreibt pharmazeutische Regeln über die Qualität, Prüfung, Lagerung und Bezeichnung von Arzneimitteln und die bei ihrer Herstellung und Prüfung verwendeten Stoffe, Materialien und Methoden vor. Amtliche Arzneibücher beruhen auf festgelegten Gesetzen und sind verbindlich.

Das Österreichische Arzneibuch (ÖAB) ist eine nationale Ergänzung zum Europäischen Arzneibuch und, enthält mehr als 260 Monographien.

Bei der Extraktion von Arzneidrogen zur Bereitung von Tinkturen, Fluid- bzw. Trockenextrakten ist man natürlich bestrebt, eine möglichst hohe Extraktionsausbeute an Inhaltstoffen, im Speziellen natürlich vor allem den Wirkstoffen, erreichen zu können. In den Arzneibüchern werden dafür zwei unterschiedliche Extraktionsverfahren, die Mazeration und die Perkolation, vorgeschrieben. Diese beiden offizinellen Verfahren haben ihre Spezifika und sollten für unterschiedliche Drogen besser oder weniger gut geeignet sind.

Andererseits ist es nicht immer nachvollziehbar, wann die eine oder die andere Methode für die Extraktionen der jeweiligen Drogen vorzuziehen wäre.

Durch den stetigen Fortschritt der Technik auch im Bereich der Pharmazeutischen Technologie sind noch andere Extraktionsverfahren entwickelt worden, die sich im Laufe der Zeit etabliert haben. Ziel dieser Diplomarbeit war es, die offizinellen Extraktionsmethoden für ausgewählte Arzneipflanzen auf ihre Effektivität zu überprüfen und mit möglichen alternativen Methoden der Extraktion zu vergleichen. Dazu wurden die ausgewählten Arzneidrogen mittels Mazeration, Perkolation, Ultraschallbad, Ultra-Turrax, Turboextraktion und Teezubereitung behandelt und die Ergebnisse miteinander verglichen. Die nicht offizinellen Methoden haben im Vergleich zu den beiden offizinellen Extraktionsmethoden deutliche zeitliche Vorteile, dagegen gibt es aber kaum Untersuchungen zur Effizienz der Extraktion im Vergleich zu den offizinellen Methoden.

Daher wurde versucht, ob gleichwertige oder vielleicht sogar bessere Resultate mit den wesentlich kürzeren Methoden erreicht werden können, ohne dabei qualitative und quantitative Einbußen einzufahren.

Dementsprechend sollte in der vorliegenden Diplomarbeit versucht werden, die Effizienz und Reproduzierbarkeit der oben erwähnten Methoden am Beispiel verschiedener Arzneidrogen und Wirkstoffklassen zu untersuchen.

2. Material

2.1. Drogen

2.1.1. Thymian (Thymi herba)

Die Stammpflanzen der offizinellen Arzneidrogen Thymi herba sind *Thymus vulgaris* (Echter Thymian) (siehe Abb. 1) bzw. *Thymus zygis* (Spanischer Thymian) und gehören zu der Familie der Lamiaceae.



Abb. 1: Thymian (*Thymus vulgaris*)

Die Arzneidroge Thymi herba setzt sich aus abgestreiften, getrockneten, unzerkleinerten Blättern und Blüten von *Thymus vulgaris* L. oder *Thymus zygis* L. oder von beiden Arten zusammen. Die Blätter sind lanzettlich, ganzrandig und am Rand nach unten eingerollt. Der charakteristisch intensive und aromatische Geruch beruht auf dem ätherischen Öl (1,0 – 2,5 %), das sich hauptsächlich aus den Monoterpen- Phenolen Thymol (30 – 50 %) und Carvacrol (3 – 5 %) zusammensetzt.

Die arzneilichen Hauptanwendungsgebiete sind Linderung der Symptome von Bronchitis und Keuchhusten sowie Katarrhe der oberen Luftwege, da die Inhaltsstoffe von Thymian bronchospasmolytisch, antibakteriell und expektorierend wirken [1].

Das Europäische Arzneibuch schreibt für die Identitätsprüfung sowohl eine makroskopische als auch eine mikroskopische Untersuchung vor. Die Epidermen der Blätter weisen perlschnurartig verdickte, wellige Zellwände und diacytische Spaltöffnungen auf. Die Drüsenzellen bestehen aus zwölf Exkretzellen mit einer durch das Exkret abgehobenen Kutikula, die die Form eines eiförmigen Bläschens annimmt. Drüsenhaare mit einem eiförmigen Köpfchen auf einem einzelligen Stiel aufsitzend sowie zahlreiche Deckhaare sind zu finden. Ein besonders charakteristisches Merkmal sind die zwei- bis dreizelligen warzigen Kniehaare. Zur Identifikation mittels DC-Überprüfung gilt folgende Vorschrift: Für die Untersuchungslösung wird 1 g pulverisierter Droge drei Minuten lang mit 5 ml Dichlormethan geschüttelt. Die Mischung wird über wasserfreies Natriumsulfat filtriert und auf eine DC-Platte mit Kieselgel F 254 aufgetragen. Parallel dazu wird eine Referenzlösung (Thymol und Carvacrol in Dichlormethan gelöst) aufgetragen. Als Fließmittel wird Dichlormethan verwendet. Die Laufstrecke beträgt 15 cm und nach der Lufttrocknung erfolgt die erste Detektion (Ergebnis A, siehe Abb. 2) im ultravioletten Licht bei 245 nm.

Oberer Plattenrand		Oberer Plattenrand	
Thymol: Fluoreszenzmindernde Zone	Markante, fluoreszenzmindernde Zone Fluoreszenzmindernde Zone (Thymol) Fluoreszenzmindernde Zone	Thymol: bräunlich- rosa Zone Carvacrol: hellviolette Zone	Bräunlich- rosa Zone (Thymol) Hellviolette Zone (Carvacrol) Graurosa Zone Violette Zone (Cineol und Linalool) Graubraune Zone (Borneol) Violettblaue Zone Intensive, violette Zone
Referenzlösung	Untersuchungslösung	Referenzlösung	Untersuchungslösung

Abb. 2: DC- Platten Auswertung Thyman: Ergebnis A (links); Ergebnis B (rechts)

Für die zweite Detektion (Ergebnis B, siehe Abb. 2) wird die Platte mit Anisaldehyd-Reagenz besprüht und 10 min lang bei 100 °C erhitzt.

Der Gehalt an ätherischem Öl muss mindestens 12 ml.kg^{-1} (1,20 %) der wasserfreien Droge sein und dabei muss der Gesamtgehalt von Thymol und Carvacrol (siehe Abb. 3) mindestens 40 % des Gesamtgehalts ausmachen [2].



Abb. 3: Formelbilder Thymol (links); Carvacrol (rechts)

Das in dieser Arbeit eingesetzte Drogenmaterial wurde bezogen von:

- Kottas Pharma-Kräuter Kompetenz, A-1230 Wien
Herba Thymi in Foliis nach Ph.Eur. geprüft
Ch.Nr.: W12202738
Entspricht den Anforderungen der Prüfvorschrift- gez. Dr. G. Prewin
Prüfdatum 01.06.2012
Verwendbar bis 11/2014

2.1.2. Salbei (*Salviae* off. folium)

Die Stammpflanze *Salviae officinalis* L. (Echter Salbei) (siehe Abb. 4) gehört zur Familie der Lamiaceae. Die Arzneidroge *Salviae* off. folium besteht aus ineinander verhakten, stark behaarten Blattbruchstücken, welche auf der Blattunterseite eine netzige Nervatur aufweisen. Der Geruch ist charakteristisch würzig-aromatisch.



Abb. 4: Salbei (*Salvia officinalis*)

Ein wesentlicher Inhaltsstoff ist 1,0 - 2,5 % ätherisches Öl, das sich hauptsächlich aus den Monoterpenen Thujon (30 - 50 %), Campher (20 – 35 %) und Cineol (5 – 15 %) zusammensetzt (siehe Abb. 6). Salbei wird hauptsächlich innerlich bei Verdauungsbeschwerden mit Krämpfen im gastrointestinalen Bereich, bei Blähungen, Völlegefühl und vermehrter Schweißsekretion angewendet, äußerlich bei Mund- und Rachenschleimhaut-Entzündungen [3].

Das EuAB schreibt für die Identitätsprüfung neben der makroskopischen Untersuchung auch eine mikroskopische Untersuchung der pulverisierten Droge vor. Das hellgrau bis grünlichbraune Pulver weist durch Aufhellung mit Chloralhydrat folgende Merkmale auf: Die zahlreichen Deckhaare sind gekrümmte Gliederhaare, die aus stark verdickten Basalzellen mit langen, schmalen Zellen bestehen. Ebenso sind diacytische Spaltöffnungen und vereinzelte, mit 1 - 2 zelligem Köpfchen auf 1 - 4 zelligem Stiel aufsitzende, einzellige Drüsenhaare zu finden. Reichlich vorhanden sind 8 strahlenförmig angeordnete Zellen als Köpfchen aufsitzend auf einem 1- zelligen Stiel. Die obere Epidermis zeichnet sich durch getüpfelte, polygonale Zellen und die untere Epidermis durch wellig- buchtige Zellen aus.

Für die DC- Untersuchung sind folgende Parameter vorgeschrieben: Für die Untersuchungslösung werden 0,5 g frisch pulverisierte Droge 5 min mit wasserfreiem Ethanol

geschüttelt und im Anschluss auf eine DC- Kieselgelplatte aufgetragen. Für die Referenzlösung werden Thujon und Cineol in wasserfreiem Ethanol gelöst und ebenfalls bandenförmig aufgetragen. Als Fließmittel dienen Ethylacetat und Toluol (5:95 V/V). Die Laufstrecke beträgt 15 cm und nach Trocknung an der Luft kann die Platte, nach dem Besprühen mit Molybdatphosphorsäure und anschließender 10 minütiger Trocknung bei 100 °C, unter Tageslicht ausgewertet werden. Die Zonenfolge ist in der nachstehenden Angabe ersichtlich (siehe Abb. 5).

Oberer Plattenrand	
	Blaue Zone (nahe der Fließmittelfront)
_____	_____
a-Thujon und b-Thujon: 2 rosaviolette Zonen	2 rosaviolette Zonen (α -Thujon und β -Thujon)
Cineol: blaue Zone	Blaue Zone (Cineol)
_____	_____
	Blaue Zonen
Referenzlösung	Untersuchungslösung

Abb. 5: DC-Platten Auswertung Salbei

Der Gehalt an ätherischem Öl muss bei mindestens 15 ml.kg⁻¹ (1,50 %) für die ganze Droge und 10 ml.kg⁻¹ (1,00 %) für die wasserfreie, geschnittene Droge liegen [4].



Abb. 6: Formelbilder Cineol (links); α - Thujon (rechts)

Das in dieser Arbeit eingesetzte Drogenmaterial wurde bezogen von:

- Kottas Pharma-Kräuter Kompetenz, A-1230 Wien
Folium Salviae officinalis CS nach Ph.Eur. geprüft
Ch.Nr.: W12203192
Entspricht den Anforderungen der Prüfvorschrift- gez. Dr. G. Prewein
Prüfdatum 18.02.2013
Verwendbar bis 07/2015

2.1.3. Holler (*Sambuci flos*)

Die Stammpflanze *Sambucus nigra* L. (Schwarzer Holunder) (siehe Abb. 7) gehört zur Familie der Caprifoliaceae bzw. Sambucaceae.



Abb. 7: Holler (*Sambucus nigra*)

Die Arzneidroge *Sambuci flos* besteht vorwiegend aus gerebelten Einzelblüten mit teilweise noch erkennbaren Trugdolden. Die Blüten sind 3 - 4 mm breit, gelblich weiß mit verwachsener, fünfzipfeliger Krone. Teilweise sind gerillte, grüne Blütenstandsachsen erkennbar. Der Geruch ist schwach eigenartig. Holler wird hauptsächlich bei Erkältungskrankheiten zur Schweißanregung, Vermehrung der Bronchialsekretion und zur Herstellung von Gurgelwasser angewendet. Als wesentliche Inhaltsstoffe finden sich 0,03 - 0,14 % ätherisches Öl von butterartiger Konsistenz, sowie 0,7 - 3,5 % Flavanoide [5].

Das EuAB schreibt vor, die pulverisierte Droge mit Chloralhydrat aufzuhellen und unter dem Mikroskop auf Identität zu überprüfen. Das grünlich-gelbe Pulver weist zahlreiche ellipsoidale, tricolpate Pollenkörner mit einer fein gepunkteten Exine von 30 µm Durchmesser auf. Die Epidermiszellen des Kelches zeigen eine Kutikularstreifung und vereinzelte randständige, einzellige Deckhaare. Die oberen Epidermiszellen sind perlschnurartig verdickt und haben eine gestreifte Kutikula.

Die Mesophyllzellen der Kelch- und Kronblätter mit Idioblasten enthalten viel aus Calciumoxalat bestehenden Kristallsand. Kleine Kügelchen mit ätherischem Öl sind in Kronblattfragmenten zu finden.

Die Prüfung mittel DC schreibt Folgendes vor: Für die Untersuchungslösung werden 0,5 g pulverisierte Droge mit Methanol versetzt und 10 min am Ultraschallbad behandelt und danach

5 min zentrifugiert. Die Probenlösung wird bandenförmig auf eine DC-Kieselgelplatte aufgetragen. Für die Referenzlösung werden Kaffeesäure, Chlorogensäure, Hyperosid und Rutosid in Methanol gelöst und ebenfalls aufgetragen. Als Fließmittel werden wasserfreie Ameisensäure, Wasser, Ethylmethylketon und Ethylacetat (10:10:30:50 V/V/V/V) verwendet. Die Laufstrecke beträgt 6 cm. Nach dem Entwickeln und Trocknen wird die Platte 5 min bei 100°C erhitzt und zunächst mit einer Lösung von Diphenylboryloxyethylamin in Ethylacetat und anschließend mit einer Lösung von Macrogl 400 in Dichlormethan behandelt und 30 min lang an der Luft trocknen gelassen. Die Auswertung erfolgt im Tageslicht (Ergebnis A, siehe Abb. 8) und im ultravioletten Licht bei 365 nm (Ergebnis B, siehe Abb. 8).

Oberer Plattenrand		Oberer Plattenrand	
Hyperosid: dunkelgelbe Zone	Orangefarbene Zone	Kaffeesäure: blau fluoreszierende Lösung	Intensiv, hellblau fluoreszierende Zone 2 hellblau fluoreszierende Zonen
Rutosid: dunkelgelbe Zone	Dunkelgelbe Zone	Hyperosid: orange fluoreszierende Zone	Orange fluoreszierende Zone
		Chlorogensäure: hellblau fluoreszierende Zone	Intensiv, hellblau fluoreszierende Zone
		Rutosid: orange fluoreszierende Zone	Orange fluoreszierende Zone
Referenzlösung	Untersuchungslösung	Referenzlösung	Untersuchungslösung

Abb. 8: DC- Platten Auswertung Holler: Ergebnis A (links); Ergebnis B (rechts)

Das EuAB schreibt einen Mindestgehalt von 0,80 % an Flavanoiden, berechnet als Isoquercetin (siehe Abb. 9), vor [6].

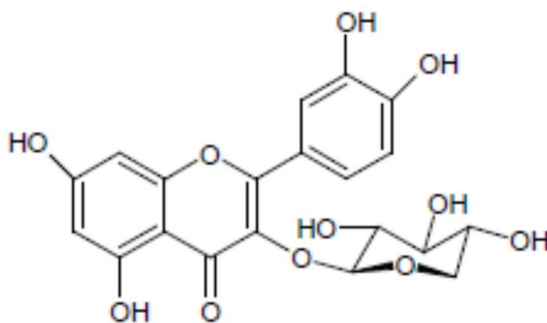


Abb. 9: Formelbild Isoquercetin

Das in dieser Arbeit eingesetzte Drogenmaterial wurde bezogen von:

- Kottas Pharma-Kräuter Kompetenz, A-1230 Wien
Flos Sambuci gerebelt nach Ph.Eur geprüft
Ch.Nr.: W12203520
Entspricht den Anforderungen der Prüfvorschrift- gez. Dr. G. Prewein
Prüfdatum 08.02.2013
Verwendbar bis 01/2016

2.2. Reagenzien

Die verwendeten Lösungsmittel und Reagenzien entsprachen den Anforderungen des EuAB und hatten Analysenqualität.

- Aceton p.a.
- Aluminiumchlorid- Reagenz R
- Dichlormethan p.a.
- Essigsäure 99 % R in Methanol R p.a.
- Ethanol 70 %
- Glycerin p.a.
- Methenamin: Hexamethylenetetramine puriss.; Riedel-de Haën
- n-Hexan p.a.
- Xylol p.a.
- Interner Standard: Chlorthymol = 4- Chloro- 2- isopropyl- 5- methylphenol
(siehe Abb. 10), $C_{10}H_{13}ClO$; MG 184,67, CAS 89-68-9

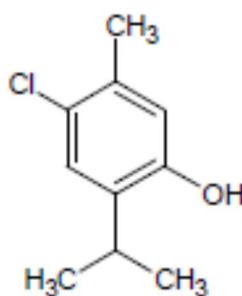


Abb. 10: Formelbild Chlorthymol

2.3. Geräte

2.3.1. Mühle

Um die Extraktionsmöglichkeiten vergleichen zu können, müssen die Drogen möglichst vergleichbare Ausgangsvoraussetzungen aufweisen. Ebenso schreibt das EuAB für die offizinellen Verfahren eine bestimmte Teilchengröße vor. Besonders für ätherische Öldrogen ist es ratsam, sie erst kurz vor der Verwendung auf die gewünschte Größe zu zerkleinern, um das Verflüchtigen der ätherischen Ölkompontenten zu verringern. Das Zerkleinern der Drogen hat auch den Vorteil, dass es zu besseren Extraktionswerten führt, da es zu offenen Randzellen kommt, in die das Lösungsmittel eindringen kann und die Inhaltstoffe auswäscht.

Die Drogen wurden gemahlen und auf die gewünschte Korngröße von 750 µm (Siebgröße Nr. IV) ausgesiebt. Dazu wurde eine Ultrazentrifugalmühle der Firma Retsch GmbH & Co. KG, 42781 Haan, Deutschland verwendet:

- Typ ZM 100
Die Umdrehungszahl betrug 1400 U/min
Siebeinsatz mit 1,5mm Porengröße.



Abb. 11: Ultrazentrifugalmühle

2.3.2. Siebanalyse

Die gemahlene Droge wurde laut EuAB mit dem Sieb IV, welches einer Maschenweite von 750 μm entspricht, klassiert. Das Drogenpulver wurde durch kräftige Schüttelbewegungen gesiebt. Zu grobe Teilchen wurden nochmals gemahlen und neu gesiebt.



Abb. 12: Siebturm

2.3.3. Ultraschallbad

Bei dem verwendeten Ultraschallbad handelt es sich um ein Produkt der Firma Bandelin:

- SONOREX SUPER RK mit einer Frequenz von 35 KHz.



Abb. 13: Ultraschallbad

2.3.4. Ultra- Turrax

Bei dem verwendeten Ultra-Turrax handelt es sich um ein Produkt der Kinematica AG:

- Polytron PT 3000- Dispersing and Mixing Technology

Die Umdrehungszahl betrug 700 U/min

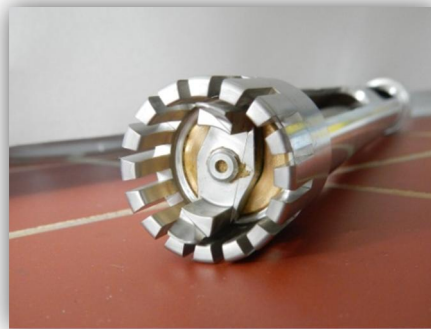


Abb. 14: Aufbau des Ultra- Turrax (links); Ultra- Turrax Stab (rechts)

2.3.5. Turboextraktor

Der Turboextraktor Rotor GT 800 ist ein Produkt der Firma Rotor Lips Ag Maschinenfabrik.

Die Umdrehungszahl ist in 8 Stufen einstellbar zwischen 500 und 17000 U.min⁻¹. Für die Extraktion wurde die Stufe 4 verwendet, was etwa 8000 U.min⁻¹ entspricht.



Abb. 15: Turboextraktor

2.3.6. Gaschromatograph

Der Gaschromatograph ist ein Produkt der Firma Perkin Elmer: Autosystem XL Gaschromatograph. Die Säule ist eine 60 m lange Quarzglas- Phenomenex ZB- 5 Kapillarsäule mit einem Durchmesser von 0,25 mm, der ein Flammenionisationsdetektor nachgeschaltet ist.



Abb. 16: Gaschromatograph

2.3.7. Zentrifuge

Die Zentrifuge Laborfuge 400 ist ein Produkt der Firma Heraeus Instruments. Die Umdrehungszahl wurde mit 3000 U.min^{-1} festgesetzt.

2.3.8. Rotorvapor

Der Rotorvapor Heidolph VV2011 ist ein Produkt der Firma Bartelt GesmbH.

2.3.9. UV/VIS- Spektrophotometer

Das UV/ Vis- Spektrophotometer ist ein Produkt der Firma Beckmann: DU Spectrophotometer 640.

3. Methoden der Extraktion

3.1. Mazeration

Die Mazeration ist ein, im Österreichischen Arzneibuch geführtes, offizinelles Extraktionsverfahren mit einmaliger Gleichgewichtseinstellung. Das Österreichische Arzneibuch schreibt vor, dass das zerkleinerte Drogengut mit Extraktionsmittel in einem dicht schließenden Gefäß übergossen und durchmengt wird. Das Gefäß (siehe Abb. 17) wird verschlossen und unter Lichtausschluss und häufigem Umschütteln 6 Tage stehen gelassen.



Abb. 17: Mazerationsgefäß

Dadurch werden lichtkatalysierte Reaktionen und Farbveränderungen vermieden und es kommt zu keiner Ausbildung von Konzentrationszonen. Während der Stehzeit findet die Auswasch- und Extraktionsphase statt. Durch die Zerkleinerung des Drogenmaterials entstehen beschädigte bzw. zertrümmerte Randzellen, in die das Extraktionsmittel eindringt und die Inhaltstoffe auswäscht. In der Extraktionsphase kommt es zuerst zu einem Quellen der Zellwand, wodurch Intermizellarräume entstehen, durch die das Extraktionsmittel eindringen kann und eine Extraktion stattfindet. Ein Wasser/ Alkoholgemisch eignet sich besonders gut für die Mazeration, da das Wasser das Quellen der Zellwände ermöglicht und der Alkohol eine Vielzahl von Inhaltsstoffen lösen kann.

Nach der Stehzeit hat sich ein Gleichgewicht zwischen der Flüssigkeit und den im Inneren der Zelle zu extrahierenden Stoffen eingestellt. Durch wiederholtes Schütteln wird ein schneller Konzentrationsausgleich der Extraktionsstoffe begünstigt. Ein Nachteil dieser Methode ist

jedoch, dass eine vollständige Extraktion nicht möglich ist, da es nur zu einer einmaligen Gleichgewichtseinstellung kommt.

Um das Drogenmaterial abzutrennen, wird das Mazerat koliert (filtriert) und abgepresst. Zur Defäkation (Absetzen der Schwebstoffe und Ballaststoffe) wird die Kolatur (Filtrat) einige Tage dunkel und kühl aufbewahrt. Schlussendlich wird die Flüssigkeit dekantiert und unter Verhinderung eines Verdunstungsverlustes filtriert [7].

Besonders geeignet ist diese Methode für Drogen, die schwer lösliche Bestandteile enthalten. Nicht gut geeignet sind Drogen, die leicht und voluminös sind oder eine großen Aufzog haben. Bei diesen Drogen würde die Menge an Menstruum (Lösungsmittel) nicht ausreichen, um eine Extraktion durchzuführen [8].

3.2. Perkolation

Perkolation kommt von dem lat. Wort *percolare*, was „durchtropfen“ bedeutet. Ein Perkulator ist ein Glaszylinder mit einer Zu- und Ablaufvorrichtung, der mit dem Drogenmaterial gefüllt wird und durch den ein von oben zugeführtes Extraktionsmittel fließt (siehe Abb. 18).

Vor der eigentlichen Perkolation wird das Drogenmaterial mit Menstruum (Lösungsmittel) gut durchfeuchtet und 12 Stunden in einem geeigneten, gut schließenden Gefäß vorquellen gelassen. Würde das Quellen erst im Perkulator stattfinden, könnte es zu einer Verstopfung oder sogar Sprengung des Zylinders kommen. Der Perkulator wird mit einem Hahn unten verschlossen, Watte soll verhindern, dass kleine Drogenteilchen den Hahn verstopfen und somit den Abfluss stören. Das vorbefeuchtete Material wird nun von oben in den Perkulator gefüllt. Es ist darauf zu achten, dass es zu einer möglichst gleichmäßigen Packung kommt, die weder zu kompakt ist, noch Fließkanäle enthält.

Um das Aufwirbeln der Droge zu verhindern, wird oben eine Filterpapierscheibe (siehe Abb. 18) aufgebracht. Der Hahn wird geöffnet und der erste Teil des Menstruums (Lösungsmittel) zugegeben. Wenn der erste Tropfen durchgelaufen ist, wird der Hahn geschlossen und der Perkulator für 24 Stunden stehen gelassen. In dieser Zeit kommt es zu einer Nachquellung und der ersten Gleichgewichtseinstellung. Nach dieser Wartezeit beginnt die eigentliche Perkolation. Der Hahn wird auf 1 - 2 Tropfen pro Sekunde eingestellt. Durch die ständige Zugabe von frischem Extraktionsmittel entsteht eine vielstufige Mazeration durch Neueinstellung des Konzentrationsgefälles. Nachdem das gesamte Extraktionsmittel durchgelaufen ist bzw. die vorgeschriebene Farbreaktion erreicht ist, wird die Droge ausgepresst

und mit dem Perkolat vereint. Zur Defäkation (Absetzen der Schweb- und Ballaststoffe) wird der Auszug einige Tage kühl aufbewahrt und anschließend filtriert.

Diese Methode hat den großen Vorteil, dass eine Totalextraktion theoretisch möglich ist und in der Praxis eine Ausbeute von 95 % erwartet werden darf, aber auch den Nachteil, dass sie nicht für voluminöse und stark quellende Drogen geeignet ist [9].

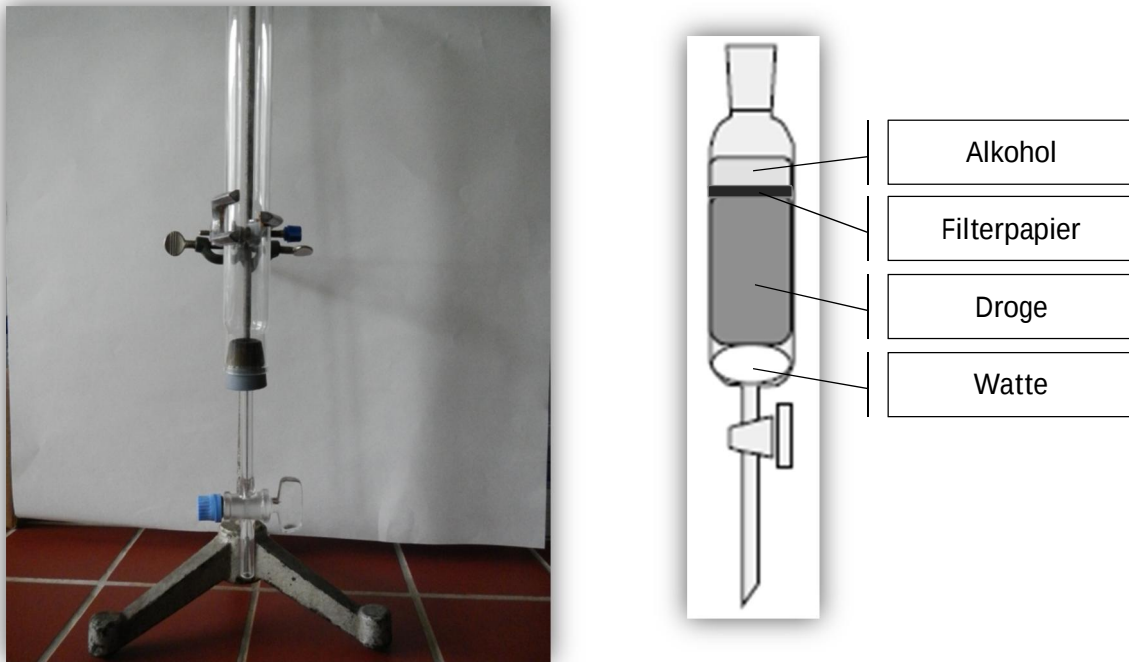


Abb. 18: Perkolator (links); Schematischer Aufbau eines Perkolators (rechts)

3.3. Ultraschallbad

Als Ultraschallwellen werden Schallwellen bezeichnet, deren Schwingungsfrequenz höher als 20 000 Hertz liegt. Das Drogenmaterial wird in einen intakten Kolben mit dem Menstruum (Lösungsmittel) eingewogen, gut durchgemengt und für 12 Minuten im Ultraschallbad extrahiert. Schwingungen und Pulsationen werden auf das Menstruum (Lösungsmittel) und in weiterer Folge auf die Zellwände übertragen, wodurch die Diffusionsrate steigt und eine höhere Ausbeute möglich ist. Das Material wird filtriert, um die Droge von der Miscella (mit gelösten Inhaltsstoffen gesättigtes Lösungsmittel) abzutrennen. Die Vorteile liegen in einer hohen Effizienz und guten Ausbeute, kurzem Zeitbedarf, sowie einer einfachen Handhabung.

Der Nachteil dieser Methode besteht darin, dass gewonnene Auszüge sich oft anfällig gegenüber hydrolytischen und oxidativen Prozessen verhalten. Es kann bei längerer Anwendung zu einer Erwärmung kommen und es sind keine großen Ansätze verarbeitbar [10].

3.4. Ultra- Turrax- Extraktion

Diese Methode beruht auf einem Rotor-Stator-System. Der Ultra-Turrax ist ein Stab, der sich aus einem Stator (außen) und einem Rotor (innen) zusammensetzt. Das Drogenmaterial wird in einem Kolben mit dem Menstruum (Lösungsmittel) eingewogen und der Stab hineingestellt und fixiert. Nach dem Einschalten wird die Flüssigkeit nun durch die Löcher an der Unterseite angesaugt und über einen engen Spalt durch Rotor und Stator wieder herausgedrückt. Hochfrequente Schlag-, Scher- und Pralleffekte führen zu einer intensiven Durchmischung ohne weitere Zerkleinerung. Die Vorteile sind, dass es zu keiner weiteren Zerkleinerung kommt und die Erwärmung nur gering ist. Ebenso ist diese Methode auch für größere Ansätze einsetzbar. Für die Industrie gibt es Ultra-Turrax-Stäbe für eine Menge bis zu 10.000 l Flüssigkeit [11].

3.5. Turboextraktion

Bei der Turboextraktion werden Droge und Extraktionsmittel in einen Turbomixer mit Messereinsatz durch Wirbelextraktion behandelt. Durch das starke Wirbeln von Menstruum (Lösungsmittel) und Droge, verbunden mit einer weiteren Zerkleinerung des Materials, kommt es zu vermehrten Auswaschvorgängen und einer Beschleunigung der Diffusions- und Lösungsvorgänge.

Der Vorteil dieser Methode ist die kurze Extraktionszeit mit hoher Ausbeute. Ihr Nachteil liegt in der Erwärmung von Gerät und Material, was besonders bei thermolabilen Inhaltstoffen zu Problemen führen kann. Ebenso können durch eine zu feine Zerkleinerung Wirkstoffe an kleinen Partikeln anhaften und bei der Lagerung ausfallen. Diese Methode ist nur für kleinere Ansätze durchführbar [12].

3.6. Optimierung der Extraktionsparameter

(Ultraschallbad, Ultra-Turrax und Turboextraktion)

Als Lösungsmittel hat sich 70 %iger Alkohol als Bestes erwiesen, da er auch bei den offiziellen Verfahren vorgegeben ist. Da es sich um getrocknete Drogen handelt, müssen die Zellwände erst wieder hydriert werden, um eine Lockerung der Struktur, und damit eine Eindringmöglichkeit für das Lösungsmittel in das Zellinnere, zu gewährleisten. Der Wasseranteil bewirkt ein Quellen der Zellwände, wodurch der Alkohol erst in die Zelle eindringen kann. Zuerst werden die Inhaltsstoffe in den Randzellen ausgewaschen, währenddessen die Zellwände quellen und dann ebenso die Inhaltsstoffe durch das Lösungsmittel extrahiert werden. Um vergleichbare Ergebnisse zu erzielen, wurde auch bei Ultraschallbad, Ultra-Turrax und Turboextraktion 70 %iger Alkohol verwendet.

Die offiziellen Extraktionsmethoden (Mazeration und Perkolation) werden mit genauen Zeitangaben (9 bzw. 6 Tagen) definiert, für die neuen Methoden gibt es keine zeitlichen Vorgaben, weshalb in Vorversuchen für die Alternativmethoden verschiedene Zeitintervalle ausprobiert wurden.

Die Abb. 19 zeigt die Zeitintervalle und ihre Effektivität. Das Ultraschallbad, der Ultra-Turrax Stab und der Turboextraktor zeigen bei längerem Betrieb eine Erwärmung, welche sich negativ auf thermolabile Inhaltsstoffe auswirken kann. Um die beste Ausbeute und das dazu passende Zeitintervall herauszufinden, wurde 2x3 min, 4x3 min, 1x12 min und 2x12 min getestet. Um die Erwärmung zu minimieren, wurden nach jeder Extraktionseinheit (3 oder 12 Minuten) jeweils fünf Minuten Pause eingelegt, um das Gerät abzukühlen. Die Tabelle zeigt, dass eine Extraktionszeit von 12 Minuten bei allen drei Extraktionsmethoden die besten Ergebnisse liefert, die auch sehr gut reproduzierbar sind. Die Behandlung mit einem 4x3 Minutenzyklus zeigt durch eine sehr hohe Standardabweichung nicht gut reproduzierbare Werte und ist daher nicht 1x12 min vorzuziehen. 2x12 Minuten Extraktionszeit zeigt besonders beim Ultraschallbad einen schlechteren Wert als die anderen. Dementsprechend wurde für diese Arbeit als Extraktionszeit 1x12 Minuten als bester Kompromiss gewählt. Einerseits ist eine Extraktion ohne Pause leichter in der Handhabung, der Verdunstungsverlust des Alkohols ist sehr gering und unter Beachtung der Standardabweichung ergibt dieses Zeitintervall sehr gut reproduzierbare Werte.

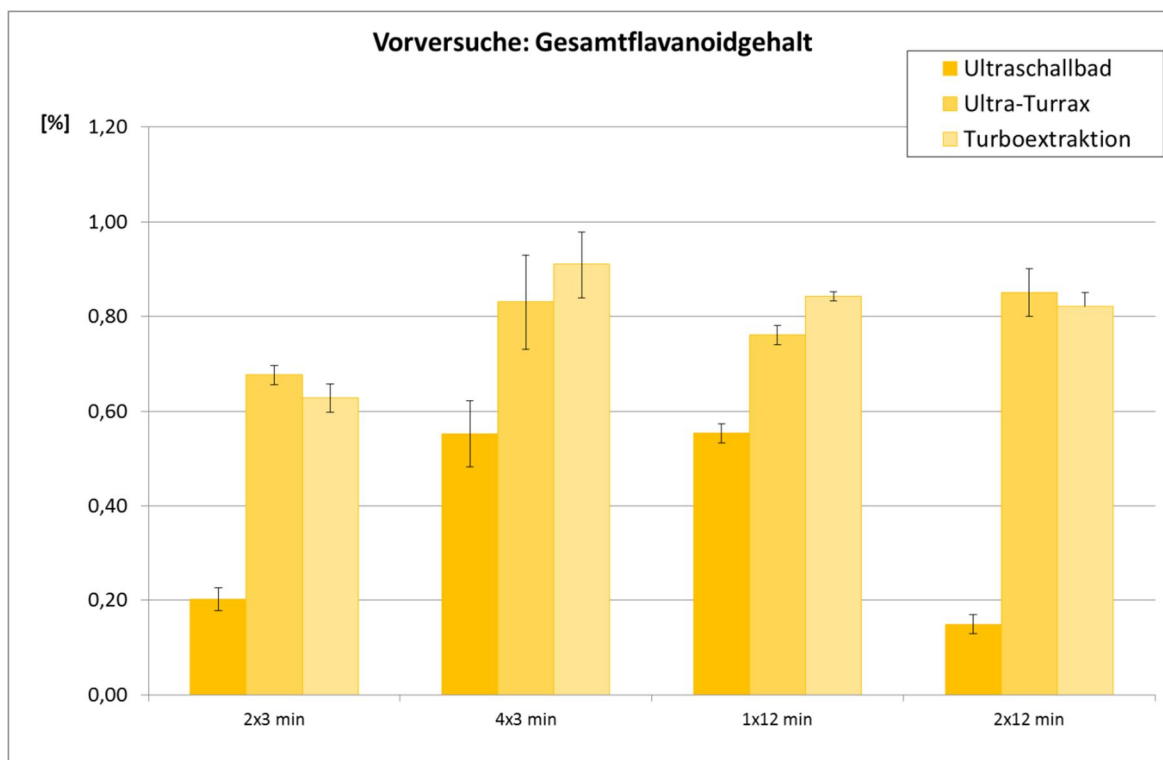


Abb. 19: Vorversuche: Gesamtflavanoidgehalt

Um die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse nachweisen zu können, wurde bei jeder Untersuchung eine dreifache Bestimmung durchgeführt. Es wurden je drei Kolben mit den beschriebenen Methoden behandelt und jeweils eine Doppelbestimmung durchgeführt. Somit wurden sechs Werte erhalten und daraus der Mittelwert gebildet. In der Auswertung werden sowohl Mittelwert als auch Standardabweichung angegeben.

3.6.1. Ultraschallbad

In einem Erlenmeyerkolben wurden 20 g Drogenmaterial mit 100 g Ethanol 70 %ig eingewogen. Der mit Parafilm verschlossene Kolben blieb 12 Minuten im Ultraschallbad. Der verdunstete Alkohol wurde ersetzt und der Kolben für 30 Minuten stehen gelassen. Vor der Weiterverarbeitung wurde der klare Überstand 10 Minuten bei $3000 \text{ U} \cdot \text{min}^{-1}$ zentrifugiert und im Anschluss weiterverarbeitet.

3.6.2. Ultra-Turrax

20 g Droge wurden in einen 250 ml Erlenmeyerkolben eingewogen, mit 100 g 70 %igem Ethanol übergossen und gewogen. Danach wurde die Probe in die Halterung des Ultra- Turrax eingespannt. Der Stab wurde so weit in den Kolben gesenkt, dass er gerade nicht den Boden berührte, jedoch die Höhe des Alkoholspiegels über den Ansauglöchern stand. Mit Parafilm wurde der Kolben um den Ultra- Turrax abgedichtet. Mit 700 U.min^{-1} wurde die Probe für 12 Minuten vom Stab durchmischt. Nach diesen 12 Minuten Extraktionszeit wurde der verdunstete Alkohol ergänzt und die Probe für 30 Minuten stehen gelassen. Anschließend wurde der Überstand in der Zentrifuge bei 3000 U.min^{-1} für 10 Minuten zentrifugiert. Der klare Überstand wurde weiterverarbeitet.

3.6.3. Turboextraktion

20 g Drogenmaterial wurden direkt in den Glasbecher (Volumen: 1500 ml) eingewogen und mit 100 g Ethanol 70 % begossen und das Ausgangsgewicht notiert. Bei Stufe 4 von 8 wurde für 12 Minuten extrahiert, danach die Droge mit dem Lösungsmittel in ein Becherglas umgefüllt und der verdunstete Alkohol ergänzt. Das mit Parafilm abgedichtete Becherglas wurde für 30 Minuten zum Absetzen der Drogenteilchen stehen gelassen. Der beinahe klare Überstand wurde bei 3000 U.min^{-1} 10 Minuten zentrifugiert. Der schwebstofffreie Überstand wurde zur Weiterverarbeitung genommen.

3.7. Tee

Unter Teezubereitung wird im Allgemeinen das Übergießen des Drogenmaterials mit heißem Wasser, mit anschließender Ziehzeit verstanden. Ein Standardrezept für alle Drogen gibt es nicht. Mit Ausnahme des ÖAB, wo vereinzelt kurzen Angaben angeboten werden, gibt es noch keine allgemein gültigen Vorschriften zur Teebereitung. Für die optimierte Teezubereitung fehlen noch genauere wissenschaftliche Untersuchungen. Bei der Zubereitung sind folgende Faktoren für die bestmögliche Ausbeute zu berücksichtigen.

- Drogenart (Wurzel, Blatt, Blüte) und Zerkleinerungsgrad der Droge

Je feiner die Zerkleinerung, umso höher ist die Ausbeute zu erwarten. Folgende Zerkleinerungsformen haben sich als sinnvoll erwiesen. Blätter, Blüten, Kräuter in grob bis mittelfeinem Schnitt (Teilchengröße ca. 4 mm). Wurzeln, Rinden und Hölzer fein zerschnitten bis grob gepulvert (Teilchengröße ca. 2,5 mm). Früchte und Samen sollten erst kurz vor der Anwendung grob gepulvert (Teilchengröße ca. 2 mm) oder zerquetscht werden.

Saponin- und alkaloidhaltige Drogen bzw. Bärentraubenblätter erzielen die beste Ausbeute in feingepulverter Form (Teilchengröße ca. 0,5 mm).

- Art der Extraktion

Üblicherweise gibt es den Aufguss (Infus), die Abkochung (Decoct) und den Kaltauszug (Mazerat). Beim Infus wird eine vorgegebene Drogenmenge mit 150 – 250 ml heißem Wasser übergossen und nach 5 - 10 min abgeseiht. Diese Methode eignet sich besonders für Kraut-, Blatt- und Blütendrogen. Die Zubereitung von einem Decoct erfolgt mit kaltem Wasser mit einer anschließenden Erwärmung bis zum Siedepunkt und Kochzeit von 5-10 min. Besonders harte, gerbstoffhaltige Drogen lassen sich so gut extrahieren. Der Kaltauszug (Mazerat) ist sehr umstritten, da die Droge mit kaltem Wasser angesetzt und nach mehreren Stunden Stehzeit nur bei Bedarf erwärmt wird. Die Herstellung ist besonders für schleimhaltige Drogen geeignet. Durch den Einsatz von kaltem Wasser und langen Stehzeiten können oft hohe Keimzahlen im Endprodukt nachgewiesen werden, falls die eingesetzte Droge mikrobiell nicht ganz einwandfrei war.

- Menge der Droge (Einzeldosis) und Menge der Flüssigkeit:

Die meisten Teedrogen haben eine große therapeutische Breite, da sie meist nicht toxische bzw. schwach wirksame Inhaltsstoffe enthalten. Somit ist eine Dosisüberschreitung meist ungefährlich [13]. Das ÖAB setzt 150 ml für eine Teetasse, 15 ml für 1 Esslöffel und 5 ml für einen Teelöffel fest [14].

Zur Teebereitung wurden jeweils 2 g Droge in 250 ml Erlenmeyerkolben eingewogen. Frisches Wasser wurde aufgekocht und auf 80 °C abgekühlt, um die Droge und deren Inhaltsstoffe nicht zu verbrennen. Auf 10 min Ziehzeit folgten nach der Filtration 30 min Stehzeit, damit sich Schwebstoffe absetzen konnten. Nach 10 min bei 3000 U.min⁻¹ in der Zentrifuge wurde mit dem klaren Überstand weitergearbeitet.

3.8. Übersicht der Extraktionsmethoden

Tab. 1: Methodenübersicht

Verfahren	Ansatz-verhältnis	Extraktions-vorgänge	Vorquellen	Extraktionszeit	Defäkation und Zentrifugieren	Gesamt
Mazeration	20 g + 100 g	Lösung und Diffusion	-	6 d	3 d	9 d
Perkolation	20 g + 100 g	Lösung und Diffusion	12 h	1 d	3 d	5 d
Ultraschallbad	20 g + 100 g	Diffusion	-	12 min	30 min + 10 min	52 min
Ultra-Turrax	20 g + 100 g	Lösung und Diffusion	-	12 min	30 min + 10 min	52 min
Turboextraktion	20 g + 100 g	Lösung und Diffusion	-	12 min	30 min + 10 min	52 min
Tee	2 g + 150 ml	Diffusion	-	10 min	30 min + 10 min	52 min

3.9. Droge- Extrakt Verhältnis (DEV)

Das Droge- Extrakt Verhältnis (DEV) gibt die Ausgangsmenge an Drogenmaterial an, welche benötigt wird, um eine bestimmte Menge an Extrakt zu erhalten. Je geringer dieses Verhältnis ist, umso höher ist die Drogenqualität bzw. umso besser ist das Extraktionsverfahren. Sowohl ökonomisch also auch ökologisch gesehen bedeutet ein geringes Verhältnis, dass die beste Extraktionsart für eine Droge gefunden wurde. Jedoch kann nicht mit Sicherheit gesagt werden, ob jetzt mehr oder weniger Wirkstoffe neben Ballaststoffen extrahiert wurden. Die Kenntnis dieses Verhältnisses ermöglicht eine Berechnung des benötigten Drogeneinsatzes für die gewünschte Menge an Extrakt.

Zur Bestimmung wird ein 50- ml- Rundkolben auf der Analysenwaage gewogen und das Gewicht notiert. Vom Extrakt werden 10 g, ebenfalls auf 5 Kommastellen genau, eingewogen. Anschließend wird der Inhalt des Kolbens auf dem Rotationsverdampfer zur Trockenen gebracht. Der Kolben wird abermals gewogen und das DEV berechnet [15].

Die Berechnung erfolgt nach der Formel:

$$DEV = \frac{m(\text{eingesetzte Droge})[g]}{(m(\text{Kolben} + \text{Rückstand})[g] - m(\text{Kolben leer})[g]) * m(\text{Einwaage Extrakt})[g]}$$

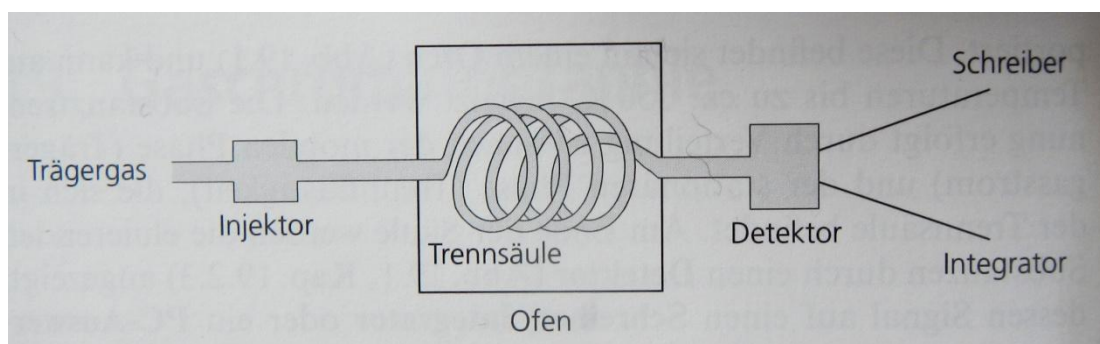
Das Resultat dieser Rechnung wird zu 1 gesetzt und gibt somit das Verhältnis von eingesetzter Droge zur Menge an erhaltenem Extrakt an.

$$\text{z.B.: } DEV = \frac{20}{4} \triangleq \frac{5}{1} \triangleq 5$$

4. Verwendete Analysemethoden

4.1. Gaschromatographie

Das Verfahren der Gaschromatographie beruht auf der Trennung von gasförmigen Substanzen. Um dieses Trennverfahren nutzen zu können, müssen die Analysesubstanzen in den gasförmigen Zustand überführt werden können. Das Trennprinzip ist die Ausnutzung der Wechselwirkung von mobiler und stationärer Phase. Die mobile Phase ist die Gasphase, wobei das Gas so gewählt werden muss, dass es reaktionsträge (inert) ist, damit es zu keinen unerwünschten Reaktionen mit den Analysesubstanzen kommt. Üblicherweise wird als mobile Phase Helium oder Stickstoff verwendet, wobei Stickstoff um einiges kostengünstiger ist. Die stationäre Phase kann entweder im flüssigen oder festen Zustand in einer Säule vorliegen. Je nachdem welcher Aggregatzustand gegeben ist, unterscheidet man zwischen Gas-flüssig-Chromatographie oder Gas-fest-Chromatographie, wobei die Gas-fest-Chromatographie von geringer Bedeutung für die Pharmazie ist. Das Prinzip der Trennung beruht auf Verteilungsvorgängen. Die als stationäre Phase verwendeten Flüssigkeiten müssen spezielle Eigenschaften aufweisen. Sie sollten eine hohe Viskosität besitzen, um hohe Temperaturen schadlos auszuhalten. Am besten geeignet für diese Zwecke sind unpolare, langkettige Kohlenwasserstoffe, polare Polyether und polare bis unpolare Siliconverbindungen.



Quelle: Rücker G. , Neugebauer M., Willems G.(2008), Instrumentelle pharmazeutische Analytik - Lehrbuch zu spektroskopischen, chromatographischen und elektrochemischen Analysemethoden, 4. Auflage, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, S. 418

Abb. 20: Schematischer Aufbau eines Gaschromatographen

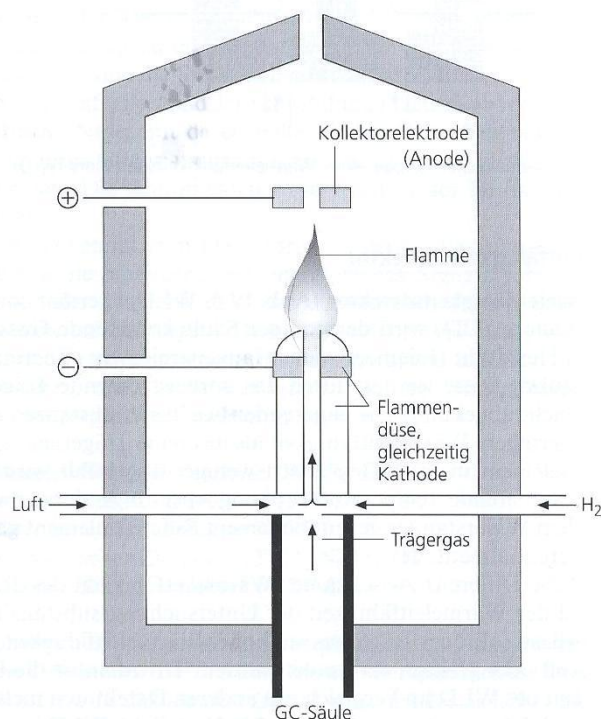
Abb. 20 zeigt den schematischen Aufbau eines Gaschromatographen. Der Hauptteil besteht aus einem Säulenofen, in dem die Trennsäule aufgeheizt wird, und einem Einspritzblock bzw. Injektor. Anschließend an den Säulenofen ist ein Detektor angeschlossen, welcher mit

einem Computer zur Auswertung der Daten verbunden ist. 1-2 µl der zu analysierenden Substanzlösung werden mittels Injektionsspritze durch ein Septum in den Injektor injiziert. Der Einspritzblock ist auf eine hohe Temperatur aufgeheizt und dies führt zu einem sofortigen Verdampfen des Lösungsmittels mit den Analysesubstanzen und somit zur Überführung in einen gasförmigen Zustand. Das Trägergas nimmt nun die gasförmigen Substanzen auf und transportiert sie zur Trennsäule, welche durch den Säulenofen ebenfalls auf die geeignete Temperatur aufgeheizt wurde. Es können zwei unterschiedliche Säulenarten eingesetzt werden. Man unterscheidet zwischen gepackter Säule und Kapillarsäule. Trotz des hohen Kostenfaktors und der geringeren Beladbarkeit erhält die Kapillarsäule meistens den Vorzug gegenüber der gepackten Säule, aufgrund der wesentlich besseren Trennleistung. Die Säulenlänge einer Kapillarsäule beträgt zwischen 10 und 100 Metern bei einem Durchmesser von 0,1 – 1 Millimeter. Aufgebaut ist sie meist aus Quarzglas mit einer im Inneren aufgetragenen Polyimidschicht. Die stationäre Phase wird auf diese Innenschicht aufgebracht. Durch den Hohlraum der Säule kann das Trägergas strömen.

Die Säule wird nun im Säulenofen auf eine bestimmte Temperatur aufgeheizt. Die Trennung kann entweder mit gleichbleibender Temperatur (isotherm) oder mittels Temperaturgradienten erfolgen. Das Trennprinzip ist ident mit jeder anderen Chromatographie. An der stationären Phase strömt das Trägergas (mobile Phase) mit den gasförmigen Analyten vorbei. Zwischen den Phasen finden nun Wechselwirkungen statt. Die unterschiedlichen Komponenten des Substanzgemisches binden unterschiedlich lange an der stationären Phase und werden nach und nach von der Säule, je nach Stärke der Wechselwirkung, eluiert. Durch die unterschiedliche Aufenthaltsdauer der einzelnen Komponenten ergeben sich charakteristische Retentionszeiten, die auch zur Identifizierung verwendet werden können.

Im Anschluss an ihre Trennung gelangen die gasförmigen Substanzen zum beheizten Detektor. Die chromatographischen Signale werden vom Detektor schließlich in ein Chromatogramm umgewandelt.

Häufig wird ein Flammenionisationsdetektor, kurz FID, eingesetzt (siehe Abb. 21). Die Substanzen kommen aus der Säule in den Detektor und werden in einer Wasserstoff- Sauerstoff-Flamme verbrannt und dabei ionisiert. Der dabei entstehende Ionenstrom wird in der Kollektorelektrode gemessen und registriert. Je mehr Substanz pro Zeiteinheit im Detektor ionisiert wird, umso größer scheint das Signal auf und kann im Chromatogramm über die Peakfläche quantifiziert werden [16].



Quelle: Rücker G., Neugebauer M., Willems G. (2008), Instrumentelle pharmazeutische Analytik - Lehrbuch zu spektroskopischen, chromatographischen und elektrochemischen Analysemethoden, 4. Auflage, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, S. 430

Abb. 21: Schematischer Aufbau eines Flammenionisationsdetektor

4.2. UV/Vis- Spektrophotometrie

Die Spektroskopie ist die Wissenschaft über die Wechselwirkung zwischen Materie und elektromagnetischer Strahlung. Die Spektroskopische Messung basiert auf Emissions- oder Absorptions-Eigenschaften von Stoffen und dient zur Messung von Absorptionsspektren. Mit dem UV/Vis -Spektrophotometer können Spektren von flüssigen Proben aufgenommen werden, d.h. es wird jeweils die Absorption (auch Extinktion genannt) bei verschiedenen Wellenlängen gemessen und gegen die Wellenlänge aufgezeichnet.

Der Begriff Extinktion entstammt der lateinischen Sprache und bedeutet so viel wie "Auslöschung". Im Zusammenhang mit der Spektrophotometrie versteht man unter Extinktion die Abschwächung eines Lichtstrahls im Probemedium.

Eine konstante Lichtquelle sendet Licht über einen Spektralfilter, der die gewünschte Wellenlänge einstellt, durch eine Küvette mit der Messlösung. Abhängig von der Konzentration wird ein Teil des Lichts absorbiert und die verbleibende Lichtintensität des durchgehenden Lichtes mittels Photozelle gemessen. Verglichen wird die Intensität des Lichtes vor und nach Durchgang durch die Probelösung. Aus der gemessenen Absorption (Extinktion) kann die

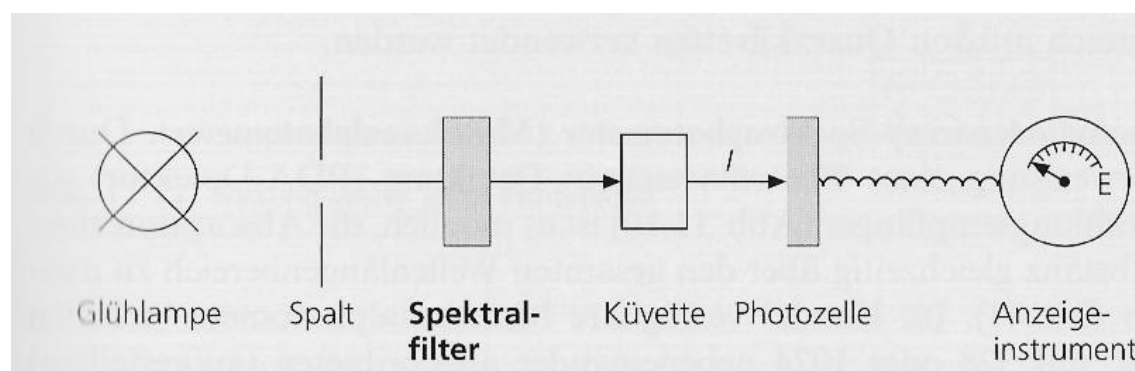
Quantität des Inhaltstoffes berechnet werden, da ein linearer Zusammenhang zwischen Substanzkonzentration und Absorption besteht (siehe Abb. 22).

Zunächst wird eine Küvette mit reinem Lösungsmittel in den Strahlengang eingebracht und als Blindwert vermessen. Dadurch werden mögliche Fehler, wie die Eigenabsorption des Lösungsmittels und die Streuung und Reflexion von Licht in der Küvette, vermieden. Eine zweite Küvette mit der Probe wird danach in den Strahlengang gebracht und vermessen. Je nachdem, bei welcher Wellenlänge gemessen wird, werden unterschiedliche Küvetten eingesetzt (siehe Tab. 2):

Tab. 2: Arten von Küvetten für die UV/Vis- Spektrophotometrie

Glasküvetten:	Die Glasküvetten sind für Messungen im sichtbaren Bereich geeignet. (ca. 350-800 nm)
Kunststoffküvetten:	Bestehen aus Polystyrol. Sie sind billig und werden meist als Einmalküvetten verwendet, da sie durch organische Lösungsmittel zerstört werden. Sie sind für viele Anwendungen im sichtbaren Bereich geeignet (ca. 350nm- 800nm)
Quarzküvetten:	Sind sehr teuer und werden für Messungen im UV-Bereich eingesetzt. (ca. 190-800nm)

Die gemessene Absorption wird abgelesen und die Konzentration kann durch die Anwendung des Lambert- Beer'schen Gesetzes errechnet werden. Dieses Verfahren ist einfach und billig und liefert schnelle Ergebnisse [17].



Quelle: (Rücker G. , Neugebauer M., Willems G.; Instrumentelle pharmazeutische Analytik - Lehrbuch zu spektroskopischen, chromatographischen und elektrochemischen Analysenmethoden, 4. Auflage, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart (2008) S. 123

Abb. 22: UV/Vis- Spektrophotometer

4.3. EuAB Monographien

Um die Ergebnisse der verschiedenen Extraktionsverfahren vergleichen und bewerten zu können, mussten jeweils quantitative Bestimmungen der Wirkstoffe in den erzielten Extrakten durchgeführt werden.

Dazu wurden die besprochenen Methoden zur Gehaltsbestimmung im EuAB herangezogen. Bei Thymian und Salbei waren die vorgegebenen Methoden für unseren Einsatzzweck nicht geeignet und wurden durch eine modifizierte GC-Methode ersetzt.

4.3.1. Thymian

Die volumetrische Bestimmung des Gehalts an ätherischem Öl wird mit der Apparatur des EuAB durchgeführt und erfolgt mit 20 g geschnittener Droge und 500 ml Wasser als Destillationsflüssigkeit in einem 1000- ml- Rundkolben. Als Vorlage (Hilfsphase) dient 0,2 ml Xylol (R) im Messrohr. 2 Stunden lang wird mit einer Destillationsgeschwindigkeit von etwa 3 ml je Minute destilliert. Nach dem Abkühlen wird das Volumen in der Olive der Apparatur abgelesen.

Das gewonnene ätherische Öl wird danach für die gaschromatographische Bestimmung der Zusammensetzung verwendet. Da mit dieser Methode der „Normalisierung“ nur die % Zusammensetzung, nicht aber die % Gehalte bestimmt werden können, war diese Methode für unsere Zwecke nicht geeignet.

4.3.2. Salbei

Die volumetrische Bestimmung des ätherischen Öls wird mit der Apparatur des EuAB durchgeführt und erfolgt mit 20 g geschnittener Droge und 500 ml Wasser als Destillationsflüssigkeit in einem 1000- ml- Rundkolben. Als Vorlage (Hilfsphase) dient 0,2 ml Xylol (R) in der Apparatur. 2 Stunden lang wird mit einer Destillationsgeschwindigkeit von etwa 3 ml je Minute destilliert. Nach dem Abkühlen wird das Volumen im Messrohr abgelesen. Das EuAB schreibt keine GC-Bestimmung vor, nachdem die volumetrische Bestimmung des ÄÖ für unsere Zwecke nicht geeignet war, musste auf eine andere GC-Methode unter Verwendung eines internen Standards zurückgegriffen werden.

4.3.3. Gehaltsbestimmung der Inhaltstoffe in Thymian und Salbei

Die Gehaltsbestimmung der Inhaltsstoffe (Thymol aus Thymian und Cineol bzw. α -Thujon aus Salbei) erfolgte mittels Gaschromatographie und unter Verwendung des internen Standards Chlorthymol. Die entsprechende Methode wurde in einer vorgegangenen Diplomarbeit entwickelt:

„Untersuchungslösung: 10 g der nach der Extraktion erhaltenen Tinktur werden in einem Scheidetrichter mit einer Lösung von 10 mg Chlorthymol (interner Standard) in 10 ml Hexan ausgeschüttelt. Anschließend wird noch zweimal mit je 15 ml Hexan ausgeschüttelt. Die Hexanphasen werden in einem 50 ml Messkolben gesammelt und mit Hexan bis zur Marke aufgefüllt.“ Von dieser Lösung wird 1 μ l für die GC-Analyse verwendet. Die Parameter für die GC-Analyse sind in Tab. 3 zusammengestellt [18].

Tab. 3: Parameter für Methode der Gaschromatographie

Säule	
Material	Quarzglas- Phenomenex ZB- 5 Kapillarsäule
Größe	L= 60 m , $\varnothing$ = 0,25 mm
Stationäre Phase	5 % Phenyl-, 95 % Dimethylpolysiloxane (Filmdicke 0,25 μ m)
Trärgas	Stickstoff zur Chromatographie R
Durchflussrate	2 ml pro Minute
Splitverhältnis	4:1
Temperatur	
Ofen	0 – 9,4 min 100 $\rightarrow$ 225 $^{\circ}$ C
Probeneinlass	270 $^{\circ}$ C
Detektion	Flammenionisation (FID)
Einspritzvolumen	1,0 μ l

Auswertung der Chromatogramme: Bei der Analyse von Thymian erfolgt bei 6,40 min die Elution von Thymol und kurz darauf folgt bei 6,45 min Carvacrol. Bei 8,17 min wird Chlorthymol (interner Standard) detektiert. Um eine Gehaltsbestimmung durchführen zu können, müssen Thymol und Carvacrol vollständig voneinander getrennt sein (Auflösung mindestens 1,5 zwischen den Peaks von Thymol und Carvacrol). Bei Salbei wird Cineol bei 5,42 min und α -Thujon bei 7,72 min gefolgt von Chlorthymol bei 8,17 min detektiert (siehe Abb. 23 und Abb. 24). Zur Berechnung des Prozentgehaltes der einzelnen Substanzen (Thymol, Carvacrol, Cineol, α -Thujon) wird folgende Formel verwendet.

$$\text{Berechnung: \%} = \frac{\text{Einwaage (Interner Standard)}[\text{g}] * \text{Peakfläche (Substanz)} * 100}{\text{Peakfläche (Interner Standard)} * \text{Einwaage (Probe)}[\text{g}]}$$

Auf die Einberechnung des Standardkorrekturfaktors wurde verzichtet, da davon ausgegangen wurde, dass der Interne Standard und die Wirkstoffe, mit ihren ähnlichen Komponenten (Chlorthymol, Thymol) ähnlich empfindlich detektiert werden.

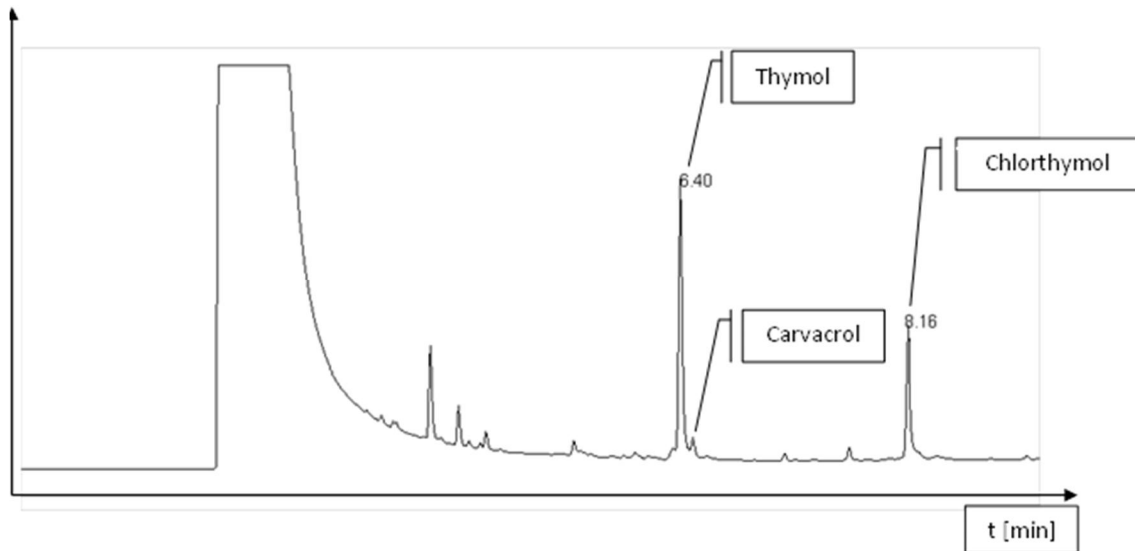


Abb. 23: Chromatogramm Thymian

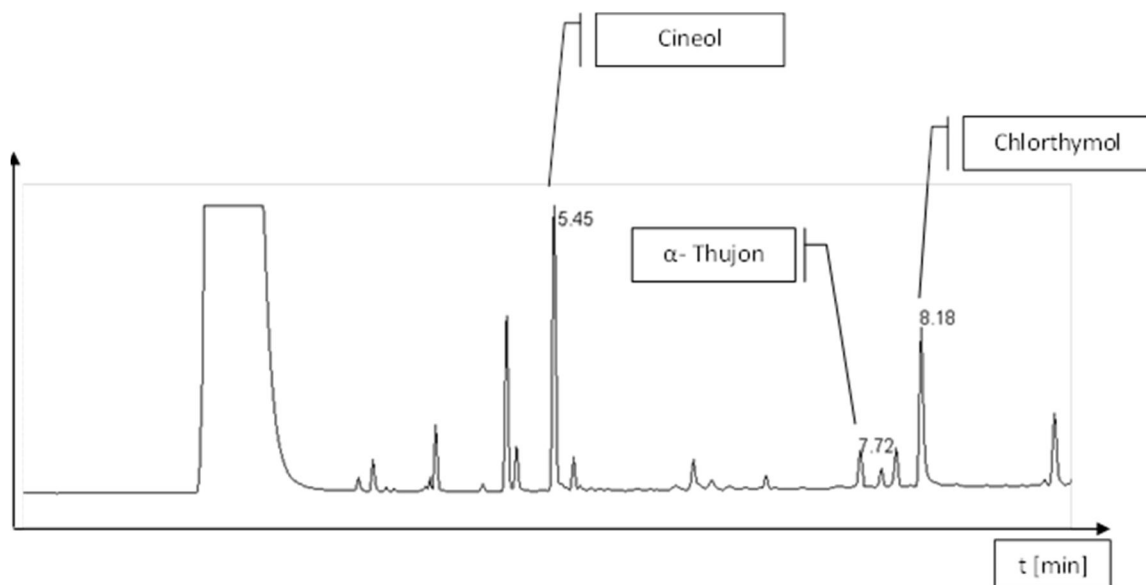


Abb. 24: Chromatogramm Salbei

4.3.4. Holler

Zur quantitativen Bestimmung der Wirkstoffe (Flavonoide) in dem Extrakt aus Sambuci flos konnte die Vorschrift zur Gehaltsbestimmung im EuAB übernommen werden.

„Quantitative spektrophotometrische Bestimmung des Gesamtflavanoidgehalt in Sambuci flos:

- Stammlösung:
0,600 g pulverisierte Droge wird in einem 100- ml- Rundkolben mit 1 ml einer Lösung von Methenamin *R* (5 g.l^{-1}), 20 ml Aceton *R* und 2 ml Salzsäure *R1* versetzt und 30 min lang unter Rückfluss erhitzt. Die Flüssigkeit wird durch einen Wattebausch in einen 100- ml- Messkolben filtriert. Wattebausch und Drogenrückstand werden im Rundkolben zweimal 10 min lang mit je 20 ml Aceton *R* zum Rückfluss erhitzt. Nach dem Erkalten der Flüssigkeit auf Raumtemperatur wird zuerst durch einen Wattebausch, dann durch ein Filterpapier in den Messkolben filtriert. Unter Waschen von Rundkolben und Filter wird mit Aceton *R* zu 100,0 ml verdünnt. 20,0 ml Lösung werden in einem Scheidetrichter mit 20 ml Wasser *R* versetzt, einmal mit 15 ml und dreimal mit je 10 ml Ethylacetat *R* ausgeschüttelt. Die in einem Scheidetrichter vereinigten Ethylacetat- Auszüge werden zweimal mit je 50 ml Wasser *R* gewaschen, über wasserfreies Natriumsulfat *R* in einen Messkolben filtriert und mit Ethylacetat *R* zu 50,0 ml verdünnt.
- Untersuchungslösung:
10,0 ml Stammlösung werden mit 1 ml Aluminiumchlorid- Reagenz *R* versetzt und mit einer 5 %igen Lösung von Essigsäure 99 % *R* in Methanol *R* zu 50,0 ml verdünnt.
- Kompensationsflüssigkeit:
10,0 ml Stammlösung werden mit einer 5 %igen Lösung von Essigsäure 99 % *R* in Methanol *R* zu 25,0 ml verdünnt.

Nach 30 min wird die Absorption der Untersuchungslösung bei 425 nm gegen die Kompensationsflüssigkeit gemessen, wobei die spezifische Absorption $A_{1\text{ cm}}^{1\%} = 500$ von Isoquercetin zugrunde gelegt wird. Anzugeben ist der Flavanoidgehalt der Droge in %, berechnet als Isoquercetin“ [19].

Die genauen Parameter sind in Tabelle 3 dargestellt:

Tab. 4: Geräteparameter UV/Vis Detektor

Durchflussküvette	Helma Präzisionsküvette aus Quarzglas SUPRASIL
Typ Nr.	176.700 – QS, 1cm
Wellenlänge	425 nm

Zur Berechnung der Gesamtflavonoidgehaltes wird der Prozentgehaltes von Isoquercetin mit folgender Formel berechnet.

Berechnung: $\% = \frac{A * 100}{\varepsilon * EW}$

5. Ergebnisse

Dieses Kapitel zeigt eine Gegenüberstellung der Extraktionsergebnisse, die mit den vorher besprochenen Vorschriften erhalten wurden. Es wurde jeweils eine sechsfache Bestimmung durchgeführt und daraus der Mittelwert ermittelt und in den Graphiken mit den jeweiligen Standardabweichungen angegeben.

5.1. Thymian

Als Grundlage für den Vergleich zwischen den unterschiedlichen Extraktionsmethoden wurde der Gehalt von Thymol herangezogen.

Vor der eigentlichen Untersuchung wurde die Droge auf Arzneibuchqualität überprüft. Das EuAB schreibt für Thymian einen Mindestgehalt von 12 ml/kg ätherischem Öl vor und davon mindestens 40 % Gehalt von Thymol und Carvacrol. Nach 2 Stunden Wasserdampfdestillation wurde 0,37 ml ätherisches Öl/20 g Droge erhalten. Das entspricht 18,5 ml/kg Droge und entspricht so dem EuAB. Der Gehalt vom Thymian und Carvacrol betrug 52,68 % und entspricht ebenfalls den Anforderungen des Europäischen Arzneibuches.

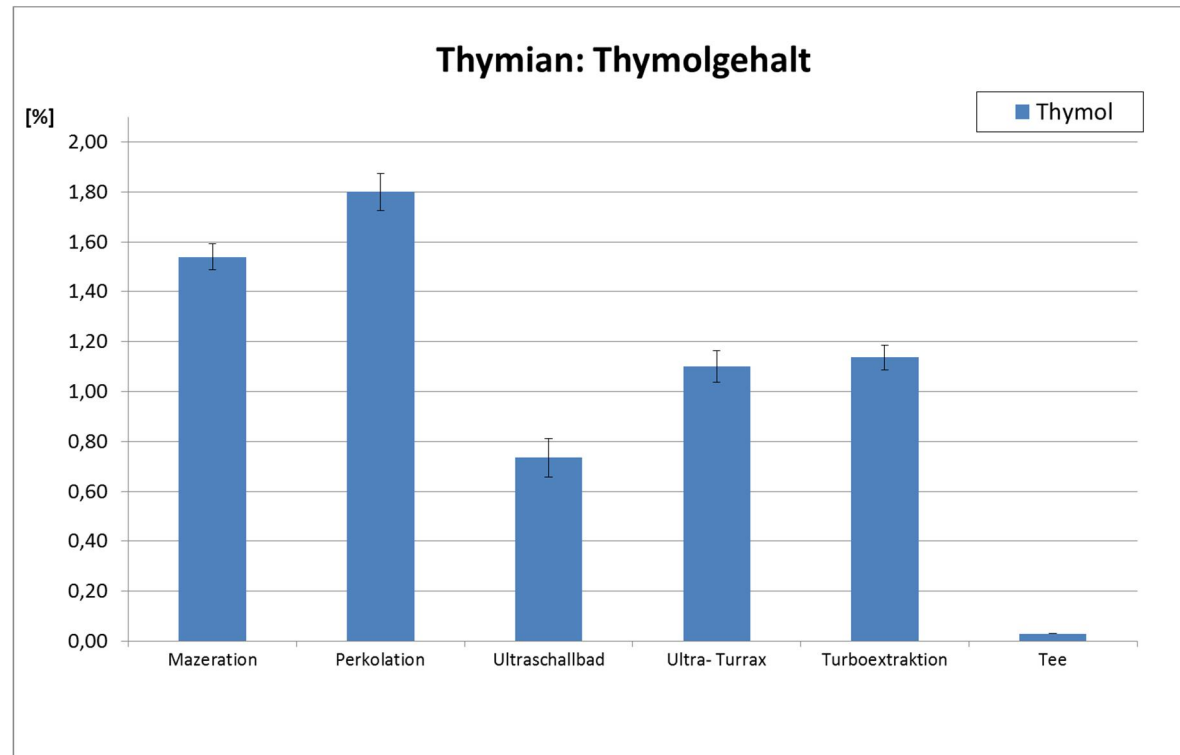


Abb. 25: Thymian: Thymolgehalt

In Abb. 25 sieht man die Auswertung des Thymolgehaltes, nachdem die Droge mit den unterschiedlichen Methoden extrahiert und mittels Gaschromatographie quantifiziert wurde.

Auf den ersten Blick ist sehr gut ersichtlich, dass die Perkolation mit einem Wert von 1,80 % die beste Ausbeute an Thymol erzielt. An zweiter Stelle liegt die Mazeration, die auf einen Gehalt von 1,54 % kommt. Den nächsthöheren Gehalt erreicht die Probe, die mittels Turboextraktion behandelt wurde, jedoch liegt der Wert mit 1,14 % nur marginal über dem Wert mit dem Ultra-Turrax von 1,10 %. Beachtet man die Standardabweichung, sind diese Verfahren als gleichwertig einzustufen.

Deutlich abgeschlagen liegen die Werte des Ultraschallbades mit 0,73 %. Das absolute Schlusslicht bildet die Extraktion mittels Teezubereitung, wobei hier der Thymolgehalt nur 0,03 % erreicht. Dieses Ergebnis war vorhersehbar, da sich die unpolare Substanz Thymol nicht gut in Wasser löst.

Zusammenfassend ist zu sagen, dass die beiden offizinellen Verfahren des EuAB, die Perkolation und Mazeration, mit Abstand die besten Ergebnisse, bezogen auf den Thymolgehalt, erzielen. Jedoch sind sie auch die zeit- und arbeitsaufwändigsten Methoden. Die Gesamtextraktion zieht sich über mehrere Tage und umfasst viele Arbeitsschritte.

Das ÖAB schreibt bei der Bereitung von Thymianfluidextrakt die Vorbefeuchtung mit Glycerin vor. Glycerin soll die Benetzbarkeit der Blätter erhöhen und damit dazu beitragen, die ätherischen Ölkomponenten leichter zugänglich zu machen und ihre Löslichkeit zu verbessern. Im Zuge dieser Diplomarbeit wurde auch untersucht, ob die Beigabe von Glycerin einen Vorteil bringt und die Drogen dadurch leichter extrahierbar macht, oder ob es einen verzichtbaren Arbeitsschritt darstellt. Daher wurde 20 g Thymian mit 4 g Glycerin plus 16 g Alkohol (70 %) vorbefeuchtet, einen Tag stehen gelassen und dann im Anschluss mit dem Restalkohol vermengt und mit den bereits beschriebenen Extraktionsverfahren analysiert.

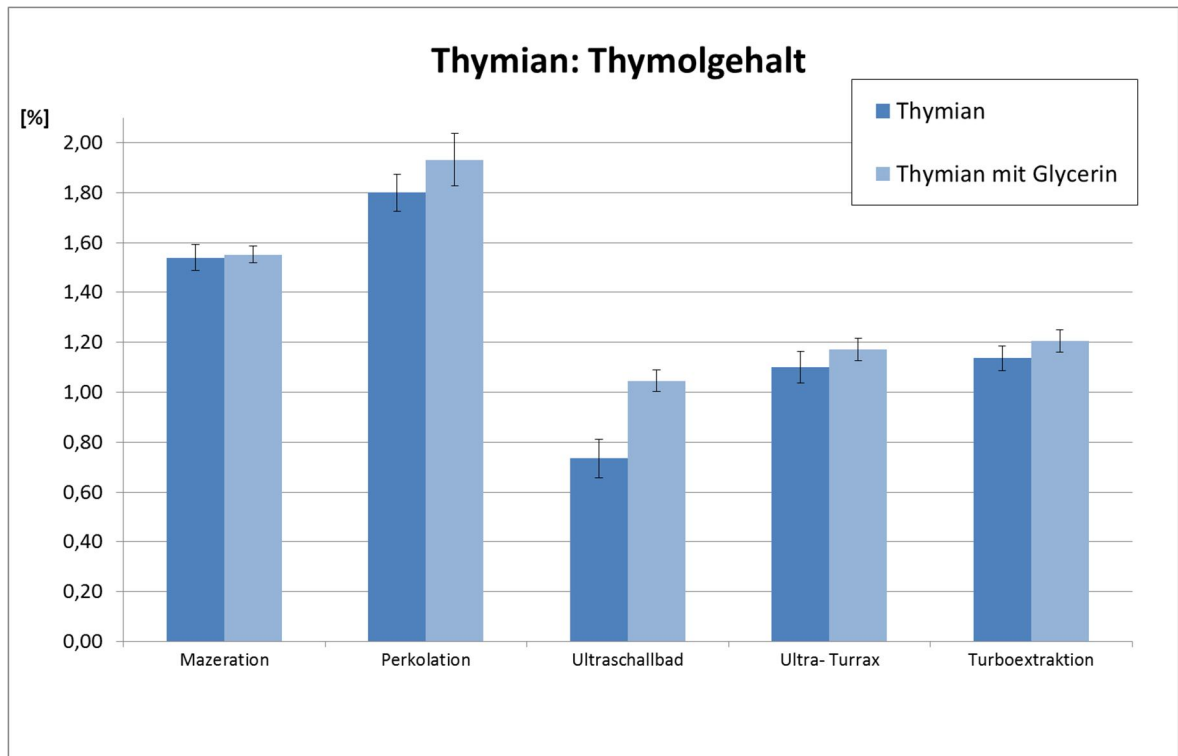


Abb. 26: Thymian mit und ohne Glycerinzusatz

Abb. 26 zeigt den Vergleich von unbehandeltem Thymian und Thymian nach Befeuchten mit Glycerin. Der unbehandelte Thymian entspricht den dunkelblauen Balken und der vorbehandelte Thymian wird mit den hellblau eingefärbten Balken dargestellt.

Aus diesem Vergleich ist gut ersichtlich, dass auch mit Glycerinvorbefeuchtung die Reihenfolge der Methoden, in Bezug auf ihre Effektivität, gleich bleibt. Die Perkolation mit 1,93 %, gefolgt von der Mazeration mit 1,55 % sind auch in diesem Fall die effektivsten Methoden. Der Unterschied von Turboextraktion mit 1,20 % und Ultra-Turrax mit 1,17 % ist noch geringer als ohne Glycerinvorbefeuchtung und ebenso gleichwertig einzustufen. Das Schlusslicht mit 1,04 % bildet wiederum die Extraktion via Ultraschallbad. Vergleicht man nun die Werte ohne Glycerin mit den Ergebnissen der mit Glycerin vorbehandelten Drogen, so ist der größte Unterschied bei der Behandlung mit dem Ultraschallbad erkennbar. In diesem Fall scheint eine Vorbehandlung sinnvoll. Die anderen Verfahren weisen mit den glycerinvorbehandelten Drogen höhere Werte auf, beachtet man jedoch die Standardabweichung, so minimiert sich der Effekt.

Deshalb ist der zusätzliche Arbeits- und Zeitaufwand nicht gerechtfertigt, denn die Verbesserung der Extraktionsausbeute ist nicht signifikant.

Wie weiter oben erwähnt, bestehen sehr große Unterschiede im Zeitaufwand zwischen Mazeration (6 Tage) und Ultraschallbad, Ultra-Turrax, Turboextraktion (einige Minuten). Deshalb wurde versucht, einerseits die Zeit für die Mazeration deutlich zu verkürzen (auf 3 Tage),

andererseits die Extraktionszeit für die anderen Methoden deutlich zu verlängern, um die Auswirkung auf die Extraktionsausbeute studieren zu können.

Wie in Abb. 27 ersichtlich, wurde die Mazerationszeit von sechs auf drei Tage reduziert, wohingegen die drei nicht offiziellen Verfahren, die Extraktion via Ultraschallbad, Ultra- Turrax und Turboextraktion, um ein Zehnfaches der bisher verwendeten Extraktionszeit verlängert wurden. Die Vorgehensweise der Verfahren wurde nicht verändert. Die Mazeration mit nur drei Tagen Extraktionszeit erreicht immerhin 87 % des Wertes von der Sechs- Tage- Mazeration. Das bedeutet, dass der Hauptteil der Extraktion in den ersten Tagen stattfindet. Der Wert von 1,34 % übersteigt noch immer die Werte der nicht offiziellen Extraktionsmethoden. Natürlich ergibt die Sechs- Tage- Mazeration eine höhere Ausbeute, von 1,54 %, aber beachtet man die Zahlen und die Tatsache, dass 87 % in den ersten drei Tagen extrahiert werden können, sollte über eine Verkürzung und keinesfalls über eine Verlängerung der Zeitdauer diskutiert werden. Ähnlich verhält es sich auch bei den übrigen Verfahren.

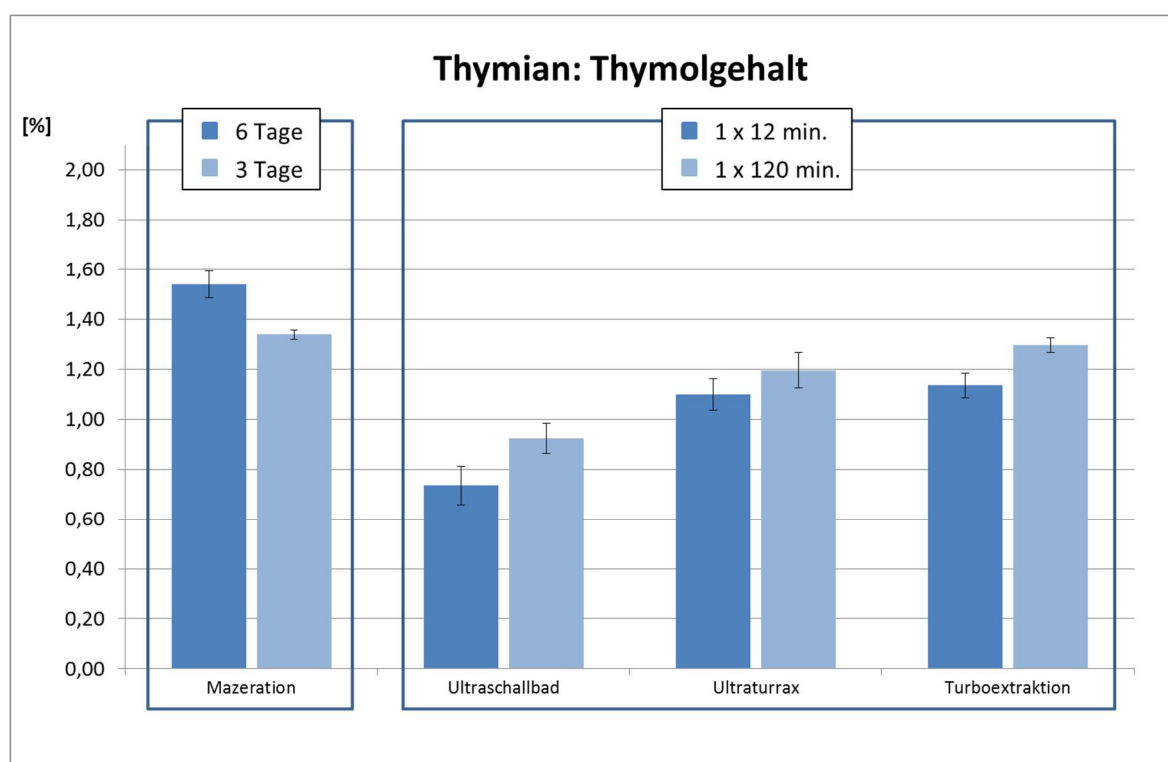


Abb. 27: Thymian: Thymol - Variation der Dauer der Extraktionsmethoden

Abb. 27 zeigt auch die Ergebnisse der alternativen Extraktionsmethoden bei einer verzehnfachten Extraktionszeit. Statt der bisher verwendeten 12 Minuten wurde 120 Minuten extrahiert. Die Werte stiegen beim Ultraschallbad von 0,73 % auf 0,92 %, was prozentuell einem Zuwachs von 26 % entspricht, beim Ultra- Turrax von 1,10 % auf 1,20 %, das ist ein Zuwachs von 9,1 %, und bei der Turboextraktion von 1,14 % auf 1,30 %, ein Zuwachs von 14 %. Auf den ersten

Blick kommt es zu einer Steigerung der Ausbeute. Durch die verlängerte Zeitspanne von 120 Minuten kommt es aber zu einer starken Erwärmung der Probe. Besonders Drogen mit ätherischem Öl enthalten thermolabile Inhaltsstoffe, weshalb es zu einer Veränderung des Inhaltstoffmusters kommen kann. Während der längeren Extraktion war ein starker Geruch nach ätherischem Öl bemerkbar, was ein Zeichen dafür ist, dass sich diese Komponenten durch die Erwärmung verflüchtigen. Außerdem kommt es auch zur Verdunstung von Lösungsmittel, das nachher wieder zugegeben werden musste, um vergleichbare Konzentrationen zu erhalten.

Bei der Perkolation konnte keine Zeitersparnisvariation gefunden werden, da das Vorquellen nicht vermeidbar ist, weil es sonst zum Bersten des Perkulators kommen kann. Eine Verkürzung der Defäkationszeit wäre zu überlegen bzw. diese durch Zentrifugieren zu erweitern oder sogar zu ersetzen.

5.2. Salbei

Bei der Untersuchung von Salbei wurde der Gehalt der Wirkstoffe Cineol und α -Thujon untersucht und zur Bewertung der Extraktionen herangezogen.

Vor den eigentlichen Extraktionsverfahren wurde das Drogenmaterial auf Arzneibuchqualität untersucht. Das EuAB schreibt einen Mindestgehalt von 10 ml/kg Droge vor. Nach der Wasserdampfdestillation wurden 0,24 ml/20 g Droge ätherisches Öl erhalten, was einem Gesamtgehalt von 12 ml ätherischem Öl pro Kilogramm Droge entspricht und somit Arzneibuchqualität aufweist.

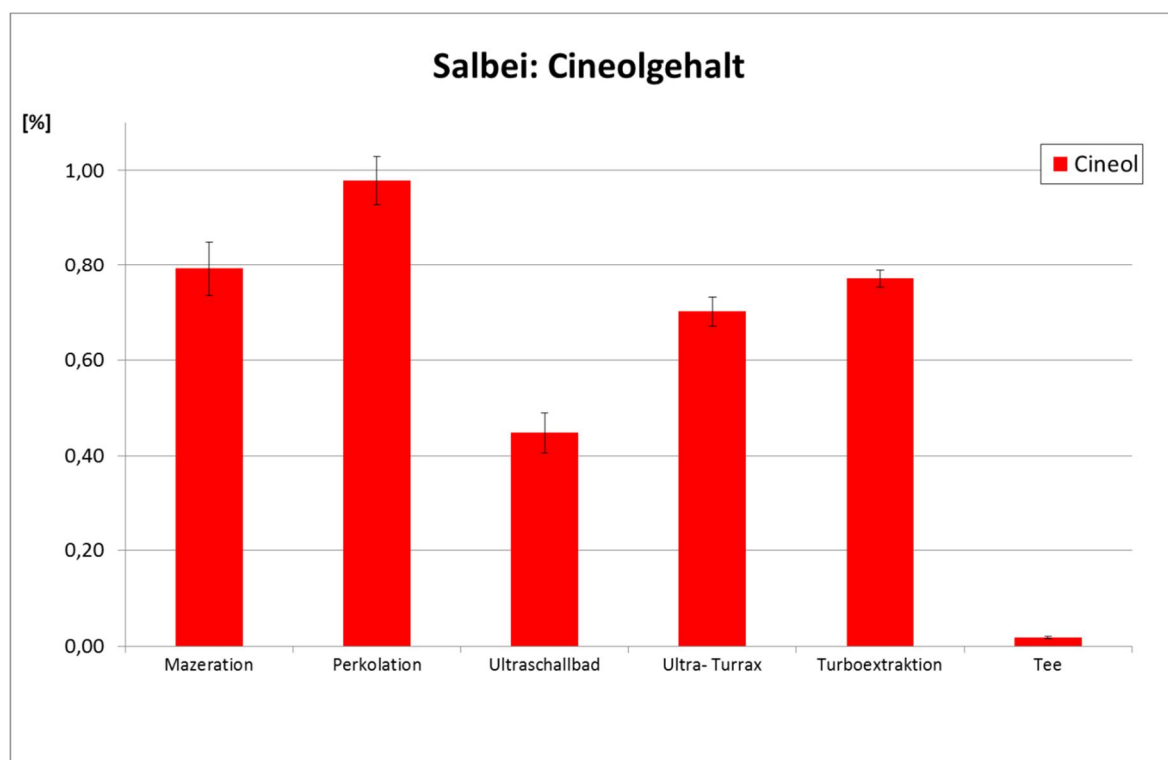


Abb. 28: Salbei: Cineolgehalt

Abb. 28 zeigt die Analysenergebnisse der Cineolbestimmung für die mit unterschiedlichen Extraktionsmethoden behandelten Salbeiprobe. Die Extraktion via Perkolation erzielte die höchsten Gehaltsausbeuten, dicht gefolgt von der Mazeration, welche gleichauf mit der Turboextraktion liegt. Die Ergebnisse mit dem Ultra-Turrax erwiesen sich als ähnlich ergiebig, wohingegen die Behandlung durch Ultraschallwellen auf nur die Hälfte des Gehaltes der Perkolationsextraktion kommt. Die am wenigsten ergiebigste Methode ist, wie zu erwarten, die Teezubereitung. Beachtet man nun wieder die Zeit, so sind die aufwändigsten Methoden auch die effektivsten, wobei die Turboextraktion und die Ultra-Turrax-Extraktion durchaus an die Mazerationsergebnisse heranreichen. Das Ultraschallbad kann trotz der leichten Handhabbarkeit und des geringen Arbeitsaufwandes nicht als optimale Extraktionsmöglichkeit für Salbei

empfohlen werden. Die geringen Standardabweichungen garantieren für alle Methoden eine verlässliche Reproduzierbarkeit. Das EuAB empfiehlt bei Thymian vor der Extraktion eine Vorbefeuchtung der Droge mit Glycerin. Dieses soll helfen, die ätherischen Öle besser lösbar zu machen, um die Ausbeute zu erhöhen.

Da es sich bei Thymian und Salbei um ätherische Öldrogen handelt, wurden auch die Salbeiprobe zusätzlich mit Glycerin vorbeuchtet, extrahiert und anschließend vermessen.

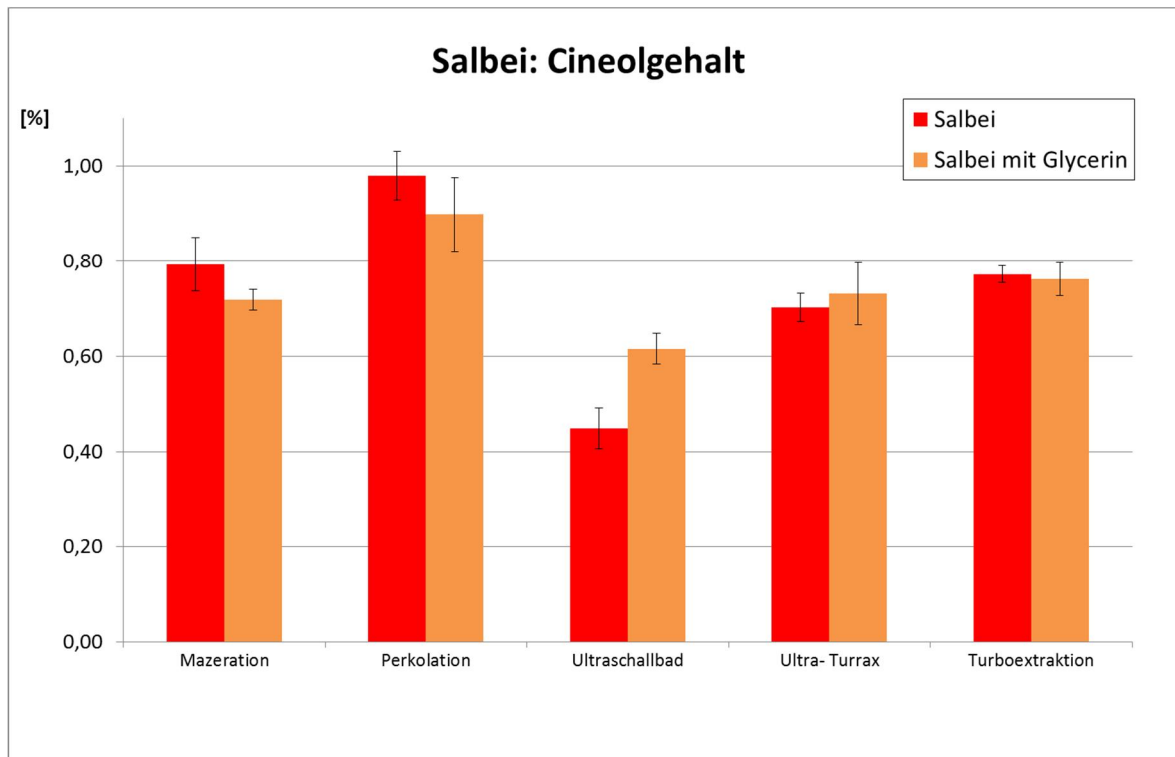


Abb. 29: Cineolgehalt Salbei mit und ohne Glycerin vorbeuchtet

In Abb. 29 ist sehr gut ersichtlich, dass die Platzierung der Extraktionsmethoden nach ihrer Effektivität sowohl ohne als auch mit Glycerinvorbefeuchtung ident ist. Perkolation steht an der Spitze und Ultraschallbad nimmt die letzte Stelle ein. Ebenso gut ersichtlich ist, dass eine Vorbehandlung mit Glycerin nur beim Ultraschallbad zu besseren Ergebnissen führt.

Bei den restlichen Methoden kommt es zu keiner signifikanten Verbesserung der Ausbeute, sondern teilweise sogar zu einer leichten Verschlechterung, weshalb das Vorbeuchten mit Glycerin nicht als sinnvoll erachtet werden kann.

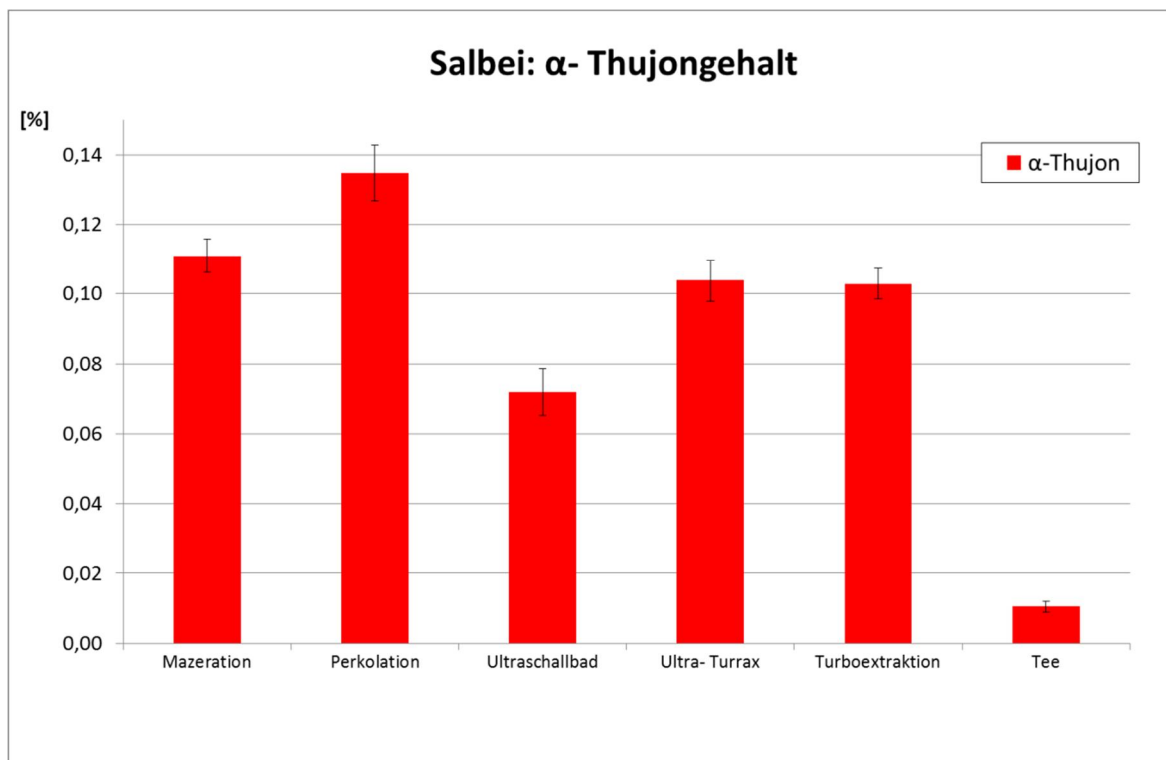


Abb. 30: Salbei: α - Thujongehalt

Die Abb. 30 zeigt den Gehalt an α -Thujon in der Salbeiprobe. Sehr gut ersichtlich ist, dass wiederum die Extraktion durch Perkolation die quantitativ höchsten Werte erhält. Mit 0,13 % erweist sich die Perkolation als Methode der besten Ausbeute. Auffällig ist, dass die Mazeration mit 0,11 %, die Turboextraktion und der Ultra- Turrax mit je 0,10 % als gleichwertig gute Extraktionsmethoden einzustufen sind. Abgeschlagen mit 0,07 % α - Thujon Gehalt liegt das Ultraschallbad, jedoch vor dem Extraktionsverfahren nach dem EuAB, welches 0,014 % erreicht und dennoch vor der Teezubereitung mit nur 0,010 % α - Thujon Gehalt liegt.

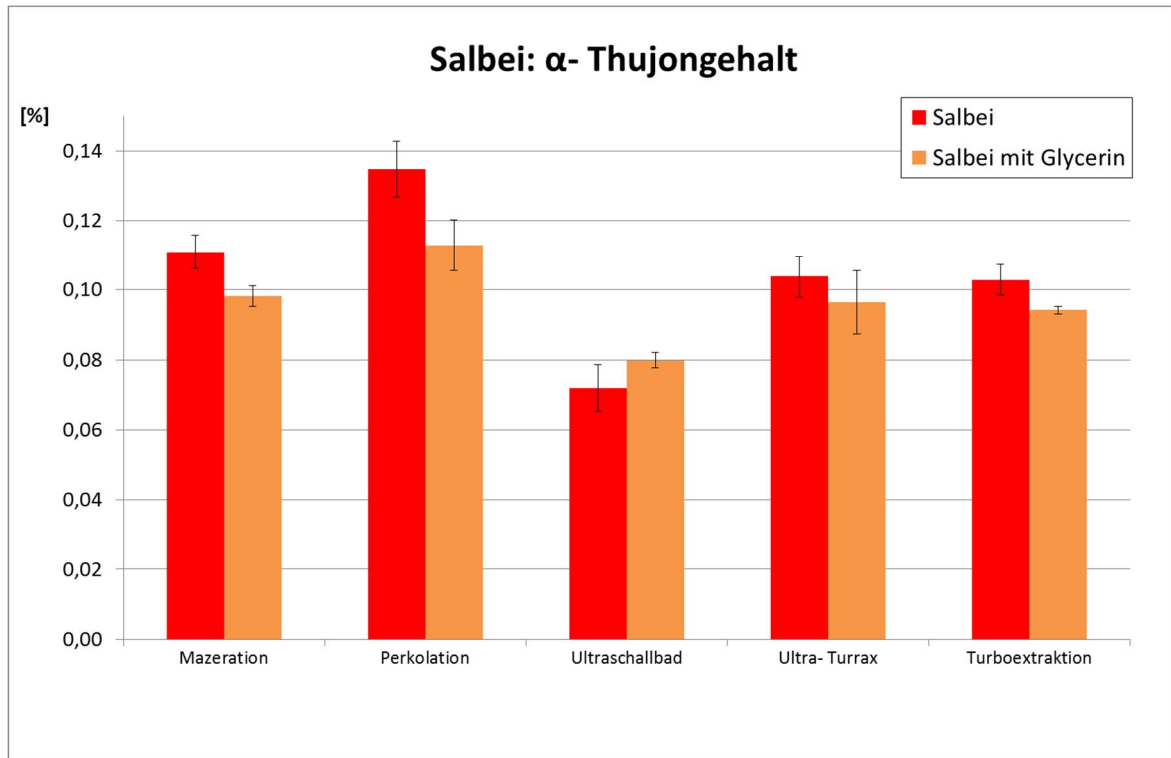


Abb. 31: α - Thujongehalt in Salbei mit und ohne Glycerin vorbehandelt

Abb. 31 stellt die Werte mit und ohne Glycerin- Vorbefeuchtung dar. Bereits auf den ersten Blick ist eindeutig zu sehen, dass die Vorbefeuchtung mit Glycerin in Hinsicht auf den α -Thujon- Gehalt keine Verbesserung darstellt, sondern sogar zu einer Verschlechterung der Ergebnisse zu führen scheint. Ähnlich wie beim Cineol- Gehalt, sind die Werte unter denen der Proben ohne Vorbefeuchtung durch Glycerin. Einzig die Extraktion via Ultraschallbad scheint durch die Vorbefeuchtung bessere Ergebnisse zu erzielen, beachtet man jedoch die Standardabweichung der nicht vorbehandelten Proben, ist dieser Vorteil als nicht relevant einzustufen.

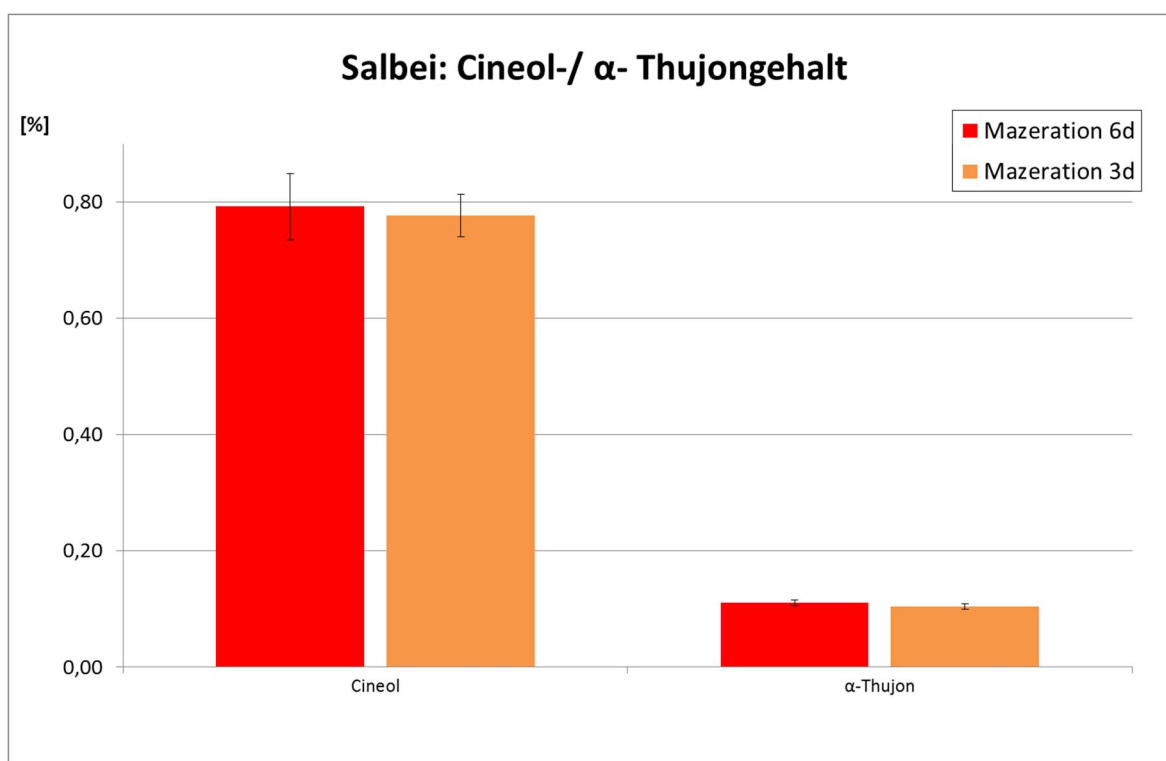


Abb. 32: Salbei: Cineol-/ α - Thujongehalt mit Variation der Mazerationszeit

Da die Vorbefeuchtung mit Glycerin keinen Vorteil brachte, wurde wiederum der Versuch gemacht, die Mazerationszeit von sechs auf drei Tage zu verkürzen. In Abb. 32 wird jeweils der Cineol- und α - Thujongehalt nach sechs bzw. drei Tagen verglichen. Sehr gut ersichtlich ist, dass die Halbierung der Extraktionszeit, im Gegensatz zu den Ergebnissen bei Thymian, kaum einen Unterschied macht. Die erhobenen Werte sind als gleichwertig einzustufen. Es kann also behauptet werden, dass die Extraktion von Cineol und α - Thujon bereits nach drei Tagen erschöpfend ist.

5.3. Holler

Als Grundlage der Gehaltsbestimmung von Holler gilt laut EuAB der Gesamtflavanoidgehalt der Droge in Prozent, berechnet als Isoquercitrin. Das EuAB fordert einen Mindestgehalt von 0,80 %. Die Überprüfung auf EuAB-Qualität erbrachte einen Gehalt von 1,07 % und entsprach den Anforderungen des EuAB.

Es wurden Mazeration, Perkolation, Ultraschallbad, Ultra-Turrax, Turboextraktion und Teezubereitung als Extraktionsmethoden verwendet. Die Bestimmung erfolgte mittels UV/Vis-Detektor unter Messung der spezifischen Absorption von Isoquercetin.

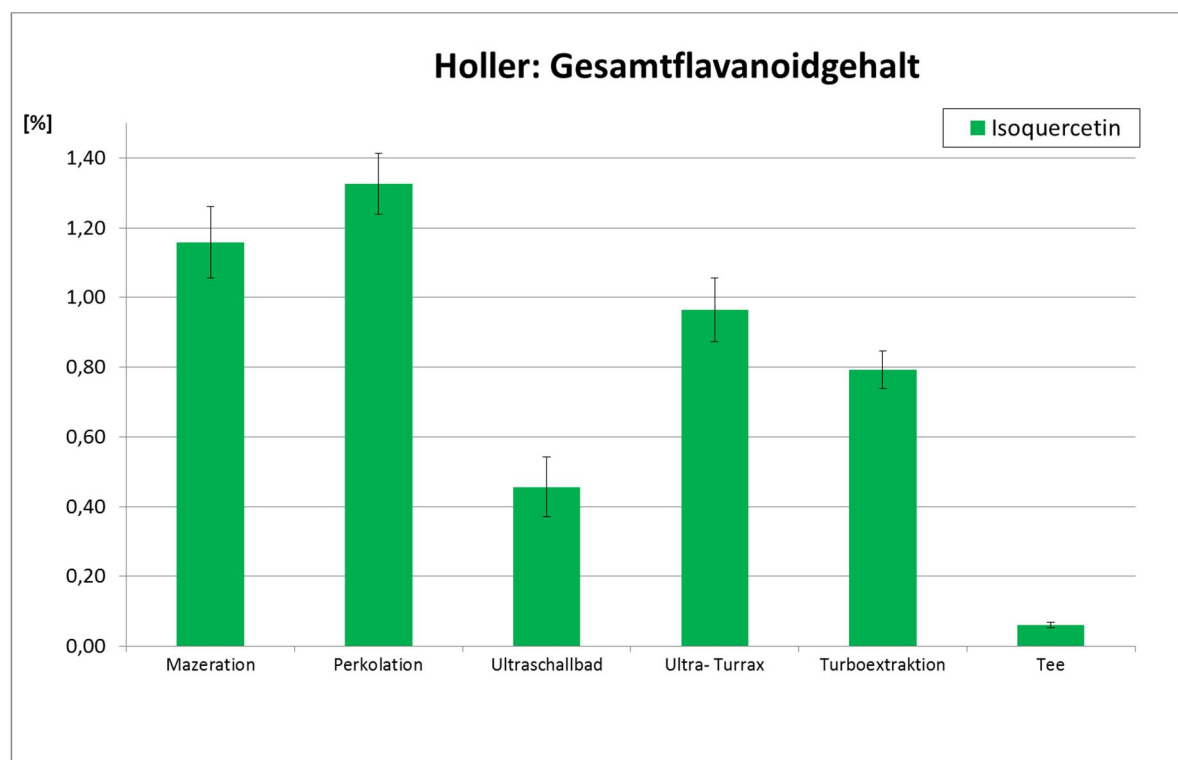


Abb. 33: Holler: Gesamtflavanoidgehalt

Wie in Abb. 33 ersichtlich, erreichten die Extrakte, via Mazeration, Perkolation und Ultra-Turrax, die geforderte Mindestgrenze von 0,80 %. Die Extraktion mit dem Ultraschallbad sowie die Teezubereitung blieben mit 0,46 % bzw. 0,06 % weit unter der Mindestgrenze. Am effektivsten erwies sich die Perkolation mit 1,33 %, gefolgt von der Mazeration mit 1,16 % Gesamtflavanoiden, dicht gefolgt von der Aufarbeitung mit 0,96 % bei mit dem Ultra-Turrax gewonnenen Extrakten. Die Turboextraktion erreichte mit 0,79 % beinahe die Anforderungen und ist ebenso als effektiv einzustufen.

Vergleicht man nun den Zeitaufwand sowie die Handhabung bzw. handwerklichen Voraussetzungen zur Bedienung und Durchführung der verschiedenen Extraktionsmöglichkeiten mit deren Ergebnissen, kommt man zu folgendem Ergebnis:

Die Perkolation ist mit einer Dauer von 5 Tagen die zweitlängste Methode. Die Dosierung der richtige Menge Alkohol zur Vorbefeuchtung sowie das Füllen des Perkulators erfordern Erfahrung und etwas Fingerspitzengefühl. Der Arbeitsaufwand bringt ein sehr vielversprechendes Ergebnis und auch die Standardabweichung ist so gering, dass die Werte sehr gut reproduzierbar sind.

Die Mazeration hat den Nachteil, dass sie mit 9 Tagen sehr lange dauert, dafür jedoch bis auf täglich häufiges Umschütteln vom Arbeitsaufwand her sehr gering ist. Auch sind die Werte sehr gut reproduzierbar.

Von den anderen erprobten Methoden zeigt die Extraktion mit dem Ultra-Turrax das beste Ergebnis. Der Vorteil liegt in der kurzen, aber offensichtlich effektiven Extraktionszeit und ebenso gut reproduzierbaren Werten. Die Turboextraktion erreichte nur knapp den Grenzwert nicht, unter Berücksichtigung der Standardabweichung wird der Mindestgehalt erreicht.

Die dritte nicht offizinelle Extraktionsmethode, das Ultraschallbad, erreicht nur die Hälfte des Mindestgehaltes und ist daher als nicht effektiv anzusehen. Die Methode wäre schnell, sauber und reproduzierbar, jedoch ist die Extraktion nicht erschöpfend.

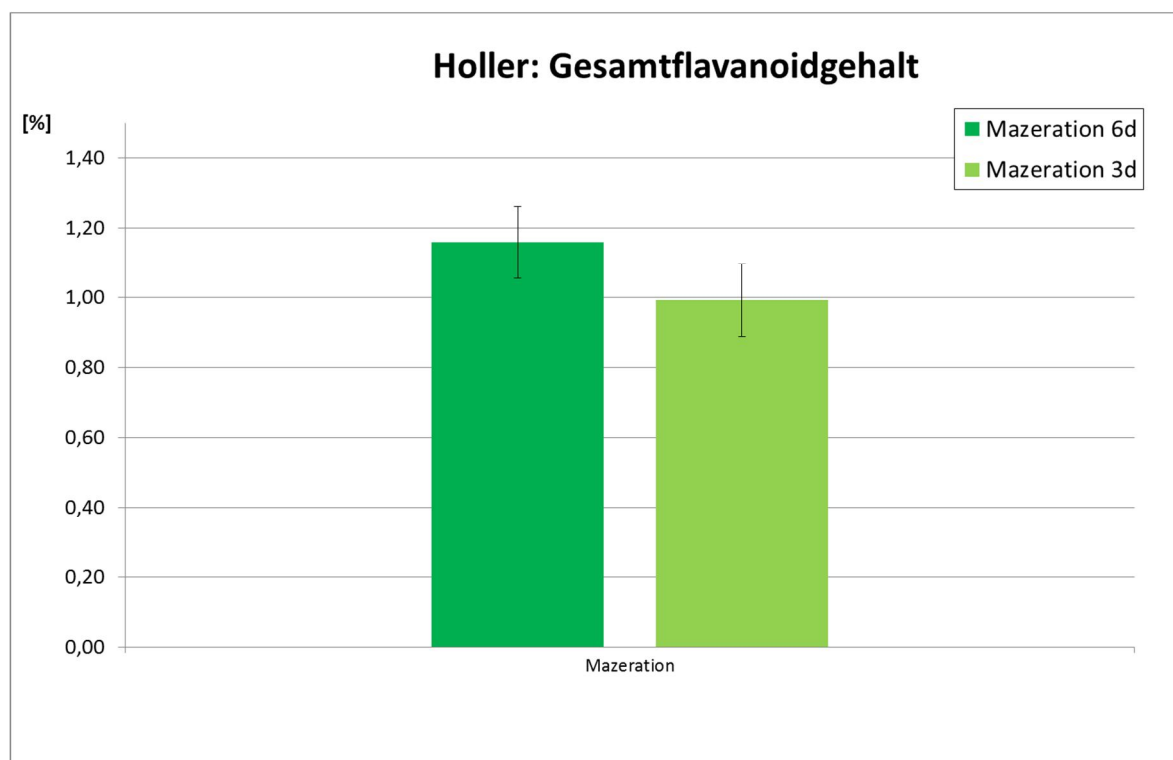


Abb. 34: Holler: Isoquercitrin mit Variation der Mazurationszeit

Um den hohen Zeitaufwand der Mazeration zu optimieren, wurde die Extraktionszeit der Mazeration von sechs auf drei Tage verkürzt und ausgewertet. Wie in Abb. 34 ersichtlich, ist der Gehalt an Flavonoiden zwar geringer, liegt jedoch auch über dem Mindestwert. Drei Tage Extraktion, unter häufigem Umschütteln, sowie drei Tage Defäkation wären eine mögliche Optimierung der Methode, erreichen jedoch nicht die Ausbeute der Perkolation.

5.4. Droge- Extrakt- Verhältnis (DEV)

Das Droge- Extrakt- Verhältnis (DEV) gibt die Ausgangsmenge an Drogenmaterial an, die benötigt wird, um eine bestimmte Menge an Extrakt zu erhalten.

Es ist eine sehr einfache Bestimmung, gibt aber dennoch aussagekräftige Beweise, ob die Extraktionsmethode gute oder weniger gute Ergebnisse liefert. Je höher das DEV, umso weniger Extraktionsmenge konnte erreicht werden, umso weniger effektiv ist die Extraktionsmethode.

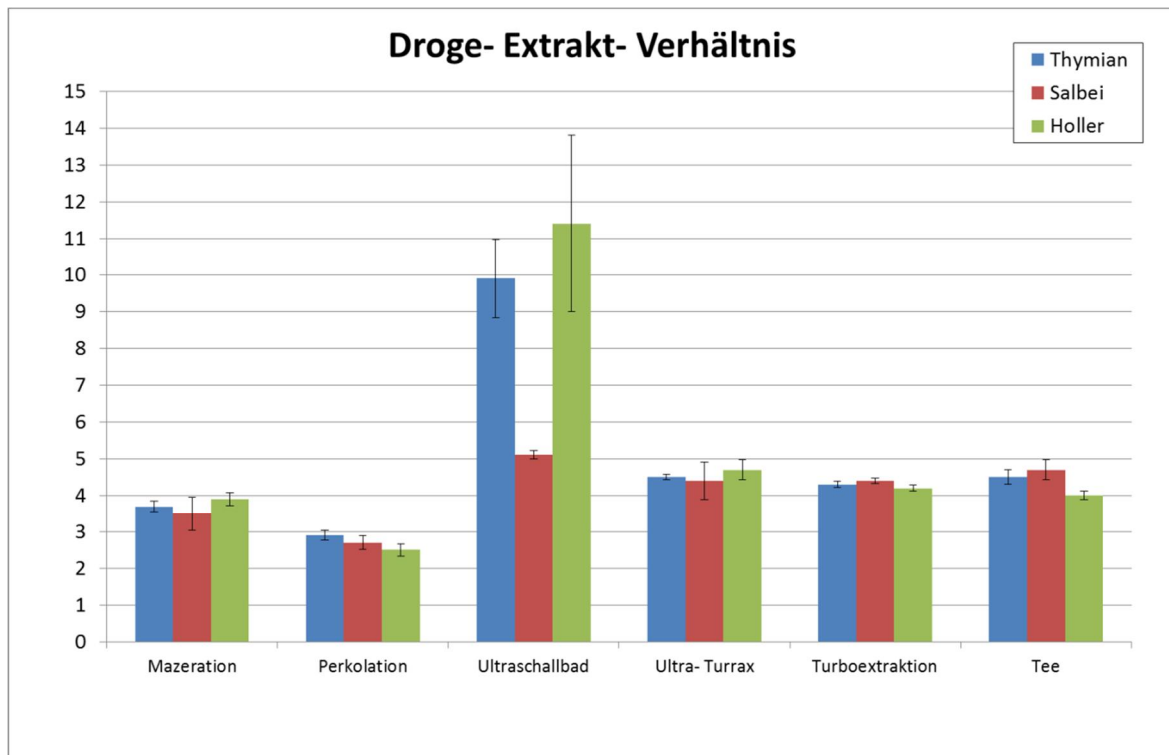


Abb. 35: Droge- Extrakt- Verhältnis

Wie Abb. 35 zeigt, wird für eine Extraktion via Ultraschallbad die meiste Drogenmenge als Ausgangsmaterial benötigt. Ebenso auffällig ist, dass die Standardabweichung beim Ultraschallbad, speziell bei Holler und Thymian, deutlich größer ausfällt als bei den anderen Methoden. Hingegen zeigt sich, dass die Perkolation den geringsten Drogeneinsatz braucht, um die gewünschte Menge an Extrakt zu erhalten. Bei Verhältnissen von Thymian mit 2,9 : 1, Salbei mit 2,7 : 1 und Holler mit 2,5 : 1 sind sie deutlich geringer als beim Ultraschallbad, wo die Verhältnisse von Thymian 9,9 : 1, Salbei 5,1 : 1 und Holler sogar 11,4 : 1 Teile zeigen.

Eine sehr ähnliche Reihenfolge in der Effizienz der Extraktionsmethoden konnte auch bei den vorher gezeigten Vergleichen gesehen werden, wo einzelne Wirkstoffe nach den entsprechenden Extraktionsmethoden quantifiziert werden.

6. Diskussion

Abb. 36 zeigt eine Übersicht über alle verwendeten Extraktionsmethoden in Relation zu ihrer Ausbeute für Thymian, Salbei und Holler. Die Methoden sind in absteigender Effektivität geordnet.

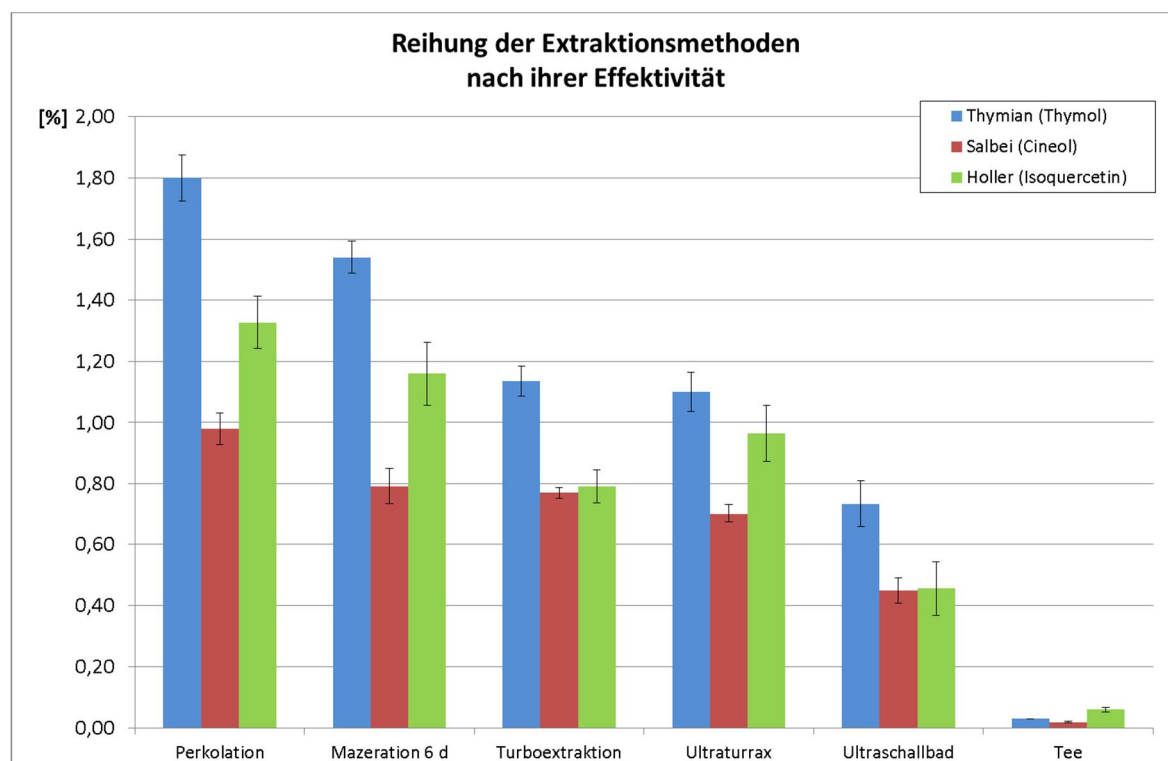


Abb. 36: Reihung der Extraktionsmethoden nach ihrer Effektivität

Die Ergebnisse für die drei unterschiedlichen Drogen sind miteinander vergleichbar und lassen den folgenden Trend ableiten:

An erster Stelle und somit als effektivste Methode steht die Extraktion nach dem Perkolationsverfahren. Sowohl die Inhaltsstoffe von Thymian, Holler als auch Salbei werden eindeutig mit diesem Verfahren am quantitativ besten extrahiert. An der zweiten Stelle steht die Mazeration, die allerdings in manchen Proben (z.B.: Salbei) keine deutliche bessere Extraktionseffizienz gegenüber der Turboextraktion oder Ultra- Turrax zeigt. Die Turboextraktion und die Extraktion mittels Ultra- Turrax erzielen vergleichbare Ergebnisse, wobei einmal die eine, aber manchmal auch die andere leicht bessere Ergebnisse zeigt. Die Extraktion mittels Ultraschallbad bringt bei allen Proben die schlechtesten Extraktionsausbeuten.

Diese Reihenfolge der Effizienz der verschiedenen Extraktionsmethoden konnte im Wesentlichen in einer parallel durchgeführten Diplomarbeit (Hassanein Sara, 2013, Diplomarbeit, Univ. Wien, in Vorbereitung), wo die Extraktion anderer Stoffgruppen untersucht wurde (Rotklee- Isoflavone, Efeu- Saponine, Arnika- Sesquiterpenlactone, Baldrian- Sesquiterpensäuren), bestätigt werden. Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass die Extraktionsausbeute an Wirkstoffen durch Teezubereitung am weitaus wenigsten effizient ist.

Der Inhaltsstoff Cineol aus dem Salbei lässt sich mittels Perkolation am besten herauslösen, jedoch nicht so eindeutig gegenüber der Mazeration wie die anderen zwei Drogen. Die drei nicht offiziellen Methoden ergeben nicht so hohe Gehaltswerte, aber dennoch sollte ihnen Aufmerksamkeit geschenkt werden. Durch ihre einfache Handhabbarkeit und ihren deutlich geringeren Zeitaufwand sind die Ergebnisse mehr als positiv einzustufen. Das drittbeste Verfahren ist die Extraktion mittels Turboextraktion und der Thymolgehalt des Thymians erreicht immerhin 63 % des Wertes der führenden Perkolation, und das bei einem deutlich geringeren zeitlichen und apparativen Aufwand. Ebenfalls deutlich zu sehen ist, dass sich die Extraktion mit Hilfe des Ultraschallbades für alle drei Drogen als nicht wirklich sinnvoll erweist. Die Werte liegen alle deutlich unter denen der anderen Methoden, mit Ausnahme der Teezubereitung. Ebenso auffällig ist, dass die Standardabweichung bei allen drei Drogen bei der Ultraschallbadbehandlung am höchsten ist. Die lässt darauf schließen, dass die Methode nicht sehr gut reproduzierbar ist. Aufgrund der schlechten Wiederholbarkeit und der geringen Ausbeute an Inhaltsstoffen als Nachteile dieser Methode gegenüber den Vorteilen der zeitlichen Ersparnis sowie des geringen apparativen Aufwandes kann keine Empfehlung für diese Methode abgegeben werden.

Für Salbei gilt, dass die Perkolation am besten funktioniert, jedoch der Ultra- Turrax und die Turboextraktion mit der Mazeration gleichzusetzen sind. Beachtet man nun, dass die Mazeration insgesamt neun Tage dauert und die Turboextraktion sowie die Behandlung mittels Ultra- Turrax nur 52 Minuten dauern, so erscheint es logisch, dass für Salbei diese zwei nicht offiziellen Methoden für zukünftige Extraktionen durchaus in Betracht gezogen werden sollten.

7. Zusammenfassung

Bei der Extraktion von Arzneidrogen zur Bereitung von Tinkturen, Fluid- bzw. Trockenextrakten ist man natürlich bestrebt, eine möglichst hohe Extraktionsausbeute an Inhaltstoffen, im Speziellen an Wirkstoffen, erreichen zu können. In den Arzneibüchern werden dafür zwei unterschiedliche Extraktionsverfahren, die Mazeration und die Perkolation, vorgeschrieben. Diese beiden officinellen Verfahren sind in der Durchführung einfach, jedoch erfordern sie einen hohen Zeitaufwand.

Durch den stetigen Fortschritt der Technik im Bereich der Pharmazeutischen Technologie sind noch andere Extraktionsverfahren, die sich im Laufe der Zeit etabliert haben, entwickelt worden. Ziel dieser Diplomarbeit war es, die vorgeschriebenen Extraktionsmethoden an *Hand Thymi herba*, *Salvia off. folium* und *Sambuci flos* auf ihre Effektivität zu überprüfen und mit möglichen alternativen Methoden der Extraktion zu vergleichen. Dazu wurden die ausgewählten Arzneidrogen mittels Mazeration, Perkolation, Ultraschallbad, Ultra-Turrax, Turboextraktion und Teezubereitung behandelt und die Ergebnisse miteinander verglichen. Empfohlen wird bei der Verarbeitung von ätherischen Öldrogen (in diesem Fall Thymian und Salbei) eine Vorbefeuchtung mit Glycerin, um die Benetzbarkeit zu erhöhen. Auch die Effektivität dieser Vorbehandlung wurde untersucht. Diese Methoden haben im Vergleich zu den beiden officinellen Extraktionsmethoden deutlich zeitliche Vorteile, dagegen gibt es aber keine Untersuchungen zur Effizienz der Extraktion im Vergleich zu den officinellen Methoden. Daher wurde versucht, ob gleichwertige oder vielleicht sogar bessere Resultate mit den wesentlich kürzeren Methoden erreicht werden können, ohne dabei qualitative und quantitative Einbußen einzufahren. Dementsprechend wurde in der vorliegenden Diplomarbeit versucht, die Effizienz und Reproduzierbarkeit der oben erwähnten Methoden am Beispiel von Thymian, Salbei und Holler zu untersuchen.

Als Resultat kann festgehalten werden, dass die Perkolation deutlich die besten Ergebnisse liefert, dicht gefolgt von der Mazeration. Die Turboextraktion sowie die Extraktion via Ultra-Turrax sind speziell für Salbei mit der Mazeration gleichzusetzen und liefern auch für Thymian und Holler sehr gute Ergebnisse. Von einer Extraktion mit Ultraschallbad ist abzuraten, da die Menge des eingesetzten Drogenmaterials im Verhältnis zur Ausbeute an Wirkstoffen in keiner akzeptablen Relation steht. Auch die Vorbehandlung mit Glycerin zeigte keinen wesentlichen Vorteil und bedeutet nur einen zusätzlichen zeitlichen Arbeitsaufwand.

Zusammengefasst ist zu sagen, dass die offizinellen Methoden nach wie vor die effektivsten sind, jedoch für Salbei die Extraktion mit Turboextraktion und Ultra-Turrax durchaus näher in Betracht zu ziehen ist.

Abstract

Regarding the extraction of medicinal drugs, which are meant to be used for the preparation of tinctures, fluid or dry extracts, one aims for the highest possible extraction yield of ingredients, especially the active ingredients. Pharmacopeias stipulate the use of two different extraction methods, one is maceration the other percolation. The execution of these two officinal methods is fairly simple, however the execution is very time consuming.

In the course of steady technical progress in the field of pharmaceutical technology other extraction methods have been developed. These methods complemented each other and established over time. The aim of this thesis was to test the effectiveness of the stipulated extraction methods on *Thymi herba*, *Salviae folium* and *Sambuci flos* and compare it with possible alternative methods of extraction. The selected medicinal drugs were treated with maceration, percolation, ultrasound, Ultra-Turrax, turbo extraction and preparation of a tea and the results were compared with each other. Pre-wetting with glycerol to increase the wettability is recommended in the processing of essential oil drugs (in this case, thyme and sage). The effectiveness of this pretreatment was also examined. The aforementioned methods, compared to the two officinal extraction methods, have clear temporal advantages, however, there are no studies on the extraction efficiency in comparison to the officinal methods. Therefore it was examined whether equivalent or even better results could be achieved and reproduced with the less time consuming methods, without retracting qualitative and quantitative losses.

The examination showed that the percolation clearly gives the best results, closely followed by maceration. The results for turbo extraction and extraction via Ultra-Turrax applied to sage equate to the results of maceration and also provide very good results for thyme and elder. Extraction with ultrasound is not recommended, since the amount of raw drug material in relation to the yield of active ingredients is disproportionate. Similarly, the pretreatment with glycerol showed no significant benefit, and only requires an additional time effort. In summary the officinal methods remain the most effective, but the turbo extraction and extraction with an Ultra-Turrax should be considered for the extraction of sage.

8. Literaturverzeichnis

- [1] Wichtl M. (2009), Teedrogen und Phytopharmaka, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart 5. Auflage: Seite 664-665
- [2] Europäisches Arzneibuch (2008), Grundwerk 2008, Verlag Österreich GmbH, 6. Ausgabe Band III Monographien K-Z, Seite 4137-4138
- [3] Wichtl M. (2009), Teedrogen und Phytopharmaka, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart 5. Auflage: Seite 591-593
- [4] Europäisches Arzneibuch (2008), Grundwerk 2008, Verlag Österreich GmbH, 6. Ausgabe Band III Monographien K-Z, Seite 3885
- [5] Wichtl M. (2009), Teedrogen und Phytopharmaka, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart 5. Auflage: Seite 598-599
- [6] Europäisches Arzneibuch (2008), Grundwerk 2008, Verlag Österreich GmbH, 6. Ausgabe Band II Monographien A-J, Seite 2777-2778
- [7] Voigt Rudolf (2006), Pharmazeutische Technologie, Deutscher Apothekerverlag Stuttgart 10. Auflage: Seite 528-529
- [8] Bauer/Frömming/Führer (2012), Pharmazeutische Technologie mit Einführung in die Biopharmazie, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart 9. Auflage :Seite 664
- [9] Voigt Rudolf (2006), Pharmazeutische Technologie, Deutscher Apothekerverlag Stuttgart 10. Auflage: Seite 531
- [10] Voigt Rudolf (2006), Pharmazeutische Technologie, Deutscher Apothekerverlag Stuttgart 10. Auflage: Seite 530
- [11] Voigt Rudolf (2006), Pharmazeutische Technologie, Deutscher Apothekerverlag Stuttgart 10. Auflage: Seite 530
- [12] Voigt Rudolf (2006), Pharmazeutische Technologie, Deutscher Apothekerverlag Stuttgart 10. Auflage: Seite 530
- [13] Wichtl M. (2009), Teedrogen und Phytopharmaka, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart 5. Auflage: Seite 15-17
- [14] Österreichisches Arzneibuch Amtliche Ausgabe 2006: Seite 14
- [15] Wichtl M. (2009), Teedrogen und Phytopharmaka, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart 5. Auflage: Seite 31

- [16] Rücker G. , Neugebauer M., Willems G. (2008), Instrumentelle pharmazeutische Analytik - Lehrbuch zu spektroskopischen, chromatographischen und elektrochemischen Analysenmethoden, 4. Auflage, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart
Seite 416-430
- [17] Rücker G. , Neugebauer M., Willems G. (2008), Instrumentelle pharmazeutische Analytik - Lehrbuch zu spektroskopischen, chromatographischen und elektrochemischen Analysenmethoden, 4. Auflage, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart
Seite 122-132
- [18] Pöllauer R.(2011), Diplomarbeit Überarbeitung der ÖAB-Monographie von Thymianfluidextrakt, Universität Wien, Seite 27
- [19] Europäisches Arzneibuch (2008), Grundwerk 2008, Verlag Österreich GmbH, 6.Ausgabe
Band II Monographien A-J, Seite 2778

9. Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

Abb. 1: Thymian (<i>Thymus vulgaris</i>).....	3
Abb. 2: DC- Platten Auswertung Thyman: Ergebnis A (links); Ergebnis B (rechts).....	4
Abb. 3: Formelbilder Thymol (links); Cavacrol (rechts).....	5
Abb. 4: Salbei (<i>Salvia officinalis</i>)	6
Abb. 5: DC-Platten Auswertung Salbei.....	7
Abb. 6: Formelbilder Cineol (links); α - Thujon (rechts)	7
Abb. 7: Holler (<i>Sambucus nigra</i>)	8
Abb. 8: DC- Platten Auswertung Holler: Ergebnis A (links); Ergebnis B (rechts).....	9
Abb. 9: Formelbild Isoquercetin	9
Abb. 10: Formelbild Chlorthymol.....	11
Abb. 11: Ultrazentrifugalmühle	12
Abb. 12: Siebturm	13
Abb. 13: Ultraschallbad	13
Abb. 14: Aufbau des Ultra- Turrax (links); Ultra- Turrax Stab (rechts).....	14
Abb. 15: Turboextraktor	14
Abb. 16: Gaschromatograph.....	15
Abb. 17: Mazerationsgefäß	16
Abb. 18: Perkolator (links); Schematischer Aufbau eines Perkolators (rechts).....	18
Abb. 19: Vorversuche: Gesamtflavanoidgehalt	21
Abb. 20: Schematischer Aufbau eines Gaschromatographen	26
Abb. 21: Schematischer Aufbau eines Flammenionisationsdetektor	28
Abb. 22: UV/Vis- Spektrophotometer	29
Abb. 23: Chromatogramm Thymian.....	32
Abb. 24: Chromatogramm Salbei.....	32
Abb. 25: Thymian: Thymolgehalt.....	35
Abb. 26: Thymian mit und ohne Glycerinzusatz	37
Abb. 27: Thymian: Thymol - Variation der Dauer der Extraktionsmethoden.....	38
Abb. 28: Salbei: Cineolgehalt.....	40
Abb. 29: Cineolgehalt Salbei mit und ohne Glycerin vorbehandelt.....	41
Abb. 30: Salbei: α - Thujongehalt.....	42
Abb. 31: α - Thujongehalt in Salbei mit und ohne Glycerin vorbehandelt.....	43
Abb. 32: Salbei: Cineol-/ α - Thujongehalt mit Variation der Mazerationszeit	44

Abb. 33: Holler: Gesamtflavanoidgehalt	45
Abb. 34: Holler: Isoquercitrin mit Variation der Mazerationszeit.....	46
Abb. 35: Droge- Extrakt- Verhältnis.....	48
Abb. 36: Reihung der Extraktionsmethoden nach ihrer Effektivität	49
Tab. 1: Methodenübersicht	24
Tab. 2: Arten von Küvetten für die UV/Vis- Spektrophotometrie.....	29
Tab. 3: Parameter für Methode der Gaschromatographie.....	31
Tab. 3: Geräteparameter UV/Vis Dedektor	34

10. Abkürzungsverzeichnis

A	Absorption
Abb.	Abbildung
ÄÖ	Ätherisches Öl
bzw.	beziehungsweise
Ca.	circa
CAS	Chemical Abstracts Service
Ch.Nr.	Chargennummer
DC	Dünnschichtchromatographie
DEV	Droge-Extrakt-Verhältnis
ε	Extinktion
EtOH	Ethanol
EuAB	Europäisches Arzneibuch
FID	Flammenionisationsdetektor
GC	Gaschromatographie
M	Masse
Maz	Mazeration
MG	Molekulargewicht
MW	Mittelwert
ÖAB	Österreichisches Arzneibuch
off.	officinalis
p.a.	pro analysi
PE	Perkolation
Ph.Eur	Pharmacopoea Europaea
Stabw.	Standardabweichung
Tab.	Tabelle
TE	Turboextraktion
USB	Ultraschallbad
UT	Ultra- Turrax
UV	Ultraviolett
Vis	Visuell

11. Anhang

Thymian (Thymol [%])						
	Maz	PE	USB	UT	TE	Tee
1	1,52	1,82	0,82	1,07	1,19	0,03
2	1,58	1,77	0,81	1,01	1,17	0,03
3	1,53	1,76	0,73	1,15	1,12	0,03
4	1,61	1,83	0,74	1,07	1,05	
5	1,45	1,92	0,62	1,16	1,15	
6	1,54	1,70	0,69	1,16	1,13	
MW	1,54	1,80	0,73	1,10	1,14	0,03
Stabw	0,054	0,075	0,077	0,063	0,049	0,001

Thymian + Glycerin (Thymol [%])					
	Maz 6d	PE	USB	UT	TE
1	1,53	1,78	1,06	1,10	1,23
2	1,55	1,91	1,06	1,22	1,20
3	1,59	2,04	1,00	1,20	1,23
4	1,56	1,96	1,03	1,17	1,22
5	1,50	1,85	1,12	1,15	1,11
6	1,58	2,04	1,00	1,18	1,23
MW	1,55	1,93	1,04	1,17	1,20
Stabw	0,035	0,104	0,043	0,044	0,045

Thymian (Thymol [%])				
	Maz 3d	USB 120 min	UT 120 min	TE 120 min
1	1,34	0,88	1,15	1,27
2	1,36	0,99	1,28	1,30
3	1,31	0,86	1,13	1,28
4	1,35	0,95	1,22	1,34
5	1,32			
6	1,34			
MW	1,34	0,92	1,20	1,30
Stabw	0,019	0,061	0,071	0,028

Salbei (Cineol [%])						
	Maz	PE	USB	UT	TE	Tee
1	0,77	0,92	0,46	0,67	0,77	0,02
2	0,88	0,97	0,40	0,69	0,76	0,02
3	0,80	0,97	0,49	0,68	0,78	0,02
4	0,83	0,98	0,50	0,76	0,76	0,02
5	0,76	0,97	0,41	0,71	0,80	0,02
6	0,72	1,07	0,43	0,71	0,76	0,02
MW	0,79	0,98	0,45	0,70	0,77	0,02
Stabw	0,057	0,051	0,042	0,030	0,018	0,002

Salbei + Glycerin (Cineol [%])					
	Maz	PE	USB	UT	TE
1	0,72	0,86	0,65	0,79	0,76
2	0,68	0,80	0,59	0,76	0,74
3	0,75	0,99	0,58	0,76	0,73
4	0,72	0,99	0,60	0,75	0,77
5	0,72	0,88	0,65	0,61	0,75
6	0,71	0,88	0,64	0,72	0,83
MW	0,72	0,90	0,62	0,73	0,76
Stabw	0,022	0,077	0,032	0,066	0,034

Salbei	Cineol	α -Thujon
	Maz 3d	Maz 3d
1	0,81	0,10
2	0,80	0,10
3	0,80	0,10
4	0,77	0,10
5	0,76	0,11
6	0,72	0,11
MW	0,78	0,10
Stabw	0,037	0,005

Salbei (α -Thujon [%])						
	Maz	PE	USB	UT	TE	Tee
1	0,11	0,13	0,08	0,10	0,10	0,01
2	0,12	0,14	0,06	0,11	0,10	0,01
3	0,12	0,13	0,08	0,10	0,11	0,01
4	0,11	0,13	0,08	0,11	0,10	0,01
5	0,11	0,14	0,07	0,10	0,10	0,01
6	0,11	0,15	0,07	0,10	0,10	0,01
MW	0,11	0,13	0,07	0,10	0,10	0,01
Stabw	0,005	0,008	0,007	0,006	0,004	0,002

Salbei + Glycerin (α -Thujon [%])					
	Maz	PE	USB	UT	TE
1	0,10	0,12	0,08	0,10	0,10
2	0,10	0,10	0,08	0,11	0,09
3	0,10	0,11	0,08	0,10	0,09
4	0,10	0,11	0,08	0,10	0,09
5	0,10	0,11	0,08	0,08	0,09
6	0,10	0,11	0,08	0,09	0,09
MW	0,10	0,11	0,08	0,10	0,09
Stabw	0,003	0,007	0,002	0,009	0,001

Holler (Isoquercetin [%])						
	Maz	PE	USB	UT	TE	Tee
1	0,97	1,23	0,58	0,96	0,82	0,06
2	1,12	1,44	0,53	0,98	0,82	0,07
3	1,22	1,34	0,40	0,98	0,77	0,05
4	1,28	1,24	0,42	0,79	0,69	0,05
5	1,17	1,31	0,34	1,05	0,81	0,07
6	1,19	1,41	0,47	1,02	0,83	0,06
MW	1,16	1,33	0,46	0,96	0,79	0,06
Stabw	0,104	0,086	0,088	0,091	0,054	0,008

DEV						
	Thymian		Salbei		Holler	
	MW	Stabw	MW	Stabw	MW	Stabw
Maz	3,7	0,152	3,5	0,456	3,9	0,176
PE	2,9	0,139	2,7	0,183	2,5	0,164
USB	9,9	1,076	5,1	0,115	11,4	2,403
UT	4,5	0,074	4,4	0,505	4,7	0,278
TE	4,3	0,087	4,4	0,068	4,2	0,075
Tee	4,5	0,195	4,7	0,264	4,0	0,117

12. Curriculum vitae

Name:	Dorothea Hartl
Adresse:	Museumstraße 18, 4020 Linz
Email:	d_hartl@gmx.at
Telefonnummer:	0676/3322843
Geburtsdatum:	14.12.1984
Staatsbürgerschaft:	Österreich
Religionsbekenntnis:	Röm. Katholisch
Vater:	Prim. Dr. Peter Hartl, Facharzt
Mutter:	Hildegund Hartl, geb. Fuchs, Hausfrau
Geschwister:	Dr. Maximilian Hartl, Assistenzarzt KH Barmherzige Schwestern Linz Therese Hartl, Studentin der Sportwissenschaften
Ausbildung:	
1991 - 1995:	ÜVS – Europaschule in Linz
1995 – 1999:	BRG- Fadingerstraße in Linz
1999 – 2004:	Bildungsanstalt für Kindergartenpädagogik der Kreuzschwestern Linz
Juni 2004:	Matura an der BAKIP der Kreuzschwestern Linz
Seit WS 2004:	Studium der Pharmazie, Universität Wien
August 2009:	Ferialarbeit Sonnenapotheke, Frankstraße 36, 4020 Linz
Juli 2010:	Ferialarbeit Kurapotheke, Kreuzplatz 18, 4820 Bad Ischl
Juli - September 2011:	Ferialarbeit Fresenius Kabi Linz, Abt. Qualitätskontrolle, Dr. Seitz
Oktober 2012 – Juli 2013:	Mitarbeiter bei FitInn
Oktober 2013 – Juni 2015:	Tutor am Department für Pharmakognosie, Universität Wien
Seit März 2014	Apotheke der Barmherzigen Brüder, Herrenstraße 22, 4021 Linz
Zusatzqualifikationen:	
Seit 2001:	Ehrenamtlicher Rettungssanitäter beim Samariterbund Linz
Seit 2003:	Staatlich geprüfter Lehrwart für Kinderturnen
Seit 2005:	Mitglied bei Rotaract Club Wien
Seit 2011:	Organisationsteam „Ich helfe laufend“ Charitylauf