

# Natürliche und antimikrobielle Extraktstoffe aus Pflanzenresten für den Einsatz als biobasierte Additive

## Natural and antimicrobial extracts from plant residues for use as biobased additives

### Projektleiter

#### Project leader:

Dr. Daniel Hafner

### Projektbearbeiter

#### Person in charge:

Dr. Jana Peters,  
Dr. Lars Passauer,  
Yvonne Gierth,  
Jens Uhlemann,  
Gina Manski,  
Katharina Plaschkies

### Fördermittelgeber

#### Co-funded by:

BMWK

### AUSGANGSSITUATION UND ZIELSTELLUNG

Aufgrund einer zunehmend kritischeren Bewertung konventioneller, auch im Holz- und Holzwerkstoffbereich eingesetzter Biozide im Hinblick auf deren ökologische und toxi-kologische Eigenschaften werden diese verstärkt reglementiert (USA: USEPA, PBT, EU: REACH). Vor dem Hintergrund einer nachhaltigen und ressourcenschonenden Materialentwicklung und -nutzung wird daher intensiv nach Möglichkeiten gesucht, umweltfreundliche antimikrobielle Wirkstoffe auf Basis nachwachsender Roh- und Reststoffe zu entwickeln und als Substitut zu verwenden.

Im Rahmen des Forschungsvorhabens wurden pflanzliche Reststoffe (Blätter, Trester, Astschnitt, Rinde), die weder stofflich noch energetisch genutzt werden, durch Extraktion einer stofflichen Verwertung und damit einer Wertschöpfung zugeführt.

### VORGEHENSWEISE

Schwerpunkt des Vorhabens war zunächst die Isolierung von Basischemikalien aus verschiedenen Pflanzenreststoffen durch Extraktion und Aufbereitung mit der superkritischen CO<sub>2</sub>-Extraktion (scCO<sub>2</sub>). Unter Variation von Verfahrensparametern (Co-Solvenz, Temperatur, etc.) sollten v. a. die potenziell antimikrobiellen polyphenolischen Inhaltsstoffe aus verschiedenen Hölzern

### INITIAL SITUATION AND OBJECTIVE

Due to a growing critical awareness of conventional biocides used in the wood and wood-based materials sector in regard to their ecological and toxicological properties, they are being increasingly regulated (USA: USEPA, PBT, EU: REACH). Against the background of sustainable and resource-preserving material development and use, intensive efforts are therefore being made to develop environmentally friendly antimicrobial agents as substitutes based on renewable raw materials and residues. As part of the research project, plant residues (leaves, pomace, branch cuttings, bark) that are not used for material or energy purposes were extracted for material recycling, thus adding value.

### APPROACH

The initial focus of the project was the isolation of basic chemicals from various plant residues by extraction and processing using supercritical CO<sub>2</sub> extraction (scCO<sub>2</sub>). By varying process parameters (co-solvent, temperature, etc.), the main aim was to extract the potentially antimicrobial polyphenolic ingredients from various woods (e.g., chestnut, robinia). Furthermore, cold macerations were carried out to obtain the extracts. The extracted basic chemicals were then characterized and tested for their antimicrobial effect. To derive structure-

(z. B. Kastanie, Robinie) gewonnen werden. Des Weiteren wurden auch Kaltmazerationen zur Gewinnung der Extrakte durchgeführt. Anschließend erfolgten die Charakterisierung und Wirksamkeitsprüfung der extrahierten Basischemikalien hinsichtlich antimikrobieller Wirkung. Zur Herleitung von Struktur-Eigenschaftsbeziehungen wurden umfangreiche Analysen mittels Infrarotspektroskopie und Massenspektrometrie zur Ermittlung der chemischen Zusammensetzung der Extrakte vorgenommen. Zentrale Punkte der Analysen waren zudem die Bestimmung des Gesamtphenolgehalts (TPC) sowie der antioxidativen Kapazität (AOC) der Extrakte zur Abschätzung des bioziden Potenzials. Zuletzt fanden die Extrakte Einsatz zur Funktionalisierung von Beschichtungsstoffen, um grundlegende Aussagen zur erforderlichen Reinheit und möglichen antagonistischen Wirkungen der Extraktstoffe treffen zu können.

property relationships, extensive analyses were carried out using infrared spectroscopy and mass spectrometry to determine the chemical composition of the extracts. Additional central points of the analyses were the determination of the total phenol content (TPC) and the antioxidant capacity (AOC) of the extracts to estimate the biocidal potential. Finally, the extracts were used for the functionalisation of coating materials in order to make fundamental statements on the required purity and possible antagonistic effects of the extract substances.



Abb. 1: Bestimmung der antimikrobiellen Wirksamkeit von Pflanzenextrakten im Suspensionstest: Anzucht von *E. coli* Bakterien auf Plate-Count Agar (2 Tage bei 37 °C) nach vorheriger Inkubation der Bakterien-suspension mit Kastanienkernholzextrakt in unterschiedlichen Konzentrationen über einen Zeitraum von 24 h.

Fig. 1: Determination of the antimicrobial effectiveness of plant extracts in the suspension test: Cultivation of *E. coli* bacteria on plate count agar (2 days at 37 °C) after prior incubation of the bacterial suspension with chestnut heartwood extract in different concentrations over a period of 24 hours.

## ERGEBNISSE

Es konnte gezeigt werden, dass Alkohol- und Alkohol-Wasser-Extrakte der Rinde und des Kernholzes von Esskastanie, Robinie, Eiche und Weide biozid, speziell antibakteriell wirken. Der TPC lag bei den Rinden- und Kernholzextrakten am höchsten. Auch bei der AOC wurden bessere (d. h. niedrige) Werte für die verholzte Biomasse als für Blätter und Trester ermittelt. Werden nur Extrakte berücksichtigt, die im gleichen Lösemittel gewonnen und charakterisiert wurden, kann eine lineare Abhängigkeit des IC50 (Maß für AOC) vom Phenolgehalt der Lösung festgestellt werden. Dieser Zusammenhang muss durch weitere Probenmessungen abgesichert werden.

Ein trivialer Zusammenhang zwischen ermittelten AOC und der antimikrobiellen Wirkung konnte jedoch nicht festgestellt werden. Agardiffusionstests zeigten eine spezifische Wirksamkeit der Extrakte von Eichen- und Aroniablättern sowie der Rinde und des Kernholzes verschiedener Gehölzarten gegenüber Bakterien, Hefepilzen und Schimmelpilzen. Insgesamt hoben sich die Wirkungen der Extrakte des Robinien- und Kastanien-Kernholzes (Abb. 1) sowie der Eichenblätter und der Weiden-Rinde von den anderen getesteten Proben ab. In Anbetracht der Zusammensetzungen der Extrakte ließen sich folgende Inhaltsstoffe als besonders wirksam identifizieren:

## RESULTS

It was shown that alcohol and alcohol-water extracts from the bark and heartwood of sweet chestnut, robinia, oak and willow have a biocidal, especially antibacterial effect. The TPC was highest for the bark and heartwood extracts. Also, better (i.e., lower) values in the AOC were determined for the lignified biomass than for leaves and pomace. If only extracts obtained and characterised in the same solvent are considered, a linear dependence of the IC50 (measure for AOC) on the phenol content of the solution can be determined. This correlation has to be confirmed by further sample measurements. However, a trivial correlation between the determined AOC and the antimicrobial effect could not be determined. Agar diffusion tests showed a specific efficacy of the extracts of oak and aronia leaves as well as the bark and heartwood of various woody species against bacteria, yeasts and moulds. Altogether, the effects of the robinia and chestnut heartwood extracts (Fig. 1) as well as the oak leaves and willow bark stood out from the other samples tested. In view of the composition of the extracts, the following ingredients were identified as particularly effective:

- Ellagitannine aus Kastanienkernholz und -blättern
  - mittlere bis starke Wirkung gegen gram-negative Bakterien
  - mittlere bis starke Wirkung gegen gram-positive Bakterien
  - mittlere bis starke Wirkung gegen bestimmte Schimmel- und Hefe-Pilze
- Flavonoide (Robinetine) aus Robinienkernholz
  - mittlere bis starke Wirkung gegen gram-negative Bakterien
  - mittlere bis starke Wirkung gegen gram-positive Bakterien
  - unterschiedliche Wirksamkeit gegen Schimmel- und Hefe-Pilze
- Salicylate aus der Weidenrinde
  - geringe Wirkung gegen gram-negative Bakterien
  - mittlere bis starke Wirkung gegen gram-positive Bakterien
- Ellagitannins from chestnut heartwood and leaves
  - medium to strong efficacy against gram-negative bacteria
  - medium to strong efficacy against gram-positive bacteria
  - medium to strong efficacy against certain moulds and yeast fungi
- Flavonoids (robinetins) from robinia heartwood
  - medium to strong efficacy against gram-negative bacteria
  - medium to strong efficacy against gram-positive bacteria
  - varying efficacy against moulds and yeast fungi
- Salicylates from willow bark
  - low efficacy against gram-negative bacteria
  - medium to strong efficacy against gram-positive bacteria

Die Inhaltsstoffe ließen sich in polyacrylatbasierte wässrige Rezepturen formulieren, sind aber aufgrund ihrer starken Färbung eher in pigmentierten Beschichtungen einzusetzen. Solche Beschichtungsformulierungen böten die Möglichkeit, verfügbare, aber unverwertete Rest- und Abfallbiomasse durch Extraktion polyphenolischer Sekundärmetabolite zu nutzen und damit zu einer nachhaltigeren Chemikalienversorgung beizutragen.

The ingredients were successfully formulated into polyacrylate-based aqueous formulations but are more suitable for use in pigmented coatings due to their strong colouring. Such coating formulations offer the possibility of utilising available yet unused residual and waste biomass by extracting polyphenolic secondary metabolites and thus contributing to a more sustainable supply of chemicals.