

Hans Krüger

## Ätherische Öle – Variabilität in Arznei- und Gewürzpflanzen

Essential oils – variability in medicinal and spice plants

### Zusammenfassung

Ätherische Öle sind in Bezug auf Menge und Zusammensetzung wertbestimmend für viele Arznei- und Gewürzpflanzen. Die stoffliche Variabilität beschreibt aber nicht nur die Qualität dieser Pflanzen, sie kann auch für konkrete Anwendungsfelder wie Verbraucherschutz, Analytik oder Züchtung genutzt werden. Am Beispiel von Basilikum, Fenchel, Kamille, Petersilie, Sellerie und Melisse kann dies gezeigt werden.

Basilikum kann die gesundheitlich problematischen Inhaltsstoffe Methyleugenol und Estragol im ätherischen Öl enthalten. Durch die Wahl von Sorte und Erntezeitpunkt kann eine Minimierung dieser Substanzen in der Nahrung gewährleistet werden.

Die Fenchelzüchtung der letzten Jahre hatte das Ziel, zu resistenten einjährigen Formen zu gelangen. Die Evaluierung von Fenchelherkünften war dafür eine Voraussetzung. Die Evaluierung kann aber auch für Entwicklung zerstörungsfrei arbeitender analytischer Schnellmethoden (Nah-Infrarotspektroskopie) nützlich sein.

Kamille ist die anbaustärkste Arzneidroge in Deutschland. Die heute im Anbau befindlichen  $\alpha$ -Bisabolol-Sorten basieren auf der Entdeckung von Chemotypen, welche diesen Inhaltsstoff in besonders hoher Konzentration enthalten.

Petersilie und Sellerie sind verwandte Arten, welche sich aber gravierend in ihren Inhaltsstoffen unterscheiden. Mögliche Kreuzungsprodukte sollten zweifelsfrei anhand ihrer Inhaltsstoffprofile identifiziert werden können.

Melisse enthält nicht nur ätherisches Öl, sondern auch verschiedene Hydroxyzimtsäurederivate. Während bis vor kurzem alle dieser Derivate qualitätsbestimmend waren, wird seit 2009 nur noch Rosmarinsäure als entscheidendes Qualitätskriterium betrachtet. Durch Evaluierung der Melissen-Variabilität kann geklärt werden, welche Herkünfte noch den neuen Qualitätskriterien genügen.

Stichwörter: Ätherische Öle, Variabilität, Verbraucherschutz, Analytik, Züchtung

### Abstract

Amount and composition of essential oils are important for the quality of many medicinal and spice plants. The material variability describes not only the quality of the plants, it is also useful for other applications e.g. for consumer protection, analysis or breeding. This is shown using the example of basil, fennel, chamomile, parsley, celery and balm.

Basil can contain methyleugenol and estragole in the essential oils as components which are posing a risk to health. A minimisation of these substances in food can be realised by choice of cultivar and time of harvest.

Fennel breeding of the last years was aimed at resistant annual forms. The evaluation of fennel varieties was precondition for it. But the evaluation can also be used for the development of rapid analytical methods (e.g. near-infrared spectroscopy) without destruction of the analyte.

Chamomile is the most cultivated medicinal plant in Germany. All modern  $\alpha$ -bisabolol-cultivars cultivated in Germany base on a wild chemotype which contains this compound in high concentration.

Parsley and celery are related varieties but they are strongly different in the spectrum of secondary metabolites. Therefore it will be possible to differentiate hybrids of both varieties based on the profile of secondary substances.

Balm contains not only essential oils but also hydroxy-cinnamic acid derivatives. Hydroxy-cinnamic acid derivatives as a whole were considered responsible for quality up to 2008. Since 2009 only rosmarinic acid is crucial for quality. By evaluation of balm varieties it must be decided which varieties conform to the new quality demands.

Key words: essential oils, variability, consumer protection, analysis, breeding

## Einleitung

Ätherische Öle sind flüchtige, meist angenehm riechende Stoffgemische von ölartiger Konsistenz, die in Wasser schwer löslich sind und aus pflanzlichen Rohstoffen hergestellt werden. Die Definition der ISO (International Standard Organization) verlangt, dass nur die durch Wasserdampfdestillation hergestellten Öle als ätherische Öle bezeichnet werden dürfen. Eine Ausnahme bilden lediglich die durch Auspressen der Fruchtschalen einiger Zitrusarten gewonnenen Öle (Agrumenöle).

Ätherische Öle stellen oft die wertbestimmenden Substanzen von Arznei- und Gewürzpflanzen dar. Mindestgehalte und Anforderungen an die Zusammensetzung sind z.B. in den nationalen Arzneibüchern aber auch im Europäischen Arzneibuch festgeschrieben. Die in diesen Monographien angegebenen Qualitätsspannen geben aber nur einen kleinen Ausschnitt der möglichen stofflichen Variabilität innerhalb dieser Arten wider. Die Vielfalt in der Zusammensetzung ätherischer Öle kann genetisch fixiert sein und ermöglicht eine Differenzierung unterhalb der Artgrenzen. Diese Differenzierung führte zur Definition von „Chemischen Rassen“ (Stahl und York 1964). Danach liegen Chemische Rassen dann vor, „wenn einer der charakteristischen Bestandteile in einigen Sorten den Hauptanteil bildet, in anderen dagegen nicht, und wenn dieses Phänomen ein erblich konstantes Merkmal“ ist. „Bei der Zuordnung muß man verlangen, dass ein Bestandteil die anderen Inhaltsstoffe des ätherischen Öles mengenmäßig eindeutig übertrifft“. Da der Begriff der Rasse im Pflanzenreich aber kein eingeführter Terminus ist, spricht man in jüngerer Zeit besser von Chemotypen oder Chemodemen. Sichere Unterscheidungen von Chemotypen sind aber nur dann möglich wenn man standort- oder witterungsbedingte oder andere nicht genetisch bedingte Beeinflussungen ausschließen kann. Es macht daher wenig Sinn, Sammelmateriale aus unterschiedlichen Regionen miteinander zu vergleichen. Durch den Nachbau in Genbanken ergibt sich aber die Chance, die stoffliche Variabilität zu erfassen und chemotaxonomische Bewertungen vornehmen zu können. So wurden z.B. 1999 257 Basilikum-Akzessionen nebeneinander angebaut (Abbildung 1) und vergleichende Untersuchungen vorgenommen (Eckelmann 2003).

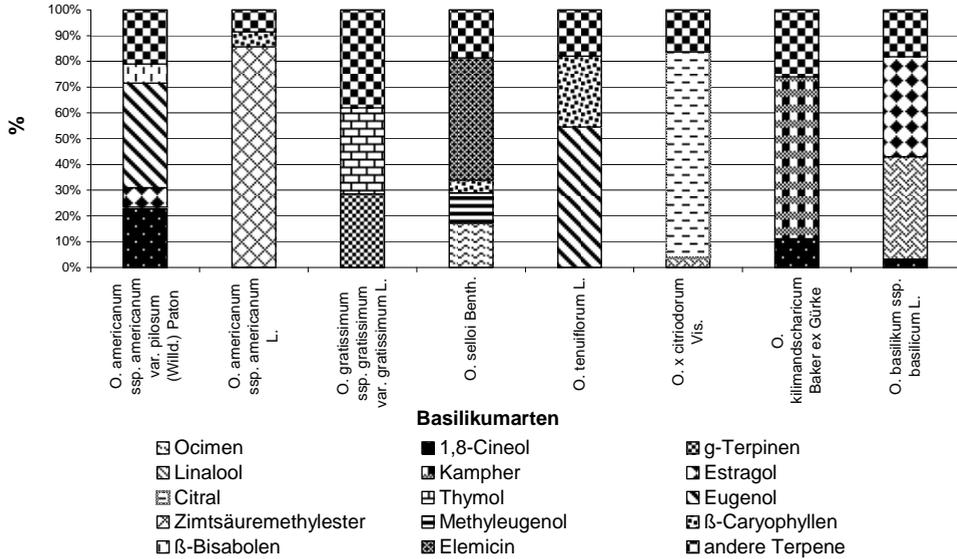


**Abb. 1** Basilikumkollektion der Genbank Gatersleben

Die Evaluierung der stofflichen und morphologischen Vielfalt stellt zweifellos einen Wert für sich dar. Es besteht aber darüber hinaus die Möglichkeit, durch gezielte Nutzung der Variabilität zu sinnvollen Anwendungen zu gelangen. Am Beispiel von Basilikum, Fenchel, Kamille, Petersilie/Sellerie und Melisse kann dies nachdrücklich gezeigt werden.

## Basilikum

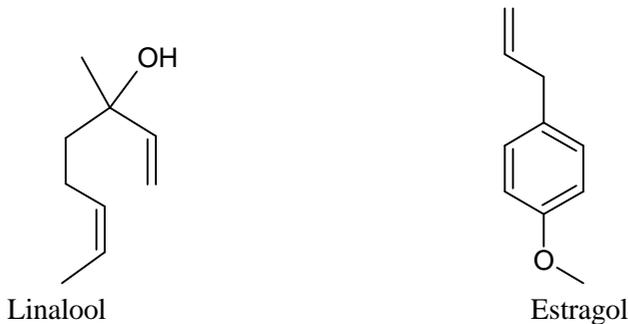
Basilikum (*Ocimum* L.) ist eine eigenständige Gattung aus der Familie der Labiate und besteht aus mindestens 65 Arten (Paton et al. 1999). Typische Vertreter sind *Ocimum basilicum* L., *Ocimum americanum* L., *Ocimum gratissimum* L., *Ocimum kilomandscharicum* Gürke oder *Ocimum tenuiflorum* L. Die Unterscheidung der Arten erfolgt größtenteils auf Grund morphologischer Merkmale. Es ist aber nicht überraschend, dass auch eine Unterscheidung anhand der Sekundärstoffprofile möglich ist (Krüger et al. 2002). Bezüglich der ätherischen Ölzusammensetzung konnten innerhalb der erwähnten Basilikumkollektion große Unterschiede festgestellt werden (Abbildung 2).



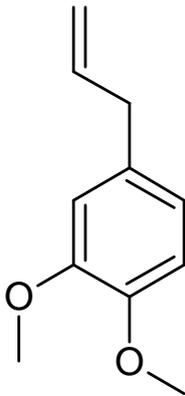
**Abb. 2** Variabilität in den Sekundärstoffprofilen der Basilikumkollektion

Für die im Gewürzbereich vorherrschend Art *Ocimum basilicum* L. sind in den vergangenen Jahren verschiedene neue Sorten gezüchtet worden (Bundessortenamt 2002), die sich in Wuchstyp, Blattgröße und -farbe aber auch in Duft und Aroma unterscheiden. Neben grünblättrigen Sorten werden rotblättrige, rot-grünblättrige, panaschierte sowie speziell duftende Sorten angeboten. Die Vermarktung erfolgt als Frischware oder Droge (getrocknete Blätter). Für die Gewinnung der Droge wird ein feldmäßiger Anbau durchgeführt. Bei der Vermarktung der Frischware hat sich die Topfkultur durchgesetzt, für die sich insbesondere mittelgroßblättrige, kompakte Sorten vom Typ „Genoveser“ gut eignen.

Innerhalb des Sortenspektrums existieren zwei Chemotypen. Sorten wie „Genoveser“, „Bavires“ oder auch die rotblättrige Sorte „Opal“ gehören zum mittelländischen Typ, der als Hauptkomponente im ätherischen Öl Linalool enthält. Sorten wie „Mittelgroßblättriges Grünes“ enthalten Estragol als Hauptkomponente und gehören zum sogenannten Reunion-Typ (Abbildung3).



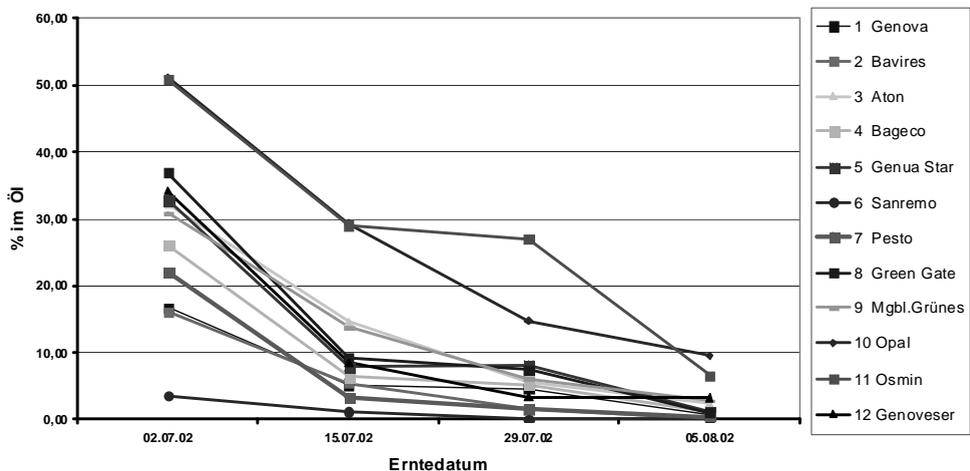
**Abb. 3** Linalool und Estragol sind die vorherrschenden Komponenten im ätherischen Öl von Basilikum-Sorten.



**Abb. 4** Methyl Eugenol

Das Scientific Committee on Food (SCF) der Europäischen Gemeinschaft stellt die Forderung, auf Estragol in Lebensmitteln weitgehend zu verzichten, da für diese Substanz kanzerogene Wirkungen im Tierversuch nachgewiesen wurden. Ähnliche Verlautbarungen gibt es auch vom Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin (BgVV). Dies hat wahrscheinlich dazu beigetragen, dass estragolhaltige Basilikumsorten weitgehend aus dem Sortenspektrum verschwunden sind. Aber auch die Linalool-Sorten enthalten eine Substanz, welche ähnlich schädigend wie Estragol wirkt. Hierbei handelt es sich um Methyl Eugenol (Abbildung 4). Auch hier fordern SCF und BgVV die Minimierung in Lebensmitteln. Diese Forderungen waren Anlass, die Sortenabhängigkeit und die Ontogenese von Methyl Eugenol in Basilikum zu untersuchen. In einem Feldversuch wurden 12 Basilikumsorten gegenübergestellt. Die grünblättrigen Sorten „Genova“, „Bavires“, „Aton“, „Bageco“, „Genua Star“, „Sanremo“, „Green Gate“, „Genoveser“ und „Mittelgroßblättriges Grünes“ und die beiden rotblättrigen Sorten „Opal“ und „Osmin“ wurden am 22. Mai 2002 ins Freiland ausgesät.

Im Zeitraum zwischen 02.07. bis 05.08. wurden regelmäßig Proben entnommen und analysiert. Die Konzentrationsentwicklung für Methyl Eugenol in den Basilikumsorten zeigt Abbildung 5.



**Abb. 5** Der Methyl Eugenolgehalt in Basilikum in Abhängigkeit von der Sorte und vom Erntezeitpunkt

Die Ergebnisse der Sortenvergleiche lassen bezüglich des Methyl Eugenolgehaltes drei wesentliche Schlussfolgerungen zu:

- Basilikumsorten besitzen ein sehr unterschiedliches Ausgangsniveau hinsichtlich ihres Methyl Eugenolgehaltes
- Je später die Ernte, desto geringer der Gehalt an Methyl Eugenol in der Pflanze
- Rotblättrige Sorten enthalten mehr Methyl Eugenol als grünblättrige Sorten

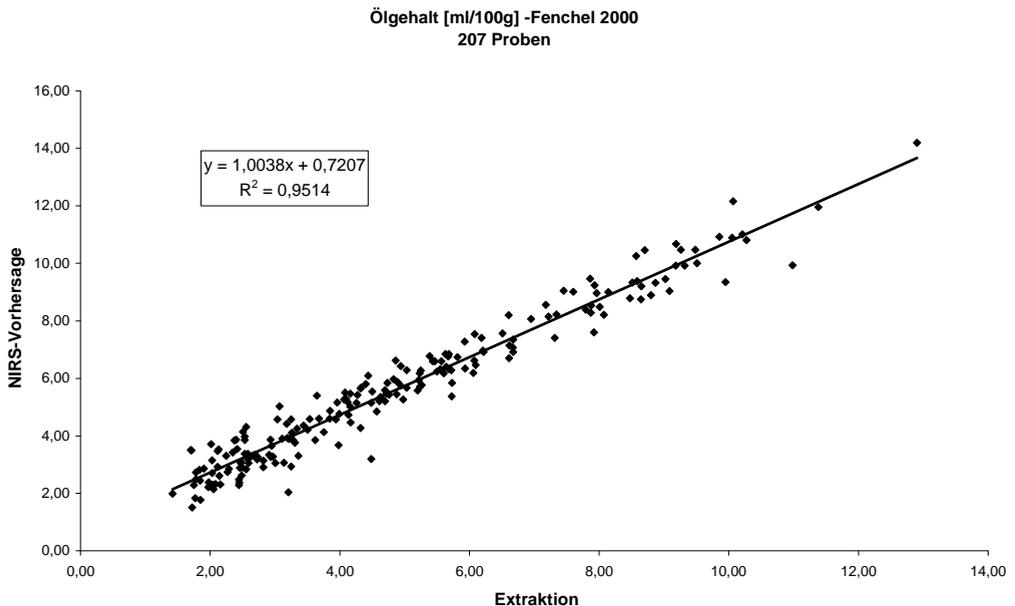
Was Estragol betrifft, lässt sich eine derartige Verallgemeinerung nicht treffen. Mit der Sorte „Mittelgroßblättriges Grünes“ stand auch nur ein Estragoltyp zur Verfügung. Der Estragolgehalt in den Ölen der verschiedenen Erntezeitpunkte ließ keine Tendenz erkennen.

In den Untersuchungen zur Minderung toxischer Risiken sind Aspekte des Verbraucherschutzes mit analytischen Arbeiten zu Wert- und Registerprüfungen für das Bundessortenamt verknüpft worden. Während Basilikumsorten u.a. durch die Menge und Zusammensetzung ätherischer Öle bewertet und unterscheidbar gemacht werden können, wurden Verbraucherschutzaspekte durch zusätzliche Untersuchungen zu den kanzerogenen Bestandteilen Methyleugenol und Estragol berücksichtigt.

### Fenchel

Bei Fenchel existieren mehrere Chemotypen, welche sich durch das Vorhandensein oder Fehlen der Phenylpropenderivate trans-Anethol und Estragol unterscheiden (Krüger und Hammer 1999). Für die Verwendung als Arzneifenchel (*Foeniculum vulgare* Mill. Ssp. *vulgare* var. *vulgare*) kommt nur ein Anetholtyp in Frage. Die Vorgaben des Europäischen Arzneibuches verlangen, dass Körnerfenchel mindestens 60% trans-Anethol, mindestens 15% Fenchon und höchstens 15% Estragol im ätherischen Öl enthält. In den vergangenen Jahren wurde Fenchel züchterisch bearbeitet, um resistente, einjährige Sorten zu erhalten, welche aber auch die Qualitätsanforderungen des Europäischen Arzneibuches erfüllen bzw. diese übertreffen. Um diesen Züchtungsprozess analytisch zu begleiten, war die Entwicklung einer Schnellmethode nötig, welche möglichst zerstörungsfrei arbeitet, da im Labor eingehendes Saatgut nicht dem Zuchtprozess entzogen werden sollte. Hierfür kommt die Nah-Infrarotspektrometrie (NIR) in Frage.

Für die Erarbeitung der NIR-Analysenmethode wurden von einer größeren Probenserie kurzzeitig nacheinander die referenzanalytischen und NIR-spektroskopischen Daten erfasst. Hierbei fanden sowohl Proben aus der pharmazeutischen Industrie als auch aus Züchtungsprogrammen und Genbanken Verwendung. Der gemeinsame Standardprobensatz wurde dann im Hinblick auf den gewünschten Meßbereich strukturiert, wobei die Konzentrationen des Analyten sich möglichst homogen im untersuchten Intervall verteilen sollten. Die stoffliche Variabilität durch Verwendung unterschiedlicher Herkünften ist somit wesentliche Voraussetzung für die Entwicklung einer leistungsfähigen analytischen Methode. Im speziellen Fall wurden 207 geeignete Fenchelproben herangezogen. Die Gegenüberstellung von Referenzdaten und die durch NIR-Spektroskopie vorhergesagten ätherischen Ölwerte zeigt Abbildung 6.



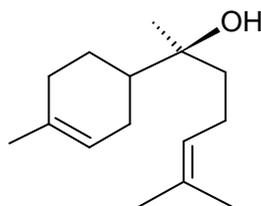
**Abb. 6** Kalibrationsfunktion zur Bestimmung der ätherischen Ölgehalte in Fenchel mittels Nah-Infrarotspektrometrie

Die Kalibrationen wurden sowohl für die ätherischen Ölwerte als auch für die Ölbestandteile erstellt. Bei allen Kalibrationen wurde der PLS- (partial least square) Algorithmus angewandt und die jeweiligen Abweichungen zwischen Referenzdaten und NIRS-Vorhersage anhand des Standardfehlers der Kreuzvalidierung (SECV) charakterisiert. Darüber hinaus wurde für jede Komponente das Bestimmtheitsmaß  $R^2$ , das die Güte der Übereinstimmung zwischen den mittels Referenzmethode und NIRS-Vorhersage ermittelten Resultaten beschreibt, errechnet.

Die Bestimmtheitsmaße können dadurch geschärft werden, dass die untersuchten Proben ein gemeinsames Inhaltsstoffprofil aufweisen, d.h. sie sollten sich alle einem Chemotyp zuordnen lassen. Die gleichzeitige Untersuchung von Süß- und Bitterfenchel ist demnach zu vermeiden. Die Korngröße hat dagegen erfahrungsgemäß einen zu vernachlässigenden Einfluss.

### Kamille

Kamille ist ein prägnantes Beispiel dafür, wie bestimmte Chemotypen zur wirkstofforientierten Sortenentwicklung genutzt werden können. Mitte des vergangenen Jahrhunderts wurde ein Chemotyp entdeckt, der (-)- $\alpha$ -Bisabolol als Hauptkomponente im ätherischen Öl enthielt (Abbildung 7). Bis dahin waren nur Sorten in Gebrauch, welche Bisabololoxid A als Hauptkomponente enthielten. Diese entsprachen dem für Mitteleuropa typischen Chemodem.



Nachdem (-)- $\alpha$ -Bisabolol als besonders wirksam erkannt worden war, wurden Sorten entwickelt, welche diese Komponente in besonders hoher Konzentration enthielten. Beispiele hierfür sind die Sorten „Bona“, „Degumill“, „Manzana“ oder „Robumille“. Die heute in Deutschland im Anbau befindlichen Sorten sind fast durchgehend (-)- $\alpha$ -Bisabolol-Kamillen.

Das Prinzip, wirkstoffreiche (oder schadstoffarme) Typen zur Entwicklung spezieller Sorten heranzuziehen findet sich auch bei Kalmus, Rosenwurz, Traubensilberkerze, Baldrian oder Huflattich.

Abb. 7 (-)- $\alpha$ -Bisabolol

### Petersilie/Sellerie

Bei der Evaluierung von Petersilie- und Selleriekollektionen wurde festgestellt, dass die Sekundärstoffprofile sich grundlegend unterscheiden. Petersilienblätter enthalten grundsätzlich 1,3,8-Menthatrien, Myristicin oder Petersilienapiol, Sellerieblätter stets  $\beta$ -Selinen, Sedanenolid oder Sedanolid (Abbildung 8). Typische Petersilienkomponenten fanden sich nie in Sellerie und umgekehrt.

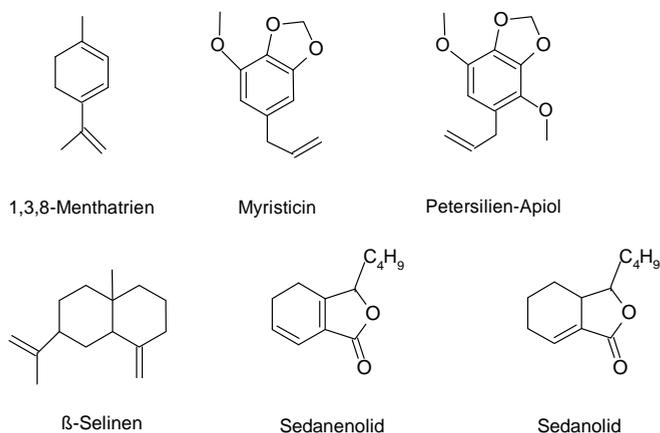


Abb. 8 Charakteristische Petersilienbestandteile oben, typische Selleriekomponenten unten

Bei Kenntnis der Variabilität dieser ätherischen Ölbestandteile sollte es daher möglich sein, Kreuzungsprodukte aus Petersilie und Sellerie an Hand ihres Sekundärstoffmusters zu identifizieren. Die Hybride sollten zumindest Spuren sowohl des einen als auch des anderen Eltern enthalten. Bisherige „Hybride“ erwiesen sich allerdings durchweg als reine Sellerienachkommen.

### Melisse

Die „Beschreibende Sortenliste Arznei- und Gewürzpflanzen“ (Bundessortenamt 2002) weist für Melisse 5 Sorten aus. Darüber hinaus existieren Herkünfte (z.B. von der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft), welche bzgl. ihrer Eignung als Medizinalmelisse bereits gesichtet wurden. Für die pharmazeutische Verwendung wurde im Europäischen Arzneibuch (Nachtrag 2001) gefordert, dass die getrockneten Laubblätter von Melisse mindestens 4,0% Hydroxyzimtsäurederivate enthalten, welche photometrisch bestimmt werden. Rosmarinsäure (Abbildung 9) ist zwischen 30 und 70% in diesem Gemisch enthalten.

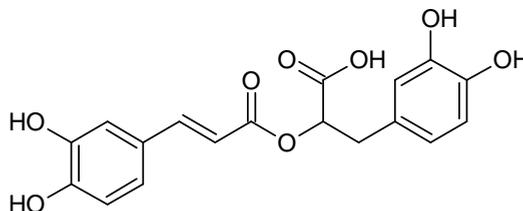


Abb. 9 Rosmarinsäure

Seit 2009 gilt aber Rosmarinsäure als alleiniges Kriterium. 1% soll in getrockneten Melisseblättern enthalten sein, Bestimmungsmethode ist die HPLC. Da man keinen konstanten Anteil von Rosmarinsäure im Gemisch der Hydroxyzimtsäurederivate voraussetzen kann, ist unklar, ob eine arzneibuch-gerechte Melisse von 2001 auch noch den Anforderungen von 2009 genügt.

Die Variabilität von Rosmarinsäure in Melisse sollte daher untersucht werden, um zu klären, ob die guten Melissen von gestern auch noch die guten Melissen von heute sind. Ergebnisse hierzu werden im Herbst 2009 vorliegen.

### Literatur

- Bundessortenamt 2002: Beschreibende Sortenliste Arznei- und Gewürzpflanzen, Deutscher Landwirtschaftsverlag GmbH, ISSN 1617-4569, 18-28.
- Eckelmann, S., 2003: Biodiversität der Gattung *Ocimum* L., insbesondere der Kultursippen. Schriften zu genetischen Ressourcen 19, ISSN 0948-8332.
- Krüger, H., S.B. Wetzel, B. Zeiger, 2002: The Chemical Variability of *Ocimum* Species. Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants 9 (4), 335-345.
- Krüger, H., K. Hammer, 1999: Chemotypes of Fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.), J. Essent. Oil Res. 11, 79-82.
- Paton, A., R.M. Harley, M.M. Harley, 1999: *Ocimum* – an overview of relationships and classification. In R. Hiltunen & Y. Holm: Basil. The genus *Ocimum*. Harwood Academic Press, Amsterdam 1-38.
- Stahl, E., H. Jork, 1964: Chemische Rassen bei Arzneipflanzen. Arch. Pharm. 297, 273-281.