

Gefördert durch:



aufgrund eines Beschlusses
des Deutschen Bundestages



Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e.V.



Biobasierter Pflanzenschutz mit Nebenprodukten der Gewinnung ätherischer Öle (Wasserdampf-Hydrolate)

62. Deutsche Pflanzenschutztagung

Sibylle Kümmritz, Nadine Austel, Torsten Meiners, David Riewe,
Christoph Jensch, Jochen Strube, Andrea Krähmer

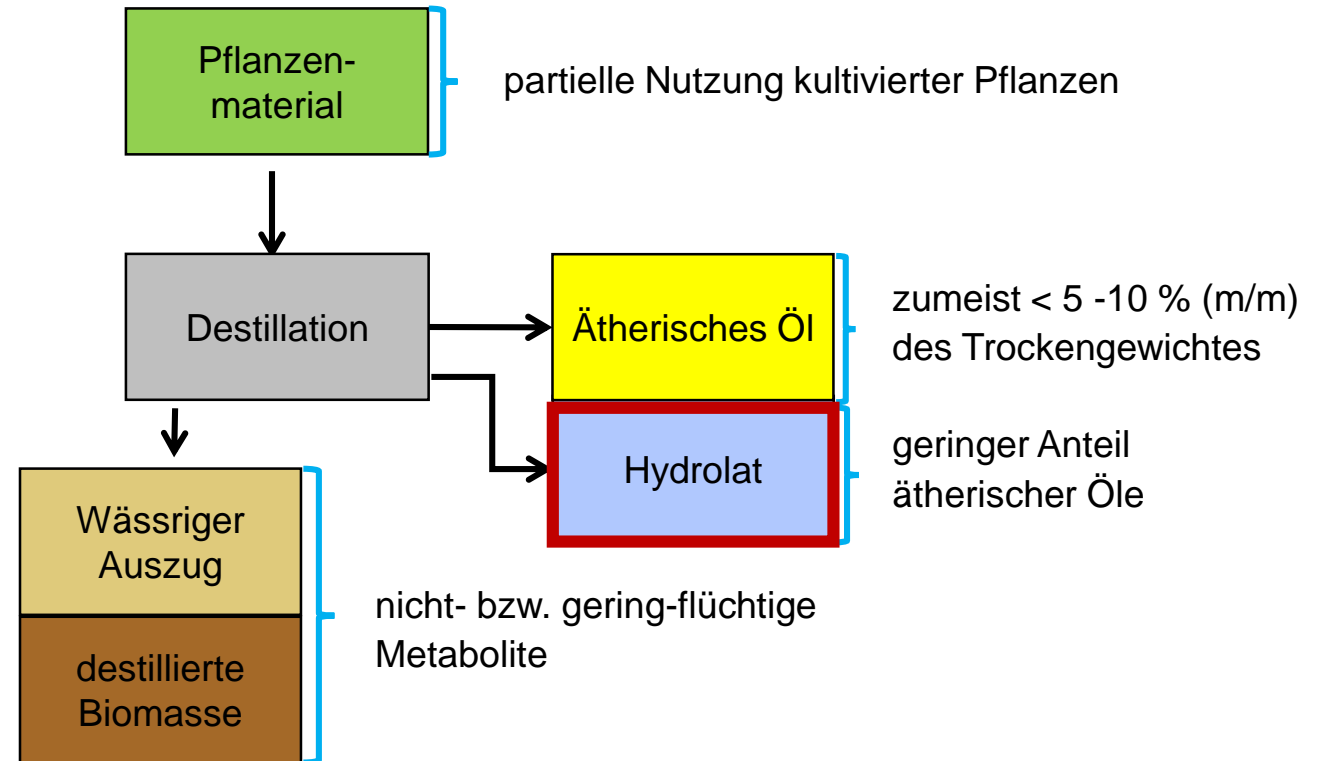
23. September 2021

www.julius-kuehn.de

Wasserdampfdestillation zur Gewinnung ätherischer Öle aus Arznei- und Gewürzpflanzen







Prozessströme und Rückstände

- Pflanzenmaterial z.B. Blüten, Blätter, Früchte → z.B. Schnittreste ohne weitere Verwendung
 - Hydrolate enthalten u.a. Phenole, Monoterpene
 - wässriger Extrakt & destillierte Biomasse enthalten u.a. Alkane, Phenole, Flavonoide, höhere Terpene, Coumarine
- Hydrolate zeigen antimikrobielle, insektizide und antioxidative Eigenschaften



Wasserdampfdestillation zur Gewinnung ätherischer Öle aus Arznei- und Gewürzpflanzen

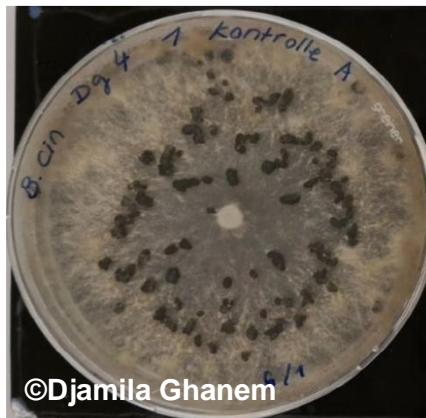
Auswahl der Pflanzensysteme und Hauptkomponenten äth. Öles mit Bedeutung für heimischen Anbau und Destillation

	<i>Matricaria chamomilla</i> syn. <i>M. recutita</i>	α -Bisabolol, Bisaboloide, Chamazulen, Farnesen
	<i>Origanum majorana</i>	<i>cis</i> -Sabinenhydrat, Terpinen-4-ol
	<i>Thymus vulgaris</i>	Thymol, <i>p</i> -Cymen, Carvacrol
	<i>Salvia officinalis</i>	α - und β -Thujon
	<i>Foeniculum vulgare</i>	<i>trans</i> -Anethol, Fenchon
	<i>Carum carvi</i>	Carvon, Limonen

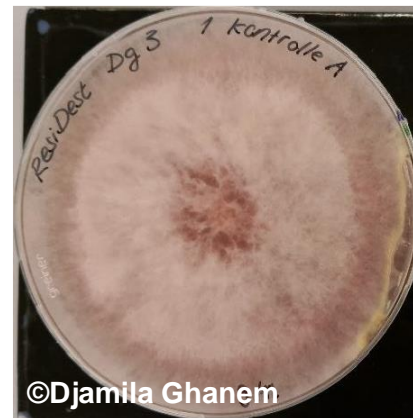
Untersuchung antifungaler Eigenschaften gegen phytopathogene Pilze

Ziel

- Effekte von Hydrolaten auf das Wachstum phytopathogener Pilze in vitro:
 - zur Minimierung von Ernteverlusten und Ausbreitung der Schadorganismen



Botrytis cinerea



Fusarium culmorum



Fusarium sambucinum

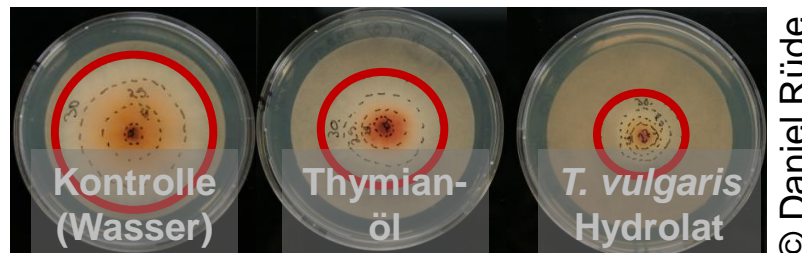
Untersuchung antifungaler Eigenschaften gegen phytopathogene Pilze

Filterpapier-Assay über volatile Phase

- Kultur auf PDA-Medium: *B. c.* RT, *F. sp.* 20°C, dunkel
- Behandlung: 700 µl Testlösung auf Filterpapier
- Bewertung Myzelwachstum:
 - Kontrolle:
 - dem. Wasser
 - 0,43 % (V/V) *Thymus serpyllum* Öl in Tween 80 mit Wasser

• Hemmung des Myzelwachstums: $MGI [\%] = \frac{(rc-rt)}{r_c} \times 100$

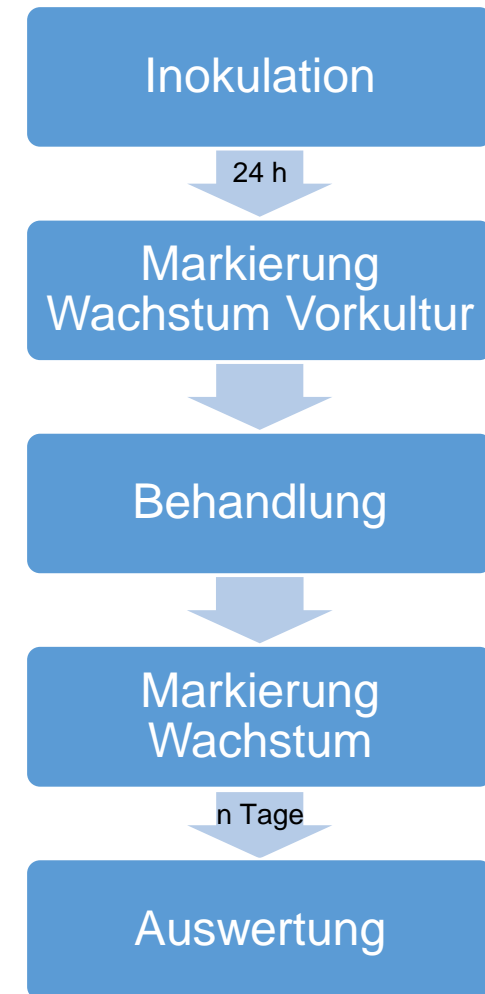
$r_{c,t}$ – radialer Zuwachs Kontrolle / Behandlung [mm] vs. Vorkultur



F. culmorum

© Daniel Rüde

Sibylle Kümmitz

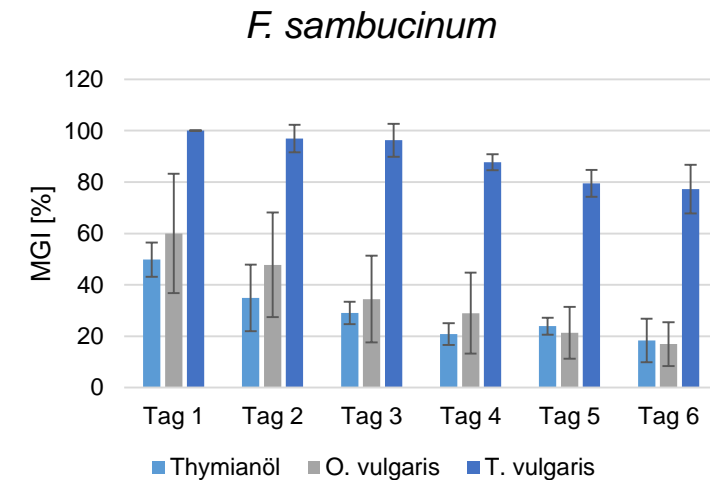
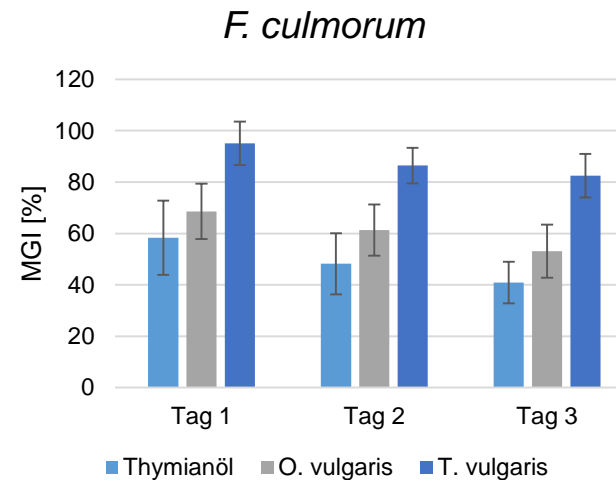
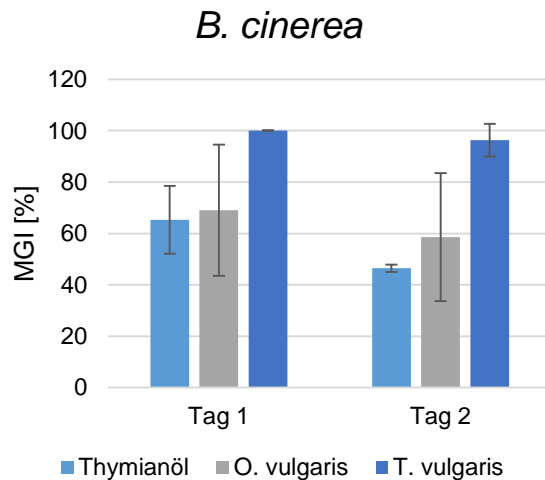


Untersuchung antifungaler Eigenschaften gegen phytopathogene Pilze



Filterpapier-Assay über volatile Phase

– Hydrolate mit MGI > 50% vs. Thymianöl:



Hemmung des Myzelwachstums (MGI) nach Behandlung mit Hydrolaten gegenüber Öl-Präparat von *T. serpyllum*, Kultur *B. cinerea* bei Raumtemperatur, *Fusarien* bei 26°C; 3 unabhängige Experimente á 2 Duplikate

Repellente Wirkung von Hydrolaten auf den Rapsglanzkäfer

Ziel

- Bestimmung der Bioaktivität von Hydrolaten gegenüber *Brassicogethes aeneus* (Rapsglanzkäfer)
 - Applikation in Feldkultur von Winterraps
- Untersuchung olfaktorische Orientierung von *B. aeneus* gegenüber Hydrolaten
 - Laborversuch

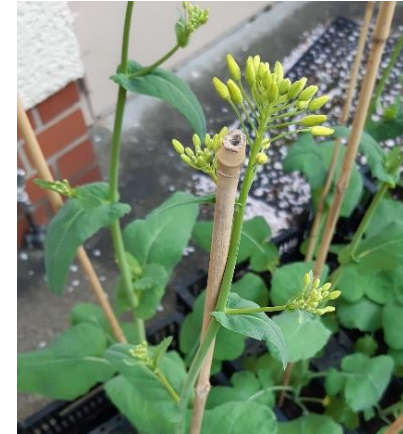


Repellente Wirkung von Hydrolaten auf den Rapsglanzkäfer



Feldversuche 2020 und 2021

- Anzucht von *Brassica napus* 'Avatar' bis BBCH 55-57 im Gewächshaus,
- Sprühapplikation 30 ml Testlösung je Pflanze (inkl. Benetzungsmittel ProFital 0,15% v/v)
- Aufstellung randomisiert in Versuchsfeld mit unbehandelter Kultur von *B. n.* 'Bender' über 2-3 d
- Boniturparameter:
 - Zustand und Entwicklungsstadium der Pflanze
 - Anzahl der Käfer je Pflanze
 - Anzahl der Fraßstellen an Blütenknospen (Haupt- und Nebeninfloreszenzen)
 - Anzahl vertrockneter und abnormaler Knospen

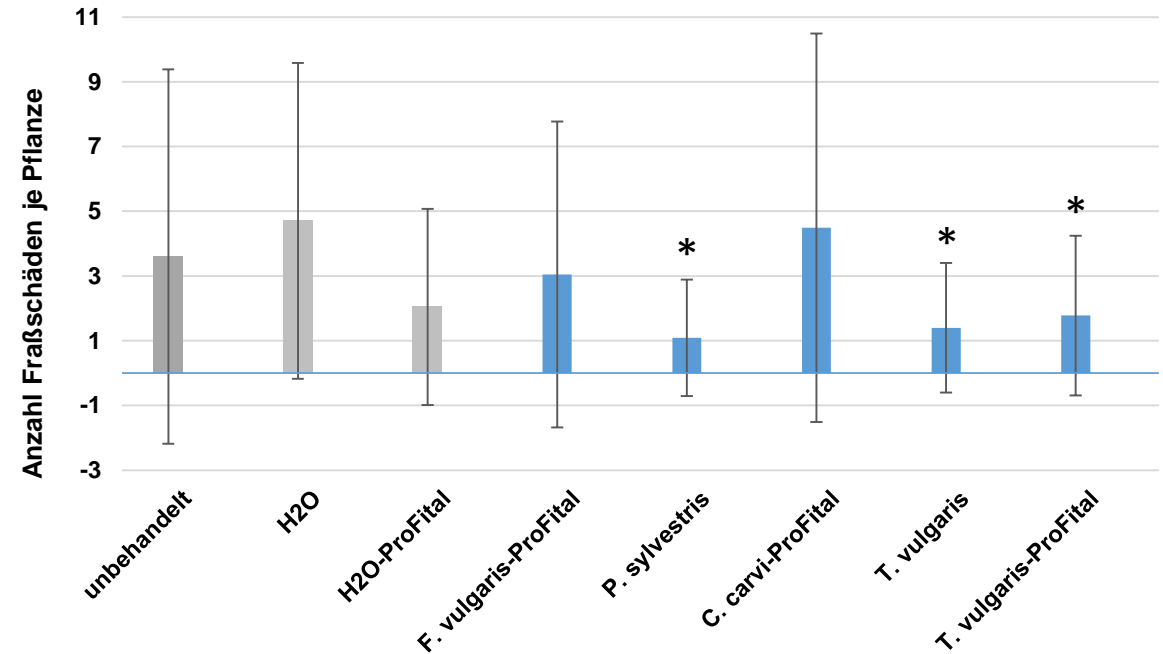


Repellente Wirkung von Hydrolaten auf den Rapsglanzkäfer



Feldversuche

- Behandlung mit Kontrollen, Öl-Präparat und Hydrolaten
- Befall mit Käfern unterhalb des Schwellenwertes:
 - **2020:** 0,4 bis 0,8 je Pflanze (\bar{x} 0,7)
 - **2021:** \bar{x} 1,6 (N = 15)
 - kein signifikanter Effekt durch Behandlung nachweisbar
- Fraßschäden:
 - **2020:** signifikant reduziert um 70% (Kiefer) bzw. 61% (Thymian) vs. unbehandelt
 - **2021:** signifikant reduziert um 62% (Kümmel) bzw. 49% (Thymian-ProFital) vs. unbehandelt
- rel. Abweichungen > 100%



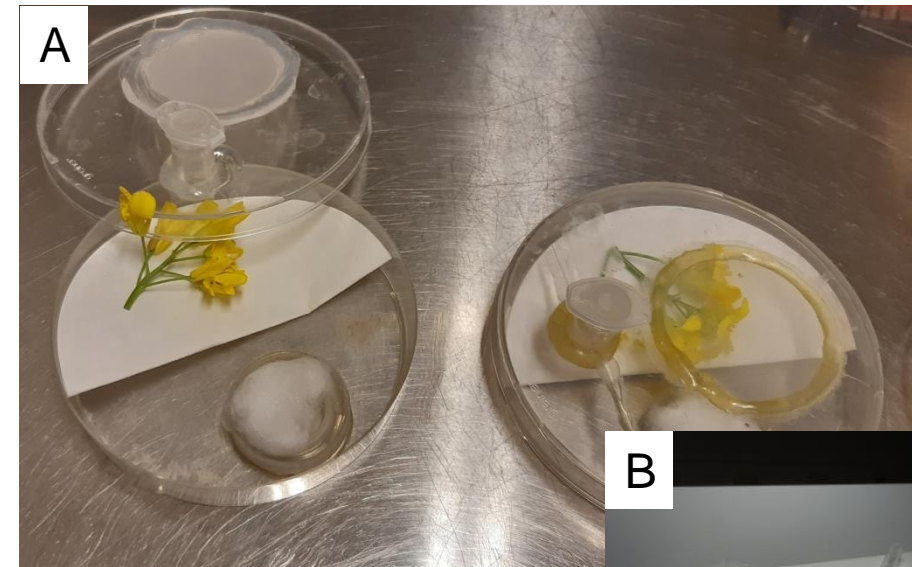
Ausmaß der Schäden an *B. napus* durch *B. aeneus* 2020 nach Behandlung mit Hydrolaten, Öl-Präparat von *F. vulgaris* Akzession FOE 25 (blau) und Kontrollen (grau). N = min. 44; *: P-Wert < 0,05 (einfaktorielle ANOVA)

Repellente Wirkung von Hydrolaten auf den Rapsglanzkäfer

Olfaktometer-Test

- Sammlung adulter Käfer Mai bis Juni 2020
- getrennte Haltung nach Geschlecht ohne Zugabe von Nahrung
- Y-Olfaktometer
- 30 ml Testlösung vs. dem. Wasser
- Wechsel:
 - Richtung der Anschlüsse nach 4-5 Messungen,
 - Testlösung nach 8-10 Messungen

$$Vermeidung [\%] = \frac{(N_{Ref} - N_{Test})}{(N_{Ref} + N_{Test})} \times 100$$



Modifizierte Petrischale zur Kultivierung der Rapsglanzkäfer (A); Y-Olfaktometer (B)



Repellente Wirkung von Hydrolaten auf den Rapsglanzkäfer

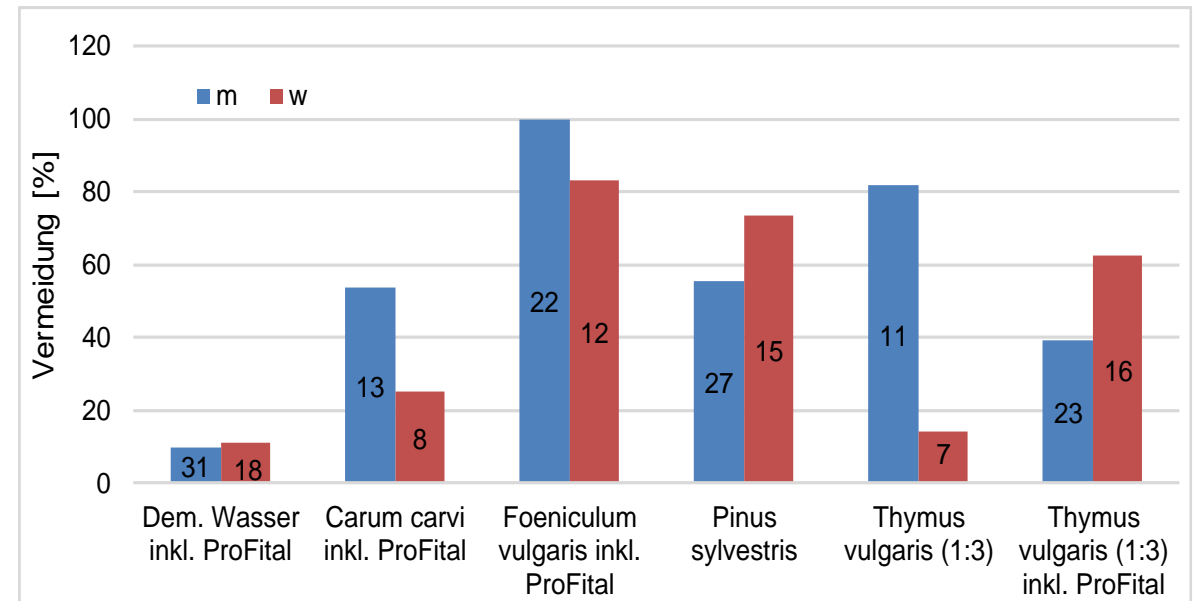


Olfaktometer-Test

- Thymianhydrolat 1:3 verdünnt, unverdünnt kein Laufen

Behandlung	Vermeidung m+w [%] MW ± SD
<i>Foeniculum vulgare</i> -Öl-Präparat	94±10%
<i>Pinus sylvestris</i> -Hydrolat	62±14%
<i>Thymus vulgaris</i> -Hydrolat verd.	69±44%
<i>Thymus vulgaris</i> -Hydrolat verd. inkl. ProFital	47±13%

- Wirkung scheint z.T. geschlechtsspezifisch
- Bestätigung der abschreckenden Wirkung von Kiefer- und Thymianhydrolat auf Rapsglanzkäfer im Freilandversuch
- Abweichung Effekt von Fenchel-Öl-Präparat



Verhalten von *B. aeneus* in Y-tube-Olfaktometer gegenüber ätherischem Fenchelöl (FOE 25, 0,2%, V/V) und Hydrolaten (inkl. Benetzungsmittel ProFital 0,15% V/V) mit dem. Wasser als Kontrolle, Sex ratio Ø 1,74 (m:w); N Versuchstiere im Balken

Analyse der Zusammensetzung der Hydrolate



Extraktion und Analyse

- 10 ml Hydrolat mit 1 ml n-Hexane, 6-fach wiederholte Extraktion mit neuem Lösungsmittel
 - Phasentrennung, Verdampfung org. Lösungsmittel
- ca. 12 g ätherisches Öl/ L Hydrolat

GC-FID/MS Analyse

Pflanze, Herkunft	Hauptkomponenten ¹	Anteil im Öl [%] ¹
<i>Carum carvi</i>-Hydrolat ITVP Clausthal-Zellerfeld	Carvon	87,4
	α -Terpineol	12,3
<i>Pinus sylvestris</i>-Hydrolat VER Reichstädt GmbH	Terpinen-4-ol	6,4
	Verbenon	5,8
	Camphor	2,6
	(+)-Borneol	2,6
	<i>Thymus vulgaris</i>-Hydrolat Dr. Otto GmbH Wittenberge	Thymol
<i>Foeniculum vulgare</i>-Öl FOE 25 ² JKI Berlin-Dahlem	Limonen	47,2
	Piperitenonoxid	28,7
	γ -Terpinen	10,6

¹Zuordnung anhand der Spektren der GC-MS-Analyse durch Abgleich mit Datenbanken, Quantifizierung via GC-FID-Analyse über Peakflächenanteil

²aus Gudi et al., 2014, Journal of Agricultural and Food Chemistry

Einfluss der Hydrolate auf Nichtzielorganismen

Ziel

- Effekte von Hydrolaten auf Bodenmikroorganismen
 - N-Mineralisierung und Nitrifizierung
 - DIN EN ISO 14238:2014 (2013)
- Effekte von Hydrolaten auf Regenwürmer
 - Fluchttest ISO/FDIS 17512-1 (2008)
 - akute Toxizität EN ISO 11268-1 (2015)



Einfluss der Hydrolate auf Nichtzielorganismen



Effekte auf N-Mineralisierung und Nitrifizierung im Boden

– Testhydrolate:

- Kiefer (VER Reichstädt GmbH)
- Thymian (Dr. Otto GmbH Wittenberge)

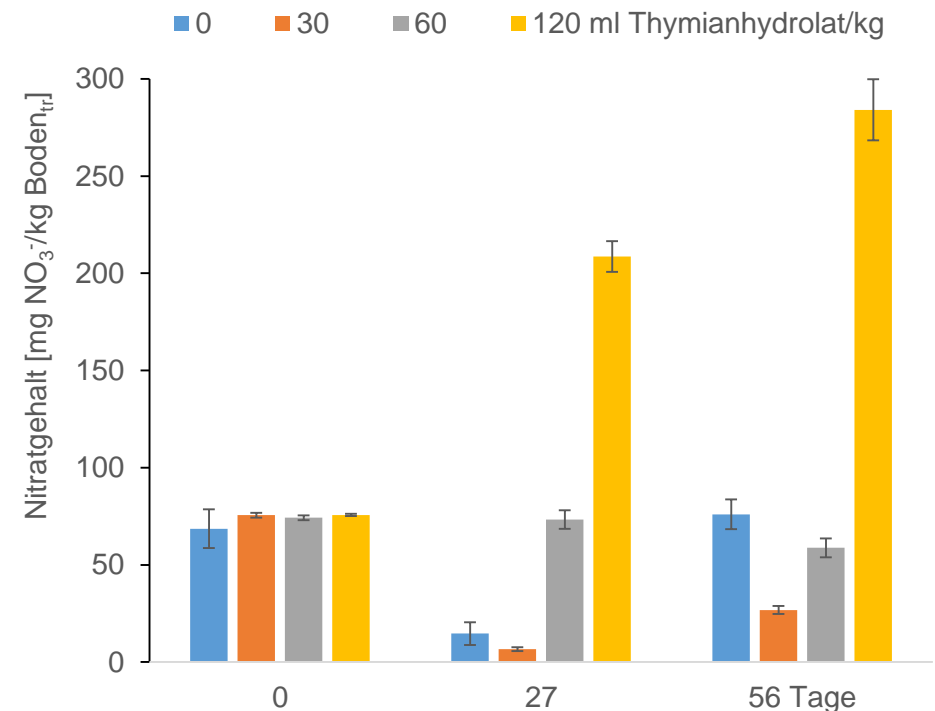
– Extraktion und Analyse Ammonium NH_4^+ , Nitrit NO_2^- und Nitrat NO_3^-

→ Werte für Nitrit unterhalb Bestimmungsgrenze

→ Ammonifizierung geringfügig beeinflusst

→ Nitratgehalte im Boden bei Kiefer geringfügig beeinflusst, für Thymian bei 120 ml Hydrolat /kg Bodentrockenmasse erhöht

→ bis 60 ml Hydrolat /kg Bodentrockenmasse akzeptable Auswirkung auf Bodenmikroorganismen

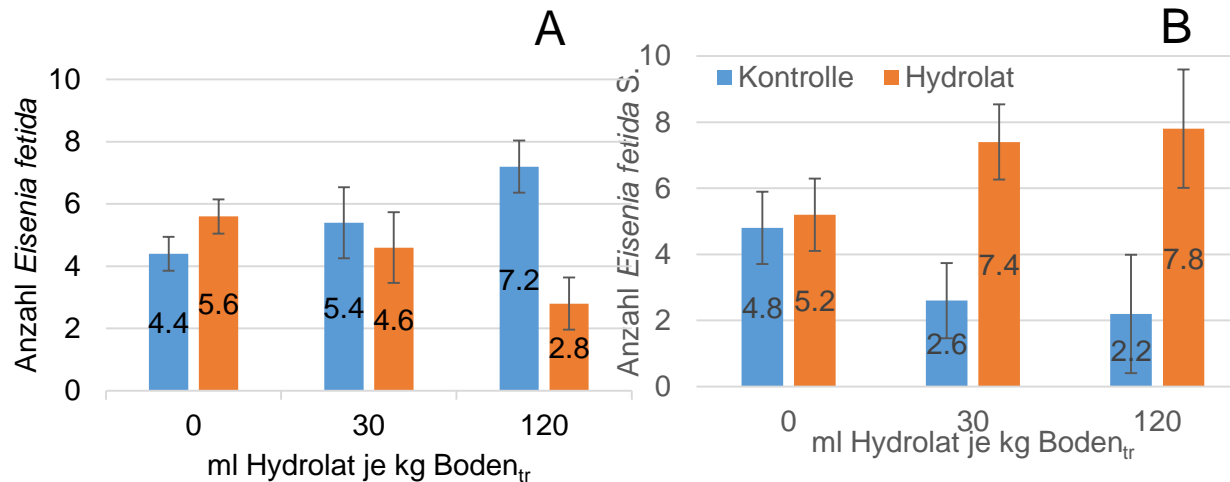


Einfluss auf die Nitrifizierung durch Hydrolat von Thymian bestimmt nach DIN EN ISO 14238:2014 (2013), N=4

Einfluss der Hydrolate auf Nichtzielorganismen



Effekt auf Fluchtverhalten Kompostwurm *Eisenia fetida*



Fluchtverhalten von *E. fetida* nach 48 h gegenüber Hydrolat von *Pinus sylvestris* (A) und *Thymus vulgaris* (B); 5 Wdh. + Vermeidung, - Anziehung

Behandlung [ml Hydrolat/kg Bodentrockenmasse]	Vermeidung [%] <i>P. sylvestris</i>	Vermeidung [%] <i>T. vulgaris</i>
0	-12	-4
30	8	-48
120	44	-56

Auszählung nach 48 h mit Hydrolat von *Pinus sylvestris* (A) bzw. *Thymus vulgaris* (B); n = 10 Versuchstiere je Ansatz, 5 Wiederholungen

Akute Toxizität von Hydrolaten auf *E. fetida*

- alle Würmer überlebten die Behandlungen
- mittlerer Biomasseverlust jeweils < 10%
- kein akut toxischer Effekt

Zusammenfassung und Ausblick



- **Hydrolate zeigen vielversprechende Wirkungen im Pflanzenschutz:**
 - Thymian- und Oreganohydrolat hemmen das Wachstum phytopathogener Pilze.
 - Hydrolate, insbesondere von Thymian und Kiefer, reduzieren Fraßschäden an Rapsblütenknospen (Vgl. unbehandelt) im Freiland.
 - Ein Fenchel-Öl-Präparat, Kiefer- und Thymianhydrolat zeigen eine abschreckende Wirkung auf Rapsglanzkäfer im Olfaktometer.
- **Die Applikation von Hydrolaten im Freiland stellt hohe Anforderungen an den Versuchsablauf.**
- **Geeignete Formulierungen der Applikationslösungen sind zu untersuchen.**
- **Effekte der Hydrolate auf Nicht-Zielorganismen sind zu berücksichtigen um eine Gefährdung von Mensch und Umwelt einschätzen zu können.**
- **Zusätzliche Wertschöpfung für das prozessierte Pflanzenmaterial**
- **Steigerung des Anbaus von Arznei- und Gewürzpflanzen für Deutschland im globalen Wettbewerb**
- **Aufkonzentrierung der Wirkstoffe aus wässrigen Lösungen möglich**

Danksagung

JKI-ÖPV: Arbeitsbereiche Phytochemie (AG Krähmer und AG Meiners) sowie Auswirkung von Agrarchemikalien (AG Felgentreu und AG Hommel) und Versuchsfeld

Wir danken unseren Partnern für die Bereitstellung von Hydrolaten und Untersuchungsmaterial:

ITVP Clausthal-Zellerfeld



VER Reichstädt GmbH



Dr. Otto GmbH Wittenberge



**Vielen Dank für Ihre
Aufmerksamkeit!**

Kontakt: sibylle.kuemmritz@julius-kuehn.de

Das Verbundprojekt „Ressourceneffiziente Gewinnung pharmazeutischer Wirkstoffe aus Wasserdampf-Hydrolaten und Destillationsrückständen“ wird über das BMEL und über die Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e.V. gefördert (Fkz.: 22021517).



Gefördert durch:



aufgrund eines Beschlusses
des Deutschen Bundestages

