

Darstellung der Variationsbreiten von
Inhaltsstoffen ätherischer Öle ex *Thymus
vulgaris* L. innerhalb verschiedener
Chemotypen

Wissenschaftsprojekt für „thescenteddrop“



F·O·R·U·M
ESSENZIA

VEREIN
FÜR FÖRDERUNG, SCHUTZ UND
VERBREITUNG DER AROMATHERAPIE,
AROMAPFLEGE, AROMAKULTUR
e.V.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	3
2	Material und Methoden	4
3	Ergebnisse und Diskussion	5
3.1	Unterschiede in den Chemotypen	5
3.2	Auswertung der Analysen von Thymian Ct. Geraniol	6
3.3	Auswertung der Analysen von Thymian Ct. Linalool	8
3.4	Auswertung der Analysen von Thymian Ct. Thymol	10
3.5	GC-MS-Profile der 4 wichtigsten <i>Thymus vulgaris</i> -Chemotypen	12
4	Zusammenfassung und Fazit	14
5	Literatur	15
6	Bildnachweis	15

Danksagung

Forum Essenzia e. V. bedankt sich bei der Bahnhof-Apotheke für die Bereitstellung der Daten und Chromatogramme, sowie der fachlichen Unterstützung durch Gerlinde Hübner-Engelhardt.

Kempten, 30.03.2013

1 Einleitung

Unter den Lippenblütlern ist die Gattung *Thymus* eine der arten- und formenreichsten. Es existieren etwa 150 Arten, wobei alleine davon ca. 75 Arten in Europa vorkommen. Die Gattung hat eine ausgeprägte Neigung zu Polymorphie, Bastardisierung und Chemotypen-Ausbildung innerhalb der eigenen botanisch identischen Art. Auch innerhalb eines Chemotyps kann die Schwankungsbreite der einzelnen Komponenten beträchtlich sein, was sogar zu Falschdeklarationen einzelner Chargen führen kann.

Gründe dafür sind die bekannten Abhängigkeiten der Biosynthese von jahreszeitlichen Witterungsverhältnissen und Provenienzen, d. h. unterschiedlichen Herkunftsgebieten. Aber auch menschliche Einflüsse in Sammel-, Ernte- und Verarbeitungspraxis sind Gründe für Schwankungen. So spielt beispielsweise die Destillationsführung und auch die Art und Dauer der Lagerung eine Rolle. Verfälschungspraktiken sind außerdem leider manchmal anzutreffen.

Als Beispiele für jahreszeitliche Schwankungen sind Unterschiede in der Geranylacetat-Ausbildung des Chemotyps Geraniol zu nennen, der im Sommer laut SCHNAUBELT (1999) mehr Geranylacetat ausbildet als im Winter. Und auch beim Phenoltyp gibt es Unterschiede, so synthetisieren diese gemäß HOLZGRABE und REICHLING (2011) im Winter vermehrt *p*-Cymen und γ -Terpinen als Vorstufen von Thymol und Carvacrol.

Forum Essenzia e. V. hat diese Unterschiede zum Anlass genommen, die Chemotypen Geraniol, Linalool und Thymol genau zu untersuchen, Schwankungen innerhalb der Typen aufzuzeigen und die daraus entwickelten Monographien vorzustellen.

Nicht Thema dieser Ausführung sind andere bekannte Arten der Gattung *Thymus* wie *Thymus zygis*, *Thymus mastichina*, *Thymus pulegioides*, *Thymus satureioides* und auch *Thymus serpyllum*. Letzterer, auch bekannt als Quendel, ist eine in ganz Europa verbreitete Art, die ebenfalls unterschiedliche Chemotypen ausbildet und bis zu 80% Carvacrol enthalten kann. Im Gegensatz zu *Thymus vulgaris* ist bei den Quendelölen typischerweise der Gehalt an Carvacrol größer als an Thymol.

2 Material und Methoden

Für die Untersuchung der Einzelkomponenten werden für den Chemotyp Geraniol 3 spanische und 17 französische Öle analysiert. Beim Chemotypen Linalool stehen 8 Proben aus Spanien und 22 Proben aus Frankreich zur Verfügung. Für den Thymoltyp werden 10 Proben unterschiedlicher Herkunft untersucht.

Zur Identifizierung der einzelnen Komponenten werden die Proben mittels Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GC-MS) analysiert. Dies ist eine Koppelung eines Gaschromatographen (GC) mit einem Massenspektrometer (MS). Der Chromatograph wird dabei genutzt, das Stoffgemisch aufzutrennen. Das Spektrometer dient der Identifizierung und Quantifizierung der einzelnen Komponenten.

Bei der statistischen Auswertung der Komponenten kann die Standardabweichung (σ) als Maß für deren natürliche Schwankungsbreite angesehen werden. Je größer diese ist, umso größer die Variationsbreite innerhalb eines Chemotypen. Die Standardabweichung gibt gemäß PAPULA (2003) die durchschnittliche Streuung der Messwerte um den Mittelwert (\bar{x}) an. Sie wird in der gleichen Größe wie die Messwerte angegeben, d. h. in Flächenprozenten. Allgemein gilt: Je größer der Probenumfang n einer Messreihe, desto aussagekräftiger wird eine statistische Kenngröße wie die Standardabweichung (σ). Weniger als 10 Messwerte kann eine Tendenz aufzeigen und ab 50 Messwerten ist die Aussagekraft als gut zu bewerten.

3 Ergebnisse und Diskussion

Zunächst werden kurz die unterschiedlichen Chemotypen vorgestellt. Anschließend die Ergebnisse der einzelnen Analysen zu den Chemotypen (Geraniol, Linalool, Thymol) aufgezeigt. Ein direkter Vergleich von z. B. spanischen und französischen Chemotypen ist über das Chromatogramm möglich und wird jeweils graphisch dargestellt.

3.1 Unterschiede in den Chemotypen

Gemäß HÄNSEL und STICHER (2010) sind lt. Ph. Eur. zwei Arten Thymian zur Drogen-gewinnung zugelassen. Diese sind *Thymus vulgaris* und *Thymus zygis*. Letzter, der weiß blühende Thymian, kommt fast nur in Spanien vor und ist nicht Gegenstand dieser Arbeit. Für die pharmazeutische Verwendung stammen die Drogen aus Anpflanzungen.

Die Gewinnung des ätherischen Öls erfolgt durch Wasserdampfdestillation der Blätter und Blüten. Gemäß Ph. Eur. wird dabei keine Unterscheidung anhand der Chemotypen vorgenommen und es besteht einzig für den Ct. Thymol eine Monographie des ätherischen Öls, wobei in dieser nur Angaben zu den Hauptkomponenten gemacht werden (siehe dazu auch Abschn. 3.5).

Gemäß VERNET et al. (1986) und HOLZGRABE und REICHLING (2011) werden 6-11 Chemotypen nach ihren Hauptinhaltsstoffen unterschieden. Zu den bekanntesten gehören die alkoholischen Chemotypen Geraniol, Linalool, α -Terpineol und Thujanol, sowie die phenolischen Typen Thymol und Carvacrol. Obwohl bekannt, sind einige der Chemotypen im Handel kaum erhältlich. Dies gilt beispielsweise für den oft erwähnten und sehr gut verträgliche Typ Thujanol.

In Tab. 1 sind die 3 wichtigsten Chemotypen gegenüber gestellt, die handelsüblich sind.

Tab. 1: Unterscheidung der Chemotypen nach HÄNSEL und STICHER (2010), WABNER und BEIER (2009)

	Ct. Thymol	Ct. Linalool	Ct. Geraniol
Hauptinhaltsstoffe	Thymol, Carvacrol	Linalool	Geraniol
Farbe	gelb bis rötlich-braun	farblos bis gelblich	gelb bis rötlich
Geruch	aromatisch, nach Thymol	zitronig	nach Geranie
Vorkommen	Mittelmeergebiet 250 bis 500 m	Spanien, Frankreich ab 1500 m	Alpen 1250 bis 1500

3.2 Auswertung der Analysen von Thymian Ct. Geraniol

In Tab. 2 sind die Hauptkomponenten des Thymian Ct. Geraniol aus Frankreich und Spanien dargestellt, die mittels GC-MS identifiziert wurden.

Tab. 2: Ergebnisse der GC-MS-Analysen des Chemotypen Geraniol, Angaben in Flächenprozenten, gemäß BAHNHOF-APOTHEKE (2013)

	Spanien $n = 3$			Frankreich $n = 17$		
	Bereich	\bar{x}	σ	Bereich	\bar{x}	σ
γ -Terpinen	4,6-5,1	4,9	0,3	0,2-3,8	0,8	0,9
p-Cymen	2,8-3,5	3,1	0,4	0,1-5,7	0,8	1,4
tr-Thujanol	2,1-3,0	2,6	0,5	0,0-5,0	3,1	1,3
Linalool	3,0-3,9	3,7	0,7	1,0-50,0	16,7	16,7
Terpinen-4-ol	7,8-12,0	9,1	2,3	0,0-1,6	0,8	0,5
Geraniol	38,0-43,0	41,1	2,4	13,0-68,0	25,1	11,7
Geranylacetat	0,9-2,1	1,7	0,6	17,0-58,0	34,5	14,9

Die Messungen der spanischen Öle liegen nahe zusammen. Bei den französischen Ölen gibt es starke Abweichungen. Besonders deutlich wird dies beim Gehalt an Linalool. Der Anteil schwankt hier zwischen 1 und 50 % Linalool, wobei die Streuung, d. h. die Standardabweichung (σ) mit 16,7 % sehr weit ist.

Abb.1 zeigt den Vergleich zwischen französischem und spanischem Thymian Ct. Geraniol. In der direkten Gegenüberstellung der Länder wird sichtbar, dass das spanische Öle kaum Geranylacetat und Linalool enthalten, dafür aber deutlich höhere Werte bei Terpinen-4-ol vorliegen und der Geraniol-Mittelwert (\bar{x}) diese Öle höher ist.

Wie eingangs bereits dargestellt, kann die Untersuchung von 3 Proben nur als Tendenz angesehen werden. Unterschiedlichen Linaloolgehalte können sowohl jahreszeitlich Ursachen haben, als auch auf Erntezeitpunkte, Destillationsbedingungen, und unterschiedliche Anbaubedingungen zurückzuführen sein. Die niedrigen Geranylacetat-Werte im direkten Vergleich sind möglicherweise ebenfalls auf jahreszeitliche Verschiebungen zurückzuführen.

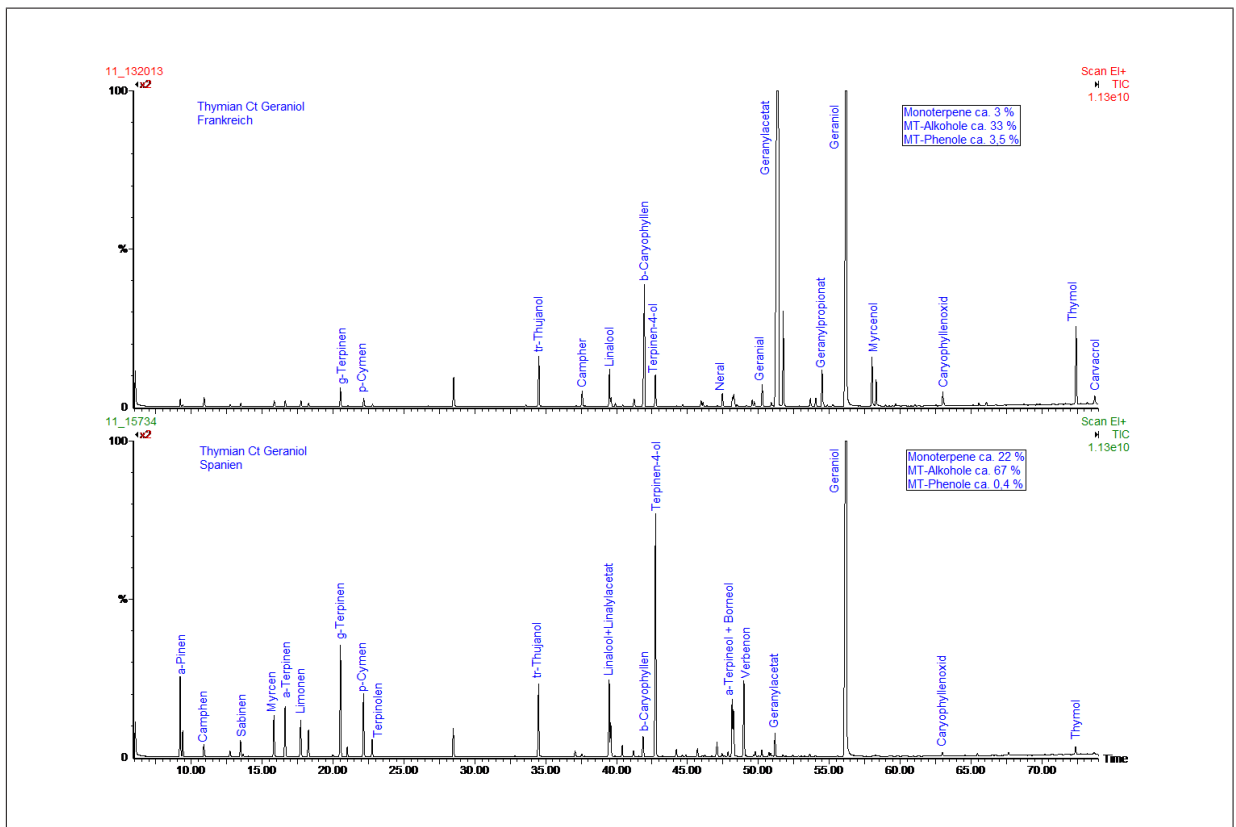


Abb. 1: Direkter Vergleich (Chromatogramme) französischer und spanischer Thymian Ct. Geraniol [1]

3.3 Auswertung der Analysen von Thymian Ct. Linalool

Tab. 3 zeigt die Hauptkomponenten des Thymian Ct. Linalool aus Frankreich und Spanien, die ebenfalls mittels GC-MS identifiziert wurden.

Tab. 3: Ergebnisse der GC-MS-Analysen der Chemotypen Linalool, Angaben in Flächenprozenten, gemäß BAHNHOF-APOTHEKE (2013)

	Spanien			Frankreich		
	$n = 8$			$n = 22$		
	Bereich	\bar{x}	σ	Bereich	\bar{x}	σ
Myrcen	5,3-8,5	7,1	1,1	0,0-8,3	2,5	3,1
γ -Terpinen	4,7-7,5	5,6	0,6	0,1-6,8	2,0	2,4
p-Cymen	0,7-2,1	1,3	0,4	0,1-2,5	1,1	0,6
tr-Thujanol	1,3-8,8	6,0	2,2	0,0-7,0	1,9	2,5
Linalool	33,0-53,0	46,0	4,1	40,0-86,0	71,1	17,5
Linalylacetat	0,6-11,0	0,8	0,2	1,1-9,2	5,0	2,5
Terpinen-4-ol	8,4-13,3	10,7	1,2	0,0-11,0	2,4	4,6
Borneol und α -Terpineol	3,0-4,0	3,6	0,5	0,0-4,4	1,1	1,6

Auch bei dieser Analyse liegen die Messungen der spanischen Öle nahe zusammen, wobei Schwankungen bei den Komponenten Linalool und Linalylactat zu sehen sind. Bei den französischen Ölen gibt bei fast allen Komponenten sehr weite Bereiche und auch die Standardabweichung ist tendenziell hoch. Einzelkomponenten wie Linalool liegen dabei z. B. zwischen 40 und 86 %.

In Abb. 2 ist ein Vergleich zwischen französischem und spanischen Thymian Ct. Linalool dargestellt. Neben den deutlichen Unterschieden im Linaloolgehalt enthält der spanische Thymian andere Nebenkomponten als der französische. Beispielsweise kann beim französischen Thymian Ct. Linalool Myrcen gänzlich fehlen, wo hingegen tr-Thujanol, β -Caryophyllen, Geranylacetat und Geraniol in nur geringen Mengen vorkommen.

3 Ergebnisse und Diskussion

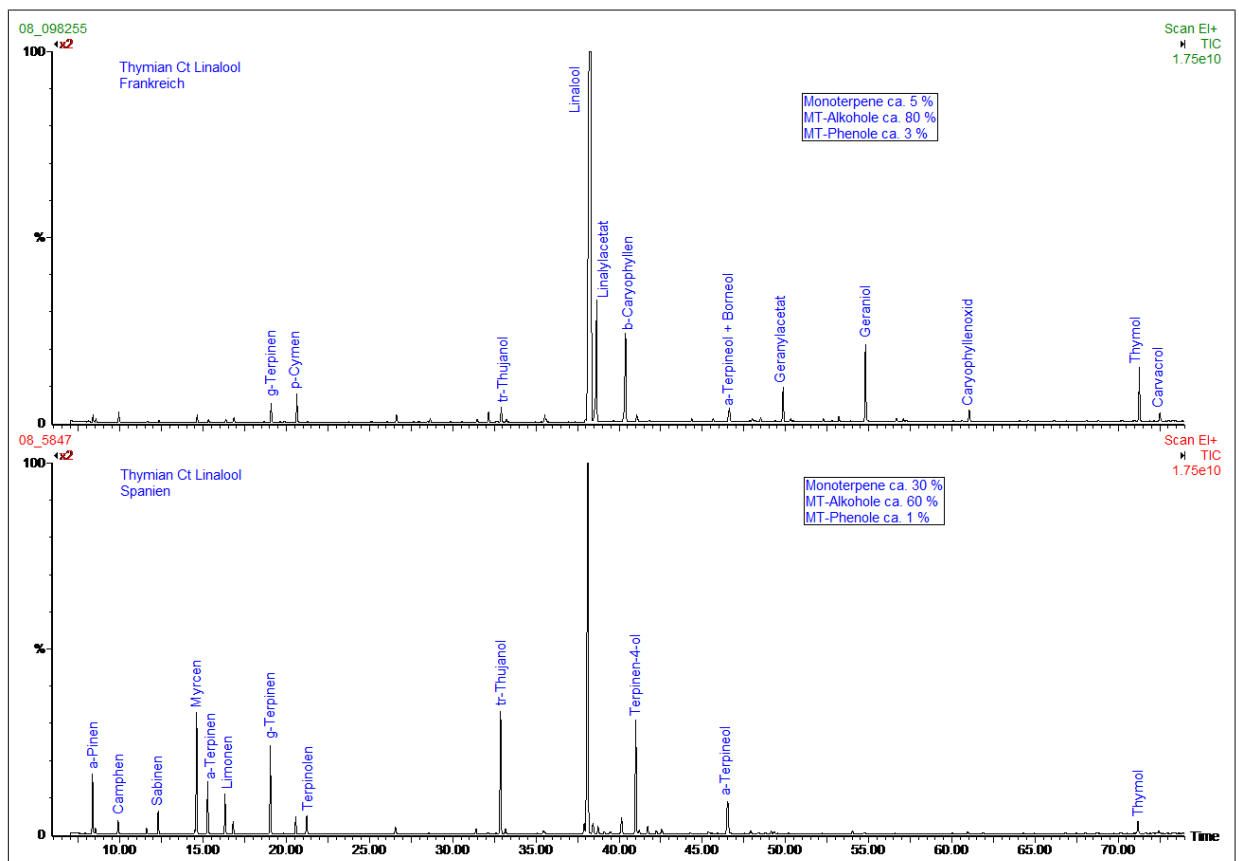


Abb. 2: Direkter Vergleich (Chromatogramme) französischer und spanischer Thymian Ct. Linalool [1]

3.4 Auswertung der Analysen von Thymian Ct. Thymol

In Tab. 4 sind die Hauptkomponenten von 10 Analysen Thymian Ct. Thymol verschiedener Herkunft dargestellt. Diese wurden ebenfalls mittels GC-MS identifiziert.

Tab. 4: Ergebnisse der GC-MS-Analysen der Chemotypen Thymol, Angaben in Flächenprozenten, gemäß BAHNHOF-APOTHEKE (2013)

	Unterschiedliche Herkunft		
	$n = 10$		
	Bereich	\bar{x}	σ
γ -Terpinen	5,5-14,0	9,4	3,8
p-Cymen	13,0-25,0	16,6	3,5
Linalool	3,1-4,8	3,7	0,6
Thymol	27,0-62,0	52,0	11,3
Carvacrol	2,1-6,1	3,8	1,1

Auch hier wird sichtbar, dass sich die Werte unterscheiden. Bis auf den Linalool-Anteil sind starke Schwankungen zu erkennen.

In Abb. 3 ist als Vergleich französischer und italienischer Thymian Ct. Thymol dargestellt. Unterschiedlich ist hier der Linaloolgehalt. Große Unterschiede gibt es außerdem beim Thymol-, γ -Terpinen- und p-Cymengehalt.

Wie eingangs bereits dargestellt, variiert das Verhältnis von Thymol zu Carvacrol abhängig von Herkunft, Klima und Erntezeit. Die Sommerernte enthält gemäß SCHNAUBELT (1999) mehr Carvacrol als die Winterernte.

3 Ergebnisse und Diskussion

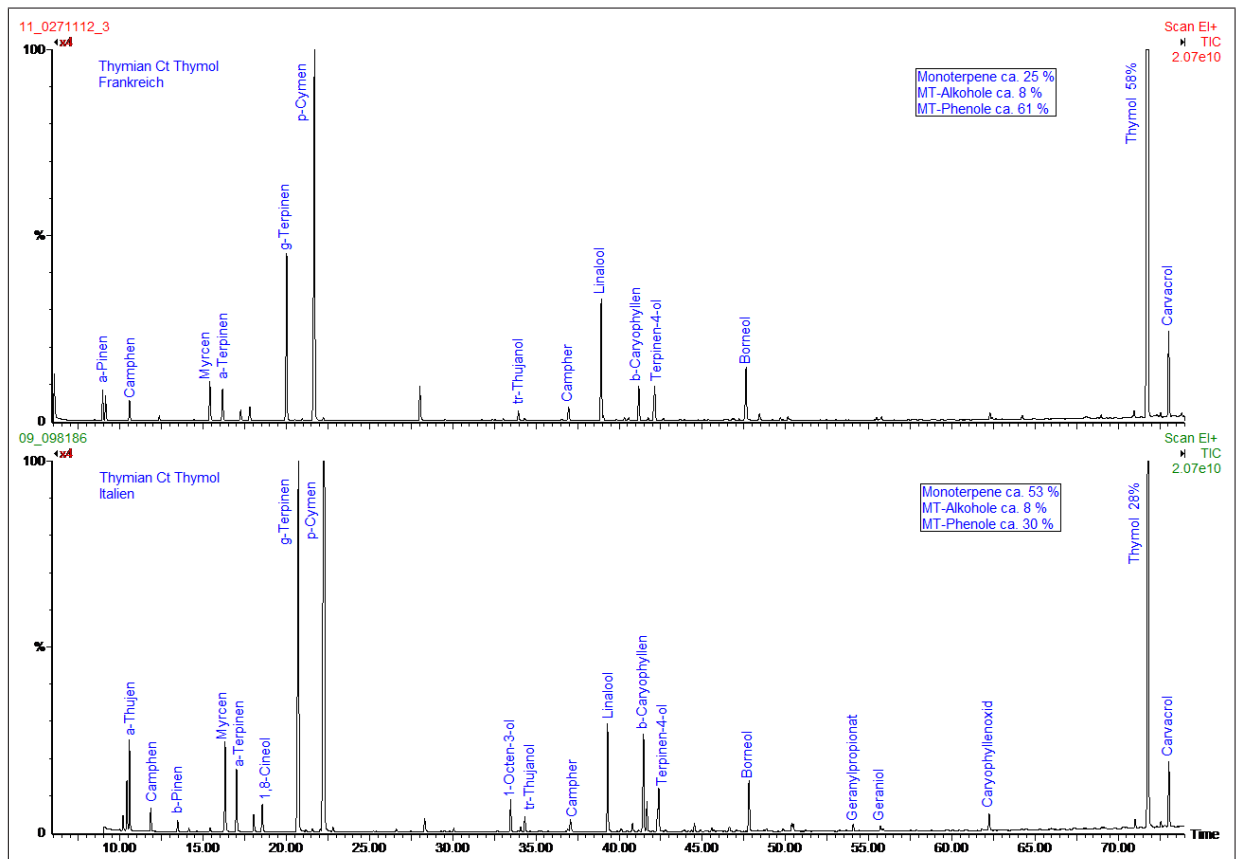


Abb. 3: Direkter Vergleich (Chromatogramme) französischer und italienischer Thymian Ct. Thymol [1]

3.5 GC-MS-Profile der 4 wichtigsten *Thymus vulgaris*-Chemotypen

Die GC-MS-Profile der 4 wichtigsten Chemotypen sind in Tab. 5 dargestellt. Wie bereits in Abschn. 3.1 beschrieben, gibt es einzig für den Typ Thymol eine Teilmonographie nach Ph. Eur., deren Werte ebenfalls in der Tabelle aufgeführt sind. Zudem ist die Analyse einer Charge Ct. Thujanol zu finden. Sp. bedeutet Spuren und n. n. meint nicht nachweisbar.

In den bisherigen Ergebnissen war zu sehen, dass es erhebliche Unterschiede innerhalb eines Chemotyp geben kann. In Tab. 5 wird außerdem sichtbar, dass es erhebliche Schwankungen zwischen den verschiedenen Chemotypen gibt.

Wie unter Abschn. 3.1 dargestellt, entwickeln sich unterschiedliche Chemotypen vor allem an unterschiedlichen Standorten, wohingegen Unterschiede innerhalb des Chemotyps mit vielen anderen Faktoren zusammenhängen. Gemäß FRANZ (2012) spielt z. B. bei der Wildsammlungen die natürlicherweise häufig vorkommenden Diversitäten innerhalb einer Fläche eine Rolle. Häufig wird dabei nicht nur eine Art bzw. ein Chemotyp geerntet, sondern weitere Variabilitäten innerhalb der Art.

Tab. 5: GC-MS-Profile der wichtigsten 4 *Thymus vulgaris*-Chemotypen (Thymol, Linalool, Geraniol, Thujanol), gemäß BAHNHOF-APOTHEKE (2013)

Inhaltsstoffe	Gruppe	Thymol <i>n</i> = 10	Thymol Ph. Eur.	Linalool <i>n</i> = 30	Geraniol <i>n</i> = 20	Thujanol <i>n</i> = 1
Monterpene (MT)						
α -Thujen		0,6-1,9	0,2-1,5	Sp.-0,5	Sp.-1,0	0,9
α -Pinen		0,7-1,2		Sp.-4,2	Sp.-4,0	1,9
Camphen		0,2-0,7		Sp.-1,1	Sp.-1,1	0,2
Sabinen		Sp.-0,1		n. n.-1,4	Sp.-0,9	2,1
α -Terpinen		1,0-1,9	0,9-2,6	n. n.-4,0	Sp.-2,2	2,1
Limonen		0,2-0,6		n. n.-3,3	Sp.-1,9	2,8
Myrcen		1,2-2,6	1,0-3,0	Sp-8,5	0,1-1,8	5,1
γ -Terpinen		5,5-14,0	4,0-12,0	0,1-7,5	0,2-5,1	3,7
p-Cymen		13,0-25,0	14,0-28,0	0,1-2,5	0,1-5,7	0,7
Terpinolen		Sp.-0,2		n. n.-1,5	Sp.-0,8	0,7
Linalool	Alkohole	3,1-4,8	1,5-6,5	33,0-86,0	1,0-50,0	5,4
Terpinen-4-ol	Alkohole	0,4-2,0	0,1-2,5	n. n.-13,0	0,2-12,0	6,1
tr-Thujanol	Alkohole	0,2-0,5		Sp.-8,8	Sp.-5,0	41,1
cis-Thujanol	Alkohole	n. n.		n. n.-0,7	0,1-0,6	6,8
Borneol	Alkohole	0,6-2,8		n. n.-2,3	0,3-2,8	n. n.
α -Terpineol	Alkohole	n. n.-0,2		n. n.-1,6	Sp.-2,3	2,9
Geraniol	Alkohole	n. n.-0,2		n. n.-3,4	13,0-67,0	0,1
Nerol	Alkohole	n. n.		n. n.	0,1-1,6	Sp.
Myrceln-8-ol	Alkohole	n. n.		n. n.	n. n.	7,4
Geranial	Aldehyde	n. n.-0,1		n. n.	0,2-0,7	n. n.
Campher	Ketone	Sp.-1,2		0,1-0,6	0,1-1,0	n. n.
Verbenon	Ketone	n. n.-0,3		n. n.	n. n.-3,7	n. n.
Linalylacetat	Ester	n. n.-Sp.		0,6-9,2	0,1-2,8	0,4
Geranylacetat	Ester	n. n.		n. n.-1,9	1,0-58,0	n. n.
Geranylpropionat	Ester	n. n.		n. n.	n. n.-1,5	n. n.
α -Terpinylacetat	Ester	n. n.-0,2		n. n.	0,2-1,4	n. n.
1,8-Cineol	Oxide	0,3-1,8		n. n.-1,4	0,1-4,4	0,8
cis-/tr-Linalooloxide	Oxide	n. n.-0,1		n. n.-1,2	n. n.	n. n.
Thymol	Phenole	28,0-62,0	37,0-55,0	n. n.-5,7	Sp.-5,3	0,03
Carvacrol	Phenole	2,1-6,1	0,5-5,5	n. n.-0,4	n. n.-1,3	n. n.
Thymolmethylether	Phenoether	n. n.-1,0		Sp.-0,1	n. n.	n. n.
Carvacrolmethylether	Phenoether	n. n.-0,1	0,05-1,5	n. n.	n. n.	n. n.
Sesquiterpene (ST)						
β -Caryophyllen		1,2-3,3		0,8-7,2	0,9-8,1	2,9

4 Zusammenfassung und Fazit

Es wurde dargestellt, dass es innerhalb der Chemotypen z. T. erhebliche Schwankungen in den Gehalten der Einzelkomponenten gibt. Herkunft, Anbau, Verarbeitung und auch Biodiversitäten spielen dabei eine große Rolle.

Für die Hersteller und Verarbeiter ätherischer Öle ist es damit essentiell, eine GC-MS Analyse durchzuführen, da selbst innerhalb eines Chemotyps starke Schwankungen vorhanden sind. Nur so können eigene oder eingekaufte Öle wirklich fundiert beurteilt werden. Im wissenschaftlichen Ansatz ist dies unerlässlich, aber auch bei der Anwendung am Menschen im pharmazeutischen und kosmetischen Bereich ist dies eine wichtige Voraussetzung, denn bei der Verwendung ätherischer Öle als Arzneimittel, Medizinprodukt oder Kosmetikum können die Einzelkomponenten eine wichtige Rolle spielen.

Dem pharmazeutischen und kosmetischen Anwender wird empfohlen, seinen Lieferanten kritisch zu hinterfragen. Zudem sollte sich der Nutzer die Chargennummer des verwendeten Thymianöls oder einer Aromamischung im Erfahrungsbericht notieren, sodass sowohl zur Verifizierung einer Wirkung als auch bei einer unerwarteten Reaktion eine Rückverfolgung zum Hersteller und damit zur Analyse möglich ist.

Jedoch ist für die Endverbraucher auch wichtig zu wissen, dass Schwankungen der Inhaltsstoffe natürlichen Ursprungs sind und somit Duft und Wirkung in jedem ätherischen Öl und Fertigprodukt, wenn auch geringfügig, beeinflussen können.

5 Literatur

- BAHNHOF-APOTHEKE, 2013: Zur Verfügung gestellte GC-MS Messwerte Chemotypen *Thymus vulgaris* L.
- FRANZ, C., 2012: Wild gesammelt, angebaut oder systematisch gezüchtet – welche Pflanzen eignen sich am besten für hochwertige ätherische Öle?, Vortrag, Forum Essenzia e. V. Tagung
- HÄNSEL R., STICHER O. (HRSG.), 2010: Pharmakognosie – Phytopharmazie, Springer Medizin Verlag Heidelberg, 9., überarbeitete und aktualisierte Auflage
- HOLZGRABE U., REICHLING J. (HRSG.), 2011: Hager ROM: Hagers Enzyklopädie der Arzneistoffe und Drogen, Springer-Verlag Würzburg
- PAPULA L., 2003: Mathematische Formelsammlung, Vieweg Verlag, 8. Auflage
- SCHNAUBELT K., 1999: PIA Masters Series: Part 1 – Chemistry of Essential Oils, Pacific Institute of Aromatherapy, San Rafael (Cal.)
- VERNET P., GOUYON P., VALDEYRON G., 1986: Genetic control of the oil content in *Thymus vulgaris* L.: a case of polymorphism in a biosynthetic chain, *Genetica*, 227-231 (69)
- WABNER D.(Hrsg.), BEIER C.(Hrsg.), 2009: Aromatherapie, Elsevier GmbH, München

6 Bildnachweis

- [1], 2013: Chromatogramme, Bahnhof-Apotheke 2013

Forum Essenzia e. V.
Verein für Förderung, Schutz und Verbreitung der
Aromatherapie, Aromapflege und Aromakultur
Kotternerstr. 81, D-87453 Kempten