universität wien

DIPLOMARBEIT

Titel der Diplomarbeit

„Antimikrobielle Wirkung ausgewählter flüchtiger Verbindungen und ätherischer Öle auf luftgetragene Keime “

Verfasser

Daniel Banovac

angestrebter akademischer Grad

Magister der Pharmazie (Mag.pharm.)

Wien, 2012

Studienkennzahl lt. Studienblatt:	A 449
Studienrichtung lt. Studienblatt:	Pharmazie
Betreuerin / Betreuer:	Priv.-Doz. Mag. DDr. Sabine Krist

Danksagungen

Ich bedanke mich in erster Linie bei Frau Priv.-Doz. Mag. DDr. Sabine Krist vom Department für klinische Pharmazie und Diagnostik an der Universität Wien, für die Möglichkeit diese Diplomarbeit durchzuführen und für Ihre Unterstützung während der Durchführung.

Danken möchte ich natürlich auch Herrn Univ. Prof. Dr. Walter Jäger für die Vermittlung dieser Diplomarbeit.

Des weitern möchte ich meinen Eltern für die langjährige Unterstützung während meines Studiums danken.

Zusammenfassung

In dieser Diplomarbeit wurde die antimikrobielle Wirkung von cis-Nerolidol; Nerolidol synth. (E/Z 40:60); Cabreuvaöl (Paraguay); o-Methyl-Nerolidol (E/Z 40:60); o-Ethyl-Nerolidol (E/Z 40:60); (-)-α-Bisabolol; trans, trans-Farnesol; Tannenzapfenöl; Orangenöl; (+)-Limonen und (-)-Limonen auf luftgetragene Keime untersucht. Dafür wurde als erstes die Ausgangskeimzahl im Testraum mit Hilfe eines Luftkeimsammlers und Agarstreifen bestimmt. Danach wurden die oben genannten ätherischen Öle und Einzelsubstanzen in einer Konzentration von 5mg/m³ in dem Testraum gleichmäßig versprüht. Nach einer Einwirkzeit von 15min wurde die Endkeimzahl ebenfalls mit einem Luftkeimsammler und Agarstreifen bestimmt. Die beladenen Agarstreifen wurden bei 37°C für 24h bebrütet und die Keime wurden optisch ausgezählt. Aus der Differenz zwischen Ausgangskeimzahl und Endkeimzahl wurde die mittlere Reduktion der Gesamtkeimzahl berechnet. Zum Vergleich wurde mit Aqua dest. und mit einem Leerwert ohne jegliche Substanz gearbeitet. Aqua dest. hatte eine mittlere Keimreduktion von (16.20%) und der Leerwert eine mittlere Reduktion von (12.14%). Die Keimzahlreduktion resultiert daraus, dass sich die luftgetragenen Keime nach 15min Ruhe am Boden absetzen. Die getesteten Substanzen erreichten nach Höhe der mittleren Keimreduktion sortiert, folgende Keimzahlreduktionen: (-)-α-Bisabolol (46.32%); (-)-Limonen (37.98%); trans, trans-Farnesol (37.26%); o-Ethyl-Nerolidol (E/Z 40:60) (34.57%); cis-Nerolidol (31.89%); Tannenzapfenöl (27.87%); (+)-Limonen (27.68%); Orangenöl (27.22%); Cabreuvaöl (Paraguay) (25.60%); o-Methyl-Nerolidol (E/Z 40:60) (23.63%); Nerolidol synth. (E/Z 40:60) (18.35%). Im theoretischen Teil dieser Arbeit wurde auf ätherische Öle im Allgemeinen, die Möglichkeiten der Raumbeduftung und auf die Ergebnisse von vielen anderen Forschungsgruppen zu den antimikrobiellen Eigenschaften und auch vielen anderen Eigenschaften und Einsatzmöglichkeiten von ätherischen Ölen und seiner Einzelkomponenten eingegangen. Das Fazit dieser Arbeit ist, dass die meisten getesteten Substanzen und ätherischen Öle (ganz besonders (-)-α-Bisabolol, (-)-Limonen und trans, trans-Farnesol) eine gute Wirksamkeit gegen luftgetragene Keime haben. Sie eignen sich somit gut zur Keimreduktion in der Raumluft.

Abstract

In this diploma thesis, the antimicrobial activity of cis-nerolidole; nerolidole synth.(E/Z 40:60); cabreuva oil (Paraguay); o-methyl-nerolidole (E/Z 40:60); o-ethyl-nerolidole (E/Z 40:60); (-)-α-bisabolol; trans, trans-farnesol; fir cone oil; orange oil; (+)-limonene and (-)-limonene was examined for air-borne germs. Therefore, the starting germ count in the testroom was determined with a RCS Air Sampler. After that, the above-named substances and essential oils (with a concentration of 5mg/m³) were sprayed in the testroom. After a effective duration of 15min the finishing germ count was determined with a RCS Air Sampler. The agar strips were incubated at 37°C for 24h. After that the germs were counted visually. From the difference between starting total germ count and finishing total germ count the medial decrease was calculated. For comparison a distilled water value and a blank value without any substance were determined. Distilled water had a medial germ decrease of (16.20%) and the blank value had a medial germ decrease of (12.14%). The tested substances showed following medial germ count decreases: (-)-α-bisabolol (46.32%); (-)-limonene (37.98%); trans, trans-farnesol (37.26%); o-ethyl-nerolidole (E/Z 40:60) (34.57%); cis-nerolidole (31.89%); pine oil (27.87%); (+)-limonene (27.68%); orange oil (27.22%); cabreuva oil (Paraguay) (25.60%); o-methyl-nerolidole (E/Z 40:60) (23.63%); nerolidole synth.(E/Z 40:60) (18.35%). In the theoretical part of this diploma thesis a literature search for the used substances and essential oils was done (with a focus on the antimicrobial activity). In conclusion most of the tested substances and essential oils (especially (-)-α-bisabolol, (-)-limonen und trans, trans-farnesol) showed good antimicrobial activity against air-borne microbes. Therefore they can be used for the germreduction in room air.

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung ……...11

2. Allgemeiner Teil …….....12

2.1. Ätherische Öle – allgemeine Informationen …….. 12
2.1.1. Definition ……. 12
2.1.2. Vorkommen ……. 12
2.1.3. Gewinnungsmethoden …….. 14
2.1.3.1. Wasserdampfdestillation ……... 14
2.1.3.2. Pressung …… 14
2.1.3.3. Enfleurage-Verfahren …… 15
2.1.3.4. Lösungsmittelextraktion …… 15
2.1.4. Marktdaten für ätherische Öle …….. 15
2.1.5. Eigenschaften ……... 16
2.1.6. Anwendung ……... 16
2.1.6.1. Allgemeines ……16
2.1.6.2. Antibakterielle Anwendung …….. 18
2.1.6.3. Antimykotische Anwendung …… 18
2.1.6.4. Antivirale Anwendung …….. 19
2.1.7. Mögliche Nebenwirkungen ……. 19

2.2. Möglichkeiten der Raumbeduftung ……. 21
2.2.1. Raumbeduftung …….21
2.2.1.1. Positive und negative Aspekte ……... 21
2.2.1.2. Handel …… 22
2.2.2. Geräte für den Privatgebrauch …….. 22
2.2.3. Professionelle Geräte zur Raumbeduftung ……... 23
2.2.3.1. Air Creative ……23
2.2.3.2. Well Arom ……. 24
2.2.3.3. Air Butler ……... 24

2.3. Nerolidol …….25
2.3.1. Allgemeines ……. 25
2.3.1.1. Beschreibung ……. 25
2.3.1.2. Strukturformel trans-Nerolidol ……. 26
2.3.1.3. Strukturformel cis-Nerolidol ……. 26
2.3.1.3. Eigenschaften …… 26
2.3.1.5. Geruch ……... 26
2.3.2. Gewinnung, Synthese und Metabolisierung von Nerolidol . 27
2.3.2.1. Gewinnung …….27
2.3.2.2. Synthesen und Verwendung in Synthesen …… 27
2.3.2.3. Studien zur Metabolisierung …….. 29
2.3.3. Antibakterielle Aktivität ……... 30
2.3.3.1. Nerolidol allgemein ……... 30
2.3.3.2. trans-Nerolidol ……... 32
2.3.3.3. cis-Nerolidol …….. 35
2.3.4. Antifungale Aktivität …… 35
2.3.4.1. trans-Nerolidol …….. 35
2.3.4.2. cis-Nerolidol ……. 36

2.3.5. Antivirale Aktivität ……. 37
2.3.5.1. Nerolidol allgemein …….. 37
2.3.6. Andere Eigenschaften …….. 37
2.3.6.1. Nerolidol allgemein …….. 37
2.3.6.2. trans-Nerolidol …….. 38
2.3.7. Nebenwirkungen …….. 39

2.4. Cabreuvaöl ……..41
2.4.1. Allgemeines …….. 41
2.4.1.1. Beschreibung ……. 41
2.4.1.2. Eigenschaften …… 41
2.4.1.3. Geruch ……... 41
2.4.1.4. Zusammensetzung ……. 42
2.4.1.5. Wirkung und Anwendung ……. 42
2.4.1.6. Cabreuva …… 43
2.4.1.6.1. Allgemeine Beschreibung …….. 43
2.4.1.6.2. Taxonomie …….. 44
2.4.1.7. Balsambaum …….. 44
2.4.1.7.1. Allgemeine Beschreibung …….. 44
2.4.1.7.2. Taxonomie …….. 45
2.4.1.7.3 Inhaltsstoffe …… 45
2.4.2. Gewinnung und Synthesen von Cabreuvaöl …… 46
2.4.2.1. Gewinnung ……..... 46
2.4.2.2. Synthesen ……. 46
2.4.3. Antibakterielle Aktivität …….. 47
2.4.4. Nebenwirkungen ……. 49

2.5. O-Methyl-Nerolidol ……50
2.5.1. Allgemeines …….. 50
2.5.1.1. Beschreibung ……. 50
2.5.1.2. Strukturformel o-Methyl-Nerolidol …….. 50
2.5.1.3. Eigenschaften ……. 50
2.5.1.4. Geruch ……51
2.5.2. Gewinnung und Synthese von o-Methyl-Nerolidol ……. 51

2.6. O-Ethyl-Nerolidol ……...52
2.6.1. Allgemeines …….. 52
2.6.1.1. Beschreibung ……. 52
2.6.1.2. Strukturformel o-Ethyl-Nerolidol ……. 52
2.6.1.3. Eigenschaften …… 52
2.6.1.4. Geruch ……... 53
2.6.2. Gewinnung und Synthese von o-Ethyl-Nerolidol ……... 53

2.7. (-)-α-Bisabolol ……..... 54
2.7.1. Allgemeines ……. 54
2.7.1.1. Beschreibung ……..54
2.7.1.2. Strukturformel (-)-α-Bisabolol …….. 55
2.7.1.3. Eigenschaften …… 55
2.7.1.4. Geruch ……... 55
2.7.2. Gewinnung und Synthese von (-)-α-Bisabolol ……. 55
2.7.3. Antibakterielle Aktivität …….. 56

2.7.4. Antifungale Aktivität 57
2.7.5. Andere Eigenschaften 58
2.7.6. Nebenwirkungen 59

2.8. Trans, trans Farnesol 60
2.8.1. Allgemeines 60
2.8.1.1. Beschreibung 60
2.8.1.2. Strukturformel trans, trans-Farnesol 60
2.8.1.3. Eigenschaften 61
2.8.1.4. Geruch 61
2.8.2. Gewinnung und Synthese von Farnesol 61
2.8.3. Antibakterielle Aktivität 62
2.8.4. Antifungale Aktivität 62
2.8.5. Andere Eigenschaften 63
2.8.6. Nebenwirkungen 64

2.9. Limonen 65
2.9.1. Allgemeines 65
2.9.1.1. Beschreibung 65
2.9.1.2. Strukturformel S-(-)-Limonen 66
2.9.1.3. Strukturformel R-(+)-Limonen 66
2.9.1.4. Eigenschaften 66
2.9.1.5. Geruch 67
2.9.2. Biosynthese von Limonen 67
2.9.3. Antibakterielle Aktivität 67
2.9.3.1. Limonen allgemein 67
2.9.3.2. (-)-Limonen 71
2.9.3.3. (+)-Limonen 71
2.9.4. Antifungale Aktivität 72
2.9.4.1. Limonen Allgemein 72
2.9.4.2. (-)-Limonen 74
2.9.4.3. (+)-Limonen 75
2.9.5. Andere Eigenschaften 75
2.9.5.1. Limonen allgemein 75
2.9.5.2. (+)-Limonen 76
2.9.6. Nebenwirkungen 76

2.10. Orangenöl 77
2.10.1. Allgemeines 77
2.10.1.1. Beschreibung 77
2.10.1.2. Eigenschaften 77
2.10.1.3. Geruch 77
2.10.1.4. Zusammensetzung 78
2.10.1.5. Wirkung und Anwendung 78
2.10.1.6. Citrus aurantium L. und Citrus sinensis L. 78
2.10.1.6.1. Allgemeine Beschreibung 78
2.10.1.6.2. Taxonomie 79
2.10.2. Gewinnung von Orangenöl 80
2.10.3. Antibakterielle Aktivität 80
2.10.4. Antifungale Aktivität 82
2.10.5. Nebenwirkungen 82

2.11. Tannenzapfenöl …… 84
2.11.1. Allgemeines …… 84
2.11.1.1. Beschreibung …… 84
2.11.1.2. Eigenschaften …….. 84
2.11.1.3. Geruch …… 84
2.11.1.4. Zusammensetzung ……... 84
2.11.1.5. Wirkung und Anwendung …… 85
2.11.1.6. Abies alba Mill. …… 86
2.11.1.6.1. Allgemeine Beschreibung ……. 86
2.11.1.6.2. Taxonomie …… 86
2.11.1.6.3. Inhaltsstoffe …….. 87
2.11.2. Gewinnung von Tannenzapfenöl ……... 87
2.11.3. Antibakterielle Aktivität …… 87
2.11.4. Antifungale Aktivität ……. 89
2.11.5. Andere Eigenschaften …… 89
2.11.6. Nebenwirkungen …… 90

3. Praktischer Teil ……....91
3.1. Materialien ……... 91
3.1.1. Reuter Centrifugal Sampler ……. 91
3.1.2. Brutschrank …….. 92
3.1.3. Biotest Nährmedien ……..92
3.1.4. Sprühflaschen ……...94
3.2. Versuchsräume ……94
3.3. Versuchsanordnung ……95
3.4. Berechnung der Luftkeimzahl ……96
3.5. Testsubstanzen …… 96
3.6. Verwendete Konzentrationen ……..97
3.7. Statistische Größen …… 97

4. Ergebnisse …… 99
4.1. Neroliol und von Nerolidol abgeleitete Substanzen ……... 99
4.1.1. Cis-Nerolidol ……99
4.1.2. Nerolidol synth. ……100
4.1.3. Cabreuvaöl ……... 101
4.1.4. O-Methyl-Nerolidol …… 102
4.1.5. O-Ethyl-Nerolidol …… 103
4.1.6. (-)-alpha Bisabolol …….. 104
4.1.7. Trans, trans-Farnesol ……105
4.1.8. Gegenüberstellung Ergebnisse der „Nerolidolgruppe“ …… 106
4.2. Limonen und limonenhaltige Substanzen ……...109
4.2.1. (-)-Limonen ……..... 109
4.2.2. (+)-Limonen …… 110
4.2.3. Orangenöl ……111
4.2.4. Tannenzapfenöl ……112
4.2.5. Gegenüberstellung Ergebnisse der „Limonengruppe“ …… 113
4.3. Vergleichssubstanz Aqua dest. ……... 116
4.3.1. Aqua dest. ……116
4.4. Leerwerte ohne Substanz …… 117
4.4.1. Leerwerte ……. 117
4.5. Geruchstabelle der verwendeten Substanzen ……..118

5. Diskussion …….…….....119
5.1. Diskussion der „Nerolidolgruppe“ ……..... 119
5.2. Diskussion der „Limonengruppe“ …….. 120
5.3. Fazit ……..... 121

6. Verzeichnisse ……122
6.1. Verzeichnis der Abbildungen und Tabellen ……..... 122
6.2. Literaturverzeichnis ……..... 125
6.3. Verzeichnis der Internetquellen ……132

7. Lebenslauf ……..... 135

1. Einleitung

Die hier vorliegende Diplomarbeit befasst sich im Praktischen Teil mit der antimikrobiellen Wirkung von ätherischen Ölen auf luftgetragene Keime. Das Ziel der durchgeführten Versuche war es, die Reduktion von Luftkeimen durch Cabreuvaöl und seine Einzelkomponeten wie auch von Limonen und limonenhaltigen ätherischen Ölen zu bestimmen. In dieser Arbeit wurden folgende Substanzen und ätherischen Öle auf ihre Wirksamkeit zur Reduktion von Lufkeimen hin untersucht: cis-Nerolidol; Nerolidol synth. (E/Z 40:60); Cabreuvaöl (Paraguay); o-Methyl-Nerolidol (E/Z 40:60); o-Ethyl-Nerolidol (E/Z 40:60); (-)-α-Bisabolol; trans, trans-Farnesol; Tannenzapfenöl; Orangenöl; (+)-Limonen und (-)-Limonen. Die Erforschung dieses Themas und der Nachweis der antimikrobiellen Wirksamkeit dieser Substanzen ist deshalb von Bedeutung, weil diese Substanzen eine wichtige Rolle als natürliche Desinfektionsmittel, Antibiotika und Antiseptika einnehmen können. Die Anwendung ätherischer Öle als Antibiotika in der Humanmedizin, als Pflanzenschutzmittel, zum Schutz von Nahrung vor Verderb und gegen einzelne Bakterien und Pilze wurde schon von vielen Arbeitsgruppen mit positivem Ergebnis untersucht. Arbeiten bei denen die antimikrobielle Wirkung der oben genannten Substanzen und ätherischen Öle auf luftgetragene Keime untersucht wurde, sind bisher nicht bekannt. Deshalb wird die Reduktion der Luftkeimzahl durch oben genannte Substanzen und ätherische Öle in dieser Arbeit untersucht. Der Nachweis einer Reduktion der Luftkeimzahl würde einen möglichen Einsatz dieser ätherischen Öle und ihrer Einzelkomponeten zur Keimreduktion der Raumluft bestätigen. Somit könnte man zur Reduktion von Luftkeimen eine Alternative zu chemischen Desinfektionsmitteln (wie z.B. Phenolen) erhalten.

2. Allgemeiner Teil

2.1. Ätherische Öle – allgemeine Informationen

2.1.1. Definition

In der Literatur werden Ätherische Öle als flüssige, leicht flüchtige sehr heterogene komplexe Stoffgemische aus lipophilen Pflanzeninhaltsstoffen beschrieben. Diese weisen einen charakteristischen Geruch auf und verfügen über aromatische, bittere oder scharfe Geschmacksnoten. Die chemische Zusammensetzung des ätherischen Ölgemischs ist von Pflanze zu Pflanze sehr unterschiedlich. Der Hauptanteil (in etwa 90%) setzt sich aus der Gruppe der Terpene zusammen, vor allem aus den Mono- und Sesquiterpenen. Andere vorkommende Verbindungen sind Phenylpropanderivate und Heteroverbindungen wie Lauchöle und Senföle. Diese genannten Heteroverbindungen liegen in Ihrer glykosidischen, wasserlöslichen Form in der Pflanze vor und werden erst über die Einwirkung von Enzymen freigesetzt. Da echte, qualitativ hochwertige ätherische Öle sehr teuer sind, sind Verfälschungen mit Substanzen die ähnliche physikalische und chemische Eigenschaften haben nicht selten. Deshalb sind im EuAB auch Prüfungsmethoden zur Qualitäts- und Reinheitskontrolle von ätherischen Ölen angegeben. Dazu zählen die Kennzahlen Dichte, optische Drehung, Brechungsindex und Siedepunkt, ebenfalls spielt die Dünnschichtchromatographie eine wichtige Rolle bei der Überprüfung. Weitere wichtige Merkmale eines ätherischen Öls sind Farbe, Geruch, Geschmack, Löslichkeit und Mischbarkeit (Hunnius, 1997, S.992-994). Wobei einer Überprüfung der Zusammensetzung von ätherischen Ölen mittels GC-MS-Analyse (Gaschromatographie-Massenspektrometrie), zwecks deren Identitätsüberprüfung, sicherlich der Vorzug zu geben ist.

2.1.2. Vorkommen

Von den bisher untersuchten Pflanzenarten enthalten etwa 30% ein Gemisch ätherischer Öle. Ätherische Öle werden entweder in den Plastiden der Pflanzen oder im glatten

Endoplasmatischen Retikulum produziert und danach an die jeweiligen Speicherorte der Pflanze transportiert. Sie können in den extracytoplasmatischen Raum transportiert werden und so zur Bildung von Drüsenhaaren oder Drüsenschuppen führen oder in interzellulären Räumen wie schizogenen Ölbehältern abgelagert werden. Eine weitere Möglichkeit sind lysierte Zellen, die so genannten lysigenen Ölbehälter, wie Sie bei den Citrusfrüchten vorkommen. Die Zusammensetzung des ätherischen Öles ist in den Pflanzenfamilien genetisch festgelegt, dabei können bestimmte Hauptkomponenten typisch für eine Pflanzenfamilie sein. Dieser Sachverhalt wird deshalb häufig zur chemischen Klassifizierung von Pflanzen genutzt. Oft ist das Spektrum des ätherischen Öles organspezifisch ausgeprägt. Als Beispiel sei das ätherische Öl der Rinde des Ceylonzimtbaumes genannt: *Cinnamomum verum* enthält als Hauptkomponente Zimtaldehyd, die Blätter hingegen enthalten hauptsächlich Eugenol und Safrol, während in der Wurzelrinde die dominanten Komponenten Kampfer und Linalool sind. Ein ebenfalls wichtiger Aspekt für die Zusammensetzung eines ätherischen Öls ist der Entwicklungszustand der Pflanzen. Hier sei das Beispiel Kümmel genannt. In den Blüten des Kümmels (*Carum carvi)* findet man fast 80% Limonen und nur etwa 2% Carvon. Der Gehalt an Carvon in den reifen Früchten macht über 80% aus und ist aromaprägend (www.uni-duesseldorf.de, 26.04.2012).

Abb. 1. Wichtige ätherische Öle, Grafik: (www.uni-duesseldorf.de, 26.04.2012)

Einige kommerziell genutzte Pflanzen, ihre etherischen Öle und deren Hauptbestandteile

Familie	Pflanze	Produkt (Beispiel)	Hauptbestandteil	Stoffklasse
Apiaceae	*Carum carvi* *Pimpinella anisum* *Foeniculum vulgare*	Kümmelöl Anisöl Fenchelöl	D-(+)-Carvon trans-Anethol trans-Anethol	Monoterpen Phenylpropanderivat Phenylpropanderivat
Asteraceae	*Chamomilla recutita*	Kamillenöl	a-Bisabolol	Sesquiterpen
Cupressaceae	*Juniperus communis*	Wacholderöl	a-u.b-Pinen	Monoterpene
Lamiaceae	*Rosmarinus officinalis* *Lavandula angustifolia* *Mentha x piperita*	Rosmarinöl Lavendelöl Minzöl	1,8-Cineol Linalool Menthol	Monoterpen Monoterpen Monoterpen
Lauraceae	*Cinnamomum verum*	Zimtöl	Zimtaldehyd	Phenylpropanderivat
Myrtaceae	*Szygium aromaticum* *Eucalyptus* spec.	Nelkenöl Eucalyptusöl	Eugenol 1,8-Cineol	Phenylpropanderivat Monoterpen
Pinaceae	*Pinus spec.* *Picea abies* *Pinus sylvestris*	Terpentinöl Fichtennadelöl Kiefernnadelöl	a-u.b-Pinen a-Pinen D^3-Caren	Monoterpene Monoterpen Monoterpen
Rutaceae	*Citrus limon*	Citronenöl	(+)-Limonen	Monoterpen
Rosaceae	*Rosa damascena* *Rosa x centifolia*	Rosenöl	Geraniol	Monoterpen
Zingiberaceae	*Zingiber officinale* *Curcuma domestica*	Ingwertinktur Curcumaextrakt	(-)-Zingiberen Turmeron	Sesquiterpen Sesquiterpen

Die ätherischen Öle werden von den Pflanzen meist in den Blättern, Blüten, Früchten, Wurzeln, Rhizomen und Hölzern gebildet, die Bildung in Rinden und Stängeln ist eher selten. Bei vielen ätherischen Öldrogen liegt der Gehalt bei 1-2%, es sind aber auch Werte über 20% möglich, wie es bei den Gewürznelken der Fall ist. Besonders reich an ätherischen Ölen sind folgende Pflanzenfamilien: Pinaceae, Lauraceae, Rutaceae, Lamiaceae, Apiaceae, Myrtaceae, Zingiberaceae, Piperaceae und Brassicaceae. Ein Mindestgehalt wird von den Arzneibüchern in der Regel vorgeschrieben (Hunnius, 1997, S.992-994).

2.1.3. Gewinnungsmethoden

Laut ISO 9235 (1997) ist eine Herstellung von ätherischen Ölen nur durch Wasserdampfdestillation und, bei Agrumenölen, durch Auspressung der Schalen zulässig. Bei Anwendung anderer Herstellungstechniken (z.B. Lösungsmittelextraktion) darf das Produkt nicht als „ätherisches Öl“ bezeichnet werden (www-iso.org, 10.05.2012).

2.1.3.1. Wasserdampfdestillation

Das Prinzip der Wasserdampfdestillation ist heutzutage die gebräuchlichste Methode für die Gewinnung ätherischer Öle (www.fnr-server.de; S.343).
Bei der Wasserdampfdestillation werden die Pflanzenteile aus denen das ätherische Öl gewonnen werden soll mit Wasserdampf durchströmt und der Dampf entzieht so das Öl, dieses sammelt sich dann im Wasser und setzt sich aufgrund einer anderen Dichte ab. Der Nachteil dieser Methode ist, dass die hitzelabilen Inhaltsstoffe bei den hohen Temperaturen hydrolysiert oder zerstört werden können und somit weniger lipophile Stoffe im Wasser zurückbleiben. Ebenfalls kann diese Methode zur Beeinträchtigung von Geruch und Geschmack führen (Hunnius, 1997, S.992-994).

2.1.3.2. Pressung

Bei der Gewinnung von ätherischen Ölen aus Agrumenfrüchten (Zitrusfrüchten) kommen mechanische Auspressverfahren zum Einsatz. Dabei werden die Ölbehälter der Schalen aufgebrochen das Öl ausgepresst und gesammelt (Hunnius, 1997, S.992-994).

2.1.3.3. Enfleurage-Verfahren

Das Enfleurage-Verfahren wird angewendet bei Pflanzen mit geringem und besonders wertvollem Ölanteil, die in der Feinparfumerie verwendet werden, dies ist z.B. bei Rosenöl der Fall. Man unterscheidet dabei zwischen Enfleurage à froid, der Extraktion mit kalten Fett und Enfleurage à chaud, der Extraktion mit heißem Fett bei 50-80°C. Das ätherische Öl wird danach durch Alkoholextraktion aus dem Fett abgetrennt (Hunnius, 1997, S.992-994).

2.1.3.4. Lösungsmittelextraktion

Die Lösungsmittelextraktion erfolgt meist mit Petrolether oder Benzol. Die so gewonnen ätherischen Öle bilden wegen ihrer wachs- bzw. harzartigen Begleitstoffe oft eine salbenartige Masse nach dem abdestillieren des Lösungsmittels. Nach einer Reinigung mit Ethanol kann man die absoluten Öle erhalten (Hunnius, 1997, S.992-994).

2.1.4. Marktdaten für ätherische Öle

Weltweit werden ätherische Öle aus rund 120 verschiedenen Pflanzenarten gehandelt. Der finanzielle Wert des globalen Gesamtmarktes wird auf über 600 Millionen € geschätzt, die Nachfrage für ätherische Öle liegt bei 50.000 bis 60.000 Tonnen pro Jahr und kann als stabil bezeichnet werden, rund ein Drittel davon sind Zitrusöle. China produziert mehr als 50% der Gesamtmenge auf dem Markt und ist somit weltgrößter Anbieter auf diesem Markt. Die Herstellung vieler ätherischer Öle ist in Mitteleuropa aufgrund klimatischer Nachteile und der hohen Energiekosten wirtschaftlich nicht sinnvoll. Dabei liegen die Energiekosten der Destillation bei mehr als 50% des

erzielbaren Verkaufspreises. Eine Möglichkeit diese Standortnachteile auszugleichen sind z.B. die Züchtung von verändertem Pflanzenmaterial und moderne Verarbeitungsverfahren. In Deutschland ist zurzeit lediglich die Produktion von ätherischen Ölen aus Kamille und Zitronenmelisse wirtschaftlich sinnvoll durchführbar (www.fnr-server.de, S.343, 07.04.2012).

2.1.5. Eigenschaften

Ätherische Öle sind mit Ausnahme von Anisöl und Rosenöl, die bei Raumtemperatur teilweise erstarren, meistens flüssig oder seltener von salbenartiger Konsistenz. Anders als fette Öle, verdunsten ätherische Öle ohne einen erkennbaren Rückstand auf Papier vollständig. Die Dichte von ätherischen Ölen liegt fast immer unter 1g/ml. Es gibt aber natürlich auch Ausnahmen wie Nelkenöl, Zimtöl und Senföl. Weitere Eigenschaften von ätherischen Ölen sind ein hohes Lichtbrechungsvermögen und eine hohe optische Aktivität. Sie besitzen eine gute Löslichkeit in Lösungsmitteln mit hoher Lipophilie wie Petrolether, Benzol, Chloroform Ether und fetten Ölen, die Löslichkeit in Wasser ist nur gering. Bei längerer Lagerung kommt es durch Licht- und Sauerstoffeinfluss zu Oxidationsreaktionen und Verharzungen, dieses führt zu Farb-, Konsistenz- und Geruchsveränderungen. Aus diesen Gründen wird eine Aufbewahrung in kleinen, möglichst voll gefüllten, brauen und gut verschließbaren Flaschen ohne Lichtexposition empfohlen (Hunnius, 1997, S.992-994).

Die hohe Lipophilie und geringe Größe ermöglicht es den kleinen Molekülen der Aromastoffe die Haut sehr leicht zu durchdringen. Im Blut sind sie nach topischer Applikation schon nach wenigen Minuten nachweisbar. Beim einatmen gelangen die Öle durch Resorption an der Nasenschleimhaut ebenfalls schnell in die Blutbahn. Die Aromastoffe zeigen eine hohe Affinität zum Zentralnervensystem und ebenfalls eine hohe Kumulationsrate. Wenn ätherische Öle angewendet werden, müssen auch alle pharmakologischen und toxikologischen Daten sorgfältig berücksichtigt werden. Es gilt zu beachten, dass die Zusammensetzung eines ätherischen Öls von diversen Faktoren wie der geographischen Lage der Pflanze, von saisonalen Bedingungen, Erntezeit und Klima, von Herstellungstechniken und von seiner Reinheit abhängig ist (Buchbauer, 2004).

2.1.6. Anwendung

2.1.6.1. Allgemeines

Aromastoffe können über die Nase, die Lunge oder über die Haut resorbiert werden und beeinflussen zerebrale Potenziale innerhalb von Sekunden. Reaktionen sind ebenfalls für viele andere Körperparameter nachweisbar. Am Institut für Pharmazeutische Chemie der Universität Wien wurden von Prof. Dr. Gerhard Buchbauer und Kollegen von der Universität Innsbruck verschiedene Experimente mit Tieren durchgeführt. Es konnte dabei nachweisen werden, dass Aromastoffe das Verhalten von Lebewesen, zum Beispiel deren Motorik, Mobilität und Sozialverhalten, direkt beeinflussen können. Dabei wurden auch verschiedene Inhaltsstoffe der ätherischen Öle in Blutproben nachgewiesen. Analysen der Gehirnrinden von Mäusen, die vorher verschiedene Aromastoffe eingeatmet hatten, bewiesen, dass diese Stoffe mittels humoralem Transport tatsächlich die Blut-Hirn-Schranke passierten können. Dies bestätigt, dass Aromastoffe in medizinischen wie auch kosmetischen Behandlungen eingesetzt werden können. Ein weiterer positiver Aspekt ist die Stimulierung des Geruchssinnes und die damit verbundene Auslösung eines Gefühlseindrucks (Buchbauer, 2004).

Die kommerzielle Nutzung ätherischer Öle findet hauptsächlich in den Bereichen biogene Arzneimittel, Parfumherstellung und Kosmetik statt. Zusätzlich werden viele Pflanzen, in denen ätherische Öle vorkommen, im getrockneten oder frischen Zustand als Gewürzpflanzen verwendet. Die physiologische Aufgabe von ätherischen Ölen ist oft die Abwehr von Fraßfeinden, die Anlockung von bestäubenden Insekten und die Wachstumshemmung anderer Pflanzen in der unmittelbaren Umgebung (Allelopathie) (www.uni-duesseldorf.de, 26.04.2012).

Innerlich angewendet wirken ätherische Öle zum Teil appetitanregend und verdauungsfördernd, karminativ und spasmolytisch, expectorierend, diuretisch und antiseptisch. Die Anwendung sollte in geringer Dosis erfolgen um Vergiftungen und deren Folgen, wie Lähmungen, Krämpfe und andere Nebenwirkungen zu vermeiden. Äußerlich dienen sie häufig der Hautreizung. Das wichtigste Anwendungsgebiet ist und bleibt aber die Parfümindustrie (Hunnius, 1997, S.992-994).

Ätherische Öle können die Konzentration von Immunglobulinen im Plasma erhöhen und steigern somit die Abwehrkraft, andererseits werden auch durch das „Wohlfühlen“ des Patienten dessen Selbstheilungskräfte verbessert. Aromatherapeutika stellen deshalb

eine gute Ergänzung zum bestehenden Arzneimittelbestand dar, besonders wichtig ist dabei, dass sie in der richtigen Weise gewonnen, richtig gelagert und richtig angewandt werden (Buchbauer, 2004).

2.1.6.2. Antibakterielle Anwendung

Für ätherische Öle kann meist eine unterschiedlich stark ausgeprägte antibakterielle Wirkung nachgewiesen werden, diese ist aber bei allen ätherischen Ölen vorhanden. Für einige gilt sogar, dass sie zuverlässiger wirken als synthetische Desinfektionsmittel (Phenole), dabei sind sie bei sachgemäßer Anwendung auch noch schonender für den menschlichen Organismus. Ein wichtiges Problem in der heutigen Zeit ist die zunehmende Resistenzbildung der Bakterien gegen Antibiotika. Ein wichtiger und bedeutender Vorteil der antibakteriellen Wirkung von ätherischen Ölen ist, dass bisher Resistenzen nicht bekannt sind. Dieses liegt daran, dass ätherische Öle aus vielen Einzelsubstanzen bestehen und ihre Zusammensetzung permanent variiert (Zimmermann, 2006, S.75-76).

Gründe, warum ätherische Öle antibakteriell wirken (Wirkmechanismen) werden nachfolgend genannt. Hochwertige Ätherische Öle haben einen pH-Wert von 5 bis 5.8 und sind somit leicht sauer. Da die meisten Bakterien ein alkalisches Milieu zum wachsen benötigen, ist der Säurecharakter der ätherischen Öle schlecht für das bakterielle Wachstum. Die Effekte der ätherischen Öle am lebenden Menschen "in vivo" sind meist anders, aber vor allem wirkunsvoller als bei Laborversuchen "in vitro". Ein Unterschied besteht auch zwischen der Anwendung von isolierten Bestandteilen aus ätherischen Ölen oder synthetischen Ölen und dem kompletten natürlichen Öl, in dem ein bestimmter Bestandteil vorrangig enthalten ist. Zahlreiche wissenschaftliche Studien zur Wirksamkeit ätherischer Öle gegen den stark antibiotikaresistenten Krankenhauskeim *Staphylococcus aureus* (MRSA) zeigen, dass es beim Bakterium unter Anwendung von Teebaumöl zum Kaliumverlust kommt. Zudem verändern sich die Morphologie und der Aufbau der bakteriellen Zellmembran, stark. Diese drei genannten Faktoren (PH-Wert, Kaliumverlust und Zellmembranveränderungen) führen zur antibakteriellen Wirkung von ätherischen Ölen (www.aromapraxis.de, 11.05.2012).

2.1.6.3. Antimykotische Anwendung

Der einfach aufgebaute Organismus von Pilzen zählt weder zu den Pflanzen noch zu den Tieren, er kann aber vielfältige schädliche Auswirkungen auf den menschlichen Organismus haben. Bedeutende humanpathogene Pilzstämme sind Aspergillus, Cryptokokkus und Candida albicans. Es wurde bisher für viele Duftstoffe eine antimykotische Aktivität nachgewiesen. Die bedeutendsten sind Citral, Phenole, 1,8-Cineol und Carvacrol. Viele Eukalyptus-Arten, Cinnamomum camphora, Melissa officinalis, Mentha arvensis, Pimpinella anisum und noch einige weitere enthalten ätherische Öle, die antimykotisch wirken (Zimmermann, 2006, S.79).

2.1.6.4. Antivirale Anwendung

In vielen wissenschaftlichen Untersuchungen wurde mittlerweile die antivirale Wirksamkeit von ätherischen Ölen und ihrer Inhaltsstoffe nachgewiesen. Es scheint, dass sie das Andocken der Viren an die Zellmembran verhindern. Die Anwendung beschränkt sich aber in der Regel gegen Herpes labialis und Herpes zoster Viren. Die Auszüge von Melisse, Tea Tree, Kampfer, Lavendel und Pfefferminze führen zu einer deutlichen Reduktion der Bläschenbildung. Weitere Pflanzen die antiviral wirksame ätherische Öle enthalten sind z.B. Cistus ladaniferus, Eukalyptus globolus, Lavendula latifolia, Origanum compactum und noch einige andere (Zimmermann, 2006, S.80).

2.1.7. Mögliche Nebenwirkungen

Die Anwendung von ätherischen Ölen sollte in geringer Dosis erfolgen um Vergiftungen und deren Folgen, wie Lähmungen, Krämpfe und andere Nebenwirkungen zu vermeiden. Ebenfalls ist zu beachten, dass hohe Dosen von Emmenagoga (Arzneistoffe die die Monatsblutung anregen) z.B. Crocus, Oleum Juniperi, Oleum Rosmarini und weitere abortiv wirken können (Hunnius, 1997, S.992-994).
Ätherische Öle können unverdünnt zu lokalen Reizungen von Haut und Schleimhaut führen, besondere Vorsicht ist bei Kleinkindern und Säuglingen gegeben. Allergische Reaktionen sind ebenfalls eine häufige Nebenwirkung. Allergiker sollten davon ausgehen, wenn sie auf eine bestimmte Pflanze allergisch reagieren, dass sie dann auch

sehr wahrscheinlich auf das ätherische Öl ebenfalls allergisch reagieren (Zimmermann, 2006, S.142).

Bei Epilepsie ist besondere Vorsicht geboten, für manche ätherischen Öle ist bekannt, dass sie epileptische Anfälle auslösen können, dazu zählen: Anis, Fenchel, Kampfer, Muskat, Petersilie, Poleiminze, Rosmarin, Salbei, Wermut und Ysop (Zimmermann, 2006, S.145-151).

Es gilt jedoch auch zu beachten, dass viele den ätherischen Ölen zugeschriebenen negativen Wirkungen bei genauer Betrachtung darauf zurückzuführen sind, dass keine echten ätherischen Öle verwendet wurden, sondern Essenzen oder Extrakte. Ein ebenfalls bedeutender Faktor ist das Vermeiden von Lösungsmittel- und Pestizid-Rückständen bei der Herstellung (Buchbauer, 2004).

2.2. Möglichkeiten der Raumbeduftung

2.2.1. Raumbeduftung

2.2.1.1. Positive und negative Aspekte

Über die positiven Aspekte von ätherischen Ölen (außer dem Duft) und deren Anwendung wurde schon im Kapitel 2.1. (Ätherische Öle) ausführlich geschrieben.

Es gilt jedoch auch negative Aspekte von Raumbeduftung zu bedenken. Der Deutsche Allergie und Asthma Bund e.V. warnt vor Kontaktallergien, die sich in Form von allergischen Kontaktekzemen äußern. In Deutschland sind davon ca.15-20% der Bevölkerung betroffen, die Duftstoffe sind somit nach Nickel der zweithäufigste Auslöser von Kontaktallergien. Es gibt in der EU insgesamt 26 kennzeichnungspflichtige, Allergie auslösende Duftstoffe. Für diese gibt es seit Frühjahr 2007 auch allergologische Einzeltests. Für diese Stoffe besteht in Kosmetikprodukten eine Deklarationspflicht, für Produkte zur Raumbeduftung gibt es zurzeit noch keine Regelung (www.daab.de, 26.04.2012).
Als stärkste Allergene gelten: Evernia Prunastri Extract (Eichenmoos), Isoeugenol, Cinnamal (Zimtaldehyd), Hydroxycitronellal, Eugenol und Perubalsam. Diese sind Bestandteil der so genannten 26 Subtanzen umfassenden INCI-Liste (International Nomenclature of Cosmetic Ingredients) (www.aktionsplan-allergien.de, 26.04.2012).
Da es bei der Raumbeduftung keinen direkten Kontakt mit den Riechstoffen/ätherischen Ölen gibt, sind hier die Inhalationsallergien von größerer Bedeutung. Allergien sind Überempfindlichkeitsreaktionen des Körpers gegen körperfremde Substanzen. Die häufigste Form der allergischen Reaktion ist die so genannte Typ-1-Reaktion vom Soforttyp. Der Kontakt von Allergenen aus der Luft mit spezifischen IgE-Antikörpern (auf den Mastzellen der Schleimhäute), führt zur Freisetzung von u.a. Histamin. Dieses führt zu Blutgefäßerweiterung, Schleimhautschwellung und Sekretbildung. Des weiterem, kann es zur Verkrampfung der glatten Muskulatur der Bronchien und des Darmes kommen. Vorwiegend treten diese Reaktionen im Bereich der Nasen-, Augenbinde- und Bronchialschleimhaut auf und führen so zu Inhalationsallergien die sich in Form von allergischem Schnupfen, allergischer Bindehautentzündung und

allergischem Asthma äußern. Inhalationsallergien kommen in der Bevölkerung mit einer Häufigkeit von ca.5-10% vor. Besonders Personen mit Neurodermitis neigen zu Inhalationsallergien. 60% dieser Personen sind davon betroffen. Inhalationsallergien treten im Normalfall meist vor dem 20.Lebensjahr auf, jedoch sind auch spätere Ersterkrankungen im Alter möglich. Sehr viele Substanzen kommen über den Luftweg in Kontakt mit den Schleimhäuten. Diese Substanzen können bei Allergikern eine Inhalationsallergie auslösen. Zu den häufigsten natürlichen Aeroallergenen zählen Tierepithelien, Hausstaubmilben, Federn, Pollen, Schimmelpilzsporen, Getreidestäube, Latex, ätherische Öle und Duftstoffe. Bei häufiger Exposition mit Inhalationsallergenen kann das Bronchialsystem mit einer generellen Überempfindlichkeit reagieren, bei der es dann auch ohne Vorhandensein des Allergens zu Asthmaanfällen kommen kann. Diese Asthmaanfälle werden dann schon durch unspezifische Reize wie Tabakrauch, Küchendünste, Reizgase, Duftstoffe oder Kaltluft ausgelöst. Inhalationsallergien können mit einem Provokationstests, bei dem eine verdünnte Menge der Allergenlösung direkt auf die Nasenschleimhaut, Bindehaut oder Bronchialschleimhaut aufgebracht wird, nachgewiesen werden (Tilgen et al., 2005, S.29-34).

2.2.1.2. Handel

Ätherische Öle unterliegen nicht dem Arzneimittelgesetz und können nahezu überall erworben werden. Ätherische Öle können im Supermarkt, der Drogerie, im Internet und natürlich auch in der Apotheke erworben werden.

Es gibt in Österreich auch den Beruf des/der ärztlich geprüften Aromapraktikers/ Aromapraktikerin. Diese Personen beschäftigen sich mit Aroma-Beratung und Air Design (www.aetherische-oele.at, 25.04.2012).

2.2.2. Geräte für den Privatgebrauch

Eine der bekanntesten und gebräuchlichsten Methoden zur Raumbeduftung ist der klassische Verdampfer. Dabei werden ätherische Öle/Duftstoffe durch Wärme verdampft, man macht sich hierbei die Flüchtigkeit dieser Verbindungen zunutze. Dies ist zum Beispiel bei Duftkerzen und Verdampferschalen der Fall. Diese Flüchtigkeit ist

jedoch auch schon bei Raumtemperatur gegeben, weshalb auch mit Duftstoffen versetzte Produkte wie Duftgele, Duftsteine und Raumsprays flüchtige Verbindungen in die Raumluft abgeben. Eine weitere Methode ist die Verdampfung ätherischer Öle/Duftstoffe durch Elektrizität, die so genannten Elektroverdunster. Bei den Elektroverdunsten wird ein elektrischer Heizkörper aktiviert, dieser führt so über Wärmeerzeugung zu einer Freisetzung von Duftstoffen.

Ein wichtiger Großhersteller für Produkte zur Raumbeduftung die Fa. Reckitt Benckiser (in Slough – UK) mit der Marke Airwick. Die Firma stellt verschiedene Produkte her, darunter Elektrische Duftstecker (diese verdampfen Duftstoffe mit Hilfe von Elektrizität), mit Duftstoffen versetzte Kerzen und Gele und Raumsprays (www.airwick.de, 25.04.2012).
Ein weiterer Großhersteller ist Scjohnson mit der Marke Brise (in D-40673 Erkrath). Dieser Hersteller produziert ebenfalls Duftkerzen, Dufthänger, Duftsprays und elektrische Duftstecker (www.scjohnson.de, 25.04.2012).
Ein ziemlich bekannter Vertreter der Raumbeduftung ist der „Wunder-Baum“ der Firma Julius Sämann Ltd. (Vertrieb über D-76209 Karlsruhe). Er ist für den Privatgebrauch und kleine Räume geeignet, es gibt ihn in vielen verschiedenen Duftnoten und dies zu einem günstigen Preis. Der Lufterfrischer wird verschweißt in einer Kunststofffolie geliefert. Er besteht aus einem filzähnlichen Karton, der mit Duft- und Hilfsstoffen getränkt ist. Zum aktivieren und verteilen der Duftstoffe wird ein kleiner Teil der Folie entfernt. Die Duftabgabe ist abhängig von der freigelegten Oberfläche (www.wunder-baum.de, 25.04.2012).

2.2.3. Professionelle Geräte zur Raumbeduftung

2.2.3.1. Air Creative

„Air Creative“ (in A-9020 Klagenfurt) ist ein Hersteller für Raumbedufter zum Einsatz in Verkaufsräumen, Wartezimmern, Seminarräumen, Büros und Krankenhäusern. Die Air Creative AG ist spezialisiert auf die Herstellung von zwei- und dreistufigen (teils patentierten) Systemen für Luftveredelung und Duftmarketing. Diese Geräte eliminieren in einer ersten Stufe unangenehme Gerüche. Dies erfolgt mit Airomex® (aus

Pflanzenextrakten gewonnene Clustermoleküle aus "Glycin"). In einer weiteren Stufe besteht die Möglichkeit den Raum individuell und kundenspezifisch mit Botenstoffen zu beduften, dabei werden natürliche Duftöle verwendet. Bei den dreistufigen Geräten dieser Firma ist zusätzlich ein spezieller Filter einsetzbar, welcher Tabakrauch, Pollen und Staub auffängt (www.aircreative.com, 25.04.2012).

2.2.3.2. Well-Arom

„Well-Arom“ (in D-28325 Bremen) ist ebenfalls ein Hersteller für Raumbedufter die in großen Räumen eingesetzt werden können. Dieser Hersteller hat ein System im Programm, welches an Klimaanlagen angeschlossen werden kann (mit dem Namen „Well-Inject“). Dabei werden ätherische Öle in die Zuluft der Klimaanlage injiziert (über einen Zerstäuber). Eine Füllung von 2L reicht dabei für mehrere Monate (www.well-arom.de, 25.04.2012).

2.2.3.3. Air Butler

Die Firma „Air Butler“ (in A-4820 Bad Ischl) stellt diverse Geräte zur Luftreinigung und Raumbeduftung in mittlerer Größe her. Im Programm ist u.a. der „puzhen BAMBOO“, ein Ultraschallzerstäuber zur Verteilung von ätherischen Ölen in Räumen mittlerer Größe wie Wartezimmer, kleine Verkaufsräume und Wohnräume (www.airbutler.com, 26.04.2012).

2.3. Nerolidol

2.3.1. Allgemeines

2.3.1.1. Beschreibung

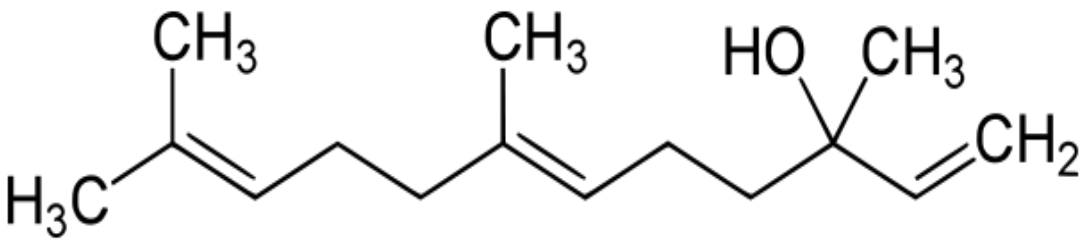
Nerolidol (3,7,11-trimethyl-1,6,10-dodecatrien-3ol), ein Sesquiterpenanalogon von Linalool, kommt aufgrund seines asymetrischen Zentrums am C-3 und seiner Doppelbindung in der 6-Position in vier Stereoisomeren Formen vor. Aufgrund seines lang anhaltenden und moderat blumigen Duftes wird es auch gerne als Basisnote in Parfüms verwendet. Außerdem dient es auch als Ausgangssubstanz zur Squalen- und Farnesol- Synthese. Es scheint auch, dass Nerolidol ein wichtiges Zwischenprodukt in der Synthese von Vitamin E und K_1 ist (Schubert et al., 1992).

Pheromone sind Substanzen, die bei Tieren der Beeinflussung von Artgenossen dienen, sie werden auch Soziohormone genannt (Hunnius, 1997, S.1066).

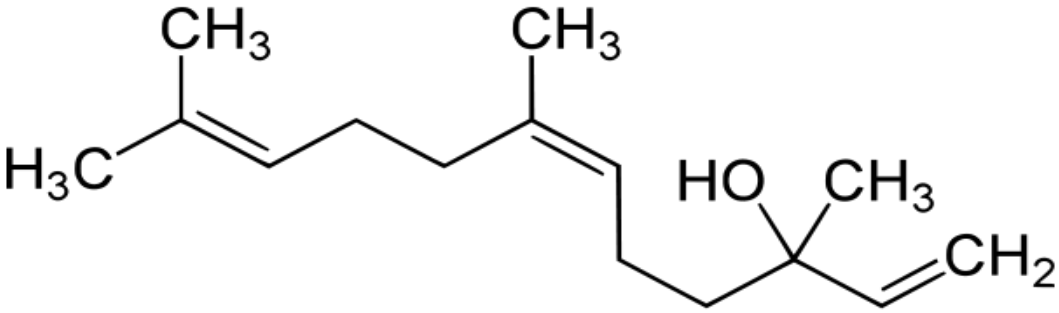
Nerolidol wird vielen Produkten als Duftstoff zugesetzt. Es wird in Parfüms, dekorativen Kosmetika, Shampoos, Seifen, Haushaltsreinigern und nicht kosmetischen Produkten wie Waschmitteln verwendet. Der jährliche Verbrauch liegt im Bereich von 10-100 Tonnen (Lapczynski et al., 2008).

In einem Review von McGinty et al. (2010), wird eine maximale Exposition mit Nerolidol bei „high end“ Verbrauchern von 0.0293mg/kg pro Tag errechnet (McGinty et al.; 2010).

2.3.1.2. Strukturformel trans-Nerolidol



2.3.1.3. Strukturformel cis-Nerolidol



2.3.1.4. Eigenschaften (www.carl-roth.de, 24.03.2012)

IUPAC Name:	3,7,11-trimethyl-1,6,10-dodecatrien-3ol (cis und trans)
CAS-Nummern:	3790-78-1 (*cis*-Form)
	40716-66-3 (*trans*-Form)
	7212-44-4 (Racemat)
Summenformel:	$C_{15}H_{26}O$
Molekulargewicht:	222.37
Farbe:	farblose bis hellgelbe Flüssigkeit
Dichte bei 20°C:	0.876 g/cm³

2.3.1.5. Geruch (Schubert et al., 1992)

S-(+)-(Z)-Nerolidol:	holzig, grün, wie frische Rinde
S-(+)-(E)-Nerolidol:	süßlich, blumig, mild
R-(-)-(Z)-Nerolidol:	intensiv, süß, blumig, frisch
R-(-)-(E)-Nerolidol:	holzig, warm, moderig

2.3.2. Gewinnung, Synthese und Metabolisierung von Nerolidol

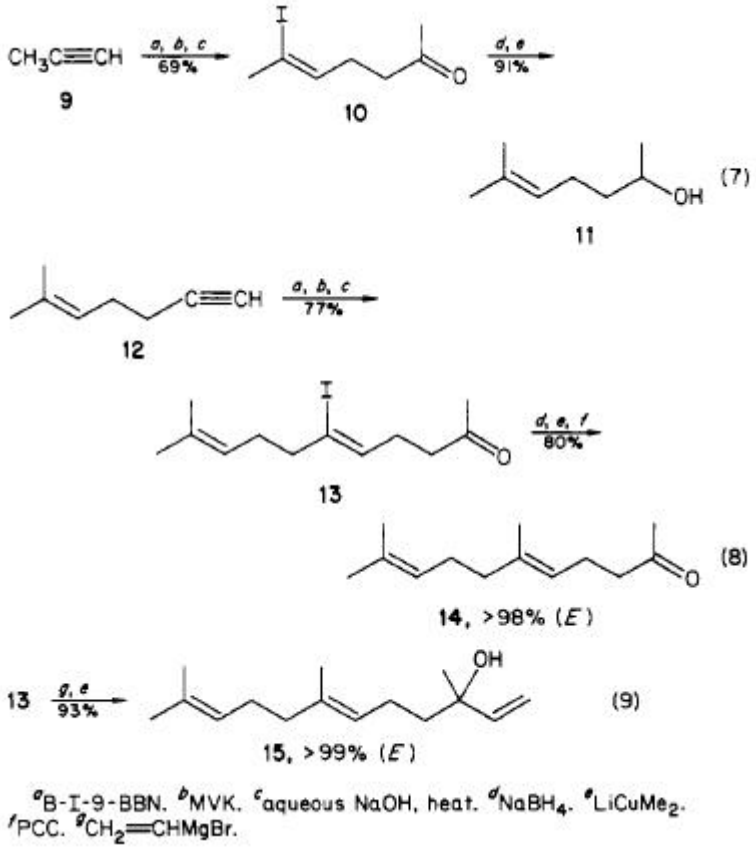
2.3.2.1. Gewinnung

Bevor die ersten Synthesen von Nerolidol in den 60er Jahren gelangen, war man von natürlichen Nerolidolquellen abhängig. Die Gewinnung von Nerolidol erfolgte damals aus Pflanzen wie Lemongrass, Rose oder Zitrone (Bauer, 2003, S.7).
Nerolidol ist im Pflanzenreich weit verbreitet und kommt in vielen ätherischen Ölen vor. Die wichtigsten natürlichen Quellen für (E)-Nerolidol sind das Cabreuvaöl aus *Myrocarpus frondosus* und *Myrocarpus fastigiatus Allem*. (*Fabaceae*) und der Peru Balsam aus *Myroxylon balsamum var. pereira Klotzsch* (*Fabaceae*). Die bei weitem häufigste und dominierende Form in der Natur ist das (+)-(E)-Nerolidol, die anderen Stereoisomere kommen in der Natur nur selten vor. In der Arbeit von Schubert et al. gelang es auch das erste Mal die vier Stereoisomere des Nerolidols zu trennen und die olfaktorischen Eigenschaften der Einzelkomponenten zu bestimmen (Schubert et al., 1992).

2.3.2.2. Synthesen und Verwendung in Synthesen

Eine Synthese von Sucatol und stereoselektive Synthesen von trans-Geranyl-Aceton und trans-Nerolidol wurde 1985 von Satoh et al. durchgeführt. In einer Haloborationsreaktion wurde Propyn **(9)** zu Iodoenon **(10)** mit einer Ausbeute von 69% umgewandelt. Durch Reduktion von **10** mit $NaBH_4$ und anschließende Methylation erhält man Sucatol **(11)** mit einer Ausbeute von 91%. Aus 6-methyl-5-hepten-1-yne **(12)** wird in ähnlicher Weise ein olefinisches Iodoketon **(13)** mit einer Ausbeute von 77% synthetisiert. Daraus werden die Produkte trans-Geranyl-Aceton **(14)**, mit einer Ausbeute von 80% und trans-Nerolidol **(15)**, mit einer Ausbeute von 93%, durch Reduktion und anschließende Methylation stereoselektiv erhalten. Die Reaktionen dazu sind in Abbildung 2 dargestellt (Satoh et al., 1985).

Abb. 2. Stereoselektive Synthese von *trans-Nerolidol* (Satoh et al., 1985)



In einer Arbeit von Hrdlicka et al. (2004) wird auf die Bedeutung von trans-Nerolidol bei der Synthese des industriell bedeutenden Aromas α-Sinensal eingegangen. *Aspergillus niger* wird dabei als Organismus beschrieben welcher Oxidationsreaktionen durchführen kann und dabei sanfter und umweltfreundlicher ist als chemische Methoden. Kieslich et al. haben die Biotransformation des Sesquiterpenoids *trans-Nerolidol* über *Aspergillus niger* zu funktionellen Zwischenprodukten zur Synthese von α-Sinensal vorgeschlagen. Diese Arbeitsgruppe und andere haben gezeigt, dass *Aspergillus niger*, trans-Nerolidol stereoselektiv mit Ausbeuten von 5-20% zu potentiellen α-Sinensal Vorstufen transformieren kann (Hrdlicka et al., 2004).

Anet beschreibt 1970 die Möglichkeit Farnesene aus (Z)-Nerolidol durch Dehydrierung mit Phosphorylchlorid in Pyridin zu synthetisieren (Anet, 1970).

Nagegowda et al. beschrieben 2008 die Freisetzung von Terpenoiden aus Löwenmaul, darunter auch Nerolidol, welches von Farnesyl-diphosphat (FPP) abgeleitet wird. Dabei wurden zwei fast identische Nerolidol/Linalool Synthasen isoliert AmNES/LIS-1 und AmNES/LIS-2. Diese beiden Synthasen haben ähnliche katalytische Eigenschaften und synthetisieren Nerolidol aus Farnesyl-diphosphat (FPP) und Linalool aus

Geranyldiphosphat (GPP) als spezifische Produkte. GFP-lokalisierungs Studien und die Analyse der Enzymaktivität in gereinigten Leukoplasten zeigten, dass AmNES/LIS-1 im Cytosol lokalisiert ist und für die Nerolidol Biosynthese verantwortlich ist, während AmNES/LIS-2 in Plastiden lokalisiert ist und für die Linalool Bildung da ist Nagegowda et al., 2008).

2.3.2.3. Studien zur Metabolisierung

In der Dissertation von Feng (1992), wird der oxidative Abbau von Nerolidol zum $C_{11}H_{16}$-Homoterpen *4,8-Dimethylnona-1,3,7-trien* in Pflanzen beschrieben. Dabei wurde festgestellt, dass viele mono- wie auch dikotyledone Pflanzen darunter auch wichtige Nutzpflanzen wie Baumwolle, Apfel, Bohne, Kartoffel usw. fähig sind aus der Vorstufe Nerolidol das $C_{11}H_{16}$-Homoterpen *4,8-Dimethylnona-1,3,7-trien* zu bilden. *4,8-Dimethylnona-1,3,7-trien* ist in der Natur eine wichtige Substanz, die von Pflanzen bei Schädlingsbefall freigesetzt wird um sich so auf verschiedenen Wegen vor Fressfeinden zu schützen. Der Nachweis der Umsetzung erfolgte durch GC/MS der angereicherten Duftkomponeten, es wurde mit Deuterium radioaktiv markiertes Neroldiol verwendet. Dabei zeigte sich, dass die Fragmentierung von Nerolidol zum *4,8-Dimethylnona-1,3,7-trien* ein stereospezifischer Vorgang ist, aus (Z) wird (Z) gebildet und aus (E) wird (E) gebildet. Die meisten Pflanzen dieser Versuchreihe haben Geranylaceton als Zwischenprodukt gebildet, weil sie einen stufenweisen Fragmentierungsmechanimus besitzen (Feng, 1992, S.58-60).

In einer weiterführenden Dissertation zur gleichen Thematik von Donath (1994), welche die biosynthetischen Zwischenschritte beim oxidativen Abbau von Nerolidol zu *4,8-Dimethylnona-1,3,7-trien* in höheren Pflanzen untersuchte, wurden weitere Erkenntnisse gesammelt. Ebenfalls war ein wichtiger Bestandteil dieser Arbeit die Untersuchung der Freisetzung von pflanzlichen Duftstoffen bei Schädigung durch Herbivoren. Es wurde in der Arbeit nachgewiesen, dass Nerolidol bei Schädlingsbefall durch de novo Synthese gebildet wird, es gibt keine glykosidische Speicherform, wie es bei Linalool der Fall ist. Es wurde nochmals bestätigt, dass Nerolidol eine wichtige biogene Vorstufe bei Synthese von $C_{11}H_{16}$-Homoterpenen ist. Ebenfalls konnte durch Nerolidolanaloga mit modifizierten Vinylsegment gezeigt werden, dass ein oxidativer Angriff auf die C_1=C_2 Doppelbindung ein Schlüsselschritt der enzymatischen Fragmentierung ist (Donath, 1994, S.43-47 und S.75-77).

Der Angriff auf die C_1=C_2 Doppelbindung als ein Schlüsselschritt, wurde auch in einer Arbeit von Miyazawa et al. (1995) nachgewiesen. Dabei wurde die mikrobielle Transformation von cis-Nerolidol durch den für Pflanzen pathogenen Pilz *Glomerella cingulata* untersucht. Nerolidol wurde dabei hauptsächlich an der C_1=C_2 Doppelbindung oxidiert und es entstand *(Z)-3,7,11-trimethyl-1,6-dodecatrien-3,10,11-triol* als Hauptmetabolit (Miyazawa et al., 1995).
Studien zum Stoffwechselabbau von Nerolidol beim Menschen sind zum Zeitpunkt dieser Diplomarbeit nicht bekannt. Jedoch wird zurzeit an der Universität Wien eine Untersuchung zur Metabolisierung von Nerolidol beim Menschen durchgeführt.

2.3.3. Antibakterielle Aktivität

Grundsätzlich gilt es bei der Bewertung der antibakteriellen Wirkung von ätherischen Ölen zu bedenken, dass diese aus sehr vielen Bestandteilen bestehen, manchmal sogar aus über einhundert. Deshalb ist es hierbei schwierig festzulegen bzw. Sicherzustellen, welche Komponenten für welche Wirkungen verantwortlich sind. Bei Untersuchungen und Studien mit Reinsubstanzen ist dieses wesentlich sicherer zu Beurteilen. Das selbe gilt natürlich auch für alle anderen Eigenschaften dieser ätherischen Öle und Substanzen wie z.B. antifungale, antivirale und weitere Wirkungen.

2.3.3.1. Nerolidol allgemein

Steigende Zahlen von bakteriellen Resistenzen gegen Antibiotika und antimikrobielle Substanzen stellen heutzutage ein großes Problem für die Nahrungsmittelindustrie und das Gesundheitswesen dar. Ein wichtiger Mechanismus der Resistenzentwicklung bei Bakterien sind Mutationen, welche die Zellpermeabilität verändern und somit die Aufnahme von Antibiotika vermindern. Die ständige Entwicklung neuer Antibiotika ist jedoch sehr teuer. Der Einsatz von Sesquiterpenen in Kombination mit Antibiotika könnte diesem Problem entgegen wirken. Aus diesem Grund wurde eine Studie zu diesem Thema von Brehm-Stecher und Johnson (2003) durchgeführt. Dabei wurden die Sesquiterpene *Nerolidol, Farnesol, Bisabolol* und *Apritinon* auf Ihre Eigenschaften hin untersucht, die Permeabilität von bakteriellen Zellmembranen zu erhöhen und somit die Empfindlichkeit der Bakterien gegenüber Antibiotika zu steigern. Anfangs wurde mittels Durchflusszytometrie beobachtet, dass diese Sesquiterpene beim *Lactobacillus*

fermentum zu einer erhöhten Permeabilität durch Disruption der Zellmembran führten. Daraufhin wurde diese Wirkung in Kombination mit klinisch relevanten Antibiotika untersucht. Bei den Untersuchungen wurde mit dem Disc-Diffusion-Assay gearbeitet. Die oben genannten Sesquiterpene wurden in Kombination mit den Antibiotika Ciprofloxacin, Clindamycin, Erythromycin, Gentamycin, Tetracyclin und Vankomycin gegen *Staphylococcus aureus* getestet. Dabei kam man zu dem Ergebnis, dass Nerolidol, Bisabolol und Apritinon zu einer deutlich verbesserten Wirksamkeit der Antibiotika gegen *Staphylococcus aureus* führten. Zusätzlich führten *Nerolidol* und *Farnesol* zu einer erhöhten Sensibilisierung von *Escherichia coli* gegenüber *Polymycin B*. Insgesamt zeigte sich in dieser Studie, dass *Nerolidol* die Effektivste aller getesteten Substanzen war (Brehm-Stecher B.F. und Johnson E.A., 2003).

In einer ähnlichen Studie von Simoes et al. (2008) wurde der synergistische Effekt von Sesquiterpenen mit Antibiotika untersucht. In den Kombinationen der Antibiotika *Ciprofloxacin, Erythromycin, Gentamycin* und *Vancomycin,* mit den Sesquiterpenen *Guajazulen, Germacren D* und einem recemischen Gemisch aus *cis und trans Nerolidol,* gegen die Keime *Escherichia coli* und *Staphylococcus aureus* wurden untersucht. Ziel dieser Studie war es den antimikrobiellen und post-antibiotischen Effekt (PAE) der Sesquiterpen-Antibiotikum Kombinationen zu bewerten, mittels dem Einsatz des Disk-Diffusion-Assay und des minimalen inhibitorischen Konzentrations Assesments (MIC). Die Ergebnisse zeigten eine deutliche Zunahme der Wirkung der Antibiotika bei Anwesenheit der untersuchten Sesquiterpene gegen *Staphylococcus aureus*, bei allen Antibiotika. Gegen *Escherichia coli* bei allen außer *Vancomycin*. Ebenfalls war ein erhöhter PAE in allen Kombinationen außer mit *Guajazulen* feststellbar. Diese Studie sollte aufzeigen, dass die synergistischen Effekte von Sesquiterpen und Antibiotika durchaus in der Therapie mit Antibiotika zur Verbesserung von deren Wirksamkeit genutzt werden könnten (Simoes et al., 2008).

Mit dem genaueren Mechanismus und Nachweismethoden zum Thema Erhöhung der Zellpermeabilität und Schädigung der bakteriellen Zellmembran durch Sesquiterpene haben sich Inoue et al. (2004) beschäftigt. Dabei wurde die Wirkung von *Farnesol*, *Nerolidol* und *Plaunotol* auf die Zellmembran von *Staphylococcus aureus* untersucht. *Staphylococcus aureus* wurde für die Untersuchung gewählt, weil dieser Keim eine hohe Resistenzrate gegen viele Antibiotika ausgebildet hat. In dieser Studie wurde erarbeitet, dass die Messung der Kalium-Ionen Konzentration mittels einer Kalium-Ionen Elektrode als Nachweis, beziehungsweise Index für die antibakterielle und die

Zellmembran schädigende Wirkung von antimikrobiellen Substanzen dienen kann, weil die Zerstörung der Zellmembran beim Bakterium zum Kaliumverlust führt. Die erhalten Ergebnisse stimmten überein mit der vorher durchgeführten Untersuchung der antibakteriellen Aktivität (mittels Wachstums-Hemmungs Assay). Dabei war die Rangfolge der antibakteriellen Aktivität und der gemessenen Kalium-Ionen Konzentrationen: farnesol > nerolidol > plaunotol. Dies bedeutet, dass Farnesol in dieser Studie die stärkste antimikrobielle Aktivität hatte und ebenfalls die höchsten gemessenen Kalium-Ionen Konzentrationen hervorrief (Inoue et al., 2004).

2.3.3.2. trans-Nerolidol

Heutzutage ist aufgrund der wachsenden Weltbevölkerung der Bedarf an Nahrungsmitteln stetig steigend, leider ist aber auch die mikrobielle Aktivität auf Pflanzen stark steigend. Synthetische Chemikalien zum Pflanzenschutz haben oft unerwünschte Effekte und sind toxisch. Eine Alternative zu chemischen Pflanzenschutzmitteln soll hierbei der Einsatz von ätherischen Ölen mit antimikrobieller Wirkung sein. In einer Arbeit von Mahjoub et al. (2010) sollte diesem Problem nachgekommen werden. Dabei wurde die Wirkung von ätherischem Öl der oberirdischen Teile von *Frankenia leavis* aus der Familie der Frankeniaceae mit *(E)-Nerolidol* (8.9%) als eine der Hauptkomponenten des ätherischen Öls, gegen die grampositiven Bakterien *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Micrococcus luteus*, und die gramnegativen Bakterien *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium* getestet. Zur Herstellung des Inokulums wurde ein Mueller-Hinton Nährboden verwendet, die Inokulum Suspension hatte ca. 10^5 KBE/ml an Bakterien. 500µL des Inokulums wurden auf einer Platte mit sterilem Mueller-Hinton Nährboden (pH=7.2) aufgebracht. Die antibakterielle Wirkung wurde mittels Disk-Diffusion-Assay bestimmt. Dabei wurden in verschieden Konzentrationen mit ätherischem Öl von *Frankenia leavis* getränkte runde Plättchen auf den Agarplatten aufgebracht. Die Platten wurden 18h bei 37°C inkubiert, danach wurden die Hemmzonen vermessen. Die Stärke der antimikrobiellen Aktivität wird über den Durchmesser der Hemmzonen bestimmt. Zwei Kontrollmessungen liefen parallel, einmal gänzlich ohne Substanzen (Leerwert), einmal mit dem Antibiotikum *Ampicillin*. Die Ergebnisse zeigten, dass das ätherische Öl von *Frankenia leavis* gegen alle getesteten Stämme antimikrobiell wirksam ist, mit Ausnahme von *Pseudomonas*

aeruginosa. Dieses Bakterium scheint aber gegen die meisten ätherischen Öle unempfindlich zu sein, wie mehrere Autoren bestätigen. Die antibakterielle Wirkung des getesteten Öls war bei grampositiven Bakterien stärker ausgeprägt als bei den gramnegativen. Diese Unempfindlichkeit beruht wahrscheinlich auf der äußeren Membran der gramnegativen Bakterien, welche die Diffusion von hydrophoben Substanzen ins das Bakterium limitiert. Die breite antibakterielle Wirkung wird hierbei einer Vielzahl der Inhaltsstoffe zugeschrieben, nicht nur dem Nerolidol (Mahjoub et al., 2010).

In einer Arbeit von Zhang et al. (2008) wurde die antibakterielle Wirkung des ätherischen Öls von tibetanischen *Dracocephalum heterophyllum Benth* mit (E)-Nerolidol (7.1%) als eine der Hauptkomponenten gegen neun verschiedene Bakterienstämme getestet. Dabei zeigte sich eine Wirksamkeit gegen alle getesteten Stämme (Zhang et al., 2008).

Skaltsa et al. (2000) untersuchten die Zusammensetzung des ätherischen Öls von *Scutellaria albia ssp. Albida* (Lamiaceae) aus Griechenland. Dabei wurden mittels GC und GC/MS-Analyse festgestellt, dass die Hauptkomponenten des ätherischen Öls von *Scutellaria albia ssp. Albida* Linalool (52.63%) und trans-Nerolidol (9.03%) sind. Das ätherische Öl und dessen Einzelkomponenten wurden daraufhin auf ihre antibakteriellen Eigenschaften untersucht. Die verwendeten Bakterien waren *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtillis*, *Escherichia coli* und *Pseudomonas aeruginosa*, als Vergleich diente das Antibiotikum Streptomycin (1mg/ml). Die Bestimmung der antibakteriellen Aktivität erfolgte mittels Disk-Diffusion-Assay, dabei wurden 0.1ml der jeweiligen Substanz auf Trypton-Soya-Agar aufgebracht und die Hemmzonen nach einer Inkubationszeit von 24h bei 37°C vermessen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 zusammengefasst (Skaltsa et al., 2000).

Tab. 1. Antibakterielle Aktivität des ätherischen Öls von *Scutellaria albia ssp. albida* und seiner Einzelkomponenten, sowie Streptomycin als Vergleichssubstanz, dargestellt als der Durchmesser der Hemmzonen in mm im Disk-Diffusion-Assay (Skaltsa et al. 2000).

	grampositive Bakterien *S. aureus* ATCC 25923	*Bacillus subtilis* BBL 12084	**gramnegative Bakterien** *E. coli* 35218	*P. aeruginosa* ATCC 27853
ätherisches Öl	10	11	11	8
Linalool	9	8	20	4
trans-Nerolidol	10	9	10	-
Streptomycin (1mg/ml)	10	15	17	10

Eine einer Arbeit von Rahman und Kang (2009) wurde das antibakterielle Potential des ätherischen Öls der Blüten von *Lonicera japonica Thunb.* (Caprifoliaceae) und des ethanolischen Extrakts der Blätter, auf durch Nahrung übertragene und den Verderb fördernde Keime getestet. Als Hauptkomponente des ätherischen Öls wurde *trans-Nerolidol* (16.31%) nachgewiesen. Die untersuchten Keime waren *Listeria monocytogenes*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* und *Escherichia coli O157:H7*. Die angewendeten Testmethoden zur Bestimmung der antibakteriellen Aktivität waren der Disk-Diffusion-Assay (mit 400µg/disk) und die Bestimmung der Minimum-inhibitory-concentration (MIC). Verglichen wurde mit den Antibiotika Tetracyclin und Streptomycin (mit 10µg/disk). Das Ergebnis der Studie war, dass gegen alle Keime außer *Pseudomonas aeruginosa* und *Escherichia coli O157:H7* eine gute antibakterielle Wirkung, hervorgerufen durch das ätherische Öl, vorhanden ist. Man gelangt zu dem Schluss, dass das ätherische Öl von *Lonicera japonica Thunb.* großes Potential hat als Konservierungsmittel in der Nahrungsmittel- und Pharmaindustrie zu dienen (Rahman und Kang, 2009).

2.3.3.3. cis-Nerolidol

In einer Arbeit von Ito et al. (2010) wurde die antimikrobielle Wirkung des ätherischen Öls der Blätter von *Rollinia sericea* aus der Familie der Annonaceae getestet, (Z)-Nerolidol (5.3 %) war dabei eine der Hauptkomponenten dieses flüchtigen Öls. Die antimikrobielle Wirkung des Öls (conc.=2.8mg/ml) wurde dabei gegen die Bakterien *Staphylococcus aureus* als Vertreter für grampositive Bakterien gegen das Antibiotikum Amikacin im Vergleich und *Pseudomonas aeruginosa* und *Escherichia coli* als Vertreter für Gramnegative Bakterien gegen Chloramphenicol im Vergleich getestet. Zum Nachweis wurde die Nährmedium Mikrodilatations Methode angewendet. Alle Tests wurden in Tryptose Soya Nährmedium durchgeführt. Die Bestimmung der Inhibition erfolgte durch Messung der Absorbtion auf einem SLT Spectra bei 630nm. Dabei zeigte sich eine gute antibakterielle Wirkung gegen *Staphylococcus aureus*, eine mäßige Wirkung gegen *Pseudomonas aeruginosa* und keine Wirksamkeit gegen *Escherichia coli* (Ito et al., 2010).

2.3.4. Antifungale Aktivität

2.3.4.1. trans-Nerolidol

Die Antifungale Wirkung des ätherischen Öles von *Frankenia leavis* aus der Familie der Frankeniacea mit *(E)-Nerolidol* (8.9%) als eine der Hauptkomponenten des ätherischen Öls wurde gegen die Pilzstämme *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus niger*, *Penicellium sp*. und *Alternaria sp*. getestet. Die Bestimmung der antifugalen Aktivität erfolgte mittels Disc-Diffusion-Assay auf Stärke-Dextrose-Agar. Das antifungale *Carbendazin* wurde als positive Kontrolle und Chloroform als negative Kontrolle verwendet. Dabei konnte keine antifungale Aktivität des ätherischen Öles, gegen die getesteten Pilze festgestellt werden (Mahjoub et al., 2010).

In einer Arbeit von Zhang et al. (2008) wurde die Antifungale Wirkung des ätherischen Öls von tibetanischen *Dracocephalum heterophyllum Benth* mit (E)-Nerolidol (7.1%) als eine der Hauptkomponenten gegen einen Hefe und drei Pilzstämme getestet. Dabei zeigte sich eine Wirksamkeit des ätherischen Öls gegen alle getesteten Stämme (Zhang et al., 2008).

Skaltsa et al. (2000) untersuchten die Zusammensetzung des ätherischen Öls von *Scutellaria albia ssp. Albida* (Lamiaceae) aus Griechenland. Dabei wurden mittels GC und GC/MS-Analyse festgestellt, dass die Hauptkomponenten des ätherischen Öls von *Scutellaria albia ssp. Albida* Linalool (52.63%) und trans-Nerolidol (9.03%) sind. Das ätherische Öl und dessen Einzelkomponenten wurden daraufhin auf ihre antifungalen Eigenschaften untersucht. Die verwendeten Pilze waren zwei verschiedene Hefestämme von *Saccharomyces cerevisiae*, als Vergleich diente das Antimykotikum Natamycin (50mg/ml). Die Bestimmung der antifungalen Aktivität erfolgte mittels Disk-Diffusion-Assay, dabei wurden 0.1ml der jeweiligen Substanz auf Hefe-Nährmedium aufgebracht und die Hemmzonen nach einer Inkubationszeit von 48h bei 27°C vermessen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 zusammengefasst (Skaltsa et al., 2000).

Tab. 2. Antifungale Aktivität des ätherischen Öls von Scutellaria albia ssp. albida und seiner Einzelkomponenten, sowie Natamycin als Vergleichssubstanz, dargestellt als der Durchmesser der Hemmzonen in mm im Disk-Diffusion-Assay (Skaltsa et al. 2000).

	Hefen	
	S. cerevisiae ATCC 2366	*S. cerevisiae* ATCC 9763
ätherisches Öl	12	13
Linalool	4	4
trans-Nerolidol	4	4
Natamycin (50mg/ml)	15	10

2.3.4.2. cis-Nerolidol

In der Arbeit von Ito et al. (2010) wurde ebenfalls die antifungale Wirkung des ätherischen Öls der Blätter von *Rollinia sericea* aus der Familie der Annonaceae getestet. (Z)-Nerolidol (5.3%) war dabei eine der Hauptkomponenten des ätherischen Öls. Die antifungale Wirkung des Öls (conc.=2.8mg/ml) wurde dabei gegen die Pilze *Aspergillus niger* und *Candida albicans* im Vergleich zum Antimykotikum Nistatin getestet. Dabei zeigte sich bei beiden Stämmen eine gute Hemmung des Pilzwachstums (Ito et al., 2010).

2.3.5. Antivirale Aktivität

2.3.5.1. Nerolidol allgemein

In Rahmen einer Untersuchung der antiviralen Aktivität verschiedener Aromastoffe wurde synthetisches Nerolidol (cis 40.7% / trans 58.3%) wie auch natürliches Nerolidol (trans 99%) auf seine antivirale Wirksamkeit getestet. Es wurden die inhibitorischen Effekte auf die Vermehrung des Maus-Polyomavirus in 3T6 Zellen getestet. Dabei zeigte sich, dass das synthetische wie auch das natürliche Nerolidol zu einer bemerkenswerten Hemmung der Virusaktivität führten (Ryabchenko et al., 2008).

2.3.6. Andere Eigenschaften

2.3.6.1. Nerolidol allgemein

Die Suche nach neuen effektiven Cytostatika im Bereich der Arzneipflanzen ist zurzeit eine der intensivsten im Bereich der Phytoforschung. Innerhalb der letzten Jahre wurden viele ätherische Öle auf Ihre zytotoxische Aktivität gegen verschiedene Tumorzellen geprüft. Im Rahmen einer Studie wurden Aromastoffe auf Ihre zytotoxische und zytoproliferative Wirkung an HeLa-Zelllinien getestet, unter Verwendung des Cytotoxicity Detection Kit (LDH) und Cell Proliferation Reagent WST-1. Dabei zeigte sich, dass das synthetische (cis 40.7% / trans 58.3%) wie auch das natürliche Nerolidol (trans 99%) eine deutliche antitumor Wirkung haben und das schon bei Konzentrationen unter 5µg (Ryabchenko et al., 2010).

In einer Studie von Klopell et al. (2007) wurde der antiulcerogene Effekt des ätherischen Öls von *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae) untersucht. Dabei zeigte sich, dass die Anwendung des ätherischen Öls von *Baccharis dracunculifolia* DC, mit *Nerolidol* als Hauptkomponete, zu einer signifikanten Reduktion des ulcerativen Läsions Index (ULI) bei ethanolinduzierten Ulcera führt. Es wurden bei Dosen von 50, 250 und 500mg/kg des ätherischen Öls getestet. Ebenfalls wurde Nerolidol als Reinsubstanz in denselben Dosierungen getestet. Die getesteten Ulcus-Modelle waren Stress-, Indomethacin- und Ethanol- induzierter Ulcus. Die Testtiere waren Ratten. Es wurde mit Cimetidin (bei Indomethacin und Stress) und Omeprazol

(bei Ethanol) verglichen. Dabei kam man zu dem Ergebnis, dass Nerolidol, besonders in den Dosen 250 und 500mg/kg, in dieser Testreihe den modernen Ulcus Therapeutika ebenbürtig ist, teilweise sogar besser wirkt (Klopell et al., 2007).

In einer Studie von Omura und Honda (2005) wurde die Affinität des Schmetterlings Vanessa indica zu bestimmten Blütenfarben (Papiermodelle) untersucht. Dabei kam man zu dem Ergebnis, dass die Blütenfarben gelb und blau bevorzugt werden. Bei Zugabe einer olfaktorischen Komponente, die in den bevorzugten Nektarpflanzen *Taraxacum officinale* (Asteraceae) und *Cirsium Japonicum* (Asteraceae) vorkommt, mit den Substanzen Benzaldehyd, Acetophenon und (E+Z)-Nerolidol, zeigte sich eine erhöhte Affinität zu den Papierblüten der sonst unattraktiven Farbe violett zu den Blüten mit Duftstoffen hin (im Vergleich zu den violetten ohne Duftstoffe). Jedoch im Parallelversuch mit gelben Blüten ohne Duftstoffe und violetten Blüten mit Duftstoffen bleib die Affinität des Schmetterlings zur Farbe gelb. Das zeigt, dass Vanessa indica primär auf die Farbe und nur sekundär auf olfaktorische Komponenten reagiert (Omura und Honda, 2005).

2.3.6.2. trans-Nerolidol

In einer Untersuchung der Wirkung des ätherischen Öls von tibetanischen *Dracocephalum heterophyllum Benth* mit (E)-Nerolidol (7.1%), als eine der Hauptkomponenten, zeigte das ätherische Öl eine antioxidative Aktivität. Diese wurde mit dem Malonyldialdehyd (MDA) Test durch Messung der MDA Konzentration in Mausleberzellen gemessen. Die Ergebnisse zeigen, dass das ätherische Öl von *Dracocephalum heterophyllum Benth* als antimikrobieller und antioxidativer Zusatz in der Kosmetik- Nahrungsmittel- und Pharmaindustrie durchaus nutzbar wäre (Zhang et al., 2008).

In einer Diplomarbeit der Universität Wien wurde die Wirkung von westaustralischen Sandelholz mit hohem Gehalt an (E)-Nerolidol auf die Parameter des peripheren Nervensystems Untersucht. In der Studie über das westaustralische Sandelholz wurde eine deaktivierende Wirkung festgestellt. Die Autorin dieser Arbeit kann aber nicht sagen, welche Komponenten des Sandelholzes für die Wirkungen tatsächlich verantwortlich sind (Bauer, 2003, S.72).

In derselben Arbeit wurde auch auf verschiedene Studien über die Rolle von Nerolidol im Pflanzen- und Tierreich eingegangen. Beispielsweise über den Einsatz von Nerolidol

zur Schädlingsbekämpfung gegen *Tetranychus urticae*, die Spinnenmilbe. Es wurde bewiesen, dass Nerolidol bei den männlichen Exemplaren zu einer gesteigerten Aktivität führt, bei der Sie versuchen ein weibliches Exemplar zu finden von welchem sie glauben die Nerolidolquelle zu sein. Diese gesteigerte Aktivität führt zugleich zu einer erhöhten Aufnahme von Insektiziden durch die Milbe, welche mit dem Nerolidol zusammen versprüht werden und somit zum Tod der Spinnenmilbe (Mitrofanov et al., 1994).

Ebenfalls spielt die Substanz (E)-Nerolidol im Pflanzenreich eine wichtige Rolle bei der „indirect defense“, dabei locken die Pflanzen die Feinde ihrer eigenen Feinde zu ihrem eigenen Schutz an. Als Beispiel sei die Freisetzung von flüchtigen Verbindungen, die auch (E)-Nerolidol enthalten, durch *Zea mays* L. bei Befall mit *Spodoptera exigua*, der Zuckerrübeneule gennant. Dabei wird der natürliche Feind der Zuckerrübeneule, die Weibchen der Wespe *Cotesia Marginivetris*, angelockt (Turlings et al., 1990).

Ebenso wurde von Aldrich et al. (1993) beschrieben, dass Nerolidol auch in Drüsensekreten von Heteroptera (Wanzen) der Arten Coreidea und Alydidae vorkommt. *A. lutescens lutescens* und *L. phyllopus* haben dabei (-)-(3R)-(E)-Nerolidol als Hauptbestanteil ihrer Pheromon-Stoffmischung (Aldrich et al., 1993).

2.3.7. Nebenwirkungen

Im „Fragrance material review on nerolidol“ von Lapczynski et al. (2008), wurde über die Toxizität und Nebenwirkungen von Nerolidol ausgiebig geschrieben. Dabei wurden Tests zur akuten Toxizität an Ratten, Mäusen (oral) und Hasen (dermal) beschrieben. Dabei wurden LD_{50} -Werte von höher als 5g/kg angegeben. Bis 5g/kg traten keine Todesfälle und keine schädlichen Wirkungen auf. Ebenfalls wurden Studien zur Hautirritation an Hasen beschrieben, dabei wurde ein „primary irritation test“ angewendet. Dieser wurde bei Konzentrationen von 5% (in Diethyl-Phthalat) und 100% durchgeführt. Die Hautreaktionen wurden nach 24h, 48h und 72h an drei Hasen entsprechend der Draize Methode abgestuft. Bei 5% wurden bei einem von drei Hasen leichte Erythreme nach 24h beobachtet, später nicht mehr. Bei der 100% Dosis wurden bei allen drei Hasen, zu allen Zeiten, schwere Erythreme und Ödeme beobachtet. Eine ähnliche Studie mit Guinea Albino Schweinen wird ebenfalls beschrieben. Ergebnis dieser Studie ist, dass bei cutaner Applikation die höchste Konzentration die keine

Irritation verursacht bei 20% liegt (bei einer aliquoten Applikation von 0.1ml). Bei intradermaler Applikation liegt die Konzentration bei 1%, bei dieser Konzentration werden schon leichte Irritationen beobachtet. Ebenfalls werden Tests zur Irritation der Augenbindehaut beschrieben, bei diesen ist das Ergebnis, dass Nerolidol bei Gabe von 0,1ml in Konzentrationen von 5% und 100% keine Irritationen (außer leichter Rötung) hervorruft. In Humanstudien und Tierstudien zur Hautsensibilisierung wurden ebenfalls keine negativen Effekte beschrieben (Lapczynski et al., 2008).

Allgemein kann man aufgrund all dieser Daten sagen, dass Nerolidol eine sichere und nebenwirkungsarme Substanz ist.

2.4. Cabreuvaöl

2.4.1. Allgemeines

2.4.1.1. Beschreibung

Cabreuvaöl wird aus Cabreuva *Myrocarpus frondosus* und *Myrocarpus fastigiatus Allem.* (*Fabaceae*) oder dem Balsambaum *Myroxylon balsamum var. pereira Klotzsch* (*Fabaceae*) dem Peru Balsam gewonnen. Cabreuvaöl ist die wichtigste natürliche Quelle für (E)-Nerolidol (Schubert et al., 1992).
Cabreuva ist ein Hartholzgewächs mit bräunlich-grünem Farbton und dunkler Äderung aus Südamerika. Das Holz wird vor allem zur Herstellung von Parkettböden verwendet. Aus dem Holz gewonnenes Cabreuvaöl wird z.T. auch als Duftöl eingesetzt (www.ipa.ruhr-uni-bochum.de, 10.04.2012).

2.4.1.2. Eigenschaften (www.thegoodscentscompany.com, 11.04.2012)

Synonyme:	cabreuva wood oil, myrocarpus fastigiatus wood oil, myrocarpus frondosus and myrocarpus fastigiatus wood oil	
CAS-Nummern:	68188-03-4	(m. frondosus and m. fastigiatus wood oil)
	91722-94-0	(myrocarpus frondosus wood oil)
	91722-93-9	(myrocarpus fastigiatus wood oil)
Farbe:	klare, farblose Flüssigkeit (www.alpacasa.com, 11.04.2012)	
Relative Dichte:	0.8812 g/cm³ (www.alpacasa.com, 11.04.2012)	

2.4.1.3. Geruch

Der Geruch von Cabreuvaholz wird als weich, blumig und birnenartig beschrieben (www.ipa.ruhr-uni-bochum.de, 10.04.2012).
In der Arbeit von Wanner et al. (2010) wird der Geruch des ätherischen Öls von Cabreuva durch professionelle Parfumeure als sanft balsamartig, blumig, kräuterartig und holzig beschreiben (Wanner et al., 2010).

2.4.1.4. Zusammensetzung

In einer Arbeit von Wanner et al. (2010) wurde die Zusammensetzung des ätherischen Öls von Cabreuva (*Myrocarpus fastagiatus Allem.*, Fabaceae) aus Brasilien mittels GC/FID und GC/MS untersucht. Als Hauptkomponente wurde (E)-Nerolidol mit einem Anteil von 77.0% bestimmt. Die weiteren Bestandteile sind in Abbildung 3 angeführt (Wanner et al., 2010).

Abb. 3. Zusammensetzung des ätherischen Öls von Cabreuva (Wanner et. al, 2010)

RI †	RI ‡	Compound	Area§ [%]
1457	1794	Geranyl acetone	0.4
1469	-	*epi*-β-Santalene	0.4
1486	1692	β-Santalene	0.4
1516	1708	β–Bisabolene	1.4
1523	-	(*Z*)-γ-Bisabolene	0.6
1532	1735	δ-Cadinene	1.0
1539	1993	(*Z*)-Nerolidol	0.1
1549	1753	(*E*)-γ-Bisabolene	0.6
1552	1884	α-Calacorene	0.1
1578	2027	(*E*)-Nerolidol	77.0
1649	-	δ-Cadinol	1.3
1661	2201	α-Cadinol	1.3
1672	2181	Bulnesol	0.8
1685	2189	*epi*-α-Bisabolol	1.4
1687	2191	α-Bisabolol	1.6
1697	2201	(*Z,E*)-Farnesol	1.1
1722	2331	(*E,E*)-Farnesol	2.1
		Total	91.6

† SE-54 column, ‡ Carbowax column, § %-peak area using GC/FID.

2.4.1.5. Wirkung und Anwendung

Cabreuvaöl wird in der Parfümindustrie wegen seines angenehmen Duftes verwendet. Ebenfalls weisen die Hauptkomponenten von Cabreuvaöl, das (E)-Nerolidol, (Z)-Nerolidol, (E,E)-Farnesol und das alpha-Bisabolol antibakterielle Wirksamkeit auf (Wanner et al., 2010).

2.4.1.6. Cabreuva

2.4.1.6.1. Allgemeine Beschreibung

Cabreuva zählt zur Gattung *Myrocarpus* mit fünf Arten, die nur in Südamerika vorkommt. Die Arten sind: *Myrocarpus emarginatus* A.L.B.Sartori & A.M.G.Azevedo, *Myrocarpus fastigiatus* Allemão, *Myrocarpus frondosus* Allemão, *Myrocarpus leprosus* Pickel und *Myrocarpus venezuelensis* Rudd. Bei den Arten *M. frondosus* und *M. fastagius* handelt es sich um ca. 20m hohe Bäume mit gefiederten Blättern, Blütentrauben und Hülsenfrüchten (Sartori und de Azevedo Tozzi, 2004).

Abb. 4. *Myrocarpus frondosus Allem.* (plantillustrations.org, 10.04.2012)

Abb. 5. *Myrocarpus fastigiatus Allem.* (www.gielenaroma.nl, 10.04.2012)

2.4.1.6.2. Taxonomie (www.biologie.uni-ulm.de, 08.04.2012)

Abteilung:	Magnoliophyta
Unterabteilung:	Magnoliophytina
Klasse:	Magnoliatae
Unterklasse:	Rosidae
Ordnung:	Fabales
Familie:	Fabaceae
Gattung:	Myrocarpus Allemao
Arten:	*Myrocarpus frondosus Allem.*
	Myrocarpus fastigiatus Allem.

2.4.1.7. Balsambaum

2.4.1.7.1. Allgemeine Beschreibung

Beschreibung der Stammpflanze: *Myroxylon balsamum var. pereira Klotzsch* ist ein etwa 16 m hoher Baum. Die bei den jungen Zweigen glatte, graue bis purpurne Rinde ist mit vielen weißen oder gelblichen Lentizellen bedeckt. Die Blätter des Balsambaumes sind kurz gestielt, unpaarig gefiedert und etwa 15 bis 20cm lang. Sie bestehen aus 7 bis 11 nicht gegenständigen Blättchen. Die länglichen, eiförmigen Fiederblättchen sind etwa 6cm lang und 3cm breit. Aus den Blattachseln entspringen schmale 15 bis 17cm lange Trauben, die zahlreiche Blüten enthalten. Die Frucht ist eine gelbliche bis orangebraune Hülse mit einer Länge von 7 bis 18cm und einer Breite von 3 bis 4cm. Der Perubalsambaum ist heimisch in Süd- und Mittelamerika (www.pharmakobotanik.de, 11.04.2012).

Abb. 6. *Myroxylon balsamum var. pereira Klotzsch* (www.kup.at, 10.04.2012)

2.4.1.7.2. Taxonomie (www.ars-grin.gov, 08.04.2012)

Abteilung:	Magnoliophyta
Unterabteilung:	Magnoliophytina
Klasse:	Magnoliatae
Unterklasse:	Rosidae
Ordnung:	Fabales
Familie:	Fabaceae
Gattung:	Myroxylon
Art:	*Myroxylon balsamum var. pereira Klotzsch*

2.4.1.7.3 Inhaltsstoffe

Der Perubalsam hat einen Harzanteil von ca. 20-30% und es enthält zu 50-70 % ein Estergemisch, das zu etwa 66% aus Benzylbenzoat und zu etwa 33% aus

Benzylcinnamat besteht. Außerdem kommen Nerolidol mit etwa 3,4% und Spuren von Benzylalkohol vor (www.kup.at, 10.04.2012).

2.4.2. Gewinnung und Synthesen von Cabreuvaöl

2.4.2.1. Gewinnung

Cabreuvaöl wird aus *Myrocarpus frondosus, Myrocarpus fastigiatus Allem*. (*Fabaceae*) oder aus *Myroxylon balsamum var. pereira Klotzsch* (*Fabaceae*), dem Perubalsambaum, gewonnen. Cabreuvaöl ist außerdem die wichtigste natürliche Quelle für (E)-Nerolidol (Schubert et al., 1992).

2.4.2.2. Synthesen

In einer Arbeit von Maurer und Hauser bei der Firma Firmenich S.A. in der Schweiz wurden 1988 erstmals 4 verschiedene bicylische Ether, auch als Cabreuvaoxide bezeichnet (siehe Abb.7) und zwei monozyklische Ether aus Cabreuvaöl isoliert, diese haben eine enge strukturelle Beziehung zu (E)-Nerolidol (siehe Abb.8). Diese Cabreuvaoxide hatten sehr interessante Geruchsmuster und könnten Verwendung in der Parfümindustrie finden. Besonders das Cabreuvaoxid 2 weist einen sehr interessanten holzig, amberatigen Duft mit einer fruchtigen Grapefruitnote auf (Maurer und Hauser, 1988).

Abb. 7. Die Cabreuvaoxide 1-4 (Maurer und Hauser, 1988)

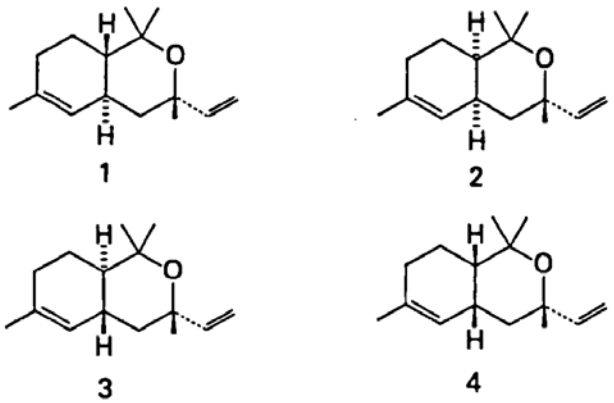
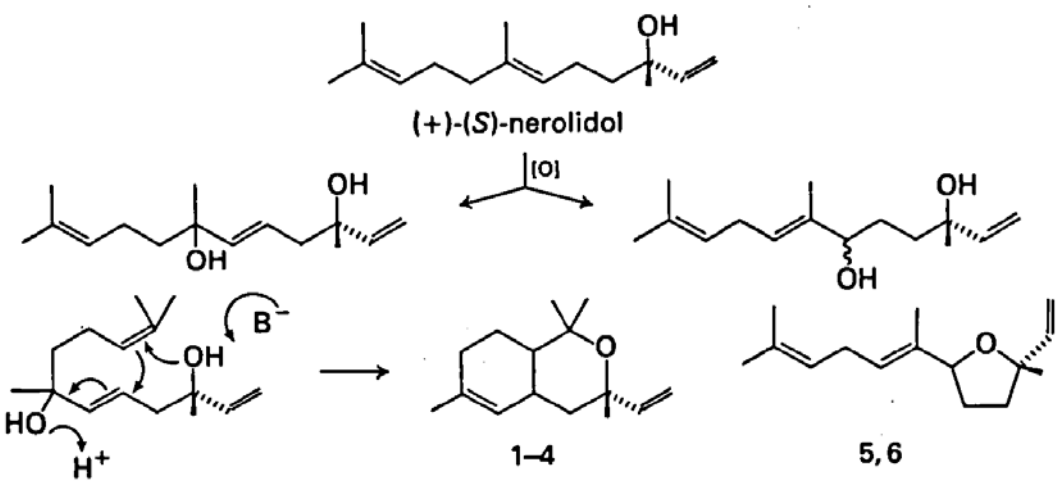


Abb. 8. Biogenese der Cabreuvaoxide aus (E)-Nerolidol (Maurer und Hauser, 1988)



2.4.3. Antibakterielle Aktivität

In der Arbeit von Wanner et al. (2010) wurde die antibakterielle Wirkung des ätherischen Öls von Cabreuva und seiner wichtigsten Einzelkomponenten dem (E)-Nerolidol, (Z)-Nerolidol, (E,E)-Farnesol und dem alpha-Bisabolol untersucht. Es wurde mit zwei verschiedenen Methoden getestet, dem Disc-Diffusion-Assay in Müller-Hinton-Agar, mit 100µL Inokulum und 10µL ätherischem Öl bzw. Einzelsubstanz, die Inkubationszeit betrug 24h bei 37°C, und dem Serien-Bouillon-Dilutions-Assay. Mit diesem wurde die minimale inhibitorische Konzentration (MIC) und die minimale bakterizide Konzentration (MBC) bestimmt. Die MBC ist definiert als die geringste Konzentration einer Substanz bei der kein mikrobielles Wachstum stattfindet. Die MIC ist definiert als die niedrigste Konzentration welche zu einer Reduktion der Absorption von UV-Licht von mehr als 90% führt. Untersucht wurde die Wirksamkeit gegen die grampositiven Bakterien: Bacillus cereus, Staphylococcus aureus und Staphylococcus epidermis und die gramnegativen Bakterien: Citrobacter diversus, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Pseudomonas flurescens, Salmonella abony. Die antimikrobielle Wirksamkeit war in allen Testreihen gegen die grampositiven Bakterien besser als gegen die gramnegativen. Die Ergebnisse sind in den Abbildungen 9,10 und 11 im Detail dargestellt (Wanner et. al, 2010).

Abb. 9. Ergebnisse des Disc-Diffusion-Assay (Wanner et. al, 2010)

Test microorganism	CO	CW	JB	MY	α-bisa-bolol	cedrol	(*E*,*E*)-farnesol	(*E*)-ne-rolidol	(*Z*)-ne-rolidol
B. cereus (ATCC 11778)	0	13.5	12.5	13.5	12.5	13	11	11	11.5
S. aureus (ATCC 6538)	0	18.5	16	22	18	15	13	23	24
S. aureus (food spoilage isolate)	0	19	16.5	24	17.5	16	14	21	21.5
S. epidermidis (clinical isolate)	0	16.5	14.5	21	16.5	14	14	22	22
C. diversus (clinical isolate)	0	0	7	6*	7	0	9	0	0
E. coli (ATCC 8739)	0	8	8	10	9	6	8	10	11
P. aeruginosa (ATCC 9627)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
P. aeruginosa (clinical isolate)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
P. fluorescens (food spoilage isolate)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S. abony (ATCC 6017)	0	6	9	9	9	7	0	0	0
S. abony (clinical isolate)	0	6	9	10	9	7	0	0	0

*IZ below 9 mm can be seen as insignificant. CO= cabreuva oil, CW= cedarwood oil, JB= juniper berries oil, MY= myrrh oil

Cabreuvaöl zeigte hier keine antibakterielle Wirkung, (0mm Hemmzonendurchmesser, weder bei den grampositiven, noch den gramnegativen Bakterien). Die Einzelsubstanzen zeigten jedoch durchgehend gute Ergebnisse bei den grampositiven Bakterien und mäßige Ergebnisse bei den gramnegativen Bakterien. In den folgenden Abbildungen 10 und 11 „Ergebnisse MIC und Ergebnisse MBC“ ist eine geringe Konzentration erwünscht, dabei zeigten die Einzelsubstanzen ebenfalls gegenüber den grampositiven Bakterien bessere Ergebnisse als gegenüber den gramnegativen. Ebenso waren Sie in den meisten Fällen wirksamer als das Cabreuvaöl (Wanner et. al, 2010).

Abb. 10. Ergebnisse des MIC (Wanner et. al, 2010)

Test microorganism	CO	CW	JB	MY	α-bisa-bolol	cedrol	(*E*,*E*)-farnesol	(*E*)-ne-rolidol	(*Z*)-ne-rolidol
B. cereus (ATCC 11778)	0.4	0.2	0.2	0.1	0.1	0.2	0.4	0.1	0.1
S. aureus (ATCC 6538)	0.4	0.2	0.2	0.1	0.1	0.2	0.4	0.1	0.1
S. aureus (food spoilage isolate)	0.4	0.2	0.2	0.1	0.1	0.2	0.4	0.1	0.1
S. epidermidis(clinical isolate)	0.4	0.2	0.2	0.1	0.1	0.2	0.4	0.1	0.1
C. diversus (clinical isolate)	0.8	0.4	0.4	0.2	0.2	0.4	0.8	0.2	0.2
E. coli (ATCC 8739)	0.8	0.4	0.4	0.2	0.2	0.4	0.8	0.2	0.2
P. aeruginosa (ATCC 9627)	0.8	0.8	0.8	0.4	0.4	0.8	0.8	0.4	0.4
P. aeruginosa (clinical isolate)	0.8	0.8	0.8	0.4	0.4	0.8	0.8	0.4	0.4
P. fluorescens (food spoilage isolate)	0.8	0.8	0.8	0.4	0.4	0.8	0.8	0.4	0.4
S. abony (ATCC 6017)	0.8	0.4	0.4	0.2	0.4	0.4	0.8	0.2	0.2
S. abony (clinical isolate)	0.8	0.4	0.4	0.2	0.4	0.4	0.8	0.2	0.2

Abb. 11. Ergebnisse des MBC (Wanner et. al, 2010)

Test microorganism	CO	CW	JB	MY	α-bisa-bolol	cedrol	(*E*,*E*)-farnesol	(*E*)-ne-rolidol	(*Z*)-ne-rolidol
B. cereus (ATCC 11778)	0.8	0.4	0.4	0.2	0.2	0.4	0.8	0.2	0.2
S. aureus (ATCC 6538)	0.8	0.4	0.4	0.2	0.2	0.4	0.8	0.2	0.2
S. aureus (food spoilage isolate)	0.8	0.4	0.4	0.2	0.2	0.4	0.8	0.2	0.2
S. epidermidis (clinical isolate)	0.8	0.4	0.4	0.2	0.2	0.4	0.8	0.2	0.2
C. diversus (clinical isolate)	0.8	0.8	0.4	0.4	0.4	0.8	0.8	0.4	0.4
E. coli (ATCC 8739)	0.8	0.8	0.4	0.4	0.4	0.8	0.8	0.4	0.4
P. aeruginosa (ATCC 9627)	1	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	>0.8	0.4	0.4
P. aeruginosa (clinical isolate)	1	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	>0.8	0.4	0.4
P. fluorescens (food spoilage isolate)	1	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	>0.8	0.4	0.4
S. abony (ATCC 6017)	0.8	0.8	0.8	0.4	0.8	0.8	>0.8	0.4	0.4
S. abony (clinical isolate)	0.8	0.8	0.8	0.4	0.4	0.8	>0.8	0.4	0.4

2.4.4. Nebenwirkungen

Das Institut für Prävention und Arbeitsmedizin (IPA) in Bochum beschreibt einen Fall bei dem ein Parkettfußbodenleger beim Sägen und Abschleifen von Cabreuva-Parkettholz Fieber mit über 40°C, Schüttelfrost, trockenen Husten und Luftnot bekam. Am Folgetag waren die Beschwerden verschwunden. Die durchgeführten Untersuchungen zeigen typische Symptome einer exogen allergischen Alveolitis. Entzündungszeichen: Ein Anstieg der Blutleukozyten von 8,1 auf 13,73nL, eine restriktive Ventilationsstörung, Senkung der inspiratorischen Vitalkapazität, Einsekundenkapazität und des arteriellem Sauerstoffpartialdruckes waren gegeben. Die bronchioalveolare Lavage, die 24 Stunden nach der Exposition mit Cabreuvaholzstaub durchgeführt wurde, zeigte eine starke Vermehrung der weißen Blutkörperchen, vor allem die der CD8-positiven Zellen. Dies sind typische Anzeichen für eine akute und chronische exogene allergische Alveolitis. (www.ipa.ruhr-uni-bochum.de, 10.04.2012).
Ähnliches beschreiben Innocenti et al. (1991). Es wird der Fall eines 48 jährigen Parkettlegers dokumentiert, welcher nach Exposition mit Cabreuvaholzstaub aus Myrocarpus fastigiatus Fr. All. an Asthmaanfällen litt. Die Exposition mit dem gleichen Staub unter Versuchsbedingungen im Krankenhaus führte zu Asthmatischen Anfällen, hohem Fieber, Übelkeit und Myalgie. Ein bronchialer Provokationstest führte zu Leukozytose. Eine Kontrolle mit Staub aus Tannenholz war negativ und führte zu keiner Reaktion beim Patienten. Weitere Untersuchungen zur Systemischen Toxizität konnten aufgrund der mangelnden Mitarbeit des Patienten nicht mehr durchgeführt werden (Innocenti et al., 1991).

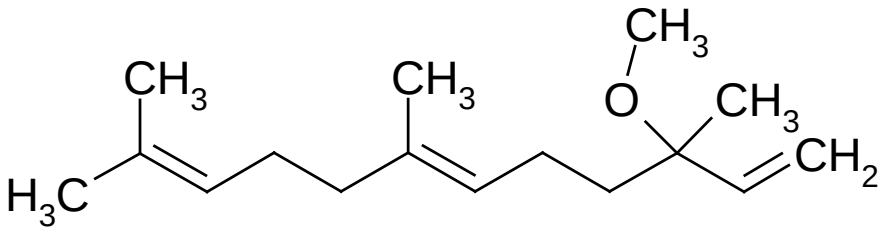
2.5. O-Methyl-Nerolidol

2.5.1. Allgemeines

2.5.1.1. Beschreibung

Bei o-Methyl-Nerolidol handelt es sich um ein Syntheseprodukt der Firma Kurt Kitzing GmbH. Ziel war es die Lipophilie der Substanz gegenüber Nerolidol zu erhöhen und somit eine längere Wirksamkeit zu erreichen. Zurzeit gibt es keine wissenschaftlichen Arbeiten welche sich mit dieser Substanz befasst haben, weil es sich um ein neues Produkt handelt. Die Synthese der Substanz wurde von Dr. J. Wanner durchgeführt. Die Informationen zur Synthese stammen von der Firma Kurt Kitzing GmbH und sind noch nicht veröffentlicht, weshalb es an dieser Stelle auch keine Literaturangaben zu dieser Substanz gibt.

2.5.1.2. Strukturformel o-Methyl-Nerolidol



2.5.1.3. Eigenschaften

CAS-Nummern:	keine CAS-Nummer vergeben
Summenformel:	$C_{16}H_{28}O$
Molekulargewicht:	236
Farbe:	hellgelbe Flüssigkeit
Dichte:	unbekannt

2.5.1.4. Geruch

O-Methyl-Nerolidol: unangenehm stechend

2.5.2. Gewinnung und Synthese von o-Methyl-Nerolidol

Die Informationen zur Synthese stammen von Dr. J. Wanner von der Firma Kurt Kitzing GmbH in Wallerstein. Es ist keine veröffentlichte Literatur dazu vorhanden.

In einen 250ml Rundkolben werden unter Stickstoffatmosphäre 5.6g (100mmol) KOH in 50ml DMSO unter Verwendung eines Glasstabes fein zerstoßen und es werden 5.55g (25mmol) Nerolidol synth. zu dieser Mischung zugegeben. Die entstandene Lösung färbt sich zunächst orange und dann braun. Daraufhin gibt man tropfenweise Methyliodid hinzu und rührt 1h bei Raumtemperatur. In dieser Zeit wird die Mischung wieder heller. Man läßt diese nun über Nacht weiterrühren und gießt dann die fertige Mischung in Wasser und extrahiert diese mit Hexan. Der entstandene Extrakt wird zweimal mit Wasser gewaschen und danach mit wasserfreiem Na_2SO_4 getrocknet. Das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt und das entstandene hellgelbe Öl wird an einer Chromatographie-Säule gefüllt mit Kieselgel 60 und Pentan als Elutionsmittel gereinigt. Ausbeute: 3.8g hellgelbes Öl, Reinheit 96%, M^+[236].

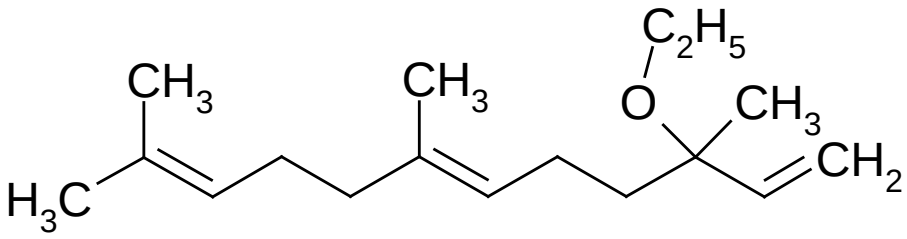
2.6. O-Ethyl-Nerolidol

2.6.1. Allgemeines

2.6.1.1. Beschreibung

Bei o-Ethyl-Nerolidol handelt es sich um ein Syntheseprodukt der Firma Kurt Kitzing GmbH. Ziel war es die Lipophilie der Substanz gegenüber Nerolidol zu erhöhen und somit eine längere Wirksamkeit zu erreichen. Zurzeit gibt es keine wissenschaftlichen Arbeiten welche sich mit dieser Substanz befasst haben, weil es sich um ein neues Produkt handelt. Die Synthese der Substanz wurde von Dr. J. Wanner durchgeführt. Die Informationen zur Synthese stammen von der Firma Kurt Kitzing GmbH und sind noch nicht veröffentlicht, weshalb es an dieser Stelle auch keine Literaturangaben zu dieser Substanz gibt.

2.6.1.2. Strukturformel o-Ethyl-Nerolidol



2.6.1.3. Eigenschaften

CAS-Nummern:	keine CAS-Nummer vergeben
Summenformel:	$C_{17}H_{30}O$
Molekulargewicht:	250
Farbe:	hellgelbe Flüssigkeit
Dichte:	unbekannt

2.6.1.4. Geruch

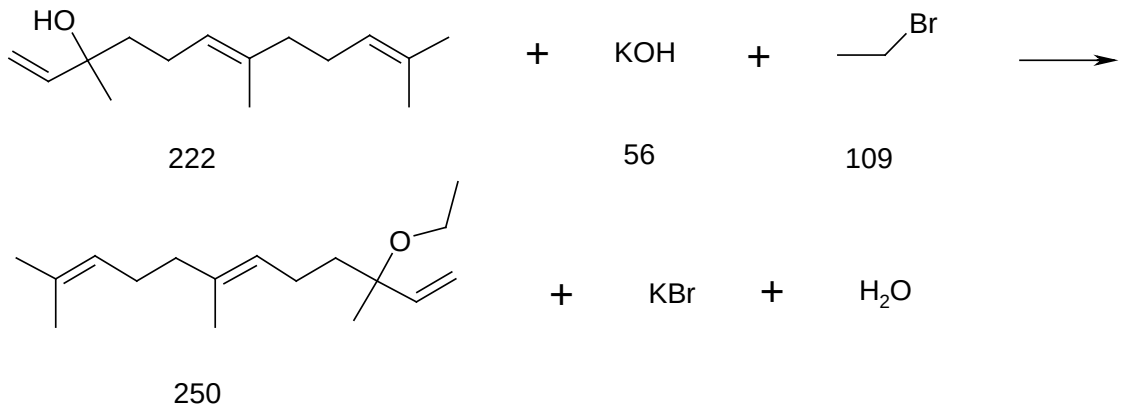
O-Ethyl-Nerolidol: unangenehm stechend

2.6.2. Gewinnung und Synthese von o-Ethyl-Nerolidol

Die Informationen zur Synthese stammen von Dr. J. Wanner von der Firma Kurt Kitzing GmbH in Wallerstein und erfolgt analog zur Synthese von o-Methyl-Nerolidol. Es ist keine veröffentlichte Literatur dazu vorhanden.

In einen 250ml Rundkolben werden unter Stickstoffatmosphäre 5.6g (100mmol) KOH in 50ml DMSO unter Verwendung eines Glasstabes fein zerstoßen und es werden 5,55g (25mmol) Nerolidol synth. zu dieser Mischung zugegeben. Die entstandene Lösung färbt sich zunächst orange und dann braun. Daraufhin gibt man tropfenweise Ethylbromid hinzu und rührt 1h bei Raumtemperatur. In dieser Zeit wird die Mischung wieder heller. Man läßt diese nun über Nacht weiterrühren und gießt dann die fertige Mischung in Wasser und extrahiert diese mit Hexan. Der entstandene Extrakt wird zweimal mit Wasser gewaschen und danach mit wasserfreiem Na_2SO_4 getrocknet. Das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt und das entstandene hellgelbe Öl wird an einer Chromatographie-Säule gefüllt mit Kieselgel 60 und Pentan als Elutionsmittel gereinigt. Ausbeute: 3.8 g hellgelbes Öl, Reinheit 97%, M^+[250].

Abb. 12. Synthese von o-Ethyl-Nerolidol nach J. Wanner



2.7. (-)-α-Bisabolol

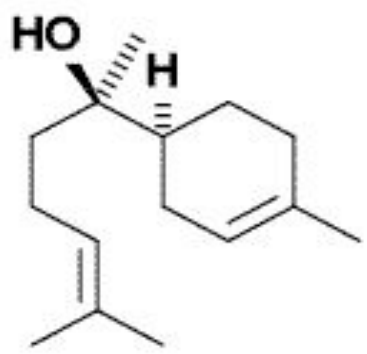
2.7.1. Allgemeines

2.7.1.1. Beschreibung

(-)-α-Bisabolol wurde erstmals 1951 von Isaac und seinen Mitarbeitern aus den Blüten der echten Kamille (*Matricaria chamomilla*; Asteraceae) isoliert. Die Verwendung von (-)-α-Bisabolol in Kosmetika wie After-Shaves, Körperlotionen, Deodorants, Sonnencremes, Lippenstiften und Babypflegeprodukten ist weit verbreitet (Kamatou und Viljoen, 2010).

Der monocyclische tertiäre Sesquiterpenalkohol (-)-α-Bisabolol, ist der Hauptbestandteil des ätherischen Öls der Kamille (Asteraceae) und findet sich auch in größerer Menge im ätherischen Öls von *Myoporum crassifolium* Forst (Myoporaceae). (+)-α-Bisabolol hingegen findet sich häufig in den Blattknospen einiger Pappelarten. In der Kamille liegt das Bisabolol nur in seiner isopropyliden Form vor. Schon seit langem ist auch die entzündungshemmende Wirkung des (-)-α-Bisabolol bekannt. Im Vergleich dazu ist das (+)-α-Bisabolol deutlich weniger entzündungshemmend. Untersuchungen in den 60er Jahren ergaben, dass die antiphlogistische Wirkung des (-)-α-Bisabolols ähnlich stark sind wie jene von Guajazulen, welches mit dem Chamazulen verwandt ist. Zusätzlich besitzt das (-)-α-Bisabolol aus der Kamille nachweislich auch eine spasmolytische Wirkung, welche in Versuchen an isolierten Rattendarm nachgewiesen wurde. Da das Bisabolol eine wichtige Rolle für die Wirkung von Kamillenpräparaten hat, ist der Bisabololgehalt in solchen auch ein entscheidender Qualitätsfaktor (Thiele et al., 1969).

2.7.1.2. Strukturformel (-)-α-Bisabolol



Stereochemisch gesehen hat Bisabolol zwei Chiralitätszentren und hat somit vier verschiedene Stereoisomere (De Lucca et al., 2011).

2.7.1.3. Eigenschaften (www.lookchem.com, 24.04.2012)

Synonyme:	(−)-6-Methyl-2-(4-methyl-3-cyclohexen-1-yl)-5-hepten-2-ol
	Levomenol
CAS-Nummer:	23089-26-1
Summenformel:	$C_{15}H_{26}O$
Molekulargewicht:	222.37
Farbe:	klare, hellgelbe Flüssigkeit
Relative Dichte:	0.929 g/cm³

2.7.1.4. Geruch

(-)-α-Bisabolol: schwach blumig (Hänsel und Sticher, 2010, S.1048)

2.7.2. Gewinnung und Synthese von (-)-α-Bisabolol

Möglichkeiten zur Gewinnung von Bisabolol sind:

a) racemisches Bisabolol kann durch säurekatalytische Zyklisierung von Farnesol oder Nerolidol hergestellt werden (Hänsel und Sticher, 2010, S.1048).

b) (-)-α-Bisabolol kann aus *Vanillosmopsis erythropappa* SCHULTZ BIP. (Asteraceae) isoliert werden (Hänsel und Sticher, 2010, S.1048).

2.7.3. Antibakterielle Aktivität

In einer aktuellen Veröffentlichung von De Lucca et al. aus dem Jahre 2011 wurde die antibakterielle Wirkung von α-Bisabolol und Dragostanol, einem racemischen Gemisch aus synthetischem Bisabolol, gegen die Keime *Staphylococcus aureus* und *Pseudomonas aeruginosa* geprüft. Dabei wurden Bakterienlösungen mit $1x10^4$ Zellen/ml hergestellt, von diesen Lösungen wurden 150µL entnommen und mit α-Bisabolol- oder Dragostanollösungen in Konzentrationen von 0-40µM versetzt und daraufhin auf 1500µL mit Pufferlösung aufgefüllt. Diese Lösungen wurden für 0h, 1h und 2h stehen gelassen. Dann wurden jeweils 50µL der jeweiligen Lösungen entnommen und auf Agarplatten ausgebracht, diese wurden dann bei 30°C für 24h inkubiert und die entstandenen Kolonien wurden ausgezählt. Das Ergebnis für *Pseudomonas aeruginosa* war eine sofortige signifikante Wirkung bei t= 0h und einer Konzentration von 7.5µM. Für *Staphylococcus aureus* war eine signifikante Wirkung bei t= 2h und einer Konzentration von 12.5µM feststellbar. Da Bisabolol und Dragostanol Substanzen mit GRAS- (Generally Regarded as Save) Status sind, ist ihr Einsatz als antimikrobielles Agens in Kosmetika und Nahrungmitteln gut vorstellbar (De Lucca et al., 2011).

Von Sobhy und El-Feky wurde die antibakterielle Wirksamkeit des ätherischen Öls und eines ethanolischen Extrakts der apikalen Teile von *Helichrysum stoechas* (Asteraceae) untersucht. Das ätherische Öl hatte einen hohen Anteil an α-Bisabolol (9.6%). Es wurde die antibakterielle Wirkung gegen *Staphylococcus epidermis, Klebsiella pneumonae* und gegen einige weitere Bakterienstämme mittels Disc-Difussion-Assay untersucht. Das ätherische Öl von *Helichrysum stoechas* zeigte dabei eine signifikante antibakterielle Aktivität gegen die beiden oben genannten Keime (Sobhy und El-Feky, 2007).

In einer Arbeit aus Süd-Korea wurden die ätherischen Öle dreier Koniferen auf ihre antibakterielle Wirksamkeit hin geprüft. Es handelte sich um die Öle von *Abies koreana* (Pinaceae), *Cryptomeria japonica* (Taxodiaceae) und *Torreya nucifera* (Taxaceae). Interessant ist hier *Torreya nucifera* mit einem hohen Anteil von α-Bisabolol (10.2%). Die antibakterielle Wirksamkeit wurde mittels Disc-Diffusion-Assay und mittels MIC-Assay (minimal inhibitory concentration) bestimmt. Es wurden die Bakterien *Staphylococcus epidermis* und *Escherichia coli* untersucht. Das ätherische Öl zeigte

eine moderate Wirkung gegen *Staphylococcus epidermis* und keine Wirkung gegen *Escherichia coli* (Oh et al., 2007).

Detoni et al. untersuchten vor kurzem das ätherische Öl von *Zanthoxylum tingoassuiba* (Rutaceae), mit α-Bisabolol als eine der Hauptkomponenten mit 11.60%. Es wurde die antimikrobielle Wirksamkeit gegen *Staphylococcus aureus* und diverse multiresistente Formen dieses Bakteriums aus verschiedenen Krankenhäusern getestet. Das ätherische Öl zeigte in Konzentrationen von 5µL/Disc wie auch 10µL/Disc eine Wirkung gegen die getesteten Keime. Zur Bestimmung wurde mit dem Disc-Diffusion-Assay gearbeitet. Ein weiterer Bestandteil dieser Studie war auch die Untersuchung von Liposomen als Träger für ätherische Öle, einerseits um die Löslichkeit der Öle in Wasser zu erhöhen und andererseits um die Aufnahme in den Körper zu verbessern. Weiterführende Studien zu diesem Thema wurden und werden noch an diesem Institut durchgeführt (Detoni et al., 2011).

2.7.4. Antifungale Aktivität

In der aktuellen Veröffentlichung von De Lucca et al. aus dem Jahre 2011 wurde auch die antifungale Wirkung von α-Bisabolol und Dragostanol, einem racemischen Gemisch aus synthetischen Bisabolol, gegen verschiedene *Aspergillus*- und *Fusarium*-Arten wie auch gegen die Hautpilze *Trichophyton tonsurans*, *T. mentogrophytes*, *T. rubrum* und *Microsporum canis* untersucht. Die Wirksamkeit wurde mittels MIC-Assay bestimmt, für die Hautpilze wurde die NCCLS Method-38A angewendet. Die Substanzen hatten schon bei Konzentrationen von unter 10µM eine sehr gute Wirksamkeit gegen gekeimte Pilze. Gegen ungekeimte Pilze war die Wirkung schwach, was jedoch normal ist. Da Bisabolol und Dragostanol sichere Substanzen sind, ist ihr Einsatz als antifungales Agens in Kosmetika und Nahrungsmitteln sowie als Inhaltstoff für Dermatika gegen Hautpilze gut vorstellbar (De Lucca et al., 2011).

Von Sobhy und El-Feky wurde die antifungale Wirksamkeit des ätherischen Öls und eines ethanolischen Extrakts der apikalen Teile von *Helichrysum stoechas* (Asteraceae) untersucht. Das ätherische Öl hatte einen hohen Anteil an α-Bisabolol (9.6%). Es wurde die antifungale Wirkung gegen *Candida albicans*, *Candida tropicolis* und *Toluropsis glabrata* mit Hilfe eines Disc-Diffuion-Assays untersucht. Das ätherische Öl von

Helichrysum stoechas hatte dabei eine signifikante antifungale Aktivität gegen *Candida albicans* (Sobhy und El-Feky, 2007).

In der oben schon genannten Arbeit von Oh et al. wurden die ätherischen Öle dreier Koniferen auch auf ihre antifungale Wirksamkeit gegen *Candida albicans* hin geprüft. Es handelte sich um die Öle von *Abies koreana* (Pinaceae), *Cryptomeria japonica* (Taxodiaceae) und *Torreya nucifera* (Taxaceae). Interessant ist hier *Torreya nucifera* mit einem hohen Anteil von α-Bisabolol (10.2%). Die antifungale Wirksamkeit wurde mittels Disc-Diffusion-Assay und mittels MIC-Assay (minimal inhibitory concentration) bestimmt. Das ätherische Öl von *Torreya nucifera* hatte keine Wirkung gegen *Candida albicans* (Oh et al., 2007).

2.7.5. Andere Eigenschaften

Ein Gruppenmerkmal von Sesquiterpenen, wie sie in Kamille, Arnika, Artischocken und Curcuma vorkommen, ist ihre antiphlogistische Wirkung. Auch Bisabolane zeigen in einigen Fällen bei Dermatitismodellen (an Mäusen) eine antientzündliche Aktivität (www.pharmazeutische-zeitung.de, 02.05.2012).

Die antiphlogistische und spasmolytische Wirkungen des (-)-α-Bisabolols sind schon seit langem bekannt und konnten auch experimentell in den 50er und 60er Jahren des 20. Jahrhunderts nachgewiesen werden. In einer Arbeit von Thiele et al. von 1969 wurden verschiedene Ether und Ester von (-)-α-Bisabolol hergestellt auf ihre antiphlogistische Wirksamkeit hin untersucht. Diese Untersuchung wurde an Eiweißödemen auf Rattenpfoten durchgeführt. Man kam zu dem Ergebnis, dass viele der neu hergestellten Verbindungen sogar eine weit stärke antiphlogistische Wirkung hatten als das eigentliche Bisabolol und dies bei nur sehr geringer Toxizität (Thiele et al., 1969).

Im Jahre 2010 wurde in Spanien von Morales-Yuste et al. die Wirksamkeit von (-)-α-Bisabolol gegen Leishmanien (eine Gattung von Protozoen) überprüft. Normalerweise haben Medikamente gegen Leishmanien starke Nebenwirkungen, bei Anwendung von Bisabolol währen laut Morales-Yuste et al. keine Nebenwirkungen zu erwarten. Es wurde eine in Vitro Studie durchgeführt, um die Wirksamkeit des (-)-α-Bisabolols gegen *Leishmania infantum promastigotes*, zu untersuchen. Dieses Leishmanium ist für die meisten Leishmaniosen in Spanien verantwortlich. In den höchsten getesteten

Konzentrationen von 1000 und 500µg/ml führte (-)-α-Bisabolol wie auch die Vergleichssubstanz Pentamidin zu 100%-iger Inhibition von *Leishmania infantum promastigotes.* Die in dieser Untersuchung erhaltenen Ergebnisse zeigen, dass (-)-α-Bisabolol eine gute Ergänzung in der Therapie von Leishmanosen, ausgelöst durch *Leishmania infantum promastigotes*, sein kann (Morales-Yuste et al., 2010).

2010 wurden von da Silva et al. eine Reihe von Thiosemicarbazonen (abgeleitet von (-)-α-Bisabolol) synthetisiert. Diese Syntheseprodukte wurden auf ihr Antitumorpotential an acht verschiedenen Zelllinien getestet. Einige dieser Carbazone führten zur Wachstumshemmung vieler Zelllinien. Die Myeloid Leukämie Zellen (K-562) reagierten besonders empfindlich auf alle getesteten Thiosemicarbazone (da Silva et al., 2010).

Von Lee et al. wurde 2010 auch eine etwas ungewöhnliche Eigenschaft von Bisabolol untersucht. Dabei wurde eine Studie mit 28 asiatischen Frauen in Süd-Korea durchgeführt, um einen aufhellenden Effekt einer α-Bisabolol-Creme auf die Haut nachzuweisen. Die Frauen wurden für acht Wochen mit der Creme behandelt, zur Kontrolle wurde denselben Frauen eine Wirkstofflose Creme auf eine andere Hautstelle appliziert. Nach acht Wochen zeigte sich bei den meisten Probandinnen eine deutliche Aufhellung der Haut (Lee et al., 2010).

2.7.6. Nebenwirkungen

Es sind keine Studien oder Quellen auffindbar, welche dem Bisabolol als Reinsubstanz eine Nebenwirkung nachweisen.

Die Mutagenität, die Gentoxizität und die allgemeine Toxizität von Bisabolol sind gut untersucht, deshalb wurde dem Bisabolol von der Food and Drug Administration (FDA) der GRAS (Generally Regarded as Save) Status gewährt, dieser Fakt wird in Zukunft sicher zu einem vermehrten Einsatz von Bisabolol in diversen Produkten führen (Kamatou und Viljoen, 2010).

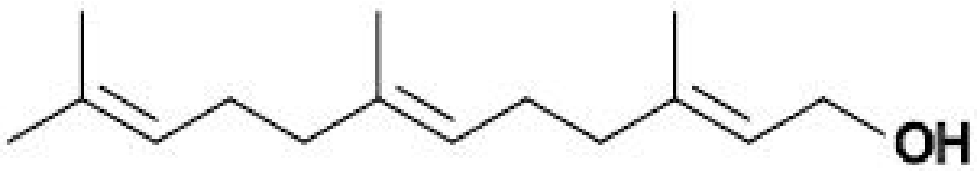
2.8. Trans, trans-Farnesol

2.8.1. Allgemeines

2.8.1.1. Beschreibung

Bei Farnesol handelt es sich um eine farblose Flüssigkeit, die nach Lindenblüten riecht. Beim Verdampfen verstärkt sich dieser Geruch, dies ist möglicherweise auf Oxidation zurück zu führen. Es gibt von Farnesol vier Isomere, dabei kommt das trans, trans-Isomer in der Natur am häufigsten vor. Beim Geruch unterscheiden sich diese Isomere nur gering. Farnesole sind Bestandteil vieler Blütenöle (Martinetz, 1998, S.154).
Zu den Hauptkomponenten von Cabreuvaöl, zählen das (E)-Nerolidol, (Z)-Nerolidol, (E,E)-Farnesol und das alpha-Bisabolol (Wanner et al., 2010).
Farnesol ist ein Duftstoff und kommt in ätherischen Ölen wie: Ambrette, Cabreuva, Cananga, Java Citronella, Neroli, Palmarosa, Rosenölen, Ylang und Perubalsam vor. Synthetsiches Farnesol wird häufig in der Parfümindustrie aber vor allem in Deodorantien eingesetzt (onlinelibrary.wiley.com, 29.04.2012).

2.8.1.2. Strukturformel trans, trans-Farnesol



2.8.1.3. Eigenschaften (www.safcglobal.com, 24.04.2012)

Synonyme:	(*E*,*E*)-3,7,11-Trimethyl-2,6,10-dodecatrien-1-ol
	trans,*trans*-3,7,11-Trimethyl-2,6,10-dodecatrien-1-ol
CAS-Nummern:	106-28-5
Summenformel:	$C_{15}H_{26}O$
Molekulargewicht:	222.37
Farbe:	klare, farblose Flüssigkeit
Dichte bei 25°C:	0.879 g/cm³

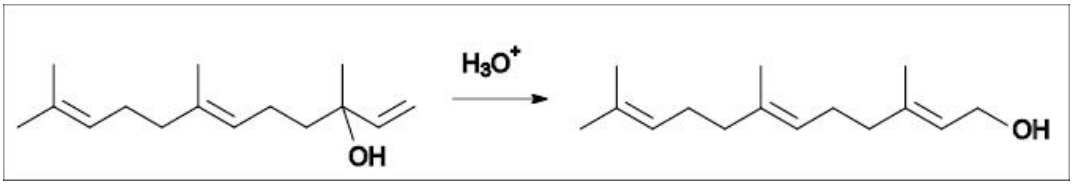
2.8.1.4. Geruch

trans, trans-Farnesol: nach Lindenblüten (Martinetz, 1998, S.154)

2.8.2. Gewinnung und Synthese von Farnesol

Synthetisches Farnesol wird durch saure Isomerisation von Nerolidol gewonnen (Martinetz, 1998, S.154).

Abb. 13. Isomerisierung von Nerolidol zu Farnesol



Farnesol hat zudem noch eine wichtige Biochemische Bedeutung. In den Peroxisomen entsteht duch Kondensation von zwei Einheiten Isopentenylpyrophosphat zuerst Geranylpyrophasphat, durch Kondensation eines weiteren Isopentenylpyrophosphats entsteht dann Farnesylpyrophosphat. Durch Addition von zwei Einheiten Farnesylpyrophophat entsteht der C30-Körper Squalen, welcher den „Rohling“ für die Synthese von Cholesterin darstellt. Farneyslpyrophophat ist ebenso ein wichtiges Zwischenprodukt zur Synthese vieler anderer Terpene (Müller-Esterl, 2004, S.563-564).

2.8.3. Antibakterielle Aktivität

0,3%-ige Farnesol-Lösungen werden als milde Deodorantien verwendet, weil sie das Wachstum von Mikroorganismen, die für die Schweißbildung verantwortlich sind, hemmen (Martinetz, 1998, S.154).

In einer Arbeit von Wanner et al. (2004) wurde die antibakterielle Wirkung des ätherischen Öls von Cabreuva und seiner wichtigsten isolierten Einzelkomponenten dem (E)-Nerolidol, (Z)-Nerolidol, (E,E)-Farnesol und dem alpha-Bisabolol untersucht. Es wurde mit zwei verschiedenen Methoden getestet, dem Disc-Diffusion-Assay in Müller-Hinton-Agar, mit 100µL Inokulum und 10µL ätherischen Öl bzw. Einzelsubstanz. Die Inkubationszeit betrug 24h bei 37°C. Weiters wurde mit dem Serien-Bouillon-Dilutions-Assay die minimale inhibitorische Konzentration (MIC) und die minimale bakterizide Konzentration (MBC) bestimmt. Untersucht wurde die Wirksamkeit gegen die grampositiven Bakterien: *Bacillus cereus, Staphylococcus aureus* und *Staphylococcus epidermis* und die gramnegativen Bakterien: *Citrobacter diversus, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Pseudomonas flurescens, Salmonella abony*. Die antimikrobielle Wirksamkeit war in allen Testreihen gegen die grampositiven Bakterien besser als gegen die gramnegativen. Die genauen Ergebnisse sind in dem Kapitel 2.4. Cabreuvaöl dargestellt (Wanner et. al, 2010).

Da die Anzahl der Studien und Untersuchungen, die sich mit dem trans, trans-Isomer von Farnesol beschäftigen sehr begrenzt ist, sei an dieser Stelle eine Arbeit von Taiwo und Bolanle (2003) erwähntdie sich mit dem ätherischen Öl der Blätter von *Costus afer* Ker–Gawl (Zingiberaceae) aus Nigeria beschäftigt. Das ätherische Öl hatte einen hohen Anteil von (Z,E)-Farnesol mit 9.9%. Die nachfolgende Untersuchung mittels Disc-Diffusion-Assay zeigte, dass bei diesem ätherischen Öl keine antimikrobielle Aktivität vorhanden ist (Taiwo und Bolanle, 2003).

2.8.4. Antifungale Aktivität

In einer Studie von Derengowski et al. im Jahre 2009 wurde die antifungale Wirkung von Farnesol auf den Pilz *Paracoccidioides brasiliensis* untersucht. Angewendet wurde dabei ein Wachstums-Assay von *Paracoccidioides brasiliensis* bei dem die optische Dichte der Kulturen bei verschiedenen Konzentrationen von Farnesol gemessen wurde.

Zur Bestimmung der Viabilität wurde ein MTT-Assay durchgeführt und die Kolonie bildenden Einheiten (KBE) wurden nach jeder Farnesolbehandlung auf Agarplatten ermittelt. Die Effekte von Farnesol auf den Dimorphismus von *Paracoccidioides brasiliensis* wurden ebenfalls (mit einem Lichtmikroskop) untersucht. Die morphologische Struktur nach Farnesolbehandlung wurde mit einem Elektronenmikroskop untersucht. Das Ergebnis war, dass Farnesol in Konzentrationen von 25 bis 300µM zu einer starken Wachstumshemmung von *Paracoccidioides brasiliensis* führt. Ebenfalls hat Farnesol bei Konzentrationen ab 15µM einen Effekt auf die Zell-Viabilität und führt zur Verkürzung des Zellfadens bei diesem Pilz. Elektronenmikroskopisch ist bei Konzentrationen von über 25µM Farnesol, eine Zytoplasmadegeneration beim untersuchten Pilz feststellbar. Das Fazit der Studie lautet, dass Farnesol eine gute Wirksamkeit gegen *Paracoccidioides brasiliensis* hat und dass diese Wirksamkeit mit der Zytoplasmadegeneration zusammenhängt. In der Einleitung dieser Studie wird ebenfalls die Wirkung von Farnesol als „quorum sensing molecule“ beim Pilz *Candida albicans* beschrieben. Farnesol wird von *Candida albicans* produziert, um die Pilzumwandlung von der Hefe zum Myzel und eine Biofilmbildung zu verhindern. Farnesol erhöht ebenfalls die Virulenz von *Candida albicans*, dieses wurde in einem Maus Infektions Model nachgewiesen (Derengowski et al., 2009).

2.8.5. Andere Eigenschaften

Derzeit ist bekannt, dass Viren eine Schlüsselrolle bei der Entstehung vieler Tumorarten spielen. Jedoch zeigen viele Arzneistoffe gegen onkogene Viren starke Nebenwirkungen, und deshalb ist ein Bedarf an weniger toxischen Mitteln vorhanden. Im Rahmen einer Studie von Ryabchenko et al. wurden Aromastoffe auf Ihre zytotoxische und zytoproliferative Wirkung an HeLa-Zelllinien getestet, unter Verwendung des Cytotoxicity Detection Kit (LDH) und Cell Proliferation Reagent WST-1. Dabei zeigte sich, dass trans, trans-Farnesol eine deutliche antitumor Wirkung hat und zwar schon bei Konzentrationen unter 5µg (Ryabchenko et al., 2008).

2.8.6. Nebenwirkungen

In der "MAK Collection for Occupational Health and Safety" der Wiley-Online-Library vom 31.Januar 2012 wird auf einige Nebenwirkungen von Farnesol eingegangen. Darunter auch auf die hautsensibilisierende Wirkung von Farnesol. In vielen Fallberichten wo Deodorantien zu hautsensibilisierender Wirkung führten und in großen Epikutantest-Studien konnte die kontaktallergene Wirkung von Farnesol belegt werden. Dabei wurde eine Untersuchung an 466 Patienten mit Kontaktdermatitis durchgeführt. Die verwendeten Konzentrationen für den Epikutantest waren 2%, 5% und 10% in Vaseline. Bei der 2%-igen Salbe gab es keine Nebenwirkungen, bei den 5 und 10%-igen Salben kam es bei 1.1% der Patienten zu allergischen Reaktionen. In Japan wurden in den Jahren 1992 und 1998 ebenfalls hohe Kontaktallergiequoten mit bis zu 2.3% der getesteten Patienten bei 5%-iger Farnesol-Vaseline Salbe ermittelt. In der Contact-Allergy-Unit in Löwen wurde zwischen den Jahren 1978 bis 1987 mit 1%-iger Farnesol-Wollwachs Salbe auf Kontaktallergien getestet, bei 111 untersuchten Patienten reagierten sieben allergisch auf die Salbe, von diesen sieben reagierten fünf ebenfalls allergisch auf Perubalsam. Es werden in diesem Artikel noch mehrere ähnliche Studien mit ähnlichen Ergebnissen beschrieben, meistens wurde 5%-ige Farnesol-Vaseline Salbe zum Testen verwendet. Ingesamt kommen die Autoren zu dem Schluß, dass Farnesol zu dem bedeutsamen Duftstoff-Allergenen zu zählen ist, jedoch nicht im gleichen Maße wie Eichenmoos, Isoeugenol und Zimtaldehyd. In einem Tierversuch mit Pirbright-white-Meerschweinchen in einem modifizierten FCA-Test zeigte Farnesol eine geringe sensibilisierende Wirkung. Farnesol wird aufgrund der kontaktsensibilisierenden Wirkung beim Menschen, welche in vielen Studien nachgewiesen ist mit „Sh" markiert. Zur einer atemwegssensibilsierenden Wirkung von Farnesol ist bislang nichts bekannt (onlinelibrary.wiley.com, 29.04.2012).

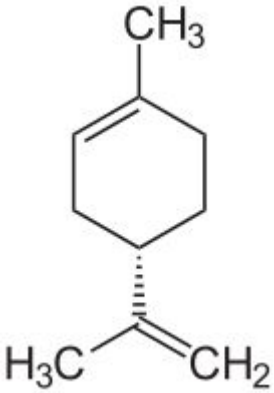
2.9. Limonen

2.9.1. Allgemeines

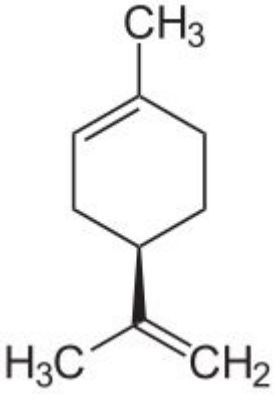
2.9.1.1. Beschreibung

Limonen ist Bestandteil des ätherischen Öls vieler Pflanzenfamilien. Es kommt im Schalenöl von Zitrusfrüchten, in Origano, Anis, Sternanis, Kümmel, Koriander und vielen weiteren Pflanzen vor. In Sellerie und Schnittsellerie ist es eine Hauptkomponente des ätherischen Öls (ca. 60%). Limonen ist ein Terpenoid mit zehn Kohlenstoffatomen, es gehört also zu der Gruppe der monozyklischen Monoterpene, die Summenformel lautet $C_{10}H_{16}$ und es enthält keinen Sauerstoff. Limonen besitzt ein Chiralitätszentrum, es gibt zwei Enantiomere, die sich im Geruch wie auch im Geschmack unterscheiden. Der Geruch von R-(+)-Limonen ist orangenartig, während der Geruch von L-(-)-Limonen terpentinartig ist. R-(+)-Limonen ist häufig in Zitrusfrüchten enthalten (z. B. als Hauptbestandteil des ätherischen Öls der Zitrone), S-(-)-Limonen ist ein typischer Bestandteil des ätherischen Öls von Koniferen (Nadelbäumen) und ist beispielsweise in Pfefferminzöl und in Tannenöl enthalten. Das Racemat kommt beispielsweise in Fichtennadelöl vor. Limonen wird an der Luft zu Carvon oxidiert. Limonen wird als preiswerter Duft- und Aromastoff eingesetzt, ebenfalls wird es als Lösungsmittel und Verdünner für Farben und Lacke verwendet (www.uni-duesseldorf.de, 08.04.2012).

2.9.1.2. Strukturformel S-(-)-Limonen



2.9.1.3. Strukturformel R-(+)-Limonen



2.9.1.4. Eigenschaften (www.sigmaaldrich.com, 05.05.2012)

Synonyme (+)-Lim.:	(+)-*p*-Mentha-1,8-diene
	(+)-Carvene
	(*R*)-4-Isopropenyl-1-methyl-1-cyclohexene
Synonyme (-)-Lim.:	(-)-*p*-Mentha-1,8-diene
	(-)-Carvene
	(*S*)-4-Isopropenyl-1-methyl-1-cyclohexene
CAS-Nummern:	5989-27-5 [(+)-Limonen]
	5989-54-8 [(-)-Limonen]
Summenformel:	$C_{10}H_{16}$
Molekulargewicht:	136.23
Farbe:	klare, farblose Flüssigkeit
Dichte bei 20°C:	0.84 g/cm³

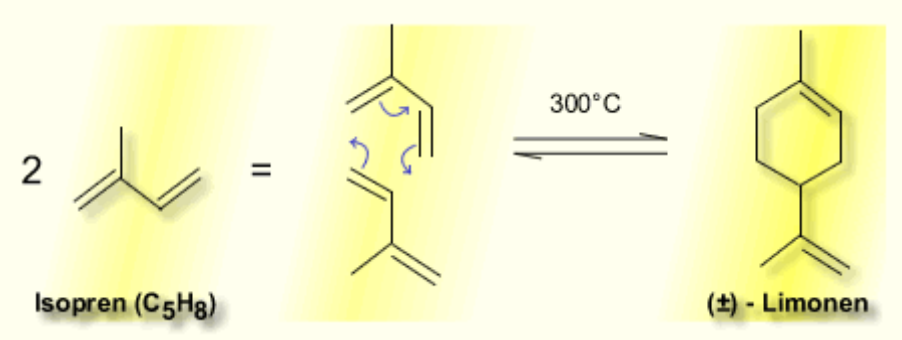
2.9.1.5. Geruch (www.uni-duesseldorf.de, 08.04.2012)

R-(+)-Limonen: orangenartig
S-(-)-Limonen: terpentinartig

2.9.2. Biosynthese von Limonen

Limonen wird aus den Grundbaustein der Terpene, dem Isopren gebildet. Durch Addition von zwei Isopreneinheiten entsteht das Monoterpen Limonen (www.chemgapedia.de, 01.05.2012).

Abb. 14. Biosynthese von Limonen (www.chemgapedia.de, 01.05.2012)



2.9.3. Antibakterielle Aktivität

2.9.3.1. Limonen allgemein

Von Sobhy und El-Feky wurde die antibakterielle Wirksamkeit des ätherischen Öls und eines ethanolischen Extrakts der apikalen Teile von *Helichrysum stoechas* (Asteraceae) untersucht. Das ätherische Öl hatte einen hohen Anteil an Limonen (16.7%). Es wurde die antibakterielle Wirkung gegen *Staphylococcus epidermis, Klebsiella pneumonae* und gegen einige weitere Bakterienstämme mittels Disc-Difussion-Assay untersucht. Das ätherische Öl von *Helichrysum stoechas* hatte dabei eine signifikante antibakterielle Aktivität gegen die beiden oben genannten Keime (Sobhy und El-Feky, 2007).

In einer Arbeit von Oh et al. wurden die ätherischen Öle dreier Koniferen auf ihre antibakterielle Wirksamkeit hin geprüft, es handelte sich um die Öle von *Abies koreana*

(Pinaceae), *Cryptomeria japonica* (Taxodiaceae) und *Torreya nucifera* (Taxaceae). Interessant sind hier *Torreya nucifera* mit einem hohen Anteil von Limonen (13.5%) und *Abies koreana* mit Limonen als Hauptbestandteil (23.5%). Die antibakterielle Wirksamkeit wurde mittels Disc-Diffusion-Assay und mittels MIC-Assay (minimal inhibitory concentration) bestimmt. Es wurden die Bakterien *Staphylococcus epidermis* und *Escherichia coli* untersucht. Das ätherische Öl von *Torreya nucifera* hatte eine moderate Wirkung gegen *Staphylococcus epidermis* und keine Wirkung gegen *Escherichia coli*. Das ätherische Öl von *Abies koreana* hatte gegen *Staphylococcus epidermis* eine starke Wirksamkeit und gegen *Escherichia coli* eine moderate Wirksamkeit (Oh et al., 2007).

Von Jirovetz et al. wurden drei verschiedene ätherische Öle der Art *Anethum graveolens* L. (Apiaceae), umgangssprachlich auch Dill genannt, auf ihre antimikrobielle Wirksamkeit untersucht. Es wurden Öle aus verschiedenen Pflanzenteilen und aus verschiedenen Regionen verwendet. Das erste Öl stammt aus Kasachstan und wurde aus dem Kraut der Pflanze gewonnen. Das zweite Öl stammt aus Rumänien und wurde ebenfalls aus dem Kraut gewonnen. Das dritte Öl stammt auch aus Rumänien und wurde aus dem Samen gewonnen. Geprüft wurden die einzelnen ätherischen Öle und ihre wichtigsten Einzelkomponenten das (+) und (-) Limonen und das (+) und (-) Carvon, ebenfalls wurde Carvon als racemisches Gemisch geprüft. Als Referenz diente Eugenol, dessen gute antimikrobielle Wirksamkeit schon bekannt ist. Zur Anwendung kamen zwei verschiedene Agar-Diffusions Methoden, einmal der Disc-Diffusion-Assay und des weiteren der Cup-Diffusion-Assay. Als Bakterien wurden in der Untersuchung *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonae*, *Staphylococcus aureus* und *Pseudomonas aeruginosa* verwendet. Die Ergebnisse dieser Studie zeigten, dass das ätherische Öl aus dem rumänischen Kraut am effektivsten war, die beiden anderen Öle waren weniger effektiv. Dies zeigt, dass die geographische Lage und die Pflanzenteile aus denen ein ätherisches Öl gewonnen wird, auch für seine Wirkung von Bedeutung sind. Bei der Prüfung der Einzelsubstanzen war das Carvon stärker antibakteriell wirksam als das Limonen. Insgesamt war jedoch das Eugenol in allen Testreihen am wirksamsten (Jirovetz et al., 2004).

Askari et al. untersuchten vor kurzen die ätherischen Öle der oberirdischen Teile von *Pimpinella barbata* (Apiaceae). Diese wurden aus verschiedenen Pflanzenteilen in verschiedenen Reifestadien gewonnen. Die Zusammensetzung wurde mittels GC und GC/MS ermittelt, die Hauptkomponente war Limonen in Mengen zwischen 14.9% und

63.6%, je nach Pflanzenteil und Reifestadium. Die Untersuchung erfolgte mittels Disc-Diffusion-Assay. Getestet wurde gegen die grampositiven Bakterien *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Micrococcus luteus* und *Staphylococcus aureus* und die gramnegativen Bakterien *Yersina entrocolitica*, *Klebsiella pneumonae* und *Escherichia coli*. Als Referenz dienten die Antibiotika Tetracyclin und Gentamycin. Die Wirksamkeit der ätherischen Öle war im Vergleich zu den Antibiotika deutlich geringer und wird von den Autoren als nicht signifikant bezeichnet. Gegen *Yersina entrocolitica* waren alle getesteten Öle vollkommen unwirksam (Askari et al., 2010).

Der Verderb von Nahrungsmitteln ist für die Nahrungsmittelindustrie ein großes Problem. Die Folgen sind der Verlust an Nährwert, die geminderte Nahrungsmittelsicherheit und natürlich auch der wirtschaftliche Verlust der den Unternehmen entsteht. Ätherische Öle sind dabei eine gute Methode Nahrungsmittel vor dem Verderb zu schützen, ebenfalls sind diese auch eine gute Alternative zu herkömmlichen Konservierungsmitteln. Aus diesem Grund wurden von Sipailiene et al. die ätherischen Öle von Thymian und Majoran auf ihre antibakterielle Wirkung gegen zehn typische Bakterien, die beim Nahrungsverderb eine Rolle spielen, untersucht. Die Hauptkomponente des ätherischen Öls von *Origanum majorana* (Lamiaceae), dem Majoran, war Limonen mit 17.3%, Thymianöl hatte kein Limonen in nennenswerter Menge. Die Untersuchung der antibakteriellen Wirksamkeit erfolgte mittels Disc-Diffusion-Assay in drei verschiedenen Konzentrationen und zwar 10%, 5% und 3%. Das Majoranöl war nur in hohen Konzentrationen gegen die meisten Keime wirksam, seine Wirksamkeit nahm mit geringerer Konzentration stark ab. Das Thymianöl war in dieser Untersuchung deutlich überlegen. Als Kontrollsubstanz diente in dieser Studie Ethanol (Sipailiene et al., 2006).

Tyagi und Malik untersuchten das ätherische Öl von *Eukalyptus globulus* (Myrtaceae) auf seine antibakterielle Wirksamkeit gegen sechs verschiedene Bakterien, die am Verderb von Nahrungsmitteln beteiligt sind. Getestet wurde einmal die Wirkung des flüssigen Öls und einmal die Wirkung der Dämpfe des Öls. Die Zusammensetzung der Öle in seinen verschiedenen Aggregatzuständen wurde mittel GC-MS und SPME-GC-MS ermittelt. Im flüssigen ätherischen Öl ist Limonen mit 17.8% vertreten, im Dampf des ätherischen Öls ist Limonen mit 29.9% vertreten. Die antibakterielle Wirksamkeit wurde mit verschiedenen Methoden untersucht, erstens durch die Bestimmung des MIC (minimum inhibitory concentration) mittels der Agar-Dilutions-Methode, zweitens durch Bestimmung der MBC (minimum bactericidal concentration) mittels der

Nährmedium-Dilutions-Methode, drittens mit der Well-Diffusions-Methode mit Mengen des ätherischen Öls von 10, 20, 30 und 40µL und viertens mit der Disc-Voltalisations-Methode mit Mengen von 20, 40 und 60µL des ätherischen Öls. Dabei zeigte sich, dass das ätherische Öl von *Eukalyptus globulus* eine gute Wirksamkeit gegen die untersuchten Bakterien hatte, die Dämpfe des ätherischen Öls zeigten jedoch eine noch wesentlich stärkere antimikrobielle Wirksamkeit (Tyagi und Malik, 2011).

Aufgrund steigernder Resistenzen pathogener Bakterien gegenüber Antibiotika sind alternative Strategien zur Reduktion von pathogenen Bakterien nötig. Diese Rolle können ätherische Öle mit antimikrobieller Aktivität übernehmen. Aus diesem Grund wurde von Nannapaneni et al. die antibakterielle Wirkung von sieben verschiedenen Zitrusextrakten gegen den pathogenen Keim *Escherichia coli* O157:H7 untersucht. Die untersuchten Extrakte, die eine antibakterielle Wirkung gegen *Escherichia coli* O157:H7 zeigten, waren „Orangenöl kalt gepresst, Valencia terpenlos FAB 968611“ und „Limonen 1-fach destilliert FAB 955430“. Diese beiden Extrakte zeigten im Disc-Diffusion-Assay in einer Konzentration von 10µL/Disc gute Werte mit Hemmzonen von 11-24mm. Die restlichen fünf Extrakte „(Orangenöl FL VAL 1121 ARR 974760, Orangenöl 5-fach konzentriert VAL 4121 ARR 968374, Orangenterpene ESS 1120 ARR 986259, Orangenterpene CP 1100 ARR 986255 und Orangenterpene OEO HP 1100 ARR 986257)“ zeigten keine hemmende Wirkung auf *Escherichia coli* O157:H7. Diese Studie zeigt, dass sich verschiedene Zitrusderivate in ihrer antibakteriellen Wirkung unterscheiden, sie weisen jedoch teilweise ein gutes Potential zur Hemmung von *Escherichia coli* O157:H7 auf (Nannapaneni et al., 2008).

Alicyclobacillus acidoterrestris ist ein grampositives, acidophiles, thermophiles und sporenbildendes Bakterium. In einer Studie von Bevilacqua et al. wurde die antibakterielle Wirkung von Limonen gegen zwei Stämme dieses Bakteriums untersucht. Die Untersuchung erfolgte mit einer modifizierten Mikrodilutios-Methode. Das Ergebnis zeigte, dass Limonen keine hemmende Wirkung auf dieses Bakterium hatte (Bevilacqua et al., 2008).

Von van Vuuren und Viljoen wurde 2007 die antibakterielle Wirkung von (+)-Limonen, (-)-Limonen, 1,8-Cineol und verschiedener Kombinationen dieser drei Komponenten untersucht. Die antibakterielle Wirksamkeit wurde durch Bestimmung des MIC (minimum inhibitory concentration) für acht verschiedene Bakterien ermittelt. Zur Kontrolle dienten Ciprofloxacin und Amphotericin B. Die besten Ergebnisse in dieser Studie lieferte (-)-Limonen. Bei den Kombinationen der einzelnen Substanzen konnte

festgestellt werden, dass es zu additiven, synergistischen wie auch antagonistischen Effekten (im Vergleich zu den Einzelsubstanzen) kommen kann (van Vuuren und Viljoen, 2007).

2.9.3.2. (-)-Limonen

Das ätherische Öl von *Mentha spicata* L. (Lamiaceae) wurde von Aggarwal et al. auf seine Zusammensetzung und seine antibakterielle Aktivität hin untersucht. Die Bestimmung der Zusammensetzung erfolgte mittels IR, 1H- und 13C-NMR und GC, (S)-(-)-Limonen (27.3%) und (S)-(-)-Carvon (56.6%) wurden dabei als Hauptbestandteile des ätherischen Öls von *Mentha spicata* L. ermittelt. Die antibakterielle Aktivität wurde für das ätherische Öl wie auch für dessen Hauptkomponenten (S)-(-)-Limonen und (S)-(-)-Carvon bestimmt, zur Anwendung kamen der Disc-Diffusion-Assay und die Nährmedium-Dilutions-Methode (diese Methode wurde nur für die Hauptkomponenten verwendet, nicht für das ätherische Öl). Geprüft wurden dreizehn verschiedene Bakterienstämme. Beim Disc-Diffusion-Assay wurde mit Konzentrationen von 5µg/Disc des ätherischen Öls bzw. der Einzelkomponenten und mit Kanamycin (30µg/Disc) als Vergleichssubstanz gearbeitet. Das ätherische Öl zeigte eine moderate Wirkung gegen die meisten getesteten Keime, (S)-(-)-Carvon zeigte als Einzelkomponente jedoch eine bessere Wirkung und wahr näher an den Werten von Kanamycin (Aggarwal et al., 2002).

2.9.3.3. (+)-Limonen

Das ätherische Öl von *Anethum sowa* Roxb. (Apiaceae) wurde von Aggarwal et al. auf seine Zusammensetzung und seine antibakterielle Aktivität hin untersucht. Die Bestimmung der Zusammensetzung erfolgte mittels IR, 1H- und 13C-NMR und GC, (R)-(+)-Limonen (21.4%) und (R)-(+)-Carvon (50.4%) wurden dabei als Hauptbestandteile des ätherischen Öls von *Anethum sowa* Roxb. ermittelt. Die antibakterielle Aktivität wurde für das ätherische Öl wie auch für dessen Hauptkomponenten (R)-(+)-Limonen und (R)-(+)-Carvon bestimmt, zur Anwendung kamen der Disc-Diffusion-Assay und die Nährmedium-Dilutions-Methode (diese Methode wurde nur für die Hauptkomponenten verwendet, nicht für das ätherische Öl). Geprüft wurden dreizehn verschiedene Bakterienstämme. Beim Disc-Diffusion-Assay

wurde mit Konzentrationen von 5µg/Disc des ätherischen Öls bzw. der Einzelkomponenten und mit Kanamycin (30µg/Disc) als Vergleichssubstanz gearbeitet. Das ätherische Öl zeigte eine schwache Wirkung gegen die meisten getesteten Keime, (R)-(+)-Carvon und (R)-(+)-Limonen zeigten als Einzelkomponenten jedoch eine bessere Wirkung und waren näher an den Werten von Kanamycin. Insgesamt zeigte sich in dieser Untersuchung, dass (R)-(+)-Carvon und (R)-(+)-Limonen besser wirksam sind als ihre jeweiligen (S)-(-)-Varianten. Das ätherische Öl von *Mentha spicata* L. (mit (S)-(-)-Carvon und (S)-(-)-Limonen) war dennoch stärker antibakteriell wirksam als das ätherische Öl von *Anethum sowa* Roxb. (mit (R)-(+)-Carvon und (R)-(+)-Limonen), dies deutet darauf hin, dass auch die Nebenbestanteile eines ätherischen Öls für seine antibakterielle Wirksamkeit von hoher Bedeutung sind (Aggarwal et al., 2002).

2.9.4. Antifungale Aktivität

2.9.4.1. Limonen allgemein

Von Sobhy und El-Feky wurde die antifungale Wirksamkeit des ätherischen Öls und eines ethanolischen Extrakts der apikalen Teile von *Helichrysum stoechas* (Asteraceae) untersucht. Das ätherische Öl hatte einen hohen Anteil an Limonen (16.7%). Es wurde die antifungale Wirkung gegen *Candida albicans, Candida tropicolis* und *Toluropsis glabrata* mit Hilfe eines Disc-Diffuion-Assays untersucht. Das ätherische Öl von *Helichrysum stoechas* hatte dabei eine signifikante antifungale Aktivität gegen *Candida albicans* (Sobhy und El-Feky, 2007).

In der oben schon genannten Arbeit von Oh et al. wurden die ätherischen Öle dreier Koniferen auch auf ihre antifungale Wirksamkeit gegen *Candida albicans* hin geprüft, es handelte sich um die Öle von *Abies koreana* (Pinaceae), *Cryptomeria japonica* (Taxodiaceae) und *Torreya nucifera* (Taxaceae). Interessant sind hier das ätherische Öl von *Torreya nucifera* mit einem hohen Anteil von Limonen (13.5%) und *Abies koreana* mit Limonen als Hauptbestandteil (23.5%). Die antifungale Wirksamkeit wurde mittels Disc-Diffusion-Assay und mittels MIC-Assay (minimal inhibitory concentration) bestimmt. Das ätherische Öl von *Abies koreana* hatte eine gute Wirkung gegen *Candida albicans*, dass von *Torreya nucifera* nicht (Oh et al., 2007).

Von Jirovetz et al. wurden drei verschiedene ätherische Öle der Art *Anethum graveolens* L. (Apiaceae), umgangssprachlich auch Dill genannt, ebenfalls auf ihre antifungale Wirksamkeit gegen *Candida albicans* untersucht. Die einzelnen ätherischen Öle wurden oben unter Punkt 2.9.3.1. schon beschrieben. Geprüft wurden die einzelnen ätherischen Öle und ihre wichtigsten Einzelkomponenten das (+) und (-) Limonen und das (+) und (-) Carvon, als Referenz diente Eugenol, dessen gute antimikrobielle Wirksamkeit schon bekannt ist. Zur Anwendung kamen zwei verschiedene Agar-Diffusions Methoden, einmal der Disc-Diffusion-Assay und des weiteren der Cup-Diffusion-Assay. Die Ergebnisse dieser Studie zeigten, dass das ätherische Öl aus dem rumänischen Kraut am effektivsten gegen *Candida albicans* war, die beiden anderen Öle waren weniger effektiv. Bei der Prüfung der Einzelsubstanzen war das Carvon stärker antifungal wirksam als das Limonen. Insgesamt war jedoch das Eugenol in allen Testreihen am wirksamsten (Jirovetz et al., 2004).

Askari et al. untersuchten vor kurzen die ätherischen Öle der oberirdischen Teile von *Pimpinella barbata* (Apiaceae). Diese wurden aus verschiedenen Pflanzenteilen in verschiedenen Reifestadien gewonnen. Die Zusammensetzung wurde mittels GC und GC/MS ermittelt, die Hauptkomponente war Limonen in Mengen zwischen 14.9% und 63.6%, je nach Pflanzenteil und Reifestadium. Die Untersuchung erfolgte mittels Disc-Diffusion-Assay, getestet wurde die antifungale Wirkung der ätherischen Öle von reifen und unreifen Samen gegen *Candida albicans*. Die Wirksamkeit der ätherischen Öle war mit Hemmzonen von 14.0mm (reife Samen) und 18.0mm (unreife Samen) recht gut, es wurde jedoch kein Vergleich zu einem Antimykotikum durchgeführt (Askari et al., 2010).

Von Sipailiene et al. wurden die ätherischen Öle von Thymian und Majoran auch auf ihre antifungale Wirkung gegen acht typische Hefen, die beim Nahrungsverderb eine Rolle spielen, untersucht. Die Hauptkomponente des ätherischen Öls von *Origanum majorana* (Lamiaceae), dem Majoran, war Limonen mit 17.3%, äth. Thymianöl enthielt kein Limonen in nennenswerter Menge, seine Hauptkomponente war Thymol (31.4%). Die Untersuchung der antifungalen Wirksamkeit erfolgte mittels Disc-Diffusion-Assay in drei verschiedenen Konzentrationen und zwar 10%, 5% und 3%. Das Majoranöl war nur in hohen Konzentrationen gegen die alle Hefen wirksam, seine Wirksamkeit nahm mit geringerer Konzentration stark ab. Das Thymianöl war in dieser Untersuchung deutlich überlegen. Als Kontrollsubstanz diente in dieser Untersuchung Ethanol (Sipailiene et al., 2006).

Tyagi und Malik untersuchten das ätherische Öl von *Eukalyptus globulus* (Myrtaceae) auf seine antifungale Wirksamkeit gegen sechs verschiedene Pilze und zwei Hefen, die am Verderb von Nahrungsmitteln beteiligt sind. Getestet wurde, einmal die Wirkung des flüssigen Öls und einmal die Wirkung der Dämpfe des Öls. Die Zusammensetzung der Öle in seinen verschiedenen Aggregatzuständen wurde mittel GC-MS und SPME GC-MS ermittelt. Im flüssigen ätherischen Öl ist Limonen mit 17.8% vertreten, im Dampf des ätherischen Öls ist Limonen mit 29.9% vertreten. Die antifungale Wirksamkeit wurde mit verschiedenen Methoden untersucht. Erstens durch die Bestimmung des MIC (minimum inhibitory concentration) mittels der Agar-Dilutions-Methode, zweitens durch Bestimmung der MBC (minimum fungicidal concentration) mittels der Nährmedium-Dilutions-Methode, drittens mit der Well-Diffusions-Methode mit Mengen des ätherischen Öls von 10, 20, 30 und 40µL und viertens mit der Disc-Voltalisations-Methode mit Mengen von 20, 40 und 60µL des ätherischen Öls. Dabei zeigte sich, dass das ätherische Öl von *Eukalyptus globulus* eine sehr gute Wirksamkeit gegen die untersuchten Pilze und Hefen hatte, die Dämpfe des ätherischen Öls zeigten sogar eine noch wesentlich stärkere antifungale Wirksamkeit (Tyagi und Malik, 2011).

2.9.4.2. (-)-Limonen

Das ätherische Öl von *Mentha spicata* L. (Lamiaceae) wurde von Aggarwal et al. auf seine Zusammensetzung und seine antifungale Aktivität hin untersucht. Die Bestimmung der Zusammensetzung erfolgte mittels IR, 1H- und 13C-NMR und GC, (S)-(-)-Limonen (27.3%) und (S)-(-)-Carvon (56.6%) wurden dabei als Hauptbestandteile des ätherischen Öls von *Mentha spicata* L. ermittelt. Die antifungale Aktivität wurde für das ätherische Öl wie auch für dessen Hauptkomponenten (S)-(-)-Limonen und (S)-(-)-Carvon bestimmt, zur Anwendung kamen der Disc-Diffusion-Assay und die Nährmedium-Dilutions-Methode (diese Methode wurde nur für die Hauptkomponenten verwendet, nicht für das ätherische Öl). Geprüft wurden sieben verschiedene Pilzstämme. Beim Disc-Diffusion-Assay wurde mit Konzentrationen von 5µg/Disc des ätherischen Öls bzw. der Einzelkomponenten gearbeitet, es kam kein Antimykotikum als Vergleichssubstanz zum Einsatz. Das ätherische Öl zeigte eine sehr unterschiedliche Wirkung, je nach Pilzstamm (Werte von 6-36mm wurden ermittelt). (S)-(-)-Carvon zeigte als Einzelkomponente in fast allen Fällen eine bessere Wirkung als das ätherische Öl (Aggarwal et al., 2002).

2.9.4.3. (+)-Limonen

Das ätherische Öl von *Anethum sowa* Roxb. (Apiaceae) wurde von Aggarwal et al. auf seine Zusammensetzung und seine antifungale Aktivität hin untersucht. Die Bestimmung der Zusammensetzung erfolgte mittels IR, 1H- und 13C-NMR und GC, (R)-(+)-Limonen (21.4%) und (R)-(+)-Carvon (50.4%) wurden dabei als Hauptbestandteile des ätherischen Öls von *Anethum sowa* Roxb. ermittelt. Die antifungale Aktivität wurde für das ätherische Öl wie auch für dessen Hauptkomponenten (R)-(+)-Limonen und (R)-(+)-Carvon bestimmt, zur Anwendung kamen der Disc-Diffusion-Assay und die Nährmedium-Dilutions-Methode (diese Methode wurde nur für die Hauptkomponenten verwendet, nicht für das ätherische Öl). Geprüft wurden sieben verschiedene Pilzstämme. Beim Disc-Diffusion-Assay wurde mit Konzentrationen von 5µg/Disc des ätherischen Öls bzw. der Einzelkomponenten gearbeitet, es kam kein Antimykotikum als Vergleichssubstanz zum Einsatz. Das ätherische Öl zeigte eine sehr unterschiedliche Wirkung, je nach Pilzstamm (Werte von 7-34mm wurden ermittelt). (R)-(+)-Carvon und (R)-(+)-Limonen zeigten als Einzelkomponenten jedoch eine bessere Wirkung und waren in fast allen Fällen stärker antifungal wirksam. Insgesamt zeigte sich bei der antifugalen Untersuchung, dass (R)-(+)-Carvon und (R)-(+)-Limonen ähnlich wirksam sind wie ihre jeweiligen (S)-(-)-Varianten. Das ätherische Öl von *Mentha spicata* L. (mit (S)-(-)-Carvon und (S)-(-)-Limonen) war ähnlich stark antifungal wirksam wie das ätherische Öl von *Anethum sowa* Roxb. (mit (R)-(+)-Carvon und (R)-(+)-Limonen), ein bedeutender Unterschied in der Wirksamkeit wie bei den Bakterien, war bei den ätherischen Ölen in diesem Fall nicht feststellbar (Aggarwal et al., 2002).

2.9.5. Andere Eigenschaften

2.9.5.1. Limonen allgemein

Im Tierexperiment zeigten Farnesol und Perillaalkohol, das hydroxylierte Analogon von Limonen, bei einigen Tumoren chemotherapeutische Aktivität. Perillaalkohol zeigte schon in vielen organspezifischen Tumormodellen (bei Nagetieren) eine antikarzinogene Aktivität. In einer Dosis von 500µM zeigt Perillaalkohol schon einen

zytostatischen Effekt. In einer Dosis von 75mg/kg (beim Tierexperiment an der Nacktmaus), unterdrückte die Substanz das Wachstum des Tumors und der regionalen Lymphknoten-Metastasen. Zu seinen chemopräventiven und chemotherapeutischen Eigenschaften zeigt Perillaalkohol zusätzlich auch eine antiangiogene Wirkung, diese kommt durch die Freisetzung von zwei wichtigen angiogenen Regulatoren zustande. Perillaalkohol befindet sich derzeit in klinischen Studien der Phasen I und II wo seine Wirkung als Antitumor-Agens geprüft wird. Limonen zeigt sedative und muskelrelaxierende Effekte, in hohen Dosen führt es zur Verlängerung der Phenobarbital-induzierten Schlafzeit bei der Maus (www.pharmazeutische-zeitung.de, 02.05.2012).

2.9.5.2. (+)-Limonen

Monoterpene haben eine antikarzinogene Wirksamkeit, diese beruht auf den chemopräventiven Effekten in der Kanzerogenese. Diese finden während der Initiierungs- und der Promotionsphase statt. Die Induktion von Phase-I-Enzymen und gleichzeitige Stimulation von Phase-II-Enzymen durch R-(+)-Limonen, führt nicht nur zur Hemmung der Initiierung, sondern auch zur Hemmung von Promotion und Progression der Krebsentstehung. R-(+)-Limonen führte schon in geringen Dosen, bei Tierexperimenten an Maus und Ratte, zur Inhibition von experimentell induzierten Tumoren von Lunge und Magen. Es senkt auch die Anzahl tierexperimentell induzierter Mammatumore und führt zur Regression primärer Tumore. Des weiterem hemmte Limonen das Tumorwachstum und die Metastasierung beim Magenkrebs im Tiermodell durch seine antiangiogene und proapoptotische Wirkung (www.pharmazeutische-zeitung.de, 02.05.2012).

2.9.6. Nebenwirkungen

Limonen wirkt hautreizend (R38). Eine Sensibilisierung bei Hautkontakt ist möglich (R43). Limonen ist sehr giftig für Wasserorganismen und kann in Gewässern längerfristig schädliche Wirkung haben (R50/53) (www.sigmaaldrich.com, 05.05.2012).

2.10. Orangenöl

2.10.1. Allgemeines

2.10.1.1. Beschreibung

Bei Orangenöl unterscheidet man einerseits zwischen bitterem und süßem Orangenöl und andererseits zwischen der geographischen Lage, wo die Orangen geerntet wurden. So gibt es z.B. brasilianisches, kalifornisches und aus Floria stammendes Orangenöl. Bitterorangenöl wird aus verschiedenen Subspezies von *Citrus aurantium* L. gewonnen, süßes Orangenöl wird aus verschiedenen Subspezies von *Citrus sinensis* (L.) Osbeck gewonnen (www.sigmaaldrich.com, 09.05.2012).
Im Arzneibuch (EuAB) wird die Bitterorangenschale auch als Arzneidroge geführt, sie wird aus dem getrockneten Epikarp und Mesokarp der reifen Frucht von *Citrus aurantium* L. ssp. *aurantium* hergestellt. Die Droge wird wie folgt beschrieben: elliptische bis unregelmäßig geformte 5 bis 8cm lange, 3 bis 5cm breite und circa 3mm dicke Stücke. Die Außenfläche ist gelb bis rotbraun und punktiert, die Innenfläche ist gelbweiß bis braunweiß (www.pharmakobotanik.de, 09.05.2012).

2.10.1.2. Eigenschaften (www.richter-chemie.de, 24.04.2012)

Synonyme:	Orangenschalenöl
CAS-Nummer:	8028-48-6
Farbe:	klare, gelbliche Flüssigkeit
Dichte bei 20°C:	0.85 g/cm³

2.10.1.3. Geruch

Orangenöl:	charakteristisch nach Orange (www.richter-chemie.de)

2.10.1.4. Zusammensetzung

Die Hauptkomponente von ätherischem Orangenöl ist mit bis zu 90% das (+)-Limonen. Weitere Komponenten sind Aldehyde (ca. 0.8%) und Ester (ca. 2.5%) (www.pharmakobotanik.de, 09.05.2012).

2.10.1.5. Wirkung und Anwendung

Bitterorangenöl und Extrakte aus Bitterorangen werden volkstümlich bei dyspeptischen Beschwerden und Appetitlosigkeit angewendet. Die Arzneidroge (*Aurantii amari epicarpium et mesocarpium*) wird darüber hinaus auch bei Magenkrämpfen und Erbrechen angewendet. Es liegen jedoch keine wissenschaftlichen Nachweise für diese Indikationen vor. Aufgrund des bitteren Geschmacks, geht man davon aus, dass Extrakte aus Bitterorangen eine verdauungsfördernde und appetitanregende Wirkung haben. Wegen des aromatischen Geschmacks und des angenehmen Geruchs wird die Droge in der Pharmazie und in der Lebensmittelindustrie als Geschmackskorrigens verwendet (www.pharmakobotanik.de, 09.05.2012).
Auf die antimikrobielle Wirkung von Orangenölen wird in verschiedenen Studien unter den Punkten antibakterielle und antifungale Aktivität eingegangen. Außerdem wird das aus süßen Orangen gewonnene Orangenöl häufig auch als Reinigungsmittel verwendet. Das Internet ist voller Angebote für solche Reinigungsmittel.

2.10.1.6. *Citrus aurantium* L. und *Citrus sinensis L.*

2.10.1.6.1. Allgemeine Beschreibung

Bei *Citrus aurantium* L. (der Pomeranze) handelt es sich um einen rundkronigen und regelmäßig verzweigten kleinen Baum. Seine Triebe führen lange und stumpfe Dornen. Seine Blätter sind immergrün, elliptisch, spitz zulaufend und haben eine Länge von 7-10cm, die Basis der Blätter ist unterschiedlich stark keilförmig. Die Blüten können einzeln aber auch in Büscheln vorkommen und sind achselständig. Von der Knospe bis hin zum vollblühenden Zustand weisen sie eine weiße Farbe auf. Die Früchte sind 5-7cm breit und kugelförmig. Die Heimat der Pomeranze sind die Südhänge des

Himalaja-Gebirges, Malaysia und Ostafrika. Heutzutage ist sie in Florida, dem Mittelmeerraum und in anderen tropischen und subtropischen Gebieten verbreitet. *Citrus aurantium* L. gliedert sich in zwei Unterarten, einmal in *C. aurantium ssp. aurantium* (Pomeranze) und *C. aurantium ssp. bergamia* (Risso et Poit.) Engl. (Bergamotte). Die Früchte und die Blüten der Pomeranze werden zur Gewinnung ätherischer Öle verwendet (www.botanischer-garten-wuppertal.de, 09.05.2012).

Citrus sinensis (L.) Osbeck (süße Orange), ist ein 6-9m hoher Baum, er ist rundkronig und regelmäßig verzweigt. Die Krone hat einen Durchmesser von 4-6m. Die Blätter sind immergrün, glänzend, lederartig, elliptisch, spitz zulaufend und haben eine Länge von bis zu 10cm. Die Zweige sind meist mit Dornen besetzt. Die Blüten sind weiß und haben einen angenehmen Duft, sie sind in Clustern mit einer bis sechs Blüten angeordnet. Der Baum blüht im Frühjahr, die Orangen sind im folgenden Herbst oder Winter fertig ausgebildet (www.floridata.com, 10.05.2012).

Abb. 15. Citrus aurantium L. ssp. aurantium (www.botanischer-garten-wuppertal.de)

2.10.1.6.2. Taxonomie (www.biologie.uni-ulm.de, 09.05.2012)

Abteilung:	Magnoliophyta
Unterabteilung:	Magnoliophytina (= Angiospermae)
Klasse:	Magnoliatae
Unterklasse:	Rosidae
Ordnung:	Rutales
Familie:	Rutaceae
Gattung:	Citrus L.
Arten:	*Citrus aurantium* L. (Bitterorange)
	Citrus sinensis (L.) Osbeck (süße Orange, Apfelsine)

2.10.2. Gewinnung von Orangenöl

Die Schalen von Orangen enthalten gut riechende Öle. Extrakte dieses Öls sind durch mechanische Pressung gewinnbar. Das Öl-Wasser-Gemisch wird zentrifugiert, um die Öle zu gewinnen. Das Auspressen ist ein sehr schonendes Verfahren, weil keine Hitze im Spiel ist. Eine andere Variante zur Gewinnung von Aroma- und Duftstoffen aus Orangen ist die Extraktion mit Alkoholdampf (www.conatex.com, 09.05.2012).
Bei der Gewinnung von ätherischen Ölen aus Agrumenfrüchten (Zitrusfrüchten) kommen mechanische Auspressverfahren zum Einsatz. Dabei werden die Ölbehälter der Schalen aufgebrochen das Öl ausgepresst und gesammelt (Hunnius, 1997, S.992-994).

2.10.3. Antibakterielle Aktivität

Trotz der Fortschritte in der Nahrungsmittelhygiene und bei den Produktionstechniken ist die Nahrungsmittelsicherheit immer noch eine wichtige Angelegenheit. Im Jahre 2000 sind mindestens zwei Millionen Menschen an nahrungsmittelbedingten Durchfallerkrankungen gestorben. Deshalb herrscht immer noch ein Bedarf (zu den schon bestehenden Methoden) an neuen Methoden und Substanzen, die Nahrungsmittelkeime hemmen oder reduzieren können. Aus diesen Gründen wurden von Celikel und Kavas verschiedene ätherische Öle, darunter auch Orangenöl, auf ihre

antibakterielle Wirksamkeit hin untersucht. Die Zusammensetzung der ätherischen Öle wurde mittels GC bestimmt, die Hauptkomponente des Orangenöls war Limonen mit 84%. Die antibakterielle Wirkung wurde gegen die Bakterien *Escherichia coli, Staphylococcus aureus* und *Listeria monocytogenes* untersucht. Die Bestimmung der antibakteriellen Aktivität erfolge einerseits mittels Disc-Diffusion-Assay in Konzentrationen von 5-20µL/Disc und andererseits mittels einer Bestimmung des Bakterienwachstums in mit ätherischen Ölen in Konzentrationen von 0.5-3% (v/v) versetzter sterilisierter Milch. Orangenöl hatte im Disc-Diffusion-Assay nur in einer Menge von 20µL/Disc eine signifikante Wirkung gegen alle getesteten Keime. Im Vergleich zu den anderen getesteten ätherischen Ölen (Thymian, Salbei und Myrte), hatte Orangenöl aber die schwächste Wirkung. In der Testmethode mit der sterilisierten Milch war Orangenöl in Konzentrationen ab 2% (v/v) wirksam, auch hier waren die anderen ätherischen Öle besser wirksam (Celikel und Kavas, 2008).

In einer älteren Arbeit von Dabbah et al. aus dem Jahre 1970 wurde die antibakterielle Wirkung verschiedener Zitrusöle und der Reinsubstanzen Limonen, Terpineol und Geraniol, gegen die Bakterien *Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Salmonella senftenberg* und *Pseudomonas* species (No.18) untersucht. Dabei wurden 1000ml Nährlösung mit 1000µL der jeweiligen Substanz / des jeweiligen ätherischen Öls versetzt und die Wachstumshemmung ermittelt. Dabei war Orangenöl bei allen vier getesteten Bakterienstämmen gut wirksam und führte zu einer deutlichen Wachstumshemmung (Dabbah et al., 1970).

Campylobacter jejuni und *Campylobacter coli* sind natürliche Verunreinigen in lebendem Geflügel und in Geflügelprodukten. Sie sind die häufigste Ursache für Gastroenteritis in den Industrieländern. *Campylobacter* kann auch zu verschiedenen gesundheitlichen Komplikationen führen, wie zum Beispiel dem Guillain-Barre Syndrom, einer akuten neurologischen Erkrankung gekennzeichnet durch Paralyse. Gemäß wissenschaftlicher Untersuchungen sind 90-100% des rohen Geflügels im Einzelhandel der Industrieländer mit *Campylobacter* belastet. Zusätzlich ist Geflügelfleisch in Japan auch oft mit verschiedenen *Arcobacter* Spezies belastet. Aus diesem Grund wurde von Nannapaneni et al. im Jahre 2009 die Wirksamkeit von sieben verschiedenen Orangenölfraktionen gegen die oben genannten Bakterien untersucht. Die untersuchten Ölfraktionen waren „kalt gepresstes Valencia Orangenöl, 5-fach konzentriertes Valencia Orangenöl, kalt gepresstes terpenloses Valencia Orangenöl, Terpene aus Orangensaftkonzentrat, Terpene aus kalt gepressten Orangenöl, destilliertes

d-Limonen und hoch reine Terpene aus Orangenessenz". Die Prüfung der antibakteriellen Wirksamkeit erfolgte mittels Disc-Diffusion-Assay. Am effektivsten gegen die beiden *Campylobacter*-Stämme war das „kalt gepresste terpenlose Valencia Orangenöl", mit Hemmzonen bis zu 80mm, die anderen Öle hatten nur Hemmzonen zwischen 11 und 44mm. Das „kalt gepresste terpenlose Valencia Orangenöl" war auch das einzige der untersuchten Öle, welches auch gegen *Arcobacter* wirksam war. Dieses Öl zeigte deutlich ein antibakterielles Potential gegen diese Geflügelkeime (Nannapaneni et al., 2009).

Von Schelz et al. wurde die antibakterielle Wirkung von zehn verschiedenen ätherischen Ölen und von Menthol untersucht. Es wurde die Wirkung gegen die Bakterien *Escherichia coli* und *Staphylococcus epidermis* untersucht. Zur Anwendung kamen der Disc-Diffusion-Assay (mit Konzentrationen von 20-30µL/Disc) und die Bestimmung der MIC (minimal inhibitory concentration). Penicillin und Gentamycin dienten zur Kontrolle. Orangenöl zeigte dabei im Disc-Diffusion-Assay keine Wirkung gegen die getesteten Bakterien und erzielte dass schlechteste Ergebnis unter den getesteten ätherischen Ölen (Schelz et al, 2006).

2.10.4. Antifungale Aktivität

Celikel und Kavas untersuchten auch die antifungale Wirkung verschiedener ätherischer Öle, darunter auch Orangenöl, gegen *Candida albicans*. Die Bestimmung der antifungalen Aktivität erfolge, wie auch bei den Bakterien, einerseits mittels Disc-Diffusion-Assay in Konzentrationen von 5-20µL/Disc und andererseits mittels einer Bestimmung des Bakterienwachstums in mit ätherischen Ölen in Konzentrationen von 0.5-3% (v/v) versetzter sterilisierter Milch. Orangenöl hatte im Disc-Diffusion-Assay nur in einer Menge von 20µL/Disc eine signifikante Wirkung gegen *Candida albicans*. Im Vergleich zu den anderen getesteten ätherischen Ölen (Thymian, Salbei und Myrte), hatte Orangenöl aber die schwächste Wirkung. In der Testmethode mit der sterilisierten Milch war Orangenöl in Konzentrationen ab 2% (v/v) wirksam. Auch hier waren die anderen ätherischen Öle besser wirksam (Celikel und Kavas, 2008).

Von Schelz et al. wurde die antifungale Wirkung zehn verschiedener ätherischer Öle sowie von Menthol untersucht. Es wurde die Wirkung gegen die Pilzstämme *Saccharomyces cerevisiae* 0425 52C und *Saccharomyces cerevisiae* 0425 δ/1

untersucht. Zur Anwendung kamen der Disc-Diffusion-Assay (mit Konzentrationen von 20-30µL/Disc) und die Bestimmung der MIC (minimal inhibitory concentration). Das Antimykotikum Fluconazol diente zur Kontrolle. Orangenöl zeigte dabei im Disc-Diffusion-Assay nur eine schwache Wirkung gegen die getesteten Pilzstämme und hatte auch hier ein schlechtestes Ergebnis im Vergleich zu den anderen ätherischen Ölen (Schelz et al, 2006).

2.10.5. Nebenwirkungen

Das Vorhandensein von Furanocumarinen im Orangenöl, kann besonders bei hellhäutigen Personen zu Photosensibilisierung und nachfolgender phototoxischer Reaktionen der Haut führen. Extrakte und Abkochungen von Orangenschalen können zu einer Hemmung der Resorption des Antibiotikums Cyclosporin führen (www.pharmakobotanik.de, 09.05.2012).
Orangenöl wirkt hautreizend (R38). Eine Sensibilisierung bei Hautkontakt ist möglich (R43). Orangenöl ist sehr giftig für Wasserorganismen und kann in Gewässern längerfristig schädliche Wirkung haben (R50/53) (www.carlroth.com, 09.05.2012).

2.11. Tannenzapfenöl

2.11.1. Allgemeines

2.11.1.1. Beschreibung

Tannenzapfenöl wird aus den Zapfen von *Abies alba Mill.* (Pinaceae) hergestellt. Es handelt sich um eine farblose Flüssigkeit mit einem charakteristischen Geruch nach Tanne (www.unterweger-oils.com, 30.04.2012).

2.11.1.2. Eigenschaften (www.kremer-pigmente.com, 24.04.2012)

Synonyme:	Pine oil
CAS-Nummer:	8021-27-0
Farbe:	klare farblose Flüssigkeit
Dichte bei 20°C:	0.850 - 0.870 g/cm^3

2.11.1.3. Geruch

Tannenzapfenöl: charakteristisch nach Tanne (www.kremer-pigmente.com)

2.11.1.4. Zusammensetzung

Spezifische Inhaltsstoffe sind: α-Pinen, Camphen, Myrcen, β-Pinen und Limonen (www.unterweger-oils.com, 30.04.2012).

Tab. 3. Zusammensetzung des in der vorliegenden Arbeit verwendeten Tannenzapfenöles laut Analyse Dr. Wanner (Fa. Kurt Kitzing).

Tannenzapfenöl 801693

GC-Files: Lfd.Nr.:/Lieferant Charge	Tannenzapfenoel… Unterweger 14170 %
Tricyclen	0,03
Pinen-alpha	18,05
Camphen	0,29
Pinen-ß	2,51
Myrcen	2,5
Limonen	67,9
Phellandren-ß	0,23
p-Cymen	0,43
Terpinolen	0,07
Verbenol	0,06
Octylacetat	0,02
Terpineol-alpha	0,2
Bornylacetat	0,06
Cubeben-alpha	0,17
Longipinen-alpha	0,06
Copaen-alpha	0,3
Caryophyllen	0,32
Gurjunen-ß	0,08
Cadinen-y	0,15
Cadinen-delta	0,44
Summe	**93,87**
Brechungsindex:	**1,4736**
Dichte:	**0,853**
Farbe:	**l.grünlich**
Geruch:	**charakteristisch**

2.11.1.5. Wirkung und Anwendung

Den ätherischen Ölen der Weiß-Tanne werden auswurffördernde, antimikrobielle und hautreizende Eigenschaften zugeschrieben. Weißtannenöl wird bei Erkrankungen der Atemwege (inhalativ) und bei rheumatischen Beschwerden (topisch) sowie bei Durchblutungsstörungen verwendet (www.baumkunde.de, 30.04.2012).

2.11.1.6. *Abies alba Mill.*

2.11.1.6.1. Allgemeine Beschreibung

Abies alba Mill., auf Deutsch die Weiß-Tanne gehört zur Familie der Pinaceaen. Es handelt sich um einen 30-60m hohen Baum. Die jungen Kronen sind kegelförmig, bei ältern Bäumen überragen die Seitenäste den Gipfeltrieb. Die Rinde ist mehr oder weniger glatt, je nach Alter des Baumes. Die Nadeln sind einzeln an Langtrieben, sie sind bis zu 3mm breit, 3cm lang, flach, stumpf, dunkelgrün und unterseits mit zwei weißen Wachsstreifen versehen. Die Zapfen stehen aufrecht und sich schuppenförmig auflösend (www.floraweb.de, 30.04.2012).

Abb. 16. Zapfen von Abies alba Mill, der Weißtanne (www.floraweb.de, 30.04.2012)

2.11.1.6.2. Taxonomie (www.bayernflora.de, 30.04.2012)

Abteilung:	Spermatophyta
Unterabteilung:	Coniferophytina
Klasse:	Pinopsida
Unterklasse:	Pinidae
Ordnung:	Pinales
Familie:	Pinaceae
Gattung:	Abies
Art:	*Abies alba Mill*.

2.11.1.6.3. Inhaltsstoffe

Typische Hauptbestanteile des Tannenzapfenöls sind die Monoterpene, Bornylacetat (20-40%), Santen, Limonen, α-Pinen, Camphen, β-Pinen und Cadinen (www.lwf.bayern.de, 30.04.2012).

2.11.2. Gewinnung von Tannenzapfenöl

Tannenzapfenöl wird aus den im August und September geernteten Zapfen von *Abies alba Mill.* (Pinaceae) hergestellt. Es wird mit einer Ausbeute von 1% durch Wasserdampfdestillation gewonnen (www.unterweger-oils.com, 30.04.2012).

2.11.3. Antibakterielle Aktivität

In einer Untersuchung von neun verschiedenen in der Türkei vorkommenden *Abies* Arten durchgeführt von Bağci und Diğrak wurde auch die antimikrobielle Wirksamkeit ihrer ätherischen Öle untersucht. Die untersuchten Arten waren *Abies koreana* Wills, *A. alba* Mill., *A. pinsapo* Boiss., *A. concolor* (Gord. et Glend.) Lindl. ex Hildebr., *A. firma* Sieb. et Zucc., *A. nordmanniana* (Stev.) Spach. subsp *nordmanniana, A. cilicica* (Ant. et Kotschy.) Carr. subsp. *cilicica, A. cilicica* (Ant. et Kotschy.) Carr. subsp. *isaurica* Coode et Cullen, *A. nordmanniana* (Stev.) Spach. subsp. *bornmüelleriana* Mattf., alle aus der Familie der Pinaceae. Es wurde die antibakterielle Aktivität gegen *Escherichia coli, Bacillus megaterium, B. cereus, B. subtilis, B. brevis, Pseudomonas aeruginosa, Listeria monocytogenes, Klebsiella pneumoniae, Enterobacter aerogenes* und *Staphylococcus aureus* mit Hilfe des Disc-Diffusion-Assay untersucht. Dabei kam man zu dem Ergebnis, dass die antibakterielle Wirksamkeit in drei Gruppen einteilbar ist. In der ersten Gruppe sind die Arten, deren äth. Öl gar keine antibakterielle Wirksamkeit hatte, darunter *A. pinsapo* und *A. concolor*. In der zweiten Gruppe sind die Arten deren äth. Öl eine moderate antibakterielle Wirksamkeit hatte, darunter sind *A. alba* und *A. firma*. In der dritten Gruppe sind jene Arten, deren äth. Öl eine starke antibakterielle Wirksamkeit zeigte, dies sind *A. koreana, A. cilicica* subsp. *cilicica, A. cilicica* subsp. *isaurica, A. nordmanniana* subsp. *nordmanniana* und *A. nordmanniana* subsp.

Bornmüelleriana. Überraschend war, dass die meisten getesteten äth. Öle nur eine schlechte Wirksamkeit gegen *Escherichia coli* besaßen (Bağci und Diğrak, 1996).
In einer Studie von Lee et al. (2008) wurde die Zusammensetzung des ätherischen Öls der Zapfen von *Pinus koraiensis* der Korea-Kiefer (Pinaceae) untersucht. Die Bestimmung der Zusammensetzung mittels GC-MS lieferte 87 Komponenten, als Hauptkomponenten wurden Limonen (27.90%), α-Pinen (23.89%), β-Pinen (12.02%), 3-Caren (4.95%) und β-Myrcen (4.53%) ermittelt (Lee et al., 2008).
Das ätherische Öl der Zapfen von *Abies alba* Mill. ist jenem von *Pinus koraiensis* somit sehr ähnlich.

Die Samen von *Pinus koraiensis* werden im Asiatischen Raum als Nahrungsergänzungsmittel und die Pflanze und Bestandteile dieser Pflanze werden in der Asiatischen Medizin schon seit tausenden von Jahren als Arzneimittel genutzt. In der Studie von Lee et al. wurde die antimikrobielle Wirkung des ätherischen Öls von *Pinus koraiensis* untersucht. Die Untersuchung wurde mittels Disc-Diffusion-Assay und mittels Nährmedium-Mikrodilutions Methode und damit verbunden der Bestimmung der Minimal-Inhibitory-Concentration (MIC) durchgeführt. Im Disc-Diffusion-Assay wurde die Wirksamkeit gegen *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* und *Klebsiella oxytoca* mit ätherischen Öl in Konzentrationen von 2.2µg, 4.4µg und 8.8µg/Disc gemessen, als Kontrolle diente Chloramphenicol in einer Konzentration von 30µg/Disc. Chloramphenicol hatte in allen Fällen bessere Ergebnisse als das ätherische Öl, jedoch zeigte das ätherische Öl auch eine deutliche antibakterielle Wirkung. Die einzige Ausnahme war die Wirksamkeit gegen *Staphylococcus aureus*. Diese war nur in einer Konzentration von 8.8µg/Disc gegeben und war nur gering ausgeprägt. Zusätzlich wurde die MIC für zehn verschiedene Bakterienstämme ermittelt (Lee et al., 2008).
Ingesamt sind nur wenige Studien die sich speziell mit der Wirkung des ätherischen Öls der Zapfen von *Abies alba* Mill. beschäftigen zu finden.

2.11.4. Antifungale Aktivität

In der Untersuchung der oben schon genannten neun Abies Arten und ihrer ätherischen Öle von Bağci und Diğrak, wurde auch die antifungale Wirksamkeit gegen die Hefen *Saccharomyces cerevisiae* und *Candida albicans* mit einem Disc-Diffusion-Assay untersucht. Dabei kam man zu dem Ergebnis, dass die antifungale Wirksamkeit in die drei selben Gruppen einteilbar ist, wie bei der antibakteriellen Wirksamkeit. In der ersten Gruppe sind die Arten, deren äth. Öl gar keine antifungale Wirksamkeit hatte, darunter *A. pinsapo* und *A. concolor*. In der zweiten Gruppe sind die Arten deren äth. Öl eine moderate antifungale Wirksamkeit hatte, darunter sind *A. alba* und *A. firma*. In der dritten Gruppe sind jene Arten, deren äth. Öl eine starke antifungale Wirksamkeit zeigte, dies sind *A. koreana*, *A. cilicica* subsp. *cilicica*, *A. cilicica* subsp. *isaurica*, *A. nordmanniana* subsp. *nordmanniana* und *A. nordmanniana* subsp. *Bornmüelleriana*. Ingesamt zeigte sich in dieser Untersuchung, dass die Wirksamkeit gegen die Pilze stärker war als gegen die Bakterien (Bağci und Diğrak, 1996).
In der oben schon erwähnten Studie der Wirkung des ätherischen Öls der Zapfen von *Pinus koraiensis* von Lee et al. wurde auch die antifungale Wirkung des Öls untersucht. Dabei wurde die Minimal-Inhibitory-Concentration (MIC) des äthersichen Öls gegen Pilzstämme von sechs *Candida-Arten*, *Cryptococcus neoformans* und *Aspergillus fumigatus* ermittelt, die Ergebnisse werden von den Autoren als herausragend beschrieben, eine Hemmung des Pilzwachstums war dabei schon bei sehr geringen Konzentrationen feststellbar (Lee et al., 2008).

2.11.5. Andere Eigenschaften

In einer Studie von Karkabounas et al. (2000) wurden wässrige Extrakte von *Abies alba* und seiner Mistelzweige *Viscum album se abies* auf ihr anticarcinogenes Potential untersucht. Die Untersuchung wurde an Benzo(alpha)pyrene(BaP)-induzierten Tumoren in Wistar Ratten durchgeführt, dabei wurde 10mg BaP subkutan injiziert, eine 100%-ig karzinogene Dosis. Eine weitere Untersuchung wurde an der malignen Zelllinie L-1210 durchgeführt. In beiden Untersuchungsmethoden konnte gezeigt werden, dass beide Extrakte anticarcinogene Effekte aufwiesen (Karkabounas et al., 2000).

2.11.6. Nebenwirkungen

Tannenzapfenöl kann zu Ekzemen und Reizerscheinungen an Haut und Schleimhäuten führen. Eine Verstärkung einer Bronchienverkrampfung ist möglich (www.apotheke.by, 30.04.2012).

3. Praktischer Teil

3.1. Materialien

3.1.1. Reuter Centrifugal Sampler

Während der praktischen Durchführung der Diplomarbeit, wurde zur Bestimmung der Luftkeimzahl in den Testräumen ein Reuter-Centrifugal-Sampler (Standard-RCS) der Firma Biotest AG, Landsteiner Str.5 in D-63303 Dreieich, verwendet. Der RCS Luftkeimsammler dient der Bestimmung des Keimgehaltes in der Luft, er arbeitet nach dem Aufschleuder-Prinzip. Hierbei werden die Mikroorganismen auf ein Nährmedium in Form von Agarstreifen abgeschieden. Der Rotor des Batteriegetriebenen RCS hat eine Abscheideleistung von 40 Liter/min, bei 4096 Umdrehungen/min. Dabei muss man zwischen dem Umwälzvolumen und dem Abscheidevolumen Unterscheiden, welches nur ein Teil des Umwälzvolumens ist. Das Abscheidevolumen kann rechnerisch über eine mathematische Formel ermittelt werden. Das Gerät bietet die Möglichkeit fünf feste Laufzeiten zu verwenden, 0.5 , 1 , 2 , 4 und 8 Minuten, diese sind der Raumgröße, dem Nährmedium und der Verkeimung der Luft anzupassen. Nach Ablauf der Laufzeit schaltet sich das Gerät von selbst ab. Der Messbereich des Gerätes liegt bei min. 20L (0.5min) bis max. 320L (8min). Der RCS Luftkeimsammler wird in verschiedenen Bereichen der Industrie und des Gesundheitswesens verwendet (www.biotest.at, 05.10.2011).

Abb. 17. RCS Luftkeimsammler (Foto: Banovac)

3.1.2. Brutschrank

Zur Bebrütung der Agarstreifen wurde ein Brutschrank der Firma Memmert GmbH + Co. KG, Äußere Rittersbacher Straße 38, D-91123 Schwabach verwendet. Bei dem Brutschrank handelt es sich um das Modell BE 500, mit einem Fassungsvermögen von 108 Liter.

Abb. 18. Brutschrank (Foto: Banovac)

3.1.3. Biotest Nährmedien

Bei dieser Diplomarbeit wurden als Nährmedium für die Verwendung im RCS spezielle Agarstreifen der Firma Biotest AG, benutzt. Bei diesen Agarsteifen handelt es sich um flexible Träger aus Kunststoff, die in 34 Einzelfelder unterteilt sind, durch die Unterteilung wird das spätere manuelle Auszählen mit dem Auge vereinfacht. Die Auswahl des geeigneten Nährmediums hängt von den Keimen und der Untersuchung ab. Bei den verwendeten Agarstreifen in dieser Arbeit handelt es sich um TC-Agar-Streifen (TC steht für Total Count), zur Bestimmung der Gesamtkeimzahl in der Luft.

Die Zusammensetzung ist wie folgt: auf 1 Liter destilliertes Wasser kommen, 15.0g pankreatitisch verdautes Casein, 5.0g Sojabohnen-Pepton, 5.0g Natriumchlorid, 16.0g Agar-Agar und ein Puffersystem. Der PH-Wert liegt standardmäßig bei 7.3 +/- 0.2. Die Lagerung sollte laut Hersteller lichtgeschützt, bei 2 – 25°C erfolgen, Idealerweise in der mitgelieferten Styroporschachtel. Proben der Agarsterifen werden vor Auslieferung einem Leistungs- und Sterilitätstest durch die Firma Biotest AG unterzogen. Die empfohlene Inkubationszeit liegt laut Hersteller bei 1 – 5 Tagen bei 30 – 35°C in einem Brutschrank. Das wichtigste bei der Wahl von Zeit und Temperatur ist, dass man die Keime später gut mit den Augen sehen und zählen kann (Biotest AG – Packungsbeilage, 2011).

Abb. 19. Agarstreifen ohne Keime (Foto: Banovac)

Abb. 20. Agarstreifen mit Keimen, nach Bebrütung (Foto: Banovac)

3.1.4. Sprühflaschen

Zum Versprühen der ätherisch Öl / Wasser-Emulsion wurden Sprühflaschen der Firma VWR International GmbH (Wien) verwendet. Diese haben ein Fassungsvermögen von 10ml, bestehen aus Braunglas und haben einen Kunstoff-Sprühaufsatz der bei jedem Pumpvorgang, ca. 0.05ml der Emulsion in einem Winkel von 35° versprüht. Die Reinigung der Sprühflaschen erfolgte nach jeder Verwendung mit Waschethanol und destilliertem Wasser.

Abb. 21. Sprühflaschen, 3 Stück (Foto: Banovac)

3.2. Versuchsräume

Die Bestimmungen der Luftkeimzahlen und Substanzwirkungen wurde in den Waschräumen der Sanitäranlagen des Pharmaziezentrums der Universität Wien, Althanstrasse 14, 1090 Wien durchgeführt. Die Raumgröße betrug 1,6m x 1,5m x 3,4m, dies entspricht ca. 8m³. Die Kenntnis der Raumgröße wurde zur Konzentrationsbestimmung benötigt. Die durchschnittliche Raumtemperatur während der Messungen betrug 26°C bei einer durchschnittlichen Luftfeuchtigkeit von 54%. Raumausstattung bei den Messungen: Waschbecken, Papierkorb, Papiertuchspender, Seifenspender und Spiegel.

Abb. 22. Waschraum (Foto: Banovac)

3.3. Versuchsanordnung

Der standardmäßige Ablauf wird in den folgenden Zeilen beschrieben. Als Erstes wird die Ausgangskeimzahl (AKZ in KBE/m³) bestimmt. Dazu wird der Luftkeimsammler mit einem Agarstreifen der Firma Biotest AG bestückt. Dabei gilt es folgendes zu beachten: Der verwendete Agarstreifen darf nur seitlich berührt werden, weil es sonst zu einer Kontamination mit Keimen von den Händen kommen kann. Grundsätzlich sind bei der Durchführung Handschuhe zu tragen. Als nächstes wird mit dem Luftkeimsammler in der Raummitte 4min lang die Luft angesaugt. Nach Ende der Ansaugzeit, wird der Agarstreifen entnommen und in die Packung zurückgelegt. Dann erfolgt das Versprühen der Testsubstanz in einer Konzentration von 5mg/m³ (Emulsion aus ätherischem Öl und Wasser) im Raum, diese sollte möglichst gleichmäßig im Raum verteilt werden. Nach einer Einwirkzeit von 15min im geschlossenen Waschraum, wird die Endkeimzahl (EKZ in KBE/m³) in der Luft bestimmt, dies geschieht in gleicher Weise, wie die Bestimmung der Ausgangskeimzahl. Die Agarstreifen mit den Luftkeimen werden nun verschlossen und in einem Brutschrank bei 37°C so lange bebrütet, bis sich gut sichtbare Kolonien gebildet haben. Dieses dauert in der Regel 24 bis 48 Stunden. Wichtig dabei ist, dass die Schichtseite der Agarstreifen nach unten

zeigt, damit kein Kondenswasser auf die Agarfläche tropft, wodurch das Ergebnis verfälscht werden würde. Die Kolonien werden dann ausgezählt und deren Anzahl in eine Liste eingetragen. Die fertig ausgezählten Streifen werden gesammelt und in einem Autoklaven bei 2 bar und 121°C, 15min sterilisiert. Danach können Sie entsorgt werden.

3.4. Berechnung der Luftkeimzahl

Die Angabe der Luftkeimzahl erfolgt in koloniebildenden Einheiten pro Kubikmeter Luft (KBE/m³). Bei der Bestimmung sind die Ansaugzeit (Laufzeit) und die ausgezählten Kolonien auf dem Agarstreifen von Bedeutung.

Abb. 23. Formel zur Berechnung der KBE/m³

$$\text{KBE/m}^3 = \frac{\text{Kolonien} * 25}{\text{Laufzeit (min)}}$$

3.5. Testsubstanzen

Die folgenden Substanzen wurden in dieser Diplomarbeit auf ihre antimikrobielle Wirkung untersucht.

=> Cis-Nerolidol, (DSM Nutritional Products, D-79639 Grenzach-Wyhlen; [CAS: 3790-78-1])

=> Nerolidol synth.(E/Z 40:60), (Kurt Kitzing GmbH, D-86757 Wallerstein; [CAS: 7212-44-4])

=> Cabreuvaöl (Paraguay), (Kurt Kitzing GmbH, D-86757 Wallerstein)

=> O-Methyl-Nerolidol (E/Z 40:60), (Kurt Kitzing GmbH, D-86757 Wallerstein)

=> O-Ethyl-Nerolidol (E/Z 40:60), (Kurt Kitzing GmbH, D-86757 Wallerstein)

=> (-)-α-Bisabolol, (Sigma Aldrich GmbH, D-89555 Steinheim; [CAS: 23089-26-1])

=> trans, trans Farnesol, (Sigma Aldrich GmbH, D-89555 Steinheim; [CAS: 106-28-5])

=> (-)-Limonen, (SAFC, CH-9470 Buchs SG; [CAS: 5989-54-8])

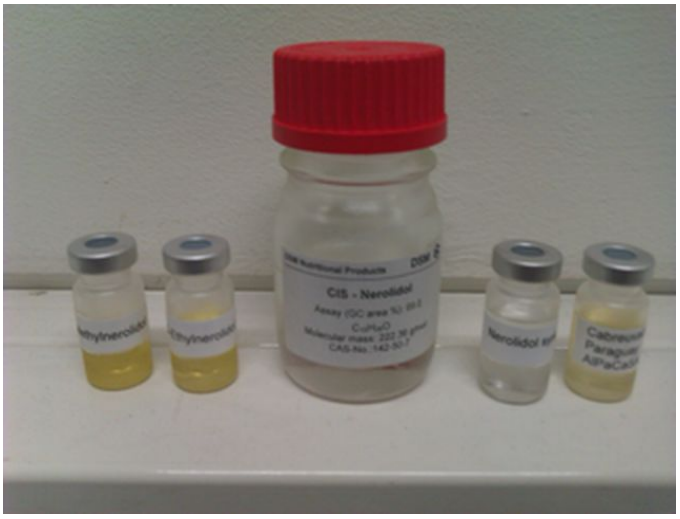
=> (+)-Limonen, (Sigma Aldrich GmbH, D-89555 Steinheim; [CAS: 5989-27-5])

=> Orangenöl, (Kurt Kitzing GmbH, D-86757 Wallerstein; [Artikel Nr.: 800 596])

=> Tannenzapfenöl, (Brüder Unterweger GmbH, A-9911 Assling)

=> Aqua dest. als Vergleichssubstanz

Abb. 24. Testsubstanzen (Foto: Banovac)



3.6. Verwendete Konzentrationen

Die Testsubstanzen wurden in einer Verdünnung von 1:100 getestet. Dafür wurden 1.0 g des jeweiligen Äth. Öls auf 100.0g mit Aqua dest. aufgefüllt und homogenisiert, 4.0g davon wurden in die Sprühflasche gefüllt. Dies entspricht einer Konzentration von 5 mg/m³, bezogen auf den Versuchsraum von 8m³. Es wurden 10 Messungen zu jedem Äth. Öl durchgeführt.

3.7. Statistische Größen

Die statistischen Größen die unter Punkt 4 zur Auswertung verwendet wurden, werden in den folgenden Zeilen kurz beschrieben:

<u>Mittelwert:</u>

Der Mittelwert wird allgemein auch als Durchschnitt bezeichnet. Mathematisch gesehen gibt es verschiedene Arten von Mittelwerten, ohne nähere Bestimmung verwendet ist üblicherweise das arithmetische Mittel gemeint. Es wird durch die Addition aller

vorhandenen Werte und die anschließende Division der Summe durch die Anzahl der Werte berechnet (http://www.statistics4u.com, 21.10.2011).
Die Berechnung Erfolg nach der Formel in Abbildung 25.

Abb. 25. Berechnung des Mittelwerts (www.deprag.com, 21.10.2011)

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \cdot \sum_{i=1}^{n} x_i$$

n = Anzahl der Beobachtungswerte x_i
x_i = i-ter Beobachtungswert

Standardabweichung:
Die Standardabweichung ist ein Maß in der Stochastik für die Streuung der Einzelwerte einer Zufallsvariablen um ihren Mittelwert. Für eine Zufallsvariable X ist Sie definiert als die positive Quadratwurzel aus deren Varianz (http://www.mathepedia.de, 21.10.2011).

Abb. 26. Berechnung der Standardabweichung (www.deprag.com, 21.10.2011)

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n} (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

Mittlere Abweichung:
„Die mittlere Abweichung gibt die durchschnittliche absolute Abweichung einer Reihe von Merkmalsausprägungen und ihrem Mittelwert zurück. Die mittlere Abweichung ist ein Maß für die Streuung innerhalb einer Datengruppe" (Microsoft Excel 2003, Hilfe).

Abb. 27. Berechnung der Mittleren Abweichung (http://startistik.csd.univie.ac.at, 21.10.2011)

$$MAD = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^{n} |x_i - \tilde{x}|$$

4. Ergebnisse

4.1. Neroliol und von Nerolidol abgeleitete Substanzen

4.1.1. Cis-Nerolidol

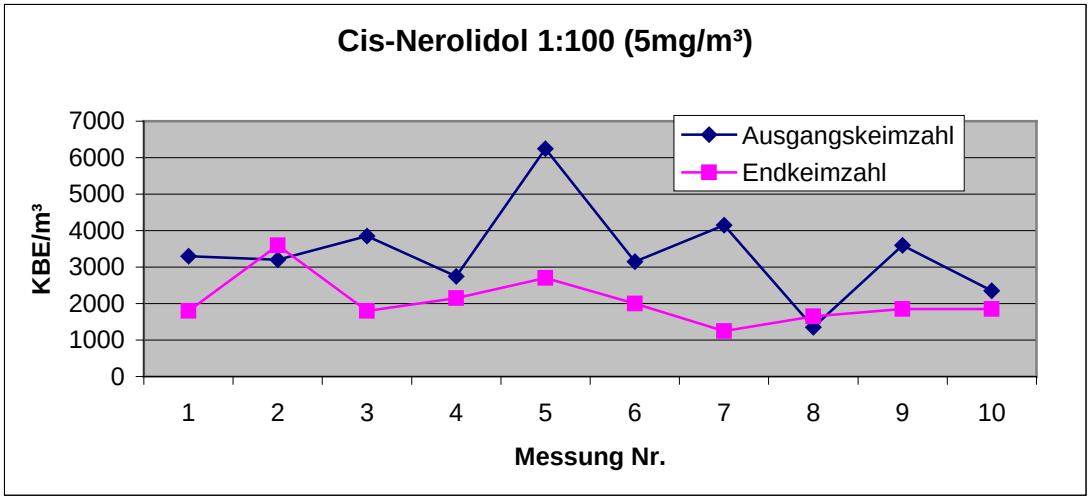
Tab. 4. Keimzahlen - cis-Nerolidol (5mg/m³)

Cis-Nerolidol 1:100 =>> 5mg/m³

KBE - vorher	KBE - nachher	Ausgangs-keimzahl	End-keimzahl	Reduktion absolut	Reduktion in %
66	36	3300	1800	-1500	-45,45
64	72	3200	3600	400	12,50
77	36	3850	1800	-2050	-53,25
55	43	2750	2150	-600	-21,82
125	54	6250	2700	-3550	-56,80
63	40	3150	2000	-1150	-36,51
83	25	4150	1250	-2900	-69,88
27	33	1350	1650	300	22,22
72	37	3600	1850	-1750	-48,61
47	37	2350	1850	-500	-21,28

Mittelwert:	-1330,00	-31,89
Standardabweichung:	1291,90	30,03
mittlere Abweichung:	1020,00	23,84

Abb. 28. Diagramm cis-Nerolidol (5mg/m³)



4.1.2. Nerolidol synth.

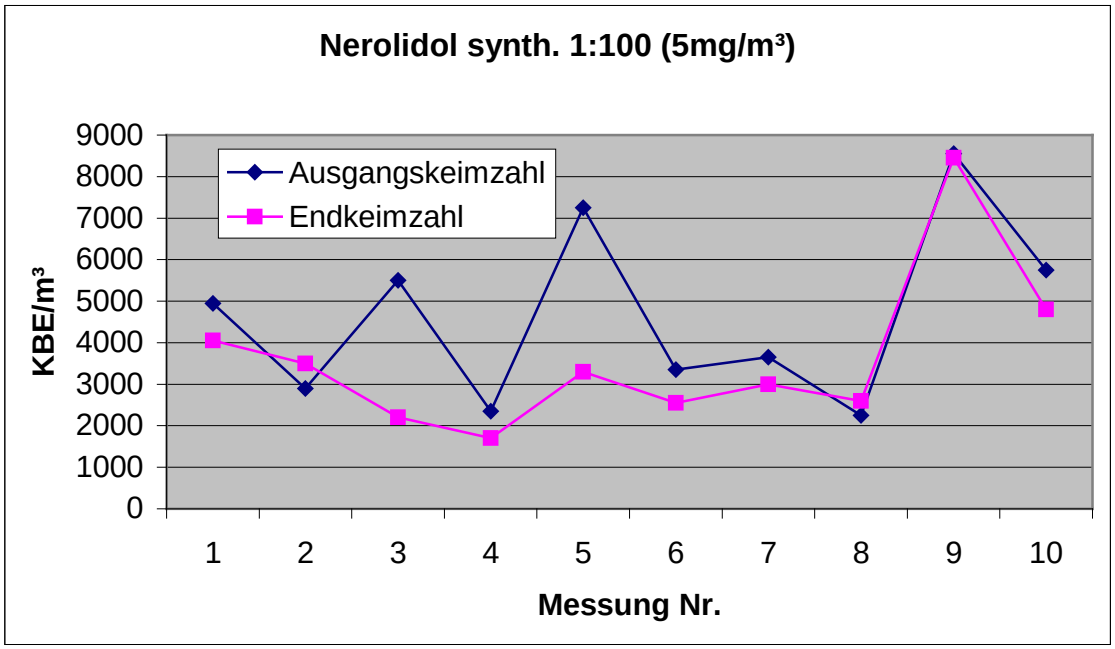
Tab. 5. Keimzahlen - Nerolidol synth. (5mg/m³)

Nerolidol synth. 1:100 =>> 5mg/m³

KBE - vorher	KBE - nachher	Ausgangs-keimzahl	End-keimzahl	Reduktion absolut	Reduktion in %
99	81	4950	4050	-900	-18,18
58	70	2900	3500	600	20,69
110	44	5500	2200	-3300	-60,00
47	34	2350	1700	-650	-27,66
145	66	7250	3300	-3950	-54,48
67	51	3350	2550	-800	-23,88
73	60	3650	3000	-650	-17,81
45	52	2250	2600	350	15,56
171	169	8550	8450	-100	-1,17
115	96	5750	4800	-950	-16,52

Mittelwert:	-1035,00	-18,35
Standardabweichung:	1470,84	26,10
mittlere Abweichung:	1036,00	18,53

Abb. 29. Diagramm Nerolidol synth. (5mg/m³)



4.1.3. Cabreuvaöl

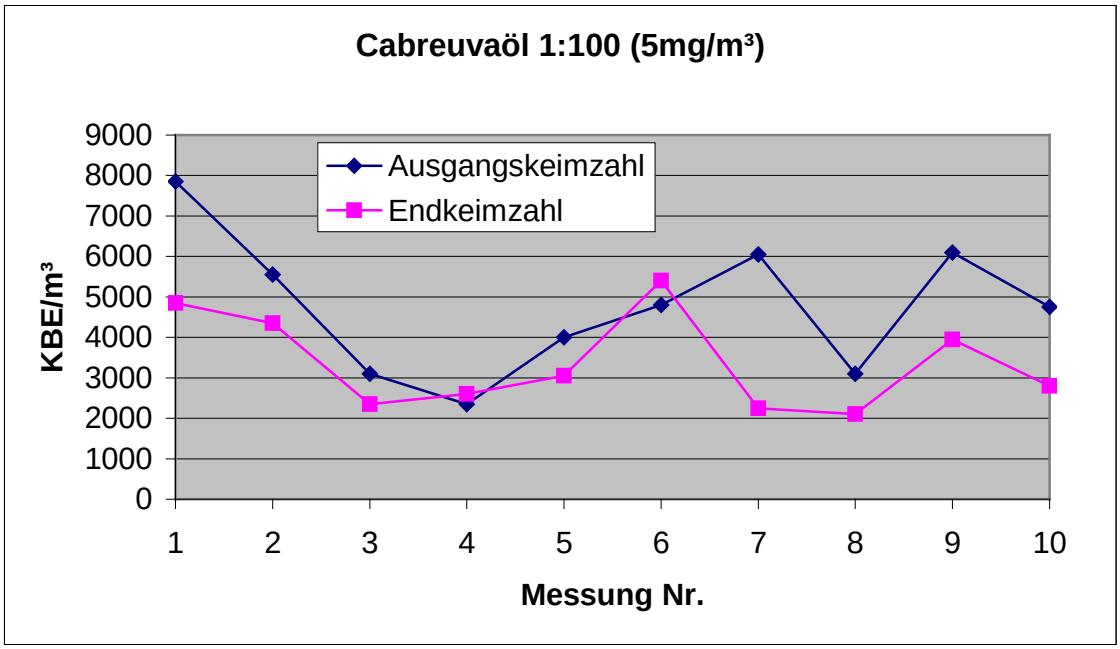
Tab. 6. Keimzahlen - Cabreuvaöl (5mg/m³)

Cabreuvaöl 1:100 =>> 5mg/m³

KBE - vorher	KBE - nachher	Ausgangs-keimzahl	End-keimzahl	Reduktion absolut	Reduktion in %
157	97	7850	4850	-3000	-38,22
111	87	5550	4350	-1200	-21,62
62	47	3100	2350	-750	-24,19
47	52	2350	2600	250	10,64
80	61	4000	3050	-950	-23,75
96	108	4800	5400	600	12,50
121	45	6050	2250	-3800	-62,81
62	42	3100	2100	-1000	-32,26
122	79	6100	3950	-2150	-35,25
95	56	4750	2800	-1950	-41,05

Mittelwert:	-1395,00	-25,60
Standardabweichung:	1363,50	22,87
mittlere Abweichung:	1064,00	16,32

Abb. 30. Diagramm Cabreuvaöl (5mg/m³)



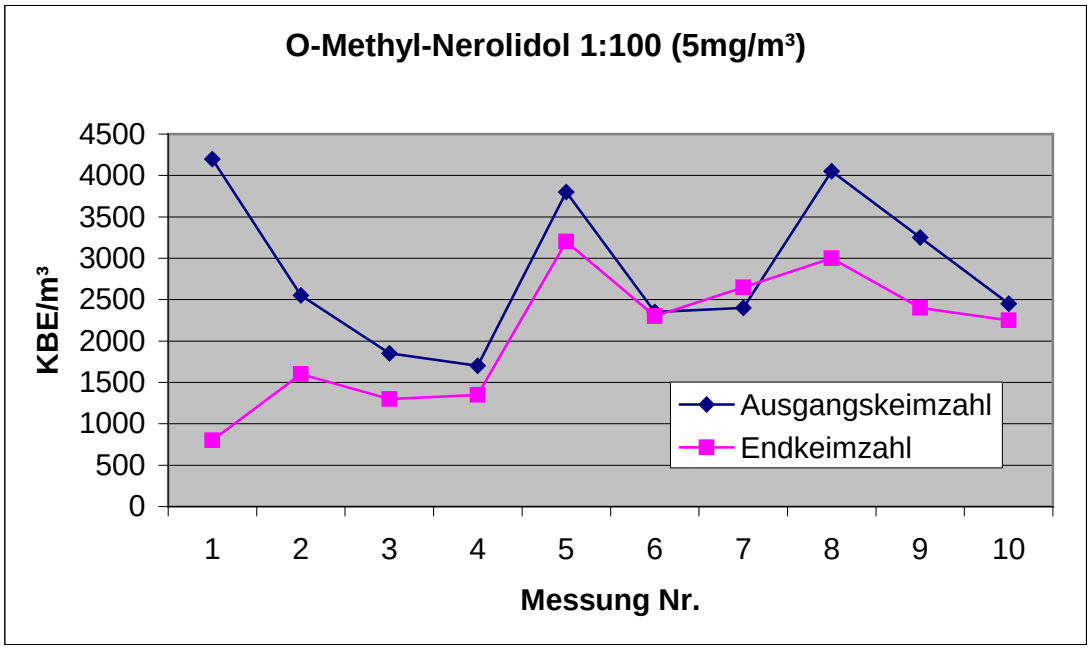
4.1.4. O-Methyl-Nerolidol

Tab. 7. Keimzahlen - o-Methyl-Nerolidol (5mg/m³)

O-Methyl-Nerolidol 1:100 =>> 5mg/m³

KBE - vorher	KBE - nachher	Ausgangs-keimzahl	End-keimzahl	Reduktion absolut	Reduktion in %
84	16	4200	800	-3400	-80,95
51	32	2550	1600	-950	-37,25
37	26	1850	1300	-550	-29,73
34	27	1700	1350	-350	-20,59
76	64	3800	3200	-600	-15,79
47	46	2350	2300	-50	-2,13
48	53	2400	2650	250	10,42
81	60	4050	3000	-1050	-25,93
65	48	3250	2400	-850	-26,15
49	45	2450	2250	-200	-8,16
		Mittelwert:		-775,00	-23,63
		Standardabweichung:		1009,47	24,61
		mittlere Abweichung:		630,00	16,38

Abb. 31. Diagramm o-Methyl-Nerolidol (5mg/m³)



4.1.5. O-Ethyl-Nerolidol

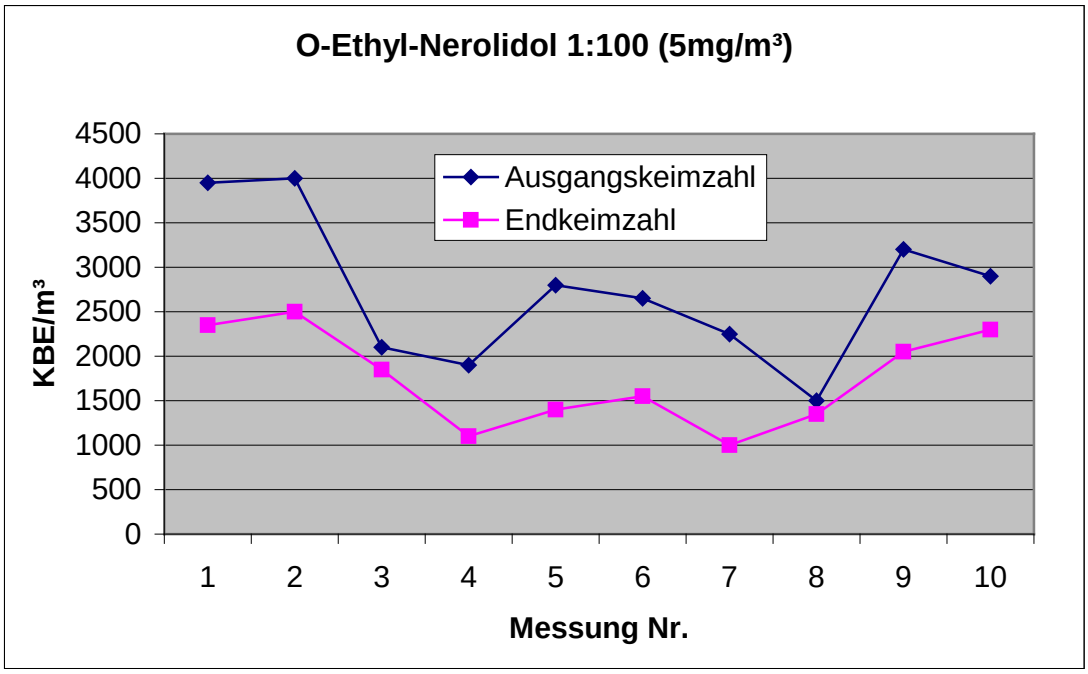
Tab. 8. Keimzahlen - o-Ethyl-Nerolidol (5mg/m³)

O-Ethyl-Nerolidol 1:100 =>> 5mg/m³

KBE - vorher	KBE - nachher	Ausgangs-keimzahl	End-keimzahl	Reduktion absolut	Reduktion in %
79	47	3950	2350	-1600	-40,51
80	50	4000	2500	-1500	-37,50
42	37	2100	1850	-250	-11,90
38	22	1900	1100	-800	-42,11
56	28	2800	1400	-1400	-50,00
53	31	2650	1550	-1100	-41,51
45	20	2250	1000	-1250	-55,56
30	27	1500	1350	-150	-10,00
64	41	3200	2050	-1150	-35,94
58	46	2900	2300	-600	-20,69

Mittelwert:	-980,00	-34,57
Standardabweichung:	510,56	15,42
mittlere Abweichung:	424,00	12,22

Abb. 32. Diagramm o-Ethyl-Nerolidol (5mg/m³)



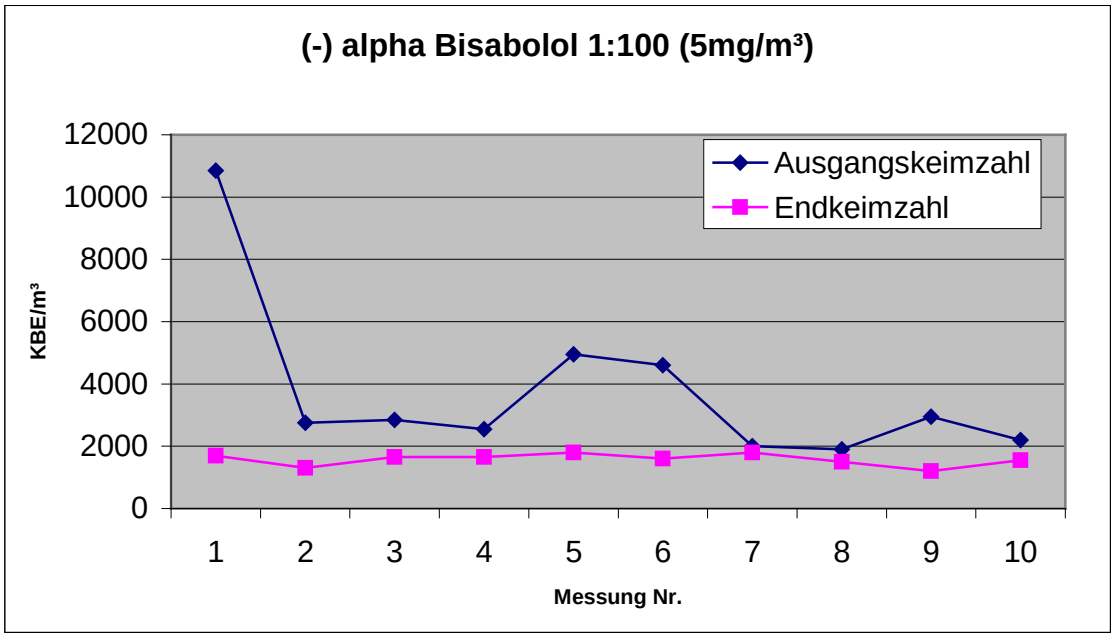
4.1.6. (-)-α-Bisabolol

Tab. 9. Keimzahlen - (-)-α-Bisabolol (5mg/m³)

(-)-α-Bisabolol 1:100 =>> 5mg/m³

KBE - vorher	KBE - nachher	Ausgangs-keimzahl	End-keimzahl	Reduktion absolut	Reduktion in %
217	34	10850	1700	-9150	-84,33
55	26	2750	1300	-1450	-52,73
57	33	2850	1650	-1200	-42,11
51	33	2550	1650	-900	-35,29
99	36	4950	1800	-3150	-63,64
92	32	4600	1600	-3000	-65,22
40	36	2000	1800	-200	-10,00
38	30	1900	1500	-400	-21,05
59	24	2950	1200	-1750	-59,32
44	31	2200	1550	-650	-29,55
		Mittelwert:		-2185,00	-46,32
		Standardabweichung:		2644,50	22,83
		mittlere Abweichung:		1749,00	18,72

Abb. 33. Diagramm (-)-α-Bisabolol (5mg/m³)



4.1.7. Trans, trans-Farnesol

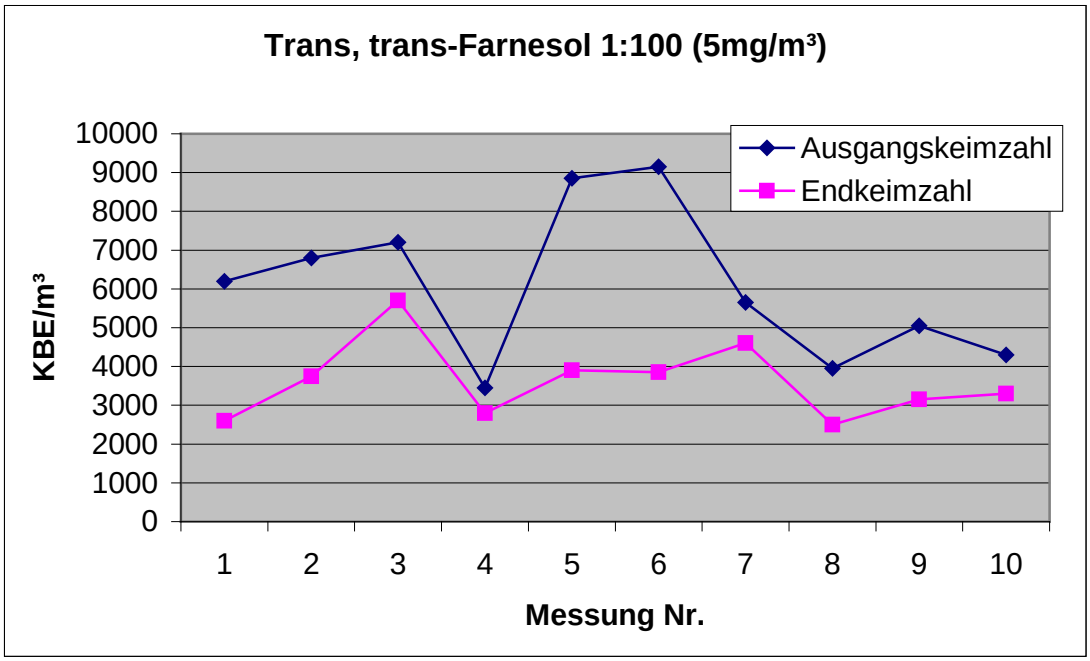
Tab. 10. Keimzahlen – trans, trans-Farnesol (5mg/m³)

Trans, trans-Farnesol 1:100 =>> 5mg/m³

KBE - vorher	KBE - nachher	Ausgangs-keimzahl	End-keimzahl	Reduktion absolut	Reduktion in %
124	52	6200	2600	-3600	-58,06
136	75	6800	3750	-3050	-44,85
144	114	7200	5700	-1500	-20,83
69	56	3450	2800	-650	-18,84
177	78	8850	3900	-4950	-55,93
183	77	9150	3850	-5300	-57,92
113	92	5650	4600	-1050	-18,58
79	50	3950	2500	-1450	-36,71
101	63	5050	3150	-1900	-37,62
86	66	4300	3300	-1000	-23,26

Mittelwert:	-2445,00	-37,26
Standardabweichung:	1685,30	16,40
mittlere Abweichung:	1424,00	13,62

Abb. 34. Diagramm trans, trans-Farnesol (5mg/m³)



4.1.8. Gegenüberstellung der „Nerolidolgruppe“

Tab. 11. Keimzahlreduktion der „Nerolidolgruppe“ im Vergleich

Nerolidolgruppe: Substanzen im Vergleich			
Substanz	mittlere Reduktion (%)	+ Standardabweichung	- Standardabweichung
Cis-Nerolidol	31,89	61,92	1,86
Nerolidol synth.	18,35	44,45	-7,75
Cabreuvaöl	25,60	48,47	2,73
O-Methyl-Nerolidol	23,63	48,24	-0,98
O-Ethyl-Nerolidol	34,57	49,99	19,15
(-) alpha Bisabolol	46,32	69,15	23,49
Trans, trans-Farnesol	37,26	53,66	20,86
Wasserwert	16,20	32,07	0,33
Leerwert	12,14	23,14	1,14

Abb. 35. Vergleich der „Nerolidolgruppe“ als Säulendiagramm

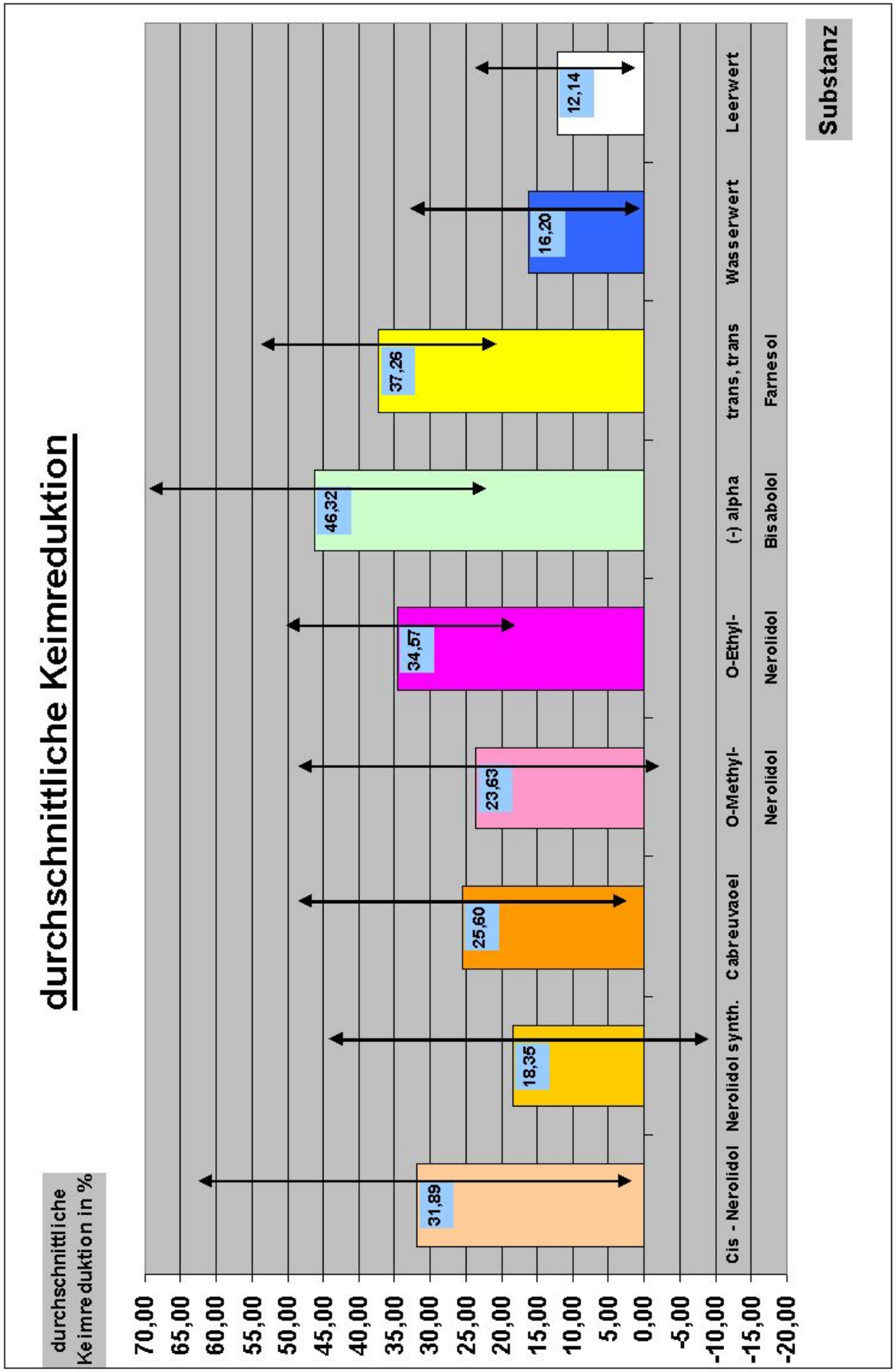
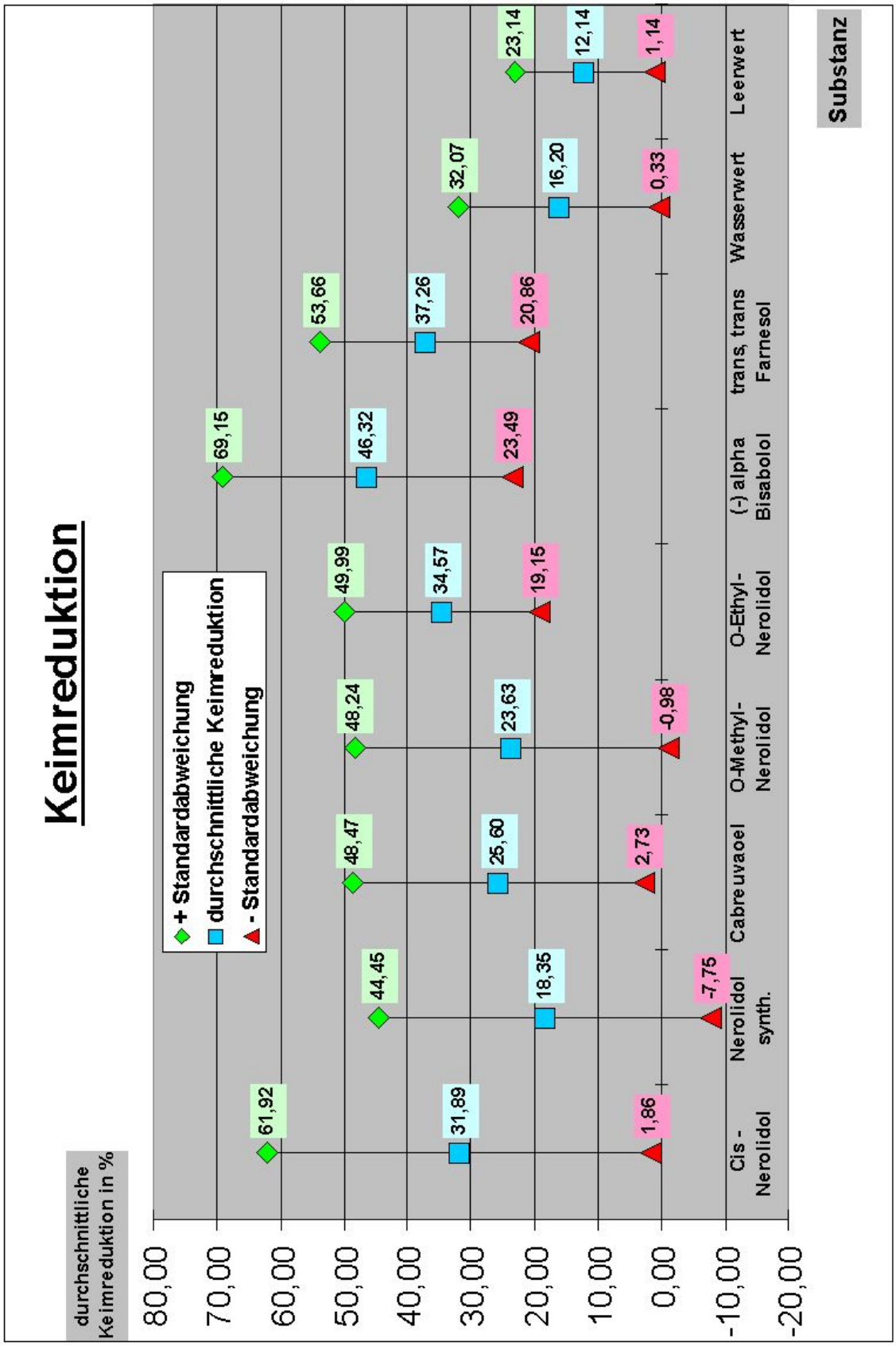


Abb. 36. Vergleich der „Nerolidolgruppe“ als Punktdiagramm



4.2. Limonen und limonenhaltige Substanzen

4.2.1. (-)-Limonen

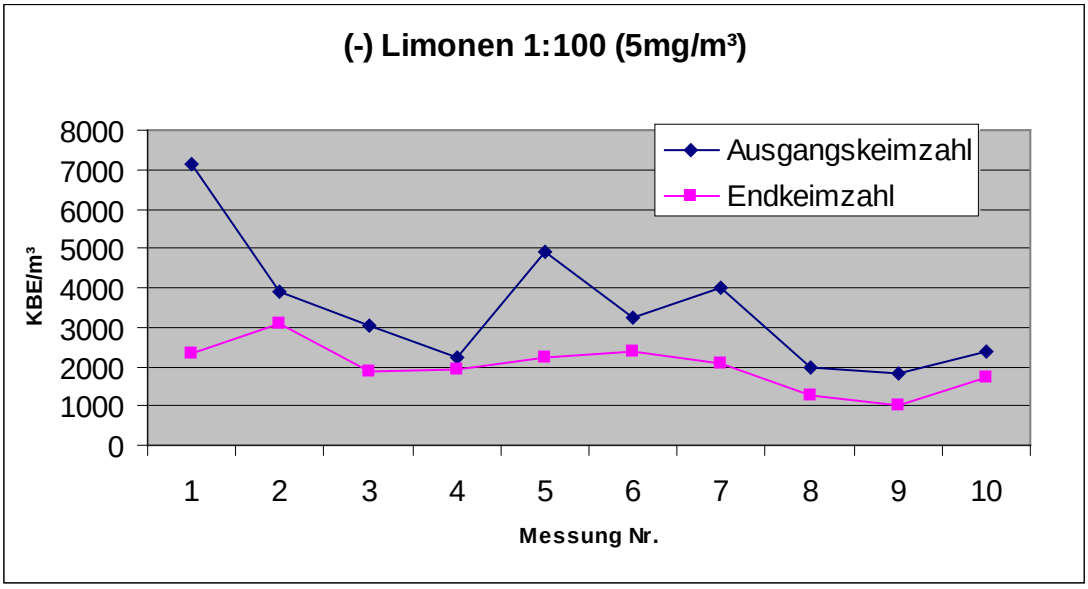
Tab. 12. Keimzahlen - (-)-Limonen (5mg/m³)

(-)-Limonen 1:100 =>> 5mg/m³

KBE - vorher	KBE - nachher	Ausgangs-keimzahl	End-keimzahl	Reduktion absolut	Reduktion in %
143	47	7150	2350	-4800	-67,13
78	62	3900	3100	-800	-20,51
61	37	3050	1850	-1200	-39,34
45	38	2250	1900	-350	-15,56
98	45	4900	2250	-2650	-54,08
65	48	3250	2400	-850	-26,15
80	42	4000	2100	-1900	-47,50
39	25	1950	1250	-700	-35,90
36	20	1800	1000	-800	-44,44
48	34	2400	1700	-700	-29,17

Mittelwert:	-1475,00	-37,98
Standardabweichung:	1352,42	15,89
mittlere Abweichung:	985,00	12,52

Abb. 37. Diagramm (-)-Limonen (5mg/m³)

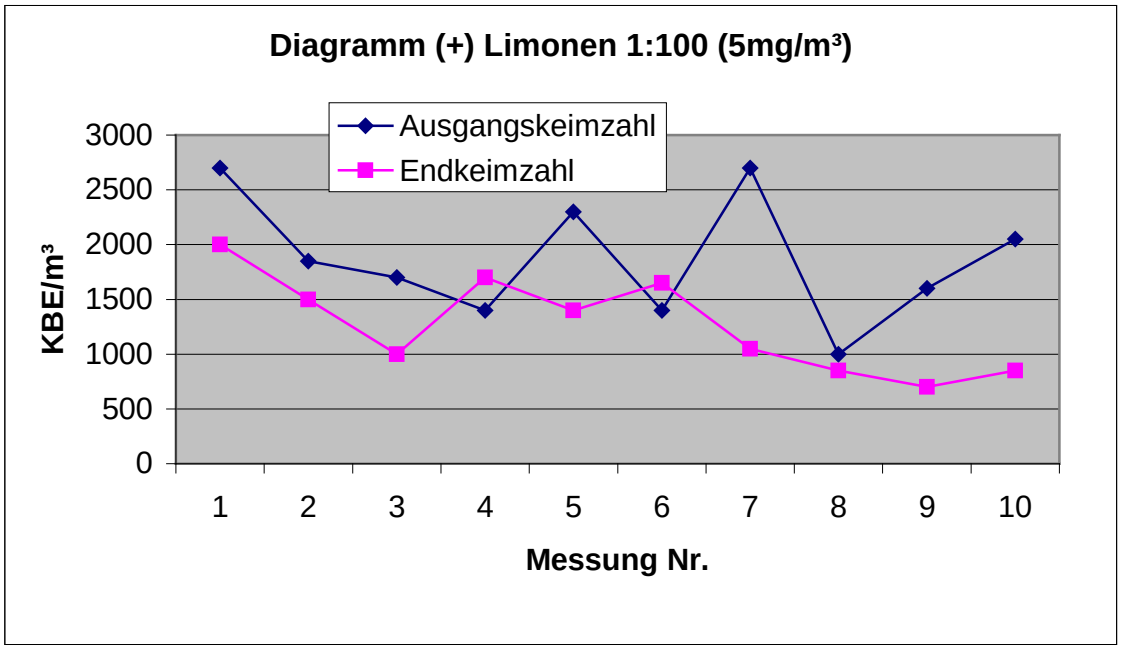


4.2.2. (+)-Limonen

Tab. 13. Keimzahlen - (+)-Limonen (5mg/m³)

(+)-Limonen 1:100 =>> 5mg/m³					
KBE - vorher	**KBE - nachher**	**Ausgangs-keimzahl**	**End-keimzahl**	**Reduktion absolut**	**Reduktion in %**
54	40	2700	2000	-700	-25,93
37	30	1850	1500	-350	-18,92
34	20	1700	1000	-700	-41,18
28	34	1400	1700	300	21,43
46	28	2300	1400	-900	-39,13
28	33	1400	1650	250	17,86
54	21	2700	1050	-1650	-61,11
20	17	1000	850	-150	-15,00
32	14	1600	700	-900	-56,25
41	17	2050	850	-1200	-58,54
		Mittelwert:		-600,00	-27,68
		Standardabweichung:		620,04	29,67
		mittlere Abweichung:		490,00	23,56

Abb. 38. Diagramm (+)-Limonen (5mg/m³)



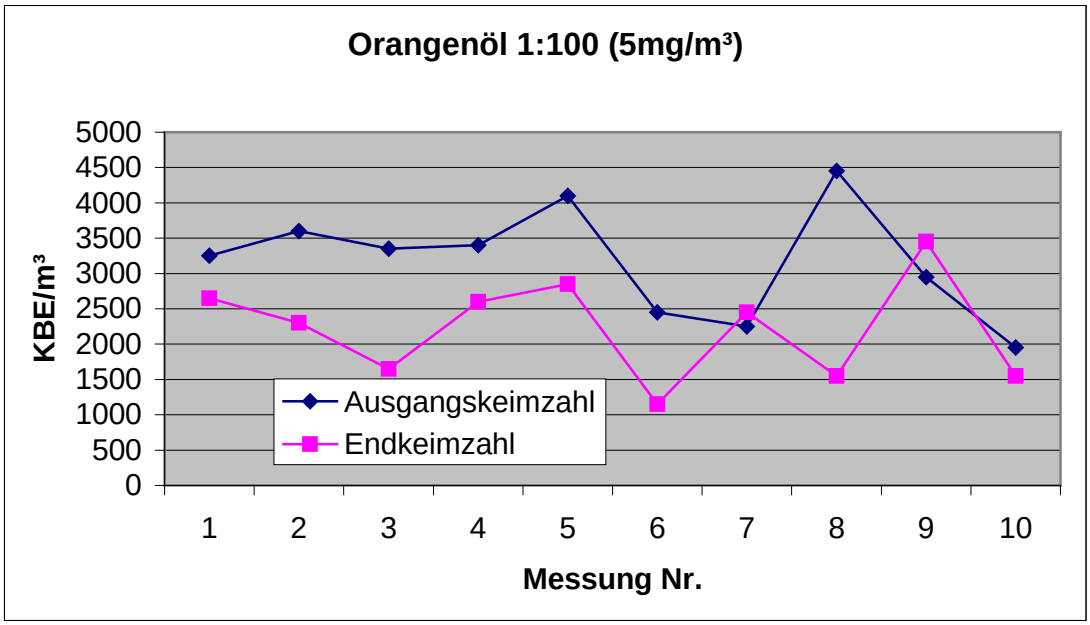
4.2.3. Orangenöl

Tab. 14. Keimzahlen – Orangenöl (5mg/m³)

Orangenöl 1:100 =>> 5mg/m³

KBE - vorher	KBE - nachher	Ausgangs-keimzahl	End-keimzahl	Reduktion absolut	Reduktion in %
65	53	3250	2650	-600	-18,46
72	46	3600	2300	-1300	-36,11
67	33	3350	1650	-1700	-50,75
68	52	3400	2600	-800	-23,53
82	57	4100	2850	-1250	-30,49
49	23	2450	1150	-1300	-53,06
45	49	2250	2450	200	8,89
89	31	4450	1550	-2900	-65,17
59	69	2950	3450	500	16,95
39	31	1950	1550	-400	-20,51
		Mittelwert:		-955,00	-27,22
		Standardabweichung:		975,95	26,12
		mittlere Abweichung:		735,00	19,89

Abb. 39. Diagramm Orangenöl (5mg/m³)



4.2.4. Tannenzapfenöl

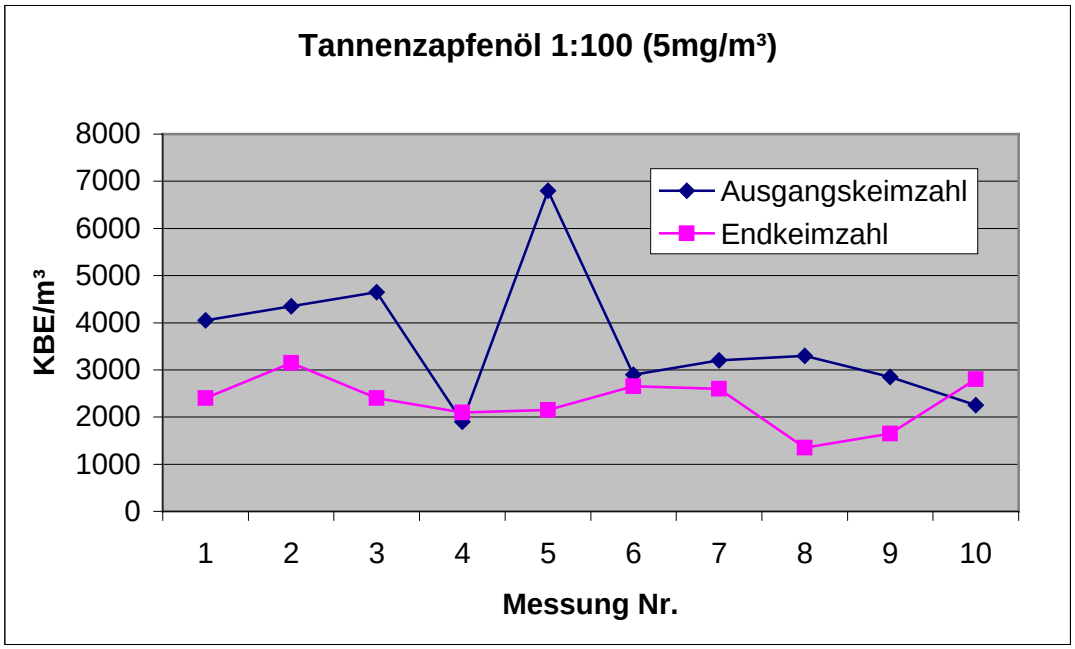
Tab. 15. Keimzahlen - Tannenzapfenöl (5mg/m³)

Tannenzapfenöl 1:100 =>> 5mg/m³

KBE - vorher	KBE - nachher	Ausgangs-keimzahl	End-keimzahl	Reduktion absolut	Reduktion in %
81	48	4050	2400	-1650	-40,74
87	63	4350	3150	-1200	-27,59
93	48	4650	2400	-2250	-48,39
38	42	1900	2100	200	10,53
136	43	6800	2150	-4650	-68,38
58	53	2900	2650	-250	-8,62
64	52	3200	2600	-600	-18,75
66	27	3300	1350	-1950	-59,09
57	33	2850	1650	-1200	-42,11
45	56	2250	2800	550	24,44

Mittelwert:	-1300,00	-27,87
Standardabweichung:	1489,03	29,94
mittlere Abweichung:	1060,00	23,87

Abb. 40. Diagramm Tannenzapfenöl (5mg/m³)



4.2.5. Gegenüberstellung der „Limonengruppe“

Tab. 16. Keimzahlreduktion der Limonengruppe im Vergleich

Limonengruppe: Substanzen im Vergleich			
Substanz	mittlere Reduktion (%)	+ Standardabweichung	- Standardabweichung
(-) Limonen	37,98	53,96	22,09
(+) Limonen	27,68	57,35	-1,99
Orangenöl	27,22	53,34	1,10
Tannenzapfenöl	27,87	57,81	-2,07
Wasserwert	16,20	32,07	0,33
Leerwert	12,14	23,14	1,14

Abb. 41. Vergleich der „Limonengruppe“ als Säulendiagramm

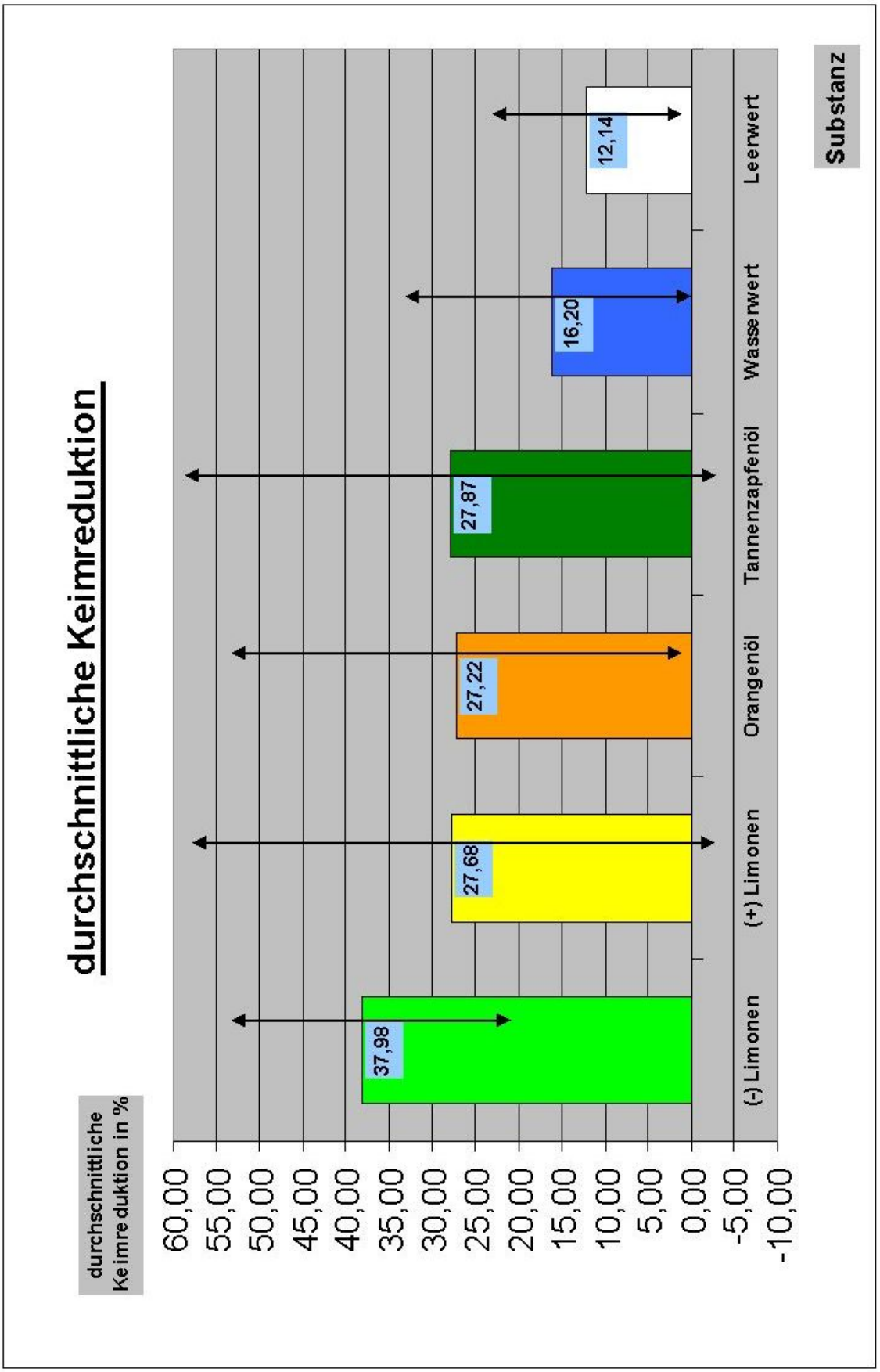
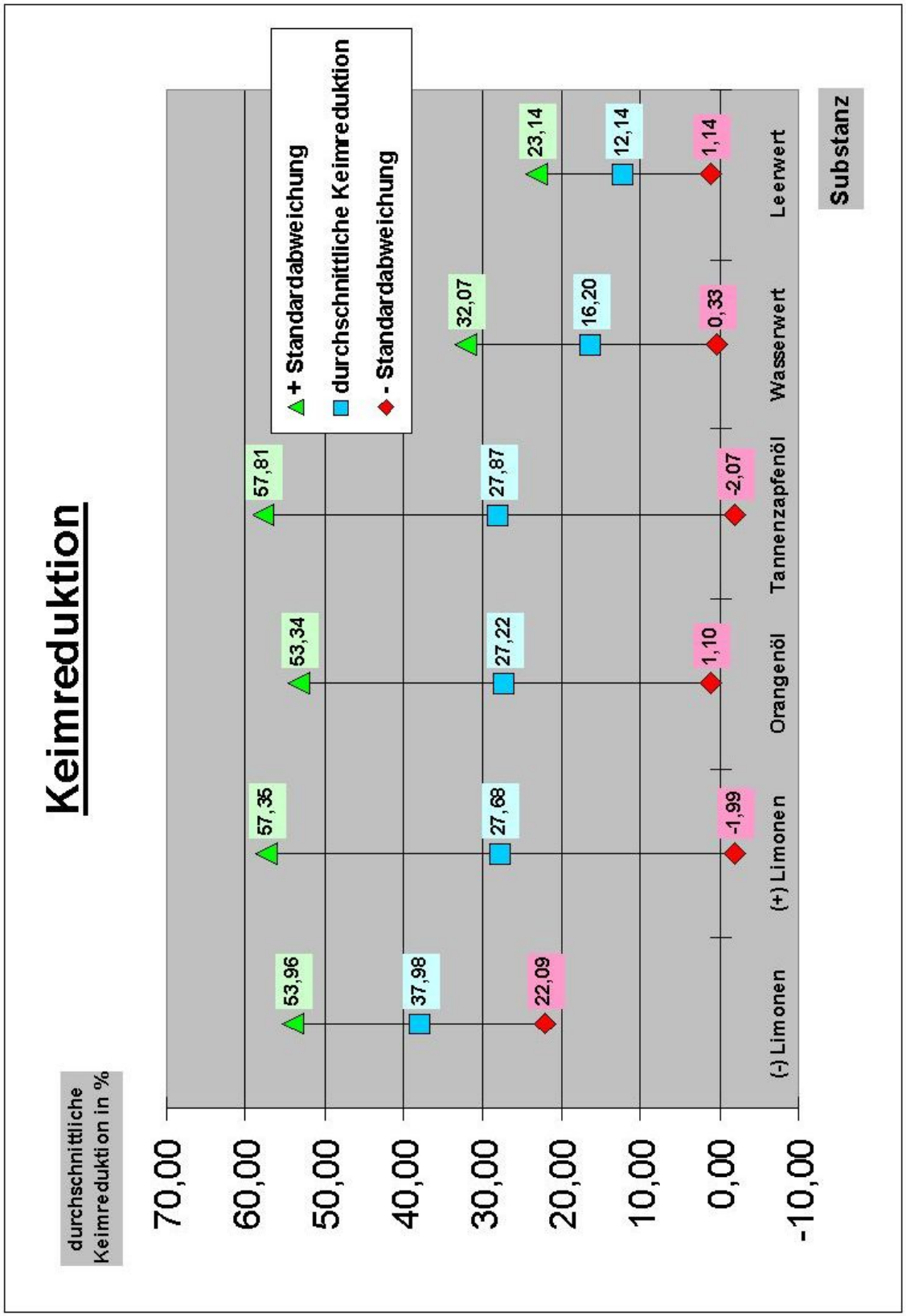


Abb. 42. Vergleich der „Limonengruppe“ als Punktdiagramm



4.3. Vergleichssubstanz Aqua dest.

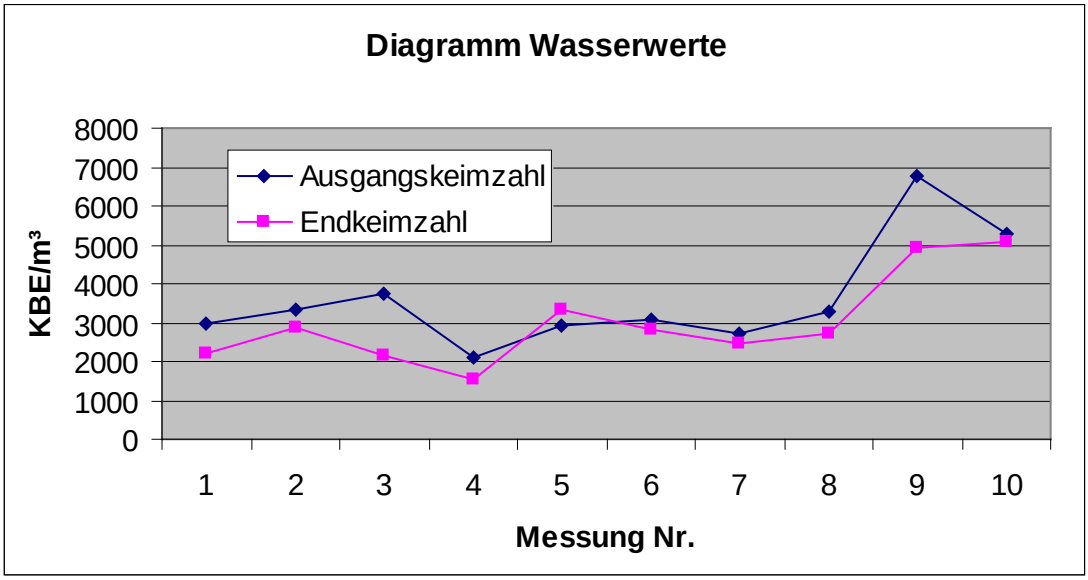
4.3.1. Aqua dest.

Tab. 17. Keimzahlen - Wasser dest. (5mg/m³)

Wasser dest. 1:100 =>> 5mg/m³

KBE - vorher	KBE - nachher	Ausgangs-keimzahl	End-keimzahl	Reduktion absolut	Reduktion in %
59	44	2950	2200	-750	-25,42
67	57	3350	2850	-500	-14,93
75	43	3750	2150	-1600	-42,67
42	31	2100	1550	-550	-26,19
58	67	2900	3350	450	15,52
62	56	3100	2800	-300	-9,68
54	49	2700	2450	-250	-9,26
66	54	3300	2700	-600	-18,18
135	98	6750	4900	-1850	-27,41
106	102	5300	5100	-200	-3,77
		Mittelwert:		-615,00	-16,20
		Standardabweichung:		672,50	15,87
		mittlere Abweichung:		471,00	11,78

Abb. 43. Diagramm Wasserwerte



4.4. Leerwerte ohne Substanzen

4.4.1. Leerwerte

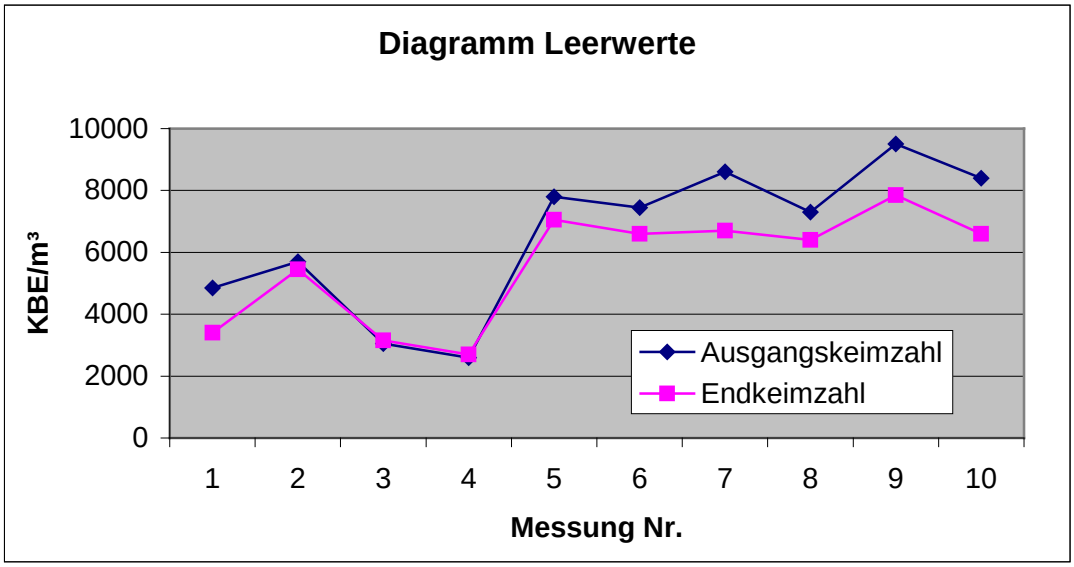
Tab. 18. Leerwerte (ohne Substanzen)

Leerwerte (ohne Substanzen) 1:100 =>> 5mg/m³

KBE - vorher	KBE - nachher	Ausgangs-keimzahl	End-keimzahl	Reduktion absolut	Reduktion in %
97	68	4850	3400	-1450	-29,90
114	109	5700	5450	-250	-4,39
61	63	3050	3150	100	3,28
52	54	2600	2700	100	3,85
156	141	7800	7050	-750	-9,62
149	132	7450	6600	-850	-11,41
172	134	8600	6700	-1900	-22,09
146	128	7300	6400	-900	-12,33
190	157	9500	7850	-1650	-17,37
168	132	8400	6600	-1800	-21,43

Mittelwert:	-935,00	-12,14
Standardabweichung:	753,53	11,00
mittlere Abweichung:	612,00	8,48

Abb. 44. Diagramm Leerwerte



4.5. Geruchstabelle der verwendeten Substanzen

Tab. 19. Geruchseindrücke der Substanzen

Geruchseindrücke während der Arbeit mit den Substanzen		
Substanz	**Geruch während des Ausbringens**	**Geruch nach 15 min Einwirkzeit**
Cis-Nerolidol	relativ geruchsneutral	dezent "sauberer" Geruch
Nerolidol synth.	absolut geruchsneutral	kein Geruch feststellbar
Cabreuvaöl	sehr schwach, fettig und ranzig	kein Geruch feststellbar
O-Methyl-Nerolidol	unangenehm, stechend	kein Geruch feststellbar
O-Ethyl-Nerolidol	unangenehm, stechend	kein Geruch feststellbar
(-) alpha Bisabolol	absolut geruchsneutral	kein Geruch feststellbar
Trans, trans-Farnesol	relativ geruchsneutral	dezent "sauberer" Geruch
(-)-Limonen	intensiv terpentinartig	kein Geruch feststellbar
(+)-Limonen	intensiv nach Zitrusfrüchten	kein Geruch feststellbar
Orangenöl	intensiv nach Orange	kein Geruch feststellbar
Tannenzapfenöl	intensiv nach Tanne	kein Geruch feststellbar

5. Diskussion

Die Anwendung der in dieser Arbeit untersuchten ätherischen Öle und Substanzen als Antibiotika in der Humanmedizin, als Pflanzenschutzmittel, zum Schutz von Nahrung vor Nahrungsmittelverderb und gegen einzelne Bakterien und Pilze wurde schon von vielen Arbeitsgruppen mit positivem Ergebnis untersucht und im allgemeinen Teil dieser Arbeit beschrieben. Arbeiten bei denen die antimikrobielle Wirkung dieser Substanzen und ätherischen Öle auf luftgetragene Keime untersucht wurde, sind bisher nicht bekannt. Deshalb wurde die Reduktion der Luftkeimzahl durch diese Substanzen und ätherischen Öle in dieser Arbeit untersucht und wird an dieser Stelle diskutiert.

5.1. Diskussion der „Nerolidolgruppe“

Die Untersuchung der Substanzen cis-Nerolidol, (-)-α-Bisabolol, trans, trans-Farnesol (alle als antibakteriell wirksame Bestandteile von Cabreuvaöl bekannt; Wanner et. al, 2010), Cabreuvaöl (Paraguay) und der synthetischen Produkte o-Ethyl-Nerolidol (E/Z 40:60), o-Methyl-Nerolidol (E/Z 40:60) und Nerolidol synth. (E/Z 40:60) in einer Konzentration von 5mg/m³ führte zu folgendem Ergebnis. Die getesteten Substanzen erreichten nach dem Ausmaß der mittleren Keimreduktion sortiert, folgende Keimzahlreduktionen: (-)-α-Bisabolol (46.32%); trans, trans-Farnesol (37.26%); o-Ethyl-Nerolidol (E/Z 40:60) (34.57%); cis-Nerolidol (31.89%); Cabreuvaöl (Paraguay) (25.60%); o-Methyl-Nerolidol (E/Z 40:60) (23.63%); Nerolidol synth. (E/Z 40:60) (18.35%). Zum Vergleich wurde mit Aqua dest. und mit einem Leerwert ohne jegliche Substanz gearbeitet. Aqua dest. hatte eine mittlere Keimreduktion von (16.20%) und der Leerwert eine mittlere Reduktion von (12.14%). Die Keimzahlreduktion bei den Vergleichsubstanzen resultiert wahrscheinlich daraus, dass sich die luftgetragenen Keime nach 15min Ruhe am Boden absetzen. Die wesentlich stärkere antimikrobielle Wirkung der Substanzen cis-Nerolidol, (-)-α-Bisabolol, trans, trans-Farnesol welche in Cabreuvaöl enthalten sind, gegenüber dem ätherischen Öl von Cabreuva an sich, wird auch in einer Arbeit von (Wanner et al., 2010) bestätigt. In dieser Arbeit von Wanner et al. wurde die antimikrobielle Wirkung gegen einzelne Bakterien und Pilze mittels Disc-Diffusion-Assay, MIC und MBC bestimmt. Dabei kam man zu einem ähnlichen Ergebnis bezüglich der Wirksamkeit der Einzelkomponenten und des Cabreuvaöls. Die

schlechte antibakterielle Wirkung von Nerolidol synth. (E/Z 40:60) lässt sich durch Unterschiede bei der Wirkung von isolierten Bestandteilen aus ätherischen Ölen, synthetischen Ölen und dem kompletten natürlichen Öl, in dem ein bestimmter Bestandteil vorrangig enthalten ist erklären (www.aromapraxis.de, 11.05.2012). Trotzdem waren die Syntheseprodukte o-Methyl-Nerolidol (E/Z 40:60) und o-Ethyl-Nerolidol (E/Z 40:60) mit ihrer erhöhten Lipophilie besser antibakteriell wirksam, somit war die Erhöhung der Lipophilie wichtig für deren antibakterielle Wirksamkeit.

5.2. Diskussion der „Limonengruppe“

Die Untersuchung der Substanzen (-)-Limonen, (+)-Limonen, Orangenöl, und Tannenzapfenöl in einer Konzentration von 5mg/m³ führte zu folgendem Ergebnis. Die getesteten Substanzen erreichten nach Höhe der mittleren Keimreduktion sortiert, folgende Keimzahlreduktionen: (-)-Limonen (37.98%); Tannenzapfenöl (27.87%); (+)-Limonen (27.68%); Orangenöl (27.22%). Zum Vergleich wurde mit Aqua dest. und mit einem Leerwert ohne jegliche Substanz gearbeitet. Aqua dest. hatte eine mittlere Keimreduktion von (16.20%) und der Leerwert eine mittlere Reduktion von (12.14%). Die Keimzahlreduktion bei den Vergleichsubstanzen resultiert wahrscheinlich daraus, dass sich die luftgetragenen Keime nach 15min Ruhe am Boden absetzen. Die stärkere antimikrobielle Wirkung von (-)-Limonen gegenüber (+)-Limonen wird auch in Studien von (van Vuuren und Viljoen, 2007) und (Jirovetz et al., 2004) bestätigt, ebenso wurde in diesen Studien nachgewiesen, dass das Oxidationsprodukt von Limonen, das Carvon, allgemein stärker antibakteriell wirksam ist als Limonen. Eine Studie von (Nannapaneni et al., 2008) zeigt auch, dass sich verschiedene Zitrusöle in ihrer antibakteriellen Wirkung unterscheiden können. Viele Faktoren können für die antimikrobielle Wirkung eines ätherischen Öls von Bedeutung sein, so zeigte sich auch in einer Studie von (Jirovetz et al., 2004), dass das ätherische Öl aus derselben Pflanze und demselben Pflanzenteil, nur aus verschiedenen geografischen Lagen zu einer unterschiedlichen antibakteriellen Wirksamkeit führen kann.

5.3. Fazit

Das Fazit dieser Arbeit ist, dass die meisten getesteten Substanzen und ätherischen Öle (ganz besonders (-)-α-Bisabolol, (-)-Limonen und trans, trans-Farnesol) eine gute Wirksamkeit gegen luftgetragene Keime haben. Sie eignen sich somit gut zur Keimreduktion in der Raumluft. Zudem sind die meisten der getesteten Substanzen geruchsneutral oder angenehm im Geruch. Die Außnahmen sind o-Methyl-Nerolidol (E/Z 40:60) und o-Ethyl-Nerolidol (E/Z 40:60), diese haben leider einen sehr unangenehmen Geruch.

6. Verzeichnisse

6.1. Verzeichnis der Abbildungen und Tabellen

Abb. 1: Wichtige ätherische Öle, Grafik: (www.uni-duesseldorf.de)

Abb. 2: Stereoselektive Synthese von *trans-Nerolidol* (Satoh et al., 1985)

Abb. 3: Zusammensetzung des ätherischen Öls von Cabreuva (Wanner et. al, 2010)

Abb. 4: *Myrocarpus frondosus Allem.* (plantillustrations.org)

Abb. 5: *Myrocarpus fastigiatus Allem.* (www.gielenaroma.nl)

Abb. 6: *Myroxylon balsamum var. pereira Klotzsch* (www.kup.at)

Abb. 7: Die Cabreuvaoxide 1-4 (Maurer und Hauser, 1988)

Abb. 8: Biogenese der Cabreuvaoxide aus (E)-Nerolidol (Maurer und Hauser, 1988)

Abb. 9: Ergebnisse des Disc-Diffusion-Assay (Wanner et. al, 2010)

Abb.10: Ergebnisse des MIC (Wanner et. al, 2010)

Abb.11: Ergebnisse des MBC (Wanner et. al, 2010)

Abb.12: Synthese von o-Ethyl-Nerolidol nach J. Wanner

Abb.13: Isomerisierung von Nerolidol zu Farnesol

Abb.14: Biosynthese von Limonen (www.chemgapedia.de)

Abb.15: Citrus aurantium L. ssp. aurantium (www.botanischer-garten-wuppertal.de)

Abb.16: Zapfen von Abies alba Mill, der Weißtanne (www.floraweb.de)

Abb.17: RCS Luftkeimsammler (Foto: Banovac)

Abb.18: Brutschrank (Foto: Banovac)

Abb.19: Agarstreifen ohne Keime (Foto: Banovac)

Abb.20: Agarstreifen mit Keimen, nach Bebrütung (Foto: Banovac)

Abb.21: Sprühflaschen, 3 Stück (Foto: Banovac)

Abb.22: Waschraum (Foto: Banovac)

Abb.23: Formel zur Berechnung der KBE/m³

Abb.24: Testsubstanzen (Foto: Banovac)

Abb.25: Berechnung des Mittelwerts (www.deprag.com, 21.10.2011)

Abb.26: Berechnung der Standardabweichung (www.deprag.com, 21.10.2011)

Abb.27: Berechnung der Mittleren Abweichung (http://startistik.csd.univie.ac.at, 21.10.2011)

Abb.28: Diagramm cis-Nerolidol (5mg/m³)

Abb.29: Diagramm Nerolidol synth. (5mg/m³)

Abb.30: Diagramm Cabreuvaöl (5mg/m³)

Abb.31: Diagramm o-Methyl-Nerolidol (5mg/m³)

Abb.32: Diagramm o-Ethyl-Nerolidol (5mg/m³)

Abb.33: Diagramm (-)-α-Bisabolol (5mg/m³)

Abb.34: Diagramm trans, trans-Farnesol (5mg/m³)

Abb.35: Vergleich der „Nerolidolgruppe“ als Säulendiagramm

Abb.36: Vergleich der „Nerolidolgruppe“ als Punktdiagramm

Abb.37: Diagramm (-)-Limonen (5mg/m³)

Abb.38: Diagramm (+)-Limonen (5mg/m³)

Abb.39: Diagramm Orangenöl (5mg/m³)

Abb.40: Diagramm Tannenzapfenöl (5mg/m³)

Abb.41: Vergleich der „Limonengruppe“ als Säulendiagramm

Abb.42: Vergleich der „Limonengruppe“ als Punktdiagramm

Abb.43: Diagramm Wasserwerte

Abb.44: Diagramm Leerwerte

Tab. 1: Antibakterielle Aktivität des ätherischen Öls von *Scutellaria albia ssp. albida* und seiner Einzelkomponenten, sowie Streptomycin als Vergleichssubstanz, dargestellt als der Durchmesser der Hemmzonen in mm im Disk-Diffusion-Assay (Skaltsa et al. 2000).

Tab. 2: Antifungale Aktivität des ätherischen Öls von Scutellaria albia ssp. albida und seiner Einzelkomponenten, sowie Natamycin als Vergleichssubstanz, dargestellt als der Durchmesser der Hemmzonen in mm im Disk-Diffusion-Assay (Skaltsa et al. 2000).

Tab. 3: Zusammensetzung des in der vorliegenden Arbeit verwendeten Tannenzapfenöles laut Analyse Dr. Wanner (Fa. Kurt Kitzing).

Tab. 4: Keimzahlen - Cis-Nerolidol (5mg/m³)

Tab. 5: Keimzahlen - Nerolidol synth. (5mg/m³)

Tab. 6: Keimzahlen - Cabreuvaöl (5mg/m³)

Tab. 7: Keimzahlen - o-Methyl-Nerolidol (5mg/m³)

Tab. 8: Keimzahlen - o-Ethyl-Nerolidol (5mg/m³)

Tab. 9: Keimzahlen - (-)-α-Bisabolol (5mg/m³)

Tab.10: Keimzahlen – trans, trans-Farnesol (5mg/m³)

Tab.11: Keimzahlreduktion der „Nerolidolgruppe“ im Vergleich

Tab.12: Keimzahlen - (-)-Limonen (5mg/m³)

Tab.13: Keimzahlen - (+)-Limonen (5mg/m³)

Tab.14: Keimzahlen – Orangenöl (5mg/m³)

Tab.15: Keimzahlen - Tannenzapfenöl (5mg/m³)

Tab.16: Keimzahlreduktion der Limonengruppe im Vergleich

Tab.17: Keimzahlen - Wasser dest. (5mg/m³)

Tab.18: Leerwerte (ohne Substanzen)

Tab.19: Geruchseindrücke der Substanzen

6.2. Literaturverzeichnis

Aggarwal, K. K.; Khanuja, S. P. S.; Ahmad, A.; Kumar, T. R. S.; Gupta, V. K.; Kumar, S. (2002)
Antimicrobial activity profiles of the two enantiomeres of limonene and carvone isolated from the oils Mentha spicata and Anethum sowa.
Flavour and Fragrance Journal; **17** (1); 59-63

Aldrich, J. R.; Waite, G. K.; Moore, C.; Payne, J. A.; Lusby, W. R.; Kochansky, J. P. (1993)
Male-specific volatiles from Nearctic and Australasian true bugs (Heteroptera: Coreidae and Alydidae)
Journal of Chemical Ecology; **19** (12); 2767-2781

Anet, E. F. L. J. (1970)
Synthesis of (E,Z)-α -, (Z,Z)-α -, and (Z)-β -farnesene.
Australian Journal of Chemistry; **23** (10); 2101-2108

Askari, F.; Sefidkon, F.; Teimouri, M. (2010)
Essential oil composition of the different parts of Pimpinella barbata (DC.) Boiss. in Iran.
Journal of Essential Oil Reseach; **22** (6); 605-608

Bağci, E.; Diğrak, M. (1996)
Antimicrobial Activity of Essential Oils of some *Abies* (Fir) Species from Turkey.
Flavour and Fragrance Journal; **11** (4); 251–256

Bauer, S. (2003)
Untersuchung zur Wirkung von Aromastoffen auf Parameter des peripheren Nervensytems: westaustralisches Sandelholz mit hohem Gehalt an (E)-Nerolidol nach perkutaner Applikation.
Diplomarbeit, Universität Wien

Bevilacqua, A; Corbo, M. R.; Sinigaglia, M. (2008)
Inhibition of Alicyclobacillus acidoterrestris spores by natural compounds.
International Journal of Food Science and Technology; **43** (7); 1271-1275

Brehm-Stecher B. F.; Johnson E. A. (2003)
Sensitization of Staphylococcus aureus and Escherichia coli to
Antibiotics by the Sesquiterpenoids Nerolidol, Farnesol, Bisabolol, and Apritone.
Antimicrobial agents and chemotherapy; **47** (10); 3357-3360

Buchbauer, G. (2004)
Über biologische Wirkungen von Duftstoffen und ätherischen Ölen.
Wiener Medizinische Wochenschrift; **154** (21-22), 539-547

Celikel, N.; Kavas, G. (2008)
Antimicrobial properties of some essential oils against some pathogenic microorganisms.
Czech Journal of Food Science; **26** (3); 174-181

Dabbah, R.; Edwards, V. M.; Moats, W. A. (1970)
Antimicrobial action of some citrus fruit oils on selected food-borne bacteria.
Applied Microbiology; **19** (1); 27-31

da Silva, A. P.; Martini, M. V.; de Oliveira, C. M. A.; Cunha, S.; de Carvalho, J. E.; Ruiz, A. L. T. G.; da Silva, C. C. (2010)
Antitumor activity of (-)α-bisabolol-based thiosemicarbazones against human tumor cell lines.
European Journal of Medicinal Chemistry; **45** (7); 2987-2993

De Lucca, A. J.; Pauli, A.; Schilcher, H.; Sien, T.; Bhatnagar, D.; Walsh, T. J. (2011)
Fungicidal and bactericidal properties of bisabolol and dragostanol.
Journal of Essential Oil Research; **23** (3); 47-54

Detoni, C. B.; Cabral-Albuquerque, E. C. M.; Hohlemweger, S. V. A.; Sampaio, C.; Barros, T. S.; Velozo, E. S. (2011)
Essential oil from Zanthoxylum tingoassuiba loaded into multilamellar liposomes useful as antimicrobial agents.
Journal of Microencapsulation; **26** (8); 684–691

Derengowski, L. S.; De-Souza-Silva, C.; Braz, S. V.; Mello-De-Sousa, T. M.; Báo, S. N.; Kyaw, C. M.; Silva-Pereira, I. (2009)
Antimicrobial effect of farnesol, a *Candida albicans* quorum sensing molecule, on *Paracoccidioides brasiliensis* growth and morphogenesis.
Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials; **8** (13)
www.ann-clinmicrob.com/content/8/1/13; 30.04.2012

Donath, J. (1994)
Oxidativer Abbau von Nerolidol zu 4,8-Dimethylnona-1,3,7-trien in höheren Pflanzen: Mechanismus und Induktion.
Dissertation, Universität Karlsruhe

Feng, Z. (1992)
Studien zum oxidativen Abbau von Nerolidol zum $C_{11}H_{16}$-Homoterpen an ausgewählten Pflanzen.
Dissertation, Universität Karlsruhe

Hänsel, R.; Sticher, O.; 9.Auflage (2010)
Pharmakognosie-Phytopharmazie
Springer Medizin Verlag; Heidelberg

Hrdlicka, P. J.; Sorensen, A. B.; Poulsen, B. R.; Ruijter, G. J. G.; Visser, J.; Iversen, J. J. L. (2004)
Characterization of Nerolidol Biotransformation Based on Indirect On-Line Estimation of Biomass Concentration and Physiological State in Batch Cultures of *Aspergillus niger*.
Biotechnology Progress; **20** (1); 368-376

Hunnius; 8.Auflage (1997)
Pharmazeutisches Wörterbuch
Walter de Gruyter; Berlin

Innocenti, A.; Romeo, R.; Mariano, A. (1991)
Asthma and systemic toxic reaction due to cabreuva (Myrocarpus fatsigiatus Fr. All.) wood dust.
La medicina de lavoro; **82** (5); 446-450

Inoue, Y.; Shiraishi, A.; Hada, T.; Hirose, K.; Hamashima, H.; Shimada, J. (2004)
The antibacterial effects of terpene alcohols on Staphylococcus aureus and their mode of action.
FEMS Microbiology Letters; **237** (2); 325-331

Ito, R. K.; Cordeiro, I.; Lima, M. E. L.; Moreno, P. R. H. (2010)
Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil from Rollina sericea (R.E.Fr.) R.E.Fr. (Annonaceae) leaves.
Journal of Essential Oil Research; **22** (5); 419-421

Jirovetz, L.; Buchbauer, G.; Stoyanova, A.; Denkova, Z.; Murgov, I. (2004)
Antimicrobial testings and chiral phase gas chromatographic analysis of dill oils and related key compounds.
Ernährung (Vienna, Austria); **28** (6); 257-260

Kamatou, G. P. P.; Viljoen, A. M. (2010)
A Review of the Application and Pharmacological Properties of α-Bisabolol and α-Bisabolol-Rich Oils.
Journal of the American Oil Chemists' Society; **87** (1); 1-7

Karkabounas, S.; Assimakopoulos, D.; Malamas M.; Skaltsounis; A. L.; Leonce, S.; Zelovitis, J.; Stefanou, D.; Evangelou, A. (2000)
Antiproliferative and anticarcinogenic effects of an aqueous preparation of Abies alba and Viscum album se abies, on a L-1210 malignant cell line and tumor-bearing Wistar rats.
Anticancer Research; **20** (6B); 4391-4396

Klopell, F. C.; Lemos, M.; Sousa, J. P. B.; Comunello, E.; Maistro, E. L.; Bastos, J. K.; de Andrade, S. F. (2007)
Nerolidol, an Antiulcer Constituent from the Essential Oil of *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae).
Zeitschrift für Naturforschung, C: Journal of Biosciences; **62** (7-8); 537−542

Lapczynski, A.; Bhatia, S. P.; Letizia, C. S.; Api, A.M. (2008)
Fragrance material rewiew on Nerolidol (isomer unspecified).
Food and Chemical Toxicology; **46**; 247-250

Lee, Jeong-Ho; Hye-Young Yang; Hong-Sub Lee; Soon-Kwang Hong (2008)
Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oil from Cones of Pinus koraiensis.
Journal of Microbiology and Biotechnology; 18 (3); 497–502

Lee, I.; Jun, H.; Jung, E.; Ha, J.; Park, D. (2010)
Whitening effect of α-Bisabolol in Asian woman subjects.
International Journal of Cosmetic Science; **32** (4); 299-303

Mahjoub, M. A.; Mighri, Z.; Chriaa, J.; Daami, M.; Saidana, D.; Helal, A. N. (2010)
Studies of the essential oil composition, antibacterial and antifungal activity profiles of Frankenia leavis L. from Tunisia.
Journal of Essential Oil Research; **22** (4); 346-353

Martinetz; D.; Hartwig, R.; 1.Auflage (1998)
Taschenbuch der Riechstoffe: ein Lexikon von A-Z
Verlag Harri Deutsch; Frankfurt am Main

Maurer, B.; Hauser, A. (1988)
New natural products from essential oils.
Chemistry & Industry; **18**; 587-591

McGinty, D.; Letizia, C. S.; Api, A.M. (2010)
Addendum to Fragrance material rewiew on Nerolidol (isomer unspecified).
Food and Chemical Toxicology; **48**; 43-45

Mitrofanov, V. I.; Popov, S. Ya.; Kulvan, V. N. (1994)
Efficiency of combined use of pheromones and acaricides to control spider mites on agricultural crops.
Izvestiya Timiryazevskoi Sel'skokhozyaistvennoi Akademii; **1**; 146-152

Miyazawa, M.; Nakai, H.; Kameoka; H. (1995)
Biotransformations of acycilc terpenoids, (+/-)-cis-Nerolidol and Nerylaceton, by plant pathogenic fungus, Glomerulla cingulata.
Phytochemistry; **40** (4); 1133-1137

Morales-Yuste, M.; Morillas-Marquez, F.; Martin-Sanchez, J.; Valero-Lopez, A.; Navarro-Moll, M. C. (2010)
Activity of (-)α-Bisabolol against Leishmania infantum promastigotes.
Phytomedicine; **17** (3-4); 279-281

Müller-Esterl, W.; 1.Auflage (2004)
Biochemie: Eine Einführung für Mediziner und Naturwissenschaftler
Spektrum Akademischer Verlag; München

Nagegowda, D. A.; Gutensohn, M.; Wilkerson, C. G.; Dudareva, N. (2008)
Two nearly identical terpene synthases catalyze the formation of nerolidol and linalool in snapdragon flowers.
The plant Journal: for cell and molecular biology; **55** (2); 224-239

Nannapaneni, R.; Chalova, V. I.; Crandall, P. G.; Ricke, S. C.; Johnson, M. G.; O'Bryan, C. A. (2009)
Campylobacter and Arcobacter species sensitivity to commercial orange oil fractions.
International Journal of Food Microbiology; **129** (1); 43-49

Nannapaneni, R.; Muthaiyan, A.; Crandall, P. G.; Johnson, M. G.; O'Bryan, C. A.; Chalova, V. I.; Callaway, T. R.; Carroll, J. A.; Arthington, J. D.; Nisbet, D. J.; Ricke S. C. (2008)
Antimicrobial Activity of Commercial Citrus-Based Natural Extracts Against Escherichia coli O157:H7 Isolates and Mutant Strains.
Foodborne Pathogens and Disease; **5** (5); 695-699

Oh, H. J.; Ahn, H. M.; So, K. H.; Kim, S. S.; Yun, P. Y.; Jeon, G. L.; Riu, K. Z. (2007)
Chemical and antimicrobial properties of essential oils from three coniferus trees Abies koreana, Cryptomeria japonica, and Torreya nucifera.
Journal of Applied Biological Chemistry; **50** (3); 164-169

Omura, H.; Honda, K. (2005)
Priority of color over scent during flower visitation by adult Vanessa indica butterflies.
Oecologica; **142** (4); 588-596

Rahman, A.; Kang, S.C. (2009)
In vitro control of food-borne and food spoilage bacteria by essential oil and ethanol extracts of Lonicera japonica Thunb.
Food Chemistry; **116**; 670–675

Ryabchenko, B.; Tulupova, E.; Schmidt, E.; Jäger, W.; Buchbauer, G.; Jirovetz, L. (2010)
Investigation of cytotoxic properties of some natural aroma samples.
Natural Products Communications; **5** (0); 2019

Ryabchenko, B.; Tulupova, E.; Schmidt, E.; Wlcek, K.; Buchbauer, G.; Jirovetz, L. (2008)
Investigation of anticancer and antiviral properties of selected aroma samples.
Natural Products Communications; **3** (7); 1085-1088

Satoh, Y.; Serizawa, H.; Hara, S.; Suzuki, A. (1985)
Organic synthesis using haloboration reaction. Part 7. A stereospecific synthesis of (Z)-δ -halo-γ ,δ -unsaturated ketones via haloboration reaction of terminal alkynes.
Journal of the American Chemical Society; **107** (18); 5225-5228

Tilgen, W.; Dill-Müller, D.; Koch, P.; Reinhold, U.; 1.Auflage (2005)
Empfehlungen zur Patienteninformation Dermatologie
Steinkopff Verlag; Darmstadt

Sartori, A. L. B.; de Azevedo Tozzi, A. M. G. (2004)
Revisão taxonômica de *Myrocarpus* Allemão (Leguminosae, Papilionoideae, Sophoreae).
Acta Botanica Brasilica; **18** (3); 521-535

Schelz, Z.; Molnar, J.; Hohmann, J. (2006)
Antimicrobial and antiplasmid activities of essential oils.
Fitoterapia; **77** (4); 279-285

Schubert, V.; Dietrich, A.; Ulrich, T.; Mosandl, A. (1992)
The stereoisomers of nerolidol: seperation, analysis and olfactoric properties.
Zeitschrift für Naturforschung, C: Journal of Biosciences; **47** (3-4); 304-307

Simoes, M.; Rocha, S.; Coimbra, M. A.; Viera, M. J. (2008)
Enhancement of Escherichia coli and Staphylococcus aureus antibiotic susceptibility using sesquiterpenoids.
Medicinal Chemistry; **4** (6); 616-623

Sipailiene, A.; Venskutonis, P. R.; Baranauskiene, R.; Sarkinas, A. (2006)
Antimicrobial activity of commercial samples of thyme and marjoram oils.
Journal of Essential Oil Reseach; **18** (6); 698-703

Skaltsa, H. D.; Lazari, D. M.; Mavromati, A. S.; Tilligada, E. A.; Constantinidis, T. A. (2000)
Composition and antimicrobial activity of the essential oil of Scutellaria albida ssp. Albida from Greece.
Planta Medica; **66** (7); 672-674

Sobhy, E. A.; El-Feky, S. S. (2007)
Chemical constituents and antimicrobial activity of Helichrysum stoechas.
Asian Journal of Plant Sciences; **6** (4); 692-695

Taiwo, A. O.; Bolanle, A. A. (2003)
The leaf essential oil of *Costus afer* Ker–Grawl from Nigeria.
Flavour and Fragrance Journal; **18** (4); 309-311

Thiele, K.; Jakovlev, V.; Isaac, O.; Schuler, W. (1969)
Ethers and esters of (-)α-bisabolol and analogous mono- and sesquiterpenoids with antiinflammatory activity.
Arzneimittel-Forschung; **19** (11); 1878-1882

Turlings, T. C. J.; Tumlinson, J. H.; Lewis, W.J. (1990)
Exploitation of herbivore-induced plant odors by host-seeking parasitic wasps.
Science Magazine, **250** (4985); 1251-1253

Tyagi, A. M.; Malik, A. (2011)
Antimicrobial potential and chemical composition of Eucalyptus globules oil in liquid and vapour phase against food spoilage microorganisms.
Food Chemistry; **126** (1); 228-235

van Vuuren, S. F.; Viljoen, A. M. (2007)
Antimicrobial activity of limonene enantiomers and 1,8-cineole alone and in combination.
Flavour and Fragrance Journal; **22** (6); 540-544

Wanner, J.; Schmidt, E.; Bail, S.; Jirovetz, L.; Buchbauer, G.; Gochev, V.; Girova, T.; Atanasova, T.; Stoyanova, A. (2010)
Chemical Composition and Antibacterial Activity of Selected Essential Oils and Some of Their Main compounds.
Natural Product Communications; **5** (9); 1359-1364

Zhang, C.; Li, H.; Yun, T.; Fu, Y.; Liu, C.; Gong, B.; Neng, B. (2008)
Chemical composition, antimikrobial and antioxidant activities of the essential oil of Tibetan herbal medicine Dracocephalum heterophyllum Benth.
Natural Product Research; **22** (1); 1-11

Zimmermann, E.; 3.Auflage (2006)
Aromatherapie für Pflege- und Heilberufe
Sonntag Verlag; Stuttgart

6.3. Verzeichnis der Internetquellen

onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/3527600418.mb460284d0040/pdf; 29.04.2012

plantillustrations.org/illustration.php?id_illustration=14175&language=English; 10.04.2012

startistik.csd.univie.ac.at/Module/DeskriptiveStatistik/Images/Terminologie_Methodik_clips/Formel38.gif; 21.10.2011

www.aetherische-oele.at/index.htm; 25.04.2012

www.airbutler.com/index.php; 26.04.2012

www.aircreative.com/index.html; 25.04.2012

www.airwick.de/; 25.04.2012

www.aktionsplan-allergien.de/nn_461368/DE/02__Schoenheit__Pflege/01__UnvertraeglicheStoffeKosmetikPflegeprodukte; 26.04.2012

www.alpacasa.com/download/pdf/TDS-Cabreuva.pdf; 11.04.2012

www.apotheke.by/lexika/begriff-edeltannenzapfenoel-einnahme-3094.html; 30.04.2012

www.aromapraxis.de/aromatherapie/aromatherapie/aromatherapie/page9.html; 11.05.2012

www.ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/html/tax_search.pl; 08.04.2012

www.baumkunde.de/Abies_alba/; 30.04.2012

www.bayernflora.de/de/info_pflanzen.php?taxnr=1; 30.04.2012

www.biologie.uni-ulm.de/cgi-bin/query_all/details.pl?id=126011&stufe=A&typ=PFL; 09.05.2012

www.biologie.uni-ulm.de/cgi-bin/query_all/details.pl?id=91884&stufe=A&typ=PFL&lang=d&sid=T&extid=-1&extidname=null&impid=-1&import=null&syno=yes&pr=nix&B4=Ok; 08.04.2012

www.biotest.at/shared/data/pdf/anleitung_rcs_standard.pdf; 05.10.2011

www.botanischer-garten-wuppertal.de/pflanzedesmonats/archiv-pflanze-des-monats-2011/juli/index.php; 09.05.2012

www.carlroth.com/media/_de-de/sdpdf/6509.PDF; 09.05.2012

www.carl-roth.de/jsp/de-de/sdpdf/6701.PDF; 24.3.2012

www.carl-roth.de/jsp/de-de/sdpdf/6703.PDF; 24.3.2012

www.carl-roth.de/jsp/de-de/sdpdf/7895.PDF; 24.3.2012

www.chemgapedia.de/vsengine/vlu/vsc/de/ch/3/anc/croma/etherische_ole.vlu/Page/vsc/de/ch/3/anc/croma/gc/eth_oele/struktur/struk1m81ht1001.vscml.html; 01.05.2012

www.conatex.com/mediapool/versuchsanleitungen/VAD_Chemie_Duefte.pdf; 09.05.2012

www.daab.de/haut/allergie-auf-duftstoffe/; 26.04.2012

www.deprag.com/uploads/pics/Statistik_Mittelwert.jpg; 21.10.2011

www.deprag.com/uploads/pics/Statistik_Standardabweichung.jpg; 21.10.2011

www.floraweb.de/pflanzenarten/foto2.xsql?suchnr=&bildnr=0103_b&; 30.04.2012

www.floraweb.de/pflanzenarten/foto.xsql?suchnr=1; 30.04.2012

www.floridata.com/ref/c/citr_sin.cfm; 10.05.2012

www.fnr-server.de/ftp/pdf/literatur/pdf_281marktanalyse-ii-komplett.pdf; S.343; 07.04.2012

www.gielenaroma.nl/index.php?page=myrocarpus-fastigiatus; 10.04.2012
www.ipa.ruhr-uni-bochum.de/publik/info0100/alveolitis.php; 10.04.2012

www.iso.org/iso/iso_catalogue/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=16866; 10.05.2012

www.kremer-pigmente.com/media/files_public/73736_SHD_DEU.pdf?xa7e15=0dfde10d6a29db05884652d512797991; 24.04.2012

www.kup.at/db/phytokodex/datenblatt/Perubalsam.html; 10.04.2012

www.kup.at/db/phytokodex/vollbild/Perubalsam.html; 10.04.2012

www.lookchem.com/msds/2011-06%2f2%2f14462%2823089-26-1%29.pdf; 24.04.2012

www.lwf.bayern.de/veroeffentlichungen/lwf-wissen/45/w45-21-arzneiliche-anmerkungen-zur-tanne.pdf; 30.04.2012

www.mathepedia.de/Standardabweichung.aspx; 21.10.2011

www.pharmakobotanik.de/systematik/6_droge/aurant-p.htm; 09.05.2012

www.pharmakobotanik.de/systematik/6_droge/perubals.htm; 11.04.2012

www.pharmazeutische-zeitung.de/index.php?id=1354; 02.05.2012

www.richter-chemie.de/PDF/SDB-Orangenoel.pdf; 24.04.2012

www.safcglobal.com/MSDS/MSDS/DisplayMSDSPage.do?country=US&language=en&productNumber=277541&brand=ALDRICH&PageToGoToURL=http%3A%2F%2Fwww.safcglobal.com%2Fcatalog%2Fproduct%2Faldrich%2F277541%3Fnull; 24.04.2012

www.scjohnson.de/nqcontent.cfm?a_id=6841; 25.04.2012

www.sigmaaldrich.com/catalog/search?interface=CAS%20No.&term=8008-57-9&lang=de&region=AT&focus=product&N=220003048+219853059+219853286&mode=partialmax; 09.05.2010

www.sigmaaldrich.com/life-science/nutrition-research/learning-center/plant-profiler/citrus-aurantium.html; 09.05.2012

www.sigmaaldrich.com/MSDS/MSDS/DisplayMSDSPage.do?country=AT&language=de&productNumber=183164&brand=SIGMA&PageToGoToURL=http%3A%2F%2Fwww.sigmaaldrich.com%2Fcatalog%2Fproduct%2Fsigma%2F183164%3Flang%3Dde; 05.05.2012

www.sigmaaldrich.com/MSDS/MSDS/DisplayMSDSPage.do?country=AT&language=de&productNumber=W504505&brand=ALDRICH&PageToGoToURL=http%3A%2F%2Fwww.sigmaaldrich.com%2Fcatalog%2Fproduct%2Faldrich%2Fw504505%3Flang%3Dde; 05.05.2012

www.statistics4u.com/fundstat_germ/cc_meanval.html; 21.10.2011

www.thegoodscentscompany.com/data/es1014101.html; 11.04.2012

www.uni-duesseldorf.de/MathNat/Biologie/Didaktik/Blattgewuerze/german/chemie/limonen.html; 08.04.2012

www.uni-duesseldorf.de/MathNat/Biologie/Didaktik/Blattgewuerze/german/glossar_chemie.html; 26.04.2012

www.uni-duesseldorf.de/MathNat/Biologie/Didaktik/Blattgewuerze/images/fullscreen/eth.jpg; 26.04.2012
www.well-arom.de/shop/page/1?shop_param=; 25.04.2012

www.unterweger-oils.com/aetherische_oele/produkte/tannenzapfenoel.html; 30.04.2012

www.wunder-baum.de/; 25.04.2012

7. Lebenslauf

Person:

Name:	Banovac
Vorname:	Daniel
Geburtsdatum:	04.06.1977
Geburtsort:	Köln
Staatsbürgerschaft:	Deutschland

Ausbildung:

1983-1987	Grundschule in Köln
1987-1993	Realschule in Köln
1993-1996	Gymnasium (Matura) in Köln
1996-1999	Ausbildung (Pharmakant) in Leverkusen
1999-2005	Studium (Pharmazie) an der Uni Bonn
2008-2012	Studium (Pharmazie) an der Uni Wien
Juni 2011	Beginn der vorliegenden Diplomarbeit