

Bibl. Angaben am Ende des Dokuments; <http://orgprints.org/00001988/>.

Niem-Produkte: Herstellung, Standardisierung und Qualitätssicherung

Hubertus Kleeberg

Trifolio-M GmbH, Sonnenstr. 22, 35633 Lahnau

Präparate aus Teilen des tropischen Neem-Baumes (*Azadirachta indica* A. Juss) werden seit Menschengedenken in Indien angewendet. Die Palette der Produkte (KETKAR & KETKAR 1993) erstreckt sich von Anwendungen bei Kopfschuppen und Hautunreinheiten über Hitzewallungen und Endo- sowie Ektoparasiten bis hin zu Schwangerschaftsverhütung und Pflanzenschutz. Traditionell werden in Indien Präparate für die verschiedenen Anwendungen aus unterschiedlichen Pflanzenteilen nach speziellen, gut zu beachtenden Vorschriften hergestellt. Ähnliche Vorschriften werden auch im Abendland zur Zubereitung von beispielsweise Tees oder Pflanzenextrakten befolgt. In vielen Fällen erfüllen diese traditionellen Produkte wirklich, was sie versprechen.

Offensichtlich besteht ein gewisser Ehrgeiz der kapitalistischen abendländischen Kultur darin, „exotische“ Verfahren und Produkte unbesehen zu übernehmen und gewinnbringend zu vermarkten. Während die asiatische Heilkunde sehr wohl (noch) zwischen verschiedenen Herstellungs- und Anwendungsformen pflanzlicher Produkte unterscheiden kann, stellt das Profitinteresse in Industrieländern häufig den kurzzeitigen Erfolg werbewirksam vor seriöse Information und Produktherstellung. Dabei bleibt häufig die tradierte Erfahrung bei Herstellung und/oder Verabreichung – und damit auch die Wirkung – auf der Strecke. Es mag daher nicht verwundern, dass ein Baum, dem besondere Heilwirkung nachgesagt oder von dem gar die Lösung der globalen Probleme (NATIONAL RESEARCH COUNCIL 1992) erwartet wird, zu einem besonderen Objekt für Marketingstrategen wird.

Kurzum: Niem ist nicht gleich Neem! Gerade deshalb ist auch eine behördliche Überwachung zum Schutz der Verbraucher, Anwender und der Umwelt zumindest sinnvoll, wenn man auch sicherlich über Details in den Anforderungen trefflich streiten kann.

Ein wesentlicher Anwendungsbereich von Neem-Produkten ist der Pflanzenschutz. Von der Substanzgruppe der Azadirachtine, die in den Kernen des Neem-Baumes enthalten sind und zur Gruppe der Limonoide zählen, wurden in einer Vielzahl wissenschaftlicher Arbeiten ausgezeichnete Wirksamkeiten gegenüber Schadinsekten beschrieben (RANDHAWA & PARMAR 1993; SCHMUTTERER 1995). Die Firma Trifolio-M entwickelte Extraktionsverfahren, die weitgehend unabhängig von der Qualität der Neem-Kerne die Anreicherung des Hauptwirkstoffes AzadirachtinA in dem Extrakt „NeemAzal“ in gleichbleibender Zusammensetzung gewährleisten.

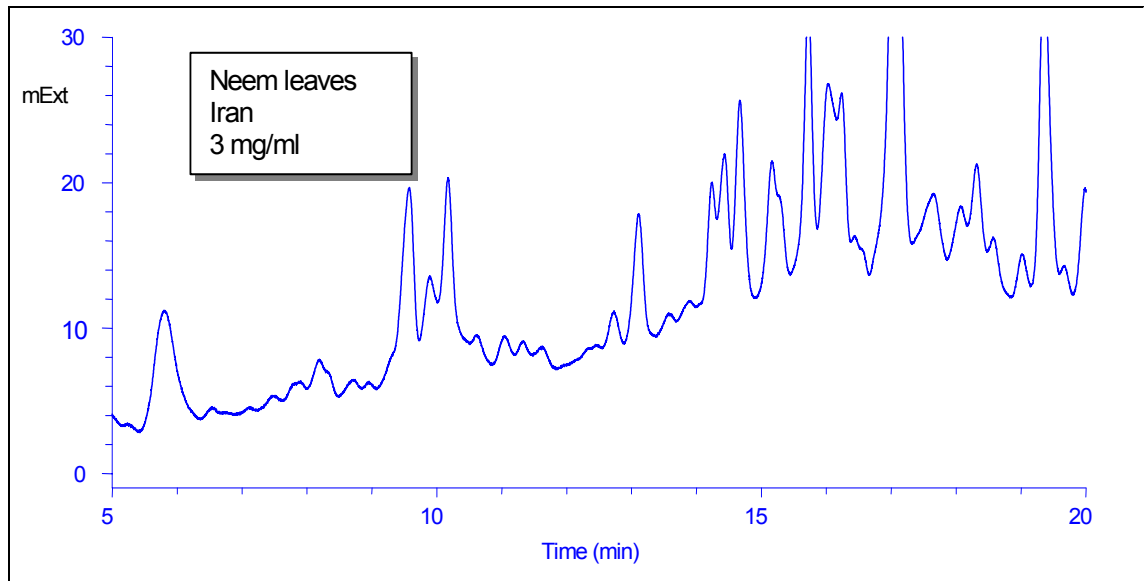
Neem-Produkte für den Pflanzenschutz

Zur Verdeutlichung des Problems der Standardisierung kann der Vergleich verschiedener auch für Pflanzenschutz Zwecke angebotener Neem-Produkte dienen. In Abbildung 1 werden die nach einem einheitlichen Vorgehen gewonnenen analytischen HPLC-Ergebnisse verglichen. Im unteren Teil der Abbildungen 1a bis 1c ist zum Vergleich jeweils dasselbe Chromatogramm einer Mischung von sieben reinen Standardsubstanzen wiedergegeben; jedes Signal entspricht in dieser Darstellung einer bestimmten Substanz.

Offensichtlich ist die Zusammensetzung und Menge der Inhaltsstoffe von Blättern und Kernen des Neem-Baumes (Abb. 1a) – in diesem Fall iranischer Herkunft – ziemlich unterschiedlich. Zur groben Orientierung ist neben den Chromatogrammen in Abbildung 1 der prozentuale AzadirachtinA-Gehalt angegeben. Trotz der gleichen für die Herstellung der Analysenprobe verwendeten Menge (in Abb. 1a z.B. 3mg Material pro ml Analysenlösung) an Ausgangsmaterial sind im Bereich der Substanzen AzadirachtinA (AzA) und AzadirachtinB (AzB) im Fall der Blätter kaum Signale zu erkennen, während die Vielzahl der Signale insbesondere bei den Blättern auf eine große Fülle anderer Inhaltsstoffe hinweist. Neben den beiden genannten Azadirachtinen ist in den Kernen viel Salannin vorhanden, welches jedoch auf Insekten nur eine begrenzte Wirkung zeigt.

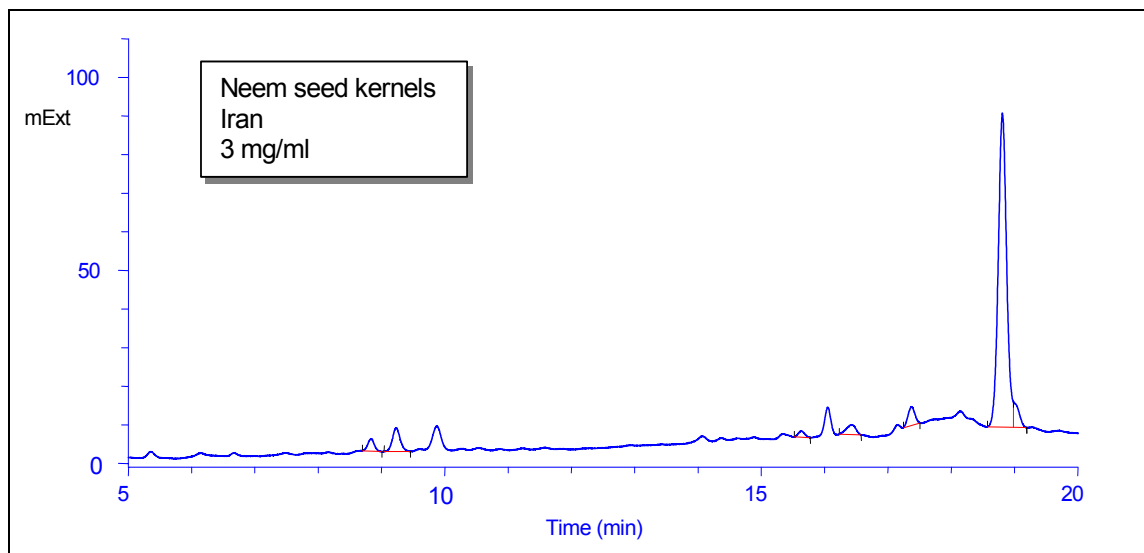
Neem-Öle unterschiedlicher Herkunft können beträchtliche Unterschiede in der Zusammensetzung aufweisen (s. Abb. 1b), wobei dem Gehalt an Azadirachtinen vielfach eine untergeordnete Rolle zukommt. Je nach Herstellung enthalten zahlreiche Neem-Öle praktisch kein Azadirachtin. Wirkungen auf Insekten oder auch gegenüber Pflanzenkrankheiten sind dann offensichtlich auf andere Inhaltsstoffe zurückzuführen.

Ein aus Indien erhaltenes „Azadirachtin powder“ zeigt einen deutlichen Gehalt an Azadirachtinen, aber auch eine Vielzahl anderer Inhaltsstoffe (s. Abb. 1b, Mitte). Der mit „AzadirachtinA technical powder“ bezeichnete Extrakt eines anderen Herstellers (s. Abb. 1c, oben) weist eine etwas höhere Konzentration an AzadirachtinA auf und mit Ausnahme von Salannin deutlich weniger andere Inhaltsstoffe. Die nach dem deutschen Verfahren in Indien hergestellte Wirkstoffvariante „NeemAzal technical“ (s. Abb. 1c, Mitte) enthält überwiegend AzadirachtinA und zahlreiche andere Azadirachtine, welche zur Wirksamkeit beitragen. Die Anwesenheit mehrerer Azadirachtine sowie ihr vielfältiger Wirkungsmechanismus machen das Auftreten von Resistenzen sehr unwahrscheinlich.



**AzA-
Gehalt**

0 %



0,03 %

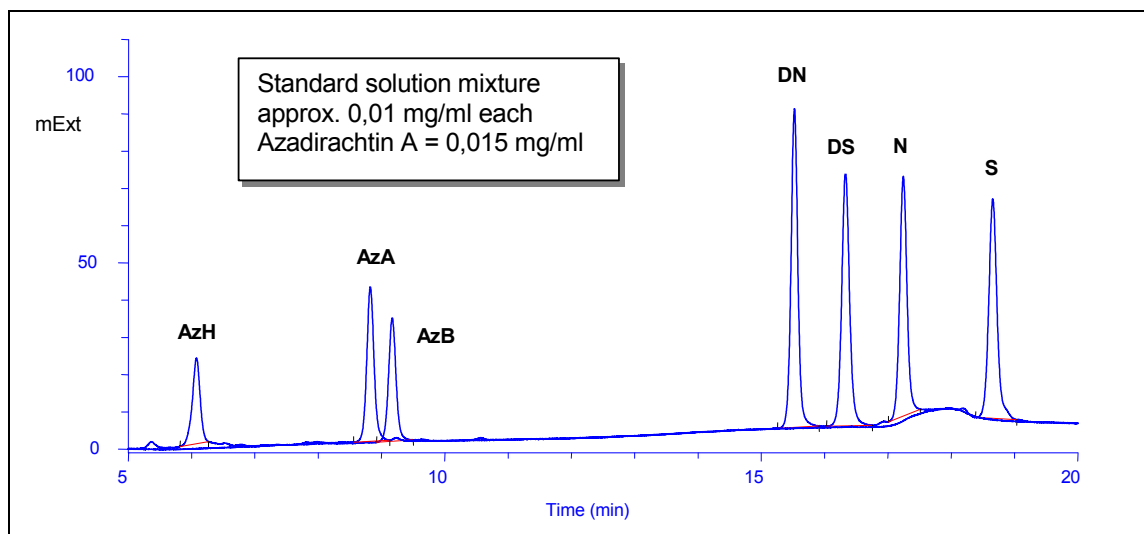
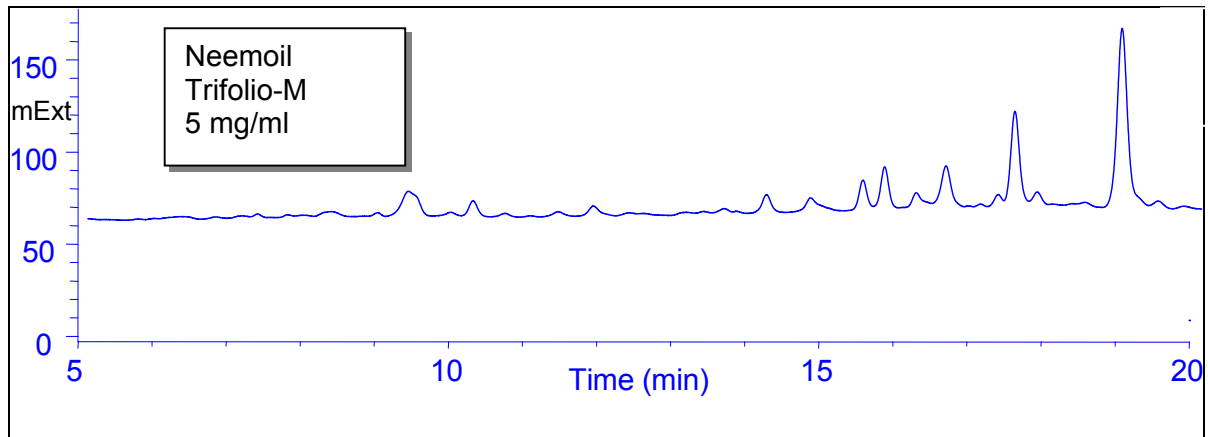
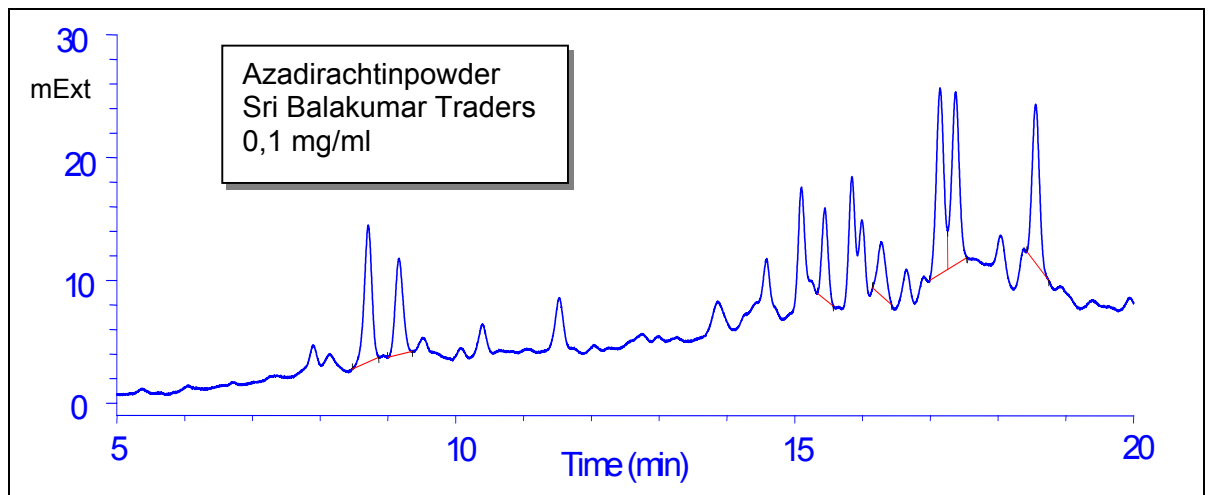


Abbildung 1a: HPLC-Chromatogramm im Bereich der Limonoide von Neem-Blättern (oben), Neem-Kernen (Mitte) und Standardlösungen (unten);
Abkürzungen: AzH: AzadirachtinH; AzB: AzadirachtinB; AzA: AzadirachtinA;
 DN: Desacetyl-Nimbin; DS: Desacetyl-Salannin; N: Nimbin; S: Salannin



**AzA-
Gehalt**



0 %

4 %

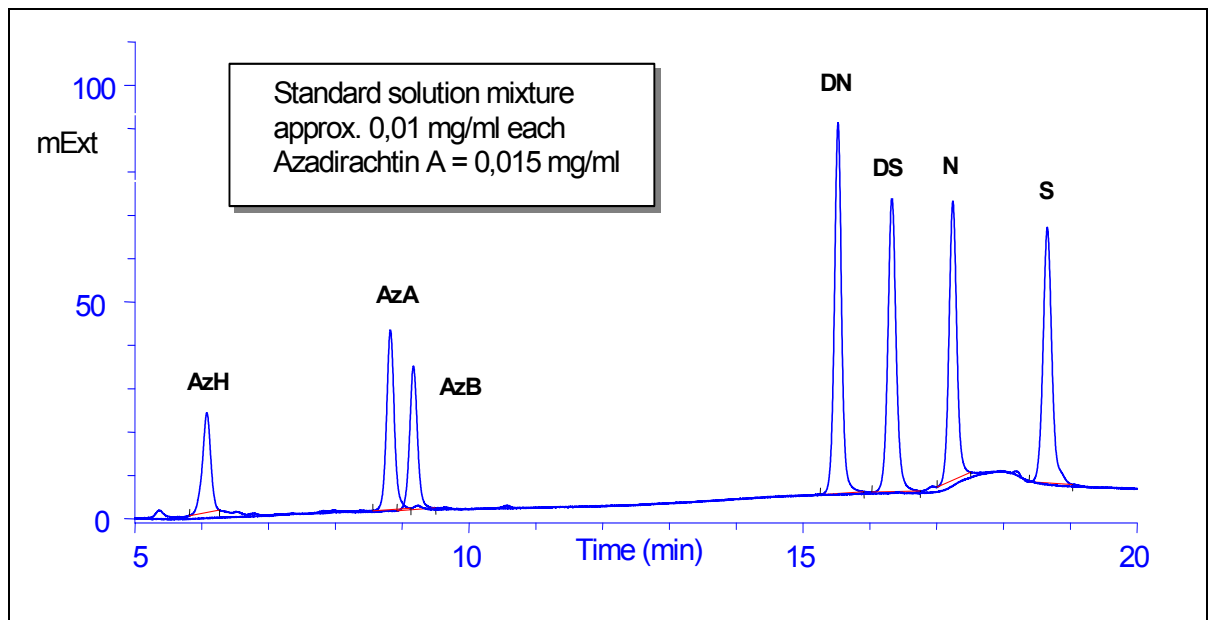
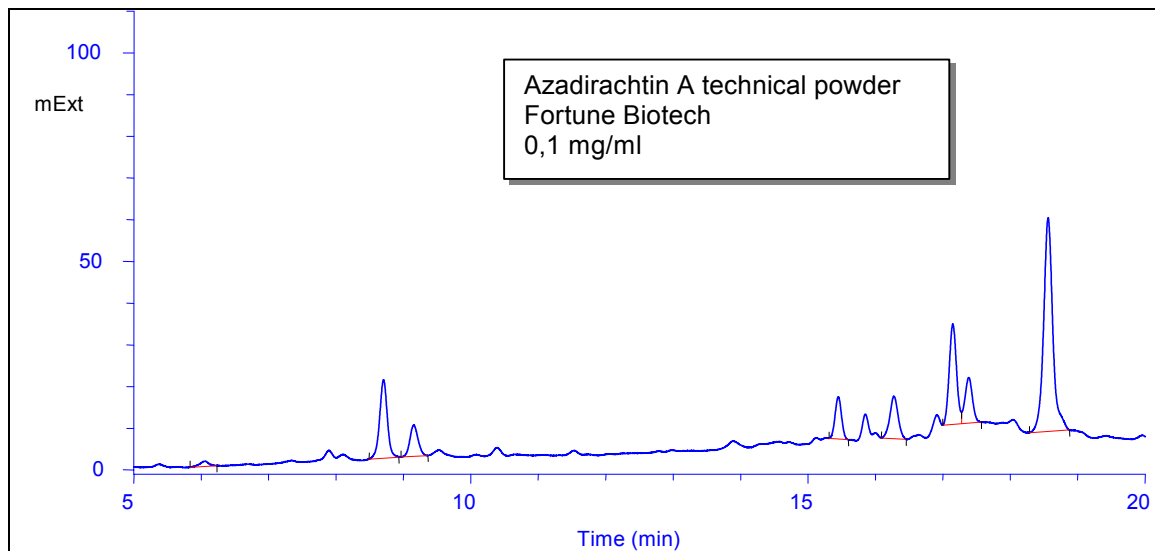
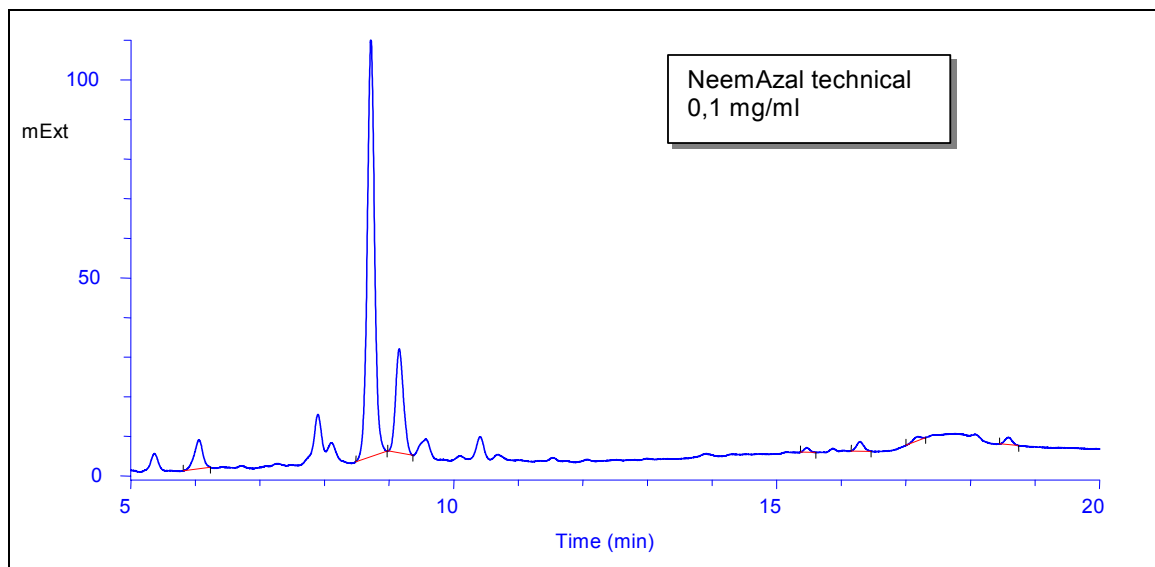


Abbildung 1b: HPLC-Chromatogramm im Bereich der Limonoide von Neem-Öl (Trifolio-M, oben); „Azadirachtin powder“ (Indien, Mitte) und Standardlösungen (unten); Abkürzungen s. Abb. 1a.



**AzA-
Gehalt**

6,9 %



38 %

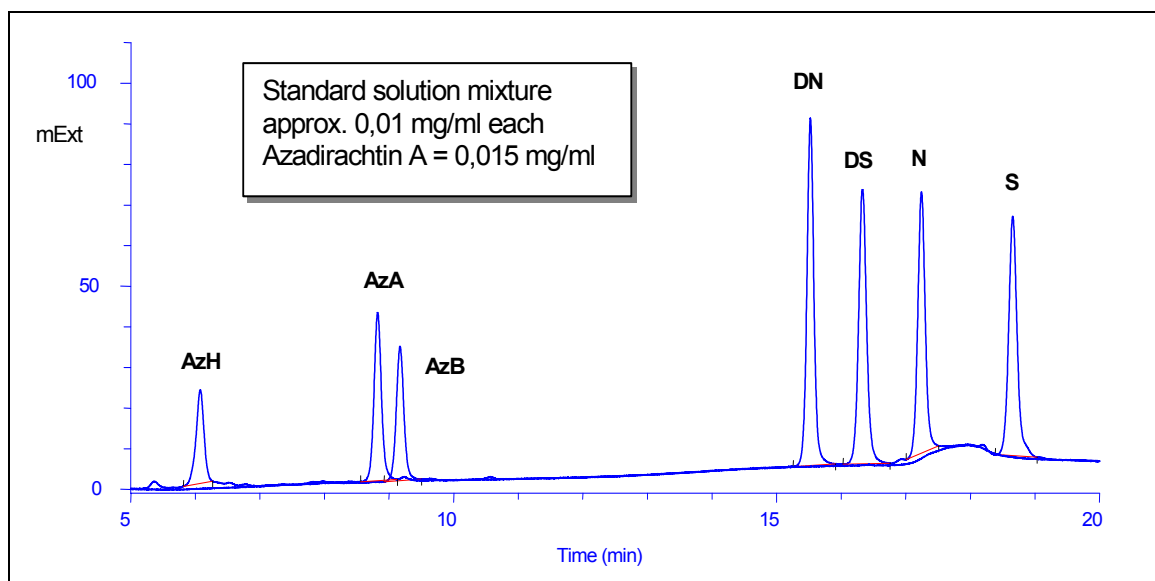


Abbildung 1c: HPLC-Chromatogramm im Bereich der Limonoide von Azadirachtin A technical (Fortune Biotech, India; oben); NeemAzal (Trifolio-M, Mitte) und Standardlösungen (unten); Abkürzungen s. Abb. 1a.

Herstellung und Standardisierung der Wirkstoffvariante NeemAzal

Der zu NeemAzal führende Anreicherungsprozess verläuft über mehrere aufeinander abgestimmte Extraktions- und Phasenverteilungsschritte, bei denen in der Natur vorkommende bzw. durch enzymatische Prozesse (wie Gärung) herstellbare Lösungsmittel verwendet werden. Das technische Extraktionsverfahren ist in Abbildung 2 schematisch dargestellt. Die Lösungsmittel werden während der Herstellung wieder aufbereitet und erneut eingesetzt, um Kosten zu reduzieren und Ressourcen zu schonen.

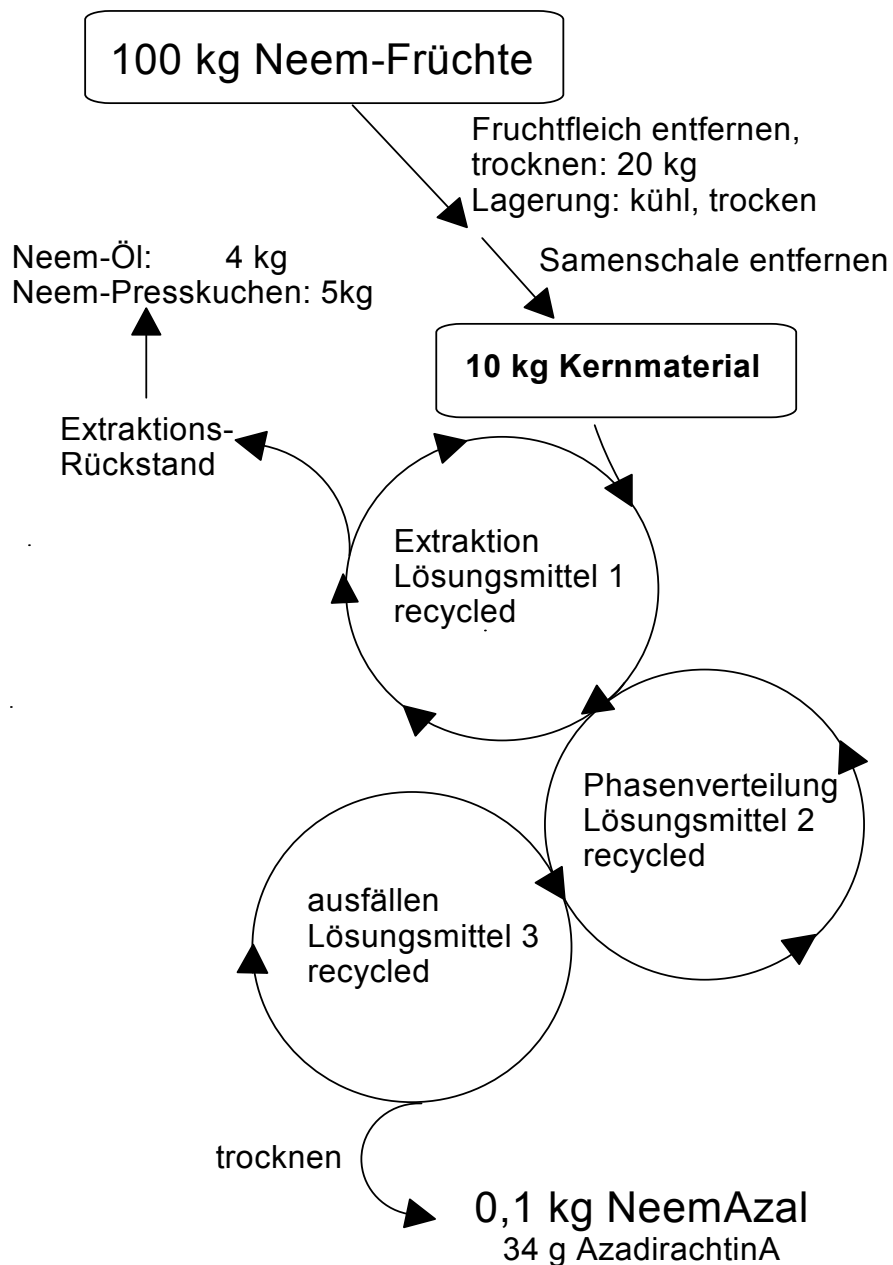


Abbildung 2: Schematische Darstellung der Extraktion von NeemAzal aus Neem-Früchten.

Die Analyse zahlreicher innerhalb mehrerer Jahre erhaltener Chargen an NeemAzal hat im Durchschnitt bezüglich der Limonoide die in Tabelle 1 aufgeführte Zusammensetzung ergeben.

Tabelle 1: Analytische Ergebnisse zur Zusammensetzung von NeemAzal.

Substanz	Durchschnittlicher Gehalt in NeemAzal (Gewichts-%)
<u>Azadirachtine:</u>	
Azadirachtin A	34
Azadirachtin B	5.5
Azadirachtin D	2.1
Azadirachtin E	≤ 1
Azadirachtin F	≤ 1
Azadirachtin G	≤ 1
Azadirachtin H	2.3
Azadirachtin I	0.8
Azadirachtin K und andere Azadirachtine	≤ 2
Azadirachtinin	2
Summe der Azadirachtine:	51,7
<u>Andere Limonoide:</u>	
Salannin	3
Nimbin	0.7
Desacetyl-salannin	0.7
Desacetyl-nimbin	0.5
6-O-Acetylnimbandiol	< 1
Summe anderer Limonoide:	5,9
Gesamtsumme aller Limonoide:	<u>57.6</u>

HPLC-chromatographisch lassen sich neben diesen Limonoiden noch etwa 17 % vermutlich polare, niedermolekulare Substanzen (wie Zucker, Peptide) abtrennen, die im einzelnen schwer zu charakterisieren sind, da sie sich mit chromatographischen und anderen analytischen Methoden nicht eindeutig identifizieren lassen. Teilweise (ca. 12 %) werden diese Substanzen auch ohne Auftrennung von den verwendeten HPLC-Materialien adsorbiert.

Unpolare Inhaltsstoffe (wie Lipide) der Neem-Kerne sind in NeemAzal zu etwas mehr als 5 % und Wasser zu etwa 6 % enthalten. Kationen (Kalium, Natrium, Calcium etc.), Schwefel und Stickstoff sind nur in Spuren vorhanden (zusammen unter 0,5 %).

Insgesamt können also etwa 52 % der Inhaltsstoffe von NeemAzal als biologisch wirksam und ca. 48 % als Inertstoffe betrachtet werden.

Insbesondere bezüglich der biologisch wirksamen Substanzen zeigen die analytischen Ergebnisse, dass die Zusammensetzung von NeemAzal reproduzierbar ist. Dies ist eine der wichtigsten Voraussetzungen für die Übertragbarkeit toxikologischer (NIEMANN & HILBIG 2000) und ökotoxikologischer (RUCH et al.1996) Untersuchungsergebnisse.

Diskussion möglicher toxikologisch relevanter Neem-Inhaltsstoffe

Aufgrund von Laboruntersuchungen, Computersimulationsbetrachtungen bzw. praktischen Erfahrungen sind drei Substanzen, die in Neem-Kernen vorkommen können, besonders sorgfältig zu beobachten:

Nimbolide: dieser Neem-Inhaltsstoff zeigte in Laboruntersuchungen an Zellkulturen (COHEN et al. 1996) cytotoxische Eigenschaften; diese Substanz ist aufgrund des aufwendigen Reinigungsverfahrens in NeemAzal höchstens in Spuren vorhanden und beeinträchtigt die guten toxikologischen Eigenschaften nicht (COHEN et al. 1996). Nimbolide würde in der HPLC-Analytik im Retentionsbereich von etwa 14 Minuten erscheinen. Im Gegensatz zu Neem-Blätterextrakten und einigen Neem-Präparaten treten bei NeemAzal in diesem Bereich keine Substanzen auf (s. Abb. 1). Die Wissenschaftler die sich mit diesen cytotoxischen Eigenschaften experimentell beschäftigt haben betonen, dass Azadirachtin aufgrund ihrer Untersuchungen als praktisch nicht toxisch anzusehen ist (COHEN et al. 1996).

AzadirachtinA: grobe theoretische Vergleiche von physiologisch wirksamen Molekülteilen toxischer Substanzen mit Teilstrukturen der Wirksubstanz AzadirachtinA scheinen in computergestützten Strukturvergleichsbetrachtungen (COHEN et al. 1996) ein Risikopotential anzudeuten. Selbst wenn eine derart oberflächliche Abschätzung keinen sehr ernst zu nehmenden Hinweis darstellt, muß ihm zur Abschätzung eines Risikopotentials nachgegangen werden. Derartige theoretische Ergebnisse könnten Hinweise darstellen, die - unabhängig von ihrer Qualität - nicht a priori oder theoretisch ausgeräumt werden können. Es muß der wissenschaftlich fundierte Beweis erbracht werden, ob ein Risikopotential besteht oder nicht. Die im Rahmen des Zulassungsverfahrens durch das BGVV erfolgte toxikologische Einschätzung (NIEMANN & HILBIG 2000) der zahlreichen vorgelegten Untersuchungen zu NeemAzal und seinen Formulierungen zeigt, dass für das azadirachtinreiche NeemAzal kein Risiko erkennbar ist. Es mag dabei erstaunen, dass die oben genannte Computerstudie vom US-Verteidigungsministerium unterstützt wurde.

Aflatoxine: Zu dieser Substanzgruppe gehören die gefährlichsten mikrobiologischen Gifte, die durch das Wachstum von Pilzen (wie *Aspergillus spp.*) in meist ölhaltigem Pflanzenmaterial (wie Nüssen) gebildet werden (ROSENKRANZ & KLOPMAN 1995). In verpilzten Neem-Kernen und deren Extrakten oder Ölen finden sich Aflatoxine teilweise in sehr erheblichen Mengen. Die Verwendung verpilzter Neem-Kerne oder von daraus gewonnenem Öl ist vermutlich eine Ursache für mitunter gemeldete Todesfälle in asiatischen Ländern. Aufgrund der allgemeinen Aflatoxin-Problematik im Lebensmittelbereich liegen genaue analytische Bestimmungsmethoden vor. Entsprechend unserem Lebensmittelgesetz dürfen Lebensmittel insgesamt nicht mehr als 4 ppb = µg Gesamtaflatoxine/kg Trockengewicht enthalten. Zur Einhaltung eines besonders hohen Sicherheitsstandards akzeptierten Zulassungsbehörden und Antragsteller für NeemAzal-Formulierungen diesen maximalen Grenzwert nach Lebensmittelgesetz. Diese Festlegung hat automatisch zur Folge, dass bei einer aus Gründen des Verbraucherschutz notwendig erscheinenden Verschärfung dieses Grenzwertes auch der maximal akzeptierte Aflatoxingehalt der NeemAzal-Formulierungen diese Bedingung erfüllen muss. Im Rahmen unserer Qualitätskontrolle von NeemAzal-Formulierungen lag der Wert der Produkte in den vergangenen Jahren unterhalb der Bestimmungsgrenze, welche etwa 1±1 ppb für die Gesamtaflatoxine (d. h. B₁, B₂, G₁ und G₂) beträgt. Die Entwicklung von *Aspergillus spp.* in NeemAzal-Formulierungen kann aufgrund ihrer Zusammensetzung ausgeschlossen werden (ROSENKRANZ & KLOPMAN 1995); diese Erwartung wird durch die Ergebnisse der kontinuierlichen Qualitätskontrolle von NeemAzal-Formulierungen bestätigt. Da während des Extraktionsvorganges von NeemAzal Aflatoxine von der azadirachtinreichen Fraktion nicht

vollständig abgetrennt werden (ROSENKRANZ & KLOPMAN 1995), besteht zur Gewährleistung der Sicherheit während der Extraktion der Neem-Kerne und der Konformität der Produkte besonders ein Bedarf an unverpilzten Neem-Samen. Diese sind inzwischen in Indien in großen Mengen erhältlich, wenn auch zu deutlich höheren Preisen als „ortsübliche“ Samen beispielsweise für die Herstellung von Öl für Seifen. Zur Verbesserung der Qualität der Rohmaterialien wurden in Indien auf Initiative der Firma E.I.D. Parry großflächige Neem-Pflanzungsprojekte begonnen, um gleichbleibende Qualität in genügender Menge gewährleisten zu können.

Schlussbemerkungen

Zusätzlich zur Schaffung von etwa 100 neuen, überwiegend hochspezialisierten Arbeitsplätzen im Rahmen der großtechnischen NeemAzal-Extraktionsanlage in Süd-Indien werden durch Aufforstungsmaßnahmen insbesondere im indischen Bundesstaat Andhra Pradesh Existenzmöglichkeiten für die ländliche Bevölkerung geschaffen. Die begonnenen Intercropping-Anlagen scheinen aus landbaulicher und sozioökonomischer Sicht dabei besonders geeignet. Die notwendige, bessere Ausbildung der Bauern zur Erhaltung der Anlagen führt in der ländlichen Bevölkerung schon heute ansatzweise zu stabileren Lebensbedingungen.

Die Standardisierung des Wirkstoffes Azadirachtin in Form der Wirkstoffvariante NeemAzal, d.h. also gleichbleibende Zusammensetzung, ist die Voraussetzung für eine sinnvolle Beurteilung bezüglich toxikologischer und ökotoxikologischer Risiken und für die Gewährleistung gleichbleibender Wirksamkeit und andauernder Wirkungssicherheit.

Die vielfältigen Aspekte der Risikoabschätzung und Wirksamkeit werden an anderen Stellen in diesem Band behandelt.

Insbesondere in Bezug auf Produkte, deren individuelle Anwendung nicht nur den einzelnen, sondern erheblich auch seine Umgebung beeinflussen kann (also z.B. Pflanzenschutzmittel), ist eine breite, möglichst fachkompetente und vorurteilsfreie – wenn auch interessenorientierte – Diskussion in der Öffentlichkeit über Nutzen und Risiken unabdingbar. Deshalb danken wir den Organisatoren dieser Fachtagung für ihre Initiative und hoffen, dass sie einen Beitrag zur Versachlichung der Diskussion über Pflanzenschutzmittel leistet und die Praxis in Richtung mehr „Biologischer Pflanzenschutz“ bewegen hilft.

Literatur

COHEN, E.; QUISTAD, G. B.; JEFFRIES, P. R. & CASIDE, J. E. (1996): Nimbolide is the Principal Cytotoxic Component of Neem Seed Insecticide Preparations, *Pestic. Sci.*, 48, 135-140.

COHEN, E.; QUISTAD, G. B. & CASIDA, J. E. (1996): Cytotoxicity of nimbolide, epoxyazadiradione and other limonoids from neem insecticide, *Life Sci.*, 58, 1075-1081.

KETKAR, C. M.; KETKAR, M. S. (1993): Different Uses of Neem S. 1-12; Proceedings of 2nd Workshop: Practice Oriented Results on Use and Production of Neem-Ingredients and Pheromones (ed. h. Kleeberg), Druck & Graphic, Giessen.

KLICHE-SPORY, C. & KLEEBERG, H. (2000): Risk Estimation of Mould Growth in NeemAzal and its Formulation NeemAzal-T/S, S. 55-58; Proceedings of the 8th Workshop: Practice Oriented Results on Use and Production of Neem-Ingredients and Pheromones (eds. KLEEBERG & ZEBITZ), Druck & Graphic, Giessen.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (1992): *Neem: A Tree For Solving Global Problems*, Nat. Acad. Press, Washington, D.C.

NIEMANN, L.; HILBIG, V. (2000): Die gesundheitliche Bewertung des Einsatzes von Naturstoffen im Pflanzenschutz am Beispiel von Neemkernextrakten; *Gesunde Pflanzen*, 52, Heft 5, S.135-141 (s. auch dieser Band).

RANDHAWA, N. S. & PARMAR B. S. (eds.) (1993): *Neem – Research and Development*, Soc. Of Pesticide Sci., India, New Delhi

ROSENKRANZ, H. S. & KLOPMAN, G. (1995): An Examination of the Potential „Genotoxic“ Carcinogenicity of a Biopesticide Derived From the neem Tree, *Environ. Mol. Mutagen.*, 26, 255-260.

RUCH, B. et al. (1996): Summary of Some Environmental Aspects of the Neem Ingredient NeemAzal and NeemAzal-T/S; S. 15-20; Proceedings of 5th Workshop: Practice Oriented Results on Use and Production of Neem-Ingredients and Pheromones (eds. KLEEBERG & ZEBITZ), Druck & Graphic, Giessen.

SCHMUTTERER, H. (ed.) (1995): *The Neem Tree*, VCH, Weinheim.

Bibliographische Angaben zu diesem Dokument:

(Preprint) Kleeberg, Hubertus (2001): Niem-Produkte: Herstellung, Standardisierung und Qualitätssicherung. Beitrag präsentiert bei der Konferenz: Pflanzenschutz im Ökologischen Landbau - Probleme und Lösungsansätze - Viertes Fachgespräch "Azadirachtin und Pyrethrine", Darmstadt, 6. Juni 2000; Veröffentlicht in: Kühne, Stefan, (Hrsg.) Azadirachtin und Pyrethrine; Berichte aus der Biologischen Bundesanstalt 76, Seiten 16-25. Saphir Verlag, D-Ribbesbüttel.

Das Dokument ist in der Datenbank „Organic Eprints“ archiviert und kann im Internet unter <http://orgprints.org/00001988/> abgerufen werden.