

Enzyme als Futterzusatzstoffe

Wirkungsweise und Entwicklungstendenzen

Ortwin Simon

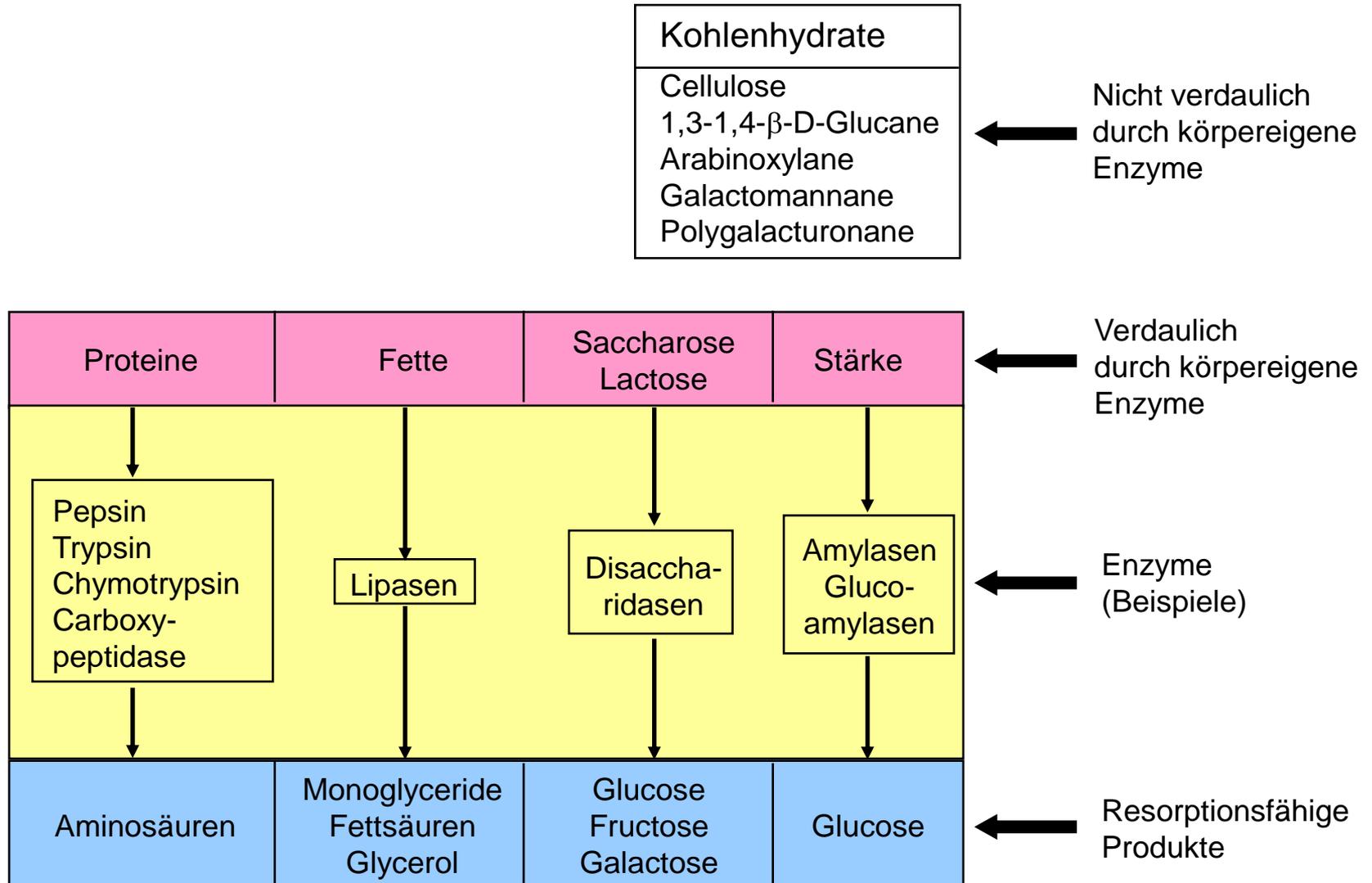
Institut für Tierernährung
Fachbereich Veterinärmedizin, Freie Universität, Berlin



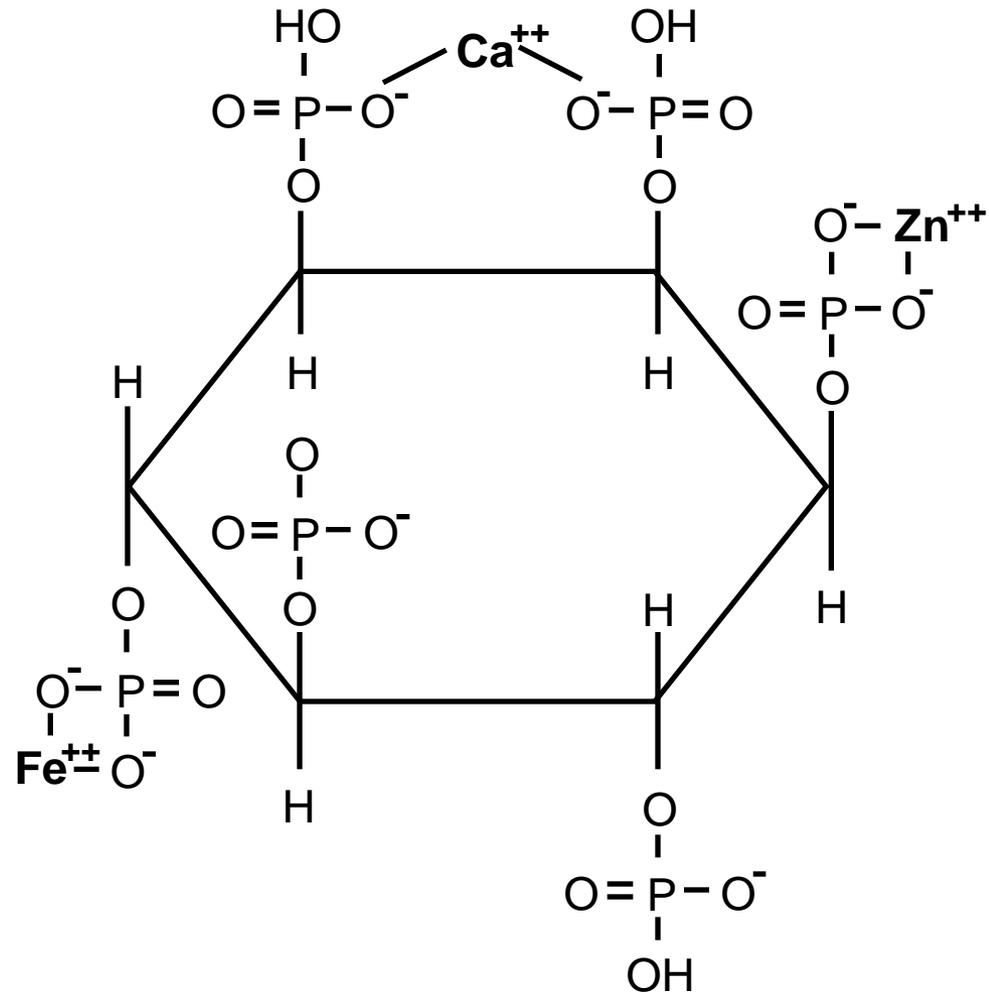
Kategorien der Futterzusatzstoffe und Funktionsgruppen nach EG Verordnung Nr.1831/2003

- Kategorie „**technische Zusatzstoffe**“:
Konservierungsmittel, Antioxidationsmittel, Emulgatoren, Stabilisatoren, Verdickungsmittel, Geliermittel, Bindemittel, Trennmittel, Säureregulatoren, Silierzusatzstoffe
- Kategorie „**sensorische Zusatzstoffe**“ (organoleptische Eigenschaften des Futtermittels bzw. optische Eigenschaften des Lebensmittels): Farbstoffe, Aromastoffe und appetitanregende Stoffe
- Kategorie „**ernährungsphysiologische Zusatzstoffe**“:
Vitamine, Provitamine, Spurenelemente, Aminosäuren, Harnstoff
- Kategorie „**zootechnische Zusatzstoffe**“
(Positive Beeinflussung von: Leistungen und Gesundheit von Tieren oder Auswirkungen auf die Umwelt): Verdaulichkeitsförderer, Darmflorasanierungsmittel, Stoffe die die Umwelt günstig beeinflussen, Sonstige
- Kategorie „**Kokzidiostatika und Histomonostatika**“

Abbau der Hauptnährstoffe durch körpereigene Verdauungsenzyme



Struktur der Phytinsäure und des Phytats



Enzyme: Zugelassene Zusatzstoffe nach Richtlinie 70/524/EWG und Übergangsregelung Verordnung EG 1831/2003 (Stand: Juni 2011)

- Enzympräparate insgesamt: 45
 - Phytasen: 6
 - Nicht-Stärke-Polysaccharide (NSP) – spaltende Enzyme: 39
 - Xylanase- und/oder β -Glucanaseaktivität: 25
 - Präparate mit zusätzlichen Aktivitäten (Amylasen, Proteasen, Polygalacturonasen): 14

Quelle: Bundesamt für Verbraucherschutz und LebensmittelsicherheitL

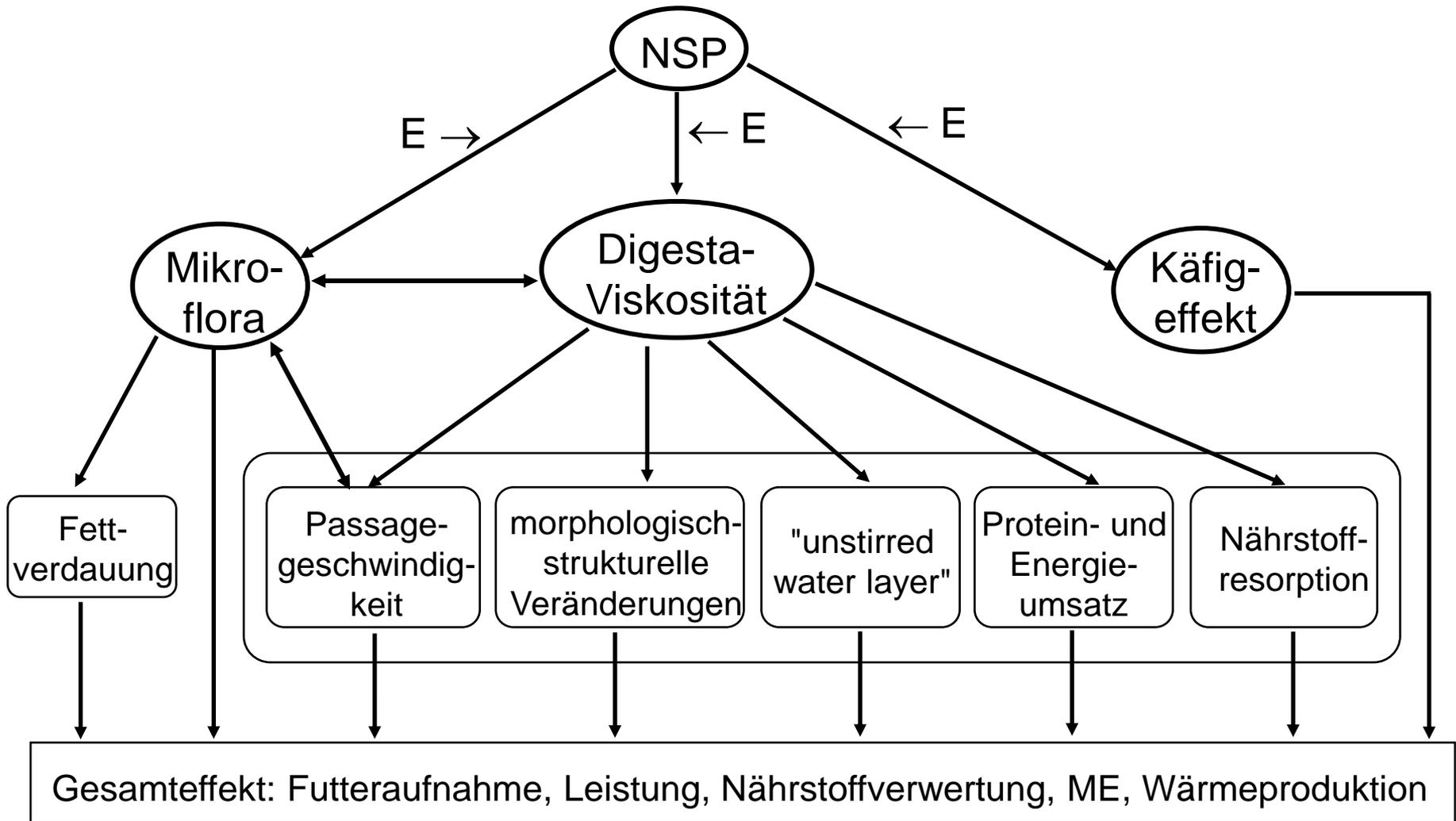
NSP-hydrolysierende Enzyme

- Beta – Glucanasen
- Xylanasen

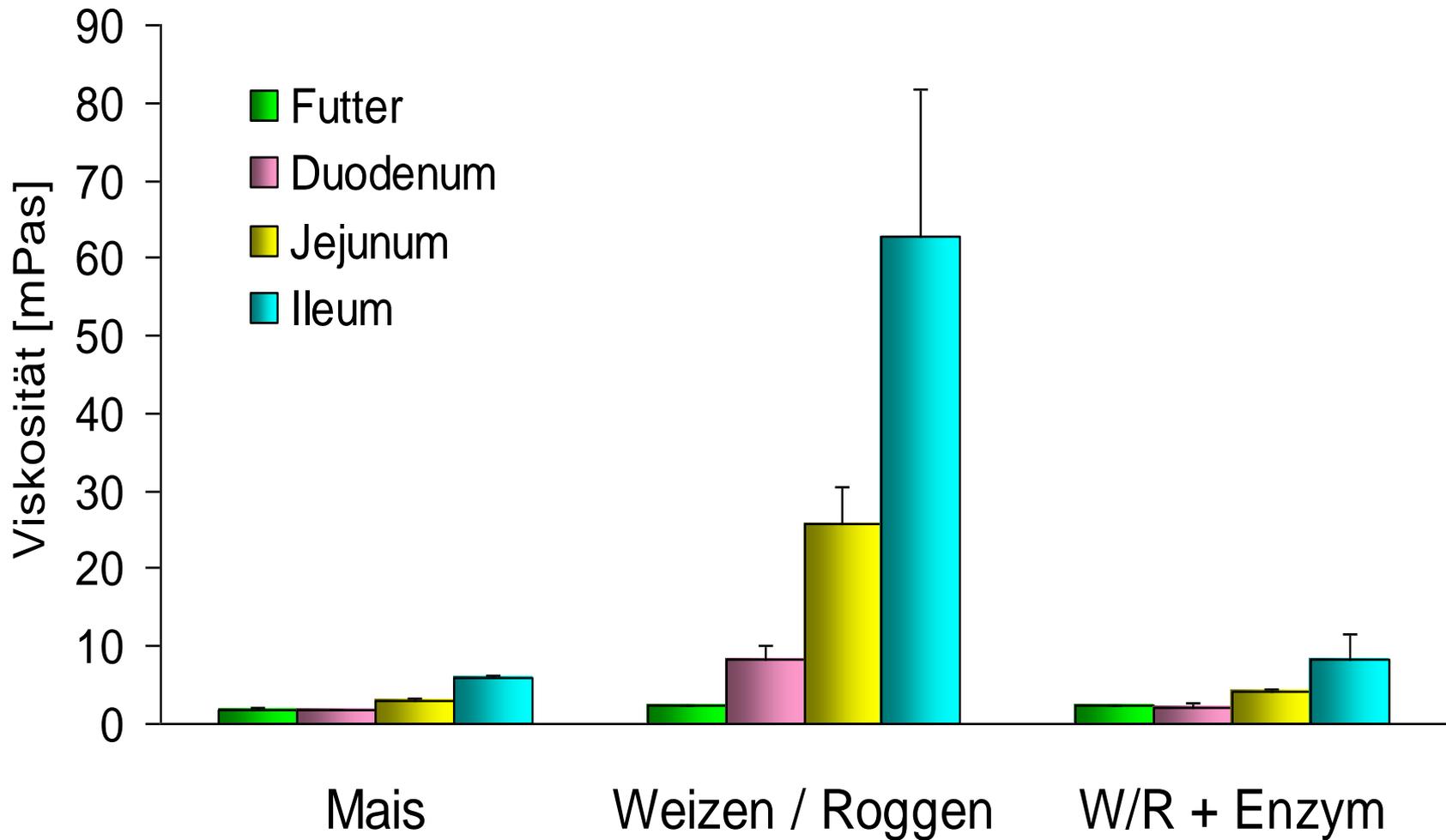
Gehalt an 1,3-1,4- β -Glucanen und Arabinoxylanen (Pentosanen) im Getreide (g/kg)

Getreide	β -Glucane		Pentosane	
	gesamt	löslich	gesamt	löslich
Gerste	26 - 60	24 - 50	31 - 60	5 - 8
Roggen	13 - 47	-	59 - 122	19 - 45
Triticale	4 - 36	-	46 - 86	6 - 21
Weizen	3 - 11	-	35 - 70	5 - 23
Mais	~1	-	33 - 68	4 - 10

Wirkungsebenen von Nicht-Stärke-Polysacchariden (NSP) und NSP-hydrolysierenden Enzymen (E)

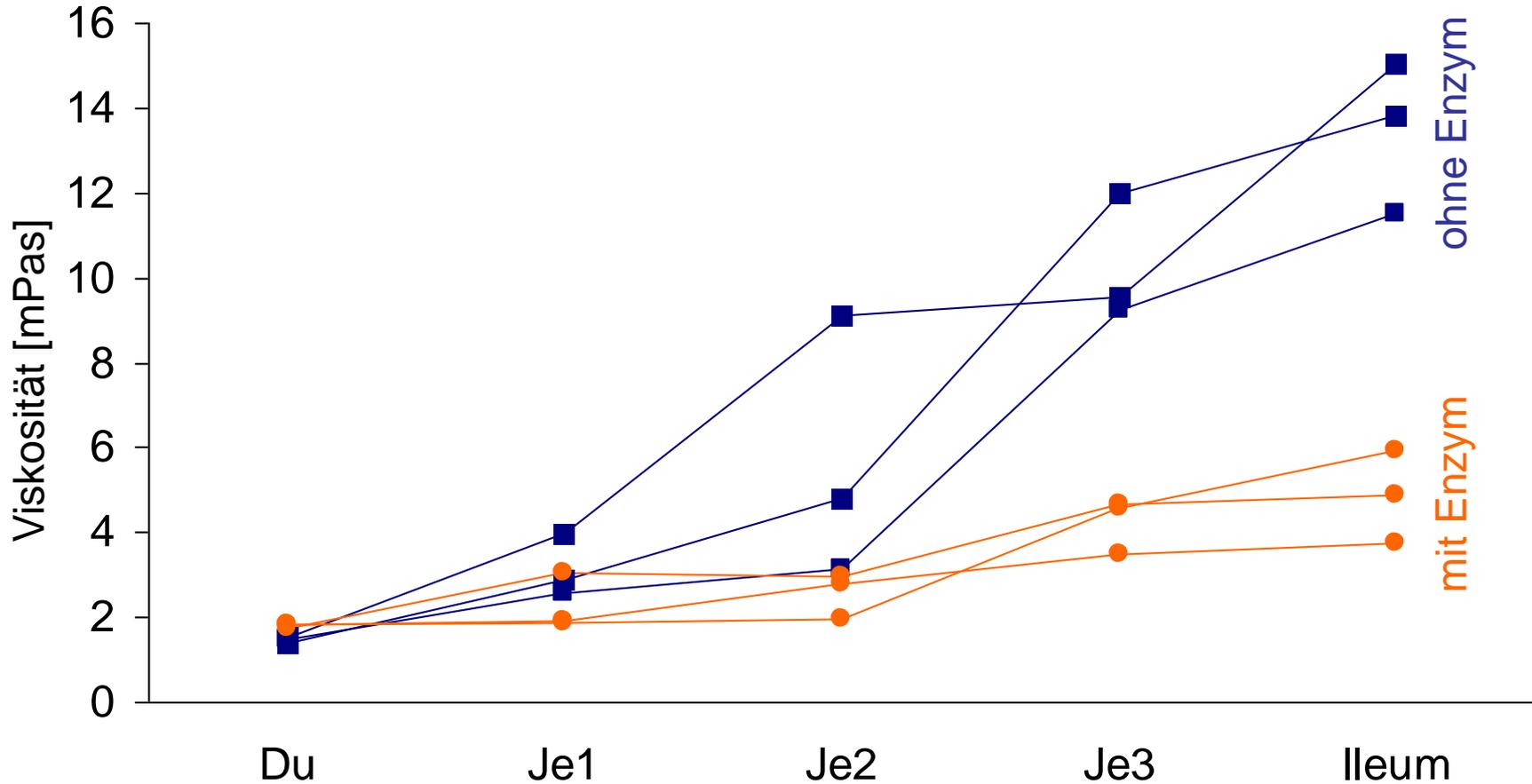


Extraktviskosität im Futter und in der Digesta von Broilern (4 Wochen alt)



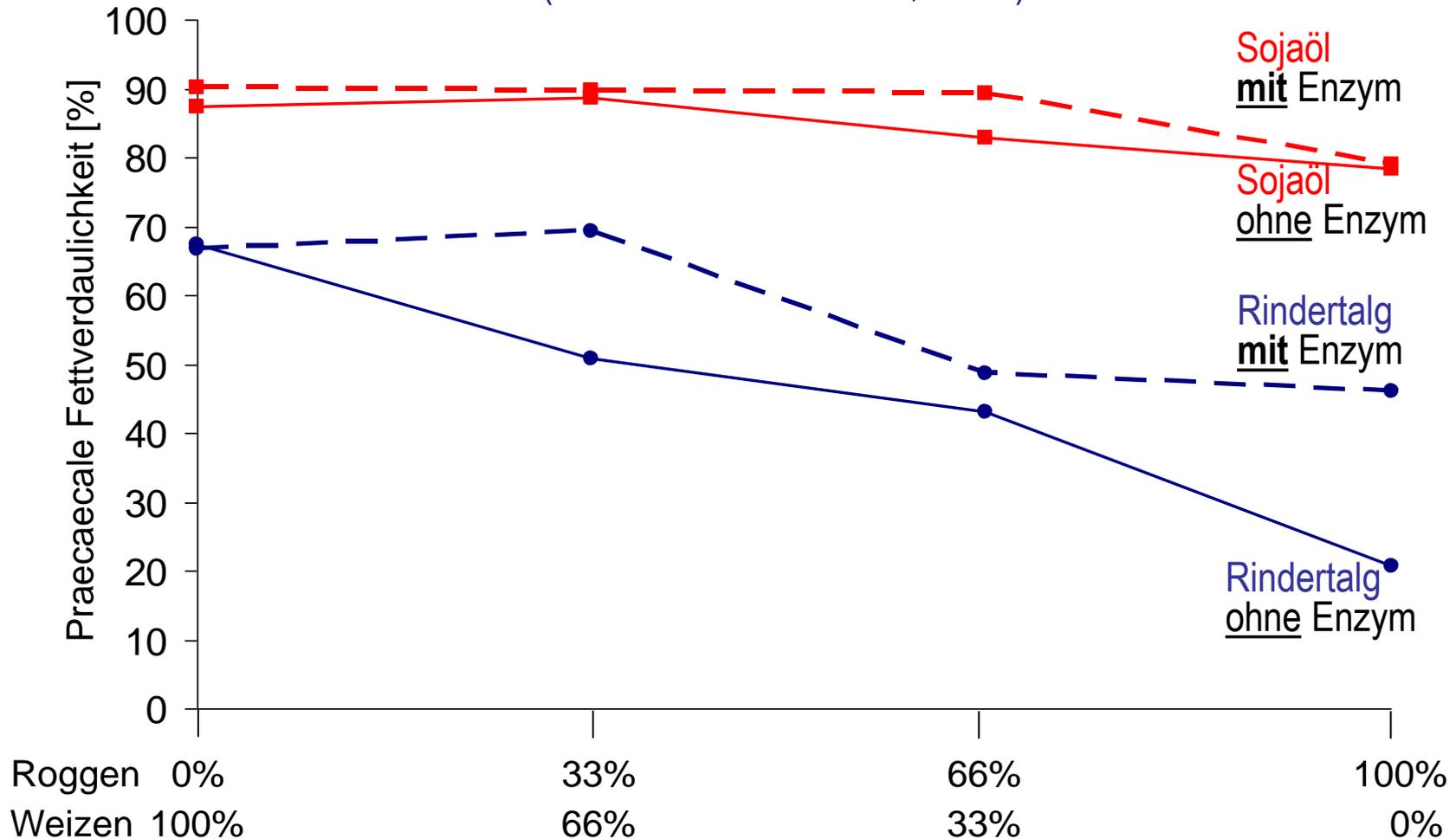
Viskosität [mPas] in der flüssigen Phase des Dünndarminhaltes von Ferkeln auf Triticalebasis¹⁾

- Effekt eines Xylanasezusatzes -



1) 67% Triticaleanteil, Sorte Boreas, Extraktviskosität: 4,1 mPas

Praecaecale Fettverdaulichkeit bei Broilern (21 Tage alt) in Abhängigkeit vom Roggenanteil in der Ration¹⁾, Art des Fettes²⁾ und Xylanase-Zusatz³⁾ (nach DÄNICKE et al., 1999)



- 1) Weizen wurde in der Ration zu den angegebenen Anteilen durch Roggen ersetzt
- 2) 10 % Sojaöl bzw. Rindertalg in der Ration
- 3) 3000 IU Xylanase / kg

Extraktviskosität, *in-vitro*-Viskosität und AME_n-Gehalt
 verschiedener Weizensorten
 (Dusel et al., 1997)

Weizen- sorte	Pentosangehalte lösl. (% der TS)	Viskosität (mPa.s)		AME _n -Gehalt (MJ/kg TS)
		<u>Weizen</u>	<u>Ileum</u>	
Ibis	0,76	1,3	13,1	14,37 ^b
Bussard	1,14	1,4	14,1	14,58 ^b
Aron	1,29	1,7	27,5	14,45 ^b
Zentos	1,43	2,2	20,6	14,06 ^a
Alidos	1,71	3,5	78,0	14,01 ^a

Einfluss eines Xylanasepräparates auf die
Umsetzbare Energie von Weizen bei Broilern
(Dusel et al., 1998)

Weizensorte	Enzym	AME _n (MJ/kg DM)
Ibis	–	14,8 ± 0,24 ^b
	Xylanase A	14,9 ± 0,19 ^b
	Xylanase B	14,7 ± 0,17 ^b
Alidos	–	14,0 ± 0,39 ^a
	Xylanase A	14,7 ± 0,28 ^b
	Xylanase B	14,6 ± 0,14 ^b

Wirksamkeit von Enzymzusätzen mit NSP-hydrolysierenden Aktivitäten

Getreidebasis

Roggen

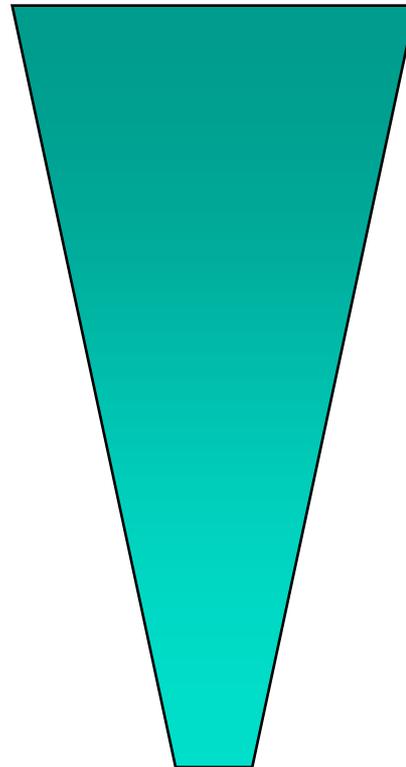
Gerste

Hafer

Triticale

Weizen

Mais ?



Tierart

Broilerküken

Putenküken

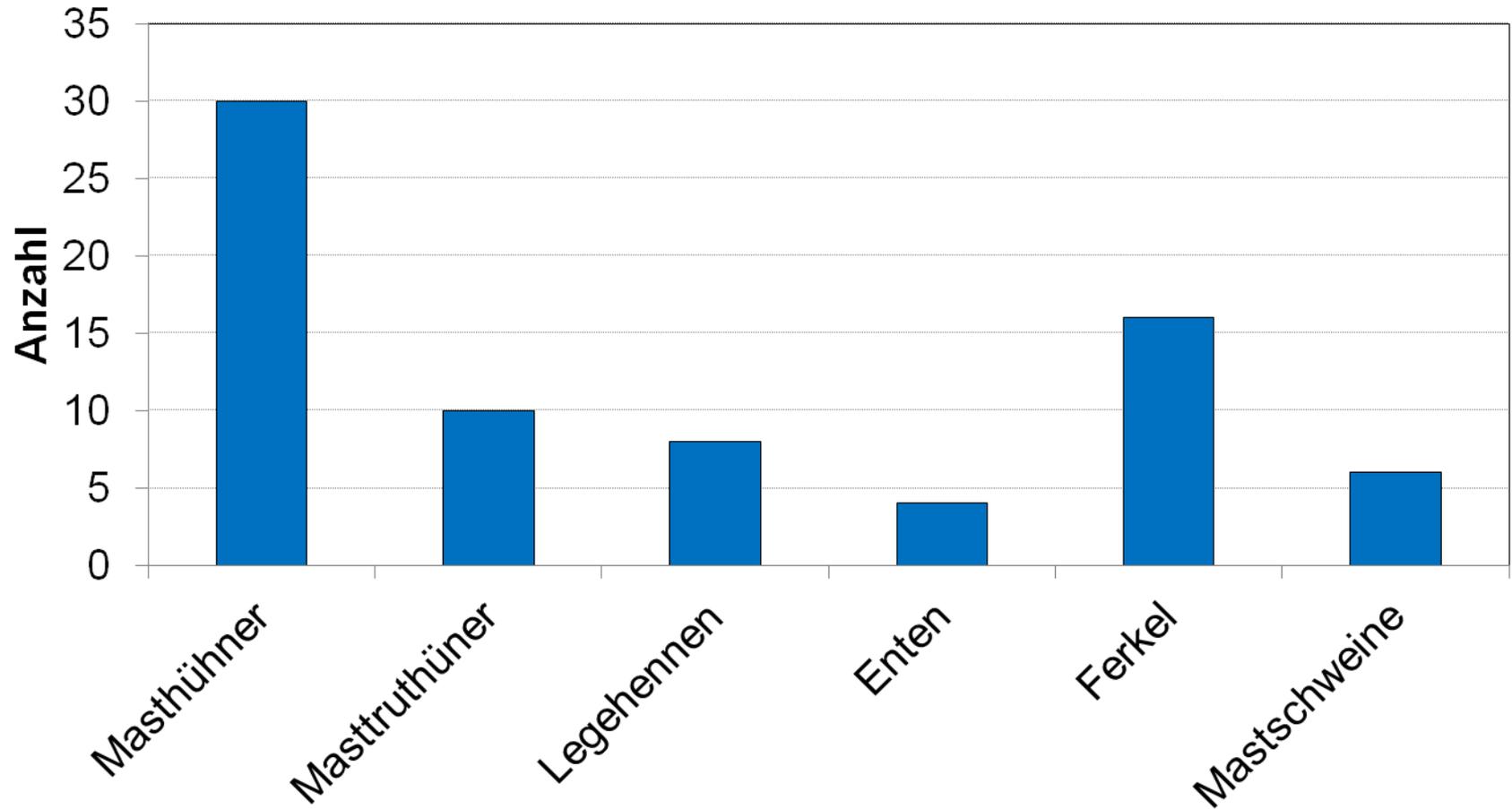
Entenküken

Ferkel

Legehennen (?)

Mastschweine ?

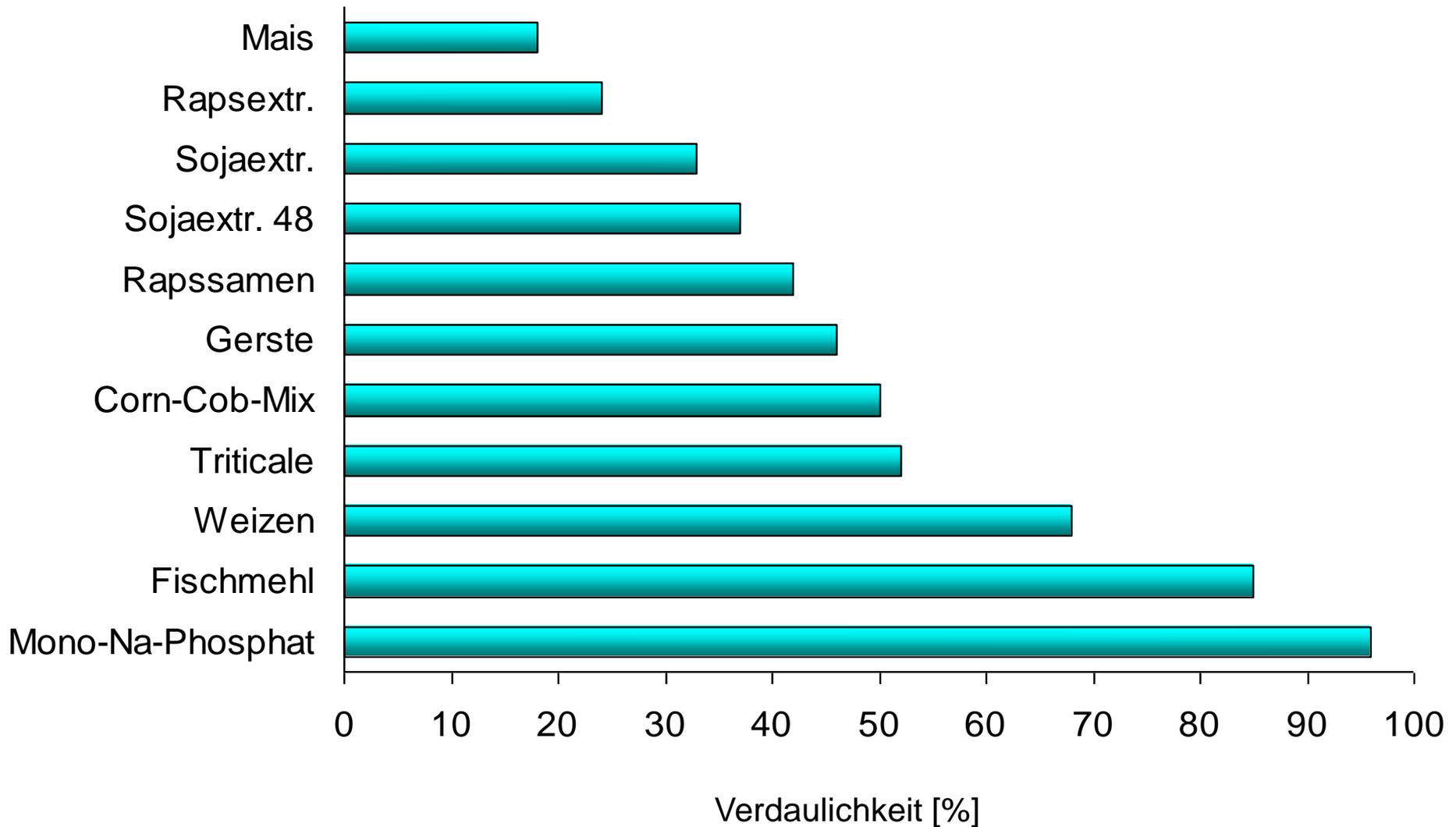
Anzahl der zugelassenen NSP-Enzympräparate für verschiedene Tierkategorien



Phytasen

- hydrolisieren Phytat: katalysieren die Abspaltung der Phosphatmonoester von der Phytinsäure bzw. von deren Salzen
- gehören zu der Enzymgruppe der Phosphatasen
- Vorkommen in Pflanzen, Mikroorganismen und einigen tierischen Geweben
- Nach EG-Verordnung 1831/2003 sind 7 Produkte zugelassen (Produktionsstämme: *A. niger*, *A. orycae*, *T. reesi*, *Pichia pastoris*, *Penicillium funiculosum*, *Schizosaccharomyces pombe*)

Verdaulichkeit des P in verschiedenen Futtermitteln für das Schwein, bestimmt nach standardisierter Methode (nach Rodehutscord 2001)



Strategien zur Deckung des P-Bedarfes bei Ferkeln

Zusatz von Monocalciumphosphat (MCP) vs. Zusatz von Phytase
Ration auf Mais-Soja-Basis (nach Pallauf and Rimbach, 1997)

Zusatz	P-Aufnahme g/Tag	P-Retention g/Tag	P-Exkretion g/Tag	P-Exkretion %
MCP	3,90	1,70	2,20	100
Phytase	2,62	1,66	0,96	44

Eigenschaften von Phytasen, die deren Wirksamkeit bestimmen - Optimierungsarbeiten

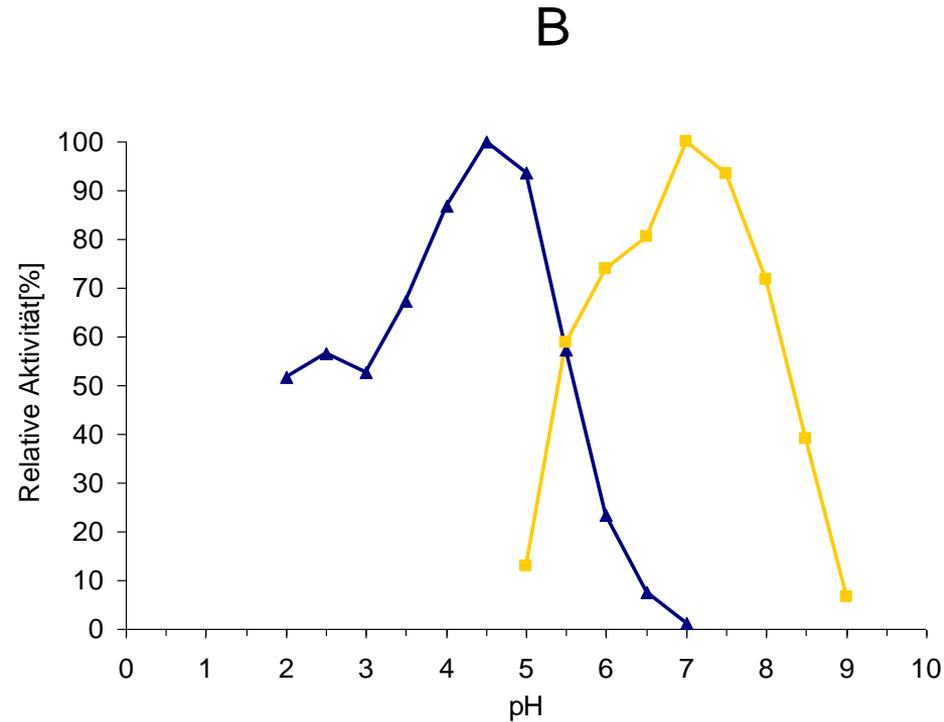
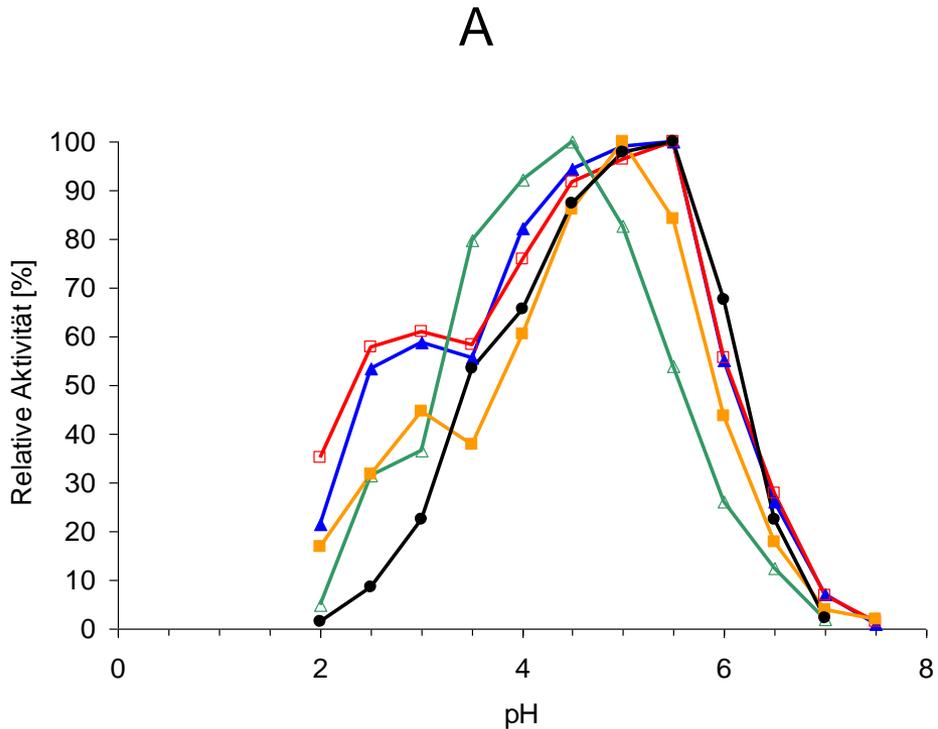
- Temperaturstabilität
- pH-Verhalten
- Proteolytische Stabilität
- Endprodukte der Dephosphorylierung von Inositolphosphaten

Einfluss des Pelletierens auf die Restaktivität¹ verschiedener Phytasen in Futtermischungen

Phytase	Vor dem Pelletieren	Temperatur im Konditionierer [°C]		
		60	70	80
Native	100.0	90.0	36.4	11.8
<i>Aspergillus A</i>	100.0	92.6	70.5	30.9
<i>Aspergillus T</i>	100.0	51.9	25.0	6.5
<i>E. coli</i>	100.0	98.8	78.0	24.4
<i>Consensus</i>	100.0	110.5	101.0	100.0

1 Bei Enzymzusatz wurde die native Phytase der jeweiligen Temperaturstufe abgezogen,

pH-Verhalten verschiedener Phytasen



Aspergillus A Aspergillus R Peniophora Aspergillus T Consensus

E-coli Bacillus

A: pH-Verhalten pilzlicher Phytasen

B: pH-Verhalten bakterieller Phytasen

Angaben in Prozent der maximalen Aktivität

Simon and Igbasan 2002

***Restaktivität von Phytasen [%] nach 60 min Inkubation
bei 40 °C in Digestaüberstand
aus verschiedenen Segmenten des Verdauungstraktes***

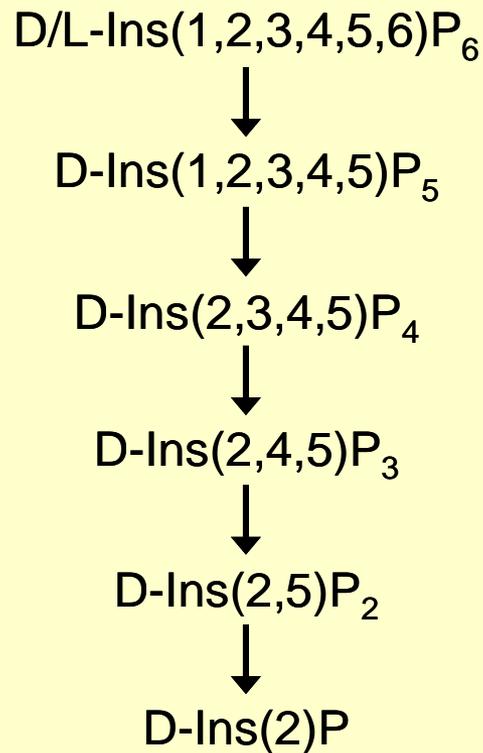
Phytase	Kropf	Magen	Duodenum	Jejunum	Ileum
<i>Aspergillus A</i>	98.5	60.4	93.6	60.2	54.5
<i>E. coli</i>	96.9	92.8	96.8	86.7	80.4
<i>Bacillus</i>	93.5	70.8	95.3	91.5	97.3

Vergleich der Dephosphorylierung von Inositolphosphaten durch

- E. coli – Phytase
und
- Aspergillus - Phytase

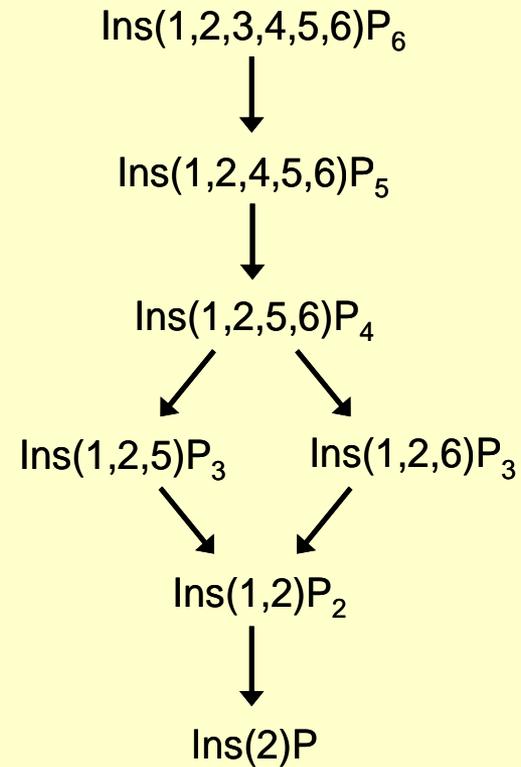
Abbauwege

E. coli – Phytase (6-Phytase)



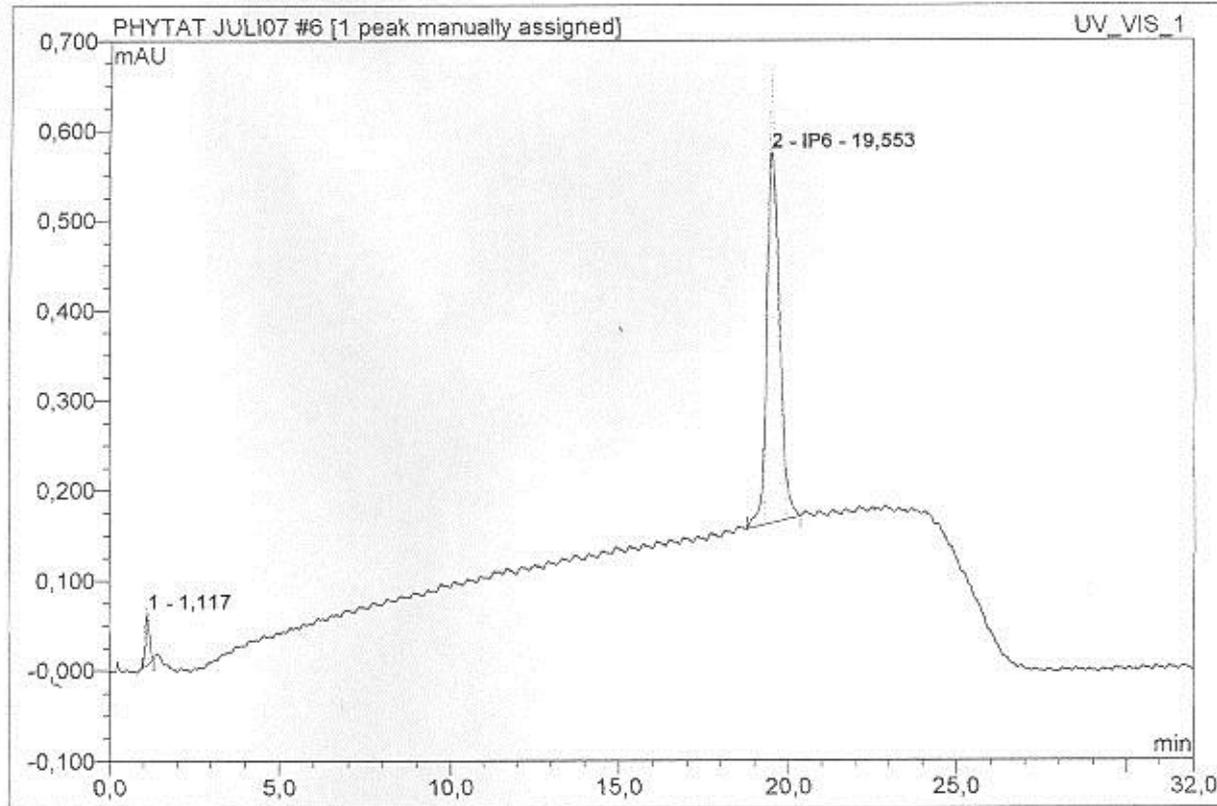
Greiner et al., 2000

A. niger – Phytase (3-Phytase)

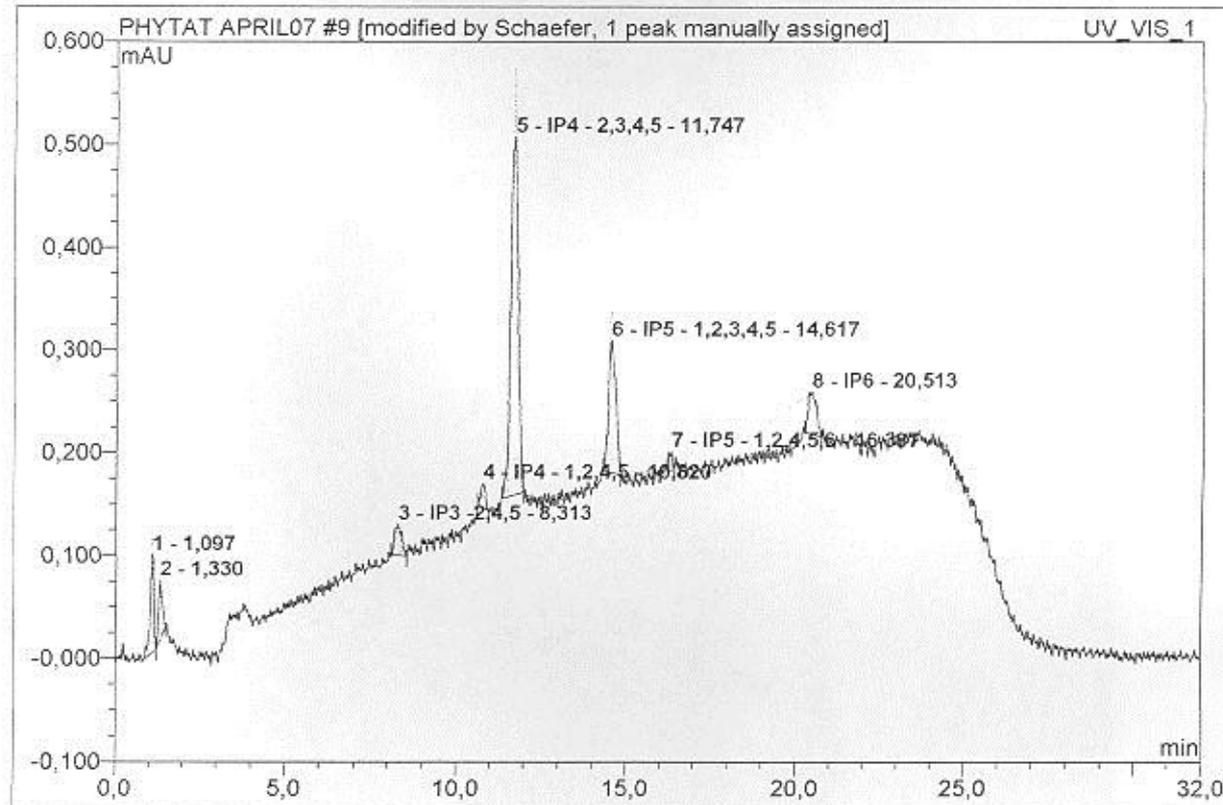


Skoglund et al.,
1997

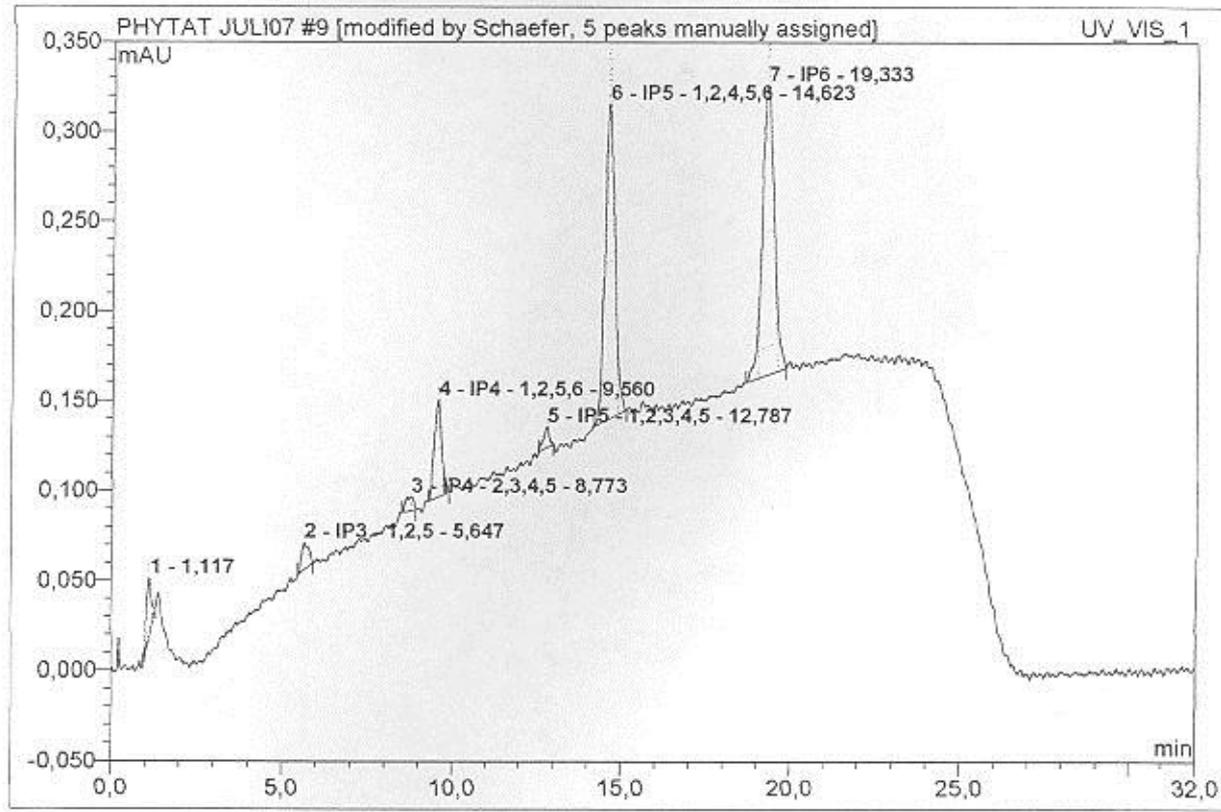
E.coli-Phytase – Inkubationszeit: 0 Min



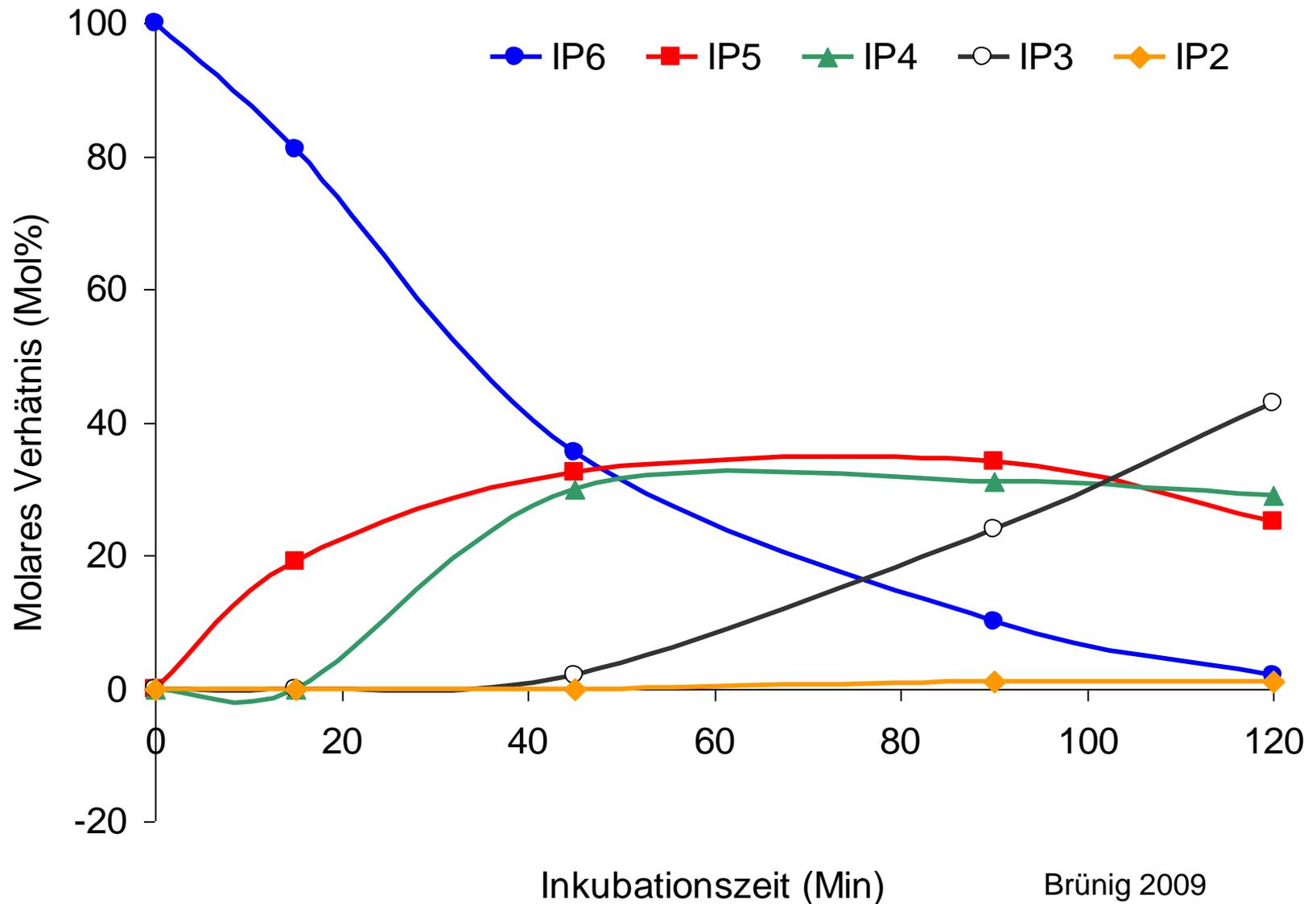
E.coli-Phytase – Inkubationszeit: 45 Min



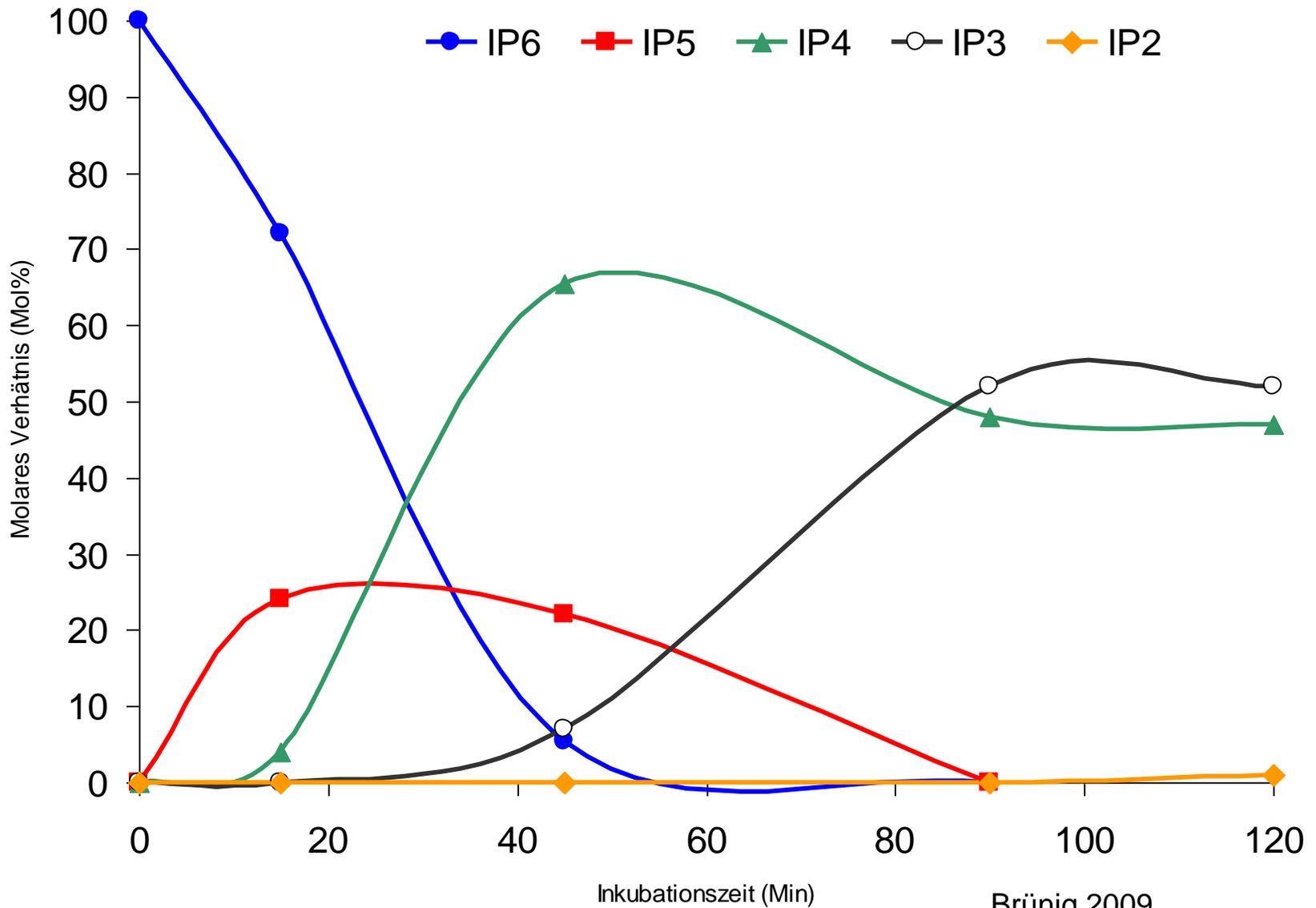
A.niger-Phytase – Inkubationszeit: 45 Min



Molares Verhältnis (Mol%) der Inositolphosphate während der Inkubation mit einer *Aspergillus*-Phytase

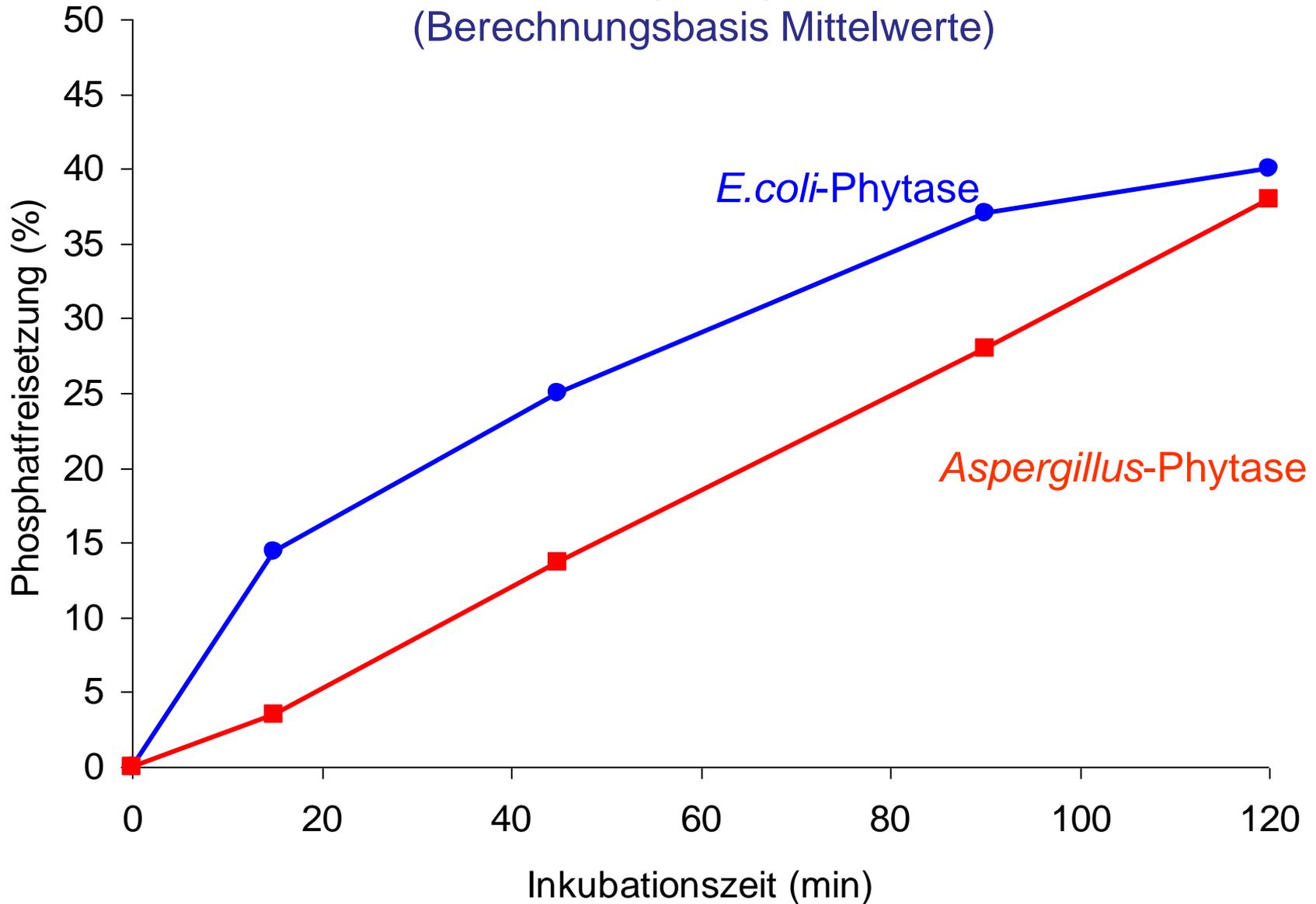


Molares Verhältnis (Mol%) der Inositolphosphate während der Inkubation mit einer *E.coli*-Phytase



Zeitverlauf der Phosphatfreisetzung aus Inositolphosphaten

(Berechnungsbasis Mittelwerte)



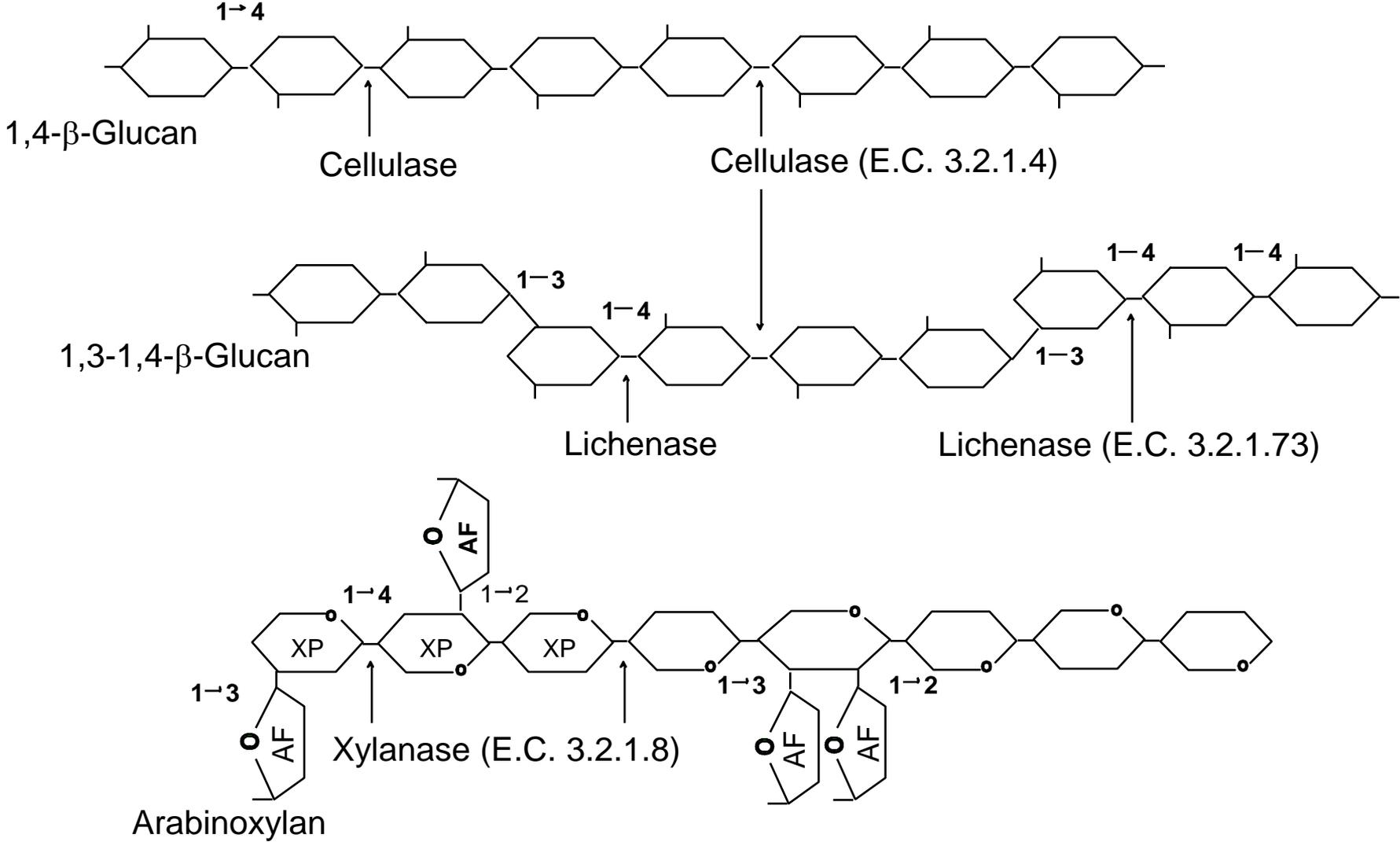
In Wellen wiederkehrende Diskussionen zur Wirksamkeit anderer Enzyme

- Proteasen/Keratinasen (eine Serinprotease ist zugelassen)
- “Soja-Enzyme” (eine Endo-1,4-beta Mannanase ist zugelassen)
- Lipasen
- Mykotoxininaktivierende Enzyme

Zusammenfassung

- Lösliche β -Glucane und Pentosane können bei jungem Geflügel zu Viskositätserhöhung im Verdauungstrakt, Beeinträchtigungen der Nährstoffresorption, Leistungsminderungen und klebrigen Excrementen führen
- Die Effekte können durch Enzymzusätze (Beta-Glucanasen und Xylanasen) zum Futter reduziert oder eliminiert werden
- Die gleiche Wirkung der NSP ist auch bei Ferkeln, jedoch in geringerem Ausmaß, nachweisbar
- Die Enzymzusätze bewirken auch Modifizierungen in der Zusammensetzung der intestinalen Mikrobiota
- Phytasen werden in Rationen für Schweine und Geflügel eingesetzt.
- Sie ermöglichen eine Verbesserung der Phosphorverwertung aus pflanzlichen Konzentratfuttermitteln
- Ferner kann eine erhebliche Verringerung der Phosphoremission erreicht werden
- Entwicklungsarbeiten konzentrieren sich auf die Verbesserung der Enzymeigenschaften für den Einsatz als Zusatzstoff

NSP des Getreides und Wirkungsweise NSP-hydrolysierender Enzyme



Empfehlungen für maximale Getreideanteile (%)
in Alleinfuttermischungen für Geflügel und Ferkel,
ohne und mit Enzymsupplementierung¹⁾
(Jeroch, 2001; Simon und Jeroch, 1999)

Getreideart	Gerste		Roggen		Triticale		Weizen	
	-	+	-	+	-	+	-	+
Küken/Broiler	10	40	5	20	20	40/o.B.	30	o.B.
Legehennen	40	o.B.	20	40	30	o.B.	o.B.	o.B.
Aufzuchtferkel	35	?	0	?	15	o.B.	o.B.	o.B.
Mastschweine	o.B.	o.B.	30	?	40	?	o.B.	o.B.

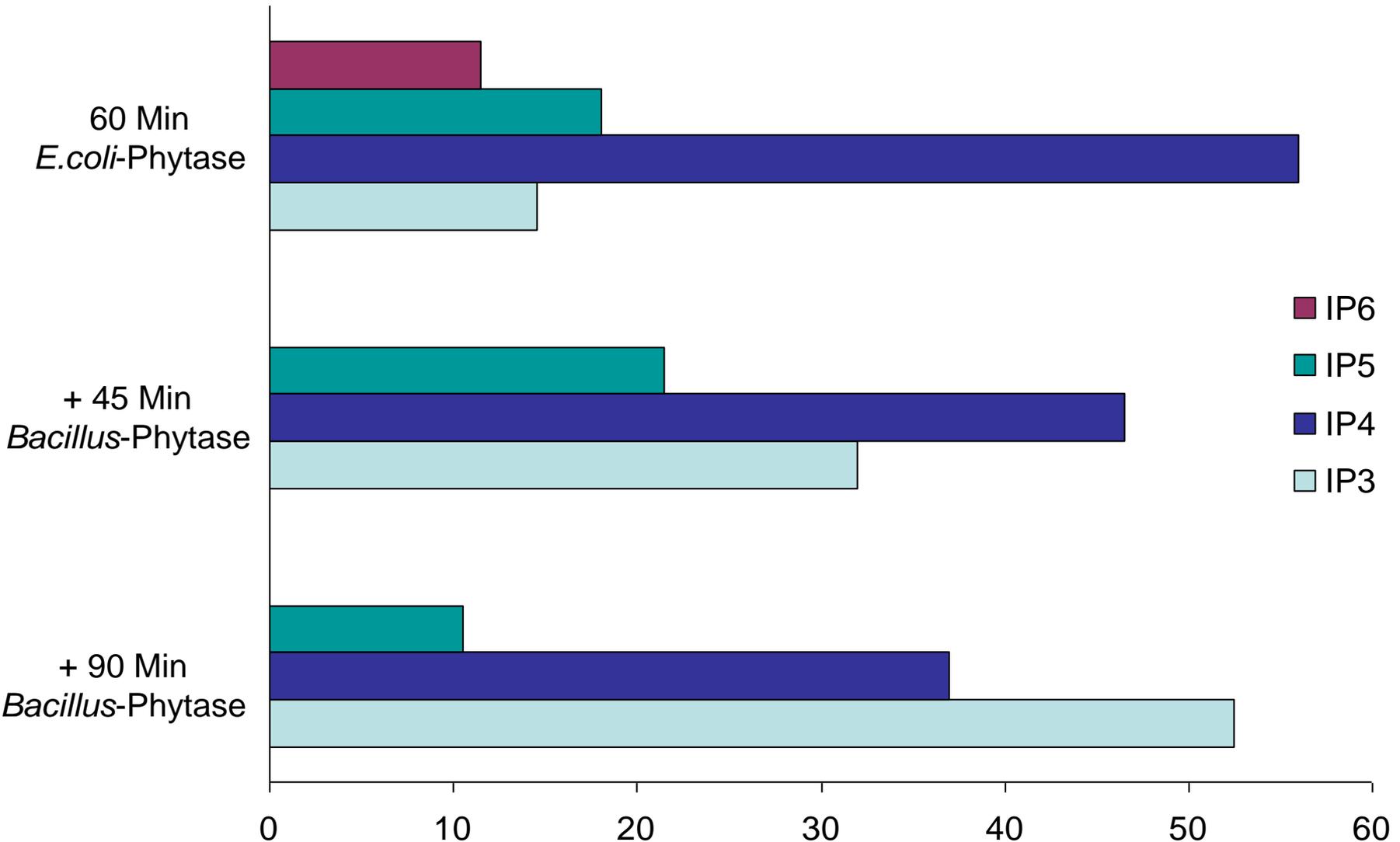
1) Je nach Getreideart Xylanasen bzw. β -Glucanasen als Hauptaktivität
o.B. = ohne Begrenzung

Zugelassene Phytasen

EG Nr.	Beschreibung	Produktionsstamm	Ursprung des Phytasegens
E 1600	3-Phytase EC 3.1.3.8	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Aspergillus ficuum</i>
E 1632	3-Phytase EC 3.1.3.8	<i>Trichoderma reesei</i>	<i>Aspergillus awamori</i>
E 1614	6-Phytase EC 3.1.3.26	<i>Aspergillus oryzae</i>	<i>Peniophora lycii</i>
E 1640	6-Phytase EC 3.1.3.26	<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	<i>Escherichia coli</i>
E 1639	3-Phytase EC 3.1.3.8	<i>Hansenula polymorpha</i>	Hybridgen

In vitro-Inkubationsversuche mit Phytasen

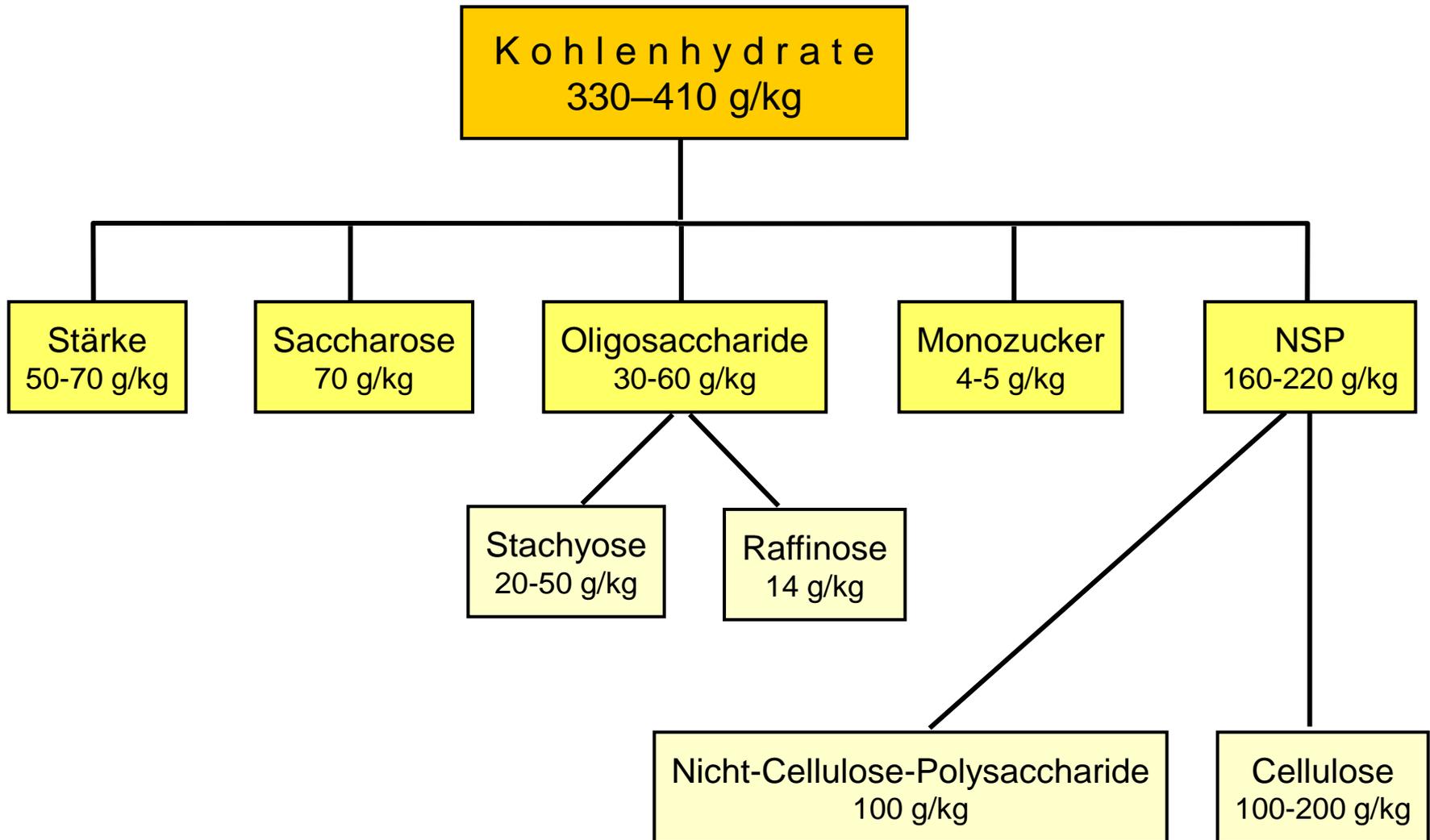
Mol% Inositolphosphate



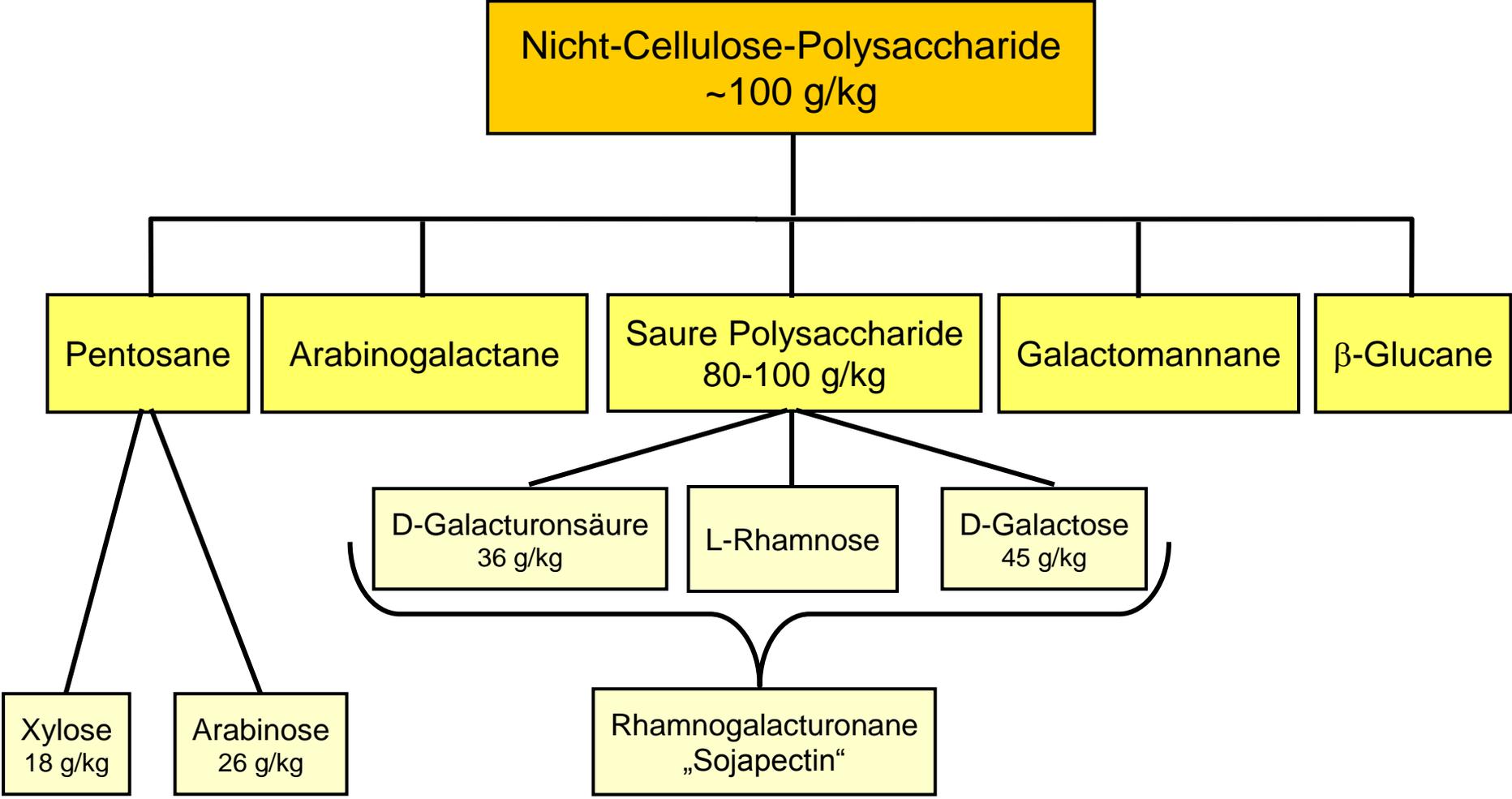
Mol %

(P. Brünig et al., unveröffentlicht)

Kohlenhydrate in Sojaextraktionsschrot (1)



Kohlenhydrate in Sojaextraktionsschrot (2)



Einfluss von Galactanase II (37320 IU/kg) auf Leistungsdaten von Broilern (1.-35. Tag), deren Diät HP-SES enthielt

Galactanase	Zunahme ¹⁾ [g]	Futteraufnahme ²⁾ [g]	Futteraufwand ²⁾ [kg Futter/kg Zunahme]
-	1650 ± 58	3018 ± 139	1,83 ± 0,05
+	1642 ± 65	2932 ± 117	1,79 ± 0,06

1) n pro Gruppe = 160 2) Wiederholungen pro Gruppe n = 4

(Vahjen et al., 2005)

Einfluss einer Kombination von Galactanase II (37320 IU/kg) und Mannanase (Gammanase 116200 IU/kg) auf Leistungsdaten von Broilern (1.-35. Tag), deren Diät HP-SES enthielt

Galactanase + Mannanase	Zunahme ¹⁾ [g]	Futteraufnahme ²⁾ [g]	Futteraufwand ²⁾ [kg Futter/kg Zunahme]
-	1876 ± 40 ^a	3107 ± 70 ^a	1,66 ± 0,06
+	1460 ± 85 ^b	2468 ± 151 ^b	1,69 ± 0,06

1) n pro Gruppe =160 2) Wiederholungen pro Gruppe n = 4

Unterschiedliche Buchstaben innerhalb einer Spalte kennzeichnen signifikante Differenzen (p < 0,05)

(Vahjen et al., 2005)