

Phytogene Stoffe und ihre Wirkmechanismen

Sabine E. Kulling

Institut für Sicherheit und Qualität bei Obst und Gemüse

Gliederung

Rechtliche Einordnung der phyto-genen Stoffe
Definition

Sekundäre Pflanzenstoffe

Ätherische Öle

Saponine

Phytoöstrogene

Schlussfolgerung

VERORDNUNG (EG) Nr. 1831/2003 DES EUROPÄISCHEN PARLAMENTS UND DES RATES
vom 22. September 2003
über Zusatzstoffe zur Verwendung in der Tierernährung

Artikel 2 Begriffsbestimmungen:

Futtermittelzusatzstoffe:

„Stoffe, Mikroorganismen oder Zubereitungen, die keine Futtermittel-Ausgangserzeugnisse oder Vormischungen sind und bewusst Futtermitteln oder Wasser zugesetzt werden, um insbesondere eine oder mehrere der in Artikel 5 Abs. 3 genannten Funktionen zu erfüllen.“

VERORDNUNG (EG) Nr. 1831/2003 DES EUROPÄISCHEN PARLAMENTS UND DES RATES
vom 22. September 2003
über Zusatzstoffe zur Verwendung in der Tierernährung

Artikel 5 Bedingungen für die Zulassung:

„Der Futtermittelzusatzstoff muss

- a) die **Beschaffenheit des Futtermittels** positiv beeinflussen
- b) die **Beschaffenheit der tierischen Erzeugnisse** positiv beeinflussen
- c) die Farbe von Zierfischen und -vögeln positiv beeinflussen
- d) den **Ernährungsbedarf** der Tiere decken
- e) die **ökologischen Folgen der Tierproduktion** positiv beeinflussen
- f) die **Tierproduktion, die Leistung oder das Wohlbefinden der Tiere**, insbesondere durch Einwirkung auf die Magen- und Darmflora oder die Verdaulichkeit der Futtermittel, positiv beeinflussen *oder*
- g) eine kokzidiostatische oder histomonostatische Wirkung haben.“

VERORDNUNG (EG) Nr. 1831/2003 DES EUROPÄISCHEN PARLAMENTS UND DES RATES
vom 22. September 2003
über Zusatzstoffe zur Verwendung in der Tierernährung

Artikel 6 Kategorien von Futtermittelzusatzstoffen:

- (1) Der Futtermittelzusatzstoff wird je nach Funktionsweise und Eigenschaften einer oder mehreren der nachstehenden Kategorien zugeordnet.
- a) technologische Zusatzstoffe: jeder Stoff, der Futtermitteln aus technologischen Gründen zugesetzt wird;
 - b) **sensorische Zusatzstoffe**: jeder Stoff, der einem Futtermittel zugesetzt die organoleptischen Eigenschaften dieses Futtermittels bzw. die optischen Eigenschaften des aus den Tieren gewonnenen Lebensmittels verbessert oder verändert;
 - c) ernährungsphysiologische Zusatzstoffe;
 - d) **zootechnische Zusatzstoffe**: jeder Zusatzstoff, der die Leistung und den Gesundheitszustand von Tieren oder die Auswirkungen auf die Umwelt positiv beeinflussen soll;
 - e) Kokzidiostatika und Histomonostatika.

Mögliche Definition für „Phytogene Futterzusatzstoffe“

Stoffgemische pflanzlichen Ursprungs, die dem Tierfutter in Form der ganzen Pflanze, Pflanzenteilen, Pflanzenextrakten, Destillaten oder Oleoresinen zugesetzt werden können.

Ziel ist es, die Produktivität von Nutztieren zu steigern durch

- Verbesserung der Futtereigenschaften,
- Förderung der Wachstumsleistung
- Verbesserung der Produktqualität
- (positive Beeinflussung des Wohlbefindens der Tiere)

Hintergrund des Interesses an phyto-genen Stoffen

Verbot der antibiotischen Leistungsförderer

Zum 1.1. 2006 wurden in der EU die letzten antibiotische Leistungsförderer im Tierfutter verboten.

Grund: Sorge hinsichtlich der Verbreitung von Antibiotika-Resistenzen

USA: Gesetzesentwurf liegt vor
Umsetzung unklar
Freiwilliger Verzicht?

Wirkkomponenten: Sekundäre Pflanzenstoffe

- gebildet im Sekundärmetabolismus der Pflanze
- erfüllen in der Pflanzen wichtige Funktionen:
 - Farb- und Aromastoffe zum Anlocken von Nützlingen
 - Abwehrstoffe gegen natürliche Feinde wie Insekten, Bakterien, Pilze
- unüberschaubare Vielzahl von Verbindungen, geschätzt bis zu 100.000
- Einteilung anhand der chemischen Struktur
 - **Phenolische Verbindungen**
(v.a. Flavonoide, Phenolsäuren, Stilbene, Xanthone)
 - **Isoprenoide**
(v.a. Monoterpene, Carotinoide, Saponine)
 - **S, N, und P-haltige Verbindungen**
(v.a. Glucosinolate, Alkaloide, Sulfide, Phytinsäure)

Ätherische Öle („Essential Oils“)

- Bezeichnung ist nicht geschützt
- Gewinnung: Wasserdampfdestillation, Kaltpressung, (Extraktion)

Ätherische Öle sind im ISO-Standard 9235 (1997) definiert als ein Produkt, das aus Pflanzenmaterial einer einzigen Spezies hergestellt wird durch

- Destillation mit Wasser oder Dampf in einer Destille oder
- Kaltpressung, also mechanische Behandlung des Epicarps von Zitrusfrüchten bei Zimmertemperatur oder
- (durch trockene Destillation)

→ natürliches, ätherisches Öl = phytogenes, ätherisches Öl
(↔ naturidentische und künstliche Öle)

- frisch destilliert meist farblose Flüssigkeiten
- neigen zur Autoxidation (Verfärbung, Zunahme Viskosität, Verharzung)
- sind bei RT flüchtig
- leicht löslich in Lipidlösungsmitteln, geringe Löslichkeit in Wasser

Ätherische Öle sind Vielstoffgemische aus 20-200 Einzelsubstanzen.

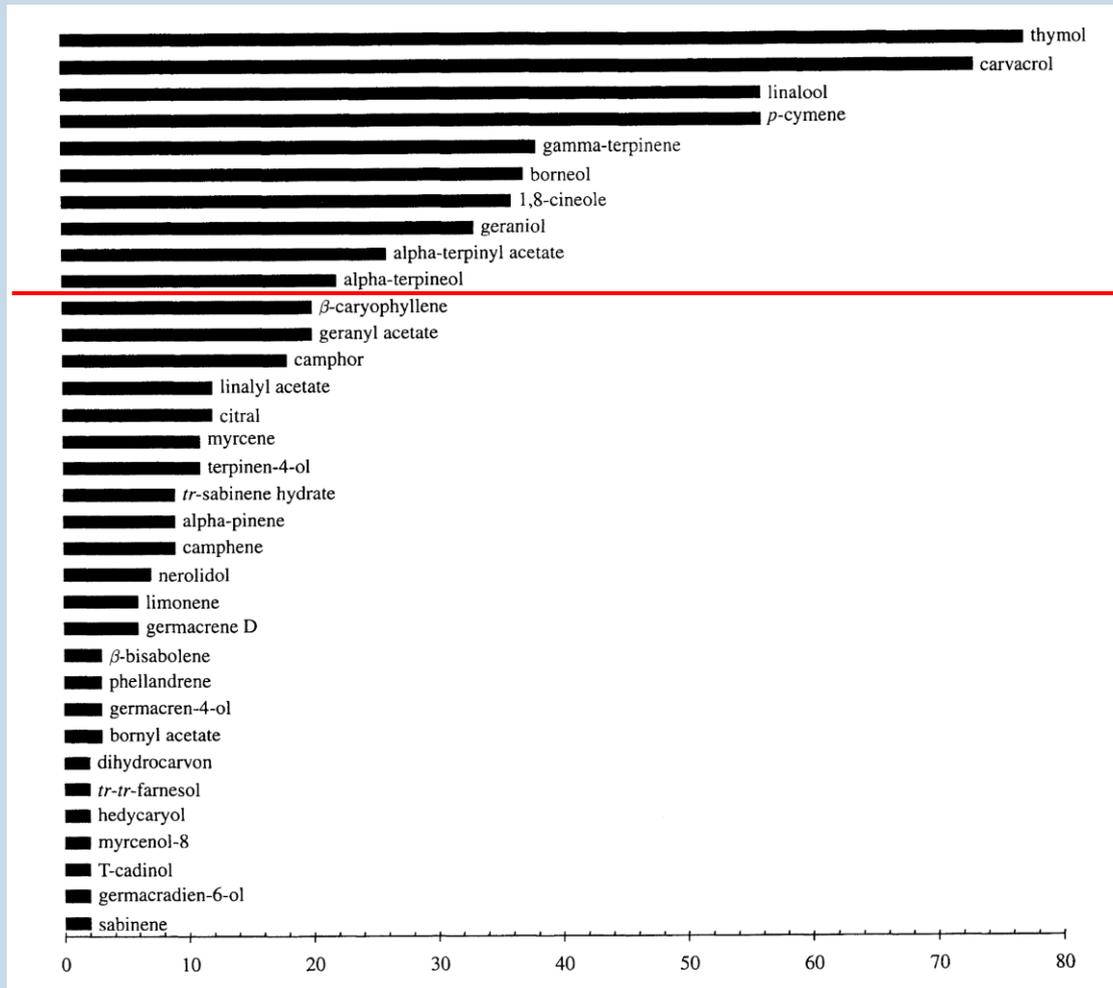
Einteilung nach der Konzentration in

- Hauptkomponenten (20-95 %)
- Nebenkompontenten (1-20 %)
- Spurenkomponenten (< 1%)

Vorherrschende Stoffklassen:

- Monoterpene
 - Sesquiterpene
- Terpene: aus Isoprenbausteinen (C5-Bausteine)
- Phenylpropanderivate

Häufigkeitsverteilung der Inhaltsstoffe der ätherischen Öle der Gattung Thymus



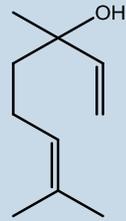
Hauptkomponenten

Nebenkomponenten

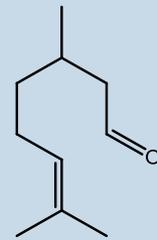
(Quelle: Stahl-Biskup & Saez, 2002)

Monoterpene

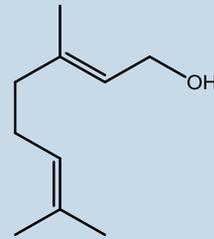
azyklisch



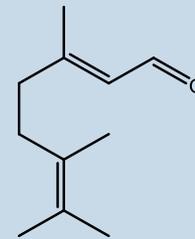
Linalool



Citronellal

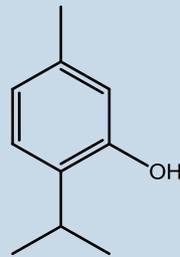


Geraniol

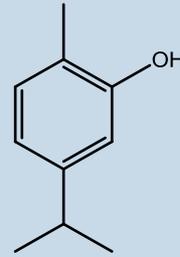


Geranial

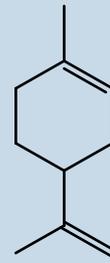
monozyklisch



Thymol



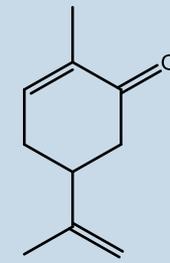
Carvacrol



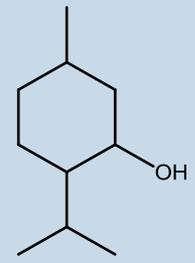
Limonen



α -Terpinen

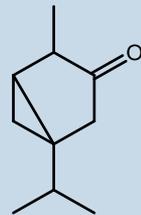


Carvon

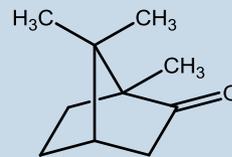


Menthol

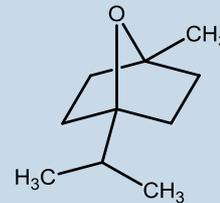
bizyklisch



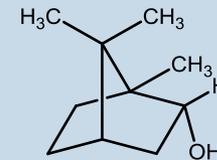
Thujon



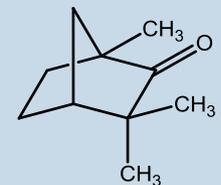
Kampfer



1,4-Cineol

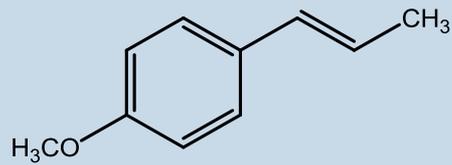


Borneol

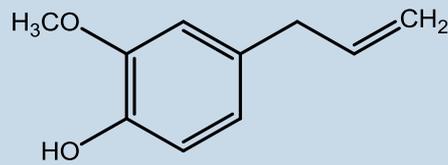


Fenchon

Phenylpropanderivate



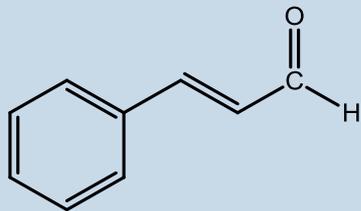
Anethol



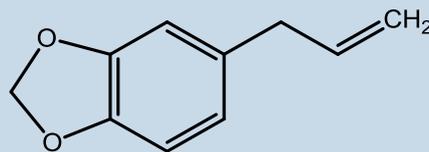
Eugenol



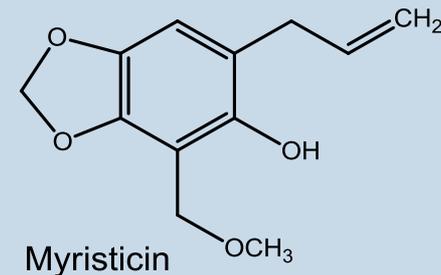
Elemicin



Zimtaldehyd



Safrol



Myristicin

Diskutierte Wirkung von ätherischen Ölen

- Antimikrobielle Wirkung
 - gegenüber pathogenen MO
 - gegenüber MO im Pansen von Wiederkäuern
 - Antioxidative Wirkung in Fleisch und Fleischprodukten
 - Verbesserung der sensorischen Eigenschaften des Futters
 - Stimulierung der Sekretion von Verdauungsenzymen
- Förderung der Wachstumsleistung bei Geflügel und Schwein

Review: Windisch et al. 2008, J. Anim Sci.

Antioxidative Aktivität Verbesserung der oxidativen Stabilität von Fleisch?

Erhöhte Oxidationsstabilität bei nachfolgender Kühl- und Gefrierlagerung

Supplementierung des Futters mit **Oregano-Öl** (bis 1 mL/kg) für 2 Monate bei 7 Monate alten **Chios Lämmern** (Simitzis et al., Meat Science, 2008).

Supplementierung des Futters mit **Oregano-Öl** (100 / 200 mg/kg) für 4 Wochen bei 12 Wochen alten **Truthähnen** (Botsoglou NA et al. J Agric Food Chem, 2003).

Supplementierung des Futters mit **Rosmarin und Salbei-Öl** (500 mg/kg) für 4 Wochen bei **Hühnern** (Lopez-Bote CJ et al. British Poultry Science, 1998).

Supplementierung des Futters mit **Rosmarin-Öl** (100 / 200 mg/kg) für 42 Tage bei **Hühnern**. Yesilbag et al. British Poultry Science, 2011).

Endpunkte:

Malondialdehyd

Oxidationsprodukte Cholesterin

Antioxidative Aktivität Verbesserung der oxidativen Stabilität von Fleisch?

KEINE erhöhte Oxidationsstabilität bei nachfolgender Kühlung

The effect of dietary oregano oil supplementation on pig meat characteristics
(Simitzis et al., Meat Science, 2010)

Supplementierung des Futters mit **Oregano-Öl** (bis 1 mL/kg) für 35 Tage bei 5 Monate alten **Schweinen**

Antimikrobielle Aktivität

Effekte von ätherischen Ölen auf das Wachstum von pathogenen Keimen *in vitro*

Die wirksamsten ätherischen Öle:

Corydothymus capitatus
(spanischer Oregano)



Satureja montana
(Winterbohlenkraut)



Origanum heracleoticum
(griechischer Oregano)



Lit.: Oussalah M et al. Food Control, 2007.

Effekte von ätherischen Ölen auf das Wachstum von pathogenen Keimen

Corydothymus capitatus
(spanischer Oregano)

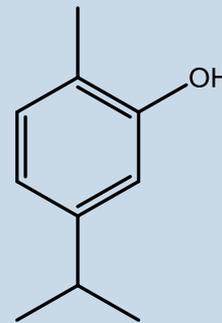
Carvacrol (76%), Thymol (5)

Satureja montana
(Winterbohlenkraut)

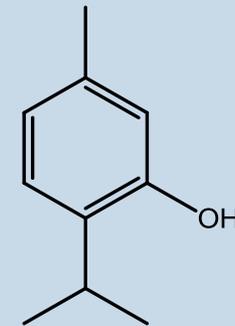
Thymol (43%), p-Cymen (12),
 γ -Terpinen (9)

Origanum heracleoticum
(griechischer Oregano)

Carvacrol (54%), p-Cymen (14),
 γ -Terpinen (14)



Carvacrol



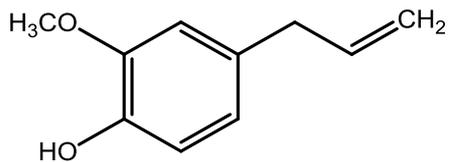
Thymol

Lit.: Oussalah M et al. Food Control, 2007.

Effekte von ätherischen Ölen auf das Wachstum von pathogenen Keimen

Cinnamomum verum, Ceylon-Zimt

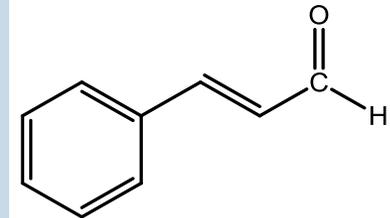
Blätter



Eugenol



**Rinde
Blattstiele**



Zimtaldehyd

Cinnamomum cassia, Kassia-(China-)Zimt



Wirkung der Öls von *Thymus vulgaris* (Thymianöl) und *Origanum vulgare* (Oreganoöl) auf hämolysierende *E. coli*

In vitro: *Oreganoöl ab 0,3% bakterizid*
 Thymianöl ab 0,6% bakterizid

In vivo bei Absetzferkeln:

Zusatz von Thymiankraut (0,1%, 0,5%, 1%) zum
Futter zeigte **keine Wirkung** auf *E. coli*.

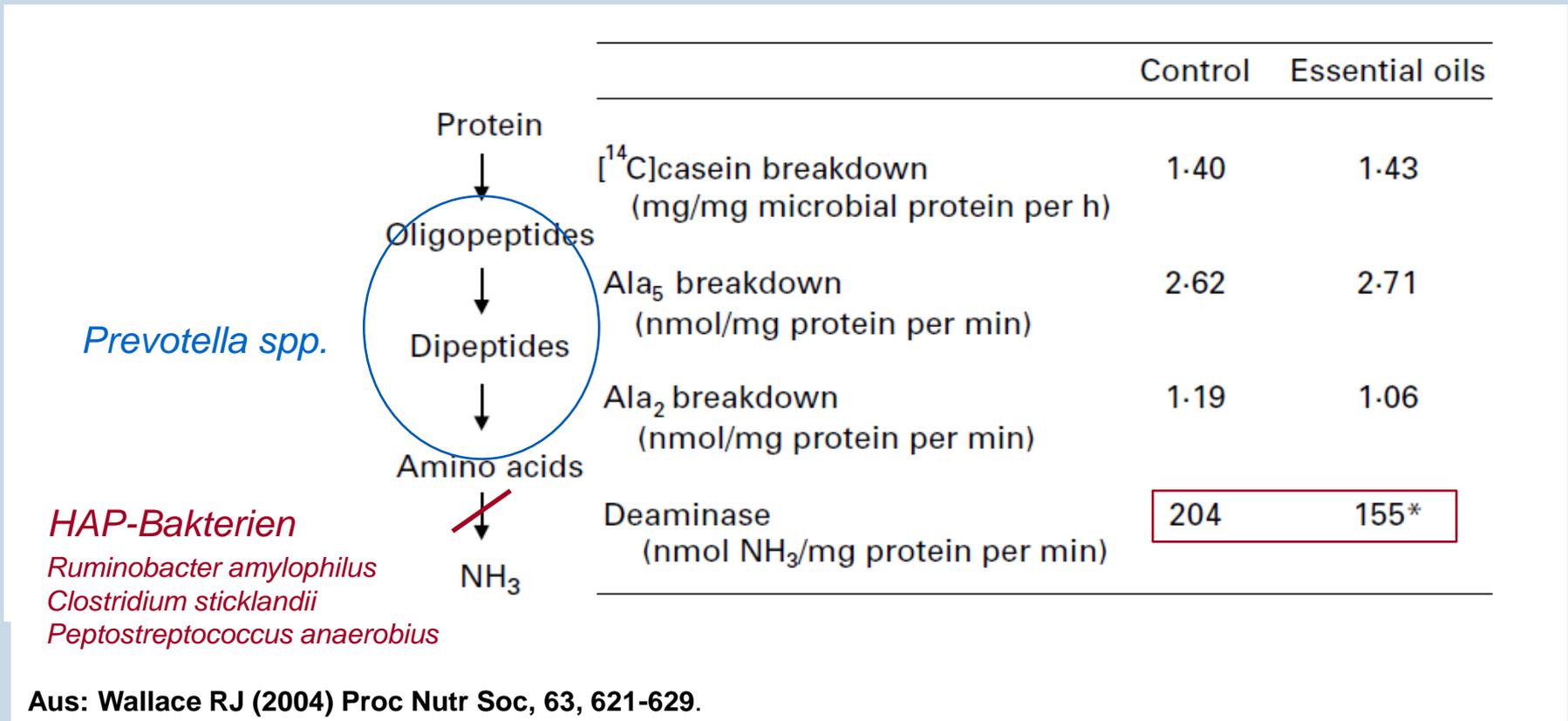
(Hagmüller W et al., Berl Munch Tierarztl Wochenschr, 2006)

Beeinflussung der Darmgesundheit durch ein Gemisch aus ätherischen Ölen
(kommerzielles Produkt Biomin P.E.P. 1000 (Oregano, Anis, Citrusschalen))

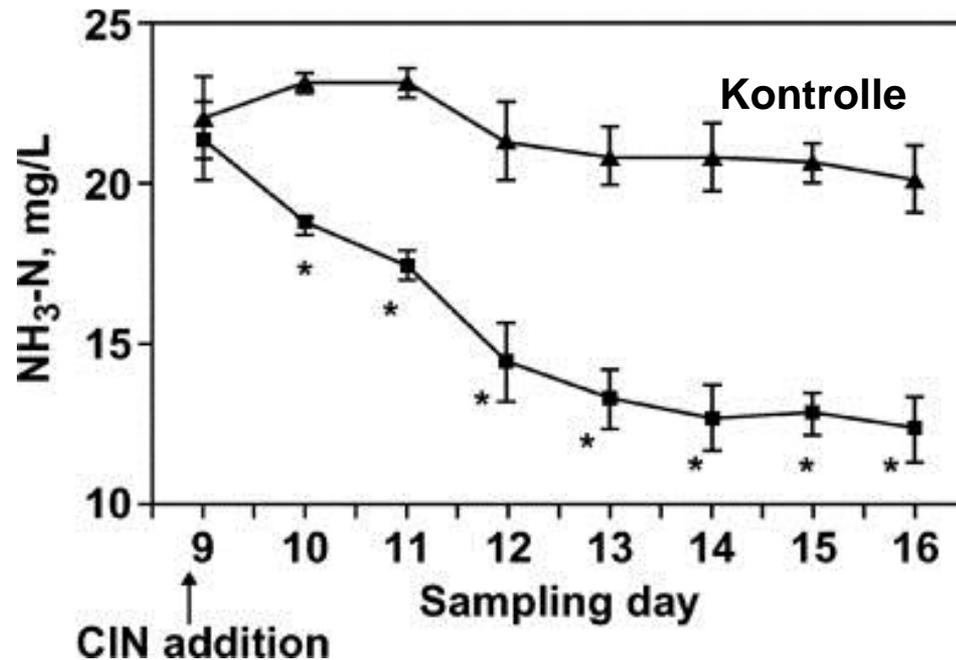
Abnahme der Gesamtkeimzahl im Ileum (nicht im Caecum und Colon)
(Kroismayr , 2005, 2006)

Antimikrobielle Aktivität : Effekte von ätherischen Ölen auf MO im Pansen

Effekte von ätherischen Ölen (Komponentengemisch Thymol, Eugenol, Vanillin, Limonen) auf den Abbau von Proteinen im Pansen von Schafen



Effekt von Zimtöl auf die NH₃-N-Konzentration in einem Pansen-Inkubationsansatz (Simulationssystem Rusitec)



Verringerte Bildung von Ammoniakstickstoff

Aber:

Abnahme der Bildungsrate von kurzkettigen Fettsäuren

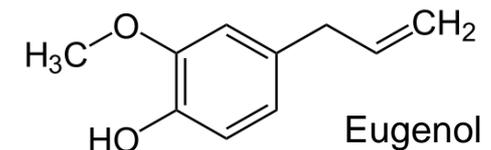
Propionat ↓

Butyrat ↑

Geringere Fermentation von Nahrungsbestandteilen (> Kohlenhydrate)

Öl aus den Blättern des Ceylon-Zimtbaumes (standardisiert auf 76 g/kg Eugenol), 500 mg Zimtöl/L Panseninkubationslösung

Abb. aus: Fraser GR et al. J. Dairy Sci. 90, 2315-2328 (2007)



Wirkmechanismen von ätherischen Ölen

Zielstruktur: Zellmembran

Einlagerung in die Zellmembran

Permeieren der Zellmembran

➤ Störung der Membranfluidität

➤ Störung der Membranintegrität

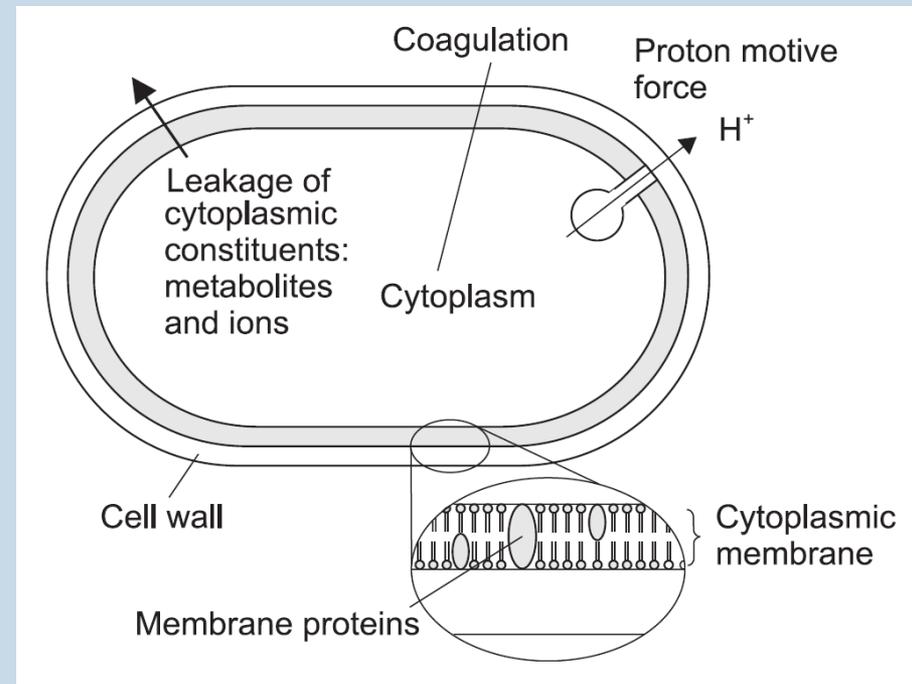
Veränderung der Membranpermeabilität

Beeinträchtigung des Energiehaushaltes der Zelle

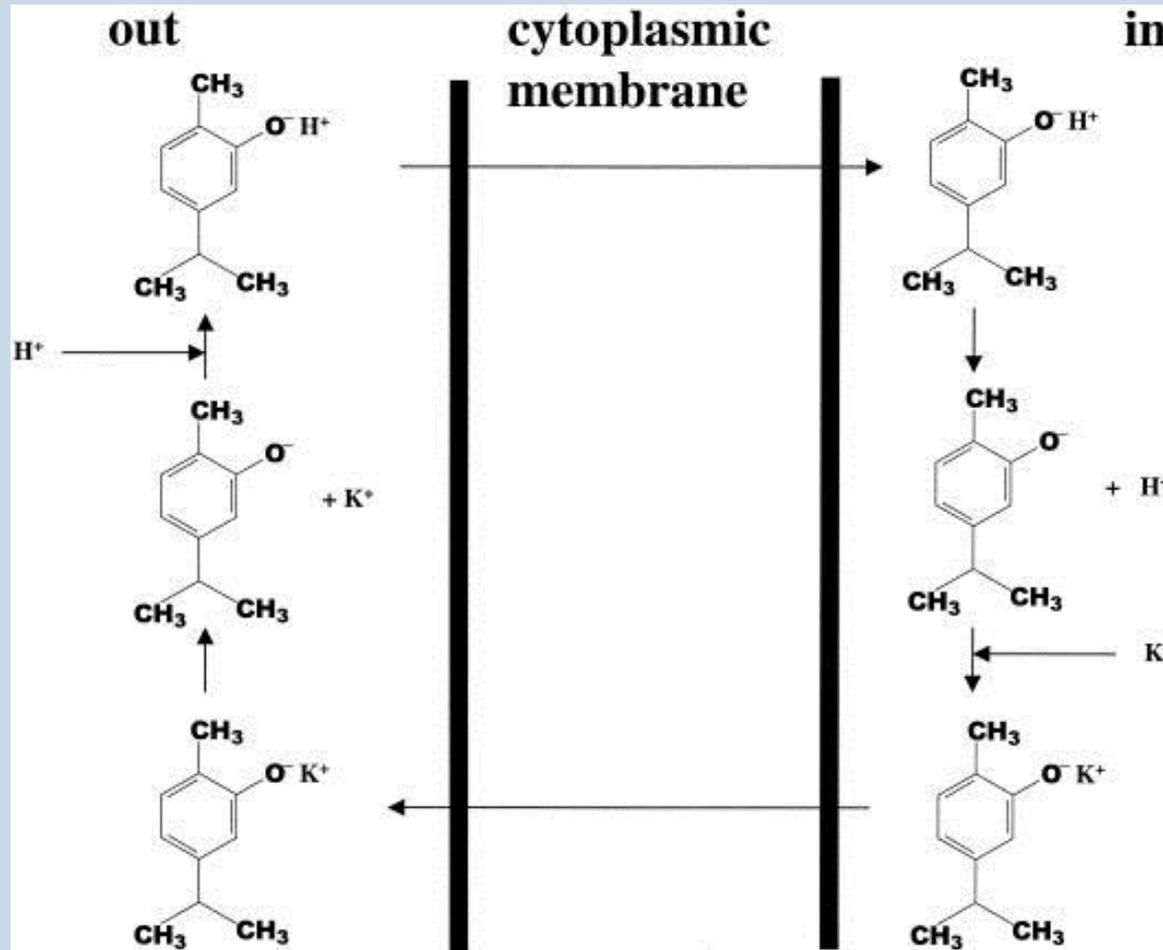
Intrazelluläre ATP-Konzentration ↓

Efflux von K^+ , Influx von H^+

Wirkung als Carrier-Ionophore?



Agiert Carvacrol als Transmembran Carrier für K⁺ ?



Ultee A et al. (2002) Appl. Environm. Microbiol. 68: 1561-1568.

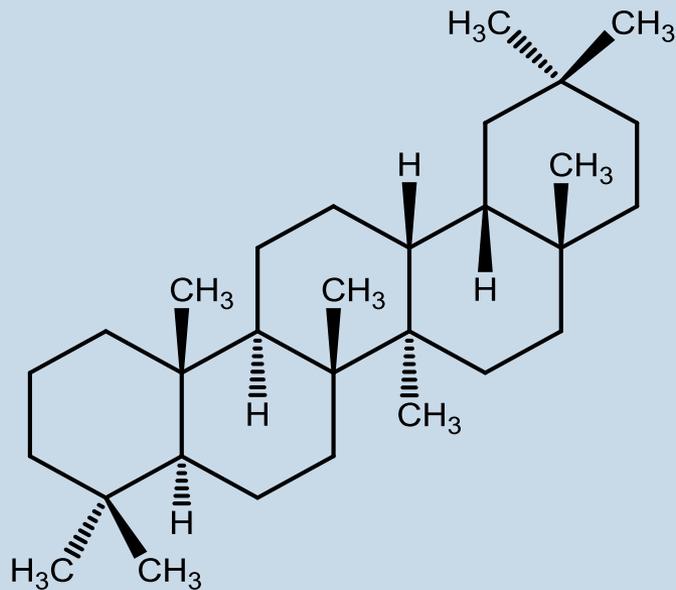
Saponine

Saponine

- lat. *sapo* „Seife“ > bilden beim Schütteln in Wasser einen Schaum
- wirken auf Öle emulgierend, stabilisierend auf Suspensionen
- hämolytische Wirkung (> Erythrocyten)
- besitzen hohe Affinität zum Cholesterin
 - > Saponin-Cholesterin-Komplexe sind in Ethanol schwer löslich
- Geschmack: kratzend und/oder bitter

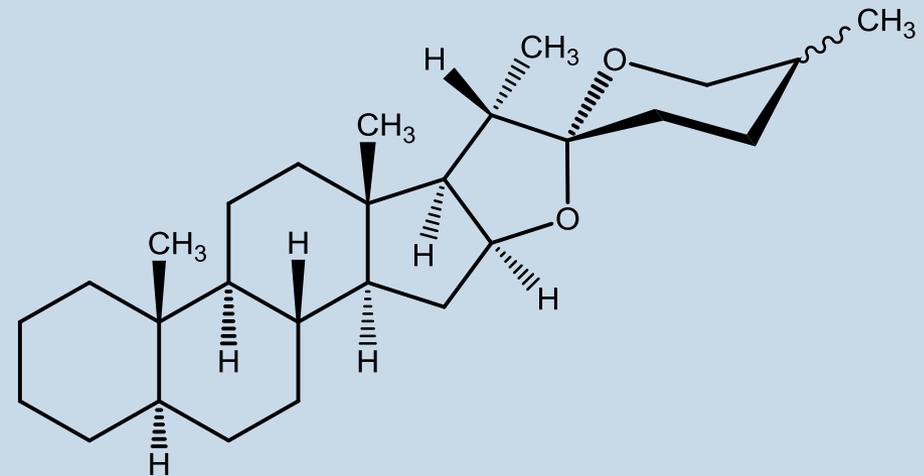
Einteilung anhand der chemischen Struktur:

Triterpensaponine



mit Oleanan-Grundgerüst

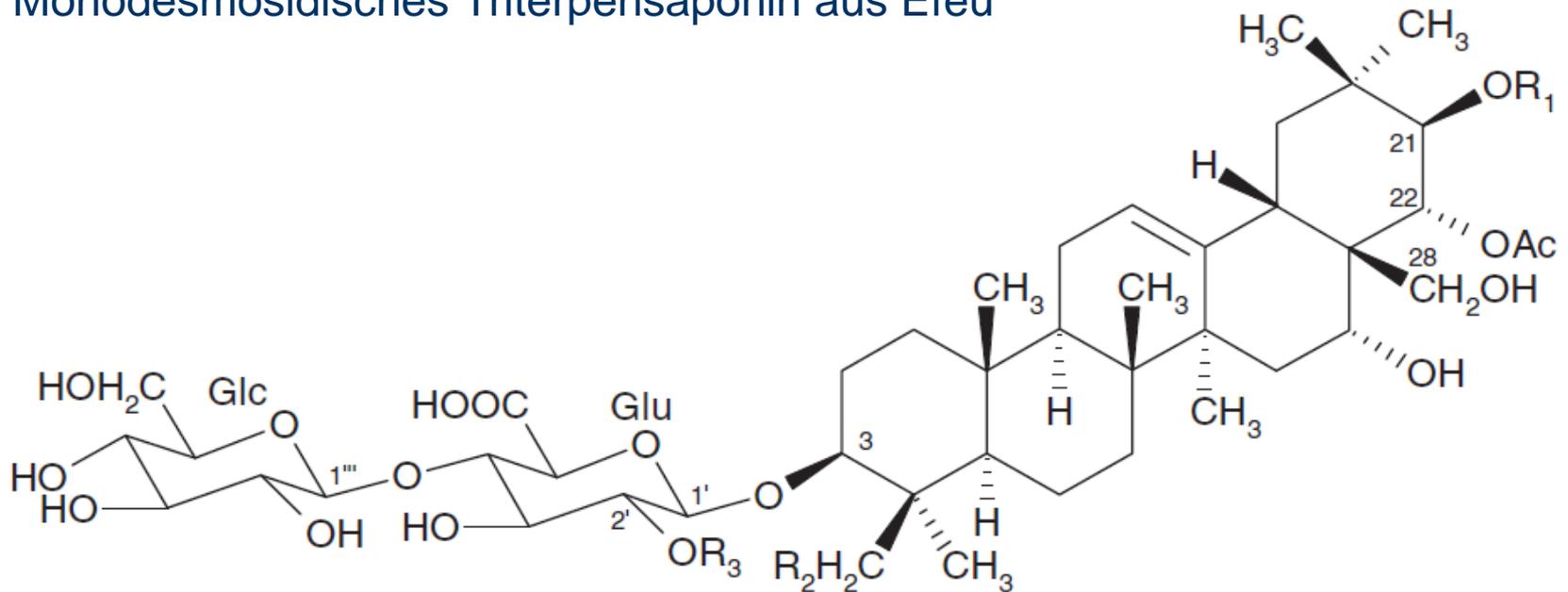
Steroidsaponine



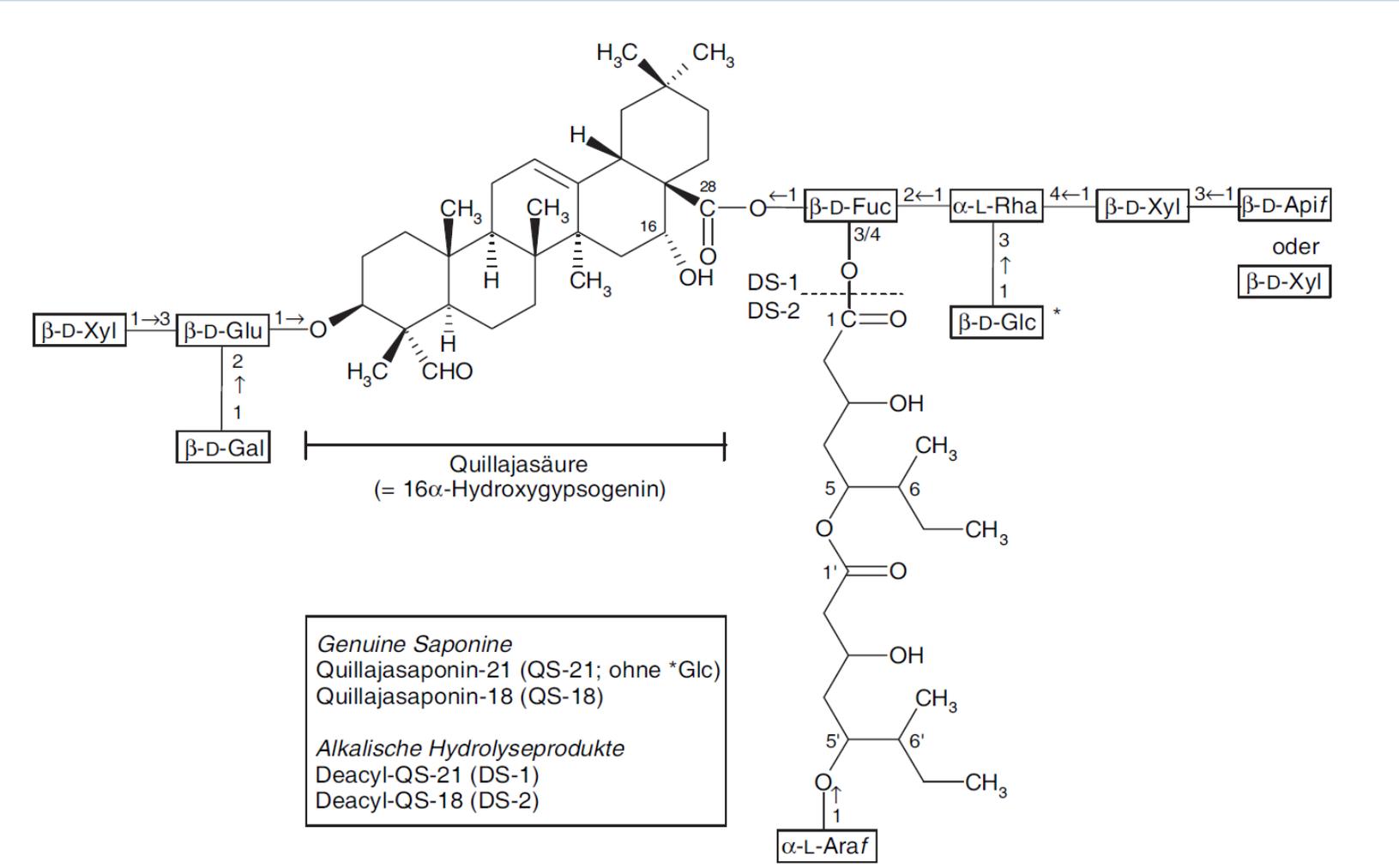
mit 5 β -Spirotan-Grundgerüst

Die Sapogenine (Aglykone) sind in der Natur mit Zuckerketten verknüpft.

Monodesmosidisches Triterpensaponin aus Efeu



Saponine des Seifenrindenbaums:



Saponin-haltige Futterpflanzen

Glycine maxima	Sojabohne
Lupinus spp.	Lupine
Medicago sativa	Alfalfa (Lucerne)
Trifolium repens	Kriechender Klee
Trifolium pratense	Rotklee
Avena sativa	Hafer

Saponin-haltige Pflanzen, die als Zusatzstoffe verwendet werden

Quillaja Saponaria	Seifenrindenbaum	Rinde
Yucca schidigera	Palmilie	Wurzel, Baumstamm
Sapindus saponaria	Westlicher Seifenbaum	Früchte
Sapindus rarak	Ostindischer Seifenbaum	Früchte
Camellia sinensis	Tee	Samen, Blätter

Diskutierte Wirkungen von Saponinen

Negative Wirkung auf Protozoen (wird als erwünscht angesehen!)

Abnahme/Eliminierung der Protozoen-Population
(Defaunierung)

Proteinabbau durch Protozoen wird verringert
Aufnahme/Lyse von Bakterien durch Protozoen wird verringert

höherer Anteil an Proteinen verlässt den Pansen
Begünstigung funktioneller Bakterienpopulationen

Studien:	<i>in vitro</i>	<i>in vivo</i> (v.a. Schaf, seltener Kuh)
<i>Y. schidigera</i>	+	-
<i>S. rarak</i>		+
<i>S. saponaria</i>	+	+

Diskutierte Wirkungen von Saponinen

Reduzierung der Methanbildung im Pansen?

Hintergrund: Archaeen bilden aus CO_2 und H_2 Methan.

Direkter Effekt auf Archaeen-Population?

Effekt vermittelt durch Senkung der Protozoen-Population.

Indirekter Effekt durch Konkurrenzreaktion die H_2 verbraucht

Zahlreiche Studien, sehr inkonsistente Ergebnisse.

Phytoöstrogene

Isoflavone

Isoflavongehalte in Klee

Erste Berichte im Jahr 1946:
Reproduktionsstörungen bei Schafen

→ „Clover disease“ / Kleekrankheit

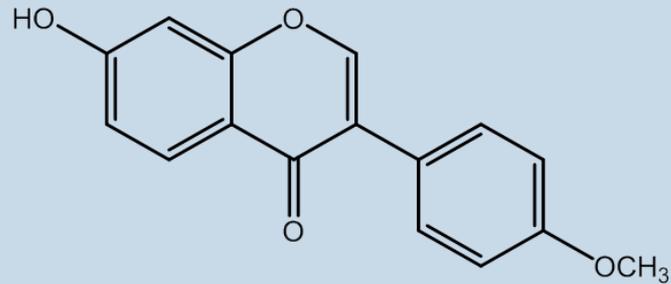
Ursache: Hohe Gehalte an Isoflavonen im Klee



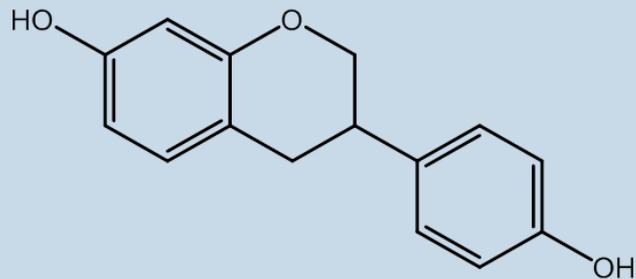
Part of the plant	Total isoflavone content [$\mu\text{g/g dw}$] according to	
	Wu et al., 2003	Tsao et al., 2006 ^{a)}
Leaf	17400 - 22700	20390 - 27780
Stem	7400 - 18500	12080 - 17340
Leaf stalk	n.i.	12300 - 14690
Root	13600 - 28500	n.i.
Flower	3000 - 6300	2380

^{a)} 13 different varieties in early and late stages of flowering; n.i. = no information;

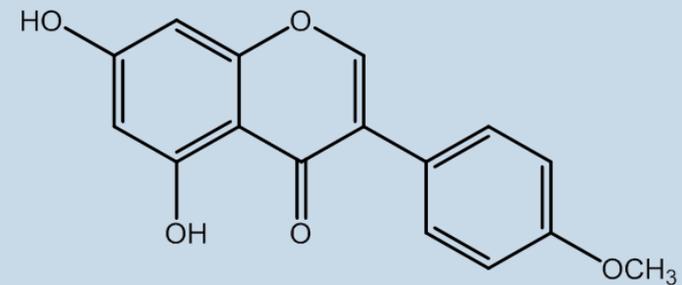
Metabolisierung der Klee-Isoflavone im Pansen



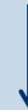
Formononetin



Equol



Biochanin A



4-Ethylphenol

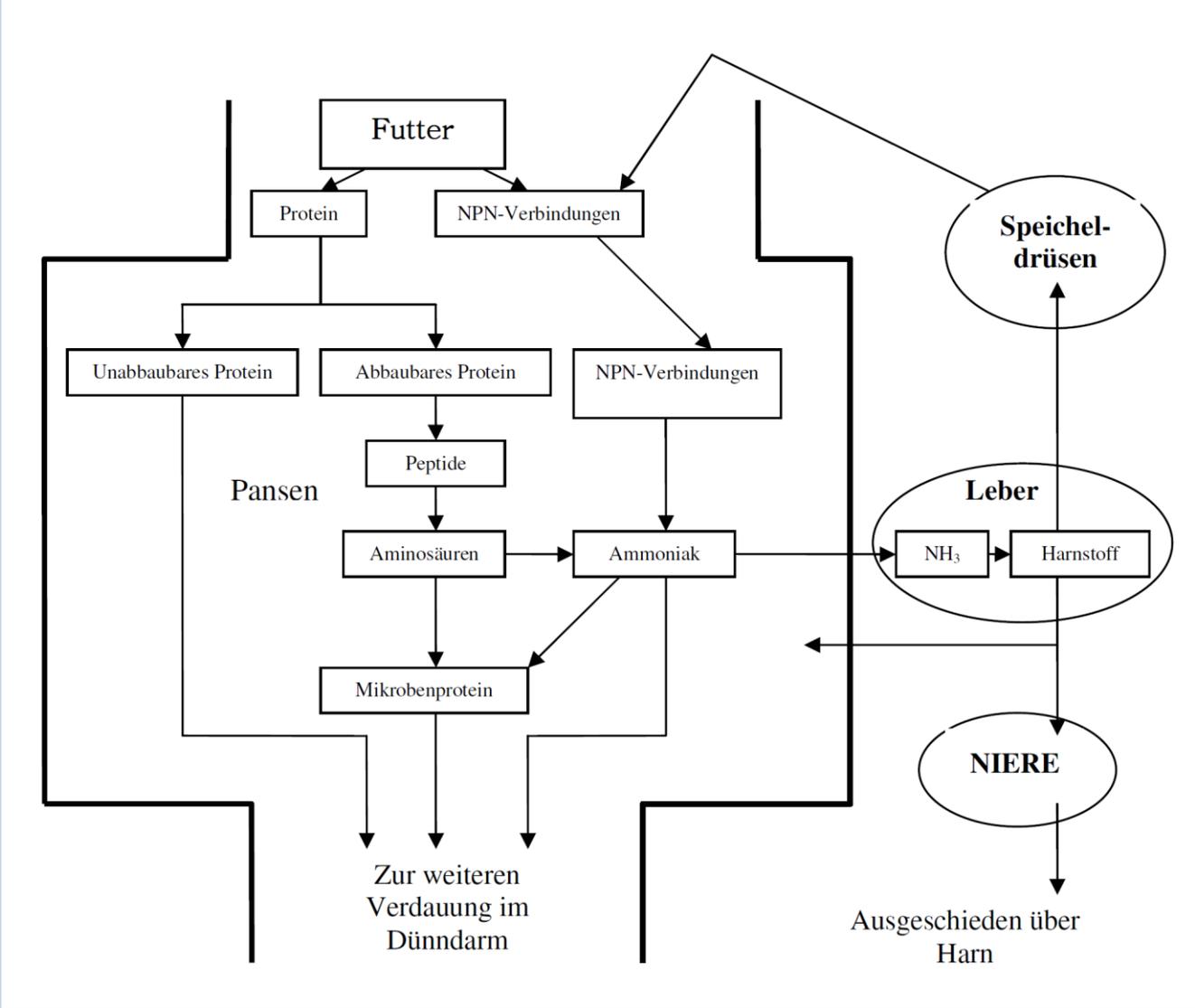
Schlussfolgerung

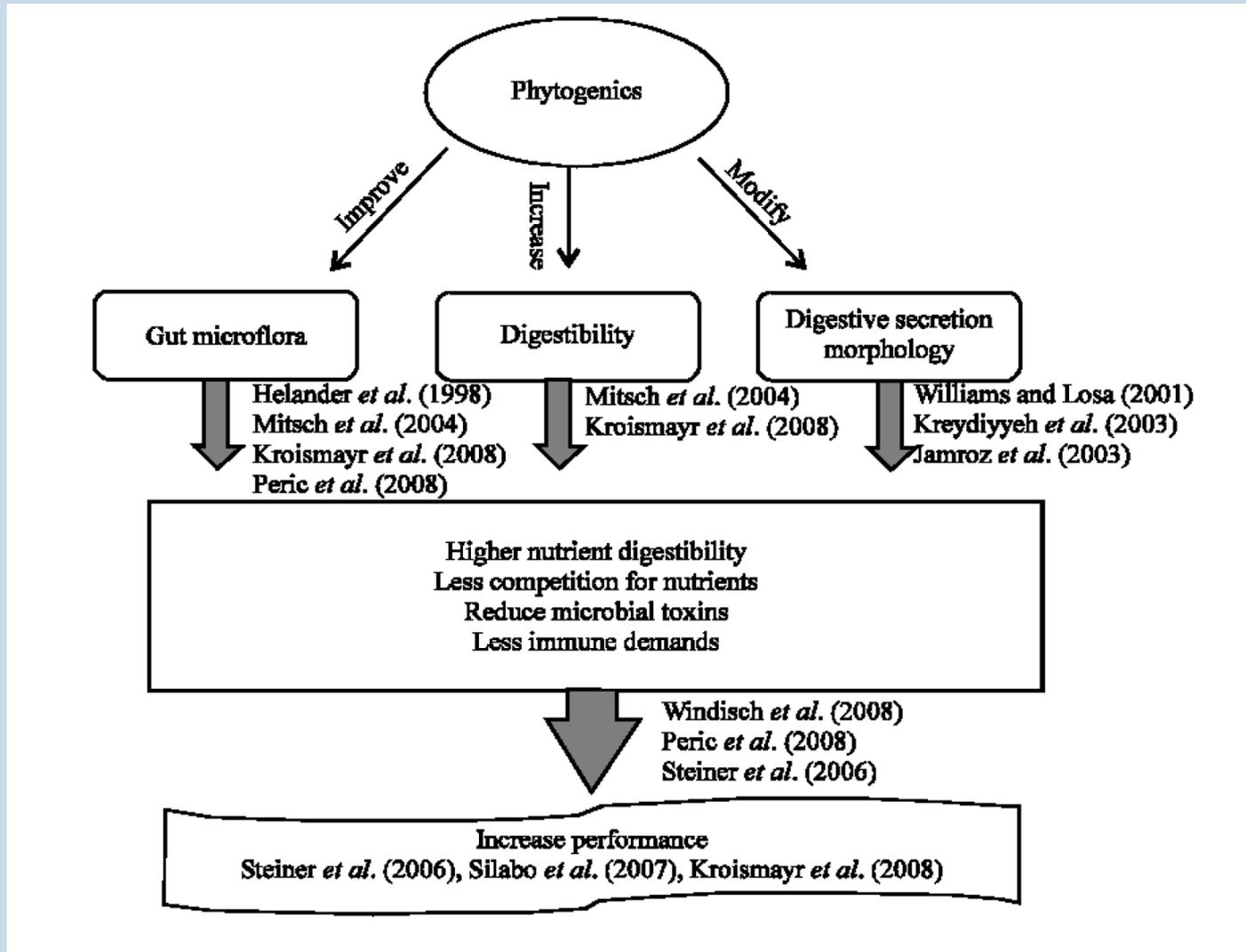
Phytogene Stoffen haben ein Potential für den Einsatz als Futterzusatzstoffe
(interessante Ergebnisse aus einzelnen Studien!)

Für den gezielten Einsatz fehlen aber systematische Studien.

- gute Charakterisierung der eingesetzten Extrakte oder Pflanzenteile hinsichtlich ihres Spektrums an sekundären Pflanzenstoffen
- gute Charakterisierung des Basisfutters
- Was passiert mit den Wirkkomponenten im Tier?
 —→ Metabolisierung ? —→ Veränderung der Aktivität?
- Erwartungen an phytogene Stoffe?

Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit !





Saponine

