

Aus dem Institut für Tierernährung und Stoffwechselphysiologie  
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

---

**UNTERSUCHUNGEN ZUR WIRKSAMKEIT UND ZUM  
NACHWEIS DES PFLANZLICHEN ALKALOIDS SANGUINARIN BEIM SCHWEIN**

Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Agrar- und Ernährungswissenschaftlichen Fakultät  
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von  
**Kathrin Tschirner**  
aus Schwaan, Mecklenburg-Vorpommern

Kiel 2004

Gedruckt mit Genehmigung der Agrar- und Ernährungswissenschaftlichen Fakultät  
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

Dekan: Prof. Dr. F. Taube

Erster Berichterstatter: Prof. Dr. S. Wolfram

Zweiter Berichterstatter: Prof. Dr. A. Susenbeth

Tag der mündlichen Prüfung: 15.07.2004

**MEINEN ELTERN**



---

**INHALTSVERZEICHNIS**

INHALTSVERZEICHNIS	I
ABBILDUNGSVERZEICHNIS	II
TABELLENVERZEICHNIS	III
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	IV
<b>EINLEITUNG</b>	<b>1</b>
<b>KAPITEL 1</b>	
LITERATURÜBERSICHT	3
<b>KAPITEL 2</b>	
EINFLUSS EINER SANGROVIT <sup>®</sup> -SUPPLEMENTIERUNG WÄHREND DER LAKTATION AUF DIE LEISTUNG VON SAUEN UND FERKELN UNTER PRAXISBEDINGUNGEN	27
<b>KAPITEL 3</b>	
EINFLUSS EINER SANGROVIT <sup>®</sup> -SUPPLEMENTIERUNG AUF DIE N-BILANZ UND DIE FUTTERAUFNAHME BEIM WACHSENDEN SCHWEIN	42
<b>KAPITEL 4</b>	
ENTWICKLUNG EINER HPLC-METHODE ZUM SANGUINARIN-NACHWEIS UND UNTERSUCHUNGEN ZUR PHARMAKOKINETIK VON SANGUINARIN AUS SANGROVIT <sup>®</sup>	57
<b>KAPITEL 5</b>	
ABSCHLIEßENDE DISKUSSION	76
<b>ZUSAMMENFASSUNG</b>	<b>80</b>
<b>SUMMARY</b>	<b>82</b>
<b>LITERATURVERZEICHNIS</b>	<b>83</b>

## ABBILDUNGSVERZEICHNIS

<b>Abbildung 1:</b>	Einfluss der Dosierung eines Kräutergemisches auf die Futteraufnahme von Ferkeln während der ersten 12 Tage nach dem Absetzen im Vergleich zu einer Kontroll-Gruppe (K), (Richter et al., 2002).....	8
<b>Abbildung 2:</b>	<i>Sanguinaria canadensis</i> : Blühende Pflanze und Rhizome.....	18
<b>Abbildung 3:</b>	Strukturmerkmale der Benzo[c]phenanthridin-Alkaloide sowie Strukturformel von Sanguinarin und Sanguinarin-Pseudobase.....	20
<b>Abbildung 4:</b>	Einfluss einer Sangrovit <sup>®</sup> -Supplementierung auf den Futterverbrauch von primiparen Sauen (PK1) während der Laktation.....	35
<b>Abbildung 5:</b>	Einfluss der Paritätsklasse (PK) auf den Futterverbrauch (FV) und die Lebendmasse-Veränderung während der Laktation.....	36
<b>Abbildung 6:</b>	Einfluss der Trp-Konzentration in der Ration auf die Trp-Konzentration im Plasma.....	54
<b>Abbildung 7:</b>	Einfluss des Trp:LNAA-Verhältnisses im Plasma auf die Trp-Konzentration [A] sowie die Serotonin-(5HT) und Hydroxyindol (HIAA)-Konzentration [B] im Gehirn bei Ratten.....	55
<b>Abbildung 8:</b>	Kalibriergeraden zur quantitativen Bestimmung von Sanguinarin im Futter [A], Blutserum nach hoher Sangrovit <sup>®</sup> -Dosierung [B] bzw. praxisüblicher Sangrovit <sup>®</sup> -Dosierung [C] und Kot [D].....	62
<b>Abbildung 9:</b>	Blutprobenentnahme über den in der Vena jugularis implantierten Katheter.....	64
<b>Abbildung 10:</b>	Chromatogramm eines methanolischen Standards [A] und einer Futterprobe [B].....	66
<b>Abbildung 11:</b>	Konzentrations-Zeit-Verlauf von Sanguinarin im Blutserum nach oraler Gabe von 0,37 mg Sanguinarin/kg LM (25 mg Sangrovit <sup>®</sup> /kg LM).....	69
<b>Abbildung 12:</b>	Korrelation zwischen Sanguinarin-Aufnahme und Sanguinarin-Serum-Konzentration bei Sauen.....	71

---

**TABELLENVERZEICHNIS**

<b>Tabelle 1:</b>	Funktionsgruppen von Zusatzstoffen (Verordnung (EG) Nr. 1831/2003).....	5
<b>Tabelle 2:</b>	Vergleich der minimalen Hemmkonzentrationen ( $\mu\text{g/ml}$ ) von ätherischen Ölen und antibiotischen Leistungsförderern .....	10
<b>Tabelle 3:</b>	Effekte von phyto-genen Futterzusatzstoffen in der Ferkelaufzucht.....	13
<b>Tabelle 4:</b>	Effekte von verschiedenen Kräutergemischen in der Schweinemast.....	14
<b>Tabelle 5:</b>	Effekte von Sangrovit <sup>®</sup> in der Schweinemast .....	17
<b>Tabelle 6:</b>	Alkaloid-Konzentration in den Rhizomen von <i>Sanguinaria canadensis</i> , (Salmore & Hunter, 2001).....	19
<b>Tabelle 7:</b>	Hemmung verschiedener Enzyme durch Sanguinarin .....	22
<b>Tabelle 8:</b>	Untersuchungen zur akuten Toxizität von Sanguinarin bzw. <i>Sanguinaria canadensis</i> -Extrakten .....	24
<b>Tabelle 9:</b>	Zusammensetzung sowie deklarerter Energie- und Roh-nährstoffgehalt der Kontrollration (K) .....	30
<b>Tabelle 10:</b>	Chemische Zusammensetzung (g/kg TM) und Energiegehalte (MJ/kg TM) der Versuchsrationen .....	30
<b>Tabelle 11:</b>	Anzahl der Sauen in den Paritätsklassen (PK).....	33
<b>Tabelle 12:</b>	Einfluss einer Sangrovit <sup>®</sup> -Supplementierung auf den Futterverbrauch und die Veränderung von Lebendmasse und Rückenspeckdicke während der Laktation .....	34
<b>Tabelle 13:</b>	Einfluss einer Sangrovit <sup>®</sup> -Supplementierung auf die Wurfleistung während der Laktation.....	37
<b>Tabelle 14:</b>	Einfluss einer Sangrovit <sup>®</sup> -Supplementierung auf die Zunahme des Wurfgewichtes während der Laktation in Abhängigkeit von der Paritätsklasse (PK) .....	38
<b>Tabelle 15:</b>	Zusammensetzung der Basisration (TM-S0).....	45
<b>Tabelle 16:</b>	Chemische Zusammensetzung (g/kg TM) und Energiegehalte (MJ/kg TM) der Versuchsrationen .....	45
<b>Tabelle 17:</b>	Einfluss einer Sangrovit <sup>®</sup> -Supplementierung auf die N-Bilanz.....	49

---

<b>Tabelle 18:</b> Freie Aminosäuren im Blutplasma vor (präprandial) und eine Stunde nach (postprandial) der Fütterung im N-Bilanz-Versuch.....	50
<b>Tabelle 19:</b> Einfluss einer Sangrovit <sup>®</sup> -Supplementierung auf die Futteraufnahme, die tägliche Zunahme und den Futteraufwand bei unterschiedlicher Trp-Versorgung.....	51
<b>Tabelle 20:</b> Einfluss des Trp-Gehaltes in der Ration auf die Futteraufnahme, die tägliche Zunahme und den Futteraufwand.....	51
<b>Tabelle 21:</b> Herkunft des mittels HPLC untersuchten Probenmaterials.....	59
<b>Tabelle 22:</b> Zusammensetzung (%) der mobilen Phase für die Analyse des jeweiligen Probenmaterials.....	61
<b>Tabelle 23:</b> Wiederfindung von Sanguinarin nach der Extraktion aus Futter, Blutserum und Kot.....	67
<b>Tabelle 24:</b> Nomineller und analytisch bestimmter Sanguinarin-Gehalt in den Versuchsrationen.....	68
<b>Tabelle 25:</b> Sanguinarin-Konzentration im Blutserum nach praxisüblicher chronischer Sangrovit <sup>®</sup> -Dosierung.....	70



**ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS**

AAD	aromatische L-Aminosäuren-Decarboxylase
AG	Abferkelgruppe
ATP	Adenosintriphosphat
B	Behandlung
$c_{\max}$	maximale Plasmakonzentration
FM	Frischmasse
g	Gravitationsbeschleunigung
HPLC	Hochdruck-Flüssigkeits-Chromatografie
IC <sub>50</sub>	Hemmkonzentration
I.E.	Internationale Einheiten
i.p.	intra peritoneal
i.v.	intravenös
k.A.	keine Angabe
LD <sub>50</sub>	letale Dosis 50
LM	Lebendmasse
LM <sup>0.75</sup>	metabolische Lebendmasse
LNAA	langkettige neutrale Aminosäuren
Lys	Lysin
ME	umsetzbare Energie
MHK	minimale Hemmkonzentration
ml	Milliliter
MJ	Megajoule
MW ± SE	Mittelwert ± Standardabweichung
n	Anzahl der Beobachtungen
N	Stickstoff
n.n.	nicht nachweisbar
n.u.	nicht untersucht
PK	Paritätsklasse
ppm	parts per million (g/t)
PRRS	Porcines Reproduktives Respiratorisches Syndrom
RSD	Rückenspeckdicke
R <sup>2</sup>	Bestimmtheitsmaß
s.c.	subcutan
t <sub>1/2</sub>	Eliminationshalbwertszeit
TM	Trockenmasse
t <sub>max</sub>	Zeit beim Erreichen von $c_{\max}$
Trp	Tryptophan
TT	Trächtigkeitstag
XP	Rohprotein
µg	Mikrogramm
µM	Mikromol



## EINLEITUNG

Futterzusatzstoffe werden seit vielen Jahren mit dem Ziel der Leistungssteigerung und Gesundheitsprophylaxe in der Tierernährung genutzt. In jüngerer Zeit kommen dabei zunehmend pflanzliche Produkte zum Einsatz. Phyto gene Additiva enthalten u.a. sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe (z.B. Polyphenole, Saponine, Terpene, Alkaloide) mit zum Teil erheblicher Bioaktivität, wie in zahlreichen *In vitro*-Studien gezeigt wurde. Neben einer Beeinflussung der Geruch- und Geschmacksinne, sind auch antimikrobielle, antioxidative und genregulatorische Eigenschaften sowie der Einfluss auf verschiedene Enzymsysteme zu nennen. Der *In vivo*-Einsatz von phyto genen Futterzusatzstoffen in der Tierernährung ist allerdings wissenschaftlich nur unzureichend geprüft. Insbesondere Aspekte wie die Analyse potenziell wirksamer Substanzen im Zusatzstoff und im Futter sowie deren systemische Verfügbarkeit und Rückverfolgbarkeit in der Lebensmittelkette sind weitgehend unbearbeitet.

Durch die Supplementierung von Rationen mit Sangrovit<sup>®</sup>, einem Futterzusatzstoff aus der Pflanze *Sanguinaria canadensis*, konnten bei verschiedenen Spezies (Rind, Schwein, Geflügel) Leistungsverbesserungen beobachtet werden (Przybilla & Weiß, 1998; Mellor, 2001). Als wirksame Inhaltsstoffe in Bezug auf diese leistungssteigernden Effekte werden Benzo[c]phenanthridin-Alkaloide, insbesondere Sanguinarin, angegeben (Mellor, 2001). In den letzten Jahrzehnten wurden in einer großen Zahl von *In vitro*-Studien Sanguinarin-Wirkungen auf verschiedene Enzyme, Zellen und zelluläre Regelsysteme beschrieben. Darüber hinaus sind im Zusammenhang mit dem Einsatz in der Stomatologie antimikrobielle Eigenschaften des Alkaloids beobachtet worden.

Ziel der vorliegenden Arbeit war die Untersuchung der Wirkung von Sangrovit<sup>®</sup> auf die Fut teraufnahme und Leistung laktierender Sauen sowie auf die N-Bilanz und Fut teraufnahme wachsender Schweine. Darüber hinaus sollte eine Analysemethode zum Sanguinarin-Nachweis im Zusatzstoff, Futter und Blut entwickelt und die systemische Verfügbarkeit des Alkaloids nach oraler Applikation von Sangrovit<sup>®</sup> untersucht werden.

In **Kapitel eins** werden in Form einer Literaturübersicht allgemeine Aspekte zum Einsatz pflanzlicher Futterzusatzstoffe erläutert und bisherige Versuchsergebnisse dargestellt. Im Speziellen wird das Produkt Sangrovit<sup>®</sup> vorgestellt und im Hinblick auf das dominierende Alkaloid Sanguinarin beschrieben. **Kapitel zwei** beschreibt die Darstellung einer Studie zum Einsatz von Sangrovit<sup>®</sup> bei laktierenden Sauen unter den praktischen Bedingungen eines Ferkelerzeugerbetriebes. Eine Untersuchung zum Einfluss von Sangrovit<sup>®</sup> auf die N-Bilanz

und die Futtermittelaufnahme von wachsenden Schweinen wird in **Kapitel drei** vorgestellt. Gegenstand von **Kapitel vier** ist die Beschreibung einer HPLC-Methode zur Sanguinarin-Analyse und einer Studie zur Pharmakokinetik von Sanguinarin. Eine abschließende Diskussion der vorgestellten Ergebnisse wird in **Kapitel fünf** vorgenommen.

# **KAPITEL 1**

## **LITERATURÜBERSICHT**

## 1. Pflanzliche Futtermittelzusatzstoffe

In der Tierernährung werden seit vielen Jahren erfolgreich Futterzusatzstoffe mit dem Ziel der Leistungsabsicherung bzw. -steigerung, der Gesundheitsprophylaxe sowie einer effizienteren Nährstoffumwandlung und damit letztendlich auch der Reduzierung von tierischen Ausscheidungen eingesetzt (Kamphues & Hebel, 1999; Gollnisch et al., 2001a). Im Zusammenhang mit dem Verbot der antibiotischen Leistungsförderer als Futterzusatzstoffe in der EU zum 01.01.2006 gewinnen andere Zusatzstoffe an Bedeutung. Dabei werden neben den bereits seit längerer Zeit eingesetzten und umfangreich untersuchten, wie z. B. organischen Säuren und Probiotika, in jüngster Zeit vermehrt Futterzusatzstoffe auf pflanzlicher Basis genutzt. Diese kommen dem gesellschaftlichen „Bio-Trend“ entgegen und finden bei den Konsumenten eine hohe Akzeptanz. Häufig werden die entsprechenden Produkte mit der Erwartung eingesetzt, eine „natürliche“ Alternative zu antibiotischen Leistungsförderern darzustellen (Wald, 2003). Grundlegende wissenschaftliche Untersuchungen zur Klärung ihrer Wirksamkeit wie auch zu weiterführenden Aspekten (Analyse potenziell wirksamer Substanzen, Wirkungsmechanismen, mögliche Toxizität) liegen derzeit jedoch nicht vor.

### 1.1. Definition und futtermittelrechtliche Einordnung

Phytogene Futterzusatzstoffe sind Produkte pflanzlicher Herkunft, wobei zwischen verarbeiteten Ganzpflanzen (Gewürzen und Kräutern) bzw. Pflanzenteilen (Samen, Früchten, Wurzeln etc.) und Extrakten aus Ganzpflanzen bzw. Pflanzenteilen (ätherische Öle) zu differenzieren ist. Neben Produkten, die nur auf einer Pflanze basieren, kommen auch Gemische verschiedener Pflanzen bzw. Extrakte zum Einsatz. Im allgemeinen Sprachgebrauch werden nicht nur die Begriffe pflanzliche bzw. phytogene Futterzusatzstoffe, Kräuter, Phytobiotika (Wald, 2003), Gewürze und ätherische Öle häufig synonym verwendet, sondern auch mögliche Effekte in der Tierernährung zwischen diesen Gruppen übertragen. Dies ist insbesondere im Hinblick auf die unterschiedlichen Eigenschaften und die differierende chemische Zusammensetzung kritisch zu beurteilen.

Phytogene Zusatzstoffe sind futtermittelrechtlich bis Oktober 2004 in der Richtlinie 70/524/EWG in Anlage 3 Absatz 3 als natürlich vorkommende Substanzen in der Gruppe „Aroma- und appetitanregende Stoffe“ geregelt. Im Gegensatz zu anderen Futterzusatzstof-

fen (z.B. Probiotika), die als Einzelsubstanzen innerhalb ihrer Stoffgruppe zugelassen sind, besitzen pflanzliche Futterzusatzstoffe eine Gruppenzulassung und mussten daher bislang kein amtliches Registrierungsverfahren durchlaufen. Daraus resultierte, dass keine Studien in Bezug auf Wirksamkeit (Tierart und Dosierung), Toxizität und Analysemethoden vorgelegt werden mussten. Aus diesen futtermittelrechtlichen Rahmenbedingungen erklärt sich zumindest teilweise die Vielzahl der am Markt verfügbaren phylogenen Zusatzstoffe sowie die Tatsache, dass diese im Hinblick auf Zusammensetzung, Analysemethoden und Wirksamkeit häufig nur unzureichend dokumentiert sind. Im Zusammenhang mit dieser „indifferenten“ Zulassung in der Gruppe der „Aroma- und appetitanregenden Stoffe“ sind werbliche Aussagen nur in Bezug auf diesen futtermittelrechtlich definierten Verwendungszweck zulässig. Im November 2003 ist die neue Futterzusatzstoff-Verordnung (EG) Nr. 1831/2003 in Kraft getreten. Diese löst im Oktober 2004 die bis dahin noch geltende oben erwähnte Richtlinie 70/524/EWG ab. Mit der neuen Verordnung wird eine veränderte Einteilung in Funktionsgruppen von Zusatzstoffen und Regelung der Zulassung vorgenommen (Tabelle 1). So müssen auch pflanzliche Futtermittelzusatzstoffe in Zukunft ein Registrierungsverfahren durchlaufen.

**Tabelle 1:** Funktionsgruppen von Zusatzstoffen, (Verordnung (EG) Nr. 1831/2003)

<b>Funktionsgruppe</b>	<b>Beschreibung</b>
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 oder den Gesundheitszustand von Tieren oder die Auswirkungen auf die Umwelt positiv beeinflussen soll
e) Kokzidiostatika und Histomonostatika	

Dabei ist für diese Produkte in Abhängigkeit von Wirkungsweise und Antragstellung eine Zuordnung in die sensorische oder zootechnische Kategorie denkbar. Es ist zu erwarten, dass dafür umfangreiche Dossiers erforderlich sein werden. Allein dadurch wird es zu einer genaueren Beschreibung der Produkte hinsichtlich der oben genannten Punkte kommen.

## 1.2. Postulierte Wirkungen von phytoenen Produkten

### 1.2.1. Allgemeine Aspekte

Viele Erkenntnisse bzw. Postulate zur Wirkung von phytoenen Zusatzstoffen entstammen der Humanmedizin (Gollnisch et al., 2001a). Neben einer Geruchs- und Geschmacksbeeinflussung ist der hauptsächliche Wirkungsort dieser Additiva der Gastrointestinaltrakt (Wenk, 2002). Hier sollen sie die Speichel-, Magen-, Pankreas- und Darmsekretion beeinflussen und modulierende Effekte auf die intestinale Mikroflora haben (Tedesco, 2001; Kluth et al., 2002; Perdok et al., 2003). Weiterhin werden die für viele Pflanzen, ätherische Öle und isolierte Substanzen *in vitro* gezeigten antimikrobiellen, antioxidativen und immunmodulierenden Wirkungen als mögliche Effekte diskutiert, die einen Einsatz in der Tierernährung folgerichtig erscheinen lassen (Gollnisch et al., 2001a; Jones, 2001; Tedesco, 2001).

Zurückgeführt werden diese Eigenschaften vor allem auf die in Pflanzen vorkommenden sekundären Pflanzeninhaltsstoffe (z. B. Polyphenole, Saponine, Terpene, Alkaloide), welche z. T. eine erhebliche Bioaktivität aufweisen (Kluth et al., 2002; Tedesco, 2001). Im Gegensatz zu Primärstoffen ist ihre Konzentration in den Pflanzen häufig gering (Tedesco, 2001) und ihr Vorkommen auf bestimmte Pflanzenteile bzw. -organe beschränkt. Sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe beeinflussen in der Regel nicht den Primärstoffwechsel der Pflanzen, haben aber dennoch verschiedene Funktionen für deren Überleben. Sie tragen z. B. zur charakteristischen Färbung von Pflanzenteilen bei, die für das Anlocken von Insekten und Vögeln wichtig ist. Weiterhin sind diese Substanzen als Abwehrstoffe (Phytoalexine) gegen pathogene Bakterien, Viren und Pilze sowie als Signalstoffe für nützliche Mikroorganismen von Bedeutung.

Generell ist hervorzuheben, dass phytoene Zusatzstoffe häufig sehr komplexe Gemische verschiedener sekundärer Pflanzeninhaltsstoffe mit variierender Zusammensetzung enthal-



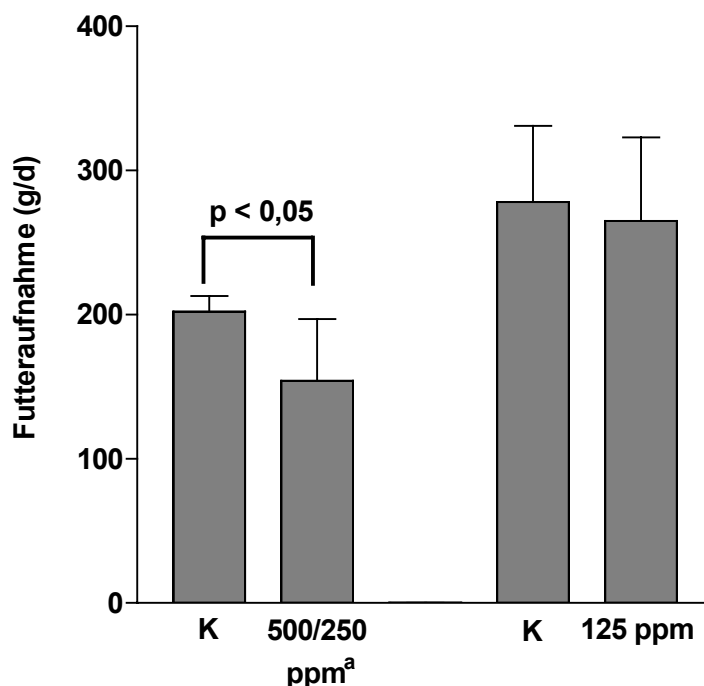
ten. Vielfach dominieren einzelne Substanzen, jedoch können an der Wirkung auch NebenkompONENTEN beteiligt sein (Kubeczka, 1982).

Im Folgenden werden einige der am häufigsten postulierten Wirkungen pflanzlicher Futterzusatzstoffe anhand von Versuchen beschrieben. Der Übersichtlichkeit halber erfolgt dies gegliedert nach den Effekten, allerdings muss angemerkt werden, dass sich die Wirksamkeit aus dem Zusammenspiel mehrerer dieser Aspekte ergeben kann.

### 1.2.2. Effekte auf die Futteraufnahme und Nährstoffverwertung

Wie im Kapitel 1.1. bereits erwähnt, bedingte die Gruppenzulassung phyto gener Zusatzstoffe, dass werbliche Aussagen nur im Hinblick auf den futtermittelrechtlich definierten Verwendungszweck als „aroma- und appetitanregende Stoffe“ zulässig waren. Daher stehen die Geruchs- und Geschmackseigenschaften von phyto genen Zusatzstoffen häufig im Vordergrund der postulierten Wirkungen (Gollnisch et al., 2001a).

Pflanzliche Additiva, insbesondere ätherische Öle, leisten einen Beitrag zur Aromatisierung des Futters und können so positive Auswirkungen auf die Futteraufnahme haben (Perdok et al., 2003; Wald, 2003). Dies kann insbesondere bei der Fütterung von Absetzferkeln von Bedeutung sein, da die Futteraufnahme nach dem Absetzen häufig ein limitierender Faktor ist. Durch den Zusatz eines Kräuterpräparates bzw. ätherischen Öles zum Absetzfutter konnte der Futterverzehr von Absetzferkeln signifikant verbessert werden (Hagemann, 2002; Wetscherek, 2002). Dagegen beobachteten Schuhmacher et al. (2002) in einem Feldversuch mit verschiedenen Kräutern (*Oreganum vulgare*, *Hypericum perforatum*, *Allium sativum*) einen tendenziellen Rückgang der Futteraufnahme von bis zu 7 % im Vergleich zur Kontroll-Gruppe. Interessanterweise führte der Einsatz derselben Kräuter unter Institutsbedingungen zu einer leicht erhöhten Futteraufnahme von bis zu 4 % (Schuhmacher et al., 2002). Richter et al. (2002) stellten eine negative Beeinflussung des Futterverzehrs von Ferkeln durch ein Kräutergemisch in Abhängigkeit von der Höhe der Dosierung fest (Abbildung 1). Auch Gebert et al. (1999) beobachteten bei Ferkeln eine dosisabhängige Verzehrsreduktion in Folge der Supplementierung des Futters mit einem Rhabarber-Extrakt (0, 1000, 2500 bzw. 5000 ppm). Wenk (2002) weist darauf hin, dass pflanzliche Additiva Substanzen enthalten können, die die Futteraufnahme negativ beeinflussen.



**Abbildung 1:** Einfluss der Dosierung eines Kräutergemisches auf die Futteraufnahme von Ferkeln während der ersten 12 Tage nach dem Absetzen im Vergleich zu einer Kontroll-Gruppe (K), (Richter et al., 2002)

Mittelwerte mit Standardfehlern; n = 108

<sup>a</sup>1.-5. Versuchstag = 500 ppm; 6.-12. Versuchstag = 250 ppm

Kluth et al. (2002) kamen nach der Auswertung verschiedener Untersuchungen zu dem Schluss, dass in der Mehrheit der Versuche die Futteraufnahme durch pflanzliche Futterzusatzstoffe nicht beeinflusst war. In vielen Versuchen ergab sich jedoch ein tendenziell verbesserter Futteraufwand durch den Einsatz pflanzlicher Additiva (Kluth et al., 2002). Bestandteile von Kräutern und ätherischen Ölen, wie z. B. Bittersubstanzen, Allicin oder Senföle, regen die Speichel- und Magensaftsekretion an und können stimulierende Effekte auf die Sekretion und Motilität im Darm ausüben (Jones, 2001). Studien, die diesen Effekt direkt, also nicht über den Parameter Futteraufwand, betrachten, sind allerdings nur begrenzt verfügbar. Jamroz et al. (2002) untersuchten an Broilern den Effekt eines Kräutergemisches (100 ppm) auf die Enzymaktivität ( $\alpha$ -Amylase) im Pankreas und Dünndarm in Abhängigkeit von der Rationszusammensetzung (Mais- bzw. Weizen-Gerste basiert). Diese Arbeitsgruppe beobachtete bei beiden Rationen keinen Einfluss des Zusatzstoffes auf die Enzymaktivität im Pankreas, dagegen war die  $\alpha$ -Amylase-Aktivität im Dünndarm bei Verfütterung der Weizen-

Gerste basierten Ration signifikant erhöht. Allerdings wurde dies nicht bei Verfütterung der Mais basierten Diät beobachtet.

### 1.2.3. Antimikrobielle Wirkungen

Für viele Pflanzen bzw. Pflanzenextrakte und isolierte Substanzen konnte *in vitro* eine antimikrobielle Aktivität gezeigt werden (Cowan, 1999; Dorman & Deans, 2000). Diese Befunde geben Anlass zu der Frage, ob pflanzliche Futterzusatzstoffe auch *in vivo* die Gastrointestinalflora beeinflussen können und so, ähnlich der Wirkungsweise antibiotischer Leistungsförderer (Kamphues & Hebel, 1999), zu einer Leistungssteigerung beitragen. Damit wäre die durch das Verbot der antibiotischen Leistungsförderer entstandene Lücke auf „natürliche“ Weise geschlossen.

Wald (2002) untersuchte *in vitro* den Effekt unterschiedlicher ätherischer Öle und den des Antibiotikums Carbadox auf verschiedene nutztierrelevante Mikroorganismen (z.B. Umweltkeime, relevante pathogene Keime für Geflügel und Ferkel). Diese Studie, wie auch die von Kamel (2000), bestätigte die antimikrobielle Aktivität ätherischer Öle, zeigte jedoch, dass diese zwischen den geprüften Produkten verschieden, im Vergleich zu Carbadox um den Faktor 10-1000 geringer und relativ unspezifisch war (Tabelle 2).

**Tabelle 2:** Vergleich der minimalen Hemmkonzentrationen ( $\mu\text{g/ml}$ ) von ätherischen Ölen und antibiotischen Leistungsförderern

Studie <sup>a</sup>	<i>E. coli</i>		Campylobakter	
	A	B	A	B
<i>Ätherische Öle</i>				
Rosmarin	200	n.u. <sup>b</sup>	400	n.u.
Oregano	400	60-130	400	60
Knoblauch	500	4000	n.u.	500
Cinnamon	400	n.u.	200	n.u.
Thymian	n.u.	130	n.u.	60
Teebaum	1250	250	1250	250
<i>Antibiotische Leistungsförderer</i>				
Olaquinox	10	n.u.	20	n.u.
Carbadox	n.u.	4-32	n.u.	4

<sup>a</sup>A = Kamel (2000); B = Wald (2002)

<sup>b</sup>n.u. = nicht untersucht

Trotz der *in vitro* gezeigten antimikrobiellen Aktivität der ätherischen Öle konnte Wald (2002) sowohl bei Ferkeln als auch bei Broilern keine Beeinflussung der Leistung durch diese Supplemente feststellen. Manzanilla et al. (2002) prüften den *In vivo*-Effekt eines Kräutergemisches (300 ppm) auf die intestinale Mikroflora bei Ferkeln. Sie konnten bei den supplementierten Ferkeln im Ileum im Vergleich zur Kontrolle neben einer reduzierten Gesamtkeimzahl beobachten, dass die Zahl der Enterobakterien verringert und die der Laktobazillen erhöht war. Dieser *in vivo* gezeigte Effekt des Zusatzstoffes führte allerdings nicht zu einer Veränderung der Futteraufnahme und Wachstumsleistung. Gößling (2001) untersuchte ebenfalls an Ferkeln die Wirkung eines Oreganoöl-Zusatzes (2000 ppm) auf die Darmflora. In dieser Arbeit konnte jedoch kein signifikanter Effekt des Zusatzstoffes, sowohl auf die Keimzahlen als auch auf Parameter der mikrobiellen Aktivität, festgestellt werden. Zusätzlich wurde der Einfluss des Oreganoöl-Zusatzes auf den Verlauf einer experimentell induzierten Infektion mit enterotoxämischen *Escherichia coli*-Stämmen sowie auf die *E. coli*-Keimzahlen in Chymus und Kot geprüft. Es konnten auch hier keine Unterschiede zwischen der Kontroll- und der Oreganoöl-Gruppe beobachtet werden. Giannenas et al. (2003) wiesen unter den Bedingungen einer experimentellen Kokzidien-Infektion (*Eimeria tenella*) bei

Broilern den kokzidiostatischen Effekt eines Oregano-Extraktes (300 ppm) nach, der im Vergleich zu einem herkömmlichen Kokzidiostatikum (Lasalocid) jedoch geringer war.

Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass pflanzliche Futterzusatzstoffe sowohl *in vitro* als auch *in vivo* das Potenzial haben, modulierend auf die intestinale Mikroflora zu wirken. Die bisherigen Untersuchungen lassen jedoch vermuten, dass diese Aktivität stark von der Zusammensetzung der Produkte beeinflusst wird (Lis-Balchin & Deans, 1997). Der Vergleich mit antibiotischen Leistungsförderern zeigt, dass in Abhängigkeit von der Art des pflanzlichen Zusatzstoffes relativ hohe Dosierungen zur Erzielung ähnlicher *In vitro*-Effekte notwendig sind (Tabelle 2). Weiterhin könnten phyto gene Antibiotika bedingt durch ihre geringe Selektivität auch auf apathogene, potenziell nützliche Mikroorganismen des Intestinaltraktes hemmend wirken.

#### 1.2.4. Antioxidative Eigenschaften

Neben antimikrobiellen Eigenschaften sind für viele sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe, insbesondere phenolische Verbindungen, antioxidative Eigenschaften beschrieben (Kähkönen, 1999; Lee et al., 2003). Der Einsatz phyto gener Zusatzstoffe mit dieser Wirkung ist nicht nur aufgrund möglicher protektiver *In vivo*-Effekte (z. B. Schutz von Membranlipiden) interessant, sondern kann auch die oxidative Stabilität von Futtermitteln bzw. tierischen Produkten positiv beeinflussen. In *In vitro*-Untersuchungen mit verschiedenen Kräutern zeigte Wenk (2002) eine antioxidative Wirkung von Rosmarin (*Rosmarinus officinalis*) und Elfenblumenkraut (*Herba epimedii*). Basierend auf diesen Ergebnissen wurden die Effekte von *Herba epimedii* (0, 2500 und 5000 ppm) auf verschiedene Parameter des oxidativen Stoffwechsels *in vivo* bei Broilern untersucht. Dabei konnte festgestellt werden, dass in Leber, Serum und Abdominalfett der Tiere, die das Supplement erhielten, die Aktivität der Superoxiddismutase erhöht und die Konzentration von Malondialdehyd verringert war. Der Zusatz von Knoblauch (10000, 25000 bzw. 50000 ppm) zu einem Broilerfutter führte zu einer signifikant erhöhten oxidativen Stabilität von gekochtem und fünf Tage gelagertem Broilerfleisch (Abdalla, 1999). Dabei war bei einer Dosierung von 50000 ppm der Effekt größer, als bei der mitgeführten Positivkontrolle (200 ppm  $\alpha$ -Tocopherylacetat).

Störungen des Gleichgewichtes zwischen (pro)oxidativen und antioxidativen Prozessen werden beim Menschen mit verschiedenen Krankheitskomplexen, wie z. B. Herzkreislaufkrankungen, chronisch entzündlichen Prozessen oder Krebs, in Verbindung ge-

bracht. Inwieweit dies bei den produktionsbedingt „kurzlebigen“ landwirtschaftlichen Nutztieren von Bedeutung sein könnte, ist fraglich. Jedoch zeigen die dargestellten Versuche, dass der Einsatz pflanzlicher Zusatzstoffe mit antioxidativer Wirkung, unabhängig von einer möglichen Beeinflussung des Gesundheitszustandes, aufgrund der Effekte auf die Qualität von Produkten tierischer Herkunft sinnvoll sein kann.

#### 1.2.5. Immunmodulierende Eigenschaften

Das darmassoziierte Immunsystem besitzt eine große Bedeutung für die Immunantwort des Körpers. Für viele phyto gene Substanzen und pflanzliche Präparate wurden in *In vitro*-Untersuchungen immunmodulierende Eigenschaften festgestellt (Borchers et al., 1997; Craig, 1999). Eine *In vitro*-Beeinflussung von immunmodulatorischen Cytokinen durch Knoblauch wurde von Ide & Lau (2001) gezeigt. Sowohl *In vitro*- als auch *In vivo*-Studien konnten die Induktion von Genen, die eine nichtspezifische Immunantwort vermitteln, durch *Echinacea purpurea* zeigen (Randolph et al., 2003). Diese Eigenschaften könnten *in vivo* zu einer Gesundheitsstabilisierung und somit zu verminderten Verlusten und ausgeglicheneren Leistungen in der Tierhaltung beitragen (Gollnisch et al., 2001a). Hermann et al. (2003) untersuchten den Effekt von *Echinacea purpurea* (40000 ppm) auf die Immunantwort von experimentell mit dem PRRS-Virus (Porcines Reproductives Respiratorisches Syndrom) infizierten Ferkeln und konnten keine immunstimulierenden Wirkungen des eingesetzten Präparates feststellen. Dagegen deuten die Ergebnisse von Allen (2003) darauf hin, dass *Echinacea purpurea* (10000 ppm) bei Broilern das Potenzial hat, als Adjuvans eingesetzt zu werden.

#### 1.3. Einsatz von phyto genen Zusatzstoffen in der Schweinefütterung

Im Kontext dieser Arbeit werden im Folgenden tabellarisch Ergebnisse zum Einsatz phyto gener Zusatzstoffe in der Fütterung von Schweinen vorgestellt. Die Darstellung beschränkt sich dabei auf Daten zur Futteraufnahme und Wachstumsleistung, da diese Parameter in den meisten Versuchen erfasst wurden (Tabelle 3 und 4).

**Tabelle 3:** Effekte von phylogenen Futterzusatzstoffen in der Ferkelaufzucht

Zusatzstoff	LM (kg)	Dosierung (ppm)	tgl. Zunahme		Futtermverzehr		Futteraufwand		Quelle <sup>c</sup>
			K <sup>a</sup> (g/d)	Δ <sup>b</sup> (%)	K (g/d)	Δ (%)	K (g/d)	Δ (%)	
<i>Ätherische Öle</i>									
Oregano (O)	7-20	100	398	+ 2	596	+ 3	1,50	+ 1	1
Nelke (N)		100		- 2		+ 1		+ 3	
Cassia (C)		100		+ 2		+ 5		+ 3	
O & N		50 + 50		+ 1		+ 3		+ 3	
O & C		50 + 50		0		+ 4		+ 4	
C & N		50 + 50		- 2		+ 1		+ 3	
Cassia	8-25	100	444	0	725	- 5	1,63	- 5	9
Nelke		100		+ 7		+ 2		- 4	
Oregano		100		+ 5		0		- 5	
Thymian		100		- 4		- 6		- 2	
<i>Kräuter und Kräutergemische</i>									
Rhabarber	10-30	1000	597	- 2	922	- 5	1,54	0	2
		2500		- 5		- 8		- 5	
		5000		- 40 <sup>*d</sup>		- 36 <sup>*</sup>		+ 14	
Oregano	7-20	2000	367	+ 10	548	- 1	1,51	+12 <sup>*</sup>	3
Johanniskraut		2000		- 3		- 7		+ 6	
Knoblauch		1000		+ 2		- 7		+ 9	
Oregano	7-20	2000	480	+ 5	601	+ 4	1,25	+ 1	
Johanniskraut		2000		+ 2		+ 3		- 1	
Knoblauch		1000		+ 1		+ 5		- 4	
Salbei	7-20	2000	409	+ 7	558	+ 3	1,37	- 4	
Koriander		2000		+ 7		+ 4		- 3	
Schafgarbe		2000		+ 4		+ 1		- 4	
Thymian		2000		+ 6		+ 4		- 3	
Kräutergemisch	8-14	2000	211	+ 15	360	+ 18 <sup>*</sup>	1,86	+ 3	4
	14-40	200	541	+ 2	1010	- 7 <sup>*</sup>	1,89	- 9	
Kräutergemisch	12-24	2000	276	+ 26 <sup>*</sup>	507	+ 30 <sup>*</sup>	1,83	+ 3	5
Kräutergemisch	k.A. <sup>e</sup>	500	432	+ 4	k.A.	k.A.	2,12	- 7	6
		1000		+ 8				- 9	
Kräutergemisch	k.A. <sup>e</sup>	125	429	- 1	577	- 4	1,35	- 4	7
		1000		- 4		- 3		+ 1	
Knoblauch	10-24	500	382	+ 8	710	+ 4	1,88	- 5	8
		2500		- 2		- 3		- 2	

<sup>a</sup>Kontroll-Gruppe, absolut<sup>b</sup>Versuchs-Gruppe, relativ zur Kontroll-Gruppe (Kontroll-Gruppe = 100 %)<sup>c</sup>1 = Gollnisch et al. (2001b); 2 = Gebert et al. (1999); 3 = Schuhmacher et al. (2002); 4 = Wetscherek (2002); 5 = Hagemann (2002); 6 = Wetscherek (1998); 7 = Richter et al. (2002); 8 = Jost (1996); 9 = Wald (2002)<sup>d</sup>signifikante Unterschiede im Vergleich zur Kontroll-Gruppe (p < 0,05)<sup>e</sup>k.A. = keine Angabe

**Tabelle 4:** Effekte von verschiedenen Kräutergemischen in der Schweinemast

Gewicht (kg)	Dosierung (ppm)	tgl. Zunahme		Futtermverzehr		Futtermaufwand		Quelle <sup>c</sup>
		K <sup>a</sup>	$\Delta$ <sup>b</sup>	K	$\Delta$	K	$\Delta$	
		(g/d)	(%)	(g/d)	(%)	(g/d)	(%)	
30- 100	360	915	0	2560	0	2,83	- 1	1
25- 105	50000	791	+ 6* <sup>d</sup>	k.A. <sup>e</sup>		3,56	- 10*	2
25- 100	20000	730	+ 4	k.A.		3,55	- 2	3
20- 112	2000	851	- 1	2250	- 3	2,63	- 2	4
30- 115	2000	825	+ 2	2990	- 4	2,47	- 2	5

<sup>a</sup>Kontroll-Gruppe, absolut

<sup>b</sup>Versuchs-Gruppe, relativ zur Kontroll-Gruppe (Kontroll-Gruppe = 100 %)

<sup>c</sup>1 = Weiß & Quanz (2000); 2 = Grela et al. (1998); 3 = Grela (2000); 4 = Hagemann (2002); 5 = Przybilla & Weiß (1998)

<sup>d</sup>signifikante Unterschiede im Vergleich zur Kontroll-Gruppe ( $p < 0,05$ )

<sup>e</sup>keine Angabe

Die Versuchsergebnisse wie auch die dargestellten Literaturdaten zu möglichen Wirkungsmechanismen von pflanzlichen Additiven demonstrieren, dass diese Futterzusatzstoffe das Potenzial haben, die Leistung und Gesundheit von landwirtschaftlichen Nutztieren positiv zu beeinflussen. Jedoch sind die beobachteten Effekte sehr variabel und statistisch abgesicherte Leistungsverbesserungen werden selten erreicht.

#### 1.4. Probleme beim Einsatz phytogener Zusatzstoffe in der Tierernährung

Der Einsatz von pflanzlichen Futterzusatzstoffen in der Tierernährung ist derzeit noch mit einer Reihe offener Fragen verbunden:

- Variierende Zusammensetzung der Rohstoffe bzw. Produkte
- Fehlende Analysemethoden zur Bestimmung bioaktiver Substanzen in den Rohstoffen bzw. Produkten
- Unzureichende Standardisierung der Produkte
- Unzureichende Kenntnisse der technologischen Eigenschaften der Produkte
- Fehlende Untersuchungen im Hinblick auf Wirkungsmechanismus, Dosis, Toxizität und systemische Verfügbarkeit



Als kritischer Punkt ist insbesondere die häufig fehlende Beschreibung der chemischen Zusammensetzung der Produkte im Hinblick auf sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe, die nicht nur in Abhängigkeit von Standort, Klima, Nährstoffversorgung und Ernte variiert, sondern auch durch die Verarbeitung (Temperatur, Extraktionsverfahren usw.) beeinflusst wird, zu nennen (Kubeczka, 1982). So kann z.B. das Verhältnis von Thymol und Carvacol in Oregano sehr stark schwanken (Weber et al., 2002). Daher ist es erforderlich, Methoden zu etablieren, die eine schnelle und routinemäßige analytische Beschreibung der Rohstoffe ermöglichen und somit die Grundlage für die notwendige Standardisierung der Zusatzstoffe darstellen. So könnten standardisierte Produkte hergestellt werden, die einerseits die Vergleichbarkeit und Wiederholbarkeit von Versuchen erhöhen, andererseits zu einer verbesserten Reproduzierbarkeit von Effekten in der Fütterungspraxis führen. Die Standardisierung auf den Gehalt einzelner Leitsubstanzen ist mit naturidentischen Substanzen bzw. aufgereinigten Extrakten möglich (Wald, 2003). Jedoch weisen viele Autoren darauf hin, dass insbesondere im Hinblick auf mögliche Bioaktivitäten eine erfassbare Leitsubstanz zwar wünschenswert, aber häufig nicht ausreichend ist, da auch andere Inhaltsstoffe der Präparate, die in geringerer Konzentration als die Leitsubstanz vorliegen, die Wirkung beeinflussen bzw. für die Wirkung verantwortlich sein können (Kubeczka, 1982; Kamel, 2000; Gollnisch et al., 2001a). Für den praktischen Einsatz phytogener Produkte als Futtermittelzusatzstoffe ist auch eine Beschreibung der technologischen Eigenschaften, wie z. B. Hitzestabilität, Pelletierstabilität und Lagerstabilität, notwendig. So zeigte Wald (2002), dass die Verluste von ätherischen Ölen beim Pelletieren bis zu 25 % betragen können. Weiterhin sind umfangreiche Untersuchungen in Bezug auf die Wirksamkeit, die Dosis-Wirkung-Beziehungen und letztendlich die Wirkmechanismen erforderlich (Kluth, et al., 2002). Dabei dürfen auch adverse, einschließlich toxische Effekte, die mit dem Einsatz dieser Produkte verbunden sein können, nicht unberücksichtigt bleiben, denn Pflanzen enthalten auch Substanzen, die sich nachteilig auf Leistung und Wohlbefinden der Tiere auswirken können (Wenk, 2002). Von ökonomischer Seite bleibt zu betrachten, ob die zum Teil marginalen Leistungsverbesserungen die höheren Futterkosten ausgleichen. Letztendlich müssen auch Aspekte wie Bioverfügbarkeit, Pharmakokinetik und Metabolisierung potenziell wirksamer Substanzen bearbeitet werden.

Zusammenfassend ist zu sagen, dass aufgrund der geringen Anzahl von Untersuchungen, der Vielzahl verschiedener pflanzlicher Produkte und der offenen Fragen, die mit ihrem Einsatz verbunden sind, eine wissenschaftliche Bewertung dieser Zusatzstoffe derzeit nicht vorge-

nommen werden kann. Die genannten und zum Teil mit Literaturdaten belegten Wirkungen phyto gener Substanzen und Produkte lassen teilweise das Potenzial für einen sinnvollen Einsatz in der Tierernährung erkennen. Allerdings bestehen derzeit noch erhebliche Unklarheiten hinsichtlich Wirkung, Wirkungsmechanismen, Standardisierung und technologischer Eigenschaften, die weitere wissenschaftliche Untersuchungen erfordern.

## 2. Sangrovit<sup>®</sup> und das Leitalkaloid Sanguinarin

### 2.1. Sangrovit<sup>®</sup>

Sangrovit<sup>®</sup> ist ein pflanzlicher Futterzusatzstoff, der aus den Rhizomen der kanadischen Blutwurzel *Sanguinaria canadensis* (vgl. Kapitel 2.2.) hergestellt wird. Der Hauptbestandteil des Produktes ist Stärke, als wirksame sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe in Bezug auf leistungssteigernde Effekte werden Alkaloide (Sanguinarin, Chelerythrin) angegeben. Diese machen ca. 4 % der Trockenmasse (TM) aus, wobei Sanguinarin (Kapitel 2.3.) das dominierende Alkaloid darstellt. Sangrovit<sup>®</sup> ist auf einen Mindestgehalt von 1,5 % Sanguinarin standardisiert.

Sangrovit<sup>®</sup> wird in Europa als Futterzusatzstoff für Schweine, Geflügel und Rinder eingesetzt. Ergebnisse aus Sangrovit<sup>®</sup>-Versuchen in der Schweinemast sind in Tabelle 5 dargestellt.

**Tabelle 5:** Effekte von Sangrovit<sup>®</sup> in der Schweinemast

Gewicht (kg)	Dosierung (ppm)	tgl. Zunahme		Futterverzehr		Futteraufwand		Quelle <sup>c</sup>
		K <sup>a</sup> (g/d)	$\Delta$ <sup>b</sup> (%)	K (g/d)	$\Delta$ (%)	K (g/d)	$\Delta$ (%)	
30 - 60	45	811	+ 10	1,91	- 4	2,35	- 5* <sup>d</sup>	1
60 - 115		833	+ 8*	2,79	+ 7	3,35	- 7	
30 - 115		825	+ 6*	2,47	- 1	2,99	- 7*	
25 - 115	30	758	+ 3	2,01	+ 5	2,77	- 1	2
30 - 70	30	855	0	k.A. <sup>e</sup>	k.A.	2,32	+ 3	3
70 - 110		909	+ 2	k.A.	k.A.	3,07	+ 4	
30 - 110		880	+ 1	2,32	+ 6*	2,68	+ 3	
30 - 115	30	794	+ 11	2,50	0	2,63	- 2	4
36 - 80	30	796	+ 3	1,77	0	2,24	- 4	5
30 - 100	30	828	0	k.A.	k.A.	3,05	+ 2	6

<sup>a</sup>Kontroll-Gruppe, absolut

<sup>b</sup>Versuchs-Gruppe, relativ zur Kontroll-Gruppe (Kontroll-Gruppe = 100 %)

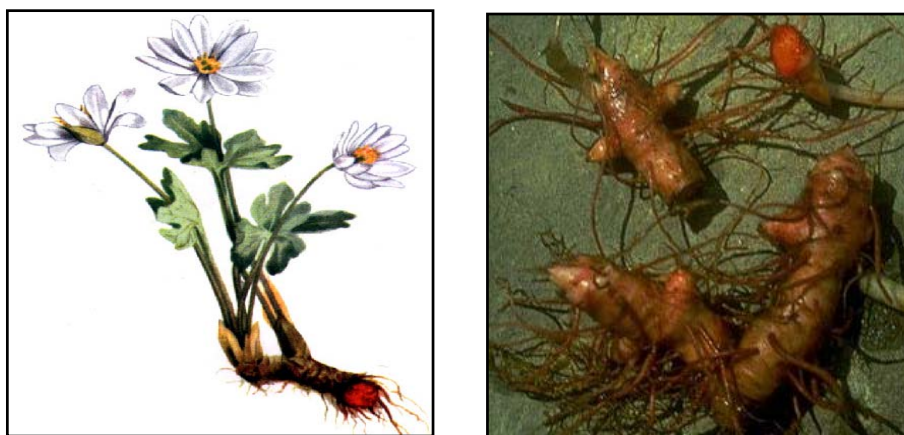
<sup>c</sup>1 = Przybilla & Weiß (1998); 2 = Alert et al. (2002); 3 = Landesanstalt für Schweinezucht Forchheim (1996); 4 = Haus Düsse (1998); 5 = Ader & Roth (2003); 6 = Šeškevičiene & Martinvičius (2003)

<sup>d</sup>signifikante Unterschiede im Vergleich zur Kontroll-Gruppe (p < 0,05)

<sup>e</sup>k.A. = keine Angabe

## 2.2. *Sanguinaria canadensis*

*S. canadensis* ist eine aus Nordamerika stammende mehrjährige, krautige Pflanze, die zur Familie der Mohngewächse (*Papaveraceae*) gehört (Abbildung 2). Die Rhizome der Pflanze sind chemisch durch den Gehalt von 3-7 % Alkaloiden in der TM gekennzeichnet (Becci et al., 1987). Diese sind als farbgebende Bestandteile in Form von Salzen in Milchsaft und Rinde der Pflanze lokalisiert (Hensel, 1992; Dostál & Slavík, 2002). In der Pflanze sind die Alkaloide unter anderem für die Interaktion zwischen Pflanzen und Mikroorganismen von Bedeutung. Sie stellen Abwehrstoffe gegen pathogene Bakterien, Viren und Pilze dar (Schmeller et al., 1997; Dostál & Slavík, 2002).



**Abbildung 2:** *Sanguinaria canadensis*: Blühende Pflanze und Rhizome

Die Zusammensetzung eines Alkaloid-Extraktes aus den Rhizomen ist in Tabelle 6 wiedergegeben. Der überwiegende Anteil der Alkaloide gehört dem Benzo[c]phenanthridin-Typ (Abbildung 3), mit den Hauptvertretern Sanguinarin und Chelerythrin, an. Sanguinarin ist sowohl in den Rhizomen (Bennett et al., 1990; Dostál & Slavík, 2002) als auch im Produkt Sangrovit<sup>®</sup> das dominierende Alkaloid. Daher beschränkt sich die vorliegende Arbeit hinsichtlich der Literaturlauswertung und Analytik auf dieses Leitalkaloid.

**Tabelle 6:** Alkaloid-Konzentration in den Rhizomen von *Sanguinaria canadensis*, (Salmore & Hunter, 2001)

Alkaloid	% TM
<i>Benzo[c]phenanthridin-Alkaloide</i>	
Sanguinarin	4,34 ± 0,27
Chelerythrin	2,94 ± 0,19
Sanguilutin	2,09 ± 0,25
Chelilutin	1,99 ± 0,24
Chelirubin	1,78 ± 0,18
<i>Protopin-Alkaloide</i>	
Protopin	1,48 ± 0,17
Allocriptopin	1,26 ± 0,14

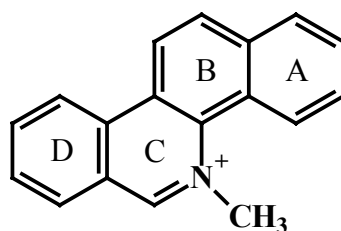
Bei der human-pharmazeutischen Verwendung der Pflanze stehen nach Hensel (1992) die expektorierende Wirkung und der damit verbundene Einsatz in Husten- und Bronchialtees im Vordergrund. Zusätzlich wird eine stimulierende Wirkung auf die Verdauung erwähnt (Hensel, 1992). Darüber hinaus werden Extrakte der Pflanze aufgrund ihrer bakteriostatischen Eigenschaften als Antiplaquewirkstoff und zur Behandlung von Gingivitis in Zahnpasten und Mundwässern eingesetzt (Walterová et al., 1995).

### 2.3. Struktur und chemische Eigenschaften von Sanguinarin

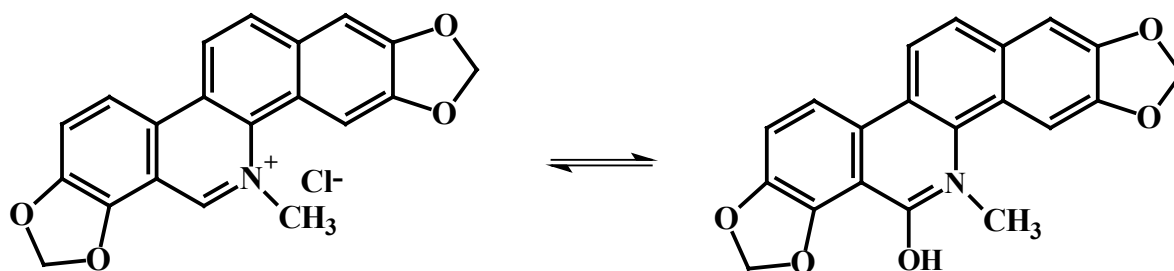
Sanguinarin gehört zu den Benzo[c]phenanthridin-Alkaloiden, die durch ein quartäres, positiv geladenes N-Atom, das eine Methylgruppe trägt, gekennzeichnet sind (Dostál & Slavík, 2002) (Abbildung 3).

Die chemische Interaktion von Sanguinarin mit Biopolymeren wird durch die Reaktion der Iminium-Bindung mit nucleophilen Gruppen bestimmt (Walterová et al., 1995; Dostál & Slavík, 2002). Sanguinarin reagiert daher leicht mit Proteinen, wobei insbesondere Proteine mit SH-Gruppen im aktiven Zentrum (z. B. Aspartat- und Alaninaminotransferase, Ca<sup>2+</sup>-ATPase, Pyruvatdehydrogenase) „Sanguinarin-sensitiv“ sind (Dršata et al., 1996). Die bioaktiven Wirkungen des Alkaloids scheinen dabei von der aktuellen chemischen Form des Alkaloids beeinflusst zu werden (Cala et al., 1982; Ulrichová et al., 1983b; Harkrader et al.,

1990), da in Abhängigkeit vom pH-Wert in einer reversiblen Säure-Base-Reaktion aus dem Iminium-Kation die so genannte „Pseudobase“ (Alkanolamin) gebildet wird (Abbildung 3) (Jones et al., 1986). Ulrichová et al. (1983b) geben für die Gleichgewichtskonstante der Pseudobasenbildung in Wasser bzw. wässrigen Proteinlösungen pK-Werte von 7,1 bis 7,7 an.



**Benzo[c]phenanthridin-Gerüst**



**Sanguinarin (geladene Form)**

**Sanguinarin (Pseudobase)**

**Abbildung 3:** Strukturmerkmale der Benzo[c]phenanthridin-Alkaloide sowie Strukturformel von Sanguinarin und Sanguinarin-Pseudobase

#### 2.4. Bioaktive Wirkungen von Sanguinarin

In den letzten Jahrzehnten wurden in einer Vielzahl von *In vitro*-Studien Sanguinarin-Wirkungen auf verschiedene Enzyme, Zellen und zelluläre Regelsysteme beschrieben. Eine Übersicht hierzu ist der Arbeit von Walterová et al. (1995) zu entnehmen.

Sanguinarin hemmt *in vitro* eine große Anzahl verschiedener Enzyme (Tabelle 7), wobei insbesondere die Hemmung der aromatischen L-Aminosäuren-Decarboxylase (AAD)

(Dršata et al., 1996) im Zusammenhang mit den *In vivo*-Effekten von Sangrovit<sup>®</sup> erwähnt wird (Mellor, 2001). Weiterhin hat Sanguinarin einen Einfluss auf die Proteinkinase A und das mengenmäßig zweite Alkaloid im Sangrovit<sup>®</sup>, Chelerythrin, ist als potenter Proteinkinase C Inhibitor bekannt (Herbert et al., 1990). Diese Enzyme regulieren über die Phosphorylierung von Proteinen zahlreiche Zellfunktionen. Durch die Hemmung der Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase, die für die Aufrechterhaltung der transmembranären elektrochemischen Na<sup>+</sup>- und K<sup>+</sup>-Gradienten verantwortlich ist, könnte Sanguinarin ebenfalls zahlreiche, vom elektrischen Membranpotenzial abhängige Zellfunktionen beeinflussen (Cohen et al., 1978; Seifen et al., 1979; Cala et al., 1982). So zeigten Tandon et al. (1993b) mit einem *In vitro*-Modell die Beeinträchtigung der intestinalen Glukoseabsorption durch Sanguinarin und führten dies auf die Hemmung der Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase durch das Alkaloid zurück. Neben der Beeinflussung von Enzymsystemen interagiert Sanguinarin mit verschiedenen Neurorezeptoren, wobei eine hohe Affinität (IC<sub>50</sub> = 2,4 µmol/l) zum muscarinerg-cholinergen Rezeptor (mAChR) besteht und auch die Interaktion (IC<sub>50</sub> = 91,7 µmol/l) mit einem Serotonin-Rezeptor (5-HT<sub>2</sub>) beschrieben ist (Schmeller et al., 1997). Dabei wirkt Sanguinarin am mAChR antagonistisch zu Acetylcholin (Ulrichová et al., 1983b). Dennoch induzierte Sanguinarin in Abhängigkeit von der Konzentration die Kontraktion von quergestreifter Muskulatur (Hu et al., 2000). Die Autoren schreiben diese Wirkung der Öffnung von Ca<sup>2+</sup>-Kanälen durch das Alkaloid bei niedrigen Konzentrationen (40 µmol/l) zu.

**Tabelle 7:** Hemmung verschiedener Enzyme durch Sanguinarin

Enzym	Gewebe	Spezies	IC <sub>50</sub> (µmol/l)	Quelle <sup>a</sup>
Cholinacetyltransferase	Gehirn	Rind	0,284	1
Alaninaminotransferase	Leber	Ratte	3,4	2
Proteinkinase A (cAK)	Leber	Ratte	6	3
Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> -ATPase	Myocard	Meerschweinchen	6,0-6,5	5
			47 (IC <sub>100</sub> )	14
	Gehirn	Meerschweinchen	100 (IC <sub>100</sub> )	10
	Darm	Ratte	1000 (IC <sub>41</sub> )	13
	Leber	Ratte	1000 (IC <sub>41</sub> )	13
Ca <sup>+</sup> -ATPase	Zwerchfell	Maus	80	9
Acetylcholinesterase		Zitteraal	11	1
	Gehirn	Ratte	35	8
Butyrylcholinesterase	Serum	Pferd	17,4	1
	Serum	Mensch	24	6
Monoaminoxidase	Gehirn	Maus	24,5	7
Elastase	Bronchialsekret	Mensch	6	4
	Pankreas	Schwein	16	4
Proteinkinase C	Gehirn	Ratte	217	3
aromatische L-Aminosäuren-	Leber	Ratte	1000 (IC <sub>99</sub> )	11
Decarboxylase				
Glutamatdecarboxylase	Gehirn	Ratte	1000	12

<sup>a</sup>1 = Schmeller et al. (1997); 2 = Walterová et al. (1981); 3 = Wang et al. (1997); 4 = Tanaka et al. (1993); 5 = Seifen et al. (1979); 6 = Ulrichová et al. (1983a); 7 = Lee et al. (2001); 8 = Ulrichová et al. (1983b); 9 = Hu et al. (2000); 10 = Cohen et al. (1978); 11 = Dršata et al. (1996); 12 = Netopilová et al. (1996); 13 = Tandon et al. (1993b); 14 = Cala et al. (1982)

Die antimikrobiellen Eigenschaften von Sanguinarin sind insbesondere im Zusammenhang mit dem Einsatz in der Stomatologie untersucht worden. Das Alkaloid hemmt bei einer Konzentration von 16 µg/ml (48 nmol/ml) eine Vielzahl von aus Zahn-Plaques isolierten Mikroorganismen (Dzink & Socransky, 1985). Zu ähnlichen Ergebnissen kamen Eisenberg et al. (1991), die den antimikrobiellen Effekt von Sanguinarin auf orale Mikroorganismen (Streptokokken und *Actinomyces*-Spezies) untersuchten und bei einem pH-Wert von 6,5 minimale Hemmkonzentrationen von 4-8 µg/ml beobachteten. Newton et al. (2002) untersuchten den Einfluss von Sanguinarin auf Mycobakterien (*M. aurum*, *M. smegmatis*) und fanden einen IC<sub>50</sub>-Wert von 9,6 µg/ml bzw. 41,2 µg/ml.

Neben den bereits dargestellten Effekten zeigten verschiedene Studien den Einfluss von Sanguinarin auf Faktoren, die mit entzündlichen und kanzerogenen Prozessen in Verbindung gebracht werden. Agarwal et al. (1991) untersuchten den Einfluss von Sanguinarin auf



neutrophile Granulozyten und beobachteten, dass Sanguinarin (1,6 - 200  $\mu\text{mol/l}$ ) nicht zytotoxisch wirkte und die Chemotaxis und Phagozytose konzentrationsabhängig beeinflusste. Niedrige Konzentrationen steigerten dabei die Aktivität der Leukozyten, während hohe Konzentrationen einen stark hemmenden Effekt hatten. Sanguinarin wirkt inhibitorisch ( $\text{IC}_{50} = 3 \mu\text{mol/l}$ ) auf die Aktivierung des redoxsensitiven Transkriptionsfaktors Nuclear-Factor-Kappa-B (NF- $\kappa$ B) (Chaturvedi et al., 1997). NF- $\kappa$ B reguliert die Expression verschiedener Gene, die bei Prozessen wie Apoptose, Zellproliferation und Entzündung von Bedeutung sind (Chaturvedi et al., 1997). Auf entzündungshemmende Effekte von Sanguinarin verweisen auch Lenfeld et al. (1981) und Tanaka et al. (1993). Sanguinarin (1, 2 bzw. 5  $\mu\text{mol/l}$ ) induzierte selektiv die Apoptose von Krebszellen (Ahmad et al., 2000) und wird in diesem Zusammenhang als mögliche Substanz im Rahmen der Krebstherapie diskutiert (Ahmad et al., 2000). Im Gegensatz dazu wirkten in einer anderen Studie bereits geringe Sanguinarinkonzentrationen ( $\text{IC}_{50} = 0,9 - 3,3 \mu\text{mol/l}$ ) nichtselektiv zytotoxisch, d.h. sowohl auf gesunde Zellen als auch auf Krebszellen.

Sanguinarin bindet an die DNA (Maiti & Nandi, 1987; Schmeller et al., 1997), insbesondere an Guanin- und Cytosin-Basen reiche Regionen (Nandi & Maiti, 1985). Die Bindung erfolgt dabei durch Interkalation, einem Prozess bei dem sich planare aromatische Ringe zwischen die DNA-Basenpaare lagern (Sen et al., 1996).

## 2.5. Toxizität und adverse Effekte von Sanguinarin

Einen umfassenden Überblick zur akuten und chronischen Toxizität von Sanguinarin und *Sanguinaria canadensis*-Extrakten geben Schwartz (1986) und Walterová et al. (1995).

Tabelle 8 zeigt exemplarisch die Ergebnisse zweier Studien zur akuten Toxizität von Sanguinarin. Die wesentlich höhere orale  $\text{LD}_{50}$  (Dosis, bei der 50 % der Versuchstiere sterben) im Vergleich zur entsprechenden Dosis nach intravenöser Applikation weist auf eine geringe systemische Verfügbarkeit des Alkaloids nach oraler Aufnahme hin.

**Tabelle 8:** Untersuchungen zur akuten Toxizität von Sanguinarin bzw. *Sanguinaria canadensis*-Extrakten

Versuchstier	Applikationsweg		LD <sub>50</sub> <sup>a</sup> (mg/kg LM)	Quelle
Maus	i.v. <sup>b</sup>	Sanguinarinchlorid	15,9	Lenfeld et al., 1981
	s.c. <sup>c</sup>	Sanguinarinchlorid	102,5	
Ratte	i.v.	Sanguinarinchlorid	29	Becci et al., 1987
	oral	Sanguinarinchlorid	1658	
	oral	Sanguinaria-Extrakt A	1440	
	oral	Sanguinaria-Extrakt B	1250	
Kaninchen	dermal	Sanguinaria-Extrakt B	> 200	

<sup>a</sup>letale Dosis = Dosis, bei der 50 % der Versuchstiere sterben

<sup>b</sup>intravenös

<sup>c</sup>subcutan

Im Zusammenhang mit dem Einsatz von Sanguinaria-Extrakten in der Stomatologie bzw. von Sangrovit<sup>®</sup> in der Tierernährung sind Untersuchungen zur chronischen Toxizität des Alkaloids von besonderer Bedeutung. Kosina et al. (2004) untersuchten den Einsatz eines Sanguinarin- und Chelerythrin-Gemisches (ca. 60 % Sanguinarin und 30 % Chelerythrin) mit einer Dosierung von 2 bzw. 100 ppm im Futter (0,1 und 5 mg/kg LM) an Schweinen über einen Zeitraum von 90 Tagen und beobachteten keine toxischen Erscheinungen. In einer anderen Studie wurde Ratten über 14 Tage 0, 15, 45 bzw. 150 ppm Sanguinarin im Futter verabreicht (Becci et al., 1987). Alle Tiere überlebten die zweiwöchige Versuchsperiode. Die männlichen Tiere der 45- und 100-ppm-Gruppe wiesen ein höheres Lebergewicht auf, ohne dass histologische Veränderungen beobachtet wurden. Auch die täglichen Zunahmen zwischen den Sanguinarin supplementierten Gruppen und der Kontroll-Gruppe waren statistisch nicht verschieden.

In einigen Studien wurde bei einer hohen Sanguinarin-Dosis (10 mg/kg LM/Tag, i.p.) eine leberschädigende Wirkung beobachtet (Dalvi, 1985; Ulrichová et al., 1996; Williams et al., 2000). Dabei scheint eine Verringerung des Gluthation-Gehaltes in den Hepatozyten von Bedeutung für diese Effekte zu sein (Ulrichová et al., 1996; Williams et al., 2000). Wurden jedoch geringere Sanguinarin-Mengen appliziert (0,2 mg/kg LM/Tag, i.p.) konnten selbst bei chronischer Gabe (14, 28, 42 bzw. 56 Tage) keine lebertoxischen Effekte festgestellt werden (Ulrichová et al., 1996).

## 2.6. Systemische Verfügbarkeit von Sanguinarin

Die angesprochenen biologischen Wirkungen von Sanguinarin wurden vor allem in *In vitro*-Studien gezeigt, dabei lagen die wirksamen Konzentrationen im mikromolaren Bereich. Damit *in vivo* ausreichend hohe Wirkstoffspiegel am Wirkort erreicht werden, ist die Frage der systemischen Verfügbarkeit des Alkaloids von Bedeutung.

Tandon et al. (1993a) untersuchten an Ratten die Sanguinarin-Verteilung und -Elimination nach einer einmaligen oralen Gabe (10 mg Sanguinarin/kg LM). Nach 96 Stunden waren ca. 14 % der initialen Sanguinarin-Menge über den Harn und ca. 20 % mit dem Kot ausgeschieden. In der Leber und im Gastrointestinaltrakt wurden ca. 30 bzw. 17 % wieder-gefunden. Auch nach 96 Stunden konnten im Serum geringe (ca. 1 %) Sanguinarin-Mengen nachgewiesen werden. Im Gegensatz dazu zeigte eine Studie mit <sup>14</sup>C-markiertem Sanguinarin, dass ca. 75 % des oral verabreichten Sanguinarins mit dem Kot ausgeschieden wurde und nur geringe Mengen in den Geweben nachzuweisen waren (Walterová et al., 1995). Zu diesem Ergebnis kommen auch Kosina et al. (2004), die ebenfalls darauf hinweisen, dass Sanguinarin nur in geringem Ausmaß absorbiert wird. Jedoch wies auch diese Arbeitsgruppe Sanguinarin in verschiedenen Geweben (Dünndarm, Leber) nach. Darüber hinaus deuten auch die LD<sub>50</sub>-Werte nach oraler bzw. intravenöser Applikation auf eine geringe systemische Verfügbarkeit von Sanguinarin hin. Für die systemische Verfügbarkeit und das Exkretionsverhalten von Substanzen ist auch die Bindung an Serum-Proteine von Bedeutung. Paulová & Slavík (1993) untersuchten die Interaktion von Sanguinarin und humanem Serum-Albumin (HSA) und zeigten, dass mit steigendem pH-Wert die Affinität von Sanguinarin zum HSA zunahm. Dies wurde mit dem Übergang des Sanguinarin-Moleküls von der quartären Iminium-Form in die ungeladene Pseudobase in leicht alkalischem Milieu begründet (Abbildung 3).

Für die Ausscheidung bzw. Biotransformation von Sanguinarin scheinen Cytochrom-P450-Oxidoreduktasen von Bedeutung zu sein (Williams et al., 2000). Hakim et al. (1961) und Tandon et al. (1993a) postulierten die Metabolisierung von Sanguinarin zu Benzacridin, da sie Benzacridin in Urin und Kot nachweisen konnten. Neuere Untersuchungen bestätigten dies jedoch nicht (Walterová et al., 1995). Tandon et al. (1993a) fanden Dihydrosanguinarin in verschiedenen Geweben, wobei die Autoren davon ausgingen, dass die Reduktion bereits im Gastrointestinaltrakt durch Mikroorganismen erfolgte.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die in der Literatur beschriebenen Sanguinarin-Wirkungen sehr komplex und z.T. gegensätzlich sind. Dabei liegen die wirksamen Konzentrationen meist im mikromolaren Bereich. Verschiedene Studien haben gezeigt, dass das Alkaloid aus dem Gastrointestinaltrakt absorbiert wird, wobei die bisherigen Ergebnisse jedoch auf eine geringe systemische Verfügbarkeit hindeuten. Im Zusammenhang damit weisen die Daten zur Toxizität darauf hin, dass bei praxisüblichen Sangrovit®-Dosierungen ein großer Sicherheitsbereich besteht.

## **KAPITEL 2**

# **EINFLUSS EINER SANGROVIT<sup>®</sup>-SUPPLEMENTIERUNG WÄHREND DER LAKTATION AUF DIE LEISTUNG VON SAUEN UND Ferkeln UNTER PRAXISBEDINGUNGEN**

## 1. Einleitung

Während der letzten Jahrzehnte haben Verbesserungen im Bereich Züchtung, Haltung und Management kontinuierlich zu steigenden Leistungen in der Ferkelproduktion geführt. Neben einem optimierten Haltungs- und Hygienemanagement hat auch die Fütterung der Sauen einen entscheidenden Einfluss darauf, dieses Leistungspotenzial zu nutzen. Im Vordergrund steht dabei, die Sauen während der gesamten Nutzungsdauer in einer guten Kondition zu halten. Insbesondere in der Laktation reicht die Futteraufnahme jedoch häufig nicht aus, um den Energie- und Nährstoffbedarf der Tiere zu decken. Die damit verbundenen hohen Gewichtsverluste führen zu einer verringerten Reproduktionsleistung im folgenden Zyklus. Der Einsatz von Futterzusatzstoffen, die die Futteraufnahme positiv beeinflussen, könnte dazu beitragen, diese Gewichtsverluste zu reduzieren. Darauf basierend lässt die häufig postulierte Stimulierung der Futteraufnahme durch pflanzliche Futterzusatzstoffe (Gollnisch et al., 2001a) deren Einsatz in der Ernährung laktierender Sauen sinnvoll erscheinen. Sangrovit®, ein Zusatzstoff aus den Rhizomen der Pflanze *Sanguinaria canadensis*, soll appetitanregend wirken und durch eine gesteigerte Sekretion von Magen- und Pankreassaft sowie Gallenflüssigkeit die Verdauung stimulieren (Przybilla & Weiß, 1998).

Im Rahmen des durchgeführten Versuches sollte der mögliche Effekt einer Sangrovit®-Supplementierung (30 ppm; 50 ppm) auf die Futteraufnahme und Lebendmasseentwicklung von Sauen während der Laktation unter den praktischen Bedingungen eines Ferkelerzeugerbetriebes untersucht werden. Zusätzlich wurde als indirektes Merkmal für die Milchleistung der Sau die Wurfleistung (Ferkelanzahl, Wurfmasse) in der Laktation erfasst.

## 2. Material und Methoden

### 2.1. Tiere und Haltung

Die vorliegende Untersuchung wurde im Zeitraum Februar 2001 bis Mai 2001 in einem Ferkelerzeugerbetrieb in Mecklenburg-Vorpommern unter Berücksichtigung des betriebsüblichen Tiermanagements durchgeführt. Der Betrieb hält 500 Sauen und arbeitet nach dem 7-Tage-Rhythmus. Für den Versuch wurden insgesamt 105 Sauen (71 Kreuzungssauen [Leicoma x Deutsches Edelschwein] und 34 Leicoma-Sauen) zwischen der ersten und neunten Parität ( $3,6 \pm 0,2$ ), die in sechs aufeinander folgenden Gruppen (10 - 27 Tieren/Gruppe) abferkelten, genutzt.

### 2.2. Diäten und Fütterung

Eine praxisübliche Getreide-Soja Ration mit 13,8 MJ ME und 17,5 % XP (Getreide AG, Rendsburg) diente als Kontrollfutter (K). Die Zusammensetzung sowie die ausgewiesenen Energie- und Rohnährstoffgehalte dieser Ration sind Tabelle 9 zu entnehmen.

Die zwei Versuchsdiäten wurden durch die Supplementierung des Kontrollfutters (K) mit 30 (S30) bzw. 50 (S50) ppm Sangrovit® (Phytobiotics Futterzusatzstoffe GmbH, Eltville) hergestellt. In Tabelle 10 sind die Ergebnisse der durchgeführten Energie-, Rohnährstoff- und Aminosäuren-Analysen der drei Futtermischungen dargestellt.

**Tabelle 9:** Zusammensetzung sowie deklarierter Energie- und Rohnährstoffgehalt der Kontrollration (K)

<i>Komponenten</i>	<i>g/kg FM</i>
Weizen	420,0
Triticale	170,0
Soja HP	170,0
Weizenkleie	87,0
Gerste	80,0
Melasse	30,0
Pflanzliches Mischfett	20,0
Vitamin- und Mineralstoff-Vormischung	20,0
Acidomix AFP <sup>a</sup>	3,0
<hr/>	
<i>Rohnährstoffe</i>	<i>g/kg FM</i>
Trockenmasse	850,0
Rohprotein	175,0
Rohfett	55,0
Rohfaser	56,0
Energiegehalt (MJ ME/kg)	13,8

<sup>a</sup>Mischung aus 25 % Ameisen-, 25 % Fumar-, 21 % Orthophosphorsäure

**Tabelle 10:** Chemische Zusammensetzung (g/kg TM) und Energiegehalte (MJ/kg TM) der Versuchsrationen

Ration	K	S30	S50
Sangrovit®-Zulage (ppm)	0	30	50
Trockenmasse	881,6	874,4	880,4
Rohprotein	190,6	191,8	193,9
Rohasche	66,4	60,8	62,2
Rohfett	29,7	24,8	21,9
Rohfaser	30,3	31,0	32,4
<i>Aminosäuren</i>			
Lysin	8,8	9,0	9,4
Methionin	2,1	2,1	2,1
Cystin	3,0	2,9	2,9
Threonin	5,9	5,9	6,1
Bruttoenergie	18,8	18,8	18,7



Zwischen dem 108. und 112. Trächtigkeitstag (TT) erhielten alle Sauen die Kontrollration (K) über eine automatische Rohrkettenfütterung (2,6 kg/d). Beginnend am 112. TT wurden die Sauen zweimal täglich (2,6 kg/d) mit der entsprechenden Versuchsration (K, S30 bzw. S50) von Hand gefüttert. In Anlehnung an das Betriebsmanagement erhielten die Sauen am Abferkeltag kein Futter. Post partum erfolgte die Fütterung dreimal täglich (07:00, 12:00 und 17:00 Uhr) von Hand. Während der ersten vier Laktationstage wurden die Sauen restriktiv gefüttert, wobei die Futtermenge von 3 auf 5 kg/d gesteigert wurde. Anschließend wurde das Futter so zugeteilt, dass nahezu eine *Ad libitum*-Futteraufnahme erreicht wurde. Dazu erfolgte vor jeder Fütterung eine Abschätzung der Futterreste, auf deren Basis über die zu verabreichende Futtermenge entschieden wurde. Ziel dieser Vorgehensweise war die Simulation einer freien Futteraufnahme bei gleichzeitiger Vermeidung von Futterresten, da eine Rücksammlung dieser nicht möglich war. Beginnend mit dem 11. Tag der Säugeperiode erhielten die Ferkel Beifutter. Sauen und Ferkel hatten über Nippeltränken freien Zugang zu Wasser. Die Sauen erhielten im Geburtszeitraum zusätzlich Wasser in den Trog.

### 2.3. Versuchsdurchführung und Datenerhebung

Am 108. TT wurden die graviden Sauen in den Abferkelbereich umgestallt und so auf die drei Behandlungsgruppen aufgeteilt, dass eine annähernd gleiche Wurfnummern- und Rasenverteilung gegeben war. Die Sauen innerhalb einer Abferkelgruppe (AG) ferkelten im Zeitraum von drei Tagen ab, da bei Tieren, die bis zum 116. TT keine Geburtsanzeichen zeigten, eine Geburtsinduktion mittels Iliren® (PGF2 $\alpha$ -Derivat) erfolgte. Unabhängig von der Behandlung erfolgte innerhalb von 24 h post partum der Wurfausgleich. Die Ferkel wurden praxisüblich nach drei Wochen abgesetzt. Im Rahmen dieser Arbeit ist der Laktationszeitraum als Zeit zwischen dem Wurfausgleich (Tag 1) und dem Absetzen (Tag 20) definiert. Die durchschnittliche Laktationsdauer betrug  $19,9 \pm 1,1$  Tage.

Zur Beurteilung der Abferkelleistung wurden die Zahl der lebend und tot geborenen Ferkel sowie das Wurfgewicht erfasst. Als lebend geborene Ferkel galten Tiere, die 12 Stunden nach der Geburt noch lebten. Während der Laktation fand die Erhebung der Ferkelzahl je Wurf und des Wurfgewichtes nach dem Wurfausgleich (Tag 1), zu Beginn der Beifütterung (Tag 11) und beim Absetzen (Tag 20) statt. Ferkel, die während der Säugeperiode verendeten, wurden einzeln gewogen und mit dem Abgangsdatum registriert. Die Lebendmasse

(LM) der Sauen wurde am 108. TT und nach dem Absetzen erfasst. Die Rückenspeckdicke (RSD) der Sauen wurde mittels Ultraschall (Lean-meater, Renco Corp., Minneapolis, USA) an der P2-Position (65 mm von der Mittellinie auf Höhe der letzten Rippe) am 108. TT sowie post partum an Tag 1, 11 und 20 gemessen. Der Futterverbrauch (Futteraufnahme plus Verlust) wurde für jede Sau in der Zeit vom Wurfausgleich bis zum Absetzen erfasst.

#### 2.4. Analytische Methoden

Die monatlich entnommenen Futterproben wurden gepoolt und bis zur Analyse des Energie-, Roh Nährstoff-, Aminosäuren- sowie Alkaloidgehaltes bei -20 °C gelagert. Die TM-Bestimmung und Roh Nährstoffanalyse erfolgte nach den VDLUFA-Methoden (Naumann & Basler, 1976). Die Analyse der Aminosäuren-Gehalte in den Futtermischungen wurde durch das Labor der Firma Lohmann-LTE-GmbH (Cuxhaven) mit den von Llamas & Fontaine (1994) und Fontaine et al. (1998) beschriebenen Methoden durchgeführt. Zusätzlich erfolgte in allen drei Rationen die Analyse des Sanguinarin- und Chelerythrin-Gehaltes (vgl. Kapitel 4).

#### 2.5. Statistische Auswertung

Soweit nicht anders erwähnt, sind die Daten als LSmeans mit Standardfehlern (LSmeans  $\pm$  SE) präsentiert.

Für die statistische Auswertung der Daten wurden Paritätsklassen (PK) gebildet: PK1 = Parität 1, PK2 = Parität 2, PK3 = Parität 3 bis 6; PK4 = Parität 7 bis 9. Die Anzahl der Sauen in den PK in Abhängigkeit von der Behandlung ist in Tabelle 11 dargestellt.

**Tabelle 11:** Anzahl der Sauen in den Paritätsklassen (PK)

PK	Parität	Behandlung <sup>a</sup>			Anzahl Gesamt
		K	S30	S50	
1	1	7	7	7	21
2	2	7	7	7	21
3	3-6	16	16	16	48
4	7-9	5	6	4	15
Summe		35	36	34	105

<sup>a</sup>Behandlung mit K = 0 ppm (Kontrolle), S30 = 30 ppm, S50 = 50 ppm Sangrovit®

Die statistische Bearbeitung der Daten erfolgte mit dem Programm SAS WIN 8.1 (SAS Inst. Inc., Cary, NC). Dabei wurden die Daten mit Ausnahme des Merkmals Futtermittelverbrauch unter Verwendung der Prozedur „General linear Models Procedure“ (proc glm) ausgewertet. Dafür wurden die Parameter Behandlung (B), Abferkelgruppe (AG), PK und Rasse als Haupteffekte sowie B x AG und B x PK als Interaktionseffekte in den Modellen berücksichtigt. Die Wurfgröße und Laktationslänge wurden für alle Kriterien als Kovariablen genutzt. Weiterhin wurden die Merkmale RSD und LM als Kovariable für die Veränderung der RSD und LM während der Laktation verwendet. Für die Analyse der Wurfgröße an Tag 11 und 20 wurde das Ferkelgewicht aus der Wurfgröße und der Wurfmasse berechnet und als Kovariable genutzt. Die statistische Auswertung des Futtermittelverbrauches erfolgte mittels eines Repeated-Measurements-Modells mit der Prozedur „General mixed Models Procedure“ (proc mixed). Dabei wurde eine Kovarianz-Matrix (ARH) verwendet, die eine Abnahme der Korrelation zwischen den Messpunkten mit zunehmendem Abstand derselben unterstellt. In diesem Modell wurden die B, AG, PK, Rasse und der Laktationstag als Haupteffekte sowie B x AG und B x PK als Interaktionseffekte berücksichtigt.

### 3. Ergebnisse

#### 3.1. Futteraufnahme sowie Veränderung von Lebendmasse und Rückenspeckdicke

Die durchschnittliche Wurfnummer in den drei Behandlungsgruppen K, S30 bzw. S50 betrug  $3,6 \pm 0,4$ ,  $3,6 \pm 0,4$  bzw.  $3,5 \pm 0,4$  (MW  $\pm$  SE). Der Futterverbrauch sowie die Veränderung von Lebendmasse und Rückenspeckdicke während der Laktation sind in Tabelle 12 zusammengefasst.

**Tabelle 12:** Einfluss einer Sangrovit®-Supplementierung auf den Futterverbrauch und die Veränderung von Lebendmasse und Rückenspeckdicke während der Laktation<sup>a</sup>

	Behandlung <sup>b</sup>			p <sup>c</sup>		
	K	S30	S50	B	PK	B x PK
<i>Futterverbrauch (kg/d)</i>						
Tag 1 bis 10	5,7 $\pm$ 0,1	5,6 $\pm$ 0,1	5,6 $\pm$ 0,1	0,20	0,001	0,01
Tag 11 bis 20	8,4 $\pm$ 0,2	8,3 $\pm$ 0,2	8,2 $\pm$ 0,3	0,80	0,001	0,40
Tag 1 bis 20	7,1 $\pm$ 0,1	7,0 $\pm$ 0,1	7,0 $\pm$ 0,1	0,42	0,001	0,11
<i>Lebendmasse (kg)</i>						
Tag 0 <sup>d</sup>	242 $\pm$ 5	239 $\pm$ 6	241 $\pm$ 6	0,92	0,001	0,94
Veränderung <sup>e</sup>	-2,0 $\pm$ 2,6	-3,4 $\pm$ 2,8	-2,3 $\pm$ 3,2	0,99	0,01	0,99
<i>Rückenspeckdicke (mm)</i>						
Tag 0	22,1 $\pm$ 0,9	22,7 $\pm$ 0,9	22,8 $\pm$ 1,0	0,85	0,01	0,81
Veränderung <sup>e</sup>	-1,7 $\pm$ 0,4	-1,3 $\pm$ 0,4	-1,1 $\pm$ 0,5	0,61	0,11	0,70

<sup>a</sup>LSmeans  $\pm$  SE, n = 35 (K), n = 36 (S30), n = 34 (S50)

<sup>b</sup>Behandlung mit K = 0 ppm (Kontrolle), S30 = 30 ppm, S50 = 50 ppm Sangrovit®

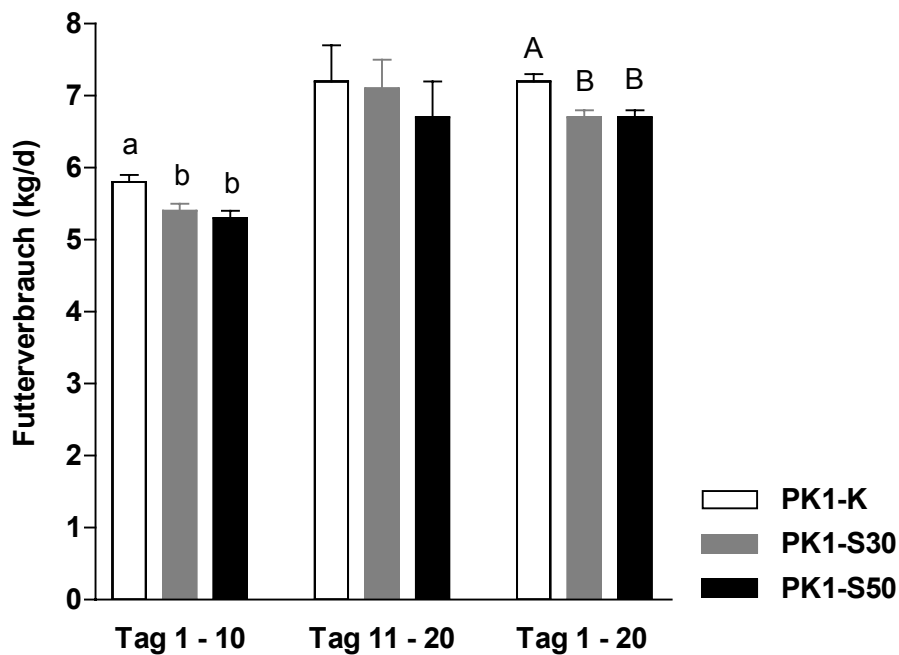
<sup>c</sup>B = Behandlung, PK = Paritätsklasse, B x PK = Behandlung x Paritätsklasse Interaktion

<sup>d</sup>LM Tag 0 = LM 108. TT – Wurfmasse gesamt geborene Ferkel

<sup>e</sup>negatives Vorzeichen = Verlust

Es konnten keine signifikanten, behandlungsabhängigen Unterschiede im Futterverbrauch, der im Durchschnitt über die gesamte Laktationsperiode 7,0 kg/d betrug, festgestellt werden (Tabelle 12). Jedoch wurde im ersten Laktationsabschnitt (Tag 1-10) ein signifikanter Einfluss der PK ( $p < 0,001$ ) sowie der Interaktion B x PK ( $p < 0,01$ ) auf dieses Merkmal beo-

bachtet. Die Ergebnisse der weitergehenden Analyse des letztgenannten Effektes sind in Abbildung 4 dargestellt. Bei Sauen der PK1 (primipare Sauen) führte die Supplementierung von 30 bzw. 50 ppm Sangrovit® in der ersten Laktationshälfte (Tag 1-10) zu einer signifikanten Reduktion des Futtermittelsverbrauches ( $p < 0,001$ ) im Vergleich zur Kontroll-Gruppe (PK1-K). In der zweiten Laktationshälfte (Tag 11-20) wurde dagegen kein signifikanter Unterschied für dieses Merkmal beobachtet ( $p > 0,05$ ). Jedoch war auch während der gesamten Laktation (Tag 1-20) ein reduzierter Futtermittelsverbrauch bei primiparen S30- und S50-Sauen im Vergleich zu den entsprechenden K-Sauen zu beobachten ( $p < 0,01$ ) (Abbildung 4). In allen anderen PK wurde kein Effekt der Behandlung auf den Futtermittelsverbrauch beobachtet.



**Abbildung 4:** Einfluss einer Sangrovit®-Supplementierung auf den Futtermittelsverbrauch von primiparen Sauen (PK1) während der Laktation

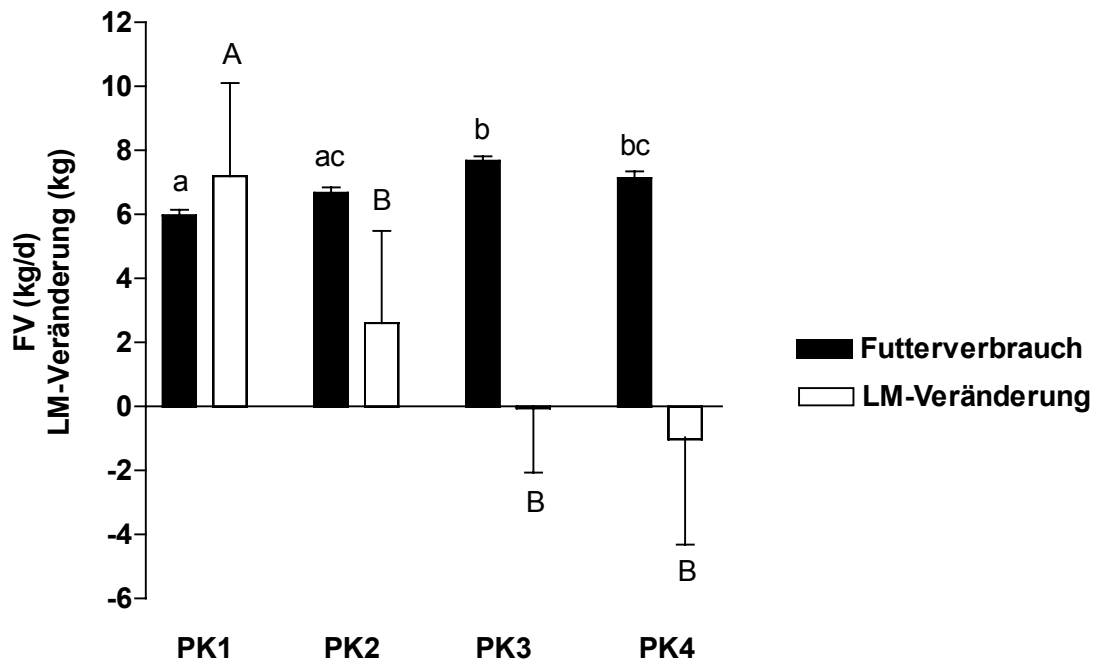
LSmeans  $\pm$  SE; n = 7

Behandlung mit K = 0 ppm (Kontrolle), S30 = 30 ppm, S50 = 50 ppm Sangrovit®

<sup>a,b/A,B</sup>LSmeans mit unterschiedlichen Buchstaben innerhalb eines Zeitraumes unterscheiden sich signifikant ( $p < 0,001$  /  $p < 0,01$ )

Erwartungsgemäß hatte die PK einen hoch signifikanten Einfluss ( $p < 0,001$ ) auf das Merkmal Futtermittelsverbrauch (Tabelle 12). Über die gesamte Laktation betrug der durchschnittliche

Futtermittelverbrauch für Sauen der PK 1, 2, 3 bzw. 4 über alle Behandlungsgruppen gemittelt  $5,9 \pm 0,2$ ;  $6,7 \pm 0,2$ ;  $7,6 \pm 0,2$  bzw.  $7,4 \pm 0,2$  kg/d (MW  $\pm$  SE) (Abbildung 5).



**Abbildung 5:** Einfluss der Paritätsklasse (PK) auf den Futtermittelverbrauch (FV) und die Lebendmasse-Veränderung während der Laktation

Mittelwerte mit Standardfehlern; n = 21 (PK1), n = 21 (PK2), n = 48 (PK3), n = 15 (PK4), Paritätsklasse: PK1 = Parität 1, PK2 = Parität 2, PK3 = Parität 3-6, PK4 = Parität 7-9  
<sup>a,b/A,B</sup>Mittelwerte mit unterschiedlichen Buchstaben innerhalb eines Parameters unterscheiden sich signifikant (p < 0,05)

Die durchschnittliche LM bzw. RSD am Laktationsbeginn (Tag 1) betrug  $242,3 \pm 3,5$  kg bzw.  $21,8 \pm 0,5$  mm (MW  $\pm$  SE) und unterschied sich jeweils nicht signifikant zwischen den Behandlungsgruppen (p > 0,05) (Tabelle 12). Der hohe Futtermittelverbrauch während der Laktation spiegelt sich in den nur geringen Verlusten von LM ( $2,7 \pm 1,3$  kg; MW  $\pm$  SE) und RSD ( $1,6 \pm 0,2$  mm; MW  $\pm$  SE), die sowohl durch die Behandlung als auch die Interaktion B x PK nicht signifikant beeinflusst wurden (p < 0,05) (Tabelle 12), wieder. Im Gegensatz zur RSD war jedoch die Veränderung der LM zwischen den PK signifikant verschieden. Infolge des geringen Futtermittelverbrauches in PK1 und 2 verloren diese Sauen  $7,2 \pm 2,9$  bzw.  $2,6 \pm 2,9$  kg LM (MW  $\pm$  SE), während Sauen in PK3 und 4 nur marginale Gewichtsveränderungen zeigten (Abbildung 5).

## 3.2. Wurfleistung

Die Abferkelleistungen (Zahl der lebend sowie tot geborenen Ferkel; Wurfgewicht) unterschieden sich zwischen den Behandlungen nicht signifikant (Daten nicht gezeigt). Die Wurfgröße und -masse nach dem Wurfausgleich sind Tabelle 13 zu entnehmen. Als Folge des Wurfausgleiches war das Wurfgewicht in der Gruppe S50 nach dem Wurfausgleich (Tag 1) etwas kleiner als in den beiden anderen Behandlungs-Gruppen (Tabelle 13). Dies wurde jedoch bei der statistischen Auswertung der Daten berücksichtigt. Die Wurfleistungen während der Laktation sind ebenfalls in Tabelle 13 zusammengefasst. Alle dargestellten Parameter waren durch die Sangrovit®-Supplementierung nicht signifikant beeinflusst ( $p > 0,05$ ). Jedoch zeigten sowohl die Überlebensrate der Ferkel als auch die Zunahme der Wurfmasse in der S30-Gruppe zum Teil tendenziell höhere Werte als in der K- und S50-Gruppe ( $p > 0,05$ ).

**Tabelle 13:** Einfluss einer Sangrovit®-Supplementierung auf die Wurfleistung während der Laktation<sup>a</sup>

	Behandlung <sup>b</sup>			p <sup>c</sup>		
	K	S30	S50	B	PK	B x PK
<i>Ferkelanzahl je Wurf</i>						
Tag 1	10,3 ± 0,2	10,3 ± 0,2	10,4 ± 0,3	0,93	0,43	0,38
Tag 11	9,5 ± 0,2	10,0 ± 0,2	9,4 ± 0,3	0,19	0,07	0,36
Tag 20	9,5 ± 0,2	9,8 ± 0,2	9,4 ± 0,3	0,42	0,12	0,29
Überlebensrate (%) <sup>d</sup>	92,2 ± 1,6	95,3 ± 1,6	91,5 ± 2,0	0,25	0,63	0,18
<i>Wurfgewicht (kg)</i>						
Tag 1	16,2 ± 0,6 <sup>e,f</sup>	16,9 ± 0,6 <sup>e</sup>	14,9 ± 0,7 <sup>f</sup>	0,07	0,04	0,68
Tag 11	38,1 ± 1,0	38,8 ± 1,0	36,7 ± 1,2	0,37	0,02	0,16
Tag 20	60,5 ± 1,3	62,7 ± 1,4	60,9 ± 1,6	0,44	0,02	0,56
<i>Zunahme Wurfgewicht (kg)</i>						
Tag 1 bis 10	21,4 ± 0,7	22,5 ± 0,7	21,6 ± 0,8	0,57	0,01	0,07
Tag 11 bis 20	22,8 ± 0,7	23,7 ± 0,7	24,6 ± 0,9	0,26	0,36	0,58
Tag 1 bis 20	44,0 ± 1,1	46,4 ± 1,2	45,9 ± 1,4	0,29	0,01	0,36

<sup>a</sup>LSmeans ± SE; n = 35 (K), n = 36 (S30), n = 34 (S50)

<sup>b</sup>Behandlung mit K = 0 ppm (Kontrolle), S30 = 30 ppm, S50 = 50 ppm Sangrovit®

<sup>c</sup>B = Behandlung, PK = Paritätsklasse, B x PK = Behandlung x Paritätsklasse Interaktion

<sup>d</sup>Anzahl der Ferkel nach dem Absetzen / Anzahl der Ferkel nach dem Wurfausgleich; %

<sup>e,f</sup>LSmeans mit unterschiedlichen Buchstaben innerhalb einer Zeile unterscheiden sich signifikant ( $p < 0,05$ )

Vor Beginn der Ferkelbeifütterung (Tag 1-10) wurde für das Merkmal Zunahme Wurfgewicht ein tendenzieller Effekt der Interaktion B x PK beobachtet ( $p < 0,07$ ) (Tabelle 13). In diesem Zeitraum wiesen die Würfe von S30-Sauen der PK2 eine höhere Zunahme als die entsprechenden S50- und K-Würfe auf ( $p < 0,10$ ) (Tabelle 14). Wird die gesamte Säugeperiode betrachtet, zeigte sich ein ca. 6,0 kg höherer Wurfmassezuwachs bei den S30-Sauen der PK-2 im Vergleich zu den entsprechenden K-Würfen ( $p = 0,07$ ). Jedoch erreichte der Behandlungseffekt ( $p = 0,18$ ) nicht das Signifikanzniveau (Tabelle 14). Weiterhin wurde zwischen dem 1. und 10. Laktationstag eine höhere Gewichtszunahme der Würfe von S50-Sauen der PK3 im Vergleich zu den entsprechenden S30-Würfen ( $23,4 \pm 1,0$  bzw.  $20,5 \pm 1,0$ ;  $p < 0,05$ ) beobachtet, wobei ebenfalls nur ein tendenzieller Einfluss ( $p < 0,10$ ) der Behandlung beobachtet wurde. Unterschiede über den gesamten Laktationszeitraum ergaben sich in der PK3 jedoch nicht (Tabelle 14). Die PK hatte einen signifikanten Einfluss auf das Wurfwachstum ( $p < 0,01$ ). Während der gesamten Säugezeit nahmen die Würfe von den Sauen der PK1, 2, 3 bzw. 4  $44,8 \pm 1,4$ ;  $48,9 \pm 1,4$ ;  $46,4 \pm 0,9$  kg bzw.  $41,8 \pm 1,6$  kg Gewicht zu (LSmeans  $\pm$  SE).

**Tabelle 14:** Einfluss einer Sangrovit®-Supplementierung auf die Zunahme des Wurfgewichtes während der Laktation in Abhängigkeit von der Paritätsklasse (PK)<sup>a</sup>

	Behandlung <sup>b</sup>			p<
	K	S30	S50	
<i>Zunahme Wurfgewicht Tag 1 bis 10 (kg)</i>				
PK 1	19,6 $\pm$ 1,5	22,8 $\pm$ 1,6	21,0 $\pm$ 1,6	0,34
PK 2	22,9 $\pm$ 1,5 <sup>e</sup>	27,1 $\pm$ 1,6 <sup>f</sup>	23,0 $\pm$ 1,5 <sup>c</sup>	0,10
PK 3	22,3 $\pm$ 1,1 <sup>g,h</sup>	20,5 $\pm$ 1,0 <sup>g</sup>	23,4 $\pm$ 1,0 <sup>h</sup>	0,10
PK 4	20,9 $\pm$ 1,8	19,4 $\pm$ 1,6	18,8 $\pm$ 2,0	0,69
<i>Zunahme Wurfgewicht Tag 1 bis 20 (kg)</i>				
PK 1	41,8 $\pm$ 2,4	46,1 $\pm$ 2,4	46,3 $\pm$ 2,5	0,34
PK 2	46,2 $\pm$ 2,4 <sup>c</sup>	52,5 $\pm$ 2,5 <sup>f</sup>	48,0 $\pm$ 2,4 <sup>e,f</sup>	0,18
PK 3	47,4 $\pm$ 1,7	44,9 $\pm$ 1,5	46,9 $\pm$ 1,5	0,47
PK 4	40,6 $\pm$ 2,8	42,2 $\pm$ 2,5	42,5 $\pm$ 3,1	0,87

<sup>a</sup>LSmeans  $\pm$  SE

<sup>b</sup>Behandlung mit K = 0 ppm (Kontrolle), S30 = 30 ppm, S50 = 50 ppm Sangrovit®

<sup>c,f</sup>LSmeans mit unterschiedlichen Buchstaben innerhalb einer Zeile unterscheiden sich signifikant ( $p < 0,10$ )

<sup>g,h</sup>LSmeans mit unterschiedlichen Buchstaben innerhalb einer Zeile unterscheiden sich signifikant ( $p < 0,05$ )



#### 4. Diskussion

Obwohl statistisch nicht signifikant, wiesen Würfe von Sauen der PK2, die die S30-Ration erhielten im Vergleich zu den entsprechenden S50- und K-Würfe eine höhere Zunahme der Wurfmasse auf (Tabelle 14). Diese höhere Zunahme wurde insbesondere durch eine verbesserte Wachstumsleistung der Würfe vor Beginn der Beifütterung (Tag 1-10) verursacht, da für die zweite Laktationshälfte (Tag 11-20) keine Unterschiede in diesem Merkmal gefunden wurden. Diese Beobachtungen können weder durch eine gesteigerte Futteraufnahme noch durch eine höhere Mobilisierung von Körpersubstanz der PK2 S30-Sauen erklärt werden, denn sowohl der Futterverbrauch als auch die Veränderung von RSD und LM waren innerhalb der PK2 zwischen den Behandlungsgruppen nicht verschieden. Als theoretische Erklärung könnte eine gesteigerte Effizienz der Utilisierung von Nährstoffen für die Milchsynthese in der PK2 S30-Gruppe dienen. Allerdings gibt es dafür keine Hinweise in der Literatur und auch die Tatsache, dass diese Beobachtung bei den PK2 S50-Würfen nicht gemacht wurde, lässt diese Hypothese fragwürdig erscheinen.

In einer Untersuchung mit laktierenden Sauen, die Chlortetracyclin als Fütterungsantibiotikum erhielten, beobachteten Alexopoulos et al. (2003) höhere Absetzgewichte der Würfe von supplementierten Sauen im Vergleich zur Kontroll-Gruppe. Auch in diesem Versuch waren die Futteraufnahme und die Veränderung von RSD und LM durch die Behandlung nicht beeinflusst. Im Zusammenhang damit und aufgrund der beschriebenen antimikrobiellen Eigenschaften von Sanguinarin (Dzink & Socransky, 1985; Eisenberg et al., 1991; Newton et al., 2002) könnte vermutet werden, dass die beobachteten Behandlungsunterschiede im Zusammenhang mit diesen Effekten des Leitalkaloids zu sehen sind. Jedoch ist nicht offensichtlich, warum diese Effekte nur in der PK2 - und dort nur in der Dosierung mit 30 ppm Sangrovit® - beobachtet wurden.

Der in der vorliegenden Studie ermittelte Futterverbrauch der Sauen lag mit 7,0 kg/d wesentlich höher als in der Literatur für praktische Verhältnisse beschrieben. Dies zeigt aber sehr anschaulich die hohe Futteraufnahmekapazität laktierender Sauen, die auch in einer Untersuchung von Cooper et al. (2001) bestätigt wird. Bei der Beurteilung des erfassten Futterverbrauches muss allerdings beachtet werden, dass der Futterverbrauch neben der Futteraufnahme auch die Futterverluste beinhaltet, da es aufgrund der betrieblichen Voraussetzungen nicht möglich war, Futterreste gravimetrisch zu erfassen. Dies bedeutet, dass aufgetretene Futterverluste zu einer Überschätzung der Futteraufnahme geführt haben könnten. Beim vor-

liegenden Versuchsdesign kann jedoch davon ausgegangen werden, dass eine gute Annäherung an die *Ad libitum*-Futteraufnahme erreicht wurde. Im Gegensatz zu praxisüblichen automatischen Fütterungssystemen wurden die Sauen in diesem Versuch von Hand gefüttert. Die Erfassung der Restfuttermenge erfolgte dabei erst vor der nächstfolgenden Fütterung, sodass die Sauen, insbesondere auch langsam fressende Tiere, ausreichend Zeit hatten, große Futtermengen zu verzehren.

Als Konsequenz der hohen Futteraufnahme wurden nur geringe Veränderungen der RSD und LM, insbesondere in der PK3 und 4, beobachtet. Sauen der PK1 verloren ca. 7 kg LM während der Säugezeit. Dies ist mit dem geringeren Futtermittelverzehr bei primiparen Sauen zu erklären, der in Übereinstimmung mit Daten von Koketsu et al. (1996) ca. 14 % niedriger war als bei pluriparen Sauen. Jüngere Untersuchungen zeigen jedoch, dass auch erst- und zweitlaktierende Sauen bereits sehr hohe Futtermengen, die mit 6,9 bzw. 7,4 kg/d sogar über dem Niveau der vorliegenden Studie liegen, aufnehmen können (Cooper et al., 2001). Obwohl bei den primiparen S30- und S50-Sauen der Futtermittelverbrauch im Vergleich zu den Kontrolltieren signifikant reduziert war, konnten keine Unterschiede in den erhobenen Leistungsparametern (Zunahme der Wurfmasse, Verlust von RSD und LM) festgestellt werden. Ähnliches beobachteten auch Zak et al. (1997), die bei primiparen Sauen den Einfluss der Fütterungsintensität während der Laktation auf verschiedene Fertilitätsparameter nach dem Absetzen untersuchten. Sie konnten ebenfalls keine Unterschiede für das Wurfwachstum von *ad libitum* und restriktiv gefütterten Sauen feststellen. Hingegen verloren die restriktiv gefütterten Tiere mehr Gewicht und Rückenspeck während der Laktation als die *ad libitum* ernährten Sauen. Im Gegensatz zur vorliegenden Studie war der Unterschied in der Futteraufnahme zwischen den Gruppen jedoch wesentlich größer (1,9 kg/d vs. 4,0 kg/d; restriktiv vs. *ad libitum*) und insgesamt auf einem niedrigeren Niveau. Zurzeit ist eine befriedigende Erklärung für die Reduktion der Futteraufnahme bei primiparen Sangrovit® supplementierten Sauen nicht möglich, wobei aufgrund der geringen Konzentration des Zusatzstoffes (30 bzw. 50 ppm) und der Tatsache, dass das Produkt kaum flüchtige Substanzen (z.B. ätherische Öle) enthält, kann eine sensorische Beeinträchtigung der Rationen wahrscheinlich vernachlässigt werden.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die Supplementierung von 30 ppm Sangrovit® zu einer tendenziellen Verbesserung des Wurfwachstums bei Sauen in der zweiten Laktation führte, der Futtermittelverbrauch bei primiparen Sauen in beiden Dosierungsstufen jedoch verringert war. Die Ergebnisse der vorliegenden Studie sind, wie auch Resultate anderer Versuche

mit pflanzlichen Futterzusatzstoffen, inkonsistent, rechtfertigen jedoch weitere Untersuchungen insbesondere an erst- und zweitlaktierenden Sauen. Diese Versuche sollten mit einer größeren Anzahl von Tieren durchgeführt werden. Weiterhin wäre die Bearbeitung weiterführender Fragestellungen, z.B. Sanguinarin-Konzentration in der Milch oder Transfer von Sanguinarin in das Ferkel, interessant.



## **KAPITEL 3**

# **EINFLUSS EINER SANGROVIT<sup>®</sup>-SUPPLEMENTIERUNG AUF DIE N-BILANZ UND DIE FUTTERAUFNAHME BEIM WACHSENDEN SCHWEIN**

## 1. Einleitung

Im Zusammenhang mit dem abzusehenden Verbot der antibiotischen Leistungsförderer in der EU sind andere Gruppen von Zusatzstoffen in den Mittelpunkt des Interesses gerückt. Dazu gehören auch die pflanzlichen Futterzusatzstoffe. Diese sollen insbesondere einen positiven Einfluss auf die Futteraufnahme haben. Darüber hinaus werden eine Anregung der Speichel-, Magen-, Pankreas- und Darmsekretion sowie modulierende Effekte auf die intestinale Mikroflora postuliert (Tedesco, 2001; Kluth et al., 2002; Perdok et al., 2003). Auch für den Zusatzstoff Sangrovit®, der aus den Rhizomen der kanadischen Blutwurz *S. canadensis* hergestellt wird, werden diese Wirkungsmechanismen erwähnt (Przybilla & Weiß, 1998; Mellor, 2001). Dabei werden als wirksame Inhaltstoffe in Bezug auf leistungssteigernde Effekte Alkaloide, insbesondere Sanguinarin, angegeben (Mellor, 2001). *In vitro*-Untersuchungen zeigen die Hemmung von Enzymen des Aminosäurestoffwechsels, z. B. der aromatischen L-Aminosäuren-Decarboxylase (AAD), durch Sanguinarin (Walterová et al., 1981; Dršata et al., 1996). Dies soll zu einer gesteigerten Verfügbarkeit von Aminosäuren führen und sich damit sowohl fördernd auf den Proteinansatz als auch, über den Tryptophan-Serotonin-Stoffwechsel, positiv auf die Futteraufnahme auswirken (Mellor, 2001). Eine Erhöhung der Futteraufnahme bei steigenden Tryptophan-Gehalten in der Ration wurde in verschiedenen Studien gezeigt (Schutte & van Weerden, 1988; Burgoon et al., 1992; Eder et al., 2003).

Basierend auf diesen Ergebnissen sollte in zwei Versuchen der mögliche Effekt einer Sangrovit®-Supplementierung auf die N-Bilanz (Versuch I) und die Futteraufnahme (Versuch II) bei wachsenden Schweinen geprüft werden. Für den zweiten Versuch wurden dabei Rationen verwendet, die sich im Tryptophan-Gehalt unterschieden. Darüber hinaus wurden Blutproben genommen, um einen eventuellen Einfluss von Sangrovit® auf die Aminosäurekonzentration im Blut zu erfassen.

## 2. Material und Methoden

### 2.1. Tiere und Haltung

Die vorliegende Studie wurde am Institut für Tierernährung und Stoffwechselfysiologie der Universität Kiel mit 36 kastrierten Schweinen (PIC) durchgeführt. Davon wurden 12 Tiere im Versuch I (N-Bilanz) und 24 Tiere im Versuch II (Futteraufnahme) genutzt.

### 2.2. Versuchsdiäten

Für die Untersuchungen wurden vier Rationen hergestellt, die sich im Tryptophan-Gehalt (Mangel = TM, bedarfsdeckend = TB) und im Sangrovit®-Gehalt (0 ppm = S0, 30 ppm = S30) unterschieden. Die Basisdiät (TM-S0) bestand aus Mais, Gerste und Sojaextraktionschrot und enthielt bei einem Rohprotein- und Lysin-Gehalt von 180 bzw. 12 g/kg (6,7 g Lys/g 16 N) 1,7 g Tryptophan (Trp) je kg Futter. Die Diät wurde durch die Zulage synthetischer Aminosäuren (Lohmann Animal Health, Cuxhaven) entsprechend den Empfehlungen der GfE (1987) supplementiert. Allerdings wurde dies für die Aminosäure Threonin nicht erreicht (Tabelle 16). Die Zusammensetzung der Basisration ist Tabelle 15 zu entnehmen. Das errechnete Tryptophan:Lysin-Verhältnis (Trp:Lys-Verhältnis) dieser Ration betrug 0,140. Durch die Zulage von 0,7 g L-Trp je kg Futter wurde die den Trp-Bedarf deckende Ration (TB-S0), mit einer Trp-Konzentration von 2,4 g/kg, hergestellt. Das errechnete Trp:Lys-Verhältnis in dieser Ration betrug 0,200 und entsprach den Empfehlungen der GfE (1987). Beide Rationen wurden mit 30 ppm Sangrovit® (Phytobiotics Futterzusatzstoffe GmbH, Eltville) supplementiert, um die TM-S30- bzw. TB-S30-Ration zu erhalten.

In Tabelle 16 sind die Ergebnisse der durchgeführten Energie-, Rohnährstoff- und Aminosäuren-Analysen in den vier Futtermischungen dargestellt.

Im Versuch I kamen nur die den Trp-Bedarf deckenden Rationen (TB-S0, TB-S30) zum Einsatz, während im Versuch II alle vier Diäten verfüttert wurden.

**Tabelle 15:** Zusammensetzung der Basisration (TM-S0)

<i>Komponenten</i>	<i>g/kg FM</i>
Mais	550,0
Gerste	210,0
Sojaextraktionsschrot	110,0
Maiskleber	60,0
Fischmehl	40,0
Vitamin- und Mineralstoff-Vormischung <sup>a</sup>	30,0
Lysin-HCL (78 % L-Lysin)	2,9
Methion (99 % DL-Methionin)	0,7
Threonin (98,5 % L-Threonin)	1,8

<sup>a</sup>je kg: 251 g Calcium, 61 g Phosphor, 43 g Natrium, 5 g Magnesium, 40 g Lysin, 400000 I.E. Vitamin A, 40000 I.E. Vitamin D<sub>3</sub>, 2665 mg Vitamin E, 670 mg Kupfer, 10 000 mg Niacin (laut Angaben des Herstellers)

**Tabelle 16:** Chemische Zusammensetzung (g/kg TM) und Energiegehalte (MJ/kg TM) der Versuchsrationen

Ration <sup>a</sup>	TM-S0	TM-S30	TB-S0	TB-S30	
Trp-Zulage (g/kg)	0	0	0,7	0,7	
Sangrovit <sup>®</sup> -Zulage (ppm)	0	30	0	30	
Trockenmasse	886,3	888,4	889,4	886,4	
Rohprotein	206,8	206,0	203,3	204,8	
Rohasche	49,7	50,6	49,4	49,9	
Rohfett	22,3	25,1	22,3	19,5	
<hr/>					
<i>Aminosäuren (g/kg FM)<sup>b</sup></i>					Relative Menge, % <sup>c</sup>
Lysin	12,2	12,6	12,1	12,7	100
Methionin	4,2	4,3	4,1	4,2	34
Cystin	3,0	2,9	2,9	2,9	23
Threonin	7,3	7,1	6,9	7,0	57
Tryptophan	1,8	1,8	2,4	2,4	14,5/19,4 <sup>d</sup>
Bruttoenergie (MJ/kg TM)	19,0	18,9	18,9	19,0	

<sup>a</sup>TM = 1,7 g/kg bzw. TB = 2,4 g/kg Tryptophan und S0= 0 ppm bzw. S30 = 30 ppm Sangrovit<sup>®</sup>

<sup>b</sup>nach chemischer Analyse

<sup>c</sup>TM-/TB-Ration Lysin = 100%

<sup>d</sup>TM-/TB-Ration



## 2.3. Versuchsdurchführung

### 2.3.1. Versuch I (N-Bilanz)

Der Versuch wurde mit 12 kastrierten Schweinen, die beim Einstellen ca. 28 kg wogen, durchgeführt. Die Tiere wurden in Abhängigkeit vom Gewicht auf zwei Fütterungsgruppen (TB-S0 bzw. TB-S30) aufgeteilt und einzeln in Stoffwechsellkäfigen, die eine separate Sammlung von Kot und Urin ermöglichten, gehalten. Die Käfige befanden sich in einem vollklimatisiertem Raum, in dem bei einer relativen Luftfeuchte von 60 % eine konstante Temperatur von 22 °C herrschte. An eine 10-tägige Adaptationsphase zur Gewöhnung der Tiere an die Haltung und Fütterung schloss sich die 7-tägige Bilanzperiode an. Die Fütterung erfolgte zweimal täglich (7:00 und 17:00 Uhr) bei restriktiver Futterzuteilung ( $90 \text{ g/kg LM}^{0.75}/\text{d}$ ; 1,54 kg/d). Wasser stand zur *Ad libitum*-Aufnahme über Nippeltränken zur Verfügung.

Während der Bilanzperiode erfolgte zweimal täglich (jeweils nach der Fütterung) die Kot- und Harnsammlung. Der Harn wurde dazu in Kunststoffflaschen aufgefangen, die, um Stickstoffverluste in Form von Ammoniak zu vermeiden, eine Vorlage von 50-100 ml 10 %-iger Schwefelsäure enthielten. Im Anschluss an die Sammlung wurden Kot und Harn in Kanistern bis zur weiteren Bearbeitung bei -20 °C gelagert. Am Ende der Bilanzperiode wurden Kot und Harn aufgetaut, gewogen und homogenisiert. Anschließend wurden drei repräsentative Proben (ca. 500 g) entnommen und bis zur Analyse bei -20 °C aufbewahrt. Alle Tiere wurden am Beginn und Ende der Bilanzperiode morgens nüchtern gewogen.

Am letzten Versuchstag erfolgte bei allen Tieren unmittelbar vor der Fütterung (präprandial) und eine Stunde nach der Fütterung (postprandial) eine Blutentnahme aus der Vena jugularis (ca. 10 ml; Heparin- bzw. Serum-Röhrchen, Sarstedt). Zur Plasma- bzw. Serumgewinnung wurden die Blutproben direkt nach Entnahme bzw. nach 45 min bei 4500 g und 4 °C für 10 min zentrifugiert. Das abgetrennte Plasma bzw. Serum (ca. 6 ml) wurde auf drei 2 ml Eppendorf-Cups verteilt, sofort bei -20 °C eingefroren und im Anschluss bis zur weiteren Aufarbeitung bei -70 °C gelagert.

### 2.3.2. Versuch II (Futteraufnahme)

Dieser Versuch wurde in zwei unmittelbar aufeinander folgenden Durchgängen mit je 12 Tieren durchgeführt. Dazu wurden die Schweine beim Einstellen in Abhängigkeit vom Gewicht den vier Behandlungen (TM-S0, TM-S30, TB-S0 bzw. TB-S30) zugeteilt. Die Haltung der Tiere erfolgte in Zweierboxen mit individueller Fütterung. Die Stalltemperatur betrug 22 °C bei einer relativen Luftfeuchtigkeit von 60 %. Nach einer 7-tägigen Adaptationsphase erfolgte die Erfassung der *Ad libitum*-Futteraufnahme über einen Zeitraum von neun Tagen. Die Tiere wurden zweimal täglich (7:00 und 18:00 Uhr) gefüttert und erhielten dabei so viel Futter, dass immer Reste im Trog verblieben, die nach ca. 60 min erfasst wurden. Zu diesem Zeitpunkt hatten alle Tiere das Fressen beendet. Wasser stand den Schweinen über Nippeltränken frei zur Verfügung. Am Beginn und Ende der *Ad libitum*-Fütterungsphase wurden die Tiere gewogen.

### 2.4. Analytische Methoden

Die Einwaage der Versuchsdäten erfolgte im Voraus für vier Tage. Dabei wurden jeweils repräsentative Proben für die späteren Futtermittel-Analysen entnommen und bei -20 °C gelagert. Am Versuchsende wurden diese Proben gepoolt und bis zur Analyse des Energie-, Roh Nährstoff-, Aminosäuren- sowie Alkaloidgehaltes bei -20 °C gelagert. Die TM-Bestimmung und Roh Nährstoff-Analyse erfolgte nach den entsprechenden VDLUFA-Methoden (Naumann & Basler, 1976). Die Analyse der Aminosäuren-Gehalte in den Futtermischungen wurde durch das Labor der Firma Lohmann-LTE-GmbH (Cuxhaven) mit den von Llamas & Fontaine (1994) und Fontaine et al. (1998) beschriebenen Methoden durchgeführt. Zusätzlich wurde in allen drei Rationen der Sanguinarin- und Chelerythrin-Gehalt bestimmt (vgl. Kapitel 4). Die Analyse der Stickstoffgehalte in den Kot- und Harnproben mittels Kjeldahl-Aufschluss erfolgte zur Vermeidung von Stickstoffverlusten aus der Frischmasse. Die Aminosäuren-Analyse in den Plasmaproben wurde durch das Labor der Universitätskinderklinik Kiel mittels eines Aminosäuren-Analysators (LC 3000 Eppendorf-Biotronik, Hamburg) durchgeführt.

## 2.5. Statistische Auswertung

Soweit nicht anders erwähnt, sind die Ergebnisse als Mittelwerte mit den dazugehörigen Standardfehlern dargestellt. Die statistische Bearbeitung der Daten erfolgte mit dem Programm SAS WIN 8.1 (SAS Inst. Inc., Cary, NC).

Die statistische Prüfung von Unterschieden zwischen Mittelwerten der Behandlungsgruppen in Versuch I (N-Bilanz) wurde mit einem t-Test durchgeführt. Die statistische Auswertung der Aminosäuren-Konzentration im Plasma erfolgte mit einem Modell für wiederholte Messung mittels der Prozedur „General linear Models Procedure“ (proc glm). Die Daten des Versuches II (tgl. Zunahme, Futteraufnahme und Futteraufwand) wurden ebenfalls unter Verwendung der Prozedur „General linear Models Procedure“ (proc glm) ausgewertet. Hierbei wurden der Sangrovit<sup>®</sup>-Gehalt (S) und der Trp-Gehalt (T) in der Ration sowie der Durchgang (D) als Haupteffekte und S x T als Interaktionseffekt im Modell berücksichtigt.

## 3. Ergebnisse

### 3.1. Versuch I (N-Bilanz)

Im N-Bilanz-Versuch wurde der Effekt einer Sangrovit<sup>®</sup>-Supplementierung auf die N-Retention bei einer dem Bedarf (GfE, 1998) entsprechenden Trp-Versorgung geprüft (Rationen TB-S0 und TB-S30). Die Ergebnisse dieser Untersuchung sind Tabelle 17 zu entnehmen. Alle erfassten Parameter unterschieden sich zwischen den Behandlungen nicht signifikant.

Über beide Behandlungsgruppen gemittelt betrug das durchschnittliche Körpergewicht während der Bilanzperiode  $40,9 \pm 1,4$  kg. In der 7-tägigen Bilanzperiode hatten die Schweine bei einer Futteraufnahme von 1540 g/d eine durchschnittliche tägliche Zunahme von  $835 \pm 18$  g/d. Der mittlere Futteraufwand betrug  $1,85 \pm 0,04$  kg/kg.

**Tabelle 17:** Einfluss einer Sangrovit<sup>®</sup>-Supplementierung auf die N-Bilanz

	Behandlung		p <
	TB-S0	TB-S30	
Lebendmasse Beginn (kg)	37,0 ± 0,64	36,5 ± 0,25	
Lebendmasse Ende (kg)	45,2 ± 0,87	44,9 ± 0,47	
N-Aufnahme (g/d)	44,4	44,5	
Harn-N Exkretion (g/d)	16,3 ± 0,46	16,8 ± 0,81	0,60
Kot-N Exkretion (g/d)	5,4 ± 0,29	5,3 ± 0,16	0,62
N-Retention (g/d)	22,7 ± 0,65	22,0 ± 0,91	0,85

<sup>a</sup>Mittelwerte mit Standardfehlern; n = 6

### 3.2. Aminosäuren-Konzentration im Blutplasma

In Ergänzung zur Untersuchung der N-Bilanz wurde im Versuch I vor der Morgenfütterung (präprandial) und eine Stunde danach (postprandial) allen Tieren Blut entnommen, um die Konzentration von freien Aminosäuren im Plasma zu bestimmen. Die Ergebnisse dieser Analysen sind in Tabelle 18 wiedergegeben.

Infolge der Fütterung stieg die Konzentration aller Aminosäuren unabhängig von der Diät signifikant an. Dabei war der Trp- und Lys-Anstieg in der TB-S30-Gruppe signifikant größer als in der TB-S0-Gruppe ( $p < 0,05$ ). Daraus resultierte postprandial eine höhere Trp-Plasmakonzentration in der TB-S30-Gruppe ( $p < 0,05$ ). Weiterhin war die Lysin-Konzentration sowohl vor als auch nach der Fütterung in der Sangrovit<sup>®</sup>-supplementierten Gruppe (TB-S30) höher als in der Kontroll-Gruppe (TB-S0), jedoch konnte dies nur postprandial statistisch abgesichert werden ( $p < 0,05$ ). Darüber hinaus war die Konzentration von Glycin durch die Behandlung beeinflusst. Diese war prä- und postprandial in der TB-S0-Gruppe höher als in der TB-S30-Gruppe.

**Tabelle 18:** Freie Aminosäuren im Blutplasma vor (präprandial) und eine Stunde nach (postprandial) der Fütterung im N-Bilanz-Versuch<sup>a</sup>

	Präprandial		Postprandial	
	TB-S0	TB-S30	TB-S0	TB-S30
<i>Essentielle Aminosäuren (µmol/l)</i>				
Lysin <sup>b,d,e</sup>	59 ± 12	70 ± 12	439 ± 29	543 ± 34
Histidin <sup>b</sup>	49 ± 3	59 ± 11	91 ± 7	97 ± 6
Threonin <sup>b</sup>	188 ± 13	198 ± 16	405 ± 15	418 ± 23
Methionin <sup>b</sup>	41 ± 5	41 ± 5	93 ± 6	89 ± 3
Valin <sup>b</sup>	203 ± 15	194 ± 28	348 ± 17	344 ± 27
Isoleucin <sup>b</sup>	73 ± 5	71 ± 9	159 ± 4	147 ± 7
Leucin <sup>b</sup>	215 ± 9	208 ± 9	429 ± 7	400 ± 17
Phenylalanin <sup>b</sup>	75 ± 4	87 ± 6	135 ± 3	136 ± 7
Tyrosin <sup>b</sup>	70 ± 13	92 ± 8	172 ± 10	175 ± 12
Tryptophan <sup>b,d,e</sup>	25 ± 7	15 ± 4	43 ± 7	65 ± 6
<i>Nichtessentielle Aminosäuren (µmol/l)</i>				
Asparaginsäure	7 ± 1	11 ± 2	12 ± 2	14 ± 2
Glutaminsäure <sup>b</sup>	119 ± 8	131 ± 14	168 ± 6	156 ± 18
Prolin <sup>b</sup>	319 ± 23	287 ± 17	562 ± 18	550 ± 26
Glycin <sup>b,c,d</sup>	1387 ± 72	1158 ± 62	1608 ± 94	1367 ± 40
Serin <sup>b</sup>	87 ± 10	88 ± 9	195 ± 10	195 ± 10
Alanin <sup>b</sup>	387 ± 11	328 ± 13	789 ± 27	787 ± 54
Arginin <sup>b</sup>	49 ± 7	49 ± 3	167 ± 12	197 ± 8

<sup>a</sup>Mittelwerte mit Standardfehlern, n = 6

<sup>b</sup>Mittelwerte nach der Fütterung (postprandial) signifikant höher als vor der Fütterung (p < 0,05)

<sup>c</sup>Mittelwerte präprandial unterscheiden sich signifikant (p < 0,05) zwischen den Behandlungen

<sup>d</sup>Mittelwerte postprandial unterscheiden sich signifikant (p < 0,05) zwischen den Behandlungen

<sup>e</sup>Anstieg infolge der Fütterung zwischen den Behandlungen signifikant verschieden (p < 0,05)

### 3.3. Versuch II (Futteraufnahme)

In diesem Versuch sollte der Effekt einer Sangrovit®-Supplementierung auf die freiwillige Futteraufnahme von wachsenden Schweinen in Abhängigkeit von der Trp-Konzentration in der Ration geprüft werden. Die Aminosäuren-Analyse im Futter zeigte, dass die angestrebten unterschiedlichen Trp-Gehalte in den Diäten realisiert wurden (Tabelle 16).

In Tabelle 19 sind die Ergebnisse für die Wachstumsleistung, die Futteraufnahme und den Futteraufwand zusammengefasst. Sowohl unter den Bedingungen des relativen Trp-Mangels (TM), als auch bei einer dem Bedarf entsprechenden Trp-Versorgung (TB) hatte die Sangrovit®-Supplementierung keinen signifikanten Einfluss auf die erhobenen Leistungsparameter.

Jedoch waren in der TB-S30-Gruppe die tägliche Zunahme und die Futteraufnahme ca. 3 % höher als in der TB-S0-Gruppe. Die Reduktion des Trp-Gehaltes in der Ration von 2,4 g/kg (TB-Ration) auf 1,7 g/kg (TM-Ration) führte nicht zu der erwarteten Beeinflussung der Futteraufnahme ( $p < 0,05$ ) (Tabelle 20). Jedoch zeigt der signifikant erhöhte Futteraufwand in der TM-Gruppe, dass in dieser Gruppe eine suboptimale Trp-Versorgung vorlag ( $p < 0,05$ ) (Tabelle 20).

**Tabelle 19:** Einfluss einer Sangrovit®-Supplementierung auf die Futteraufnahme, die tägliche Zunahme und den Futteraufwand bei unterschiedlicher Trp-Versorgung<sup>a</sup>

	Behandlung				p < <sup>b</sup>		
	TM-S0	TM-S30	TB-S0	TB-S30	S	T	SxT
tgl. Zunahme (g/d)	912 ± 56	924 ± 88	947 ± 76	982 ± 58	0,73	0,50	0,87
Futteraufnahme (g/d)	1819 ± 97	1858 ± 157	1779 ± 102	1834 ± 68	0,62	0,74	0,93
Futteraufwand (kg/kg)	2,00 ± 0,07	2,03 ± 0,04	1,90 ± 0,07	1,88 ± 0,06	0,98	0,05	0,73

<sup>a</sup>Mittelwerte mit Standardfehlern; n = 6

<sup>b</sup>S = Sangrovit®; T = Tryptophan; S x T = Sangrovit® x Tryptophan Interaktion

**Tabelle 20:** Einfluss des Trp-Gehaltes in der Ration auf die Futteraufnahme, die tägliche Zunahme und den Futteraufwand<sup>a</sup>

	Trp-Gruppe (g Trp/kg)		p <
	TM (1,7)	TB (2,4)	
tgl. Zunahme (g/d)	918 ± 50	965 ± 43	0,50
Futteraufnahme (g/d)	1839 ± 88	1807 ± 57	0,74
Futteraufwand (kg/kg)	2,01 ± 0,04	1,89 ± 0,04	0,05

<sup>a</sup>Mittelwerte mit Standardfehlern; Werte über die Sangrovit®-Supplementierung gepoolt, da kein signifikanter Sangrovit®-Effekt beobachtet wurde

#### 4. Diskussion

Mellor (2001) postuliert als möglichen Wirkungsmechanismus für Sangrovit<sup>®</sup> die Hemmung der aromatischen L-Aminosäuren-Decarboxylase (AAD) durch Sanguinarin. Dies soll sich sowohl fördernd auf den Proteinansatz als auch, über den Tryptophan-Serotonin-Stoffwechsel, positiv auf die Futteraufnahme auswirken. Die Ergebnisse des vorliegenden N-Bilanz-Versuches weisen jedoch nicht auf eine verbesserte Stickstoffretention durch die Sangrovit<sup>®</sup>-Supplementierung hin. Auch Ader & Roth (2003) konnten keinen signifikanten Sangrovit<sup>®</sup>-Effekt auf die N-Bilanz bei wachsenden Schweinen (75 kg) feststellen. Allerdings war in der vorgenannten Studie die N-Retention in der Sangrovit<sup>®</sup>-Gruppe ca. 9 % höher als in der Kontroll-Gruppe. In einer anderen Untersuchung mit Mastschweinen führte die Supplementierung mit 30 ppm Sangrovit<sup>®</sup> zu einer Zunahme der Muskelfleischdicke ( $p < 0,05$ ) und einer geringeren Rückenspeckdicke ( $p < 0,01$ ) des Schlachtkörpers (Šeškevičiene et al., 2003). Aufgrund ihrer Ergebnisse wiesen beide Arbeitsgruppen darauf hin, dass die *in vitro* gezeigte Hemmung der AAD durch Sanguinarin (Dršata et al., 1996) auch *in vivo* von Relevanz sein könnte und sich dies positiv auf den Aminosäuren- bzw. Proteinstoffwechsel auswirken könnte (Ader & Roth, 2003; Šeškevičiene et al., 2003). Darüber hinaus erwähnen auch Kosina et al. (2004) eine mögliche physiologische Bedeutung der *in vitro* gezeigten Hemmung der Alanin- und Aspartataminotransferase durch Sanguinarin (Walterová et al., 1981).

Im Hinblick auf diese Beobachtungen erfolgte in der vorliegenden Studie die Bestimmung der Aminosäuren-Konzentrationen im Plasma. Für diese Untersuchung wurde der N-Bilanz-Versuch, in dem aufgrund der restriktiven Fütterung standardisierte Bedingungen vorlagen, gewählt. Grundsätzlich ist zu sagen, dass eine Stunde nach der Fütterung die Konzentration aller Aminosäuren höher war als vor der Fütterung. Dies wurde auch von Montgomery et al. (1980) und Cmiljanić (1980) beobachtet. Die Sangrovit<sup>®</sup>-Zulage (TB-S30) führte postprandial sowohl zu einem höheren Anstieg als auch zu einer absolut erhöhten Trp- und Lys-Konzentration im Plasma verglichen mit der Kontroll-Gruppe (TB-S0). Eine Erklärung für diese beobachteten Effekte ist nicht offensichtlich, da verschiedene Faktoren den Aminosäuren-Spiegel im Blut beeinflussen. Unter anderem korreliert die Trp-Plasma-Konzentration mit dem Gehalt dieser Aminosäure im Futter (Lewis et al., 1977; Cmiljanić, 1980; Sève et al., 1991; Henry et al., 1992) (Abbildung 6). Diese Abhängigkeit kann im vorliegenden Versuch als Erklärung für die unterschiedlichen Trp-Blutspiegel jedoch ausgeschlossen werden,

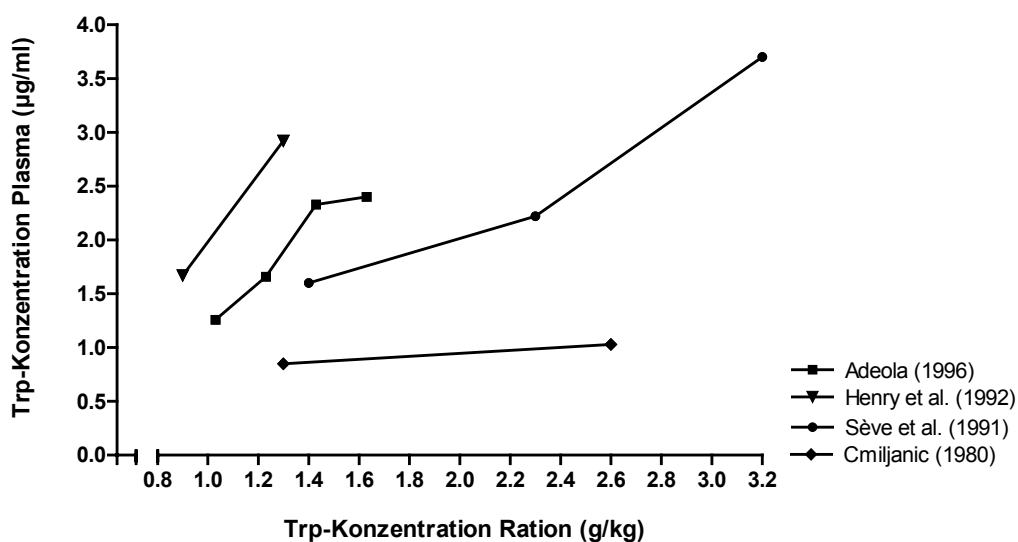
da sowohl der Trp-Gehalt in den Rationen (Tabelle 17) als auch die Futteraufnahme in den Behandlungsgruppen identisch waren. Weiterhin haben Faktoren, die die intestinale Verfügbarkeit (z. B. bakterielle Stickstoffumsetzungen) und/oder die intermediäre Verfügbarkeit bzw. Verwertung (z. B. Umfang von Proteinsynthese und -abbau) von Aminosäuren beeinflussen, Auswirkungen auf den Aminosäuren-Spiegel im systemischen Kreislauf. Unterstellt man, dass insbesondere Lys einem mikrobiellen Abbau im Darm unterliegt (Dierick et al., 1986), kann vermutet werden, dass antimikrobielle Sanguinarin-Effekte (Dzink & Socransky, 1985; Eisenberg et al., 1991; Newton et al., 2002) zu den Beobachtungen beigetragen haben könnten. Untersuchungen zum Einfluss von Sanguinarin auf nutztierrelevante Mikroorganismen liegen bislang jedoch nicht vor.

Geht man von postabsorptiven Sanguinarin-Wirkungen aus, so sind dafür ausreichend hohe, wirksame Alkaloid-Spiegel in den Zielorganen eine Voraussetzung. Verschiedene Studien haben gezeigt, dass Sanguinarin aus dem Gastrointestinaltrakt absorbiert wird, jedoch deuten die Ergebnisse auf eine geringe systemische Verfügbarkeit hin (Walterová et al., 1995; Kosina et al., 2004). Generell ist zu sagen, dass die Ergebnisse der Aminosäuren-Analyse sehr vorsichtig bewertet werden müssen, da die Blutproben aus der Vena jugularis entnommen wurden und somit nicht die Verhältnisse im Dünndarm bzw. portalen Blut widerspiegeln. Auch wenn die höheren postprandialen Trp- und Lys-Spiegel in der TB-S30 Gruppe im Sinne einer höheren systemischen Verfügbarkeit dieser Aminosäuren interpretiert werden könnten, bleibt festzuhalten, dass kein Effekt auf die N-Retention beobachtet wurde. Darüber hinaus waren auch im Versuch II, selbst unter den Bedingungen eines leichten Trp-Mangels (TM), keine signifikanten Effekte der Sangrovit®-Supplementierung zu beobachten (Tabelle 19). Allerdings kann der Threonin-Gehalt in den Rationen, der unter den Empfehlungen der GfE (1987) lag, erstlimitierend auf die erhobenen Leistungsparameter gewirkt haben, so dass eine höhere Verfügbarkeit von Lys und Trp zu keiner Leistungsverbesserung führen konnte. Der reduzierte Trp-Gehalt (1,7 g/kg) in der TM-Ration führte im Gegensatz zu den Erwartungen und zu Literaturdaten (Burgoon et al., 1992; Schutte & van Weerden, 1988; Eder et al., 2003) nicht zu einer Beeinträchtigung der Futteraufnahme. Allerdings deuten sowohl der tendenziell verringerte Zuwachs als auch der signifikant erhöhte Futteraufwand auf eine gewisse Trp-Unterversorgung in dieser Gruppe hin (Tabelle 20). Einen Einfluss der Trp-Versorgung auf den Futteraufwand, unabhängig von der Futteraufnahme, zeigten auch andere Autoren (Möhn & Susenbeth, 1994; Adeola, 1996; Peisker, 1999). In diesen Studien betrug das Trp:Lys-Verhältnis zur Maximierung der Futteraufnahme zwischen 0,133 und



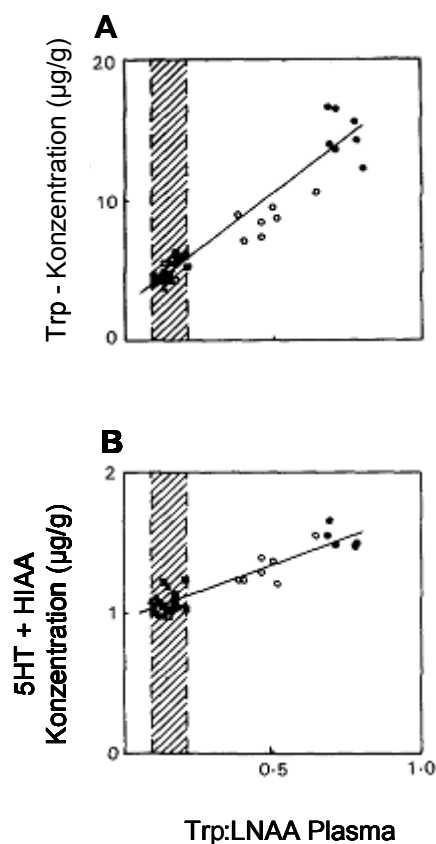
0,146, während der Futteraufwand erst bei einem Trp:Lys-Verhältnis zwischen 0,155 und 0,178 am günstigsten war. Zu anderen Ergebnissen kommen Burgoon et al. (1992), Schutte & van Weerden (1988) und Eder et al. (2003), die erst bei höheren Trp:Lys-Verhältnissen (> 0,158) eine Maximierung der Futteraufnahme feststellten. Wird der absolute Trp-Gehalt im Futter betrachtet, konnte in vielen Studien ein Trp-Einfluss im Sinne einer reduzierten Futteraufnahme nur bei sehr niedrigen Gehalten (< 1,6 g Trp/kg) beobachtet werden (Burgoon et al., 1992; Möhn & Susenbeth, 1994; Adeola, 1996; Eder et al., 2003). Daher könnte in der vorliegenden Studie der Trp-Gehalt von 1,8 g/kg noch ausgereicht haben, um eine Verzehrsdepression zu verhindern.

Generell ist zu sagen, dass der Zusammenhang zwischen dem Trp-Gehalt in der Ration und der Futteraufnahme nicht befriedigend geklärt ist. Trp ist die Vorstufe für die Biosynthese von Serotonin, einem Neurotransmitter, der in den enterochromaffinen Zellen des Gastrointestinaltraktes sowie im Zentralnervensystem (ZNS) synthetisiert wird (Peters, 1991) und unter anderem an der Verzehrsregulation beteiligt ist (Blundell, 1992). Die entsprechenden Hypothesen unterstellen, dass die Serotonin-Synthese und somit auch die Trp-Konzentration im ZNS durch die Trp-Aufnahme beeinflusst werden kann. Ein Einfluss des Trp-Gehaltes in der Ration auf die Trp-Konzentration im systemischen Kreislauf wurde durch verschiedene Autoren gezeigt (Abbildung 6).



**Abbildung 6:** Einfluss der Trp-Konzentration in der Ration auf die Trp-Konzentration im Plasma

Der Gehalt von Trp im Gehirn wiederum ist abhängig von 1.) der Trp-Konzentration im Plasma, 2.) der LNAA (langkettige neutrale Aminosäuren)-Konzentration im Plasma, die mit Trp einen gemeinsamen Carrier in der Blut-Hirn-Schranke besitzen und 3.) der Bindung von Trp an Serum-Albumin (Peters, 1991). In Versuchen mit Ratten konnte gezeigt werden, dass das Verhältnis Trp:LNAA im Plasma über einen weiten Konzentrationsbereich sowohl mit der Trp- als auch mit der Serotonin-Konzentration im Gehirn korreliert (Abbildung 7). Wird jedoch lediglich der physiologische Bereich des Trp:LNAA-Verhältnisses im Plasma betrachtet, so ist diese Beziehung nur gering ausgeprägt (Abbildung 7) (Leathwood, 1987).



**Abbildung 7:**

Einfluss des Trp:LNAA-Verhältnisses im Plasma auf die Trp-Konzentration [A] sowie die Serotonin-(5HT) und Hydroxyindol (HIAA)-Konzentration [B] im Gehirn bei Ratten, (Leathwood, 1987)

Der schraffierte Bereich zeigt den physiologischen Schwankungsbereich.

Letztendlich erscheint auch aufgrund der Tatsache, dass Serotonin im ZNS einen verzehrs-hemmenden Effekt ausübt (Sève, 1999), die Stimulierung der Futteraufnahme bei einer höheren Verfügbarkeit von Trp widersprüchlich. Generell ist die Bedeutung von Serotonin für die Verzehrsregulation sehr vielschichtig und nicht endgültig geklärt (Blundell, 1992). Dabei scheinen verschiedene Serotonin-Rezeptortypen (Curzon, 1990), der Ernährungszustand des Tieres (Peters, 1991), das Verhältnis von verzweigtkettigen Aminosäuren zu Trp (Sève, 1999), aber auch periphere Serotonin-Effekte (z. B. auf die Motilität und Sekretion im

Gastrointestinaltrakt) (Blundell, 1992) von Bedeutung zu sein. In diesem Zusammenhang sei darauf verwiesen, dass nur ein Prozent der aufgenommenen Trp-Menge für die Serotonin-Synthese genutzt und davon wiederum nur ca. 10-30 % im ZNS zu Serotonin metabolisiert werden (Peters, 1991). Der überwiegende Anteil des Serotonins ist in den enterochromaffinen Zellen im Darm zu finden (Spiller, 2001). Adeola (1996) postuliert, dass der zunehmende Futtermittelverzehr bei steigender Trp-Aufnahme zumindest teilweise durch eine schnellere Magenentleerung erklärt werden kann. Die Serotonin-Wirkungen im Gastrointestinaltrakt könnten auch als Erklärungsansatz für den Einfluss der Trp-Versorgung auf den Futteraufwand dienen. Letztendlich hat Trp selbst stimulierende Effekte auf die Proteinsynthese in der Leber (Peters, 1991) und beeinflusst die Insulin-Sekretion sowie die Insulin-Sensitivität von Geweben (Sève, 1999).

Zusammenfassend ist zu sagen, dass in diesem Versuch ein Trp-Gehalt im Futter von 1,7 g/kg nicht ausreichte, um die angestrebte Verzehrsdepression zu provozieren, jedoch war der Futteraufwand in der Trp-Mangelgruppe (TM) signifikant erhöht. Obwohl die Ergebnisse der Aminosäuren-Analyse im Blut auf eine höhere Verfügbarkeit von Lys und Trp infolge der Sangrovit®-Supplementierung hindeuten, war sowohl der Futteraufwand als auch die N-Retention durch den Zusatzstoff nicht beeinflusst. Allerdings kann der unter den Empfehlungen der GfE (1987) liegende Threonin-Gehalt in den Rationen, limitierend auf die Leistung, auch bei höherer Verfügbarkeit von Lys und Trp, gewesen sein. Daher müssen weitere Untersuchungen den Einfluss einer Sangrovit® Supplementierung auf die Verfügbarkeit von Aminosäuren klären.

Die Frage möglicher antibakterieller und intermediärer Sanguinarin-Wirkungen wird in Kapitel 5 im Zusammenhang mit den Ergebnissen der Alkaloid-Analyse in den Futtermitteln und den Untersuchungen zur systemischen Verfügbarkeit von Sanguinarin aufgegriffen und intensiver diskutiert.



## **KAPITEL 4**

**ENTWICKLUNG EINER HPLC-METHODE ZUM  
SANGUINARIN-NACHWEIS UND UNTERSUCHUNGEN ZUR  
PHARMAKOKINETIK VON SANGUINARIN AUS SANGROVIT<sup>®</sup>**

## 1. Einleitung

Aus wissenschaftlicher Sicht aber auch aus Gründen der Qualitätssicherung erfordert der Einsatz pflanzlicher Futterzusatzstoffe in der Tierernährung Nachweismethoden, welche die Analyse von potenziell wirksamen Substanzen bzw. von „Leitsubstanzen“ sowohl in den Rohstoffen als auch in Alleinfuttermitteln ermöglichen. Auf Grundlage dieser Analysemethoden können standardisierte Produkte hergestellt werden, die nicht nur die Vergleichbarkeit von Versuchen erlauben, sondern auch die Reproduzierbarkeit dieser verbessern könnten. Darüber hinaus sollten diese Methoden im Hinblick auf die Beschreibung möglicher Wirkungsmechanismen und die Rückverfolgbarkeit die Analyse phytogener Wirksubstanzen in tierischen Geweben und Exkrementen ermöglichen.

Durch den Einsatz des Futterzusatzstoffes Sangrovit<sup>®</sup> in der Schweinefütterung konnten eine Steigerung der täglichen Zunahmen, ein reduzierter Futteraufwand sowie eine erhöhte Futterraufnahme beobachtet werden (Landesanstalt für Schweinezucht Forchheim, 1996; Przybilla & Weiß, 1998; Alert et al., 2002). Sangrovit<sup>®</sup> ist durch den Gehalt an Alkaloiden, insbesondere Sanguinarin, welches als wirksame Substanz beschrieben wird (Mellor, 2001), gekennzeichnet. Verschiedene Autoren (Mellor, 2001; Ader & Roth, 2003; Šeškevičienė et al., 2003) postulieren als einen möglichen Wirkungsmechanismus die Hemmung von Enzymen des Aminosäuren-Stoffwechsels durch Sanguinarin *in vivo*, die allerdings nur *in vitro* nachgewiesen ist (Walterová et al., 1981; Dršata et al., 1996). Voraussetzung für eine *In vivo*-Wirkung ist das Erreichen ausreichend hoher wirksamer Sanguinarin-Konzentrationen am Wirkort.

Ziel der vorliegenden Studie war daher die Entwicklung einer Methode, die eine schnelle und mit vertretbarem Aufwand durchzuführende Sanguinarin-Analytik in mit Sangrovit<sup>®</sup> angereicherten Futtermitteln, im Blutserum und im Kot von mit Sangrovit<sup>®</sup> supplementierten Schweinen ermöglicht. Weiterhin sollte die systemische Verfügbarkeit von Sanguinarin nach oraler Aufnahme von Sangrovit<sup>®</sup> bei Schweinen untersucht werden.

## 2. Material und Methoden

### 2.1. HPLC-Methode zum Sanguinarin-Nachweis

Zur Sanguinarin-Analyse sollte eine Methode entwickelt werden, die einen schnellen Nachweis des Alkaloids im Futtermittelzusatzstoff, in Alleinfuttermitteln, aber auch in Blut- und Kotproben ermöglicht. Diese Analysen wurden in Probenmaterial aus den verschiedenen Versuchen, die Gegenstand dieser Arbeit sind, durchgeführt (Tabelle 21).

**Tabelle 21:** Herkunft des mittels HPLC untersuchten Probenmaterials

Probenmaterial	Versuch	Kapitel <sup>a</sup>	Erläuterungen
Sangrovit <sup>®</sup>	Laktierende Sauen	2	In allen Studien wurde dieselbe Sangrovit <sup>®</sup> -Charge zur Erstellung der Futtermischungen verwendet.
	N-Bilanz	3	
	<i>Ad lib.</i> Futteraufnahme	3	
	Katheter-Studie	4	
Futter	Laktierende Sauen	2	K / S30 / S50
	N-Bilanz	3	TB-S0 / TB-S30
	<i>Ad lib.</i> Futteraufnahme	3	TM-S0 / TM-S30 / TB-S0 / TB-S30
Blutserum	Laktierende Sauen	2	Praxisübliche Sangrovit <sup>®</sup> -Dosierung
	N-Bilanz	3	Praxisübliche Sangrovit <sup>®</sup> -Dosierung
	Katheter-Studie	4	Hohe Sangrovit <sup>®</sup> -Dosierung
Kot	N-Bilanz	3	

<sup>a</sup>Eine detaillierte Versuchsbeschreibung ist dem Material und Methoden Abschnitt der entsprechenden Kapitel zu entnehmen.

#### 2.1.1. Probenaufarbeitung

*Sangrovit<sup>®</sup>/Futter* — Die Sanguinarin-Analyse im Zusatzstoff Sangrovit<sup>®</sup> erfolgte ohne vorherige mechanische Bearbeitung des Probenmaterials. Für die Alkaloid-Analyse in den Futtermitteln wurden die entsprechenden Proben in einer Labormühle fein vermahlen (Körnung: 0,5 mm). Zur Sanguinarin-Extraktion wurden 250 mg Sangrovit<sup>®</sup> bzw. 10 g des vermahlenden Futters in eine Analysenflasche eingewogen und nach Zusatz von 70 ml Methanol und 600 µl HCl (10 mol/l) eine Stunde auf einem Horizontalschüttler extrahiert. Im Anschluss wur-

den 5 ml des Überstandes in ein Reagenzglas überführt und bei 3700 x g und 4 °C für 20 min zentrifugiert (Varifuge 20RS, Heraeus, Hanau). Der Überstand wurde direkt für die HPLC-Analyse (vgl. 2.1.2.) verwendet.

*Blutserum* — Unmittelbar nach dem Auftauen wurden 900 (1800) µl Serum mit 300 (600) µl Trichloressigsäure versetzt und anschließend zwei Stunden in einem Wasserbad (50 °C) inkubiert. Nach Zusatz von 3,0 (5,0) ml Methanol wurden die Proben eine Stunde auf einem Horizontalschüttler extrahiert und anschließend bei 3700 x g und 4 °C für 45 min zentrifugiert. Der Überstand wurde bis zur Trockne bei 45 °C und einem partiellen Vakuum eingedampft (Speed-Vac AES 1010, Savant Instruments Inc., Farmingdale, NY, USA). Der erhaltene Rückstand wurde in 1000 (300) µl Methanol aufgenommen und 10 min im Ultraschallbad resuspendiert. Danach wurden die unlöslichen Probenrückstände bei 16000 x g und Zimmertemperatur für 10 min in einer Tischzentrifuge (Centrifuge 5415C, Eppendorf) zentrifugiert und der Überstand direkt mittels HPLC analysiert. Die Angaben in den Klammern beziehen sich auf die verwendeten Volumina bei Aufarbeitung der Proben mit praxisüblicher Sangrovit<sup>®</sup>-Dosierung (Sauen-Versuch, N-Bilanz-Studie), die Werte vor den Klammern auf die Aufarbeitung von Proben aus der Katheter-Studie.

*Kot* — Für die Alkaloid-Analyse im Kot wurde dieser gefriergetrocknet und in einer Labormühle fein vermahlen (Körnung: 0,2 mm). Zur Analyse wurden ca. 0,3 g der Probe in ein Analysenröhrchen eingewogen. Nach Zusatz von 3,0 ml Methanol wurden die Proben zur Sanguinarin-Extraktion eine Stunde auf einem Horizontalschüttler geschüttelt und bei 3700 x g und 4 °C für 20 min zentrifugiert. Der Überstand konnte mittels HPLC direkt analysiert werden.

### 2.1.2. HPLC-Methode

Jeweils 30 µl der aufgearbeiteten Proben wurden über einen Autosampler (950-AS, Firma Jasco, Gross-Umstadt) in die HPLC-Anlage injiziert. Als stationäre Phase diente eine „Reversed-Phase“-Trennsäule (C-18 Kromasil 100, 250 x 4 mm, Partikelgröße: 5 µm, Firma Jasco), der eine Vorsäule (C-18 Inertsil ODS-2, 10 x 4 mm, Partikelgröße: 5 µm, Firma Jasco) vorgeschaltet war. Die Zusammensetzung der mobilen Phase (pH = 2,9) für die entsprechenden Analysen ist Tabelle 22 zu entnehmen. Der verwendete Phosphat-Puffer bestand aus 0,1 mol/l Natrium-Dihydrogen-Phosphat (pH = 2,4). Die Flussrate betrug 1 ml/min. Die Säule wurde mittels eines Säulenofens auf 40 °C temperiert. Die Detektion erfolgte mit ei-



nem Fluoreszenzdetektor (920-FP, Firma Jasco) bei einer Anregungswellenlänge von 330 nm und einer Emissionswellenlänge von 570 nm. Sanguinarin wurde anhand des Vergleichs mit der Retentionszeit von Sanguinarin-Reinsubstanz (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen) identifiziert.

**Tabelle 22:** Zusammensetzung (%) der mobilen Phase für die Analyse des jeweiligen Probenmaterials

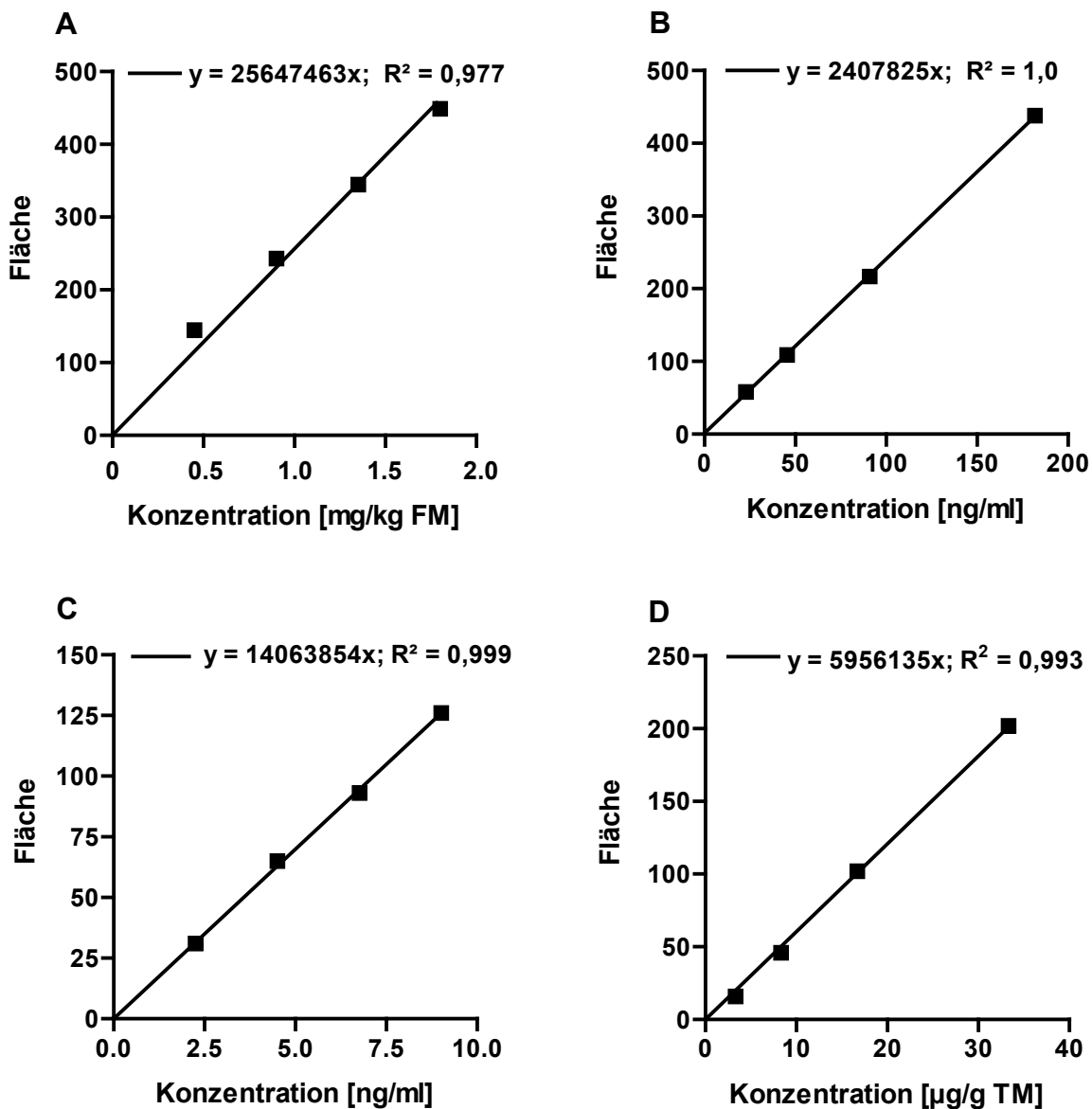
	Probenmaterial			
	Sangrovit <sup>®</sup>	Futter	Blutserum	Kot
Puffer <sup>a</sup>	65	65	65	67,3
Acetonitril <sup>b</sup>	34	34	34	29,7
Methanol <sup>b</sup>	-	-	-	1,5
Triethylamin <sup>b</sup>	1	1	1	1,5

<sup>a</sup>Natrium-Dihydrogen-Phosphat-Puffer (0,1 mol/l, pH = 2,4); NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (Merck, VWR International GmbH, Darmstadt)

<sup>b</sup>Merck, VWR International GmbH, Darmstadt

### 2.1.3. Kalibrierung

Zur Quantifizierung des Sanguinarin-Gehaltes in den Futter-, Blutserum- und Kotproben wurden jeweils eigene Eichkurven erstellt. Dazu wurden die entsprechenden Mengen (vgl. 2.1.1.) von Sanguinarin-freiem Futter (Kontrollfutter), Serum (Serum vom Schlachthof) bzw. Kot (Kot der Kontrolltiere) mit 50 µl bzw. bei den Futterproben mit 1 ml methanolischer Sanguinarin-Standardlösung versetzt. Die Aufarbeitung der Proben erfolgte auf die gleiche Art und Weise wie die der Versuchsproben (vgl. 2.1.1.). Die Auswertung erfolgte anhand der Peakflächen. In Abbildung 8 sind die Eichgeraden für die Sanguinarin-Analyse in Futter, Blutserum und Kot wiedergegeben. Über den gesamten Konzentrationsbereich ergab sich für das untersuchte Probenmaterial ein linearer Verlauf der Kalibriergeraden.



**Abbildung 8:** Kalibriergeraden zur quantitativen Bestimmung von Sanguinarin im Futter [A], Blutserum nach hoher Sangrovit<sup>®</sup>-Dosierung [B] bzw. praxisüblicher Sangrovit<sup>®</sup>-Dosierung [C] und Kot [D]

Mittelwerte mit Standardfehlern; n = 4  
 $R^2$  = Bestimmtheitsmaß

#### 2.1.4. Nachweisgrenze und Wiederfindung

Als Nachweisgrenze wurde ein Signal-Rausch-Verhältnis von 5:1 zu Grunde gelegt, d.h. ein Peak, der mindestens fünfmal so hoch war wie der Mittelwert des Basislinienrauschens, galt als eindeutig nachweisbar.

Zur Bestimmung der Wiederfindung wurde Sanguinarin-freiem Futter, Blutserum bzw. Kot eine definierte Sanguinarin-Menge über einen methanolischen Standard zugesetzt und der Ansatz auf die gleiche Art und Weise wie die entsprechenden Proben aufgearbeitet (vgl. 2.1.1.). Die so ermittelten Peakflächen der Proben wurden mit der Peakfläche des direkt gemessenen methanolischen Standards ins Verhältnis gesetzt.

### 2.2. Untersuchungen zur Pharmakokinetik von Sanguinarin aus Sangrovit<sup>®</sup>

Die Fragestellung zur Pharmakokinetik von Sanguinarin aus Sangrovit<sup>®</sup> wurde mit zwei Ansätzen bearbeitet. In der Katheter-Studie wurde die Pharmakokinetik von Sanguinarin nach einmaliger oraler Sangrovit<sup>®</sup>-Gabe untersucht. Dabei wurde eine im Vergleich zur praxisüblichen Sangrovit<sup>®</sup>-Aufnahme (30-50 mg Sangrovit<sup>®</sup>/kg Futter) sehr hohe Sangrovit<sup>®</sup>-Dosierung (900 mg Sangrovit<sup>®</sup>/Tier; 0,37 mg Sanguinarin/kg LM) gewählt, um sicher nachweisbare Sanguinarin-Konzentrationen im Serum zu erhalten. In Ergänzung dazu wurden in den Versuchen, die Gegenstand von Kapitel 2 (Sauen-Versuch) und Kapitel 3 (N-Bilanz-Versuch) sind, Blutproben entnommen, um die Sanguinarin-Konzentration nach chronischer Applikation unter den Bedingungen einer praxisüblichen Sangrovit<sup>®</sup>-Dosierung zu bestimmen.

#### 2.2.1. Pharmakokinetik von Sanguinarin aus Sangrovit<sup>®</sup> nach hoher Sangrovit<sup>®</sup>-Gabe (Katheter-Studie)

##### 2.2.1.1. Tiere, Haltung und Fütterung

Als Versuchstiere dienten drei weibliche Schweine (Hybridzucht, Firma Schaumann, Wahlstedt) mit einem Gewicht von 35-37 kg. Die Tiere wurden in Einzelboxen mit planbefestigtem Boden gehalten. Die Stalltemperatur betrug 24 °C bei einer relativen Luftfeuchte von 60

%. Als Futter wurde ein Ferkelaufzuchtfutter II (Firma J. A. Plambeck, Brügge) mit 12,8 MJ ME/kg und 17 % XP eingesetzt.

#### 2.2.1.2. Versuchsdurchführung und Blutprobengewinnung

Zwei Wochen vor Versuchsbeginn wurde den Tieren in die Vena jugularis ein einlumiger Verweilkatheter (C/TPN/9.0D/80, Firma Cook, Bjaeverskov, Dänemark), der im Nacken austrat, implantiert. Zum Schutz der Katheter an der Austrittsstelle wurde den Schweinen ein Schutzmantel aus Segeltuch mit eingenähter Öffnungsklappe angelegt (Abbildung 9).



**Abbildung 9:** Blutprobenentnahme über den in der Vena jugularis implantierten Katheter

Um die Durchgängigkeit der Katheter zu gewährleisten, wurden diese dreimal täglich mit heparinierter, 0,9 %-iger Kochsalzlösung (100 I. E. Heparin-Na/ml 0,9 % NaCl-Lösung) gespült.

Am Versuchstag erhielten die Schweine zum Zeitpunkt der Morgenfütterung (7:00 Uhr) 900 mg Sangrovit<sup>®</sup> (25 mg Sangrovit<sup>®</sup>/kg LM), welches in 250 g gemahlenem Futter eingemischt war. Dies entsprach einer Sanguinarin-Menge von 13,4 mg/Tier (0,37 mg/kg LM).

Die erste Blutentnahme erfolgte unmittelbar vor der Fütterung zum Zeitpunkt  $t = 0$  min. Anschließend wurden bis zum Zeitpunkt  $t = 300$  min halbstündlich und danach zu den Zeitpunkten  $t = 360$  min,  $t = 480$  min,  $t = 720$  min und  $t = 1440$  min Blutproben gezogen. Bei jeder Entnahme wurden zunächst 3 ml Blut entnommen und verworfen, um den Katheter vollständig mit frischem Blut zu füllen. Danach wurden ca. 8-10 ml Blut entnommen und sofort in Serumröhrchen überführt. Das entnommene Blutvolumen wurde durch die Injektion

von 0,9 %-iger Kochsalzlösung ersetzt und der Katheter mit 2,5 ml heparinisierter Kochsalzlösung (100 I. E. Heparin-Natrium/ml 0,9 % NaCl-Lösung) gefüllt, um so eine Blutgerinnung im Katheter zu verhindern. Zur Serumgewinnung wurden die Blutproben eine Stunde nach der Entnahme bei 4500 x g und 4 °C für 10 min zentrifugiert (Varifuge 20RS, Heraeus, Hanau). Das abgetrennte Serum (ca. 6 ml) wurde auf drei 2 ml Eppendorf-Cups verteilt, sofort bei -18 °C eingefroren und bis zur weiteren Aufarbeitung für die Alkaloid-Analyse (vgl. 2.1.1.) bei -70 °C gelagert.

## 2.2.2. Nachweis von Sanguinarin aus Sangrovit<sup>®</sup> bei praxisüblicher chronischer Sangrovit<sup>®</sup>-Dosierung

### 2.2.2.1. Tiere, Haltung und Fütterung

Für diese Untersuchungen wurden Tiere aus den in Kapitel 2 (Sauen-Versuch) und Kapitel 3 (N-Bilanz-Versuch) beschriebenen Versuchen genutzt. Angaben zu Haltung und Fütterung der Tiere sind den entsprechenden Kapiteln zu entnehmen.

### 2.2.2.2. Blutprobengewinnung

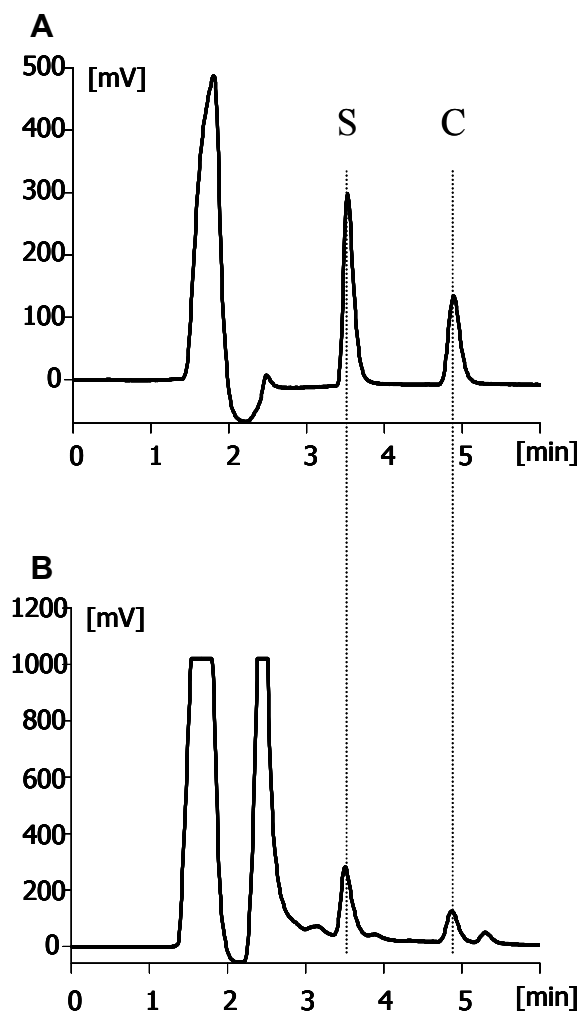
*Sauen-Versuch* – In jeder Abferkelgruppe wurde am 15. Laktationstag von drei Sauen je Behandlungsgruppe ca. 2-4 Stunden nach der Fütterung 10 ml Blut aus der Vena jugularis entnommen (Serumröhrchen, Sarstedt). Dazu wurden die Tiere mit einer Rüsselschlinge fixiert. Zur Serumgewinnung wurden die Blutproben nach Entnahme eine Stunde stehen gelassen und anschließend bei 4500 x g und 4 °C für 10 min zentrifugiert. Das abgetrennte Serum (ca. 5 ml) wurde auf drei 2 ml Eppendorf-Cups verteilt, sofort bei -18 °C eingefroren und bis zur weiteren Aufarbeitung bei -70 °C gelagert.

*N-Bilanz-Versuch* – Am letzten Versuchstag wurde allen Tieren direkt vor der Fütterung (präprandial, d.h. 12 Stunden nach der letzten Fütterung) und eine Stunde nach der Fütterung (postprandial) aus der Vena jugularis 10 ml Blut entnommen (Serumröhrchen, Sarstedt). Zur Serumgewinnung wurden die Blutproben nach Entnahme eine Stunde stehen gelassen und anschließend bei 4500 x g und 4 °C für 10 min zentrifugiert. Das abgetrennte Serum (ca. 5 ml) wurde auf drei 2 ml Eppendorf-Cups verteilt, sofort bei -18 °C eingefroren und bis zur weiteren Aufarbeitung bei -70 °C gelagert.

### 3. Ergebnisse

#### 3.1. HPLC-Methode zum Nachweis von Sanguinarin in Sangrovit<sup>®</sup>, Alleinfuttermitteln, Blutserum und Kot

*Sangrovit<sup>®</sup>/Futter* – Die Chromatogramme der Analyse eines methanolischen Standards sowie eines Futtermittels zeigen, dass mittels der beschriebenen Methode die im Sangrovit<sup>®</sup> dominierenden Alkaloide, Sanguinarin und Chelerythrin, anhand der Retentionszeit eindeutig zu identifizieren sind (Abbildung 10).



**Abbildung 10:** Chromatogramm eines methanolischen Standards [A] und einer Futterprobe [B]  
S = Sanguinarin; C = Chelerythrin

Die Sanguinarin-Wiederfindung im Futter lag zwischen 73 % und 83 % (Tabelle 23). Zum Teil ergaben sich leichte Beeinträchtigungen bei der Peak-Auswertung aufgrund einer unvollständigen Abtrennung von durch nicht näher identifizierte Futtermittelbegleitstoffe verursachte Peaks (Daten nicht gezeigt). Die Ergebnisse der Sangrovit<sup>®</sup>-Analyse sowie die der Futtermittel-Analysen in den in Kapitel 2 und 3 beschriebenen Versuchen sind Tabelle 24 zu entnehmen. Dabei ist zu beachten, dass bei diesen Werten die Wiederfindung durch die Erstellung der Eichgeraden im Futter, die unter denselben Bedingungen wie die entsprechenden Proben erstellt wurde, bereits berücksichtigt ist.

**Tabelle 23:** Wiederfindung von Sanguinarin nach der Extraktion aus Futter, Blutserum und Kot

Probenmaterial	Parameter	Einheit				
Futter	Konzentration	(mg/kg FM)	0,45	0,90	1,35	1,80
	Wiederfindung <sup>a</sup>	(%)	83 ± 2	74 ± 1	73 ± 2	73 ± 1
Blutserum	Konzentration	(ng/ml)	2,3	4,6	6,8	9,1
	Wiederfindung <sup>a</sup>	(%)	63 ± 4	65 ± 3	63 ± 4	63 ± 2
	Konzentration	(ng/ml)	22,7	45,5	90,9	181,8
	Wiederfindung <sup>a</sup>	(%)	59 ± 5	55 ± 1	57 ± 9	55 ± 3
Kot	Konzentration	(µg/g TM)	0,3	0,75	1,5	3,0
	Wiederfindung <sup>a</sup>	(%)	38 ± 3	42 ± 2	47 ± 1	47 ± 1

<sup>a</sup>Mittelwerte mit Standardfehlern; n = 4

**Tabelle 24:** Nomineller und analytisch bestimmter Sanguinarin-Gehalt in den Versuchsrationen

Versuch	Kapitel <sup>a</sup>	Ration	Dosierung (ppm)		Sanguinarin (mg/kg FM)
			Sangrovit <sup>®</sup>	Sanguinarin <sup>b</sup>	
Sangrovit <sup>®</sup>		-	-	-	14900
Laktierende Sauen <sup>c</sup>	2	K	0	n.n. <sup>e</sup>	n.n.
		S30	30	0,45	0,5 ± 0,1
		S50	50	0,75	0,7 ± 0,1
N-Bilanz / <i>Ad lib.</i> - Futteraufnahme <sup>d</sup>	3	TM-S0	0	n.n.	n.n.
		TM-S30	30	0,45	0,4 ± 0,02
		TB-S0	0	n.n.	n.n.
		TB-S30	30	0,45	0,4 ± 0,02

<sup>a</sup>Eine detaillierte Versuchsbeschreibung und -durchführung ist den entsprechenden Kapiteln dieser Arbeit zu entnehmen.

<sup>b</sup>kalkuliert auf Basis des analysierten Sanguinarin-Gehaltes im Sangrovit<sup>®</sup>

<sup>c</sup>K = 0 ppm (Kontrolle), S30 = 30 ppm bzw. S50 = 50 ppm Sangrovit<sup>®</sup>

<sup>d</sup>TM = 0,17 % bzw. TB = 0,20 % Tryptophan und S0 = 0 ppm bzw. S30 = 30 ppm Sangrovit<sup>®</sup>

<sup>e</sup>n.n. = nicht nachweisbar

*Blutserum* – Die Wiederfindung von Sanguinarin aus Blutserum betrug in Abhängigkeit vom Konzentrationsbereich ca. 55 % bzw. 65 % (Tabelle 23). Die Nachweisgrenze für Sanguinarin im Blutserum wurde im Bereich von 1,5 ng/ml ermittelt.

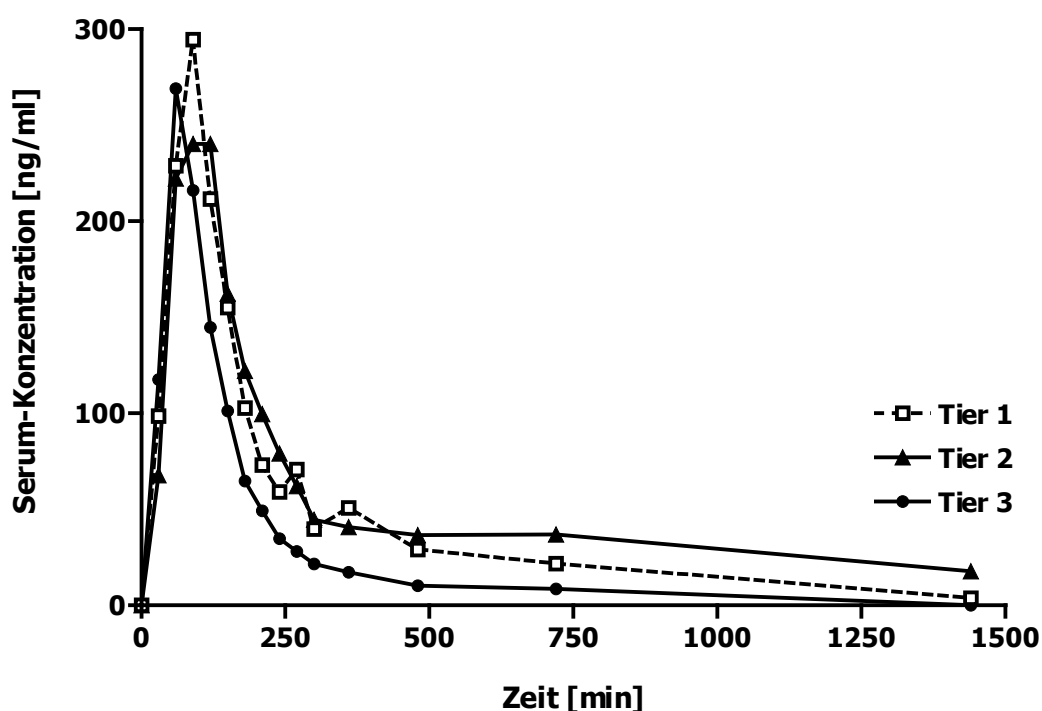
*Kot* – Im Kot lag die Wiederfindung von Sanguinarin (38 % - 47 %) relativ niedrig (Tabelle 23). Die Sanguinarin-Konzentration im Kot der Tiere, die die TB-S30-Ration (N-Bilanz) erhielten, betrug  $3,4 \pm 0,4$  µg/g TM (MW ± SE; n=6). Damit wurden  $69,9 \pm 3,3$  % (MW ± SE; n=6) der über das Sangrovit<sup>®</sup> aufgenommenen Sanguinarin-Menge mit dem Kot unverändert ausgeschieden. In den Kotproben der Tiere, welche die Sangrovit<sup>®</sup>-freie Ration erhielten (TB-S0), ließ sich kein Sanguinarin nachweisen.

### 3.2. Untersuchungen zur Pharmakokinetik von Sanguinarin aus Sangrovit<sup>®</sup>

In der Katheter-Studie erhielten die Tiere einmalig 900 mg Sangrovit<sup>®</sup> (entsprechend 13,4 mg Sanguinarin/Tier bzw. 0,37 mg Sanguinarin/kg LM), welches bei der Morgenfütterung in



250 g Futter eingemischt wurde. Diese Futtermenge wurde innerhalb von 5 min vollständig aufgenommen. Die aus den Blutproben ermittelten Konzentrations-Zeit-Verläufe sind Abbildung 11 zu entnehmen. Infolge der Fütterung stieg die Sanguinarin-Serum-Konzentration bei allen Tieren sehr schnell an und erreichte nach  $80 \pm 10$  min ( $t_{\max}$ ; MW  $\pm$  SE, n = 3) die höchste Konzentration ( $c_{\max}$ ). Der mittlere  $c_{\max}$ -Wert betrug  $268 \pm 16$  ng/ml (MW  $\pm$  SE, n = 3). Im Zeitraum von t = 90 min bis t = 250 min fielen die Sanguinarin-Spiegel bei allen Tieren schnell ab. Bei zwei Tieren konnte das Alkaloid noch nach 24 Stunden im Serum nachgewiesen werden. Wird eine Eliminationskinetik erster Ordnung unterstellt, beträgt die terminale Eliminationshalbwertszeit  $t_{1/2} = 463 \pm 223$  min (MW  $\pm$  SE, n = 3). Bei Tier 1 konnten nach 270 min bzw. 360 min weitere kleine Maxima beobachtet werden.



**Abbildung 11:** Konzentrations-Zeit-Verlauf von Sanguinarin im Blutserum nach oraler Gabe von 0,37 mg Sanguinarin/kg LM (25 mg Sangrovit<sup>®</sup>/kg LM)  
Dargestellt ist der Verlauf von drei Versuchstieren

In Ergänzung zu der Katheter-Studie wurden in den Versuchen, die Gegenstand der Kapitel 2 (Sauen-Versuch) und 3 (N-Bilanz-Versuch) sind, Blutproben entnommen, um die Sangui-

narin-Konzentration unter den Bedingungen einer praxisüblichen Fütterung bzw. Sangrovit<sup>®</sup>-Dosierung zu untersuchen. Die Sangrovit<sup>®</sup>- bzw. Sanguinarin-Gehalte der Rationen, die Zeitpunkte der Blutentnahmen sowie die Ergebnisse der Alkaloid-Analyse sind Tabelle 25 zu entnehmen.

**Tabelle 25:** Sanguinarin-Konzentration im Blutserum nach praxisüblicher chronischer Sangrovit<sup>®</sup>-Dosierung

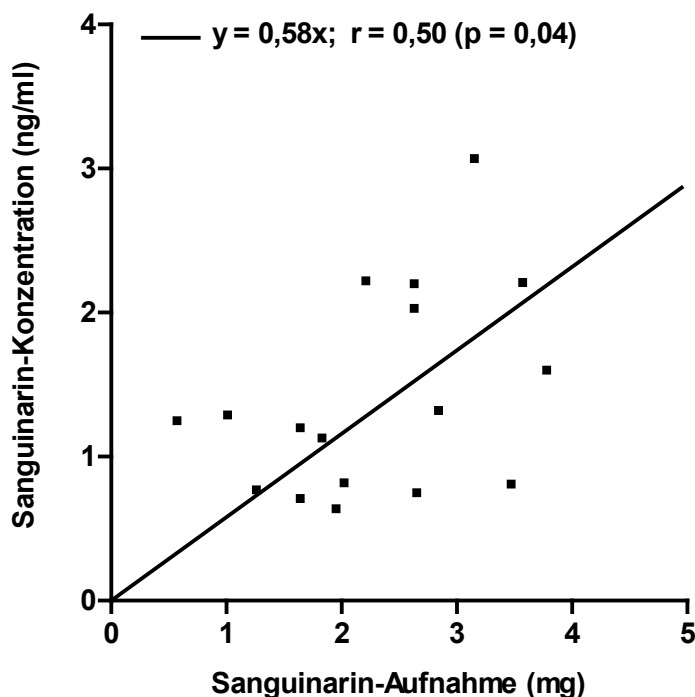
	Sauen-Versuch <sup>a</sup>			N-Bilanz <sup>b</sup>	
	K n = 8	S30 n = 11	S50 n = 7	TB-S0 n = 6	TB-S30 n = 6
Sangrovit <sup>®</sup> (mg/kg Futter)	0	30	50	0	30
Sanguinarin (mg/kg Futter)	n.n. <sup>c</sup>	0,5 ± 0,1	0,7 ± 0,1	n.n.	0,4 ± 0,1
Blutentnahme (h nach Fütterung)					
präprandial	-	-	-	12	12
postprandial	3-4	3-4	3-4	1	1
<hr/>					
<i>Sanguinarin-Konzentration (ng/ml)</i>					
präprandial	-	-	-	n.n. <sup>c</sup>	1,1 ± 0,3
postprandial	n.n.	1,0 ± 0,1	1,9 ± 0,1	n.n.	2,2 ± 0,3

<sup>a</sup>Behandlung mit K = 0 ppm (Kontrolle), S30 = 30 ppm bzw. S50 = 50 ppm Sangrovit<sup>®</sup>

<sup>b</sup>Behandlung mit TB-S0 = 0 ppm bzw. TB-S30 = 30 ppm Sangrovit<sup>®</sup>

<sup>c</sup>n.n. = nicht nachweisbar

In beiden Versuchen konnte bei den Sangrovit<sup>®</sup>-supplementierten Tieren das Alkaloid im Serum nachgewiesen werden, jedoch lagen die Werte im Bereich der Nachweisgrenze. Im Sauen-Versuch erfolgte die Blutentnahme am 15. Laktationstag ca. 2-4 Stunden nach der Morgenfütterung. Sanguinarin wurde im Serum aller supplementierten Sauen (S30 bzw. S50) nachgewiesen, jedoch nicht bei den Kontroll-Tieren (K). Die Sanguinarin-Serum-Konzentration bei den S50-Sauen war mit 1,9 ± 0,1 ng/ml (MW ± SE, n = 7) signifikant höher als die der S30-Sauen (1,0 ± 0,1 ng/ml; MW ± SE, n = 11) (p < 0,01). Zwischen der Sanguinarin-Aufnahme und Sanguinarin-Konzentration ergab sich in diesem Versuch eine signifikante Korrelation (Abbildung 12).



**Abbildung 12:** Korrelation zwischen Sanguinarin-Aufnahme und Sanguinarin-Serum-Konzentration bei Sauen  
n = 18

In dem N-Bilanz-Versuch wurde den Tieren sowohl vor als auch 1 h nach der Fütterung Blut entnommen. Die Sanguinarin-Konzentration im Blut vor der Fütterung, d.h. 12 h nach der letzten Fütterung, war sehr niedrig ( $1,1 \pm 0,3$  ng/ml; MW  $\pm$  SE; n = 6). Eine Stunde nach der Fütterung war der Sanguinarin-Spiegel auf  $2,2 \pm 0,3$  ng/ml (MW  $\pm$  SE; n = 6) angestiegen und damit signifikant höher als vor der Fütterung ( $p < 0,001$ ).

#### 4. Diskussion

Der Einsatz phytogener Zusatzstoffe in der Tierernährung erfordert sowohl aus wissenschaftlichen als auch aus Gründen der Qualitätssicherung eine genaue Kenntnis der Zusammensetzung, insbesondere im Hinblick auf sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe. Daher ist es erforderlich, Methoden zu etablieren, die eine schnelle und routinemäßige Analyse der Wirksubstanzen in Rohstoffen und Futtermitteln ermöglichen. Für die Analyse von Sanguinarin und anderen Benzo[c]phenanthridin-Alkaloiden in Pflanzen, deren Extrakten, pharmazeutischen Präparaten und Mundhygieneprodukten sind eine Vielzahl von Methoden beschrieben worden (Bugati et al., 1987; Bambagiotti-Alberti et al., 1991; Freytag & Stapf, 1993; Häberlein & Tschiersch, 1994; Golkiewicz et al., 1994; Husain et al., 1999; Sevcik et al., 2000). Diese verfolgen in der Regel das Ziel, das gesamte Alkaloid-Spektrum in einem Analysengang zu erfassen, und sie weisen dadurch häufig lange Laufzeiten auf. Weiterhin ist die Alkaloid-Konzentration in einigen der in diesen Arbeiten untersuchten Probenmaterialien, wie z. B. Extrakten, relativ hoch. Dagegen war es das Ziel der vorliegenden Studie, eine Methode zu entwickeln, die eine schnelle und mit vertretbarem Aufwand durchzuführende Sanguinarin-Analytik in mit Sangrovit<sup>®</sup> supplementierten Futtermitteln ermöglicht, in denen aufgrund der geringen Sangrovit<sup>®</sup>-Dosierung nur sehr niedrige Alkaloid-Konzentrationen (0,5-2 ppm) vorliegen. Das beschriebene Verfahren zur Probenaufarbeitung und -extraktion von Sanguinarin aus Sangrovit<sup>®</sup> und mit Sangrovit<sup>®</sup> supplementierten Futtermitteln basiert auf der Arbeit von Krause (1996). Jedoch wurden im Vergleich zur HPLC-Methode von Krause (1996) in der vorliegenden Arbeit eine andere Trennsäule und mobile Phase benutzt. Dadurch konnten sowohl hinsichtlich der Trennung von Sanguinarin und Chelerythrin als auch bezüglich der Nachweisgrenze bessere Ergebnisse als in der genannten Arbeit erzielt werden. Verschiedene Autoren verweisen darauf, dass insbesondere im Hinblick auf mögliche Bioaktivitäten komplexer Wirkstoffmischungen, wie sie auch phytogene Futterzusatzstoffe darstellen, der Nachweis einer Leitsubstanz nicht ausreichend ist. Auch andere sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe, die in geringerer Konzentration als die Leitsubstanz vorliegen, können die Wirkung beeinflussen bzw. für die Wirkung verantwortlich sein (Kubeczka, 1982; Kamel, 2000; Gollnisch et al., 2001a; Wald, 2003). Daher ist es von Bedeutung, das mittels der vorgestellten HPLC-Methode neben dem Leitalkaloid, Sanguinarin, auch das mengenmäßig zweite Alkaloid im Sangrovit<sup>®</sup>, Chelerythrin, hinreichend genau in Futtermitteln bestimmt werden (Daten nicht gezeigt).

Die Sanguinarin-Analyse im Blutserum und im Kot ist mit gewissen Einschränkungen, die sich durch variierende Begleitpeaks aus der entsprechenden Matrix ergeben, grundsätzlich möglich. Dies ist von Bedeutung, da im Hinblick auf die Rückverfolgbarkeit und Beschreibung möglicher Wirkungsmechanismen die Analyse von Wirksubstanzen in tierischen Geweben und Exkrementen erforderlich ist. So wird im Zusammenhang mit dem Sangrovit<sup>®</sup>-Einsatz in der Tierernährung auf eine mögliche *In vivo*-Relevanz der *in vitro* gezeigten Hemmung von Enzymen des Aminosäurenstoffwechsels durch Sanguinarin verwiesen (Ader & Roth, 2003; Šeškevičiene et al., 2003). Voraussetzung für eine *In vivo*-Wirkung ist allerdings das Erreichen ausreichend hoher Sanguinarin-Konzentrationen am Wirkort (z. B. im Gastrointestinaltrakt und/oder systemischen Kreislauf). Untersuchungen zur systemischen Verfügbarkeit von Sanguinarin nach oraler Sangrovit<sup>®</sup>-Applikation liegen jedoch noch nicht vor. In der vorliegenden Studie erfolgte die Bearbeitung dieser Fragestellung mittels einer Katheter-Studie, in der eine im Vergleich zur praxisüblichen Fütterung sehr hohe Sangrovit<sup>®</sup>-Dosierung (900 mg Sangrovit<sup>®</sup>/Tier; 13,4 mg Sanguinarin/Tier) gewählt wurde. In Ergänzung zu dieser Studie wurden auch in den Fütterungsversuchen (vgl. Kapitel 2 und 3) Blutanalysen durchgeführt. Die Ergebnisse beider Versuche zeigen, dass Sanguinarin nach oraler Aufnahme von Sangrovit<sup>®</sup> aus dem Gastrointestinaltrakt absorbiert wird. Selbst unter den Bedingungen einer praxisüblichen Sangrovit<sup>®</sup>-Dosierung (30 bzw. 50 ppm = 0,5 bzw. 0,7 mg Sanguinarin/kg Futter) ließ sich das Alkaloid in geringen Konzentrationen im Serum nachweisen (Tabelle 25). Diese Befunde stimmen sehr gut mit den Ergebnissen von Kosina et al. (2004) überein, die bei Schweinen nach der Verfütterung eines Benzo[c]phenanthridin-Gemisches (1,3 mg Sanguinarin/kg Futter) eine Sanguinarin-Konzentration im Plasma von 4 ng/ml fanden. Auch andere Arbeitsgruppen zeigten die Absorption von Sanguinarin aus dem Gastrointestinaltrakt (Shenolikar et al., 1974; Tandon et al., 1993a). Die Daten der vorliegenden Katheter-Studie liefern jedoch erste, weiterführende Hinweise auf die Kinetik der Absorption, Verteilung und Elimination von Sanguinarin. Da bereits relativ früh ( $t_{\max} = 80 \pm 10$  min) maximale Sanguinarin-Blutspiegel auftraten, kann von einer Absorption in den oberen Darmabschnitten ausgegangen werden. Unter der vereinfachenden Annahme, dass bis zum Zeitpunkt  $t_{\max}$  Absorptionsvorgänge dominieren, lässt sich anhand der  $c_{\max}$ -Konzentration die Sanguinarin-Menge im systemischen Kreislauf zu diesem Zeitpunkt berechnen. Unterstellt man ein Blutvolumen von 8 % der LM ergibt sich, dass bei einer Sanguinarin-Aufnahme von ca. 15 mg und einem  $c_{\max}$ -Wert von 268 ng/ml zum Zeitpunkt  $t_{\max}$  ca. 5 % der aufgenommenen Sanguinarin-Menge im systemischen Kreislauf vorliegen. Dies

deutet auf eine geringe systemische Verfügbarkeit des Alkaloids hin. Allerdings ist dabei zu berücksichtigen, dass die Kalkulation lediglich auf der Sanguinarin-Konzentration im systemischen Kreislauf beruht und eine mögliche Gewebeakkumulation wie auch Metabolisierung nicht berücksichtigt wurde. Eine Sanguinarin-Akkumulation, z. B. in den Entero- und Hepatozyten (Tandon et al., 1993a), eine Biotransformation von Sanguinarin durch Cytochrom-P450-Oxidoreduktasen (Williams et al., 2000) sowie weitere Metabolisierungen in Darm und Leber könnten dazu führen, dass trotz hoher Absorption nur geringe Sanguinarin-Konzentrationen im systemischen Kreislauf auftreten. Jedoch verweisen auch andere Autoren auf die geringe Absorption des Alkaloids und im Zusammenhang damit auf eine umfangreiche Exkretion mit dem Kot (Walterová et al., 1995; Kosina et al., 2004). Dies bestätigen auch die Daten aus dem vorliegenden Versuch, welche zeigen, dass ca. 70 % der aufgenommenen Sanguinarin-Menge unverändert mit dem Kot ausgeschieden wird. Im Gegensatz dazu kommen Tandon et al. (1993a) zu abweichenden Ergebnissen. Sie untersuchten an Ratten die Sanguinarin-Verteilung und -Elimination nach einer einmaligen oralen Gabe von 10 mg/kg LM. Nach 96 Stunden waren ca. 14 % der initialen Sanguinarin-Menge mit dem Harn und dagegen nur ca. 20 % mit dem Kot ausgeschieden. In der Leber und im Gastrointestinaltrakt wurden ca. 30 bzw. 17 % der initialen Sanguinarin-Menge wieder gefunden. Ein Grund für diese unterschiedlichen Resultate könnte neben der Dosis, der Spezies und dem Untersuchungszeitraum die Applikationsform sein, denn in der Tandon-Studie wurde im Gegensatz zur vorliegenden Untersuchung Sanguinarin-Reinsubstanz gegeben.

Die Eliminationskonstante ( $t_{1/2} = 463 \pm 223$  min) und die Tatsache, dass bei zwei von drei Tieren nach 24 Stunden noch geringe Sanguinarin-Mengen im Blut nachweisbar waren, deuten auf eine relativ langsame Elimination des Alkaloids hin. Dies wird wiederum auch durch die Blutanalysen aus dem N-Bilanz-Versuch bestätigt, bei denen noch 12 Stunden nach der letzten Fütterung geringe Sanguinarin-Konzentrationen ( $1,1 \pm 0,28$  ng/ml) im Serum gefunden wurden. Die relativ langsame Elimination kann unter anderem durch eine enterohepatische Rezirkulation und/oder Absorption in unteren Darmabschnitten hervorgerufen werden. Darauf könnten auch die sekundären Maxima ( $t = 240$  und  $360$  min) hinweisen, die bei Tier 1 der Katheter-Studie beobachtet wurden. Tandon et al. (1993a) untersuchten an Ratten die Exkretion von Sanguinarin über die Galle, nachdem den Tieren Sanguinarin injiziert worden war. Innerhalb der ersten 30 min nach der Applikation konnten 7 % der applizierten Menge in der Galle wieder gefunden werden. Jedoch war Sanguinarin zu späteren Zeitpunkten (45 bzw. 60 min nach der Injektion) nicht mehr in der Galle nachweisbar. Das Exkretionsverhal-

ten von Substanzen wird unter anderem durch die Bindung an Plasma-Proteine beeinflusst. Paulová & Slavik (1993) zeigten *in vitro* die Bindung von Sanguinarin an Serum-Albumin. Diese Bindung an Plasma-Proteine kann ebenfalls zu der langsamen Sanguinarin-Elimination beitragen. Im Zusammenhang mit der langsamen Elimination kann vermutet werden, dass Sanguinarin unter praxisüblichen Fütterungsbedingungen ständig, wenn auch in sehr geringen Konzentrationen (im Bereich der Nachweisgrenze), im systemischen Kreislauf zirkuliert.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die geringen Sanguinarin-Konzentrationen im Serum systemische, postabsorptive Wirkungen des Alkaloids fragwürdig erscheinen lassen, da die in der Literatur beschriebenen  $IC_{50}$ -Werte für die Hemmung von Enzymen durch Sanguinarin im mikromolaren Bereich liegen (vgl. Kapitel 1.2.). Allerdings kann eine geringfügige Anreicherung des Alkaloids in den Enterozyten und Hepatozyten (Tandon et al., 1993a; Kosina et al., 2004) sowie in anderen Geweben nicht ausgeschlossen werden. Darüber hinaus resultiert die geringe Sanguinarin-Absorption gleichzeitig in einer hohen Alkaloid-Konzentration im Lumen des Gastrointestinaltraktes. Im Zusammenhang mit den beschriebenen antimikrobiellen Wirkungen von Sanguinarin (Dzink & Socransky, 1985; Eisenberg et al., 1991; Newton et al., 2002) könnte dies zu einer Beeinflussung der Aktivität der intestinalen Mikroflora führen. Weiterhin ist auch eine Beeinflussung von Enzymen im Lumen des Gastrointestinaltraktes denkbar.

Schlussfolgernd ist festzustellen, dass die vorliegende HPLC-Methode bei geringem apparativen Aufwand eine einfache und schnelle Sanguinarin-Analyse in Sangrovit<sup>®</sup> und Futtermitteln erlaubt. Sanguinarin wird dosisabhängig aus dem Gastrointestinaltrakt absorbiert, wobei die bisherigen Ergebnisse auf eine geringe systemische Verfügbarkeit hindeuten.





## **KAPITEL 5**

### **ABSCHLIEßENDE DISKUSSION**

In den letzten Jahren nimmt das Angebot an Futterzusatzstoffen pflanzlicher Herkunft zu (Gollnisch et al., 2001b). Aufgrund der Tatsache, dass der *In vivo*-Einsatz dieser Additiva wissenschaftlich kaum geprüft ist, ist die Verwendung dieser heterogenen Gruppe von Zusatzstoffen momentan mit einer Reihe unbeantworteter Fragen verbunden. Grundlegende wissenschaftliche Untersuchungen zur Klärung ihrer Wirksamkeit und zu weiterführenden Aspekten (Analyse potentiell wirksamer Substanzen, Wirkungsmechanismen, Rückverfolgbarkeit in der Lebensmittelkette, mögliche Toxizität) fehlen derzeit weitgehend.

Der Einsatz von Sangrovit<sup>®</sup> als Futterzusatzstoff in der Schweinefütterung führte zu einer Steigerung der täglichen Zunahmen, einem verminderten Futteraufwand sowie einer erhöhten Futteraufnahme (vgl. Tabelle 5), die jedoch in der Regel nicht signifikant waren. Als wirksame Inhaltsstoffe in Bezug auf diese Effekte werden Benzo[c]phenanthridin-Alkaloide, insbesondere Sanguinarin, angegeben (Mellor, 2001). Sowohl dieses Leitalkaloid als auch das mengenmäßig zweite Alkaloid, Chelerythrin, kann mittels der im Rahmen dieser Studie erarbeiteten HPLC-Methode im Sangrovit<sup>®</sup> und in Alleinfuttermitteln hinreichend genau bestimmt werden. Dies ist im Hinblick auf die notwendige Standardisierung von Zusatzstoffen und Futtermitteln nicht nur von praktischer Relevanz, sondern erlaubt auch den wissenschaftlichen Vergleich verschiedener Studien zum Einsatz dieses Zusatzstoffes in der Tierernährung. Jedoch ermöglicht der Nachweis einzelner Leitsubstanzen im Zusatzstoff nur dann eine über die Indikatorfunktion hinaus reichende Aussage, wenn gezeigt werden kann, dass diese Leitsubstanzen tatsächlich für die Wirkung verantwortlich bzw. nennenswert daran beteiligt sind. Dazu sind weiterführende Untersuchungen mit Sangrovit<sup>®</sup> bzw. Sanguinarin-Reinsubstanz notwendig.

Im Sauen-Versuch (vgl. Kapitel 2) führte die Supplementierung von 30 ppm Sangrovit<sup>®</sup> zu einer tendenziellen Verbesserung des Wurfwachstums bei Sauen in der zweiten Laktation. Weiterhin waren trotz einer Reduktion ( $p < 0,05$ ) des Futtermittelsverbrauches bei primiparen Sangrovit<sup>®</sup>-supplementierten Sauen die erhobenen Leistungsparameter (Wurfmasse, Verlust von LM und RSD) im Vergleich zu den primiparen Kontrolltieren nicht beeinflusst. Diese Ergebnisse könnten auf eine effizientere Nährstoffverwertung in Folge der Sangrovit<sup>®</sup>-Supplementierung hindeuten. Darüber hinaus waren in dem Futteraufnahme-Versuch (vgl. Kapitel 3) der Futtermittelverzehr und die täglichen Zunahmen in der Sangrovit<sup>®</sup>-Gruppe 3 % höher als in der Kontroll-Gruppe. Dies war allerdings nicht signifikant. Verschiedene Autoren (Mellor, 2002; Ader & Roth, 2003; Šeškevičiene et al., 2003) postulieren als möglichen Wirkungsmechanismus, dass die *in vitro* gezeigte Hemmung von Enzymen des Aminosäu-

ren-Stoffwechsels durch Sanguinarin (Walterová et al., 1981; Dršata et al., 1996) auch *in vivo* von Relevanz sein könnte. Dies soll zu einer gesteigerten Aminosäuren-Verfügbarkeit führen und sich damit sowohl fördernd auf den Proteinansatz als auch, über den Tryptophan-Serotonin-Stoffwechsel, positiv auf die Futteraufnahme auswirken (Mellor, 2001). Die signifikant höhere Lys- und Trp-Plasmakonzentration infolge der Sangrovit<sup>®</sup>-Supplementierung (30 ppm) (vgl. Kapitel 3) kann im Sinne einer gesteigerten systemischen Verfügbarkeit dieser essentiellen Aminosäuren interpretiert werden. Die Aminosäuren-Konzentration im systemischen Kreislauf wird sowohl durch prä- (z. B. bakterielle Stickstoffumsetzungen) als auch durch postabsorptive (z. B. Umfang von Proteinsynthese und -abbau) Faktoren beeinflusst. Basierend auf den Untersuchungen von Dierick et al. (1986) kann postuliert werden, dass antibiotische Eigenschaften von Futterzusatzstoffen zu einer erhöhten intestinalen Verfügbarkeit von Aminosäuren führen können. Verschiedene Autoren zeigten antimikrobielle Effekte von Sanguinarin mit MHK-Werten im Bereich von 5-45 µg/ml (Dzink & Socransky, 1985; Eisenberg et al., 1991; Newton et al., 2002). Unter Berücksichtigung der Literaturdaten und den Ergebnissen der Sanguinarin-Analyse im Kot (vgl. Kapitel 4) erscheint eine Beeinflussung der mikrobiellen Aktivität und/oder der Aktivität mikrobieller Enzyme im Chymus bei praxisüblicher Sangrovit-Dosierung durchaus möglich. Unterstellt man dagegen, dass intermediäre (postabsorptive) Sanguinarin-Wirkungen zu den beobachteten Effekten auf den Trp- und Lys-Spiegel beigetragen haben, setzt dies ausreichend hohe Wirkstoffspiegel an den Zielorganen voraus. Die Untersuchungen zur systemischen Verfügbarkeit von Sanguinarin nach oraler Aufnahme von Sangrovit<sup>®</sup> zeigen, dass das Alkaloid aus dem Gastrointestinaltrakt absorbiert wird. Jedoch deuten die Ergebnisse der vorliegenden Studie wie auch die von Kosina et al. (2004) auf eine geringe systemische Verfügbarkeit von Sanguinarin hin. Da die in der Literatur beschriebenen IC<sub>50</sub>-Werte für die Hemmung von Enzymen im mikromolaren Bereich liegen (vgl. Kapitel 1), erscheinen intermediäre (postabsorptive) Sanguinarin-Effekte unter Annahme einer praxisüblichen Sangrovit-Dosierung fragwürdig. Jedoch konnten Kosina et al. (2004) das Alkaloid in Darm- und Lebergewebe nachweisen und somit kann eine zumindest kurzfristig auftretende höhere Sanguinarin-Konzentration (z. B. nach der Fütterung) dort nicht ausgeschlossen werden.

Generell ist darauf zu verweisen, dass trotz der beobachteten scheinbar verbesserten Verfügbarkeit von Lys und Trp keine Beeinflussung der N-Retention festgestellt wurde (vgl. Kap. 3). Weiterhin konnte auch bei einer reduzierten Trp-Versorgung, die im Vergleich zu einer dem Bedarf entsprechenden Trp-Versorgung zu einem signifikant erhöhten Futteraufwand

führte, kein Effekt der Sangrovit<sup>®</sup>-Supplementierung beobachtet werden (vgl. Kapitel 3). Allerdings kann der geringe Threonin-Gehalt in den Rationen, der unterhalb der Empfehlung der GfE (1987) lag, limitierend auf die Leistung, auch bei höherer Verfügbarkeit von Lys und Trp, gewirkt haben. Daher müssen weitere Untersuchungen den Einfluss einer Sangrovit<sup>®</sup>-Supplementierung auf die Verfügbarkeit von Aminosäuren klären.

Zusammengefasst lassen sich aus den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit folgende Schlüsse ziehen:

- Die genannten und zumindest zum Teil mit Literaturdaten belegten Wirkungen von phyto-genen Substanzen und Produkten, aber auch die Unklarheiten hinsichtlich Wirkung, Wirkungsmechanismen, Standardisierung, technologischer Eigenschaften usw. erfordern weitere wissenschaftliche Untersuchungen zum Einsatz dieser Zusatzstoffe in der Tierernährung.
- Die im Rahmen dieser Studie erarbeitete HPLC-Methode ermöglicht mit geringem apparativen und zeitlichen Aufwand eine schnelle Sanguinarin-Analyse im Futterzusatzstoff sowie in Alleinfuttermitteln.
- Der Zusatz des untersuchten Produktes hatte positive Effekte auf einige der geprüften Parameter. Allerdings sind die Ergebnisse inkonsistent und häufig statistisch nicht signifikant. Weitere Untersuchungen zur Wirksamkeit und zu möglichen Wirkungsmechanismen sind erforderlich.

## ZUSAMMENFASSUNG

Die Verwendung pflanzlicher Futterzusatzstoffe in der landwirtschaftlichen Praxis erlangt eine zunehmend größere Bedeutung. In zahlreichen *In vitro*-Studien wurde gezeigt, dass sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe Wirkungen haben können, die einen Einsatz in der Nutztierfütterung interessant erscheinen lassen. Allerdings ist die Effizienz dieser Zusatzstoffe in der Tierernährung unter *In vivo*-Bedingungen wissenschaftlich nur unzureichend geprüft. Neben systematischen Untersuchungen zur Wirksamkeit und zu Wirkungsmechanismen sind insbesondere Aspekte wie die Analyse potenziell wirksamer Substanzen im Zusatzstoff und im Futter sowie deren systemische Verfügbarkeit und Rückverfolgbarkeit in der Lebensmittelkette weitgehend unbearbeitet. Daher war ein Ziel der vorliegenden Arbeit, die möglichen Effekte eines pflanzlichen Futterzusatzstoffes (Sangrovit<sup>®</sup>) auf die Futteraufnahme und Leistung laktierender Sauen sowie auf die N-Bilanz, Wachstumsleistung und Futteraufnahme wachsender Schweine zu untersuchen. Weiterhin sollte eine Methode zum Nachweis des im Sangrovit<sup>®</sup> dominierenden Alkaloids, Sanguinarin, im Futterzusatzstoff, Alleinfuttermittel und Blut entwickelt und die systemische Verfügbarkeit dieses Alkaloids nach oraler Applikation von Sangrovit<sup>®</sup> untersucht werden.

Es konnte gezeigt werden, dass die Supplementierung von 30 ppm Sangrovit<sup>®</sup> bei Sauen der zweiten Laktation zu einer tendenziellen Verbesserung des Wurfwachstums führte. Hingegen war der Futterverbrauch bei primiparen Sauen infolge der Sangrovit<sup>®</sup>-Supplementierung reduziert ( $p < 0,05$ ), jedoch führte dies im Vergleich zu den entsprechenden Kontrolltieren zu keinen messbaren, negativen Auswirkungen auf die Leistung. Obwohl die Ergebnisse der Aminosäuren-Analyse im Blut darauf hindeuten, dass der Einsatz von Sangrovit<sup>®</sup> zu einer höheren intermediären Verfügbarkeit der essentiellen Aminosäuren Lys und Trp führt, ließ sich in der N-Bilanz-Studie kein Effekt des Zusatzstoffes auf die N-Retention bei wachsenden Schweinen beobachten. Jedoch waren in einem Versuch mit *Ad libitum*-Futteraufnahme die Futteraufnahme und die täglichen Zunahmen in der Sangrovit<sup>®</sup>-Gruppe 3 % höher als in der Kontroll-Gruppe. Dies war allerdings nicht signifikant. Die im Rahmen dieser Studie erarbeitete HPLC-Methode ermöglicht mit geringem apparativem Aufwand eine schnelle Sanguinarin-Analyse im Futterzusatzstoff sowie in Alleinfuttermitteln. Darüber hinaus ist auch der Nachweis in Blut und Kot möglich. In den Untersuchungen zur Pharmakokinetik von Sanguinarin nach oraler Aufnahme von Sangrovit<sup>®</sup> konnte gezeigt werden, dass das Alkaloid in nur relativ geringem Umfang aus dem Gastrointestinaltrakt absorbiert und zum größten

Teil wieder unverändert mit dem Kot ausgeschieden wird. Diese Daten deuten auf eine geringe systemische Verfügbarkeit des Alkaloids hin.

Zusammenfassend ist zu sagen, dass im Hinblick auf die Wirkung von pflanzlichen Futterzusatzstoffen die Ergebnisse der vorliegenden Studie, wie auch die Resultate anderer Versuche, inkonsistent und häufig statistisch nicht signifikant sind. Die präsentierten Daten wie auch die derzeit unzureichende wissenschaftliche Bearbeitung dieses Themenkomplexes erfordern weitere Untersuchungen zum Einsatz pflanzlicher Futterzusatzstoffe in der Tierernährung.

## SUMMARY

Various types of phytogetic feed additives are used to improve health, growth performance and feed intake in farm animals. *In vitro* studies show that certain compounds of the secondary plant metabolism have several biological effects, which could be useful in animal nutrition. However, the scientific evaluation of these additives in animal nutrition is inadequate to date as for several compounds, the verification of the efficiency and of the mode of action have not been investigated. In addition, certain aspects like the analysis of active principles in the additive or compound feed as well as their systemic availability and traceability need further evaluation. This study was conducted to investigate the possible effects of the phytogetic feed additive Sangrovit<sup>®</sup> on both the feed intake and performance of lactating sows. In addition, the effect of Sangrovit<sup>®</sup> on the N-balance, growth performance and feed intake of growing pigs was also investigated. Furthermore, a method for the analysis of the principle alkaloid in this additive, sanguinarine, in feed and blood was developed and the systemic availability of this alkaloid after intake of Sangrovit<sup>®</sup> was investigated.

The result of this study found that the supplementation of 30 ppm of Sangrovit<sup>®</sup> to a lactating sow's diet had positive effects on the litter performance in second parity sows. In primiparous sows, Sangrovit<sup>®</sup> reduced feed intake significantly. However, this reduction had no negative effects on the performance of these sows. In growing pigs, the supplementation of Sangrovit<sup>®</sup> seemed to increase the systemic availability of the amino acids tryptophan and lysine. There was no effect to the N-retention and feed conversion in this trial. However, in an additional *ad libitum* feed intake experiment, Sangrovit<sup>®</sup> increased the feed intake and the daily weight gain by 3%. A new HPLC-method was established which enables a rapid and simple detection of the principal alkaloid sanguinarine in Sangrovit<sup>®</sup> and in supplemented diets. With slight modifications, this method can also be used for detection of sanguinarine in blood and faeces. The detection of sanguinarine in blood samples of animals treated with Sangrovit<sup>®</sup> clearly proved that sanguinarine is absorbed in the gastrointestinal tract. However, the results of this study indicate that sanguinarine's systemic availability is low and that most of it is excreted in the faeces.

Taken together, the results of this study with regard to potential effects of Sangrovit<sup>®</sup> are inconsistent. Differences to controls are often not significant. However, the presented data, as well as the premature state of scientific knowledge in this area, legitimate and require further investigations about phytogetic feed additives in animal nutrition.





## LITERATURVERZEICHNIS

- Abdalla, A. E. M. (1999).** Garlic supplementation and lipid oxidation in chicken breast and thigh meat after cooking and storage. *Adv. Food Sci.* 21, 100-109.
- Adeola, O. (1996).** Bioavailability of tryptophan in soybean meal for 10-kg pigs using slope-ratio assay. *J. Anim. Sci.* 74, 2411-2419.
- Ader, P., Roth, H. (2003).** Feeding *Papaveraceae* based feed additives inhibits amino acid decarboxylation and improves protein metabolism and performance in growing swine. In: 7<sup>th</sup> Conference of the European Society of Veterinary and Comparative Nutrition (Kamphues, J., Wolf, P., eds.), Hannover, 100.
- Agarwal, S., Reynolds, M. A., Pou, S., Peterson, D. E., Charon, J. A., Suzuki, J. B. (1991).** The effect of sanguinarine on human peripheral blood neutrophil viability and functions. *Oral Microbiol. Immuno.* 6, 51-61.
- Ahmad, N., Gupta, S., Husain, M. M., Heiskanen, K. M., Mukhtar, H. (2000).** Differential antiproliferative and apoptotic response of sanguinarine for cancer cells *versus* normal cells. *Clinical Cancer Research* 6, 1524-1528.
- Alert, H.-J., Uhlig, R., Fröhlich, B. (2002).** Ersatz antibiotischer Leistungsförderer durch alternative Futterzusätze. In: *Forum angewandte Forschung in der Rinder- und Schweinefütterung 20./21.03.2002, Tagungsband*, 88-90.
- Alexopoulos, C., Fthenakis, G. C., Burriel, A., Bourtzi-Hatzopoulou, E., Kritas, S. K., Sbiraki, A., Kyriakis, S. C. (2003).** The effects of the periodical use of in-feed Chlortetracycline on the reproductive performance of gilts and sows of a commercial pig farm with a history of clinical and subclinical viral and bacterial infections. *Reprod. Dom. Anim.* 38, 187-192.
- Allen, P. C. (2003).** Dietary supplementation with Echinacea and development of immunity to challenge infection with coccidia. *Parasitol. Res.* 91, 74-78.
- Bambagiotti-Alberti, M., Pinzauti, S., Moneti, G., Gratteri, P., Coran, S. A., Vincieri, F. F. (1991).** Characterization of *Sanguinaria canadensis* L. fluid extract by FAB mass spectrometry. *J. Pharmaceut. Biomed. Anal.* 9 (10-12), 1083-1087.
- Becci, P. J., Schwartz, H., Barnes, H. H., Southard, G. L. (1987).** Short-term toxicity studies of sanguinarine and of two alkaloid extracts of *Sanguinaria canadensis* L.. *J. Toxicol. Environ. Health* 20, 199-208.
- Bennett, B. C., Bell, C. R., Boulware, R. T. (1990).** Geographic variation in alkaloid content of *Sanguinaria canadensis* (Papaveraceae). *RHODORA* 92 (870), 57-69.
- Blundell, J. E. (1992).** Serotonin and the biology of feeding. *Am. J. Clin. Nutr.* 55, 155-159.
- Borchers, A. T., Hackman, R. M., Keen, C. L., Stern, J. S., Gershwin, M. E. (1997).** Complementary medicine: a review of immunomodulatory effects of chinese herbal medicines. *Am. J. Clin. Nutr.* 66, 1303-1312.

- Bugatti, C., Colombo, M. L., Tomè, F. (1987).** High-performance liquid chromatographic separation of quaternary alkaloids of *Chelidonium majus* L. roots. *J. Chromatogr.* 393, 312-316.
- Burgoon, K. G., Knabe, D. A., Gregg, E. J. (1992).** Digestible tryptophan requirements of starting, growing, and finishing pigs. *J. Anim. Sci.* 70, 2493-2500.
- Cala, P. M., Nørby, J. G., Tosteson, D. C. (1982).** Effect of the plant alkaloid sanguinarine on cation transport by human red blood cells and lipid bilayer membranes. *J. Membrane Biol.* 64, 23-31.
- Chaturvedi, M. M., Kumar, A., Darnay, B. G., Chainy, G. B. N., Agarwal, S., Aggarwal, B. B. (1997).** Sanguinarine (pseudochelethrine) is a potent inhibitor of NF- $\kappa$ B activation, I $\kappa$ B $\alpha$  phosphorylation, and degradation. *J. Biol. Chem.* 272 (48), 30129-30134.
- Cmiljanić, R. (1980).** The effect of dietary level of protein and tryptophan on metabolism of protein in pigs. 3rd EAAP-Symposium on Protein Metabolism and Nutrition, Braunschweig, Deutschland, 24.
- Cohen, H. G., Seifen, E. E., Straub, K. D., Tiefenback, C., Stermitz, F. R. (1978).** Structural specificity of the NaK-ATPase inhibition by sanguinarine, an isoquinoline benzophenanthridine alkaloid. *Biochem. Pharmacol.* 27, 2555-2558.
- Cooper, D. R., Patience, J. F., Zijlstra, R. T., Rademacher, M. (2001).** Effect of nutrient intake in lactation on sow performance: Determining the threonine requirement of the high-producing lactating sow. *J. Anim. Sci.* 79, 2378-2387.
- Cowan, M. M. (1999).** Plant products as antimicrobial agents. *Clin. Microbiol. Rev.* 12 (4), 564-582.
- Craig, W. J. (1999).** Health-promoting properties of common herbs. *Am. J. Nutr.* 70 (suppl), 491S-499S.
- Curzon, G. (1990).** Serotonin und Appetite. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 600, 521-530.
- Dalvi, R. R. (1985).** Sanguinarine: its potential as a liver toxic alkaloid present in the seeds of *Argemone mexicana*. *Experientia* 41, 77-78.
- Dierick, N. A., Vervaeke, I. J., Decuypere, J. A., Henderickx, H. K. (1986).** Influence of the gut flora and some growth-promoting feed additives on nitrogen metabolism in pigs. I. Studies *in vitro*. *Livest. Prod. Sci.* 14, 161-176.
- Dostál, J., Slavík, J. (2002).** Some aspects of the chemistry of quaternary benzo[c]phenanthridine alkaloids. In: *Studies in Natural Products Chemistry* (Atta-ur-Rahman ed) 27, 155-184.
- Dorman, H. J. D., Deans, S. G. (2000).** Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J. App. Microbiol.* 88, 308-316.
- Dršata, J., Ulrichová, J., Walterová, D. (1996).** Sanguinarine and chelethrine as inhibitors of aromatic amino acid decarboxylase. *J. Enzyme Inhib.* 10, 231-237.

- Dzink, J. L., Socransky, S. S. (1985).** Comparative *in vitro* activity of sanguinarine against oral microbial isolates. *Antimicrob. Agents Chemother.* 27, 663-665.
- Eder, K., Nonn, H., Kluge, H., Peganova, S. (2003).** Tryptophan requirement of growing pigs at various body weights. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 87, 336-346.
- Eisenberg, A. D., Young, D. A., Fan-Hsu, J., Spitz, L. M. (1991).** Interaction of sanguinarine and zinc on oral streptococci and *Actinomyces* species. *Caries Res.* 25, 185-190.
- Fontaine, J., Bech-Andersen, S., Bütikofer, U., de Froidmont-Göritz, I. (1998).** Determination of tryptophan in feed by HPLC - Development of an optimal hydrolysis and extraction procedure by the EU Commission DG XII in three international collaborative studies. *Agribiol. Res.* 51, 87-108.
- Freytag, W. E., Stapf, W. (1993).** Schöllkraut-*Chelidonium majus* L. Quantitative HPLC-Bestimmung von Chelidonium-Alkaloiden. *Pharm. Ztg. Wiss.* Nr. 5/6 138. Jahrgang, 126-133.
- Gebert, S., Stahel, F., Messikommer, R., Wenk, C. (1999).** Rhubarb als Alternative zu antimikrobiellen Leistungsförderern (AML) im Ferkel- und Broilerfutter. In: *Gesunde Nutztiere Umdenken in der Tierernährung ?* (Sutter, F., Kreuzer, M., Wenk, C., eds.) Schriftenreihe aus dem Institut für Nutztierwissenschaften, Ernährung-Produkte-Umwelt, ETH-Zürich, 19. 165-166.
- GfE (Gesellschaft für Ernährungsphysiologie) (1987).** Energie-und Nährstoffbedarf landwirtschaftlicher Nutztiere Nr. 4 Schweine 1987 DLG-Verlag Frankfurt a. M., Deutschland.
- Giannenas, I., Florou-Paneri, P., Papazahariadou, M., Christaki, E., Botsoglou, N. A., Spais, A. B. (2003).** Effect of dietary supplementation with Oregano essential oil on performance of broilers after experimental infection with *Eimeria tenella*. *Arch. Anim. Nutr.* 57 (2), 99-106.
- Golkiewicz, W., Kuczyński, J., Markowski, W., Jusiak, L. (1994).** High-performance liquid chromatography of some alkaloids on unmodified silica gel with aqueous-organic solvent mixtures. *J. Chromatogr. A* 686, 85-91.
- Gollnisch, K., Halle, I., Flachowsky, G. (2001a).** Einsatz von Kräutern und ätherischen Ölen in der Tierernährung. In: *Deutsche Gesellschaft für Qualitätsforschung*, XXXVI. Vortragstagung, Jena, 249-258.
- Gollnisch, K., Wald, C., Berk, A. (2001b).** Einsatz unterschiedlicher ätherischer Öle in der Ferkelaufzucht. In: *Deutsche Gesellschaft für Qualitätsforschung*, XXXVI. Vortragstagung, Jena, 259-262.
- Göbbling, A. (2001).** Wirkungen eines Oreganoöl-Zusatzes als Futteradditiv auf die Darmflora von Absetzferkeln. Dissertation, Tierärztliche Hochschule, Hannover.
- Grela, E. R., Krusiński, R., Matra, J. (1998).** Efficiency of diets with antibiotic and herb mixture additives in feeding of growing-finishing pigs. *J. Anim. Feed Sci.* 7, 171-175.

- Grela, E. R. (2000).** Influence of herbs mixture in pigs feeding on performance and some lipid parameters in blood and backfat. *Annales Universitatis Marie Curie XVIII* (31), 243-250.
- Häberlein, H., Tschiersch, K.-P. (1994).** Effects of surface structure of reversed phases on the separation of alkaloids by HPLC. *Pharmazie* 49, 769-775.
- Hagemann, L. (2002).** Untersuchung der Wirksamkeit von ätherischen Ölen als standardisierter Rationsanteil auf die Wachstumsleistung und Schlachtkörperqualität beim Schwein. In: *Forum angewandte Forschung in der Rinder- und Schweinefütterung 20./21.03.2002, Tagungsband*, 91.
- Hakim, S. A. E., Mijović, V., Walker, J. (1961).** Experimental transmission of sanguinarine in milk: Detection of a metabolice product. *Nature* 189, 201-204.
- Harkrader, R. J., Reinhart, P. C., Rogers, J. A., Jones, R. R., Wylie, R. E., Lowe, B. K., McEvoy, R. M. (1990).** The history, chemistry and pharmacokinetics of Sanguinaria extract. *J. Can. Dent. Assoc.* 56 (7), 7-12.
- Haus Düsse (1998).** Verdauungshilfe im Test. *Schweinezucht und Schweinemast* 1, 22-23.
- Henry, Y., Sève, B., Colléaux, Y., Ganier, P., Saligaut, C., Jégo, P. (1992).** Interactive effects of dietary levels of tryptophan and protein on voluntary feed intake and growth performance in pigs, in relation to plasma free amino acids and hypothalamic serotonin. *J. Anim. Sci.* 70, 1873-1887.
- Hensel, A. (1992).** *Sanguinaria canadensis* L. - die amerikanische Blutwurzel. *Zeitschrift für Phytotherapie* 2, 54-59.
- Herbert, J. M., Augereau, J. M., Gleye, J., Maffrand, J. P. (1990).** Chelerythrine is a potent and specific inhibitor of protein kinase C. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 172, 993-999.
- Hermann, J. R., Honeyman, M. S., Zimmermann, J. J., Thacker, B. J., Holden, P. J., Chang, C. C. (2003).** Effect of dietary *Echinacea purpurea* on viremia and performance in porcine reproductive and respiratory syndrome virus-infected nursery pigs. *J. Anim. Sci.* 81, 2139-2144.
- Hu, C. M., Cheng, H. W., Cheng, Y. W., Kang, J. J. (2000).** Induction of skeletal muscle contracture and calcium release from isolated sarcoplasmic reticulum vesicles by sanguinarine. *Br. J. Pharmacol.* 130, 299-306.
- Husain, S., Narsimha, R., Rao, R. N. (1999).** Separation, identification and determination of sanguinarine in argemone and other adulterated edible oils by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A* 863, 123-126.
- Ide, N., Lau, B. H. S. (2001).** Garlic compounds minimize intracellular oxidative stress and inhibit Nuclear Factor-B activation. *J. Nutr.* 131, 1020-1026.

- Jamroz, D., Wertelecki, T., Wiliczkiwicz, A., Bodarski, R. (2002).** Influence of plant extract on the functions of the chickens intestinal tract. In: 7. Tagung Schweine- und Geflügelernährung (Rodehutscond, M. ed.), 26.-28. November, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, 75-77.
- Jones, G. (2001).** Leistungsstarke Tiere und Verbraucherschutz stehen nicht im Widerspruch. *Kraftfutter/Feed Magazine* 12, 468-473.
- Jones, R. R., Harkrader, R. J., Southard, G. L. (1986).** The effect of pH on sanguinarine iminium ion form. *J. Nat. Prod.* 49 (6), 1109-1111.
- Jost, M. (1996).** Einsatz von Knoblauchpulver im Ferkelaufzuchtfutter. *AGRARForschung* 3 (10), 479-481.
- Kähkönen, M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H. J., Rauha, J.-P., Pihlaja, K., Kujala, T. S., Heinonen, M. (1999).** Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *J. Agr. Food Chem.* 47, 3954-3962.
- Kamel, C. (2000).** A novel look at a classic approach of plant extracts. *Feed Mix (Special)*, 19-21.
- Kamphues, J., Hebler, D. (1999).** Leistungsförderer - Der Status Quo aus Sicht der Tierernährung. *Übersichten Tierernährung* 27, 1-28.
- Kluth, H., Schulz, E., Halle, I., Rodehutscond, M. (2002).** Zur Wirksamkeit von Kräutern und ätherischen Ölen bei Schwein und Geflügel In: 7. Tagung Schweine- und Geflügelernährung (Rodehutscond, M. ed.), 26.-28. November, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, 66-74.
- Koketsu, Y., Dial, G. D., Pettigrew, J. E., King, V. L. (1996).** Feed intake pattern during lactation and subsequent reproductive performance of sows. *J. Anim. Sci.* 74, 2875-2884.
- Kosina, P., Walterová, D., Ulrichová, J., Lichnovský, V., Stiborová, M., Rýdlová, H., Vičar, J., Krečman, V., Brabec, M. J., Šimánek, V. (2004).** Sanguinarin and chelerythrine: assessment of safety on pigs in ninety days feeding experiment. *Food Chem. Toxicol.* 42, 85-91.
- Krause, N. (1996).** Entwicklung eines HPLC-Verfahrens zur quantitativen Sanguinarin-Analytik in Futtermitteln. Dissertation, Veterinärmedizinische Universität Wien.
- Kubeczka, K.-H. (1982).** Qualitätsbeurteilung arzneilich verwendeter ätherischer Öle. *Deutsche Apotheker Zeitung* 122 (45), 2309-2316.
- Landesanstalt für Schweinezucht Forchheim (1996).** Sangrovit-Versuch. Versuchs- und Prüfungsbericht 1996.
- Leathwood, P. D. (1987).** Tryptophan availability and Serotonin synthesis. *Proc. Nutr. Soc.* 46, 143-156.
- Lee, S. E., Hwang, H. J., Ha, J.-S., Jeong, H.-S., Kim, J. H. (2003).** Screening of medical plant extracts for antioxidant activity. *Life Sci.* 73, 167-179.

- Lee, S. S., Kai, M., Lee, M. K. (2001). Inhibitory effects of sanguinarine on monoamine oxidase activity in mouse brain. *Phytother. Res.* 15, 167-169.
- Lenfeld, J., Kroutil, M., Maršálek, E., Slavík, J., Preininger, V., Šimánek, V. (1981). Antiinflammatory activity of quaternary benzophenanthridine alkaloids from *Chelidonium majus*. *Planta Med.* 43, 161-165.
- Lewis, A. J., Peo, E. R., Cunningham, P. J., Moser, B. D. (1977). Determination of the optimum dietary proportions of lysine and tryptophan for growing pigs based on growth, food intake and plasma metabolites. *J. Nutr.* 107, 1369-1375.
- Lis-Balchin, M., Deans, S. G. (1997). Bioactivity of selected plant essential oils against *Listeria monocytis*. *J. Appl. Microbiol.* 82, 759-762.
- Llames, C. R., Fontaine, J. (1994). Assays for amino acids: standardising methods throughout the EU. *Feed Int.* 77, 1362-1402.
- Maiti, M., Nandi, R. (1987). Circular Dichroism of sanguinarine-DNA complexes: Effect of base composition, pH and ionic strength. *J. Biomol. Struct. Dyn.* 5 (1), 159-175.
- Manzanilla, G., Martin, M., Baucells, F., Perez, J. F., Kamel, C., Gasa, J. (2002). Effect of plant extracts and formic acid on the performance and gut microflora of early-weaned piglets. *J. Anim. Sci.* 80 (1), 394.
- Mellor, S. (2001). Natural appetisers from plants. *Feed Mix* 9 (1), 29-31.
- Möhn, S., Susenbeth, A. (1994). Tryptophan requirement of pigs between 60 and 105 kg live weight. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 72, 252-259.
- Montgomery, G. W., Flux, D. S., Greenway, R. M. (1980). Tryptophan deficiency in pigs: Changes in food intake and plasma levels of glucose, amino acids, insulin and growth hormone. *Horm. Metab. Res.* 12, 304-309.
- Nandi, R., Maiti, M. (1985). Binding of sanguinarine to deoxyribonucleic acids of differing base composition. *Biochem. Pharmacol.* 34, 321-324.
- Naumann, C., Bassler, R. (eds) (1976). Die chemische Untersuchung von Futtermitteln. In: Methodenbuch, Vol. III, mit Supplementen von 1983, 1988, 1993 und 1997, VDLUFA-Verlag, Darmstadt, Deutschland.
- Netopilová, M., Dršata, J., Ulrichová, J. (1996). Influence of sanguinarine on the GABA synthesizing enzyme glutamate decarboxylase *in vitro*. *Pharmazie* 51, 589-591.
- Newton, S. M., Lau, C., Gurcha, S. S., Besra, G. S., Wright, C. W. (2002). The evaluation of forty-three plant species for *in vitro* antimycobacterial activities; isolation of active constituents from *Psoralea corylifolia* and *Sanguinaria canadensis*. *J. Ethnopharmacol.* 79, 57-67.
- Paulová, H., Slavík, J. (1993). Interaction of sanguinarine with human serum albumin. *Pharmazie* 48, 555-556.

- Peisker, M. (1999).** Efficiency of a lysine-tryptophan blend as a tryptophan source in animal nutrition. In: *Tryptophan, Serotonin, and Melatonin: Basic Aspects and Applications*. (Huether ed.), Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, 743-747.
- Perdok, H., Langhout, P., van Vugt P. (2003).** Stimulating appetite. *Feed Mix* 11, 10-13.
- Peters, J. C. (1991).** Tryptophan and metabolism: An overview. In: *Kynurenine and Serotonine Pathways* (Schwarz et al. eds.), Plenum Press, New York, 345-358.
- Przybilla, P., Weiß, J. (1998).** Die Mastleistung "natürlich" verbessern. *DGS Magazin Woche* 40, 52-57.
- Randolph, R. K., Gellenbeck, K., Stonebrook, K., Brovelli, E., Qian, Y., Bankaitis-Davis, D., Cheronis, J. (2003).** Regulation of human immune gene expression as influenced by a commercial blended Echinacea product: preliminary studies. *Exp. Biol. Med.* 228 (9), 1051-1056.
- Richter, G., Bargholz, J., Leiterer, M., Lüdke, H. (2002).** Prüfung von Futterzusätzen bei Ferkeln und Mastschweinen. In: *Forum angewandte Forschung in der Rinder- und Schweinefütterung 20./21.03.2002, Tagungsband*, 92-95.
- Salmore, A. K., Hunter, M. D. (2001).** Environmental and genotypic influences on isoquinoline alkaloid content in *Sanguinaria canadensis*. *J. Chem. Ecol.* 27 (9), 1729-1747.
- Schmeller, T., Latz-Bruning, B., Wink, M. (1997).** Biochemical activities of berberine, palmatine and sanguinarine mediating chemical defence against microorganisms and herbivores. *Phytochemistry* 44, 257-266.
- Schuhmacher, A., Hofmann, M., Boldt, E., Gropp, J. M. (2002).** Kräuter als alternative Leistungsförderer beim Ferkel. In: *Forum angewandte Forschung in der Rinder- und Schweinefütterung 20./21.03.2002, Tagungsband*, 85-87.
- Schutte, J. B., van Weerden, E. J. (1988).** Utilization of DL- and L-tryptophan in young pigs. *Anim. Prod.* 46, 447-452.
- Schwartz, H. G. (1986).** Safety profile of sanguinarine and sanguinaria extract. *Compend. cont. educ. dent.* 7 (7), 212-217.
- Seifen, E. E., Adama, R. J., Riemer, R. K. (1979).** Sanguinarine: A positive inotropic alkaloid which inhibits cardiac Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase. *Eur. J. Pharmacol.* 60, 373-377.
- Sen, A., Ray, A., Maiti, M. (1996).** Thermodynamics of the interactions of sanguinarine with DNA: Influence of ionic strength and base composition. *Biophys. Chem.* 59, 155-170.
- Šeškevičiene, J., Martinvičius, V. (2003).** The effect of preparations made from the plants *Sanguinaria canadensis* L. and *Chelidonium majus* L. on the fattening and slaughtering performance of pigs. In: 7<sup>th</sup> Conference of the European Society of Veterinary and Comparative Nutrition (Kamphues, J., Wolf, P., eds.), Hannover, 94.

- Šeškevičiene, J., Martinvičius, V., Rimkevčius, S., Jeroch, H. (2003).** Einfluss von phyto-genen Futterzusatzstoffen auf die Mast- und Schlachtleistung von Schweinen. *Veterinarija Ir Zootechnika* 23 (45), 96-98.
- Ševčík, J., Vičar, J., Ulrichová, J., Válka, I., Lemr, K., Šimánek, V. (2000).** Capillary electrophoretic determination of sanguinarine and chelerythrine in plant extracts and pharmaceutical preparations. *J. Chromatogr. A* 866, 293-298.
- Sève, B., Meunier-Salaün, M. C., Monnier, M., Colléaux, Y., Henry, Y. (1991).** Impact of dietary tryptophan and behavioral type on growth performance and plasma amino acids of young pigs. *J. Anim. Sci.* 69, 3679-3688.
- Sève, B. (1999).** Physiological roles of tryptophan in pig nutrition. *Adv. Exp. Med. Biol.* 467, 729-741.
- Shenolikar, I. S., Rukmini, C., Krishnamachari, K. A. V. R., Satyanarayana, K. (1974).** Sanguinarine in the blood and urine of cases of epidemic dropsy. *Fd. Cosmet. Toxicol.* 12, 699-702.
- Spiller, R. C. (2001).** Effects of serotonin on intestinal secretion and motility. *Curr. Opin. Gastroenterol.* 17, 99-103.
- Tanaka, T., Metori, K., Mineo, S., Hirotani, M., Furuya, T., Kobayshi, S. (1993).** Inhibitory Effects of Berberine-Type Alkaloids on Elastase. *Planta Med.* 59, 200-202.
- Tandon, S., Das, M., Khanna, S. K. (1993a).** Biometabolic elimination and organ retention profile of argemone alkaloid, sanguinarine, in rats and guinea pigs. *Drug Metab. Dispos.* 194, 194-197.
- Tandon, S., Das, M., Khanna, S. K. (1993b).** Effect of sanguinarine on the transport of essential nutrients in an everted gut sac model: Role of Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase. *Nat. Toxins* 1, 235-240.
- Tedesco, D. (2001).** The potentially of herbs and plant extracts as feed additives in livestock production. *Zootecnica e Nutrizione Animale* 27, 111-133.
- Ulrichová, J., Walterová, D., Preininger, V., Šimánek, V. (1983a).** Inhibition of butyrylcholinesterase activity by some isoquinoline alkaloids. *Planta Med.* 48, 174-177.
- Ulrichová, J., Walterová, D., Preininger, V., Slavík, J., Lenfeld, J., Cushman, M., Šimánek, V. (1983b).** Inhibition of acetylcholinesterase activity by some isoquinoline alkaloids. *Planta Med.* 48, 111-115.
- Ulrichová, J., Walterová, D., Vavrečková, C., Kamarád, V., Šimánek V. (1996).** Cytotoxicity of benzo[c]phenanthridinium alkaloids in isolated rat hepatocytes. *Phytother. Res.* 10, 220-223.
- Wald, C. (2002).** Untersuchung zur Wirksamkeit verschiedener ätherischer Öle im Futter von Aufzuchtferkeln und Broilern. Dissertation, Universität, Halle-Wittenberg.



- Wald, C. (2003).** Gewürze & Co. - eine Übersicht. *Lohmann Information* Juli-Sept. 3/2003, 1-5.
- Walker, C. (1990).** Effects of sanguinarine and sanguinaria extract on the microbiota associated with the oral cavity. *J. Can. Dent. Assoc.* 56 (7), 13-17.
- Walterová, D., Ulrichová, J., Preininger, V., Šimánek, V. (1981).** Inhibition of liver alanine amino transferase activity by some benzophenanthridine alkaloids. *J. Med. Chem.* 24, 1100-1103.
- Walterová, D., Ulrichová, J., Válka, I., Vičar, J., Vavrečková, C., Táborska, E., Harkrader, R. J., Meyer, D. L., Černa, H., Šimánek, V. (1995).** Benzo[c]phenanthridine alkaloids sanguinarine and chelerythrine: Biological activities and dental care applications. *Acta Univ. Palacki Olomuc Fac. Med.* 139, 7-16.
- Wang, B. H., Lu, Z. X., Polya, G. M. (1997).** Inhibition of eukaryote protein kinases by isoquinoline and oxazine alkaloids. *Planta Med.* 63, 494-498.
- Weber, M., Stenzel, P., Grimmer, A. (2002).** Erste Untersuchungsergebnisse zur Wirkung eines Futterzusatzstoffes auf Basis ätherischer Öle auf die Wachstumsleistung von Schweinen. In: *Forum angewandte Forschung in der Rinder- und Schweinefütterung 20./21.03.2002, Tagungsband*, 156-159.
- Weiß, J., Quanz, G. (2000).** Sie wirken nicht wie Leistungsförderer. *DGS Magazin* Woche 44, 35-37.
- Wenk, C. (2002).** Herbs, spices and botanicals: 'Old fashioned' or the new feed additives for tomorrow's feed formulations? Concepts for their successful use. In: *Biotechnology in the Feed Industry* (Lyons, T. P., Jacques, K. A., eds.), 79-97.
- Wetscherek, W. (1998).** Phyto gene Futterzusätze. *Kraftfutter/Feed Magazine* 10, 466-476.
- Wetscherek, W. (2002).** Einsatz von Fresta F bzw. Formic Stabil 65 in der Ferkelaufzucht. In: 7. Tagung Schweine- und Geflügelernährung (Rodehutschord, M. ed.), 26.-28. November, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, 159-161.
- Williams, M. K., Dalvi, S., Dalvi, R. R. (2000).** Influence of 3-Methylcholanthrene pretreatment on sanguinarine toxicity in mice. *Vet. Hum.. Toxicol.* 42 (4), 196-198.
- Zak, L. J., Cosgrove, J. R., Aherne, F. X., Foxcroft, G. R. (1997).** Pattern of feed intake and associated metabolic and endocrine changes differentially affect postweaning fertility in primiparous lactating sows. *J. Anim. Sci.* 75, 208-216.



## VIELEN DANK !

Nach Abschluss meiner Dissertation möchte ich mich bei allen (auch im Folgenden ungenannten Personen) bedanken, die mir in vielfältiger Weise geholfen haben, diese Arbeit zu erstellen.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. S. Wolffram, nicht nur für die Möglichkeit zur Promotion, sondern im Besonderen für seine stets engagierte Betreuung und Diskussionsbereitschaft sowie für die Förderung meiner Arbeit.

Für die Übernahme des Koreferates, Unterstützung bei der Versuchsplanung sowie seine Diskussionsbereitschaft bedanke ich mich bei Herrn Prof. Dr. A. Susenbeth.

Herrn Dr. G. Rave danke ich für die Hilfe bei der statistischen Auswertung der Daten.

Herzlich möchte ich mich bei Maike Jürgensen und Petra Schulz für das, trotz so mancher verlorener „HPLC-Kämpfe“, freundliche Arbeitsklima bedanken. Ohne Eure Hilfe wäre ich am analytischen Teil dieser Arbeit wohl verzweifelt!

Ganz generell gilt mein Dank allen Kolleginnen, Kollegen und HIWI's am Institut für die herzliche Atmosphäre sowie für das von Hilfsbereitschaft geprägte Klima. Einen Extradank an: Clemens Benthin, Dr. Ralf Blank, Rita Kopp, Wiebke Kühl, Frau Moebus, Frau Möhl und Prof. Dr. Karl-Heinz Südekum.

Für eine wirklich schöne Zeit, das freundschaftliche Verhältnis und die Hilfe bei größeren und kleineren Doktoranden-Problemen möchte ich mich bei meinen Mitstreitern (Thomas Dickel, Sandra Landgraf, Stephanie Lesser, Anne Sievers, Katharina Traulsen) im Raum 408 bedanken. Stephanie, einen Extradank für Dein meisterliches Korrekturlesen!

Weiterhin ein Dankeschön an den Agrarbetrieb Groß Grenz für die Möglichkeit zur Durchführung des Sauen-Versuches. Insbesondere möchte ich mich bei Uta Redepenning, Herrn Jörg Wessely, Frau Birgit Nimke und Herrn Ingo Staat für die hervorragende Zusammenarbeit im Stall bedanken. Außerdem vielen Dank an Herrn Dr. habil. Zepperitz für die Entnahme der Blutproben.

Katrin Kirchner danke ich für ihre Hilfe und offenen Ohren nicht nur in den Promotions-Jahren, sondern auch während des gesamten Studiums.

Ein besonderer Dank gilt André, der mir stets verständnisvoll zur Seite gestanden und mir dabei die nötigen Freiräume zur Anfertigung dieser Arbeit geschaffen hat. Letztendlich auch einen Dank für das emsige Korrekturlesen.

Meinen Eltern danke ich für ihren direkten Beitrag zu dieser Arbeit in Form ihres Einsatzes während des Sauen-Versuches. Insbesondere aber ein Dank für Eure vielfältige Unterstützung während meiner gesamten Ausbildung, Eurer Vertrauen und den von Euch geschaffenen Rückhalt Familie.

Abschließend möchte ich mich ganz herzlich bei der Firma Phytobiotics, insbesondere Herrn Dr. Hermann Roth, für die bedingungslose, finanzielle Unterstützung dieser Arbeit und die gelungene, zukunftsweisende Kooperation bedanken.



## **LEBENS LAUF**

Name: Kathrin Tschirner  
Geburtstag: 21.06.74  
Geburtsort: Bützow  
Staatsangehörigkeit: deutsch  
Familienstand: ledig

### Schulische Ausbildung

1980 - 1989 Polytechnische Oberschule Schwaan  
1989 - 1993 Gymnasium Bützow  
Abschluss: Allgemeine Hochschulreife

### Studium

10/1993 - 09/1994 Studium der Biologie an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel  
10/1994 - 07/1996 Grundstudium der Agrarwissenschaften an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel  
08/1997 - 07/2000 Hauptstudium der Agrarwissenschaften an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, Fachrichtung Tierproduktion  
Abschluss: Diplom-Agraringenieur

### Praktika

10/1997 - 07/1998 Wissenschaftliche Hilfskraft am Institut für Tierzucht und Tierhaltung der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel  
08/1998 - 09/1998 Schaumann, Forschungszentrum Hülsenberg, Wahlstedt  
10/1998 – 08/2000 Wissenschaftliche Hilfskraft am Institut für Tierernährung und Stoffwechselphysiologie der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel  
07/1999 - 09/1999 Hybridschweinezuchtverband Nord/Ost, Neubrandenburg  
09/2000 - 10/2000 Studienaufenthalt an der University of Leeds (Faculty of Biological Sciences, Centre for Animal Sciences) bei Dr. H. M. Miller

### Berufliche Tätigkeiten

08/1996 - 07/1997 Landwirtschaftliches Praktikum: Futterbau-Milchviehbetrieb H. Griesse, Revensdorf, Abschluss: Praktikantenprüfung  
01/2001 - 03/2004 Wissenschaftliche Mitarbeiterin am Institut für Tierernährung und Stoffwechselphysiologie der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel bei Prof. Dr. S. Wolffram,  
seit 04/ 2004 Produktmanagerin bei der Firma Phytobiotics Futterzusatzstoffe GmbH, Eltville



## **Eidesstattliche Erklärung**

Hiermit erkläre ich, dass ich die eingereichte Dissertation selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, nur die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt und die der benutzten Werke wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe, sowie die Dissertation noch keiner anderen Fakultät vorgelegt habe.

Kathrin Tschirner

Kiel, November 2004

