

Übertragung von Phytoöstrogenen aus Leguminosen in die Milch

– Eine Betrachtung entlang der Wertschöpfungskette –

Von MARTIN GIERUS, MIRJAM KOCH, Kiel und HARTWIG SCHULZ, Berlin

1 Einleitung, Definition und Historisches

In den vergangenen drei Jahrzehnten kam es zu einem verstärkten Interesse für Phytoöstrogene, die sowohl eine östrogenähnliche Wirkung im tierischen als auch im menschlichen Organismus erzielen können. In diesem Zusammenhang gibt es Vermutungen bis hin zu konkreten Beobachtungen, dass eine Phytoöstrogenexposition adverse Effekte im menschlichen bzw. tierischen Organismus verursachen kann. Jüngst wird jedoch vermehrt die Ansicht vertreten, dass Phytoöstrogene vielmehr gesundheitsfördernde und krankheitspräventive Eigenschaften besitzen. Pflanzliche Produkte repräsentieren die primären Quellen für Phytoöstrogene in der menschlichen Ernährung, aber auch landwirtschaftliche Nutztiere kommen als Phytoöstrogenquellen grundsätzlich infrage, da sie Futtermittel auf pflanzlicher Basis wie beispielsweise Leguminosen erhalten. Phytoöstrogene unterliegen im menschlichen und tierischen Organismus verschiedenen Umwandlungsprozessen und können schließlich in Blut, Urin und Milch nachgewiesen werden. Daher sind sie bei entsprechend vorausgegangener Fütterung auch in Produkten tierischen Ursprungs enthalten, die dann dem Menschen als Nahrungsquelle dienen.

Problematisch ist allerdings die Wirkung sekundärer Pflanzeninhaltsstoffe im tierischen Organismus. Einige natürlich vorkommende sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe besitzen strukturelle Gemeinsamkeiten zu endogenen Östrogenen, wodurch sie ähnliche Wirkungen wie die endogenen Hormone erzielen können (16). Allerdings besteht die Kenntnis über fruchtbarkeitsbeeinflussende Wirkungen von Pflanzen schon seit vielen Jahrhunderten. Bereits vor 2000 Jahren hat man im Orient dem Granatapfel eine fruchtbarkeits-symbolisierende Bedeutung zugesprochen (69). Mönche im Mittelalter wussten sich mit libidosenkenden Gewürzen und Heilpflanzen zu versorgen. Erstmals wissenschaftlich untersucht und bestätigt wurde das Vorkommen Östrogen-aktiver Substanzen in Pflanzen 1927 (53). Größere öffentliche Aufmerksamkeit erlangten Phytoöstrogene in den 1940er-Jahren durch den in Australien eingeführten Bodenfrüchtigen Klee (*Trifolium subterraneum* L.), nachdem darauf weidende Schafe an einer schweren Fruchtbarkeitsstörung, auch als „clover disease“ bekannt, erkrankten (71). Die Ursache der Krankheit wurde auf Östrogen-aktive Isoflavone des Bodenfrüchtigen Klees zurückgeführt (24).

Aufgrund von Berichten adverser Effekte durch Phytoöstrogene bei Tieren („clover disease“), kam die Befürchtung auf, dass ähnliche adverse Effekte auch beim Menschen zu erwarten sind, besonders bei einer Phytoöstrogenexposition in frühen, noch nicht voll ausgebildeten Entwicklungsstadien des Menschen, wenn Säuglinge aufgrund einer Kuhmilchallergie beispielsweise mit Säuglingsnahrung auf Sojabasis ernährt werden (86). Zum anderen wurde das intensive Forschungsinteresse an Phytoöstrogenen durch die aufkommende Hypothese geweckt, dass Krankheiten und Beschwerden, vordergründig verschiedene Krebsarten und Wechseljahrsbeschwerden der Frau, in asiatischen Ländern weniger aufzutreten scheinen als in westlichen Ländern. Dies wurde mit der unterschied-

lichen Ernährungsweise in Zusammenhang gebracht, die in asiatischen Ländern deutlich höhere Phytoöstrogenquellen in sich birgt als in westlichen Ländern (63; 108).

Die vorliegende Arbeit gibt zunächst einen Überblick zum bisherigen Wissensstand über Phytoöstrogene. Weiter soll die Frage beantwortet werden, ob, wie, in welchen Mengen und in Zusammenhang mit welchen Faktoren, Phytoöstrogene in Milch von Leguminosen gefütterter Kühe zu finden sind. Letztendlich wird bewertet, ob Milch (und eventuell auch Milchprodukte) eine bedeutsame Phytoöstrogenquelle für den Menschen darstellt, von der ausgehend Effekte für die Gesundheit des Milch- (und Milchprodukt-) Konsumenten Mensch zu erwarten sind.

2 Entstehungsweg und Bedeutung für die Pflanze

Phytoöstrogene stammen aus dem Sekundärstoffwechsel der Pflanze. Rein chemisch betrachtet sind Phytoöstrogene Polyphenole (42). Kennzeichnend für alle Phenole ist ein aromatisches Ringsystem, substituiert mit einer unterschiedlichen Anzahl an Hydroxygruppen. Der wichtigste Weg zur Synthese solcher Aromate ist der Shikimisäure-Stoffwechselweg, der in höheren Pflanzen in den Chloroplasten lokalisiert ist. Über verschiedene Zwischenprodukte entstehen im Shikimisäure-Stoffwechsel aus Shikimisäure die drei aromatischen Aminosäuren Phenylalanin, Tyrosin und Tryptophan. Aus Phenylalanin und Tyrosin kann nun wiederum durch Desaminierung Zimtsäure entstehen. Zimtsäure ist die Vorstufe aller sogenannter Phenylpropanoide, zu denen die Mehrheit aller Phytoöstrogene zählen (21; 36; 109).

Eine genaue Kenntnis über die biologische Bedeutung von Phytoöstrogenen in der Pflanze scheint bis heute weitgehend ungeklärt (102). Daten hierzu finden sich vor allem für Isoflavone. Isoflavone sind am pflanzlichen Abwehrsystem, der Signalinduktion und der Zell-Zell-Kommunikation beteiligt (74). So sind sie u. a. an der Auslösung der Symbiose zwischen Leguminosenspezies und Knöllchenbakterien beteiligt, die zur Fixierung des Luftstickstoffes und den von der Pflanze verwertbaren Ammoniumverbindungen führt (45; 72). Die symbiotische Beziehung zwischen Wirtspflanze und den Stickstoff fixierenden Bakterien erfordert für deren Entstehung und Aufrechterhaltung ein fein austariertes System, das einen komplexen Austausch von chemischen Signalen, wie die Signalsubstanzabgabe in Form von Isoflavonen, beider Partner beinhaltet (51).

Daneben sollen Isoflavone als induzierbare Abwehrtoxine, sogenannte Phytoalexine, in der Pflanze agieren. Diese werden zum einen von der Pflanze als Abwehrreaktion gegen Krankheit erregende Mikroorganismen wie Viren, Pilze und Bakterien, aber auch auf Stress auslösende Umweltfaktoren hin wie UV-Licht oder mechanische Schäden gebildet (89).

Des Weiteren gibt es konkrete Annahmen, dass Phytoöstrogene nicht rein zufällig östrogene Wirkungen erzielen können, sondern dass sie von der Pflanze gezielt produziert werden, um sich vor Herbivoren zu schützen, indem sie deren Fortpflanzungsfähigkeit beeinflussen und so als Bestandteil eines selbst regulierenden Systems deren Populationszuwachs begrenzen (39).

3 Einteilung, Vorkommen und Chemie

Ihre Strukturähnlichkeit zu endogenen Steroidhormonen erhalten Phytoöstrogene zum einen durch die Anwesenheit mindestens einer Phenolgruppe, die unabdingbar für die Bindung an die Östrogenrezeptoren ER- α und ER- β ist. Des Weiteren weisen sie in ihrer Struktur einen bestimmten, dem Östrogen ähnlichen Abstand zweier Hydroxylgruppen auf

und besitzen außerdem ein sehr niedriges Molekulargewicht (MW), das ebenfalls dem von Östradiol (MW = 272) sehr nahe kommt (109).

Die Gruppe der Phytoöstrogene lässt sich in zwei Untergruppen einteilen: die Flavonoide und die Nicht-Flavonoide. Die Flavonoide wiederum beinhalten die drei folgenden Strukturklassen: Isoflavone, Coumestane und Prenylflavonoide, während zu den Nicht-Flavonoiden z. B. die Lignane gehören (35).

3.1 Isoflavone

Isoflavone kommen überwiegend in der Ordnung der Hülsenfrüchtler (*Fabales*) und hier vor allem bei den Schmetterlingsblütlern (*Papilionoideae*) vor, wie z. B. in Rotklee (*Trifolium pratense* L.) und in Sojabohnen (*Glycine max* L. Merrill) (102). Die wichtigsten Isoflavone, die in Pflanzen vorkommen, sind Genistein, Daidzein, Glycitein, Biochanin A und Formononetin. Biochanin A und Formononetin sind Derivate von Genistein und Daidzein mit einer zusätzlichen Methylgruppe (35). Daneben sind weitere Isoflavone wie Prunetin, Irilion und Pratensein bekannt (32), die jedoch kaum in wissenschaftlichen Studien zu Phytoöstrogenen behandelt werden.

In der Pflanze liegen Isoflavone in aller Regel als Glukoside vor. In dieser Form sind sie biologisch inaktiv. Erst durch Darmbakterien und Enzyme des menschlichen oder tierischen Organismus werden sie hydrolytisch in ihre aktive Aglykonform umgewandelt (6). Zusätzlich sind die in der Pflanze vorliegenden Glukoside häufig an ihrer Glukosegruppe mit einer Acetyl- oder einer Malonylgruppe verestert und bilden sogenannte Acetyl- oder Malonylglukoside (14; 35). Als weitere chemische Eigenschaften der Isoflavone sind ihr niedriges Molekulargewicht sowie ihre hydrophoben Eigenschaften zu nennen. Durch Konjugation mit Glukose-, Sulfat- oder Glukuronidgruppen wird ihre Wasserlöslichkeit erhöht. Die Dekonjugation von Glukosiden zu Aglykonen findet unter sauren Bedingungen statt, während Acetyl- und Malonylgruppen sowohl unter sauren als auch unter basischen Bedingungen dekonjugiert (Abgabe der Acetyl- oder Malonylgruppe) werden können. Außerdem können aus Malonylglukosiden durch Decarboxylierung Acetylglukoside entstehen. All diese Prozesse werden durch Enzyme oder Mikroorganismen im menschlichen oder tierischen Organismus bewerkstelligt (35; 109).

3.2 Coumestane

Im Vergleich zu den Isoflavonen sind Coumestane bisher wenig erforscht. Auch sie sind besonders in Pflanzenarten der Familie der Hülsenfrüchtler wie Luzerne (*Medicago sativa* L.), Weißklee (*Trifolium repens* L.) und Sojabohne (*Glycine max* L. Merrill) vertreten (2). Vom strukturellen Aufbau her und auch in ihren chemischen Eigenschaften ähneln sie den Isoflavonen (40). Ihr wichtigster Vertreter ist Coumestrol. Diese Verbindung besitzt von allen bisher bekannten Phytoöstrogenen die höchste östrogene Aktivität (66).

3.3 Lignane

Reiche Quellen für Lignane sind, anders als bei den flavonoiden Phytoöstrogenen, neben Leguminosen auch Ölsaaten sowie Getreide wie Roggen und Gerste. Leinsamen (*Linum usitatissimum* L.) ist die bisher bekannteste und reichste Quelle für Lignane (108). Für die spezifische Form, in welcher Lignane in der Pflanze vorliegen, sind keine Östrogen-aktiven Wirkungen nachzuweisen. Erst durch Metabolisierungsprozesse in Mensch oder Tier entstehen aus den Östrogen-inaktiven Vertretern die Östrogen-aktiven und dem menschlichen Östradiol ähnelnden Verbindungen. Bekannte Östrogen-inaktive Vertreter der Lig-

nane sind Secoisolariciresinol und Matairesinol. Deren Östrogen-aktiven Metabolite sind die Diphenol-Verbindungen Enterodiol und Enterolacton (30; 33).

3.4 Prenylflavonoide

Die Strukturklasse der Prenylflavonoide hat vor allem an Bedeutung gewonnen, nachdem die Östrogen-aktiven Substanzen in Hopfen (*Humulus lupulus*, L.), der einen unverzichtbaren Bestandteil für die Bierherstellung darstellt, identifiziert werden konnten. Bezogen auf den Standort Mitteleuropa gehört Hopfen zu den Kulturpflanzen mit den höchsten enthaltenen Phytoöstrogengehalten. Wichtige Prenylflavonoidvertreter sind 8-Prenylnaringenin, 6-Prenylnaringenin, Isoxanthohumol und Xanthohumol (30). Der strukturelle Aufbau der Prenylflavonoide ähnelt ebenfalls dem der Isoflavone. Sie unterscheiden sich von diesen durch eine anders ausgerichtete Orientierung des Phenolringes sowie durch einen weiteren Substituenten, einer Prenylgruppe. Die zusätzliche Anwesenheit der Prenylgruppe verleiht ihnen eine erhöhte Wasserlöslichkeit im Vergleich zu den Isoflavonen (35).

4 Östrogene Aktivität

Alle Ansätze zur Bestimmung der östrogenen Aktivität basieren auf einer quantitativen Erfassung der Interaktion von Wirksubstanzen mit bestimmten Zielstrukturen (90). Dazu werden *in vivo* sowie *in vitro* Testverfahren eingesetzt. Bei den *in vivo* Testverfahren sind untersuchte Zielstrukturen die Vagina, der Uterus, die Ovarien und das Ovidukt weiblicher Wirbeltiere (48). *In vitro* Tests dagegen nutzen Zellen, Zellstämme oder Mikroorganismen zur Bestimmung der östrogenen Wirkung (37). *In vitro* Tests sind kostengünstig und auch aus ethischer Perspektive als vorteilhaft zu betrachten (90). Bei ihnen bleiben aber kinetische Faktoren wie Metabolismus und Bioakkumulation der untersuchten Substanzen unbeachtet, wodurch es schwierig wird, die gelieferten Ergebnisse auf *in vivo* Verhältnisse zu übertragen. *In vivo* Studien werden daher in aller Regel als aussagekräftiger betrachtet, da sie z. B. auch Informationen darüber liefern, ob aus der betreffenden Substanz möglicherweise eine hormonell inaktivere oder auch stärker wirksame Verbindung entstehen kann (31; 102).

Dennoch ist ein Darstellungsmittel östrogenen Aktivität und der Wirkungsstärke die sogenannte relative Bindungsaffinität (RBA), die über *in vitro* Testverfahren bestimmt wird. Hierbei wird die Affinität der Östrogen-aktiven Substanzen ermittelt, an einen Östrogenrezeptor zu binden. Die Bindungsaffinität von Östradiol wird dabei willkürlich auf 100 festgelegt, mit dem die jeweiligen Substanzen in einen quantitativen Vergleich gesetzt werden. Im COT-Report „Phytoestrogens and health“ von 2003 des Scientific Committee on Food (SCF) sind aus 18 Quellen Ergebnisse zur relativen Bindungsaffinität wichtiger Phytoöstrogene zusammengetragen worden (35). Es wurde dabei die folgende Reihenfolge aufgestellt: Östradiol \geq Coumestrol $>$ 8-Prenylnaringenin $>$ Genistein und Equol $>$ Daidzein $>$ Glycitein $>$ Biochanin A, Formononetin, 6-Prenylnaringenin, Xanthohumol und Isoxanthohumol. ADZERSEN und STROWITZKI (6) haben ebenfalls die Ergebnisse aus elf Quellen zu Untersuchungen der RBA zusammengetragen. Sie stellen die gleiche Reihenfolge auf, wie sie durch die Arbeitsgruppe des SCF zusammen gestellt worden ist. Außerdem führen die Autoren die Verbindungen Enterolacton, Enterodiol, Secoisolariciresinol und Matairesinol mit auf, die in dieser Reihenfolge noch hinter Isoxanthohumol folgen (6; 35).

Zu kritisieren ist an der Methode zur Bestimmung der RBA, dass unberücksichtigt bleibt, ob die untersuchten Phytoöstrogene östrogen als antiöstrogen wirken. Somit bleibt

ungeklärt, welche biologische Wirkung durch die Rezeptorinteraktion jeweils erzeugt wird. Dennoch wird die genannte Methode in der vorliegenden Arbeit mit aufgeführt, da sie im Falle einer östrogenen Wirkung eine anschauliche Vergleichsbasis zu Östradiol schafft.

5 Phytoöstrogenhaltige Leguminosen in der Milchviehfütterung

In den letzten Jahren kam es auf konventionell wirtschaftenden Milchviehbetrieben Deutschlands zu einem stetigen Anstieg der Milchleistung pro Kuh (91). Dies ist unter anderem auf eine zunehmende Optimierung der Fütterung zurückzuführen, was besonders auch den Einsatz qualitativ hochwertiger eiweißreicher Futtermittel einschließt. Im Jahr 1998 wurde im Zuge der BSE-Krise von der Europäischen Union ein Verbot der Tiermehlverfütterung ausgesprochen. Dies kann u. a. als Ursache gesehen werden, dass sich der Einsatz von Sojaextraktionsschrot stark etablieren konnte. Ideale Eiweißquellen im Grundfutter bilden allerdings Futterleguminosen wie Rotklee, Weißklee und Luzerne. Aufgrund steigender Preise anderer Proteinlieferanten ist die Verfütterung von Futterleguminosen auch für konventionell produzierende landwirtschaftliche Betriebe durchaus erwägenswert.

5.1 Phytoöstrogengehalte von Sojabohne (*Glycine max L. Merrill*) sowie darauf Einfluss nehmende Faktoren

Grundsätzlich geht man davon aus, dass die drei in der Sojabohne vorkommenden Hauptisoflavone im Verhältnis 10 : 8 : 1 (Genistein, Daidzein, Glycitein) vorliegen (105), die auch mit anderen Studien übereinstimmen (57; 101). In anderen Studien (8; 38) wird jedoch ein höherer Anteil von Daidzein gegenüber Genistein demonstriert. Eine einzige Studie lieferte auch Angaben über Coumestrol- und Lignangehalte (57). Gesamt-Phytoöstrogen- (bzw. Isoflavon-) Gehalte belaufen sich auf 0,71–12,61 g/kg Trockenmasse (TM) (8; 38; 101) und 0,59–1,41 g/kg TM (57). Das Trocknen oder Rösten von Sojabohnensamen führt zu keinen bedeutsamen Veränderungen der vorliegenden Phytoöstrogengehalte (34). Geröstete Sojabohnensamen zeigen jedoch ein höheres Vorliegen von Acetylglukosiden gegenüber Malonylglukosiden, infolge der Hitzebehandlung (11; 100). Sojamehl zeigt ebenfalls ein ähnliches Phytoöstrogenprofil wie unbehandelte Sojabohnensamen (11). Dies dürfte insofern von Bedeutung sein, da Sojamehl, wie Sojaextraktionsschrot (das überwiegend in der Tierfütterung Einsatz findet), aus den anfallenden Resten der Sojaölverarbeitung hergestellt wird und damit einen ähnlichen Produktionsweg aufweist. Daraus lässt sich schlussfolgern, dass auch Sojaextraktionsschrot ein ähnliches Phytoöstrogenprofil wie unbehandelte Sojabohnensamen aufweisen müsste. Es liegen bisher jedoch keine konkreten Untersuchungen zu Phytoöstrogengehalten von Sojaextraktionsschrot als Futtermittel vor, die diese Annahme belegen könnten.

Die Phytoöstrogengehalte der Sojabohne scheinen von verschiedenen Faktoren beeinflusst zu werden. Studien, die diese Interaktionen genauer untersuchten, beziehen sich dabei im Regelfall auf die Isoflavongehalte der Pflanze. Hierbei werden vor allem Umwelteinflüsse während der Entwicklungs- und Wachstumsphase der Sojabohne wie Temperatur, Wasserangebot und CO₂-Partialdruck angeführt. Ansteigende Temperaturen – künstlich herbei geführt mithilfe kontrollierter Klimakammern (27) oder durch klimatische Unterschiede im Laufe der Vegetationszeit oder auch im Wechsel der Jahre (61) – führten zu deutlichen Veränderungen der Gesamt-Isoflavongehalte (TIF). Nach Induktion eines Temperaturanstiegs von 18 auf 23 °C konnte festgestellt werden, dass die TIF-

Gehalte um 65 % fielen (27). Bei einem weiteren Temperaturanstieg von 23 auf 28 °C kam es sogar zu einer 90%igen Abnahme der TIF-Gehalte. Untersuchte Temperaturveränderungen in die andere Richtung führten erwartungsgemäß zu erhöhten Isoflavonwerten (61). Außerdem wurde die Wirkung von veränderten CO₂-Partialdrücken und verändertem Wasserangebot (simulierte mögliche Bedingungen eines Klimawechsels) auf die TIF-Gehalte bestimmt (27). Dabei wurde gefunden, dass CO₂-Partialdrücke von 700 ppm (gegenüber sonst 400 ppm) bei gleichzeitigem Wasserstress den Effekt höherer Temperaturen auf die TIF-Gehalte umkehrbar machen können. Andere Studien untersuchten genauer den Einfluss des Wasserangebotes. In einer zweijährigen Studie zeigten sich die niedrigsten TIF-Gehalte im trockeneren der beiden Versuchsjahre (80). Bei Beregnung des Pflanzenbestandes während der Entwicklungszeit wurde von einer Zunahme des TIF-Gehaltes berichtet (17).

Als weitere Einfluss nehmende Faktoren konnten der Saatzeitpunkt, der Anbaustandort sowie Sortenunterschiede identifiziert werden. Eine Verzögerung der Saatzeit führte zu höheren TIF-Gehalten. Eine Erhöhung der TIF-Gehalte um 38 % bei einer Saat Mitte Juni gegenüber einer Saat im frühen Mai wurde bestimmt (8), die eine andere Studie bestätigt (96). Anbauversuche von Sojabohnen an unterschiedlichen Orten, mit unterschiedlichen Sorten stellten klare Unterschiede zwischen den jeweils bestimmten TIF-Gehalten heraus, die auf Genotyp x Umweltinteraktionen zurückgeführt werden (38). Aufgrund der durchgeführten Versuche wurde vermutet, dass frühreife Sorten leichter durch Temperatur-Niederschlagsunterschiede beeinflusst werden können als späte Sorten (26). Grundsätzlich gibt es Sorten, die höhere oder niedrigere Isoflavongehalte aufweisen können (101). Schließlich sind noch Unterschiede der Isoflavongehalte in verschiedenen Teilen der Pflanze zu nennen. Dabei wiesen Sojabohnensamen die höchsten TIF-Gehalte auf (73). Auch Blätter, Stängel und Schoten enthalten Isoflavone, wobei die höchsten Gehalte in den Blättern zu finden sind.

5.2 Phytoöstrogengehalte von Rotklee (*Trifolium pratense* L.), Weißklee (*Trifolium repens* L.) und Luzerne (*Medicago sativa* L.) sowie darauf Einfluss nehmende Faktoren

Die Phytoöstrogengehalte für Rotklee stammen aus zwei Studien (57; 77), wobei es sich bei der ersten Studie (57) um die einzige Studie handelt, die auch Werte für Coumestane in Rotklee angibt. Lignangehalte wurden in keiner der genannten Studien ermittelt. Betreffend der drei Studien, auf denen die angegebenen Gehalte für Weißklee beruhen (75; 97; 107), ist anzumerken, dass die Werte von VETTER (97) sowie WU (107) die Summen aus untersuchten Phytoöstrogengehalten in Blättern, Stengeln und Blüten (97) bzw. Blättern, Stengeln, Blüten und Wurzeln darstellen. Die Studie von SALONIEMI (75) liefert für Weißklee die einzigen Angaben zu Coumestanen. Es fällt auf, dass diese in deutlich höheren Mengen gegenüber Rotklee vorliegen können, während Rotklee die eindeutig höheren Isoflavongehalte aufweist. Lignangehalte von Weißklee wurden ebenfalls nicht ermittelt. Jedoch gibt es andere Studien, die Rot- und Weißklee-basierte Futtermittel nach ihren Phytoöstrogengehalten untersuchten und Gehaltsangaben zu Lignanen geben. Die Werte für Luzerne beruhen auf zwei entsprechenden Arbeiten (57; 75). In Luzerne wurden im Vergleich zu Rotklee und Weißklee die höchsten Werte für unterschiedliche Coumestane gefunden (75). Die Isoflavonwerte liegen in Luzerne ebenfalls deutlich unter denen des Rotklee. Luzerne ist die einzige der genannten Futterleguminosen, für die in den hier verwendeten Arbeiten Lignangehalte angegeben werden (57).

Während Rotklee und auch Sojabohne vorwiegend Isoflavonlieferanten darstellen, können Weißklee und Luzerne bedeutsamere Quellen für Coumestane und Lignane sein. Vergleicht man die aufgeführten Werte für Phytoöstrogengehalte mit denen von der Soja-

bohne, kann festgestellt werden, dass Rotklee ein ähnliches Phytoöstrogenprofil wie unbehandelte Sojabohnensamen aufweist, vor allem in Bezug auf die vorliegenden Isoflavongehalte. Beide zeigen außerdem ähnliche Gesamt-Phytoöstrogengehalte: Sojabohnensamen (unbehandelt): 0,071–1,261 % in der TM (8; 38; 101) gegenüber Rotklee: 0,059–1,178 % in TM (57; 77). Ebenso wie für die Sojabohne sind auch für die Futterleguminosen Rotklee, Weißklee und Luzerne Faktoren bekannt, die Einfluss auf deren Phytoöstrogengehalte nehmen. Gegenüber den anderen Futterleguminosen sind dabei mehr Informationen für Rotklee in der Literatur vorhanden. Das kann damit erklärt werden, dass Weißklee und Luzerne im Vergleich zu Rotklee nur geringe Isoflavongehalte aufweisen, Isoflavone aber unter den Phytoöstrogenen im Forschungsmittelpunkt stehen. Rotklee zeigt insbesondere höhere Gehalte des Isoflavons Formononetin auf, das bei Nutztieren nach Umwandlung zu Equol für Fruchtbarkeitsstörungen verantwortlich gemacht wird (79), was ebenfalls zu einem erhöhten Forschungsinteresse geführt hat. Weißklee und Luzerne enthalten dagegen das Coumestan Coumestrol, das bereits in sehr kleinen Mengen (25 ppm) adverse Effekte bei Schafen ausgelöst haben soll (88).

Zu nennende Einflussfaktoren auf die Phytoöstrogengehalte der Pflanzen sind Temperatur, Nährstoffangebot, Wachstumsstadium, Welkegrad, Konservierungsmethode sowie Pilzbefall und Sortenunterschiede. Auch hier liegen Unterschiede in den Phytoöstrogengehalten innerhalb der verschiedenen Pflanzenteile vor. Analog zur Sojabohne besteht die Annahme, dass kühle Temperaturen während der Wachstumsphase zu einem Anstieg der Phytoöstrogengehalte in der Pflanze führen (58). Bezüglich des Nährstoffangebots zeigte Rotklee auf phosphorarmem Boden höhere Formononetingehalte als auf Phosphor gedüngtem Boden (58). Des Weiteren wird vermutet, dass es durch eine Stickstoffdüngung ähnlich wie für Rohprotein zu einer Abnahme der Phytoöstrogengehalte kommt (44). Bei Rotklee wird ein Einfluss des Wachstumsstadiums (76) herausgestellt: hohe Isoflavongehalte im Frühjahr, eine deutliche Abnahme während der Sommermonate und danach ein erneuter Anstieg. Für Weißklee konnte ein erhöhter Coumestrolgehalt im Herbst festgestellt werden. Die Autoren vermuten, dass dieser Anstieg mit den kühleren Temperaturen im Herbst zusammenhängt. Für Luzerne stellten sie dagegen keine saisonalen Unterschiede oder Zusammenhänge fest. Auch andere Autoren (77; 79) untersuchten Rotkleearten auf ihre Formononetingehalte und fanden ebenfalls die höchsten Gehalte im Frühjahr. Bis zur Blüte sind die Isoflavongehalte der Pflanze weiterhin verhältnismäßig hoch, danach kommt es zu einer Abnahme der Gehalte (58; 87). Außerdem wurde bei Rotklee der Einfluss des Anwelkgrades, der Effekt einer Silierung sowie Unterschiede bei Verwendung unterschiedlicher Siliermittel untersucht (77). Mit einem zunehmenden Welkegrad von 25 auf 40 % TM kam es zu einem Rückgang der Isoflavone Genistein und Biochanin A. Eine Silierung des Rotklees führte zu einer 18%igen Zunahme des Phytoöstrogengehaltes im Vergleich zu unbehandeltem Rotklee. Außerdem zeigten sich bei Verwendung von *Lactobacillus plantarum* gegenüber Milchsäure als Siliermittel höhere Gehalte der Isoflavone Genistein und Biochanin A. Auch die Ergebnisse von KALLELA (43) zum Einfluss einer Silierung auf die Phytoöstrogengehalte des Rotklees stimmen mit den vorgestellten Ergebnisse (77) überein. In frischen Pflanzenproben wurde dagegen um 22 % höhere Isoflavongehalte als in Silage und Heu ermittelt (87). Heu wies dabei die niedrigsten Isoflavongehalte auf. Die Autoren sehen ihre abweichenden Ergebnisse gegenüber SARELLI (77) bezüglich einer Silierung im Silierprozess selbst begründet. Eine erfolgreiche Silierung hängt von vielen Faktoren ab und kann dementsprechend leicht zu Variationen führen, was sich wiederum unterschiedlich stark auf die Phytoöstrogengehalte auswirken könnte.

Der Anstieg der Coumestrolgehalte in Weißklee und Luzerne wird als Folge eines Insekten- oder Pilzbefalles der Pflanze interpretiert. Die Gehalte sollten daher durch das

vorliegende Resistenzvermögen der Pflanze sowie durch die Stärke des Befalls bestimmt werden können (88; 99; 106), was eine weitere Bedeutung von Phytoöstrogenen erklärt.

Phytoöstrogene wurden in Blättern, Stängeln und Blüten gefunden, wobei die niedrigsten Gehalte für verschiedene *Trifolium*-Arten in den Stängeln gefunden wurden (97). Nach Blühbeginn nimmt der Isoflavongehalt in den Blüten stark ab (87), sodass sogar niedrigere Werte als in den Stängeln der Pflanze resultieren. In den Blättern wurden dagegen generell die höchsten Phytoöstrogengehalte festgestellt (87; 97).

In den letzten Jahren konnte beobachtet werden, dass zunehmend neue Rotkleeorten mit veränderten Phytoöstrogengehalten, wie z. B. einem niedrigen Formononetingehalt (22; 98) auf den Markt kamen. Im Jahr 1996 kam in der Schweiz erstmals eine auf niedrige Formononetingehalte gezüchtete Rotkleeorte (cv. ‚Formica‘) auf den Markt. Züchtungshintergrund war hier die Vermeidung von möglichen Fruchtbarkeitsstörungen insbesondere bei Schafen infolge einer Kleefütterung. Die Sorte ‚Formica‘ soll neben niedrigen Formononetingehalten auch in Ertrag und Qualität anderen Rotkleeorten nicht nachstehen (22).

6 Phytoöstrogenexposition des Milchrindes und Auswirkungen

6.1 Phytoöstrogenabsorption, -metabolismus und -exkretion

Aufgrund des besonderen Vormagensystems beim Wiederkäuer kommt es zu einer anderen Metabolisierung der Phytoöstrogene als beim Monogastrier bzw. Menschen. Vorrangiger Ort der Spaltungsprozesse der in der Pflanze als Glukoside vorliegenden Substanzen in ihre Aglykonform sowie weiterer Umwandlungsprozesse dieser ist der Pansen (65). Biochanin A wird durch Demethylierung zu Genistein und weiter durch Ringspaltung zu para-Ethylphenol und organische Säuren metabolisiert. Formononetin wird überwiegend zu Daidzein demethyliert. Aus Daidzein (bereits vorliegendes Daidzein und demethyliertes Formononetin) wird durch Hydrogenierung und Ringspaltung Equol gebildet. Anders als beim Menschen handelt es sich beim Wiederkäuer grundsätzlich um Equolbildner (54). Bei den aus Biochanin A und Genistein gebildeten Metaboliten handelt es sich um Östrogen-inaktive Substanzen. Der Metabolismus von Formononetin jedoch führt zu dem stärker östrogenwirksamen Metabolit Equol, der insbesondere für Fruchtbarkeitsstörungen bei Schafen verantwortlich gemacht wird (59). Die Umwandlungsprozesse durch Mikroorganismen im Pansen kann nach Aufnahme sechs bis zehn Tage dauern (2). Nur ein sehr kleiner Teil hydrolysiertes Phytoöstrogene (Aglykonform) wird direkt aus dem Pansen in den Blutkreislauf aufgenommen. Der Großteil unterliegt wie auch beim Menschen zunächst weiterer Konjugation, überwiegend mit Glukuronsäure. Dies findet allerdings, anders als beim Menschen, bereits im gastrointestinalen Epithelium statt und nur ein sehr kleiner Teil wird in der Leber konjugiert. Diese Tatsache lässt darauf schließen, dass bei Wiederkäuern die Leber eine geringere Rolle als Organ für Detoxifikationsprozesse spielt (54).

Wenig Wissen ist über den Metabolismus von Coumestanen bekannt. Coumestrol konnte ebenfalls als Konjugat mit Sulfat oder Glukuronsäure im Blut identifiziert werden (1; 2). Der Metabolismus von Lignanzen im Organismus des Wiederkäuers ist (nach unserem besten Wissen) noch nicht näher untersucht worden. Der Großteil der Aglykone und ihrer Metabolite sowie deren Konjugate werden über den Urin ausgeschieden (15) und können aber auch, wie beim Menschen, in verschiedenen Sekreten nachgewiesen werden wie beispielsweise in der Milch (3). Bisher scheint unklar zu sein, ob ähnliche menschl-

che Einflussfaktoren wie Alter und Ernährung auch beim Wiederkäuer eine relevante Rolle für die Prozesse der Phytoöstrogenabsorption, -metabolisierung und -exkretion spielen.

6.2 Auswirkungen durch Phytoöstrogenexposition für das Rind

Phytoöstrogene sind neben den möglichen Auswirkungen, die sie beim Menschen erzielen können, aufgrund ihrer vordergründig adversen Effekte auf das Reproduktionsgeschehen von landwirtschaftlichen Nutztieren von Interesse. Erstmals wurde die unerwünschte Wirkung von Phytoöstrogenen auf das Reproduktionsgeschehen von Schafen in den 1940er-Jahren in Australien beschrieben. Bei den auf Bodenfrüchtigem Klee (*Trifolium subterraneum* L.) grasenden Tieren zeigten sich schwere Fruchtbarkeitsstörungen in Form von Infertilität, Uterusvorfällen, erschwerten Geburten, Hypertrophie der Brustwarzen und einigen weiteren schwerwiegenden Symptomen (62). Seit 1954 weiß man, dass die Ursache der Krankheit auf östrogenwirksame Isoflavone des Bodenfrüchtigen Klees zurückzuführen sind (23). Die Krankheit ist namentlich als „Kleekrankheit“ („clover disease“) geläufig, wie bereits erwähnt. Es folgten weitere Veröffentlichungen zu ähnlichen Vorfällen bei Rindern und Schafen, die phytoöstrogenhaltige Leguminosen zu fressen bekamen, darunter isoflavonreiche Rotklee- und Coumestane liefernde Luzernesilage (2).

In der Schwere, wie Fruchtbarkeitsstörungen infolge der Kleekrankheit bei Schafen beschrieben wurden, scheinen sie bei Rindern nicht aufzutreten. Bei Schafen unterscheidet man zwischen der temporären und der permanenten Infertilität (2). Die temporäre Infertilität zeigt sich u. a. in einer reduzierten Eisprungrate und Empfängnis (52) sowie Schwellung und Rötung der Vulva und Brustdrüsen. Die Symptome verschwinden nach vier bis sechs Wochen, sofern die Tiere nun Phytoöstrogen-freies Futter angeboten bekommen (2). Anhaltende Exposition von phytoöstrogenhaltigem Futter kann jedoch eine permanente Infertilität bei Schafen auslösen. Dabei kann es zu einer nichtreversiblen Redifferenzierung östrogen Zielorgane bis hin zu einer Art vermännlichenden Entwicklung kommen, da die Schafe ihre kompletten sexuell-weiblichen Charakteristiken verlieren (2). Die erläuterten Fruchtbarkeitsstörungen bei Rindern können als temporäre Infertilität beschrieben werden. Es gibt keine Berichte über permanente Infertilität bei Rindern (1). Beschriebene Symptome temporärer Infertilität bei Rindern sind Zystenbildung nach Absterben der Eier, unregelmäßige Zyklen, Schwellung der Vulva und abnormes Verhalten der Tiere wie Nymphomanie oder Anöstrie (1; 2). Nach Entzug des phytoöstrogenhaltigen Futters kommt es wie bei Schafen wieder zu einer Abnahme und schließlich dem Verschwinden der Symptome. Dies kann jedoch bis zu mehrere Monate dauern, da sich gebildete ovariale Zysten nur langsam zurückbilden (1). Warum es zu unterschiedlich starken Effekten durch Phytoöstrogene auf das Reproduktionssystem von Schafen und Rindern kommt, ist bisher noch nicht eindeutig geklärt. Die unterschiedliche Schwere von reproduktionsmindernden Auswirkungen ist verwunderlich, da beide als Wiederkäuer grundsätzlich denselben Metabolisierungsweg von Phytoöstrogenen zeigen (2). Nähere Untersuchungen zu dennoch vorhandenen Unterschieden von Detoxifikationsprozessen zwischen Schafen und Rindern konnten keine Ergebnisse in dieser Richtung liefern (54). Eine mögliche Erklärung, warum Rinder weniger sensitiv auf phytoöstrogene Einflüsse reagieren, wird daher in Unterschieden der Östrogenrezeptoren beider Spezies vermutet (55). Nicht auszuschließen ist allerdings die unterschiedliche Körpermasse zwischen Schaf und Rind als Ursache zu den unterschiedlichen Reaktionen.

Für die reduzierte Fertilität bei landwirtschaftlichen Nutztieren werden unter den Isoflavonen vor allem Formononetin aufgrund seiner Umwandlung im Pansen in das östrogenwirksamere Equol (79) sowie die Isoflavone Genistein, Daidzein und Biochanin A verantwortlich gemacht (99). Auch Daidzein kann, wie bereits angeführt, zu Equol

metabolisiert werden. Jedoch liegt Formononetin häufig, zumindest in Kleepflanzen, in höheren Gehalten vor. Pflanzenarten, die Isoflavone in wirksamen Mengen enthalten, sind hauptsächlich Bodenfrüchtiger Klee (*Trifolium subterraneum* L.), Rotklee (*Trifolium pratense* L.), Alexandrinerklee (*Trifolium alexandrinum* L.) und Sojabohne (*Glycine max* L. Merrill) (99). Neben den Isoflavonen soll Coumestrol trotz der vergleichsweise geringen in der Pflanze vorkommenden Gehalte, Infertilität bei Schafen auslösen (76). Coumestan-Hauptfutterquellen sind Weißklee (*Trifolium repens* L.) und Luzerne (*Medicago sativa* L.) (76). Richtwerte, ab welchen Phytoöstrogengehalten im Futter Fruchtbarkeitsstörungen in landwirtschaftlichen Nutztieren auftreten können, liegen für Schafe vor, allerdings nur für Formononetin und Coumestrol. Demnach erzeugte Coumestrol bereits ab 25 mg/kg im Futter adverse Effekte und reduzierte die Fertilität (88). Der Formononetingehalt sollte nach australischen Angaben nicht 3 g/kg des Futters überschreiten, um Fruchtbarkeitsstörungen ausschließen zu können (64).

Bisher wenig erforscht wurden Futtermittel, die aufgrund ihres Sojaanteils phytoöstrogene Effekte bei Kühen erzielen. Zwei verhältnismäßig junge Studien von WOCLAWEK-POTOCKA und Mitarbeitern (103; 104), die sich mit dieser Thematik auseinandersetzen, werden im Folgenden näher vorgestellt. In der ersten Studie (103) berichten die Autoren von Fütterungsversuchen mit zwei unterschiedlich gefütterten Gruppen von Kühen, anhand derer mögliche Unterschiede zwischen beiden Gruppen in ihrer Effizienz der weiblichen Reproduktivität festgestellt werden sollten. Eine Gruppe von zwölf Tieren erhielt ein sojahaltiges Kraftfutter mit 2,5 kg extrudierten Sojabohnen (der Arbeit ist nicht zu entnehmen, ob es sich um vollfette Sojabohnen oder Sojaschrot handelte) sowie weiteren Anteilen von Raps und Getreide. Die Kontrollherde von zehn Kühen erhielt eine sojafreie Standarddiät. Im Futter der mit Soja gefütterten Tiere konnten signifikante Gehalte der beiden Isoflavone Genistein und Daidzein festgestellt werden; auch deren Metabolite Equol und p-Ethyl-Phenol wurden im Blut und Urin der Kühe nachgewiesen. Die weibliche Reproduktivität wurde anhand der erfolgreichen Befruchtungen und eintretenden Trächtigkeiten der Tiere bemessen. Während in der Kontrollgruppe vier von fünf Kühen trächtig wurden, waren es unter den Soja gefütterten Tieren nur drei von fünf. Dieser Rückgang wird auf den Einfluss der Phytoöstrogene bei der Freisetzung wichtiger Hormone, die bei der Trächtigkeit der Tiere eine Rolle spielen, zurückgeführt, da für diese eine positive Korrelation mit Equol- und p-Ethyl-Phenolgehalten im Blut der Kühe festgestellt werden konnte.

In der zweiten Studie (104) zu Auswirkungen von Phytoöstrogenen aus sojareichem Futter auf Kühe wurde der Vermutung nachgegangen, dass Tiere einen veränderten Phytoöstrogenmetabolismus während des Östrus und früher oder später Trächtigkeit zeigen. Die Autoren stellten fest, dass Kühe während früher Trächtigkeit höhere Isoflavonspiegel als während später Trächtigkeit aufwiesen. Aus diesem Grund könnte es sein, dass Kühe in dieser Zeit sensitiver auf Isoflavoneinflüsse reagieren als nichtträchtige Kühe oder solche während später Trächtigkeit.

Neben diesen unerwünschten Auswirkungen von Phytoöstrogenen aus Futtermitteln auf Kühe gibt es auch von einem erwünschten Effekt zu berichten. Lämmer, die Rotklee mit hohen Formononetingehalten (4,7 g/kg TM) zu fressen bekamen, erlangten höhere Gewichtszunahmen als Lämmer, die isoflavonarmen (3,3 g/kg TM) Rotklee oder Weidelgras (Isoflavongehalt: 0 g/kg TM) erhielten. Bei den Tieren, die auf formononetinreichem Rotklee grasten, zeigten sich erhöhte Wachstumshormongehalte im Blut. Es scheint hier eine erhöhte Freisetzung von Wachstumshormonen infolge einer erhöhten Phytoöstrogenexposition verursacht worden zu sein (60).

Der Frage, ob Phytoöstrogene ähnliche positive Auswirkungen auf die Gesundheit landwirtschaftlicher Nutztiere wie auf die Gesundheit des Menschen haben könnten, beispielsweise auf die Knochen oder das Herz-Kreislaufsystem, scheint bisher noch nicht näher untersucht worden zu sein.

7 Phytoöstrogene in der Nahrungskette: Phytoöstrogene in Milch Leguminosen gefütterter Kühe

7.1 Phytoöstrogene in Milch bei Sojabohnen-basiert gefütterten Kühen

Ebenso wie die Frage nach möglichen Auswirkungen einer phytoöstrogenhaltigen Fütterung durch Sojabohnen wurde auch die Fragestellung der Phytoöstrogenübertragung in die Milch bei einer sojahaltigen Fütterung von Kühen wissenschaftlich bisher nur wenig untersucht. Die beiden hier vorgestellten Arbeiten (46; 94) beziehen sich auf denselben Fütterungsversuch, der von Trínáctý (94) erstellt und durchgeführt wurde. Vier Holstein-Friesian Kühe in der Hochlaktation wurden in zwei Gruppen aufgeteilt, sodass eine Gruppe ein Kontrollfutter mit extrudiertem Rapskuchen (Gruppe R) und eine andere Gruppe ein Futter mit extrudierten vollfetten Sojabohnen (Gruppe S) erhielt. Das Experiment wurde in zwei Perioden von je 42 Tagen aufgeteilt, in denen sich die Soja-basierte Diät und Kontrolldiät zu je 21 Tagen abwechselten. Das aus extrudierten vollfetten Sojabohnen bestehende Futter enthielt rund 151 mg/kg Daidzein und 223 mg/kg Genistein. Die Phytoöstrogenlieferung der Kontrolldiät mit extrudiertem Rapskuchen lag dagegen bei 58,0 mg/d Isoflavonen insgesamt (94) bzw. 32 mg/d Daidzein und 27 mg/d Genistein (46). Plasma und Milchproben wurden dreimal pro Woche entnommen. Die Ergebnisse können wie folgt zusammengefasst werden: Die Phytoöstrogene Daidzein, Genistein und der Metabolit Equol lagen sowohl im Plasma als auch in der Milch bei Gruppe S in signifikant höheren Gehalten vor gegenüber Gruppe R. Der Genistein-Metabolit p-Ethylphenol wurde weder im Plasma noch in der Milch gefunden. Andere charakteristische Plasmawerte wie beispielsweise Cholesterin zeigten sich in keiner Gruppe außergewöhnlich beeinflusst. Informationen zu weiteren Ertrags- und Qualitätsparametern der Milch (94) sind vorhanden: Milcherträge lagen für Gruppe S höher als für Gruppe R. Die Milchfett- und Milcheiweißgehalte lagen für Gruppe R höher. Aufgrund der höheren Milchleistung von Gruppe S erzielte jedoch auch diese Gruppe insgesamt die höheren Milchfett- und Milcheiweißträge. Die angegebenen Werte der Phytoöstrogenwiederfindung in der Milch aus dem Futter wurden wie nachstehend bestimmt:

Wiederfindung von Daidzein bzw. Genistein ($\mu\text{g}/\text{mg}$) = (Summe aus Daidzein und Equol bzw. Genistein in der Milch) / (Summe der Daidzein- bzw. der Genistein-Futteraufnahme).

Zusätzlich zu den Ergebnissen der einen Studie (94) haben KRAJČOVÁ und Mitarbeiter (46) detaillierte Ergebnisse zu Fluktuationen der Plasma- und Milchgehalte von Daidzein, Genistein und Equol in Abhängigkeit der verschiedenen Fütterungsperioden zusammengestellt. Dabei zeigten sich im Plasma besonders für Equol ausgeprägte Gehaltsanstiege mit Einsetzen der Verabreichung des Soja-basierten Futters und ebenso rapide Abnahmen am Ende dieser Fütterungsperiode. Daidzein zeigte nicht ganz so ausgeprägte Gehaltsunterschiede. Noch unausgeprägter waren sie für Genistein. In der Milch zeigte Equol ähnliche Dynamiken wie im Plasma, jedoch mit insgesamt niedrigen Gehalten. Interessanterweise zeigten sich in der zweiten Periode des Experiments während der Soja-basierten Fütterungsphase niedrigere Equolgehalte gegenüber der Soja-basierten Fütterungsphase der ersten Periode. Daidzein und Genistein zeigten in der Milch ebenfalls unerwartete Dynamiken. Während Daidzein in seinen Gehalten kaum Veränderungen auf die sich abwechselnden Fütterungsperioden und in der zweiten Periode sogar leicht niedrigere Gehalte zeigte, wurden für Genistein in der ersten Periode zuerst hohe Gehalte, gefolgt von niedrigen Gehalten in der zweiten Periode bei gleichzeitigen kaum merklichen Gehaltsunterschieden in Abhängigkeit der Soja-basierten oder sojafreien Diät festgestellt. Zusammenfassend kann also gesagt werden, dass sich infolge einer daidzeinreichen Fütterung, wie sie für Gruppe S vorlag, hohe Equolgehalte im Plasma und in der Milch wiederfinden ließen. Daidzein selbst und auch Genistein zeigten im Plasma ähnliche Zusammenhänge.

In der Milch jedoch konnte keine Beziehung zwischen den vorliegenden Gehalten der Isoflavone und der jeweiligen Fütterung nachvollzogen werden.

Auffallend bei den Ergebnissen war, dass die Wiederfindung der Phytoöstrogene und Metabolite in der Milch aus dem Futter der Gruppe R deutlich höher lag als für die Gruppe S (46). Die Wiederfindungsrate in der Milch scheint also bei niedrigen Isoflavon-aufnahmemengen aus dem Futter höher als bei entsprechend erhöhten Isoflavon-aufnahmemengen zu sein. Dies könnte damit erklärt werden, dass die Metabolisierungsaktivität im Pansen und gastrointestinalen Epithelium sowie die weiteren Konjugationsprozesse, wie bereits beschrieben, limitiert sind, bevor die Isoflavone und Metabolite in den Blutkreislauf und schließlich auch in den Euter gelangen (92).

7.2 Phytoöstrogene in Milch bei Rot-, Weißklee- oder Luzerne-basiert gefütterten Kühen

Zur Übertragung von Phytoöstrogenen aus Rotklee-, Weißklee- oder luzernehaltigem Futter in Milch werden nachstehend zwei aus Dänemark stammende Studien (Studie 1 und Studie 2) beschrieben. Studie 1 (9) widmete sich der Phytoöstrogenübertragung in Milch von Kühen nach Vorlage verschiedener Luzernesilagen sowie von Gras-Kleesilage. Studie 2 (10) untersuchte die Phytoöstrogenübertragung in Milch von Kühen, die im Gegensatz zu Studie 1 keine Silage erhielten, sondern zuvor auf frischer Weißklee-, Rotklee-, Luzerne- oder zichoriereicher Weide grasten.

Die Versuchsdurchführung von Studie 1 (9) fand mit 16 Kühen der dänischen Holstein-Rasse aufgeteilt auf vier verschiedene Futtervarianten zu je drei Wochen statt. Bei den vier untersuchten Futtervarianten handelte es sich um Luzernesilage (LS), $\frac{2}{3}$ Luzerne- und $\frac{1}{3}$ Maissilage ($\frac{2}{3}$ LS), $\frac{1}{3}$ Luzerne- und $\frac{2}{3}$ Maissilage ($\frac{1}{3}$ LS) sowie Graskleesilage (GKS). Die zuvor angelegte Grasnarbe für die GKS bestand aus 40 % Wiesenschweidel (*Festulium*), ein Hybrid aus Wiesen-Schwingel und Einjährigem Weidelgras (*Lolium multiflorum* Lam. x *Festuca pratensis* Huds.), sowie 40 % Deutschem Weidelgras (*Lolium perenne* L.) und je 10 % Rot- und Weißklee (*Trifolium pratensis* L. und *Trifolium repens* L.). Die letztendliche kompositionelle Zusammensetzung der GKS bestand jedoch zu 97,4 % aus Gras und nur zu 2,6 % aus Klee, aufgrund intensiven Wachstums des Wiesenschweidels im Frühjahr. Neben dem experimentellen Futter erhielten die Kühe eine Standard-Futtermischung (Gerste, Rapskuchen, Zuckerrübenpülpe sowie Vitamin- und Mineralmix). Milchproben wurden zu jedem Ende einer Versuchsperiode (drei Wochen), Futterproben jeweils an Tag 6, 13 und 21 einer Versuchsperiode entnommen. Die Gehalte für Formononetin, Daidzein und Genistein lagen in der GKS deutlich höher gegenüber den anderen Futtervarianten. GKS zeigte sich außerdem als die Futtervariante mit überhaupt deutlich nachweisbaren Biochanin A- und Prunetingehalten. Demgegenüber zeigte Luzerne – bei zwar niedrigeren Isoflavongehalten gegenüber der GKS – für Coumestrol und Secoisolariciresinol höhere Gehalte. Für die Futtervarianten aus/mit Luzernesilage nahmen die Coumestrol- und Secoisolariciresinolgehalte mit geringerem Luzerneanteil ab, bei jedoch ähnlich bleibenden Isoflavongehalten. Es konnten außerdem keine signifikanten Unterschiede in Futteraufnahme und Milchertrag zwischen den einzelnen Futtervarianten festgestellt werden. Als Phytoöstrogenmetabolite in der Milch sind der Isoflavonmetabolit Equol und die Lignanmetabolite Enterolactone und Enterodiol identifiziert worden. Analog zu den Gras-Kleesilage-Futterproben zeigte auch die Milch der mit Klee-Grassilage gefütterten Kühe höhere Isoflavongehalte gegenüber den anderen Milchproben. Insbesondere für Equol, aber auch für die beiden Isoflavone Formononetin und Daidzein konnte dieser Effekt beobachtet werden. Luzerne und Luzerne-Maissilagen-Milchproben zeigten keine signifikanten Unterschiede in ihren Formononetin-, Daidzein- und Equolgehalten. Die

höchsten Enterolactongehalte zeigten jene Milchproben, bei denen die Kühe mit $\frac{1}{3}$ LS gefüttert wurden. Coumestrol zeigte die höchsten Gehalte in der Milch bei Fütterung mit Luzernesilage bzw. $\frac{1}{2}$ sowie $\frac{2}{3}$ Luzernesilage.

Die Studie 2 (10) wurde mit 48 Kühen der dänischen Holsteinrasse durchgeführt, die ebenfalls in vier Gruppen mit vier Futtermitteln aufgeteilt wurden: Weißklee-, Rotklee-, Luzerne- und zichoriereiche Weide. Wenn auch Zichorie (*Cichorium intybus* L.) als Nicht-Leguminose nicht im Interesse dieser Arbeit steht, schafft sie doch eine interessante Vergleichsbasis zu den anderen Leguminosenpflanzen und ihren Phytoöstrogengehalten. Das Weideexperiment wurde einmal im Mai und einmal im Juni durchgeführt. Jede Futterperiode fand 15 Tage statt. Die ein Jahr im Voraus für das Experiment angelegten Grasnarben wurden jeweils aus der Testspezies und drei unterschiedlichen Sorten von Deutschem Weidelgras (*Lolium* spp.) angelegt. Um die Futteraufnahmemengen unter den Kühen während des Weidens angleichen zu können, wurden die Weiden in gleich große Abschnitte unterteilt und eingezäunt. Die Kühe weideten 20 Stunden pro Tag. Zusätzlich erhielten sie zweimal täglich nach dem Melken eine Futtermischung, überwiegend aus Hafer sowie Heu und einem Mineralmix. Futterproben wurden zu Beginn jeder Futterperiode entnommen. Dazu wurden einzelne Pflanzen per Hand ab einer Stoppelhöhe von 5–6 cm abgerissen, um so eine repräsentativere Probe für die Futteraufnahme des Tieres zu erhalten gegenüber entnommenen Pflanzen direkt über der Bodenoberfläche. Die angegebenen Gehalte basieren auf Proben beider Perioden. Bei Betrachtung der Gesamt-Phytoöstrogengehalte fällt schnell auf, dass diese für Rotklee weide um ein Vielfaches höher gegenüber den anderen Weidevarianten lagen. Bis auf Chrysin zeigten sich hier für Naringenin, Biochanin A, Formononetin und Glycitein die höchsten Gehalte aller untersuchten Varianten. Zichorie zeigte die höchsten Chrysingehalte. Weißklee weide wies ebenfalls verhältnismäßig hohe Formononetingehalte auf. Daidzein und Genistein konnten aufgrund analytischer Probleme nicht bestimmt werden. Angaben zu Coumestanen und Lignanen in den untersuchten Proben liefern die Autoren nicht, was zumindest für die Lignane verwunderlich ist, da deren Metabolite als Phytoöstrogene in der Milch mit aufgeführt werden. Milchproben wurden jeweils am Tag 15 am Ende einer Periode entnommen. Es zeigten sich keine abweichenden Werte für Milchertrag und andere Qualitätsparameter zwischen den verschiedenen Weidevarianten. Die Metabolite Equol und Enterolacton sowie Naringenin waren die quantitativ am stärksten vertretenen Phytoöstrogene in allen Milchvarianten. Wie auch betreffend der Phytoöstrogengehalte der Weidevarianten selbst, zeigte auch hier die Rotklee-Milchvariante die höchsten Phytoöstrogengehalte. Im Vergleich zu den anderen Milchvarianten fanden sich hier die höchsten Equol-, Daidzein- und Formononetingehalte, aber geringere Enterolactongehalte. Die höchsten Enterolactongehalte zeigten die Weißklee-, Luzerne- und Zichorievarianten. Bei der hier beschriebenen Studie handelt es sich nach Angaben der Autoren um die erste Studie, die die Flavonoide Naringenin und Chrysin in Futtermitteln und in Milch sowie Phytoöstrogengehalte von Zichorie ermittelte. Die Zichorie-Milchvariante zeigte ähnliche Phytoöstrogengehalte wie die Weißklee- und Luzernemilchvarianten, jedoch im Mai mit deutlich höheren Equolgehalten, was insgesamt zu vergleichsweise hohen Gesamt-Phytoöstrogengehalten führte. Die Bestimmung des Glyciteingehaltes in der Milch soll nach eigenen Angaben der Autoren dieser Studie erstmalig beschrieben worden sein. Auch der Gehalt von Glycitein in Futtermitteln wurde bisher im Vergleich zu anderen Phytoöstrogenen nur selten in Studien ermittelt.

Bei Gegenüberstellung der jeweiligen Milchprobenergebnisse aus Mai und Juni kann festgestellt werden, dass die Gesamt-Phytoöstrogengehalte für alle Milchvarianten im Mai höher lagen als im Juni. Diese Beobachtungen stimmen mit den Ergebnissen (76; 77; 79), dass jüngere Aufwüchse höhere Phytoöstrogengehalte gegenüber älteren Aufwüchsen aufweisen, für Rotklee überein. Vergleicht man die gefundenen Phytoöstrogenwerte im Futter und in Milch mit Studie 1, kann man festhalten, dass Studie 1, trotz der wesentlich

geringeren Anteile von Rot- und Weißklee im Futter, gegenüber Studie 2, erstaunlich hohe Phytoöstrogengehalte in der Milch aufwies. Diese Tatsache unterstützt erneut die bereits erwähnte Annahme, dass der Transfer von Phytoöstrogenen aus dem Futter in die Milch aufgrund der dazwischenliegenden Metabolisierungsprozesse im Pansen und gastrointestinalen Epithelium des Tieres limitiert ist und folglich bestimmte höhere Gehalte aus dem Futter nicht mehr in die Milch transferiert werden (92). Studie 2 wies für die Rot- und Weißkleeproben im Vergleich zu einer anderen durchgeführten Studie (92) allgemein höhere Isoflavongehalte auf. STEINSHAMM und Mitarbeiter (92) untersuchten zwei Futtervarianten auf Basis von Rotklee- und Weißkleesilage sowie deren Phytoöstrogenübertragung in die Milch. Dem angegebenen Wissensstand nach (10) handelt es sich bei den beiden hier ausführlich beschriebenen Studien 1 und 2 sowie der genannten Studie von STEINSHAMM und Mitarbeitern (92) um die (zumindest bis dato) einzigen Arbeiten, die die Phytoöstrogenübertragung aus dem Futter in die Milch wissenschaftlich untersuchten.

Die gefundenen höheren Isoflavongehalte von Studie 2 (gegenüber 92) führen die Autoren (10) auf die Tatsache zurück, dass in ihrer Studie frisches Weidefutter gegenüber der Verwendung von Silage eingesetzt wurde. Die Autoren (10) gehen folglich davon aus, dass frisches Kleefutter höhere Phytoöstrogengehalte als Silage aufweist. Damit stimmen sie mit den bereits erwähnten Ergebnissen (87) überein, jedoch nicht mit den Ergebnissen anderer Autoren (43; 77). Zu bedenken sei, dass es sich bei der Silierung um einen dynamischen Prozess handle, der von vielen Faktoren abhinge und dementsprechend bei Schwankungen auch in einem unterschiedlichen Maß Einfluss auf die Isoflavongehalte im Futter nehmen könnte (10; 87).

Außerdem wurde der Einfluss einer Verabreichung eines Futterkonzentratmixes auf die Phytoöstrogenaufnahme des Tieres und die resultierenden Phytoöstrogengehalte in der Milch dieser Tiere untersucht (92). Bei dem verabreichten Konzentratmix handelte es sich im Prinzip um ähnliche Futtermischungen, die ebenfalls in Studie 1 und 2 zusätzlich zu dem experimentellen Futter angeboten wurden. Die Autoren (92) stellten fest, dass es gemeinsam mit Verabreichung des Konzentratmixes zu einer höheren Futteraufnahme der Tiere sowie höheren Milcherträgen kam. Des Weiteren wurden in der Milch der Futtergruppen mit Konzentratmix niedrigere Isoflavongehalte gemessen. Dies wird teilweise auf die insgesamt höhere Trockenmasseaufnahme der Tiere zurückgeführt. Lignane dagegen erhöhten sich in der Milch der Futtergruppen mit Konzentratmix. Auch in dieser Studie wurden für die Rotkleeproben (Futter und entsprechende Milch) die höchsten Isoflavongehalte gemessen.

Vergleicht man nun noch die gefundenen Isoflavongehalte in den Milchproben von Studie 1 und Studie 2 mit den gefundenen Isoflavongehalten in der Milch Sojabohnen-basiert gefütterter Kühe aus dem vorherigen Abschnitt, so kann vor allem festgestellt werden, dass die Rotklee-Milchvarianten höhere Equolgehalte als die Soja-Milchvarianten aufweisen. Insbesondere jene von Studie 2 der Milchvarianten von Mai. Überraschenderweise weist sogar die Zichorie-Milchvariante von Mai leicht höhere Equolgehalte gegenüber der Soja-Milchvariante auf. Die Gehalte für den Equolpräkursor Daidzein und für Genistein liegen jedoch allgemein in den Soja-Milchvarianten höher.

8 Phytoöstrogengehalte von Milch- und Milchprodukten

Verschiedene Studien haben sich der Untersuchung von Phytoöstrogengehalten in Kuhmilch mit Blick auf mögliche Unterschiede zwischen konventionell und ökologisch erzeugter Milch gewidmet. Dabei konnte festgestellt werden, dass Milch von ökologisch wirtschaftenden Betrieben deutlich höhere Phytoöstrogengehalte gegenüber konventionell wirtschaftenden Betrieben aufwies, insbesondere bezogen auf Daidzein und Equol

(12). Die Autoren (12) untersuchten Milch-Phytoöstrogengehalte außerdem dahingehend, ob Unterschiede zwischen fettarmer und normal-fetthaltiger Milch bestehen. Es konnten in dieser Studie keine signifikanten Unterschiede zwischen Milch-Phytoöstrogengehalten fettarmer und normal-fetthaltiger Milch festgestellt werden. In einer anderen Studie (49) fand man dagegen für Vollmilch höhere Phytoöstrogengehalte gegenüber fettreduzierter Milch, jedoch für Magermilch sowohl höhere Werte gegenüber Vollmilch als auch gegenüber fettreduzierter Milch. Daher ist zu vermuten, dass die vorliegenden Phytoöstrogengehalte in Milch in keinem Zusammenhang mit den jeweiligen Fettgehalten der Milch stehen. Außerdem wurden nach eigenen Angaben der Autoren erstmals Phytoöstrogengehalte weiterer Milchprodukte und damit von Lebensmitteln tierischen Ursprungs untersucht (49). Auch hier wies Joghurt aus biologischer Herstellung höhere Equolgehalte gegenüber konventionell hergestelltem Joghurt auf; außerdem zeigte er auffallend hohe Lignangehalte. Des Weiteren wurde festgestellt, dass verschiedene Käsesorten höhere Gesamt-Phytoöstrogengehalte gegenüber der jeweils für die Käseherstellung eingesetzten Milch aufwiesen. Das könnte man einerseits damit erklären, dass die Phytoöstrogengehalte aufgrund des zunehmenden TM-Gehaltes des Käses im Verlaufe der Käseherstellung ebenfalls ansteigen. Andererseits zeigte Joghurt, der vergleichsweise mit Käse verhältnismäßig niedrige TM-Gehalte aufweist, ähnlich hohe Gesamt-Phytoöstrogengehalte wie Käse. Folglich scheint auch kein Zusammenhang zwischen den vorliegenden Phytoöstrogengehalten im Milchprodukt und deren TM-Gehalten vorzuliegen.

9 Phytoöstrogenexposition des Menschen und Auswirkungen

Die Mechanismen der Absorption, Metabolisierung und der Exkretion von Phytoöstrogenen im menschlichen Körper sind noch nicht vollständig aufgeklärt. Das meiste Wissen besteht für Isoflavone und Lignane (35), anhand derer im Folgenden die genannten Mechanismen für Phytoöstrogene erläutert werden sollen. Für Prenylflavonoide und Coumestane liegen bislang keine Informationen aus der Literatur vor.

Die Absorption der Isoflavone und Lignane erfolgt im Dün- und Dickdarmbereich. Bedingung für eine erfolgreiche Absorption der Isoflavone ist das Vorliegen der Substanzen in ihrer Aglykonform. Da Isoflavone in der Pflanze und in pflanzlichen Produkten in aller Regel als Glykoside vorliegen, findet vorher eine hydrolytische Spaltung des Zuckerrestes mithilfe von intestinalen Bakterien (β -Glukosidasen) und damit die Bildung ihrer freien Aglykonformen (Daidzein, Genistein, Glycitein, Formononetin, Biochanin A) statt (35; 78).

Bevor es zur Resorption der Isoflavone kommt, können allerdings noch weitere Metabolisierungsprozesse stattfinden. Dabei kann aus Daidzein über Dihydrodaidzein entweder durch Spaltung des Phenolringes der Isoflavonmetabolit *o*-Desmethylangolensin oder unter Erhalt des Phenolringes Equol entstehen (41). Equol besitzt eine höhere Affinität an Östrogenrezeptoren zu binden als sein Präkursor Daidzein (85) und zeigt außerdem ausgeprägtere antioxidative Effekte gegenüber anderen Isoflavonen (13). Nicht alle Menschen können Equol bilden. Weltweit wird der Anteil zur Befähigung der Equolbildung mit 30–50 % geschätzt, wobei dieser in der asiatischen Bevölkerung ausgeprägter zu sein scheint als in der westlichen Bevölkerung (7; 18; 29; 84). Genistein kann analog zu Daidzein zuerst über Dihydrogenistein in 6'-Hydroxy-*o*-desmethylangolensin umgewandelt werden (41). Weitere Metabolisierungsprozesse für Formononetin und Biochanin A werden in der Literatur nicht angegeben. Diese beschränken sich wohl auf die Demethylierung beider Verbindungen, wodurch Formononetin zu Daidzein und Biochanin A zu Genistein umgesetzt wird, die dann den zuletzt geschilderten Umwandlungsprozessen unterliegen können.

Die mit der Nahrung aufgenommenen Lignane Secoisolariciresinol und Matairesinol werden mithilfe intestinaler Bakterien zu den im menschlichen Organismus vorkommenden Verbindungen Enterodiol und Enterolacton metabolisiert, bevor sie absorbiert werden können. Secoisolariciresinol wird durch Hydrolyse des Zuckerrestes, Dehydroxylierung und Demethylierung zu Enterodiol metabolisiert, welches durch Oxidation weiter zu Enterolacton umgewandelt werden kann. Matairesinol wird dagegen auf direktem Wege durch Dehydroxylierung und Demethylierung zu Enterolacton umgewandelt (6; 50).

Die bis hier beschriebenen Metabolisierungsvorgänge werden dem „Phase-I-Metabolismus“ zugeordnet. Nach Resorption gelangen die phytoöstrogenen Verbindungen via Pfortader in die Leber. Hier unterliegen sie dem „Phase-II-Metabolismus“, wo sie überwiegend durch Glukuronsäure- und Sulfotransferasen mit Glukuronsäure oder Sulfat konjugiert werden. Nach Absorption und Metabolisierung der phytoöstrogenen Substanzen sind sie in einer Vielzahl von Körperflüssigkeiten zu finden wie Plasma, Urin, Prostata- und Samenflüssigkeiten, Galle, Milch, Lungensekret sowie Zysteninhalte (102). In der Konjugatform werden sie überwiegend mit dem Urin oder mit der Galle ausgeschieden. Wobei die Gallenverbindungen anschließend einem enterohepatischen Kreislauf unterliegen (6; 35; 74; 78).

Eine Reihe von Faktoren kann die Bioverfügbarkeit von Phytoöstrogenen beim Menschen beeinflussen, wobei auch hier vor allem Informationen zu Isoflavonen vorliegen. Einfluss nehmende Variablen sind beispielsweise die Darmflora, das Alter, die Verarbeitung der Lebensmittel, die Art der Ernährung und die Dauer der Aufnahme (18; 74). Hinsichtlich der Faktoren Darmflora und Alter wurde u. a. festgestellt, dass Säuglinge einen niedrigeren Equolgehalt in Plasma und Urin aufweisen als Erwachsene, was auf die noch nicht vollständig ausgebildete Darmflora zurückgeführt werden kann (81).

Bezüglich der Verarbeitung von Lebensmittel kann sich das Verhältnis der darin enthaltenen Glykosid- zu freien aktiveren Aglykonisoflavonen verändern. So enthalten beispielsweise fermentierte Sojaprodukte wie Tempeh einen höheren Anteil an Aglykonen gegenüber unfermentierten Sojaprodukten wie Tofu (100). Beim Faktor Ernährung konnte neben anderen Einflüssen gezeigt werden, dass eine ballaststoffreiche Ernährung die Absorption und die Metabolisierung von Isoflavonen behindern kann. Dies wird damit begründet, dass bei Vegetariern, die regelmäßig faserreiche Nahrungsmittel zu sich nehmen, eine eingeschränkte bakterielle Enzymaktivität der β -Glukorinidasen gegenüber Nicht-Vegetariern festgestellt wurde (4; 74).

9.1 Auswirkungen durch Phytoöstrogenexposition für den Menschen

Verschiedene Untersuchungen, die den geschätzten Verzehr von Nahrungsöstrogenen zwischen westlicher und östlicher Weltbevölkerung verglichen, stellten fest, dass Menschen in östlichen Ländern deutlich mehr Phytoöstrogene aufnehmen als in westlichen Ländern (15). Dies ist vor allem in der unterschiedlichen Ernährungsweise beider Bevölkerungsgruppen begründet. In asiatischen Ländern besteht beispielsweise ein verbreiteter Konsum von Soja und Soja-basierten Lebensmitteln, die zu den phytoöstrogenreichsten Quellen in der menschlichen Ernährung zählen. Solche vergleichenden Untersuchungen fanden in aller Regel nur für Isoflavone statt. Die geschätzte tägliche Isoflavonaufnahme z. B. von Japanern liegt bei 25–45 mg (84). In anderen Gebieten Asiens konnten sogar Werte von 150–200 mg Isoflavonaufnahme pro Tag gefunden werden (95). Die Werte variieren zwischen ländlichen und städtischen Gebieten auf Absorption, Metabolismus und Exkretion von Phytoöstrogenen. Für die westliche Population wird dagegen die tägliche Isoflavonaufnahme auf maximal 1 mg geschätzt, sofern nicht zusätzlich entsprechende Nahrungsergänzungsmittel eingenommen werden. Dennoch ist festzuhalten, dass inzwischen eine große Menge an Lebensmittelprodukten Zusatzstoffe auf Sojabasis wie z. B. den

Emulgator Sojalecithin enthalten. Isoflavone migrieren gemeinsam mit der Proteinfraction während des Produktionsprozesses. Daher enthalten proteinfreie Sojaprodukte wie Sojalecithin oder Sojaöl auch keine Isoflavone (82). Bei Menschen mit einer vegetarischen Ernährung konnten leicht höhere Isoflavonaufnahmen von bis zu 3 mg täglich festgestellt werden (35). Viel bedeutsamer ist aber, dass neben den genannten Unterschieden der Ernährungsmuster ein geringeres Auftreten sowie eine geringere Mortalität durch Prostata- und Brustkrebs bei östlichen Bevölkerungsteilen festgestellt wurde, was letztendlich in Zusammenhang mit der phytoöstrogenreicheren Ernährung von Asiaten gebracht wird (5; 68; 95). Lebensstiländerungen asiatischer Frauen, z. B. durch Emigration in die USA, bewirkten innerhalb weniger Generationen (z. T. nur einer Generation) eine Erhöhung des Brustkrebsrisikos auf das Niveau einheimischer Frauen in den USA (47). Ähnliche Migrationsstudien liegen für das Prostatakrebsrisiko bei Männern vor (25).

Neben der krebspräventiven Wirkung werden Phytoöstrogenen weitere schützende Wirkungen gegen kardiovaskuläre Erkrankungen, postmenopausale Osteoporose und klimakterische Beschwerden zugesprochen (7; 47; 95). Bisher existieren aber noch keine belastbaren Beweise für eine präventive Wirkung von Phytoöstrogenen gegenüber den genannten Krankheiten und Beschwerden.

Zudem gibt es ebenso Annahmen über mögliche negative gesundheitliche Effekte für den Menschen durch Phytoöstrogene. Diese beziehen sich auf das Potenzial zur Auslösung nachteiliger Wirkungen auf Gebärmutter, Schilddrüse und das weibliche Brustdrüsengewebe, entgegen der bereits aufgeführten positiven Wirkungen auf Selbige (18; 32; 63). Des Weiteren werden Phytoöstrogene als eine mögliche Verursacherquelle für einen Rückgang männlicher Fertilität aufgeführt (93), auch wenn bisher diesbezüglich keine eindeutigen Ursachen oder Zusammenhänge herausgestellt werden konnten. Die Ernährung von Säuglingen mit Soja-basierter Babynahrung wird von vielen Stimmen kritisch und als schwer eindeutig bewertbar empfunden.

9.1.1 Ernährung von Säuglingen mit Babynahrung auf Sojaweißbasis

In der Europäischen Union dürfen Säuglinge mit Säuglingsanfangs- und -folgenahrung auf Basis von Kuhmilchprotein oder Sojaprotein ernährt werden. Erstmals wurden Sojabohnen als Grundstoff zur Herstellung von Säuglingsnahrung zu Beginn des 20. Jahrhunderts eingesetzt. Bis 1960 fand die Herstellung Soja-basierter Säuglingsnahrung aus Sojabohnenmehl statt. Inzwischen wird Babynahrung aber nur noch aus hoch gereinigtem Sojaweißisolat hergestellt (19; 70). Indikationen des Einsatzes von Säuglingsnahrung auf Sojabasis waren die Behandlung verschiedener Krankheiten von Säuglingen wie beispielsweise Durchfälle oder bei Unverträglichkeiten gegenüber Kuhmilchweiß. Dass der Nutzen und die Sicherheit dieses Vorgehens in Frage gestellt werden, ist erst eine Entwicklung der letzten Jahre. Besorgnisse entstanden vor allem vor dem Hintergrund hoher Phytoöstrogengehalte in den Säuglingsnahrungs-Produkten, aber auch wegen deren Gehalten an Phytat und Aluminium (70).

Ergebnisse aus Tierversuchen geben zur Besorgnis Anlass, dass Phytoöstrogene adverse Effekte auf die Entwicklung der Fortpflanzungsorgane, das Immunsystem und die Schilddrüse von Säuglingen bewirken können (19). Bisher gibt es jedoch keine Studien, die beim Menschen negative Auswirkungen auf die Reproduktionsorgane oder eine eingeschränkte Fertilität durch die Ernährung von Säuglingen auf Sojaweißbasis feststellten (19; 78). Dennoch gibt es ältere Befunde, die von einem eingeschränkten Immunsystem bei Säuglingen berichten, die auf Sojabasis ernährt wurden gegenüber einer Vergleichsgruppe, die Säuglingsnahrung auf Kuhmilchbasis erhielt (110). Eine Ursache dafür könnte jedoch darin liegen, dass damals Sojanahrung noch aus Sojabohnenmehl hergestellt wurde und noch nicht wie heute aus hoch gereinigtem Sojaweißisolat (19).

Die in der Sojabohne enthaltenen Isoflavone Genistein und Daidzein können die Schilddrüsenfunktion beeinträchtigen, was in Anwesenheit von Jod aber reversibel ist. Soja-Säuglingsnahrung enthält jene Isoflavone in entsprechendem Gehalt, die zu Beeinträchtigung der Schilddrüsenfunktion führen (70). Die Säuglingsnahrungen werden daher mit Jod angereichert. Bei Säuglingen mit einer angeborenen Schilddrüsenunterfunktion ist dies jedoch nicht ausreichend und eine zusätzliche Versorgung mit Schilddrüsenhormonen wird in diesen Fällen daher empfohlen (19). Negative Auswirkungen durch Sojasäuglingsnahrung traten außerdem in Form von Sojaallergien auf, die sich beispielweise in einer Studie (28) bei 3–4 % der Säuglinge zeigte. In einer andern Studie (81) wird die quantitative Exposition von Säuglingen beschrieben, die mit Säuglingsnahrung auf Sojaweißbasis ernährt werden. Die Analyse zeigt, dass die tägliche Aufnahme von Isoflavonen über die Säuglingsnahrung sechs- bis elffach höher liegt (in Relation zu ihrem Körpergewicht) als die Dosis, die bei Erwachsenen zu hormonellen Effekten führt. Die Plasmaspiegel der Säuglinge zeigen außerdem 13 000 bis 22 000-fach höhere Isoflavongehalte als die endogenen Östradiolgehalte. Ebenso wurden die Isoflavongehalte und der Plasmaspiegel von Säuglingen gemessen, die auf Kuhmilchbasis und mit Brustmilch ernährt wurden. Nach Einschätzung der Autoren sind die ermittelten Isoflavongehalte jedoch vernachlässigbar niedrig.

Stellungnahmen zur Verwendung von Säuglingsnahrung auf Sojaweißbasis wurden in vergangener Zeit von verschiedenen Seiten geäußert (19; 70). Die Verfasser scheinen sich darin einig zu sein, dass bei nicht oder nicht voll gestillten Säuglingen Kuhmilchweißprodukte für die Säuglingsernährung bevorzugt werden sollten. Sojaweißnahrung sollte dagegen nur bei Vorliegen begründeter Indikationen gewählt werden, wie sie beispielsweise bei einer angeborenen Laktoseintoleranz vorliegt. Des Weiteren wird befunden, dass die bisherigen vorliegenden Daten von Mensch und Tier noch zu unvollständig sind, um eine abschließende Bewertung im Hinblick auf mögliche unerwünschte Effekte von Sojasäuglingsnahrung vornehmen zu können (19; 70).

9.1.2 Risikoeinschätzung von Frauen- und Kinderärzten in Schleswig-Holstein

Im Hinblick auf die widersprüchlichen Indizien und die sich gegenüberstehenden Ansichten möglicher Auswirkungen durch eine Phytoöstrogenexposition auf den Menschen in der wissenschaftlichen Literatur, erschien es interessant, Fachleute nach ihrer Meinung zu dieser Thematik zu befragen.

Tabelle 1. Isoflavongehalte und geschätzte tägliche Isoflavonaufnahmemengen von Isoflavon-Präparaten auf Soja- und Rotkleebasis und von Säuglingsnahrung auf Sojaweißbasis

Produkt	Isoflavongehalt	Geschätzte Isoflavon-Aufnahme/d
Säuglingsnahrung auf Sojaweißbasis (Pulver)	26,3 mg/100 g*	
Säuglingsnahrung auf Sojaweißbasis (angerührt)	3–247 µg/ml**	4,5–8,0 mg/kg Körpergewicht/d**
Isoflavonpräparat auf Sojabasis	20 oder 60 mg/Kapsel***	20–120 mg/d****
Isoflavonpräparat auf Rotkleebasis	20 oder 40 mg/Kapsel***	20–120 mg/d****

Quellen: (* 67; ** 81; *** 56; **** 20)

In Tabelle 1 sind Isoflavongehalte sowie geschätzte tägliche Isoflavonaufnahmemengen von Isoflavonpräparaten auf Soja- und Rotkleebasis und von Säuglingsnahrung auf Sojaweißbasis angegeben. Es wird gezeigt, dass die Gehalte deutlich über den geschätzten Isoflavonaufnahmemengen in westlichen Ländern liegen, sofern keine Einnahme spezieller Präparate oder besondere Ernährungsgewohnheiten vorliegen. Isoflavonpräparate auf Soja- oder Rotkleebasis zur Behandlung von Wechseljahrbeschwerden der Frau sind inzwischen in jeder Apotheke und in jedem gut sortiertem Drogeriemarkt frei zu erhalten. Auch die Verwendung von Säuglingsnahrung auf Sojaweißbasis steht in der EU, wie bereits erwähnt, allen Eltern offen. Daher erschien es von größtem Interesse, eine Einschätzung und Bewertung von Fachleuten zur Einnahme der genannten isoflavonhaltigen Präparate bzw. über die Verabreichung Sojaweiß-basierter Babynahrung zu erhalten. Hinsichtlich der vorliegenden Thematik wurden mehrere Frauen- und Kinderärzte/innen befragt, da sie sich im Rahmen ihrer beruflichen Praxis häufig mit Fragen zu Wechseljahrbeschwerden und Beratung bei der Säuglingsernährung auseinandersetzen müssen.

Es wurden insgesamt 80 Ärzte/innen, davon 40 Frauen- und 40 Kinderärzte/innen, in Kiel und Umgebung sowie über die verschiedenen Landkreise Schleswig-Holsteins auf postalischem Wege befragt. Von 41 angeschriebenen Ärzten/innen trafen Rücksendungen ein. Da die Ärzte/innen bis auf Angabe ihrer Postleitzahlen anonym behandelt wurden, können hier keine Detailangaben hinsichtlich der Antwort gebenden Frauen- oder Kinderärzte/innen gemacht werden. Die Mehrheit der befragten Ärzte/innen gab an, kein Gefährdungspotenzial für den Menschen durch die Einnahme phytoöstrogenhaltiger Präparate oder durch die Verabreichung von Babynahrung auf Sojabasis zu sehen. Bei der Frage nach einer konkreteren Bewertung von Phytoöstrogenen auf die menschliche Gesundheit schätzten 16 von 41 Ärzte/innen die Einnahme phytoöstrogenhaltiger Präparate bzw. die Babyernährung auf Sojabasis für „bedenklich“ ein. Diese gegebenen Einschätzungen können sehr wahrscheinlich denselben Ärzten/innen zugeordnet werden, die angaben, ein Gefährdungspotenzial durch die Einnahme phytoöstrogenhaltiger Präparate oder durch die Verabreichung von Babynahrung auf Sojabasis zu sehen. Insgesamt 15 von 41 Ärzte/innen hielten die Einnahme phytoöstrogenhaltiger Präparate bzw. die Verabreichung von Babynahrung auf Sojabasis für „unbedenklich“. Eine Minderheit von vier Ärzten/innen gab an, die entsprechenden Präparate bzw. Säuglingsnahrungen für „empfehlenswert“ bzw. sechs Ärzte/innen für „empfehlenswert mit Grenzwert je Präparat“ zu halten.

Weiterhin wurde nach einer Einschätzung von Grenzwerten für tägliche Aufnahmemengen von Isoflavonen (0–25 mg, 25–50 mg, 50–100 mg, 100–150 mg und >150 mg) gefragt, ab denen eine Störung im menschlichen Organismus zu erwarten sei. Diese Frage wurde getrennt für den menschlichen erwachsenen und den menschlichen kindlichen Organismus gestellt. Die eindeutige Mehrheit machte zu diesen Fragen keine Angaben. Einerseits, nach eigenen Anmerkungen der Ärzte/innen, aufgrund mangelnder Kenntnis oder aufgrund des noch ausstehenden Forschungsbedarfes dazu. Jene Ärzte/innen, die eine Einschätzung von Grenzwerten angaben, setzten diese für den kindlichen Organismus niedriger an als für den erwachsenen Organismus. So sahen sechs Ärzte/innen bereits im Bereich von 0–25 mg Isoflavonaufnahme täglich eine Gefährdung für die Gesundheit der Säuglinge. Für diesen Grenzwertbereich sahen allerdings nur zwei der befragten Ärzte/innen eine Gefährdung bei Erwachsenen; die Mehrheit befand erst tägliche Aufnahmemengen in einer Größenordnung von mindestens 50 mg als grenzwertig.

Außerdem wurde der Frage nachgegangen, ob regionale Unterschiede beim Antwortverhalten der befragten Ärzte/innen in den verschiedenen Teilen Schleswig-Holsteins festzustellen sind. Bei Auswertung der angegebenen Postleitzahlen in Zusammenhang mit der Frage nach einer konkreteren Bewertung von Phytoöstrogenen für die menschliche Gesundheit, zeigt sich für Kiel und Umgebung eine knappe Mehrheit für die Einschätzung „unbedenklich“. Außerdem scheint der Auswertung nach eine deutlichere Mehrheit der

Ärzten/innen in Kiel und Umgebung ansässig, die Phytoöstrogeneinnahmen für „empfehlenswert“ bzw. „empfehlenswert mit Grenzwert je Präparat“ halten.

Es kann also zusammengefasst werden, dass von den Befragten mehrheitlich kein ausgehendes Gefährdungspotenzial von Phytoöstrogenen für die menschliche Gesundheit gesehen wird. Jedoch würde nur eine Minderheit der Ärzte die Einnahme von Phytoöstrogenen ihren Patienten empfehlen. Erstaunlich ist, dass die Werte bezüglich einer Grenzwerteinschätzung zum Teil mehrheitlich in Bereichen liegen, die durchaus über eine „normale“ Einnahme von Isoflavonpräparaten oder durch Verabreichung von Säuglingsnahrung erreicht werden (Tab. 1). Von dieser Minderheit der Ärzte/innen mit Grenzwertangaben wird also mit anderen Worten eine klare gesundheitliche Gefährdung durch die Einnahme üblicher Isoflavonpräparate oder die Säuglingsernährung auf Sojabasis befürchtet.

10 Schlussfolgerungen und Ausblick

Anhand verschiedener Studien wurde gezeigt, dass Phytoöstrogengehalte nach voraus gegangener Leguminosenfütterung der Kühe in Milch festzustellen sind und diese in Abhängigkeit der Fütterung variieren. Im Vergleich zu anderen phytoöstrogenreichen Nahrungsquellen und auch im Vergleich zu den verfütterten Leguminosen selbst, stellt Kuhmilch jedoch eine wenig bedeutsame Phytoöstrogenquelle dar. Im Gegensatz dazu, weisen isoflavonhaltige Nahrungsergänzungsmittel und Säuglingsnahrung auf Sojaweißbasis deutlich höhere Phytoöstrogengehalte als Milch auf. Auch Milchprodukte zeigen gegenüber den anderen genannten Phytoöstrogenquellen niedrige Phytoöstrogengehalte, auch wenn die Gesamt-Phytoöstrogengehalte für verschiedene Käsesorten gegenüber Milch selbst höher liegen können.

Es wurden verschiedene Studien vorgestellt, mithilfe derer veranschaulicht wurde, dass weiterhin Unklarheit darüber besteht, ob die von Phytoöstrogenen ausgehenden Effekte auf die menschliche Gesundheit allgemein als positiv oder negativ zu beurteilen sind. Vielmehr kann angesichts des aktuellen Wissensstandes gesagt werden, dass eine solche Beurteilung nicht möglich scheint. Zutreffender ist, dass Phytoöstrogene aufgrund ihrer Eigenschaft, sowohl östrogen als auch antiöstrogen wirken zu können, sowie in Abhängigkeit des jeweiligen Zielorgans und der zahlreichen weiteren Einfluss nehmenden Faktoren, positive und negative gesundheitliche Effekte erzielen können. Es bedarf daher weiterer Untersuchungen mit dem Ziel, die bestimmenden Faktoren der Phytoöstrogen-Wirksamkeit aufzuklären.

Wirksame Phytoöstrogengehalte, ab denen ein Effekt (positiv als auch negativ) zu erwarten sein kann, können als wesentlich höher eingestuft werden, als sie in Milch- und Milchprodukten vorliegen. Effekte in Humanstudien, die durch Einnahme von Phytoöstrogenen (Isoflavonen) festgestellt werden konnten, traten in aller Regel erst ab Aufnahmemengen von 40 mg/Tag auf. Folglich erscheint es auch hier praktisch unmöglich, über Milch annähernd hohe Phytoöstrogenmengen aufzunehmen, ab denen in Humanstudien Effekte beobachtet werden konnten. Dennoch gilt zu berücksichtigen, dass bisher kaum Wissen darüber besteht, inwiefern verschiedene Phytoöstrogenquellen additive oder synergistische Effekte erzielen können, wozu auch Milch als Phytoöstrogenquelle beitragen könnte.

Milch besitzt ein Potenzial als Equolquelle, insbesondere die Milch von Kühen, die mit Rotklee gefüttert wurden. Da nicht alle Menschen befähigt sind, Equol zu bilden, dieser Substanz aber gegenüber den anderen Isoflavonen eine überlegene östrogene und antioxidative Aktivität zugesprochen wird, könnte diese Milch ein bedeutsamer Equollieferant für die angeführte Bevölkerungsgruppe darstellen. Dazu müssten jedoch weitere

Untersuchungen stattfinden, um zu klären, ob der in Milch vorkommende Equolgehalt bereits eine Wirkung erzielen kann bzw. ob sich durch eine weitere Erhöhung der Equolkonzentration positive gesundheitliche Effekte erzielen lassen. Dabei sollte jedoch auch betrachtet werden, welche Effekte bei einer phytoöstrogenreichen Fütterung eventuell beim Tier verursacht werden.

Aufbauend auf dem Potenzial von Milch als Equolquelle, wären weitere Studien zur Übertragung von Phytoöstrogenen aus Leguminosen in Milch wünschenswert. Insbesondere wären Untersuchungen zu Phytoöstrogengehalten von häufig an Kühe verfütterten Sojaextraktionschroten von Interesse. Außerdem könnten die genauen Auswirkungen einer Silierung von Klee- und luzernehaltigem Futter auf die enthaltenden Phytoöstrogengehalte Gegenstand weiterer Studien sein. Ebenso sollte der Vermutung weiter nachgegangen werden, dass Phytoöstrogene im Wiederkäuermetabolismus einer Limitierung unterliegen, was wiederum eine limitierte Phytoöstrogenübertragung aus dem Futter in die Milch begründen würde.

Zusammenfassung

Phytoöstrogene sind neben synthetischen Östrogenen, Xenoöstrogenen und Mykoöstrogenen exogen Hormon-aktive Substanzen mit sowohl östrogenen als auch antiöstrogenen Aktivität. Dadurch können Phytoöstrogene erwünschte und auch unerwünschte Effekte im tierischen und menschlichen Organismus bewirken. Primäre Phytoöstrogenquellen in der menschlichen Ernährung stellen pflanzliche Produkte dar. In der Tierfütterung sind insbesondere Leguminosen bedeutsame Phytoöstrogenquellen. Dabei hat die Verfütterung von Soja, insbesondere in Form von Sojaextraktionschroten in den vergangenen Jahren innerhalb der konventionellen Landwirtschaft stark an Bedeutung gewonnen. Im ökologischen Landbau werden für die Rinderfütterung überwiegend Futterleguminosen als Eiweißquelle genutzt. Sojabohnen und Rotklee weisen ähnliche Phytoöstrogenprofile auf und stellen gegenüber Weißklee und Luzerne größere Phytoöstrogenlieferanten dar, besonders für Isoflavone. Weißklee und Luzerne können bedeutsame Coumestan- und Lignan-Lieferanten sein. Die in den Pflanzen vorliegenden Phytoöstrogengehalte können durch verschiedene umwelt- und ackerbautechnische Faktoren beeinflusst werden. Es wurde in der vorliegenden Arbeit der Frage nachgegangen, ob auch Milch (und Milchprodukte) als tierisches Produkt, aufgrund vorausgegangener leguminosenhaltiger Milchviehfütterung, Phytoöstrogene enthält und ob diese in Gehalten vorliegen, die Effekte beim Menschen hervorrufen können. Es wurde herausgestellt, dass Milch-Phytoöstrogengehalte (und auch Milchprodukt-Phytoöstrogengehalte) deutlich unter Werten liegen, für die in Studien Effekte bei Mensch und Tier beobachtet werden konnten. Jedoch sind mögliche additive Effekte verschiedener Phytoöstrogenquellen nicht auszuschließen, zu denen Milch als Phytoöstrogenquelle beitragen könnte, da anders als beim Menschen, es sich beim Wiederkäuer grundsätzlich um Equolbildner handelt. Milch stellt eine potenzielle Quelle des Isoflavonmetaboliten Equol für Nicht-Equolbildner dar, dem überlegene östrogene und antioxidative Eigenschaften gegenüber anderen Phytoöstrogenen zugesprochen werden.

Summary

Phytoestrogen carryover into cow's milk from legumes – an overview along the food chain

Phytoestrogens are hormone-like compounds with estrogen and anti-estrogen activity, with positive and negative effects on the animal and human organism. Primary sources of phytoestrogens in human nutrition are of plant origin. Legumes are the primary source of phytoestrogens in animal nutrition, with soybean meal as the main form of concentrate being fed to livestock in conventional farms. Red clover is more frequently fed to livestock in organic agriculture and, compared with white clover or alfalfa, it contains mostly isoflavones. In contrast, white clover and alfalfa show higher contents of coumestans and lignans. Beside the different phytoestrogen compounds present in forage plants, biotic and abiotic factors may contribute to variable contents. Another important aspect of phytoestrogens in animal nutrition is their ability to be transferred into milk in dairy cattle nutrition. The contents found in milk and milk products may have adverse effects for human nutrition. Literature data suggest that the contents observed in milk are low in comparison to the values which are considered as critical in studies with animals and humans. A cumulative effect from different phytoestrogen sources however cannot be excluded. Equol is basically produced by ruminants, and milk is a potential source of equol, to which stronger estrogen and antioxidative properties are attributed in comparison with other phytoestrogens.

Résumé

La teneur du lait en phytoestrogènes issus des légumineuses – une étude tout au long de la chaîne d’approvisionnement

Les phytoestrogènes sont, tout comme les estrogènes synthétiques, les xénoestrogènes et les mycoestrogènes, des substances à activité hormonale exogène capables d’exercer une activité œstrogénique ou anti-œstrogénique. Les phytoestrogènes ont donc la capacité de provoquer des effets recherchés mais également des effets non-recherchés sur l’organisme animal ou humain. Dans l’alimentation humaine, ce sont les produits végétaux qui en constituent la source principale. En ce qui concerne l’alimentation animale, ce sont notamment les légumineuses qui fournissent des phytoestrogènes ce qui explique pourquoi le soja, et notamment les remoulages de soja, revêtent une importance croissante dans l’agriculture conventionnelle pendant les dernières années. Dans le domaine de l’agriculture biologique, les légumineuses fourragères tiennent une place prépondérante en tant que source de protéines dans l’alimentation des bovins. Les graines de soja et le trèfle des prés, dont la composition de phytoestrogènes est comparable, sont plus riches en phytoestrogènes – notamment en isoflavones – que le trèfle blanc et la luzerne. En revanche, ces derniers constituent des sources importantes de coumestane et de lignane. Les quantités de phytoestrogènes contenues dans ces plantes peuvent varier en fonction de différents facteurs environnementaux ou agricoles. La présente étude avait pour objet de vérifier si une alimentation du bétail laitier constituée par des légumineuses riches en phytoestrogènes provoque une concentration de phytoestrogènes dans le lait et les produits laitiers (des produits d’origine animale) et d’analyser si cette concentration atteint un niveau susceptible de provoquer des effets sur les hommes. Il a été constaté que la concentration de phytoestrogènes dans le lait (et leur concentration dans les produits laitiers) est nettement inférieure au niveau de concentration pour lequel des effets sur le corps humain ou animal ont été observés dans les études. Toutefois, les ruminants étant normalement des producteurs d’équoles – contrairement aux hommes –, les effets additifs de plusieurs sources de phytoestrogènes en combinaison avec le lait en tant qu’une telle source de phytoestrogènes ne sauraient être exclus. Le lait constitue une source d’équol potentielle pour les non-producteurs d’équol. Cet métabolite des isoflavones possède des effets œstrogéniques et antioxydants beaucoup plus forts que chez d’autres sources de phytoestrogènes.

Literatur

1. ADAMS, N. R., 1989: Phytoestrogens. In: CHEEKE, P. R. (ed.). Toxicants of plant origin. Vol. IV: Phenolics. CRC Press, Boca Raton, 23–51.
2. –, 1995: Detection of the effects of phytoestrogens on sheep and cattle. *Journal of Animal Science*, 73, 1509–1515.
3. ADLERCREUTZ, H.; FOTSIS, T.; BANNWART, C.; MÄKELÄ, T.; WÄHÄLÄ, K.; BRUNOW, G.; HASE, T., 1985: Assay of lignans and phytoestrogens in urine of women and in cow’s milk by GC/MS (SIM). In: TODD, J. F. J. (ed.). Advances in mass spectrometry – 1985. Proceedings of the 10th International Mass Spectrometry Conference. John Wiley Chichester.
4. –; HOCKERSTEDT, K.; BANNWART, C.; BLOIGU, S.; HAMALAINEN, E.; FOTSIS, T.; OLLUS, A., 1987: Effect of dietary components, including lignans and phytoestrogens, on enterohepatic circulation and liver metabolism of estrogens and on sex hormone binding globulin (SHGB). *The Journal of Steroid Biochemistry*, 27, 1135–1144.
5. –; HONJO, H.; HIGASHI, A.; FOTSIS, T.; HAMALAINEN, E.; HASEGAWA, T.; OKADA, H., 1991: Urinary excretion of lignans and isoflavonoid phytoestrogens in Japanese men and women consuming traditional Japanese diet. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 54, 1093–1100.
6. ADZERSEN, K. H.; STROWITZKI, T., 2003a: Endokrinologie der Phytoöstrogene. Hintergrund und klinische Implikationen. *Gynäkologische Endokrinologie*, 1, 1–11 (DOI 10.1007/s10304-003-0016-7).
7. –; –, 2003b: Phytoöstrogene, welchen Effekt haben sie auf hormonmodulierte Krankheiten? *Gynäkologische Endokrinologie*, 1, 15–27.
8. AL-TAWAHA, A.; SEGUIN, P., 2006: Seeding date, row spacing, and weed effects on soybean isoflavone concentrations and other seed characteristics. *Canadian Journal of Plant Science*, 1079–1087.
9. ANDERSEN, C.; WEISBERG, M. R.; HANSEN-MØLLER, J.; SEJRSEN K., 2009a: Effect of forage on the content of phyto-oestrogens in bovine milk. *Animal*, 3, 617–622.
10. –; NIELSEN, T.S.; PURUP, S.; KRISTENSEN, T.; ERIKSEN, J.; SØEGAARD, K.; SØRENSEN, J.; FRETTE, X.C., 2009b: Phyto-oestrogens in herbage and milk from cows grazing white clover, red clover, lucerne or chicory-rich pastures. *Animal*, 3, 1189–1195.
11. ANDERSON, R. L.; WOLF, W. J., 1995: Compositional changes in trypsin inhibitors, phytic acid, saponins and isoflavones related to soybean processing. *Journal of Nutrition*, 125, 581S–588S.

12. ANTIGNAC, J. P.; CARIOU, R.; LE BIZEC, B.; ANDRÉ, F., 2004: New data regarding phytoestrogens content in bovine milk. *Food Chemistry*, 87, 275–281.
13. ARORA, A.; NAIR, M. G.; STRASBURG, G. M., 1998: Antioxidant activities of isoflavones and their biological metabolites in a liposomal system. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 356, 133–141.
14. BARNES, S.; KIRK, M.; COWARD, L., 1994: Isoflavones and their conjugates in soy foods: extraction conditions and analysis by HPLC-mass spectrometry. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 42, 2466–2474.
15. –; SFAKIANOS, J.; COWARD, L.; KIRK, M., 1996: Soy isoflavonoids and cancer prevention. Underlying biochemical and pharmacological issues. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 401, 87–100.
16. BARRETT, J., 1996: Phytoestrogens: Friends or foes? *Environmental Health Perspectives*, 104, 478–482.
17. BENNETT, J. O.; YU, O.; HEATHERLY, L. G.; KRISHNAN, H. B., 2004: Accumulation of genistein and daidzein, soybean isoflavones implicated in promoting human health is significantly elevated by irrigation. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 52, 7574–7579.
18. BfR (Bundesinstitut für Risikobewertung), 2007a: Isolierte Isoflavone sind nicht ohne Risiko. Auszug vom 19.09.2011.
19. –, 2007b: Säuglingsnahrung aus Sojaweiß ist kein Ersatz für Kuhmilchprodukte. Auszug vom 19.09.2011.
20. –, 2008: Risiken pflanzlicher Stoffe – Das Beispiel der Isoflavone. Auszug vom 12.09.2011.
21. BICKEL-SANDKÖTTER, S., 2003: Nutzpflanzen und ihre Inhaltsstoffe. Quelle & Meyer Verlag Wiebelsheim.
22. BOLLER, B., 1996: Formica, ein Mattenklee mit reduziertem Östrogengehalt. *Agrarforschung*, 10, 486–488.
23. BRADBURY, R. B.; WHITE, D. E., 1951: The chemistry of subterranean clover; Part. I. Isolation of formononetin and genistein. *Journal of the Chemical Society*, 4, 3447–3449.
24. –; –, 1954: Estrogens and related substances in plants. *Vitamines and Hormones*, 12, 207–233.
25. BRAWLEY, O. W.; KNOPF, K.; THOMPSON, I., 1998: The epidemiology of prostate cancer part II: the risk factors. *Seminars in Urologic Oncology*, 16, 193–201.
26. BRITZ, S. J.; SCHOMBURG, C. J.; KENWORTHY, W. J., 2011: Isoflavones in seeds of field-grown soybean: variation among lines and environmental effects. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 88, 827–832.
27. CALDWELL, C. R.; BRITZ, S. J.; MIRECKI, R. M., 2005: Effect of temperature, elevated carbon dioxide, and drought during seed development on the isoflavone content of dwarf soybean [(*Glycine max* L.) Merrill] grown in controlled environments. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 53, 1125–1129.
28. CANTANI, A.; LUCENTI, P., 1997: Natural history of soy allergy and /or intolerance in children and clinical use of soy protein formulas. *Pediatric Allergy Immunology*, 8, 59–74.
29. CASSIDY, A., 2006: Factors affecting the bioavailability of soy isoflavones in humans. *Journal of Association of Official Analytical Chemists*, 89, 1182–1188.
30. COS, P.; DE BRUYNE, T.; APERS, S.; VANDEN BERGHE, D.; PIETERS, L.; VLIETINCK, A. J., 2003: Phytoestrogens: recent developments. *Planta Medica*, 69, 589–599.
31. DEGEN, G. H., 2004: Endokrine Disruptoren in Lebensmitteln. *Bundesgesundheitsblatt-Gesundheitsforschung-Gesundheitsschutz*, 47, 848–856.
32. DFG SKLM (Deutsche Forschungsgemeinschaft, Ständige Senatskommission zur gesundheitlichen Bewertung von Lebensmitteln), 2006: Isoflavone als Phytoöstrogene in Nahrungsergänzungsmitteln und diätischen Lebensmitteln für besondere medizinische Zwecke. Endfassung vom 10. November 2006. Auszug vom 18.09.2011.
33. EFFENBERGER, K., 2004: Der Einfluss von Phytoöstrogenen auf Estrogenrezeptor gesteuerte Expressionsmuster in unterschiedlichen Zellpopulationen – Untersuchung potentieller pflanzlicher Alternativen zur Hormonersatztherapie in der Menopause. Universität Hamburg, Dissertation.
34. FRANKE, A. A.; CUSTER, L. J.; CERNA, C. M.; NARALA, K., 1995: Rapid HPLC analysis of dietary phytoestrogens from legumes and from human urine. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 208, 18–26.
35. FSA (Food Standard Agency), 2003: Phytoestrogens and health. *Auszug vom 02.09.2011*.
36. GAMMIE, J. S., 1974: Estrogenic activities of native and cultivated legume species. The University of British Columbia, Master Thesis.
37. HEISTERKAMP, I., 2003: Biotest-geleitete chemische Analyse östrogen wirksamer Substanzen in Oberflächengewässern. Universität Lüneburg, Dissertation.
38. HOECK, J. A.; FEHR, R. F.; MURPHY, P. A.; WELKE, G. A., 2000: Influence of genotype and environment on isoflavone contents of soybean. *Crop Science*, 40, 48–51.
39. HUGHES, C. L. jr., 1988: Phytochemical mimicry of reproductive hormones and modulation of herbivore fertility by phytoestrogens. *Environmental Health Perspectives*, 78, 171–175.

40. HUMFREY, C. D. N., 1998: Phytoestrogens and human health effects: weighing up the current evidence. *Journal of Natural Toxins*, 6, 1–59.
41. JOANNOU, G. E.; KELLY, G. E.; REEDER, A. Y.; WARING, M.; NELSON, C., 1995: A urinary profile study of dietary phytoestrogens. The identification and mode of metabolism of new isoflavonoids. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 54, 167–184.
42. JUNGBAUER, A.; MEDIJAKOVIC, S., 2005: Phytoöstrogene in der Nahrung. *Ernährung*, 29, 406–424
43. KALLELA, K., 1975: The effect of storage on the oestrogenic effect of red clover silage. *Nordisk Veterinær Medicin*, 27, 562–569.
44. –; SAASTAMOINEN, I.; HUOKUNA, H., 1987: Variations in the content of plant oestrogens in red clover – Timothy-grass during the growing season. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 28, 255–262.
45. KOSSLAK, R. M.; BOOKLAND, R.; BARKEI, J.; RAAREN, H. E.; APPELBAUM, E. R., 1987: Induction of *Bradyrhizobium japonicum* common nod genes by isoflavones isolated from *Glycine max*. *Proceedings of the National Academy of Science*, 84, 7428–7432.
46. KRAJČOVÁ, A.; SCHULZOVÁ, V.; LOJZA, J.; KRÍŽOVÁ, L.; HAJŠLOVÁ, J., 2010: Phytoestrogens in bovine plasma and milk – LC-MS/MS analysis. *Czech Journal of Food Sciences*, 28, 264–274.
47. KRENN, L. M. 2008: Phytoöstrogene in Soja und ihre Wirkungen. *Journal für Ernährungsmedizin*, 10, 16–18.
48. KUCH, H.; BALLSCHMITER, K., 1999: Hormonell wirksame Verbindungen in der Umwelt Baden-Württembergs. *Arbeitsbericht Nr. 151. Akademie für Technikfolgenabschätzung in Baden-Württemberg, Stuttgart*.
49. KÜHNLE, G. G. C.; DELL'AQUILA, C.; ASPINALL, S. M.; RUNSWICK, S. A.; MULLIGAN, A. A.; BINGHAM, S. A., 2008: Phytoestrogen content of foods of animal origin: Dairy products, eggs, meat, fish, and seafood. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 56, 10099–10104.
50. KURZER, M. S.; XU, X., 1997: Dietary phytoestrogens. *Annual Review of Nutrition*, 17, 353–381.
51. LAROSE, G.; CHÉNEVERT, R.; MOUTOGLIS, P.; GAGNE, S.; PICHÉ, Y.; VIERHEILIG, H., 2002: Flavonoid levels in roots of *Medicago sativa* are modulated by the developmental stage of the symbiosis and the root colonizing arbuscular mycorrhizal fungus. *Journal of Plant Physiology*, 159, 1329–1339.
52. LIGHTFOOT, R. J.; WROTH, R. H., 1974: The mechanism of temporary infertility in ewes grazed on subterranean clover prior to and during joining. *Proceedings of Australian Society of Animal Production*, 10, 130–134.
53. LOEWE, S.; LANGE, F.; SPOHR, E., 1927: Über weibliche Sexualhormone (Thelytropine) *Biochemische Zeitschrift*, 180, 1–26.
54. LUNDH, T. J. O., 1995: Metabolism of estrogenic isoflavones in domestic animals. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 208, 33–39.
55. –; PETERSSON, H. I.; MARTINSSON, K. A., 1990: Comparative levels of free and conjugated plant estrogens in blood plasma of sheep and cattle fed estrogenic silage. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 38, 1530–1534.
56. MAUL, R., 2008: Metabolismus von Rotkleeisoflavononen. *Universität Hamburg, Dissertation*.
57. MAZUR, W. M.; DUKE, J. A.; WÄHÄLÄ, K.; RASKU, S.; ADLERCREUTZ, H., 1998: Isoflavonoids and lignans in legumes: Nutritional and health aspects in humans. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 9, 193–200.
58. McMURRAY, C. H.; LAIDLAW, A. S.; McELROY, M., 1986: The effect of plant development and environment on formononetin concentration in red clover (*Trifolium pratense*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 37, 333–340.
59. MILLINGTON, A. J.; FRANCIS, C. M.; McKEOWN, N. R., 1964: Wether bioassay of annual pasture legumes: II. The oestrogenic activity of nine strains of *Trifolium subterraneum* L. *Australian Journal of Agriculture Research*, 15, 527–536.
60. MOORBY, J. M.; FRASER, M. D.; THEOBALD, V. J.; WOOD, J. D.; HARESIGN, W., 2004: The effects of red clover formononetin content on live-weight gain, carcass characteristics and muscle equol content of finishing lambs. *Animal Science*, 79, 303–313.
61. MORRISON, M. J.; COBER, E. R.; SALEEM, M. F.; McLAUGHLIN, N. B.; FRÉGEAU, J.; MA, B. L.; WOODROW, L., 2010: Seasonal changes in temperature and precipitation influence isoflavone concentration in short-season soybean. *Field Crops Research*, 117, 113–21.
62. MOULE, G. R.; BRADEN, A. W. H.; LAMOND, D. R., 1963: The significance of oestrogens in pasture plants in relation to animal production. *Animal Breeding*, 32, 139–157.
63. MÜLLER-LISSNER, A., 2008: Pflanzliche Östrogene: Frei von Nebenwirkungen? *Heilberufe – Das Pflegemagazin*, 3, 40–42.
64. NEIL, H. G.; FELS, H. E.; FRANCIS, C. M., 1969: Control of clover infertility in sheep. *Journal of Agriculture of Western Australia*, 10, 275–277.
65. NILSSON, A.; HILL, J. L.; DAVIS, H. L., 1967: An in vitro study of formononetin and biochanin A metabolism in rumen fluid from sheep. *Biochemica et Biophysica Acta*, 148, 92–98.

66. PELISSERO, C.; BENNETAU, B.; BABIN, P.; LE MENN, F.; DUNOGUES, J., 1991: The estrogenic activity of certain phytoestrogens in the Siberian sturgeon *Acipenser baeri*. *Journal of Steroid Biochemistry*, 38, 293–299.
67. PATISAUL, H. B.; JEFFERSON, W., 2010: The pros and cons of phytoestrogens. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 31, 400–419.
68. POULAKIS, V.; WITZSCH, U.; BECHT, E., 2002: Prävention des Prostatakrebs durch Ernährung. *Hessisches Ärzteblatt*, 7, 395–402.
69. PRICE, K. R.; FENWICK, G. R., 1985: Naturally occurring oestrogens in foods – A review. *Food Additives & Contaminants*, 2, 73–106.
70. REINHARDT, D., 2006: Stellungnahme zur Verwendung von Säuglingsnahrung auf Sojaproteinbasis. *Monatsschrift Kinderheilkunde*, 154, 913–916.
71. RITTER, W., 1978: Über die Isoflavongehalte (Formononetin, Genistein und Biochanin A) von Bodenfrüchtigem Klee (*Trifolium subterraneum*) in Nordwest-Tunesien. Universität Bonn, Dissertation.
72. ROLFE, B. G., 1988: Flavones and isoflavones as inducing substances of legume nodulation. *Biofactors*, 1, 3–10.
73. ROMANI, A.; VIGNOLINI, P.; GALARDI, C.; AROLDI, C.; VAZZANA, C.; HEIMLER, D., 2003: Polyphenolic content in different plant parts of soy cultivars grown under natural conditions. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 57, 5301–5306.
74. RÜFER, C., 2005: Bioverfügbarkeit, Metabolismus und biologische Aktivität von Isoflavonen und deren Metaboliten. Universität Karlsruhe (TH), Dissertation.
75. SALONIEMI, H.; KALLELA, K.; SAASTAMOINEN, I., 1993: Study of the phytoestrogen content of goat's rue (*Galega orientalis*), alfalfa (*Medicago sativa*) and white clover (*Trifolium repens*). *Journal of Agriculture Science in Finland*, 2, 517–524.
76. –; WÄHÄLÄ, K.; KURKI, P. N.; KALLELA, K.; SAASTAMOINEN, I., 1995: Phytoestrogen content and estrogenic effect of legume fodder. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 208, 13–17.
77. SARELLI, L.; TUORI, M.; SAASTAMOINEN, I.; SYRJÄLÄ-QVIST, L.; SALONIEMI, H., 2003: Phytoestrogen content of birdsfoot trefoil and red clover: Effects of growth stage and ensiling method. *Animal Science*, 53, 58–63.
78. SCHÖGGL, K., 2009: Das krankheitspräventive Potential der Sojabohne und ihrer Inhaltsstoffe. Universität Wien, Dissertation.
79. SCHUBIGER, F. X.; LEHMANN, J., 1994: Stoffe mit östrogenen Wirkung in Rotkleearten. *Agrarforschung* 1, 361–363.
80. SEGUIN, P.; ZHENG, W.; SMITH, D. L.; DENG, W., 2004: Isoflavone content of soybean cultivars grown in eastern Canada. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 52, 1327–1332.
81. SETCHELL, K. D. R.; ZIMMER-NECHEMIAS, L.; CAL, J.; HEUBI, J. E., 1997: Exposure of infants to phytoestrogens from soy-based infant formula. *The Lancet*, 350, 23–27.
82. –; CASSIDY, A., 1999: Dietary Isoflavones: Biological effects and relevance to human health. *The Journal of Nutrition*, 129, 758S–767S.
83. –, 2001a: Soy isoflavones - Benefits and risks from nature's selective estrogen receptor modulators (SERMs). *Journal of the American College of Nutrition*, 20, 354–362.
84. –; BROWN, N. M.; DESAI, P.; ZIMMER-NECHEMIAS, L.; WOLFE, B. E.; BRASHEAR, W. T.; KIRSCHNER, A. S.; CASSIDY, A.; HEUBI, J. E., 2001b: Bioavailability of pure isoflavones in healthy humans and analysis of commercial soy isoflavone supplements. *Journal of Nutrition*, 131, 136–175.
85. –; LYDEKING-OLSEN, E., 2002: The clinical importance of the metabolite equol – a clue to the effectiveness of soy and its isoflavones. *Journal of Nutrition*, 132, 3577–3584.
86. SHEEHAN, D. M., 1998: Herbal medicines, phytoestrogens and toxicity: risk/benefit considerations. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 217, 379–385.
87. SIVESIND, E.; SEGUIN, P., 2005: Effects of the environment, cultivar, maturity, and preservation method on red clover isoflavone concentration. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 53, 6397–6402.
88. SMITH, J. F.; JAGUSCH, K. T.; BRUNSWICK, L. F. C.; KELLY, R. W., 1979: Coumestans in lucerne and ovulation in ewes. *New Zealand Journal of Agriculture Research*, 22, 411–416.
89. SMITH, D. A.; BANKS, S. W., 1986: Biosynthesis, elicitation and biological activity of isoflavonoid phytoalexins. *Phytochemistry*, 25, 979–995.
90. SPENGLER, P., 2001: Identifizierung und Quantifizierung von Verbindungen mit östrogenen Wirkung im Abwasser. Institut für Siedlungswasserbau, Wassergüte- und Abfallwirtschaft, Universität Stuttgart, Dissertation.
91. Statistisches Bundesamt, 2010: Milcherzeugung und -verwendung – Fachserie 3 Reihe 4.2.2-2009. Auszug vom 13.09.2011.
92. STEINSHAMM, H.; PURUP, S.; THUEN, E.; MÖLLER, H., 2008: Effects of clover-grass silages and concentrate supplementation on the content of phytoestrogens in dairy cow milk. *Journal of Dairy Science*, 91, 2715–2715.

93. TOPPARI, J.; LARSEN, J. C.; CHRISTIANSEN, P.; GIWERCMAN, A.; GRANDJEAN, P.; GUILLETTE L. J. jr.; JÉGOU, B.; JENSEN, T. K.; JOUANNET, P.; KEIDING, N.; LEFFERS, H.; McLACHLAN, J. A.; MEYER, O.; MÜLLER, J.; RAJPERT-DE MEYTS, E.; SCHEIKE, T.; SHARPE, R.; SUMPTER, J.; SKAKKEBAEK N. E., 1996: Male reproductive health and environmental xenoestrogens. *Environmental Health Perspectives*, 104, 741–803.
94. TRINÁCTÝ, J.; KRÍŽOZÁ, L.; SCHULZOVÁ, V.; HAJŠLOVÁ, J.; HANUŠ, O., 2009: The effect of feeding soybean-derived phytoestrogens on their concentration in plasma and milk of lactating dairy cows. *Archives of Animal Nutrition*, 63, 219–229.
95. TSOUROUNIS, C., 2001: Clinical effects of phytoestrogens. *Clinical Obstetrics and Gynecology*, 44, 836–842.
96. TSUKAMOTO, C.; SHIMADA, S.; IGITA, K.; KUDOU, S.; KOKUBUN, M.; OKUBO K.; KITAMURA, K., 1995: Factors affecting isoflavone content in soybean seeds: Changes in isoflavones, saponines and composition of fatty acids at different temperatures during seed development. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 43, 1184–1192.
97. VETTER, J., 1995: Isoflavones in different parts of common trifolium species. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 43, 106–108.
98. WAGHORN, G. C.; ADAMS, N. R.; WOODFIELD, D. R., 2002: Deleterious substances in grazed pastures. In: FREER, M., DOVE, H. (ed.) *Sheep Nutrition*. Wallingford, Oxon: CAB International, 333–356.
99. –; McNABB, W. C., 2003: Consequences of plant phenolic compounds for productivity and health of ruminants. *Proceedings of the Nutrition Society*, 62, 383–392.
100. WANG, H.; MURPHY, P. A., 1994a: Isoflavone content in commercial soybean foods. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 42, 1666–1673.
101. –; –, 1994b: Isoflavone composition of American and Japanese soybeans in Iowa: Effects of variety, crop year, and location. *Journal of Agriculture and Crop Science*, 42, 1674–1677.
102. WINTER, P. M., 2006: Untersuchungen zur Optimierung und Nutzung eines Reporterassays für die Bestimmung östrogenen Aktivität in Futtermitteln für Schweine unter besonderer Berücksichtigung der Phytoöstrogene aus Soja. Tierärztl. Hochsch. Hannover, Dissertation.
103. WOCLAWEK-POTOCKA, I.; BAH, M. M.; KORZEKWA, A.; PISKULA, M. K.; WICZKOWSKI, W.; DEPTA, A.; SKARZYNSKI, D. J., 2005: Soybean-derived phytoestrogens regulate prostaglandin secretion in endometrium during cattle estrous cycle and early pregnancy. *Experimental Biology and Medicine*, 230, 189–199.
104. –; PISKULA, M. K.; BAH, M. M.; SIEMIENIUCH, M. J.; KORZEKWA, A.; BRZEZICKA, E.; SKARYNSKI, D. J., 2008: Concentrations of isoflavones and their metabolites in the blood of pregnant and non-pregnant heifers fed soy bean. *Journal of Reproduction and Development*, 54, 358–363.
105. WOLTERS, M.; HAHN, A., 2004: Sojaisoflavone – ein Therapeutikum gegen menopausale Beschwerden? *Wiener Medizinische Wochenschrift*, 154, 334–341.
106. WONG, E.; FLUX, D. S.; LATCH, G. C. M., 1971: The oestrogenic activity of white clover (*Trifolium repens* L.). *New Zealand Journal of Agriculture Research*, 14, 639–645.
107. WU, Q.; WANG, M.; SIMON, J. E., 2003: Determination of isoflavones in red clover and related species by high performance liquid chromatography combined with ultraviolet and mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A*, 1016, 195–209.
108. –; –, 2004: Analytical methods to determine phytoestrogenic compounds. *Journal of Chromatography B*, 812, 325–55.
109. YILDIZ, F., 2006: *Phytoestrogens in functional foods*. Taylor & Francis Boca Raton.
110. ZOPPI, G.; GEROSA, F.; PEZZINI, A.; BASSANI, N.; RIZZOTTI, P.; BELLINI, P.; TODESCHINI, G.; ZAMBONI, G.; VAZZOLER, G.; TRIDENTE, G., 1982: Immunocompetence and dietary protein intake in early infancy. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 1, 175–82.

Autorenanschrift: B.Sc. MIRJAM KOCH und PD. Dr. MARTIN GIERUS, Grünland und Futterbau/Ökologischer Landbau, Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, Christian Albrechts Universität zu Kiel, Hermann Rodewald Str. 9, 24118 Kiel, Deutschland
mgierus@email.uni-kiel.de

Dir. und Prof. Dr. HARTWIG SCHULZ, Julius Kühn-Institut (JKI), Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für ökologische Chemie, Pflanzenanalytik und Vorratsschutz, Königin-Luise-Strasse 19, 14195 Berlin, Deutschland

hartwig.schulz@jki.bund.de