

Huminsäuren beeinflussen die antibakterielle Wirkung des Totalherbizids Glyphosat auf die Fäkalflora und die Ausscheidung über den Urin

Monika Krüger¹
Awad Shehata¹
Wieland Schrödl³
Jürgen Neuhaus⁴
Svent Haufe²

¹ Albrecht-Daniel-Thaer-Institut,
 Aninstitut an der Universität Leipzig

² WH Pharmawerk Weinböhla GmbH

³ Institut für Bakteriologie und Mykologie,
 Veterinärmedizinische Fakultät,
 Universität Leipzig

⁴ Kanne Brottrunk GmbH & Co. KG,
 Bahnhofstraße 68, 59379 Selm-Bork

Zusammenfassung

Seit über 40 Jahren wird das Totalherbizid Glyphosat in der Landwirtschaft weltweit eingesetzt. Seit Mitte der 90er Jahre wurden gentechnisch veränderte Nutzpflanzen wie Soja, Mais, Raps, usw. mit einer Glyphosatresistenz entwickelt. Dadurch sind von den USA, Argentinien und Brasilien nach Europa exportierte Futter- und Nahrungsmittel vermehrt mit Glyphosat kontaminiert. Der Nachweis gelingt im Urin. Neben seiner Wirkung als Herbizid ist Glyphosat ein starker Chelator für zweiwertige Kationen und besitzt antimikrobielle Aktivitäten, die besonders die gesundheitsfördernden Bakterien wie Laktobazillen, Bifidobakterien, Enterokokken betreffen. Es konnte in den eigenen Untersuchungen festgestellt werden, dass die Probanden Glyphosat mit dem Urin ausscheiden. Durch die orale Applikation eines Huminsäurepräparates Huminsäuren WH67® (Activomin®) der Fa. WH Pharmawerk Weinböhla GmbH war es möglich, die Keimzahlen von Laktobazillen, Bifidobakterien und Enterokokken in den Stühlen der Probanden signifikant zu erhöhen. Demgegenüber wurden pathogene Bakterien wie *Clostridium perfringens* und *E. coli* signifikant reduziert. Die Glyphosatausscheidung über den Urin wurde verstärkt.

Einleitung

Glyphosat wird seit 1974 weltweit (ca. 600.000 t/Jahr) als nicht-selektives Breitspektrumherbizid in über 400 Formulierungen verwendet (in Deutschland jährlich 5900 t des Wirkstoffes). Seit Mitte der 90er Jahre wurden gentechnisch modifizierte Pflanzen (GMO) von der amerikanischen Firma Monsanto entwickelt und auf den Markt gebracht, die ein Gen enthalten, das diese Pflanzen für das Herbizid Glyphosat unempfindlich macht. Dadurch und durch das Auslaufen des Monsanto-Patentes im Jahre 2000 (massive Preisreduktion) wurde der Einsatz glyphosathaltiger Herbizide in der Landwirtschaft weltweit verstärkt. In den USA, Kanada, Südamerika (bes. Argentinien, Brasilien) werden GVO-Soja, -Raps, -Mais und -Baumwolle angebaut. Besonders GVO-Soja wird als Eiweiß-

futtermittel für die Tierbestände Europas (ca. 38 Mio. t/Jahr) importiert. GVO-Soja ist auch als nichtdeklariertes Bestandteil in der menschlichen Nahrung enthalten. Durch den Einsatz von Glyphosat als Erntebeschleuniger (bes. Gerste) wurden (Verbot in Deutschland durch das Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit seit Mai 2014 mit zwei Ausnahmen, Zwiewuchs und Lagergetreide) und werden Getreide und Mais, auch Kartoffeln damit trocken gespritzt. Da Glyphosat sich in den Pflanzen systemisch verteilt, ist es auch in den Getreidekörnern, in den Kartoffeln enthalten. Es ist wasserlöslich und hitzestabil, wird also durch Erhitzen nicht degradiert und ist somit in Brot, Brötchen und Kartoffelprodukten enthalten. Da es wegen der Wasserlöslichkeit die wachsähnliche Cuticula der Pflanzen nach Besprühen nicht durchdringen kann, werden sogenannte Netzmittel (Penetrationsmittel) in das kommerzielle Produkt eingemischt, wodurch die schädigende Wirkung der Herbizidformulierung noch erhöht wird [Johal und Huber, 2009]. Zahlreiche Publikationen von unabhängigen Wissenschaftlern beweisen, dass Glyphosat und seine Beistoffe eine schädigende Wirkung auf die Konsumenten (Mensch und Tier) und die Umwelt ausüben. Nach Untersuchungen des BUND (2013) konnte Glyphosat im Urin von 40% der untersuchten Stadtbewohner aus 18 europäischen Ländern (Deutschland 70%) nachgewiesen werden. Es ist also in der Nahrungskette angekommen. Die vorliegende Publikation befasst sich mit der Neutralisierung von Glyphosat durch das Huminsäurepräparat an Freiwilligen. Untersucht wurden die Wirkungen auf die Dynamik der Fäkalmikrobiota und die Ausscheidung von Glyphosat über den Urin von den Freiwilligen.

Glyphosatwirkungen

Glyphosat besitzt mehrere Wirkungsebenen. Neben der herbiziden, besitzt Glyphosat chelatierende (betrifft vor allem zweiwertige Kationen), antimikrobielle und zytotoxische Wirkungen. Erst kürzlich wurde es durch die WHO-Arbeitsgruppe IARC (International Agency for Research of Cancer) als wahrscheinlich krebserregend eingeschätzt.

Herbizide Wirkung

Der Wirkstoff Glyphosat wird zur Abtötung unerwünschter Pflanzenbewüchse („Unkraut“) in der Landwirtschaft, im Gartenbau, Weinbau sowie im kommunalen Bereich verwendet. Sofern die besprühten Pflanzen nicht gentechnisch verändert wurden (artifizielle Inserierung eines Resistenzgens aus dem Bakterium *Agrobacterium tumefaciens*), und dadurch Glyphosat-resistent wurden, sterben sie ab. Abgestorbene Pflanzenteile enthalten das Glyphosat noch und geben es an den Boden ab. Der Wirkstoff wird über die grünen Pflanzenteile aufgenommen und über die ganze Pflanze verteilt, erreicht so auch Wurzeln, Früchte und Samen. Über die Wurzeln gelangt er in den Boden und wirkt hier auch auf die Bodenmikrobiota. Die Halbwertszeiten im Boden liegen in Abhängigkeit von den klimatischen Bedingungen und der Häufigkeit der Ausbringung zwischen 3 und 240 Tagen. Es erfolgt auch eine Bindung an die Bodenmatrix, die aber durch Phosphatdüngung (Wirtschaftsdünger und mineralische Dünger) gelöst wird. Das hauptsächliche Abbauprodukt aerober Mikroorganismen im Boden ist die Aminomethyl-Phosphonsäure (AMPA), deren Halbwertszeit im Boden meist zwischen 76 und 240 Tagen liegt, aber bis zu 875 Tagen dauern kann. Glyphosat hemmt das Enzym 5-Enolpyruvylshikimat-3-Phosphat-Synthase (EPSPS), das zur Synthese der aromatischen Aminosäuren Phenylalanin, Tryptophan und Tyrosin über den Shikimatweg in Pflanzen wie auch in den meisten Mikroorganismen (Bakterien, Pilze, Protozoen, Algen) benötigt wird, weil es eine chemische Ähnlichkeit mit Phosphoenolpyruvat (PEP), dem regulären Substrat der EPSPS besitzt. Da Menschen und Tiere das Enzym EPSPS nicht besitzen, wird die Giftigkeit für diese Lebewesen als gering eingeschätzt, obwohl Gesundheit und Stoffwechsel in hohem Maße von der gastrointestinalen, weitgehend Glyphosat-empfindlichen Mikrobiota (Microbiom) bestimmt wird [Shehata et al. 2013, Gerlach et al. 2014].

Chelatierende Wirkung

Glyphosat besitzt eine hohe Kapazität zur Chelatierung (Bindung) zweiwertiger Kationen, wie Calcium (Ca), Magnesium (Mg), Mangan (Mn) und Eisen (Fe) [Lundager-Madsen et al., 1978; Barja et al., 2001]. Kationische Nährstoffe binden leicht an das Glyphosatmolekül über die Carboxyl- und Phosphonat-Gruppen und bilden schwer lösliche und sehr stabile Komplexe. Calcium präzipitiert Glyphosat im Verhältnis 1:1 in wässriger Lösung [Gauvrit et al., 2001; Schoenherr und Schreiber, 2004]. Bei Anwesenheit von Mn in Roundup®-Verdünnungen in Spraytanks kommt es zu einer Bildung stabiler Mn-Glyphosat-Komplexe, die die Penetration und Translokation über die Blätter reduziert. Ähnliche antagonistische Reaktionen wurden für Ca- und Mg-Ionen gezeigt [Nalewaja and Matysiak, 1991, The-

len et al., 1995]. Demgegenüber besitzen monovalente Kationen in Glyphosat-Verdünnungen keinen Einfluss auf die Phytotoxizität [Stahlman and Phillips, 1979]. Darum empfehlen die Hersteller kein hartes Wasser zur Herstellung der Spray-Verdünnungen zu verwenden. Glyphosat konkurriert mit anorganischen Phosphaten um die Sorptionsstellen in Böden und Sedimenten [Dion et al. 2001; Gimsing et al. 2004]. Spurenelemente sind Aktivatoren oder Inhibitoren vieler Stoffwechselfunktionen. Bei ihrem Fehlen sind zahlreiche physiologische Funktionen bei Pflanzen, Tieren und Menschen nicht mehr realisierbar [Johal und Huber, 2009]. Spurenelementmängel wurden von Krüger et al. (2013) in acht dänischen Milchviehbeständen (30 Tiere pro Bestand) untersucht. Sie fanden differierende Glyphosatkonzentrationen im Urin der Tiere und insgesamt sehr niedrige (weit unter dem Referenzbereich) Mn- und Co-Spiegel. Die Medianwerte von Cu, Zn und Se befanden sich den Referenzbereichen, unklar ist hierbei, ob diese Spurenelemente im Blut frei verfügbar oder an Glyphosat chelatiert waren.

Antimikrobielle Wirkung

Glyphosat wirkt auf Bakterien bakteriostatisch. Im primären Metabolismus besteht die Funktion des Shikimatweges darin, die Präkursoren zur Produktion von aromatischen Aminosäuren und der Paraaminobenzoensäure herzustellen. Der Shikimat-Weg schließt Enzyme und Metabolite ein, die die Umwandlung von 3-Deoxy-D-Arabino-Heptulon-3-Phosphat (DAHP) zu Chorismat einschließen, von dem Punkt aus die drei Wege zu Tryptophan, Tyrosin und Phenylalanin führen. Der Shikimisäureweg, der zur Biosynthese aromatischer Komponenten einschließlich Aminosäuren, Pflanzenhormonen und Vitaminen führt, wird durch Glyphosat gehemmt, da dadurch die Umwandlung von Phosphoenolpyruvat (PEP) und 3-Phosphoshikimisäure zu 5-Enolpyruvyl-3-Phosphoshikimisäure durch Bindung an EPSPS erfolgt. Lu et al (2013) stellten fest, dass eine Glyphosatbehandlung (200mM) nicht ausschließlich den Shikimatweg beeinflusst. Nahezu alle Gene, die Proteine des Shikimatweges und des spezifischen aromatischen Aminosäurepfades kodieren, werden dereguliert. Weiterhin wird die Expression vieler Gene, die die Energiebildung und den Stoffwechsel kodieren, unterdrückt. Im Gegensatz dazu werden durch die Glyphosatbehandlung 50 Gene, die z. B. die Zellmotilität und Chemotaxis der Bakterien kodieren, hochreguliert. Die Wirkung auf Vertreter der Magen-Darm-Mikrobiota von Rindern und Hühnern wurde von Shehata et al. (2013) und Gerlach et al. (2014) untersucht. Insbesondere gesundheitsfördernde Bakterien wie *Enterococcus* spp., *Lactobacillus* spp. und *Bifidobacterium* spp. wurden reduziert. Gerade diese Bakterien besitzen aber einen antagonistischen Effekt auf pathogene

Bakterien wie *Salmonella-Serovare*, *Clostridium perfringens* und *Clostridium botulinum*, die zahlreiche Erkrankungen in den Tierbeständen verursachen und glyphosatolerant sind [Krüger et al. 2013]. Ähnliche Ergebnisse wurden auch von Clair et al. (2012) für in der Lebensmitteltechnologie bedeutsame Mikroorganismen – *Geotrichum candidum*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* und *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* erarbeitet. Sie konnten feststellen, dass die Glyphosatformulierung (Verkaufsprodukt) einen inhibitorischen Effekt auf das mikrobielle Wachstum und auf den antimikrobiellen Effekt gegen Pathogene bei niedrigen Konzentrationen besitzt, was bei Glyphosat allein nicht festzustellen war [Clair et al. 2012].

Neutralisierung von Glyphosat durch Huminsäuren

Huminstoffe (HS) sind aus chemischer Sicht keine homogenen Substanzen. Unter alkalischen Bedingungen sind Huminsäuren (HS) in Wasser löslich. Sie besitzen Molekulargewichte von 5.000 - 100.000 Dalton. Sie werden im Darm entsprechend ihrem Molekulargewicht absorbiert. Die aktivsten Fraktionen daraus sind Humin- und Fulvinsäuren. HS können mit nahezu allen chemischen Komponenten lebender Organismen reagieren.

Anorganische Kationen können an HS mit ionischen, komplexierenden, chelatierenden und polaren adsorbierenden Bindungen gebunden werden. Die reaktivsten Gruppen sind saure Carboxyl- und Hydroxylgruppen. In biologischen Systemen agieren sie als Elektron- und Sauerstofftransportmoleküle. Diese Eigenschaften ermöglichen ihnen als Katalysatoren in Zellen zu agieren. Diese Eigenschaften erklären ihre Wachstum-stimulierenden Effekte. Die Leberschützende Wirkung von HS insbesondere in Kombination mit β -Glukanen konnte nachgewiesen werden [Vetvicka et al. 2015]. Nach Piccolo et al. (1996) hängt die Adsorption von Glyphosat an Huminsäuren von deren Molekülgröße und stereochemischer Flexibilität ab. Je größer das Molekül ist, umso größer ist die Zahl der Wasserstoffbindungen zwischen Glyphosat und Huminsäuren und dadurch die Adsorption. Mazzei und Piccolo (2012) bestätigen, dass es sich um Wasserstoffbindungen zwischen Glyphosat und Carboxyl- und Phosphonatgruppen sowie protonierten Sauerstofffunktionen handelt. Shehata et al. (2013) und Shehata et al. (2014) konnten die neutralisierende Kapazität von Huminsäuren für Glyphosat unter in vitro- und in vivo-Bedingungen bei Broilern nachweisen. Diese Ergebnisse wurden von Gerlach et al. (2014) bei Milchkühen bestätigt. Durch die orale Applikation der Huminsäuren WH67® (Weinböhla) konnte die Ausscheidung über den Urin signifikant reduziert werden.

Material und Methoden

Versuchsdesign

10 freiwillige Probanden (5 männlich, 5 weiblich) wurden über 10 Tage 3 x täglich mit 2 Kapseln des Huminsäurepräparates (400 mg/Kapsel) substituiert. Ab Tag 11 bis Tag 44 erfolgte die Substitution mit 3 x täglich 1 Kapsel. Urin- und Stuhlproben wurden am Studientag 0, 11, 31 und 45 von jedem Studienteilnehmer selbständig gewonnen, bei minus 18°C gelagert und nach Abschluss der Substitution dem Institut für Bakteriologie und Mykologie der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig für mikrobiologische und Glyphosatuntersuchungen zur Verfügung gestellt.

Bakteriologische Untersuchungen

Die Stuhlproben der Probanden wurden in PBS suspendiert (0,5 g in 4,5 ml PBS) und für die quantitative bakteriologische Untersuchung in Serienverdünnungen um den Faktor 10 mit PBS verdünnt. Die Stuhlverdünnungen wurden auf aerobe Gesamtkeimzahlen (Schafblutagar, Oxoid, Deutschland), anaerobe Gesamtkeimzahl (Schafblutagar Oxoid, Deutschland) Gram-negative Gesamtkeimzahlen (Gassneragar, SIFIN, Berlin), Enterococcus (CATC-Agar, SIFIN, Berlin), Bifidobacterium (MRS-Agar, SIFIN, Berlin, Lactobacillus (MRS-Agar, SIFIN, Berlin) *C. perfringens* (Schafblutagar mit Polymyxin B und Neomycin) und Hefen (Sabouraud agar, SIFIN, Berlin) untersucht.

Glyphosatcheck im Urin

Urinproben wurden 1:20 mit destilliertem Wasser (Aqua destillata, Braun, Germany) verdünnt und Glyphosat mittels ELISA-Test (Abraxis, USA) entsprechend der Angaben des Herstellers untersucht. Die Testvalidierung erfolgte mittels Gaschromatographie-Massenspektroskopie (GC-MS) im Medizinischen Labor Bremen (Germany). Der Korrelationskoeffizient zwischen beiden Tests war im Urin 0,87.

Ergebnisse

Mikrobiologische Stuhlbefunde

Die Ergebnisse der quantitativen mikrobiologischen Untersuchungen sind in den Abbildungen 1–8 dargestellt. In der Phase der Substitution mit 2,4 g Huminsäuren WH67®/Tag über 10 Tage kommt es zu einer signifikanten Erhöhung der aeroben und anaeroben Gesamtkeimzahlen, von Gram-negativen Keimzahlen und *C. perfringens* sowie zur signifikanten Reduzierung von *Lactobacillus* spp., *Enterococcus* spp und Hefen. Die Reduzierung der Dosis auf 1,2 g/Tag vom 11.–31. Studientag führte zur signifikanten Reduktion der Gram-negativen Keimzahlen. Bifidobakterien-, Laktobazillen- und Enterokokkenkeimzahlen wurden demgegenüber signifikant erhöht. Die Beibehaltung der 1,2 g/Tag Huminsäuren WH67®-Dosis führte zu einer weiteren Reduzierung der Gram-negativen

Keimzahlen, *C. perfringens*-Keimzahlen und aeroben Gesamtkeimzahlen. Demgegenüber waren die Bifidobakterien-, Laktobazillen- und Enterokokkenkeimzahlen im Vergleich zu den Ausgangswerten (PN1) weiter signifikant erhöht.

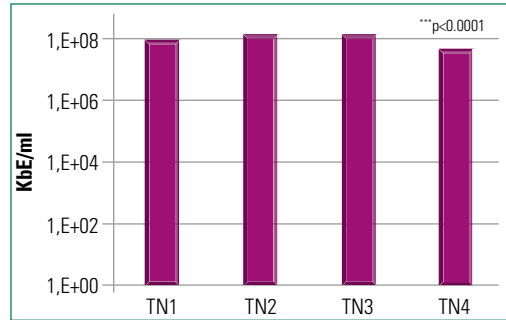


Abb. 1 Dynamik der **aeroben Gesamtkeimzahlen** in Stuhlproben von Probanden nach oraler Applikation des Präparates.
TN1 = Studientag 0, TN2 = Studientag 11, TN3 = Studientag 31, TN4 = Studientag 45

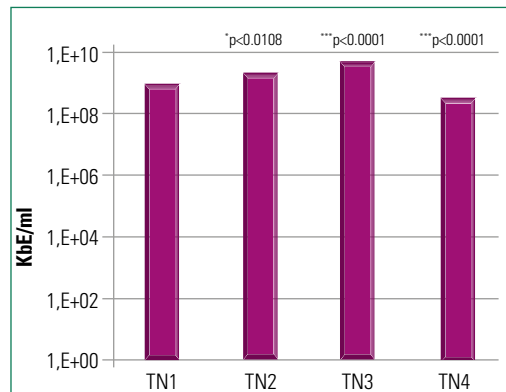


Abb. 2 Dynamik der **anaeroben Gesamtkeimzahlen** in Stuhlproben von Probanden nach oraler Applikation des Präparates.
TN1 = Studientag 0, TN2 = Studientag 11, TN3 = Studientag 31, TN4 = Studientag 45

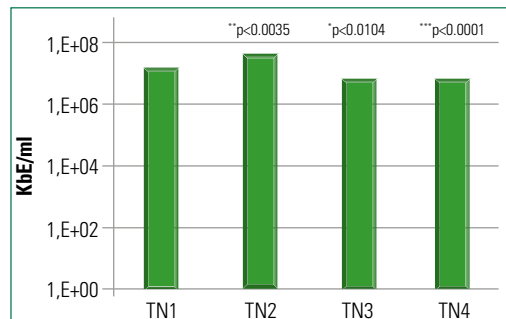


Abb. 3 Dynamik der **Gram-negativen Gesamtkeimzahlen** in Stuhlproben von Probanden nach oraler Applikation des Präparates.
TN1 = Studientag 0, TN2 = Studientag 11, TN3 = Studientag 31, TN4 = Studientag 45

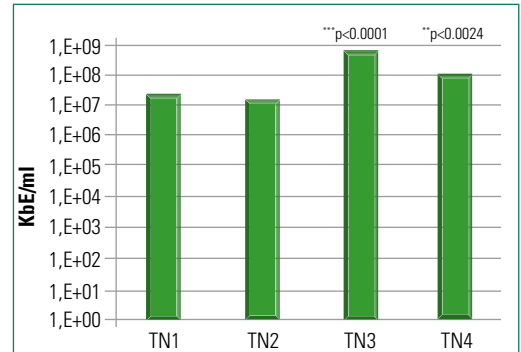


Abb. 4 Dynamik der **Bifidobacterium-Keimzahlen** in Stuhlproben von Probanden nach oraler Applikation des Präparates.
TN1 = Studientag 0, TN2 = Studientag 11, TN3 = Studientag 31, TN4 = Studientag 45

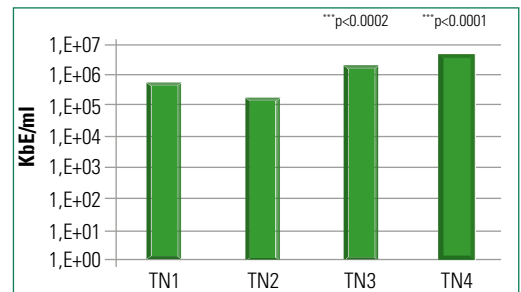


Abb. 5 Dynamik der **Enterococcus-Keimzahlen** in Stuhlproben von Probanden nach oraler Applikation des Präparates.
TN1 = Studientag 0, TN2 = Studientag 11, TN3 = Studientag 31, TN4 = Studientag 45

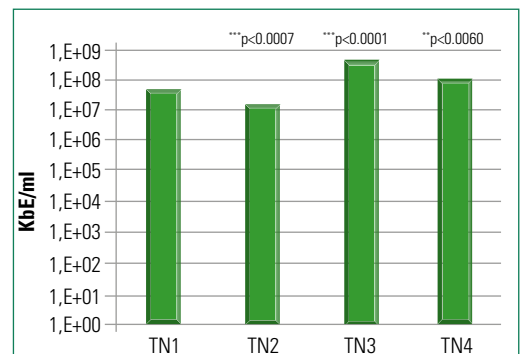


Abb. 6 Dynamik der **Lactobacillus-Keimzahlen** in Stuhlproben von Probanden nach oraler Applikation des Präparates.
TN1 = Studientag 0, TN2 = Studientag 11, TN3 = Studientag 31, TN4 = Studientag 45

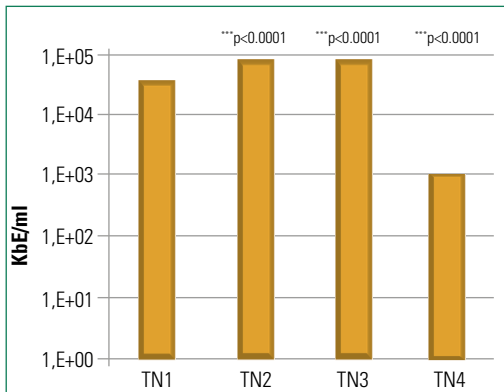


Abb. 7 Dynamik der *Clostridium perfringens*-Keimzahlen in Stuhlproben von Probanden nach oraler Applikation des Präparates.

TN1 = Studientag 0, TN2 = Studientag 11, TN3 = Studientag 31, TN4 = Studientag 45

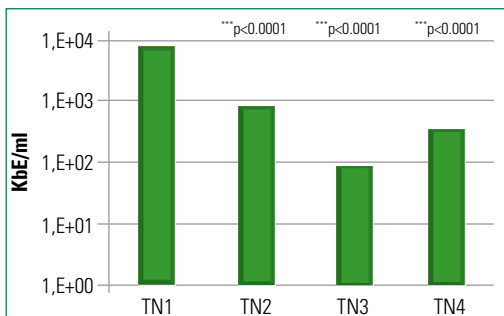


Abb. 8 Dynamik der Hefe-Keimzahlen in Stuhlproben von Probanden nach oraler Applikation des Präparates.

TN1 = Studientag 0, TN2 = Studientag 11, TN3 = Studientag 31, TN4 = Studientag 45

Glyphosatnachweis in Urinen

Die Ergebnisse der Untersuchungen der Probandenurine sind in der Abbildung 9 dargestellt. Die Applikation von Huminsäuren an die Probanden verstärkte die Ausscheidung von Glyphosat über den Urin.

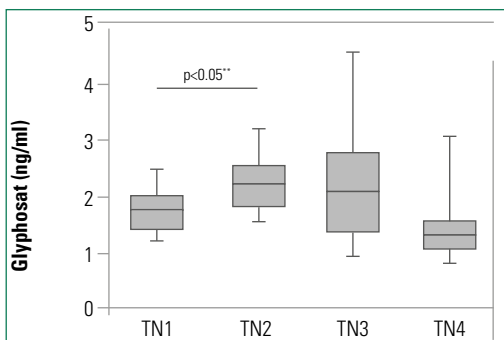


Abb. 9 Dynamik der Glyphosatkonzentrationen im Urin der Probanden nach oraler Applikation des Präparates. TN1 = Studientag 0, TN2 = Studientag 11, TN3 = Studientag 31, TN4 = Studientag 45 (Statistik: Paarvergleich)

Diskussion

Huminstoffen (HSu) können mit den meisten chemischen Verbindungen lebender Organismen reagieren. HSu binden anorganische Kationen über ionische, komplexe, chelatierende und polar adsorbierende Bindungen. Saure Carboxyl- und Hydroxylgruppen sind die hauptsächlich reaktiven Gruppen der HSu. Sie agieren als Elektronen- oder Sauerstoffübertragende Moleküle in biologischen Systemen. Dadurch können sie in den Zellen als Katalysatoren wirken [Vucskits et al. 2010]. Huminsäuren (HS) sind die Hauptfraktion von HSu und beeinflussen den Leberstoffwechsel protektiv [Vetvicka et al. 2015]. HS besitzen antibakterielle, antivirale, profibrinolytische, antiöstrogene und antiinflammatorische Aktivitäten [Skliar et al. 1998; Yamada et al. 1998; Klöcking, 1991; Klöcking et al. 2002]. Nach Kühnert et al. (1992) dienen HS dazu, Krankheitserreger zugunsten der physiologischen Hauptflora des Darmes zahlenmäßig zu verdrängen oder auszudünnen. Ähnliche Ergebnisse konnten in den eigenen Untersuchungen festgestellt werden. Pathogene Bakterien wie *C. perfringens* und Gram-negative Enterobakterien wurden signifikant reduziert (Abb. 3 und 7) gesundheitsfördernde Bakterien wie Enterokokken, Laktobazillen und Bifidobakterien signifikant erhöht (Abb. 4, 5 und 6). Shehata et al. (2013) konnten in ihren Untersuchungen mit pathogenen und symbiotischen Bakterien der gastrointestinalen Mikrobiota des Geflügels eine große Empfindlichkeit von *Enterococcus* (*E.*) *faecalis*, *E. faecium*, *Bacillus* *badius* und *Bifidobacterium adolescentis* für Glyphosat feststellen. Demgegenüber waren *Lactobacillus* (*L.*) *casei*, *L. buchneri*, *L. harbinensis*, *Staphylococcus* (*S.*) *aureus* und *S. lentus* moderat empfindlich. *Clostridium* (*C.*) *botulinum* Typ A und B, *C. perfringens*, *Salmonella* (*S.*) *Gallinarum*, *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis* und *E. coli* waren demgegenüber hoch resistent für Glyphosat. Eine negative Beeinflussung der gastrointestinalen Homöostase der Mikrobiota ist so garantiert. Shehata et al. (2014) konnten zeigen, dass durch Huminsäuren die antibakterielle Aktivität von Glyphosat auf die oben genannten gesundheitsfördernden Symbionten neutralisiert werden konnte. Floraregulierende Aktivitäten von HS wurden auch bei Broilern in der Türkei untersucht. Die Applikation der HS reduzierte die *E. coli*-Keimzahlen und steigerte die Laktobazillenkeimzahlen signifikant im Vergleich zu den unbehandelten Kontrolltieren [Aksu und Bozkurt, 2009]. HS komplexieren Metallionen und fixieren so diese im Boden und im Wasser [Arnold et al. 1998]. Sie besitzen eine hohe Kationenaustauschkapazität. Wegen der enormen chelatierenden Kapazität sind HS in der Lage Belastungen mit Metallen zu detoxifizieren [Tan, 1994]. Da HS negativ geladene Polyelektrolyte und polyfunktionelle Liganden sind, können sie mit positiv geladenen Metallionen komplexieren (Cu, Fe, Cr, Mn, Ni, Cd, Hg und Pb).

Für Metallionen gibt es eine Selektivität, die vom Oxidationsstatus, der Polarisierung, von Größe und Geometrie der Kationen beeinflusst wird. Kupfer, Eisen, Chrom, Mangan und Nickel binden bevorzugt auf der Basis des Quotienten aus ihrem kleinen Ionenradius und der Ladungsdichte an HS. Bei Cadmium, Quecksilber und Blei erfolgt eine Komplexbildung mit HS auf der Basis des Quotienten aus dem großem Ionenradius und der Ladungsdichte [Misra et al. 2006]. Somit werden lebensnotwendige Spurenelemente in ihrer Adsorption nicht oder wenig beeinflusst, toxische Schwermetalle aber im Darm fixiert. Lind und Glynn (1999) konnten bei Rattenbabys durch Fulvinsäure keine Reduzierung der Kupferaufnahme in die Darmmukosa im Vergleich zu den Kontrollen feststellen. Im Gegensatz dazu wurde die Adsorption von Cadmium verringert. Zrally et al. (2008) können diese Ergebnisse in ihren Untersuchungen mit Blei bestätigen. In den eigenen Untersuchungen konnte nach der Huminsäuresubstitution eine verstärkte Ausscheidung von Glyphosat über den Urin der Probanden festgestellt werden (Abb. 9). Nach 10 d Substitution mit 2,4 g des Präparates pro Proband (ca. 70 kg) war die Differenz zum Ausgangswert signifikant erhöht. Nach 31 und 45 Studientagen und Halbierung der Dosis ab 11. Studientag waren die Differenzen nicht mehr signifikant zum Ausgangswert. Im Gegensatz dazu konnten Gerlach et al. (2014) bei Milchkühen (600 kg Körpermasse) nach Applikation von 120 g Huminsäuren (WH67®) eine signifikante Reduzierung der Glyphosatausscheidung feststellen. Rechnet man die substituierte Menge an Huminsäuren pro Kilogramm Körpermasse um, wurden Milchkühe mit 200 mg/kg und menschliche Probanden mit 34 mg/kg Körpermasse substituiert. Die verstärkte Ausscheidung von Glyphosat über den Urin nach 10 Tagen spricht für eine forcierte Ausleitung des Giftstoffes.

Schlussfolgerungen

Die orale Substitution des Huminsäurepräparates hat einen positiven Effekt auf die fäkale Mikrobiota menschlicher Probanden. Es führte bei den Probanden zu einer signifikanten Zunahme der symbiontischen Bakterien (Enterokokken, Bifidobakterien und Laktobazillen) und Reduzierung von pathogenen Bakterien (*C. perfringens*, Gram-negative Enterobakterien).

Prof. Dr. rer.nat. Monika Krüger
Gustav-Kühn-Straße 8
04275 Leipzig | Deutschland
mkrueger@vetmed.uni-leipzig.de

Literatur

- Aksu T, Bozkurt AS. (2009): Effect of dietary essential oils and/or humic acids on broiler performance, microbial population of intestinal content and antibody titres in the summer season. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.* 15: 185–190
- Arnold C G, Ciani A, Muller SR, Amirbahman A, Schwarzenbach RP. (1998): Association of triorganotin compounds with dissolved humic acids. *Environ. Sci. Technol.* 32: 2976–2983
- Barja BC, Herszage J, dos Santos Afonso M. (2001): Iron (III)-phosphonate complexes. *Polyhedron* 20, 1821–1830
- BUND (2013): Report glyphosate MLHB-2013-06-06
- Clair E, Linn L, Travert C, Amiel C, Séralini GE, Panoff JM. (2012): Effects of Roundup® and glyphosate on three food microorganisms: *Geotrichum candidum*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. *Curr Microbiol.* 486–491
- Dion HM, Harsh JB, Hill Jr HH. (2001): Competitive sorption between glyphosate and inorganic phosphate on clay minerals and low organic matter soils. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 249: 385–390
- Gauvrit C, Gaudry J, Lucotte T, Cabanne F. (2001): Biological evidence for a 1:1 Ca²⁺:glyphosate association in deposit residuals on the leaf surface of barley. *Weed Res.* 41, 433–445
- Gerlach H, Gerlach A, Schrödl W, Schottdorf B, Haufe S, Helm H, Shehata A, Krüger M. (2014): Oral application of charcoal and humic acids to dairy cows influences *Clostridium botulinum* blood serum antibody level and glyphosate excretion in urine. *J Clin Toxicol* 2014, 4: 2–8
- Gimsing A L, Borggaard OK, Bang M. (2004): Influence of soil composition on adsorption of glyphosate and phosphate by contrasting Danish surface soils. *European Journal of Soil Science*, 55: 183–191
- Jansen van Rensburg C, Van Rensburg CEJ, Van Ryssen JBJ, Casey NH, Rottinghaus GE. (2006): In vitro and in vivo assessment of humic acid as an aflatoxin binder in broiler chickens. *Poultry Science*, 85:1576–1583
- Johal GS, Huber DM. (2009): Glyphosate effects on diseases of plants. *Europ. J. Agronomy*, 31: 144–152
- Klöcking R. (1991): Interaction of humic acids and humicacid-like polymers with herpes simplex virus type 1. In: *Humic Substances in the Aquatic and Terrestrial Environment*, Berlin 1991, pp. 408–412

Activomin® für ein gutes Bauchgefühl

- Klöcking R, Helbig B, Schotz G, Schacke M, Wutzler P. (2002): Anti-HSV-1 activity of synthetic humic acid-like polymers derived from p-diphenolic starting compounds. *Antivir. Chem. Chemother.* 13: 241–249
- Krüger M, Shehata AA, Schrödl W, Rodloff A. (2013) Glyphosate suppresses the antagonistic effect of *Enterococcus* spp. on *Clostridium botulinum*. *Anaerobe* 20: 74–78
- Krüger M, Schrödl W, Neuhaus J, Shehata AA. (2013): Field investigations of glyphosate in urine of Danish dairy cows. *J Environ Anal Toxicol*, 3: 1–7
- Kühnert M, Lange N, Knauf H. (1992): Medizinische Anwendungsmöglichkeiten von Huminsäuren. *Medicamentum*, 9: 257–261
- Lind Y, Glynn AW. (1999). Intestinal adsorption of copper from drinking watery containing fulvic acids and an infant formula mixture studies in a suckling rat model. *BioMetals*, 12: 181–187
- Lu W, Li L, Chen M, Zhou Z, et al. (2013): Genome-wide transcriptional responses of *Escherichia coli* to glyphosate, a potent inhibitor of the shikimate pathway enzyme 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase. *Mol. BioSyst.* 9, 522–531
- Lundager-Madsen HE, Christensen HH, Gottlieb-Petersen C. (1978): Stability constants of copper (II), zinc, manganese (II), calcium, and magnesium complexes of N-(phosphonomethyl) glycine (glyphosate). *Acta Chem. Scand. A* 32: 79–83
- Misra V., Pandey SD, Viswanathan PN (2006): Environmental significance of humic acid in the sequestration of metals. *Chemsitry and Ecoluyy.* 1996, Vol. 13, pp 103–112
- Mazzei P, Piccolo A. (2012): Quantitative evaluation of non-covalent interactions between glyphosate and dissolved humic substances by NMR spectroscopy. *Environ. Sci. Technol.* DOI: 10.1021/es300265a.
- Nalewaja J, Matysiak R. (1991): Salt antagonism of glyphosate. *WeedSci.* 39, 622–628
- Piccolo A, Celano G, Conte P. (1996): Adsorption of Glyphosate by humic substances. *J. Agric. Food Chem.* 44: 2442–2446
- Schoenherr J, Schreiber L. (2004): Interactions of calcium ions with weakly acidic active ingredients slow cuticular penetration: a case study with glyphosate. *J. Agric. Food Chem.* 52, 6546–6551
- Shehata AA, Schrödl W, Aldin AA, Hafez HM, Krüger M. (2013): The effect of glyphosate on potential pathogens and beneficial members of poultry microbiota in vitro. *Curr Microbiol.* 66:350–358
- Shehata AA, Schrödl W, Schledorn P, Krüger M. (2014): Distribution of glyphosate in chicken organs and its reduction by humic acid supplementation. *J. Poult. Sci.* 51: 334–338
- Skliar TV, Krysenko AV, Gavriliuk VG, Vinnikov AI. (1998): A comparison of the developmental characteristics of *Neisseria gonorrhoeae* and *Staphylococcus aureus* cultures on nutrient media of different compositions. *Mikrobiol. Z.* 60: 25–30
- Stahlman PW, Phillips WM. (1979): Effects of water quality and spray volume on glyphosate phytotoxicity [Sorghum]. *Weed Sci.* 27, 38–41
- Tan, K. H. (1994). *Environmental Soil Science*, pp. 159-177. Dekker, New York
- Thelen KD, Jackson EP, Penner D. (1995): The basis for the hard-water antagonism of glyphosate activity. *Weed Sci.* 43, 541–548
- Vetvicka V, Garcia- Mina JM, Yvin J-C. (2015): Prophylactic effect of humic acids-glucan combination against experimentally liver injury. *J Intericult Ethnopharmacol.* 4: 249–255
- Vucskits AV, Hullar I, Bersenyi A, Andrasofszky E, Kulcsar M, Szabo J. (2010): Effect of fulvic and humic acids on performance, immune response and thyroid function in rats. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 94: 721–728
- Yamada E, Ozaki T, Kimura M. (1998): Determination and behavior of humic substances as precursors of trihalomethane in environmental water. *Anal. Sci.* 14: 327–332
- Zralý Z, Písaříková B, Trčková M, Navrátilová M. (2008): Effect of humic acids on lead accumulation in chicken organs and muscles. *Acta Vet. Brno*, 77: 439–445



Mit Activomin® verbessern Sie Ihr subjektives Befinden bei Magen-, Darm- und Stoffwechselstörungen.



Packungseinheiten: 60 und 120 Kapseln

Natürliche Huminsäuren WH67®

- schützen die Schleimhaut
- binden Schadstoffe und Toxine
- modulieren das Immunsystem
- fördern die natürliche Darmflora
- wirken entzündungshemmend
- regulieren den Tonus

PHARMAWERK 
Weinböhla

WH Pharmawerk Weinböhla GmbH
Poststraße 58 · 01689 Weinböhla
T +49 35243 38 70 · F +49 35243 387 28
www.pharmawerk-weinboehla.de

Kapsel. Medizinprodukt Klasse IIa. CE 0197. Zusammensetzung: Eine Kapsel enthält 400 mg natürliche Huminsäuren. Weitere Bestandteile: Die Kapselhülle besteht aus Cellulose gefärbt mit Chlorophyll. Activomin enthält keine Konservierungsstoffe, keine tierischen Bestandteile, gelatine-, gluten-, jod- und cholesterinfrei. Für Diabetiker geeignet. Anwendungsgebiet: Activomin bessert das subjektive Befinden bei Magen-, Darm- und Stoffwechselstörungen infolge von Schadstoffüberlastung, Durchfallerkrankungen und als gastroenterische Nachsorge, Nahrungsumstellung, Ernährungsfehlern sowie Mangelerscheinungen bei Diätfehlern, geschwächter körpereigener Abwehr und Schwäche des Immunsystems. Gebrauchsinformation beachten. Stand: März 2011

