

'Biologisch Gezonder? Een onderzoek naar biomarkers voor mogelijke gezondheidseffecten van biologisch voedsel, aan de hand van een kippenmodel'

Samenvatting

Het doel van het project 'Biologisch Gezonder?' was het zoeken naar 'biomarkers' die mogelijke gezondheidseffecten van biologische voeding zichtbaar maken. Een belangrijke reden om biologische producten te kopen is voor veel mensen de veronderstelling dat biologisch geteelde producten gezonder zijn dan gangbaar geteelde producten. Indien gezondheidseffecten kunnen worden bevestigd, zal dit de consument motiveren om biologisch geteelde producten te kopen en dat zou de markt van biologische producten kunnen stimuleren. Tot op heden is er echter weinig onderzoek gedaan naar mogelijke effecten van biologische producten op gezondheid.

In meer dan 100 studies zijn gehaltes aan inhoudsstoffen in biologische en gangbare producten vergeleken. Sommige van deze studies laten zien dat biologisch geteelde producten kunnen verschillen van gangbaar geteelde, bijvoorbeeld in hogere hoeveelheden droge stof, meer anti-oxidanten, hogere of gelijke hoeveelheden vitamine C en mineralen, en een vergelijkbare of betere kwaliteit aan eiwitten in biologisch geteelde producten vergeleken met gangbaar geteelde. Verder is beschreven dat er minder contaminanten zoals pesticide residuen, meestal minder of gelijke hoeveelheid nitraat en lagere of gelijke hoeveelheden mycotoxinen in biologische producten voorkomen.

Verschillen in voedingsstoffen kunnen de basis vormen voor verschillen in gezondheidseffecten, zo bleek in recent verrichte dierstudies (Lauridsen 2007, Finamore 2004, Staiger 1988).

Voor het onderzoek naar de gezondheidseffecten van biologische producten ontbreken tot op heden representatieve parameters. Met name voor onderzoek naar gezondheidseffecten bij de mens is het van belang om juiste biomarkers te hebben, om gericht onderzoek te kunnen doen. Biomarkers zijn indicatoren voor biologische processen en dienen aan te sluiten bij de te onderzoeken vraagstelling. Er is veel onderzoek verricht naar het vinden van biomarkers voor specifieke ziekten, maar er is tot op heden weinig onderzoek verricht naar biomarkers voor 'de gezonde toestand' in gezonde individuen. In de huidige studie werd gezocht naar biomarkers ten behoeve van onderzoek naar gezondheidseffecten van voeding van verschillende teeltwijzen, uitgevoerd bij gezonde kippen, maar met het oog op toekomstig onderzoek bij de mens.

De voorliggende studie is ontworpen door een internationale groep van onderzoeksinstituten, als leden van de internationale vereniging voor onderzoek naar biologische voedselkwaliteit en gezondheid, FQH. In deze studie werd ten eerste gezocht naar de verschillen in ingrediënten voor kippenvoer afkomstig van verschillende teeltwijzen, biologisch en gangbaar. Ten tweede is een voedingsexperiment met kippen uitgevoerd om biomarkers te vinden, die indicatief zouden kunnen zijn voor gezondheid.

De studie is verricht door een Nederlands consortium van instituten, het Louis Bolk Instituut, TNO Kwaliteit van Leven, RIKILT Instituut voor voedselveiligheid en Wageningen Universiteit - Departement Dierwetenschappen, en diverse andere instituten in Nederland en daarbuiten. Diverse instituten hiervan zijn lid van FQH.

Het projectontwerp is beoordeeld en goedgekeurd door de Scientific Advisory Committee van FQH, evenals het rapport.

De studie is gefinancierd door de Nederlandse overheid (het ministerie van LNV en het ministerie van EZ), de Rabobank en de Triodos Bank.

Werkhypothese

Biologisch geteelde producten hebben een gunstiger effect op de gezondheid.

Onderzoeksvragen

1. Kunnen verschillen gevonden worden in de ingrediënten voor kippenvoer, verkregen uit biologische en gangbare teeltsystemen?
2. Kunnen biomarkers voor gezondheidseffecten worden geïdentificeerd, gerelateerd aan de consumptie van biologisch voer vergeleken met gangbaar voer?
 - a. Bestaat er een verschil in het zich ontwikkelende immuunsysteem bij kippen, gevoerd met twee verschillende voeders?
 - b. Treden er verschillen op in de functies van orgaansystemen, in de zin van positieve of negatieve gezondheidseffecten, die gerelateerd zijn aan de consumptie van de verschillende voeders?

Onderzoeksontwerp

De studie betreft een geblindeerd dierexperiment met voeding, in twee generaties kippen, met identiek samengestelde voeders van óf biologische óf gangbare producten. Het betrof het kippenmodel van de zgn. Wageningse Selectie Lijnen, leghorn hennen die over 25 generaties zijn geselecteerd op óf hoge óf lage antilichaamproductie na een injectie met SRBC (schapen rode bloedcellen), op de leeftijd van 37 dagen. Naast deze lijnen was er een random gefokte controlegroep ter beschikking van kippen van dezelfde afstamming, die het 'originele ouderlijke wild type' van de dieren vertegenwoordigde. De dieren zijn beschreven als 'high line' (H-line of Hoge lijn) voor de groep met een hoog reactieniveau op SRBC injectie en een 'low line' (L-line of Lage lijn) voor de groep met een laag reactieniveau. De controlegroep (C-line) betreft de groep dieren die het normale genetische variatiepatroon op een injectie met SRBC vertegenwoordigde. Parallel aan de hennen van de eerste generatie, werd een groep hanen van dezelfde drie lijnen grootgebracht op het experimentele voer.

Er werd ten behoeve van het onderzoek een kippenvoer samengesteld in overeenstemming met de bestaande normen voor biologisch kippenvoer, bestaande uit 6 ingrediënten die zowel biologisch als gangbaar geteeld worden. Als ingrediënten werden gekozen tarwe, gerst, triticale, mais, erwten en soja. Deze ingrediënten werden gezocht van biologische en gangbare teelt en bij voorkeur van een 'gecontroleerde teelt'-situatie. Waar dit niet mogelijk was werd gekozen voor producten van boerderijen in de directe omgeving van elkaar - de zo geheten 'farm pairs'- met dezelfde bodemsamenstelling en klimatologische omstandigheden en bij voorkeur bekend staand als 'best practice farms'. Het gebruik van dezelfde rassen van producten werd als ideaal beschouwd, maar alleen dán wanneer dat realistisch was binnen het teeltsysteem. Geschikte tarwe, gerst en triticale werden in Nederland gevonden, erwten in Denemarken en mais en soja in Oostenrijk. Alleen de biologische en gangbare soja was van hetzelfde ras. Voor gerst en tarwe kon worden gekozen uit twee 'farm pairs'. Bij deze keuze van het meeste geschikte 'farm-pair', zijn referenties van het zgn. DOK-onderzoek in Zwitserland (een over 25 jaar lopende vergelijkend onderzoek tussen biologisch-dynamische, biologische en gangbare teeltsystemen) als 'gouden standaard' genomen.

De ingrediënten werden gescreend op residuen van pesticiden of mycotoxines, om negatieve gezondheidseffecten door deze componenten te vermijden en om te voorkomen dat de interpretatie van de resultaten daar door verstoord zou worden. De producten werden geaccepteerd als zij schoon waren, of wanneer residuen onder een bepaalde maximum residu limiet (MRL) lagen. In één maismonster werd een mycotoxine gevonden met een gehalte onder de MRL grens, dat niet als gevaarlijk voor de kippen werd beoordeeld. Later in de studie werden nog meer analyses uitgevoerd op een beperkt aantal

andere anti-nutritionele en remmende factoren. De ingrediënten, zowel als het voer, werden uitgebreid geanalyseerd op macronutriënten, micronutriënten, sporenelementen, bioactieve inhoudsstoffen en bacteriën.

Het kippenvoer werd door een bekende producent van biologische diervoeders bereid uit deze ingrediënten.

Om nutriënten-tekorten in het kippenvoer te voorkomen zijn enkele ingrediënten toegevoegd. Toegevoegd werden een geringe hoeveelheid aardappeleiwit (van gangbare teelt omdat dit gegarandeerd geen, mogelijk schadelijk, solanine bevatte), het aminozuur methionine, een kleine hoeveelheid van een mengsel van vitaminen en mineralen (Fx Layers Premix), kalk, grit, zout en NaCO_3 , in beide voeders gelijke hoeveelheden. Na de productie werd het voer gecontroleerd op het gehalte aan aminozuren en indien er een tekort bleek te bestaan ten opzichte van de ondergrens van de aanbeveling van de voedernorm, werd een essentieel aminozuur toegevoegd om aan het minimum niveau te voldoen. Het betrof steeds een geringe toevoeging van methionine. Het voer werd vervolgens door de fabrikant geblinddeerd met de codes A of B en getransporteerd naar Wageningen Universiteit, waar de kippen werden gehouden.

De eerste generatie kippen werd gehuisvest in individuele kooien. Dit was noodzakelijk om de eieren individueel te kunnen identificeren en zo met zekerheid de identiteit van de dieren van de volgende generatie te kunnen vaststellen.

De tweede generatie werd gehuisvest in inpandige rennen, in groepen van 6 dieren, met steeds 2 hennen van elke lijn. De rennen waren ruim en verrijkt, om een optimaal diereigen gedrag van de hennen mogelijk te maken en daarmee het tot uiting komen van mogelijke gezondheidseffecten te bevorderen.

De dieren van de eerste generatie begonnen hun leven met het gebruikelijke gangbare kippenvoer van de Wageningse stallen. Vanaf de leeftijd van 11 weken kregen de dieren de experimentele voeders. De dieren van de tweede generatie kregen vanaf de eerste dag van hun leven de experimentele voeders. Ze konden eten zoveel ze wilden. De tweede generatie leefde tot een leeftijd van 13 weken.

In deze studie was het doel om biomarkers te verkrijgen met betrekking tot mogelijke gezondheidseffecten. Deze konden zowel positief als negatief zijn. Fysiologische markers werden gezocht op het gebied van algemene gezondheidskenmerken, in immunologische parameters, in metingen van metabolieten in het plasma en de lever met behulp van metabolomics, in de functie van de darm met genomics en in de organen met pathologische anatomie. Daar beide groepen dieren voldoende en volwaardig voer kregen, werden er in het algemeen geen grote verschillen verwacht. Een gezondheidsverstoring werd daarom noodzakelijk geacht, om het vermogen van de dieren om te reageren en te herstellen te evalueren. Een veel gebruikte niet-pathogene immunologische trigger, bestaande uit een injectie met een eiwit (KLH), werd als gezondheidsverstoring ('challenge') gekozen en toegediend aan de tweede generatie in de 9^e week. Algemene gezondheidskenmerken werden geëvalueerd door wekelijks de voerinname te meten, de dieren te wegen, de eiproductie te documenteren (bij de eerste generatie) en gezondheidsverstoringen, ziektes en sterfgevallen te registreren.

De verwachting was dat het immuunsysteem de meest duidelijke effecten zou laten zien, omdat bekend is dat in jonge, zich ontwikkelende organismen, het contact van de darm met het opgenomen voedsel de ontwikkeling van het immuunsysteem stimuleert. Daarom werd er een groot aantal immunologische metingen in beide generaties verricht.

In de eerste generatie werden de immunologische effecten van de overgang van het oorspronkelijke voer op het experimentele voer, in week 11, onderzocht. In de tweede generatie werd het sterkste effect verwacht van de immunologische challenge met KLH in week 9. De periode vóór en na de challenge werd gemonitored middels

immunologische metingen. In de tweede generatie werden ook andere analyses toegevoegd. Bloed, afgenomen voor en na de challenge, werd geanalyseerd met behulp van metabolomics.

In week 13 werd het leven van de dieren beëindigd en werd sectie verricht. Er werden weefselmonsters genomen voor metabolomics onderzoek van de lever, voor genomics onderzoek van de darm, voor pathologische anatomie van de organen, voor smaakproeven van het vlees en voor het aanleggen van een biobank (bewaring) van weefsels. De immunologische metingen werden in de gehele groep dieren uitgevoerd. De metabolomics metingen, de genomics en de pathologische anatomie werden in een subgroep van de dieren verricht. In deze beperkte groep werden alle C-lijn dieren geanalyseerd, maar - uit elke voer groep - werden 6 H-lijn dieren en 6 L-lijn dieren random geselecteerd.

De studie werd geblindeerd uitgevoerd tot de meerderheid van de voer- en dieranalyses waren voltooid, inclusief het grootste deel van de interpretaties, om beïnvloeding te voorkomen. Vervolgens werden de resultaten van het voedselonderzoek gerelateerd aan de analyses van de kippen, echter nog steeds gecodeerd t.a.v. de herkomst van de voeders. Dit maakte een betere interpretatie van de voedselparameters mogelijk, die de basis zouden kunnen zijn voor de verschillende effecten in de kippen. Pas kort voor het ter perse gaan van dit rapport werden de voercodes ontsloten. Voer A bleek het biologische en voer B het gangbare voer.

Resultaten van de voeders en ingrediënten

- Het meest consistent was het verschil in de hoeveelheid eiwit, gemiddeld 10% hoger in het gangbare voer. In tarwe, soja en gerst lag het percentage aminozuren 10-40% hoger in de ingrediënten die gebruikt werden voor de productie van het gangbare voer. De verteerbaarheid van de aminozuren bleek beter in het gangbare voer.
- Het gehalte aan phytosterolen was hoger in soja en gerst, in het gangbare voer (voer B).
- De meeste biologische ingrediënten (voer A) bevatten meer vitamine K en biologische soja bevatte meer isoflavonen en vitamine E, met name alpha-tocopherol. De biologische erwten bevatten meer foliumzuur.
- Vitamine B5 en C waren hoger in de gangbare maïs, erwten en tarwe (voer B).
- Wat betreft microbiologie, werden er geen grote verschillen waargenomen tussen de biologische en gangbare voeders, maar in het voer van biologische herkomst (A) werden meer schimmels gevonden en een hogere hoeveelheid aerobe kolonies en Enterobacteriaceae.
- Er werden echter hogere gehalten aan LPS endotoxinen gemeten in het gangbare voer (B), met name in het voer dat de eerste generatie dieren kreeg.
- Met complementaire methoden, zoals biofotonen-metingen, proteïne-ratio en kristallisaties, konden de ingrediënten, afkomstig van verschillende teeltsystemen, significant worden onderscheiden. De onderzoekers waren in staat, bij die producten waarmee ze ervaring hadden, de herkomst als biologisch of gangbaar correct te identificeren.

Resultaten van de kippen

Beide generaties dieren en alle drie de kippenlijnen werden onderzocht. Bij de evaluatie van de effecten, werden de resultaten van de dieren uit de controle-lijn (C) van de tweede generatie als het meest informatief beschouwd, omdat deze populatie de natuurlijk voorkomende genetische variatie representeert. De resultaten van deze dieren worden hieronder gepresenteerd.

- Alle dieren uit de tweede generatie werden als volledig gezond beoordeeld. Toch is de eindconclusie dat de twee groepen op de verschillende voeders duidelijke verschillen laten zien in diverse aspecten van hun fysiologie.
- De dieren op het gangbaar geteelde voer (B) waren significant zwaarder gedurende het gehele experiment. Relatieve groei was significant groter bij gangbaar gevoerde dieren in de eerste 5 weken van hun leven, maar daarna begonnen de biologisch gevoerde dieren harder te groeien. Na de KLH challenge werd een afname van de groei met 20-30% waargenomen gedurende twee weken in beide groepen. Na deze groei-afname vertoonden de biologische gevoerde dieren een grotere groei (inhaalgroei), dan de gangbaar gevoerde dieren.
- Diverse immunologische parameters toonden een verschil tussen de beide voergroepen. Dit gold zowel voor de humorale als de cellulaire componenten van het immuunsysteem, zowel aangeboren als verworven. De dieren op biologisch geteelde voer toonden hogere LPS-antilichaamtiter in het bloed (C-lijn, in de H-lijn omgekeerd); een hogere KLH-geïnduceerde complement-activering (klassieke route), als afspiegeling van de activering van het aangeboren immuunsysteem; hogere vaccinatie-antilichaamtiter (bijvoorbeeld gericht op Gumboro), als blijk van activering van het adaptieve systeem; en een hogere in vitro respons op voedingsextracten in aanwezigheid van ConA van leukocyten uit het perifere bloed. De immunologische resultaten bleken niet volledig consistent, maar werden als geheel geïnterpreteerd als een aanwijzing voor een hoger immunologische reactievermogen bij dieren die voer van biologische herkomst gehad hadden.
- De resultaten van de metabolomics van het bloed toonden een duidelijk verschil tussen de groepen, vooral na de challenge. Een hoger gehalte aan vrije vetzuren en onverzadigde lipopolysacchariden in het bloed van de dieren op voer A, leidde tot de interpretatie van een sterkere reactie op de challenge met een bijbehorend metabolisme, ten teken van een sterkere acute fase reactie bij de dieren op biologisch voer.
- De resultaten van de metabolomics van de lever toonden een toegenomen activiteit van de pentose-fosfaat-route bij de dieren die biologisch gevoerd waren, alsook meer markers voor het levermetabolisme en voedselopname (vitamine E).
- Genomics onderzoek toonde bij de gangbaar gevoerde dieren een lagere expressie van genen aan, die gerelateerd zijn aan de cholesterol-biosynthese. Deze bevindingen werden bevestigd bij een follow-up analyse. De verwachting van een verhoogd plasma cholesterol-gehalte bij deze groep dieren kon echter niet worden bevestigd m.b.v. metabolomics.
- Onderzoek met pathologische anatomie toonde enkele verschillen aan in orgaangewichten, tussen de voer-groepen en tussen de lijnen.

Conclusies

Met betrekking tot de voeders kan geconcludeerd worden dat de analytische verschillen in de ingrediënten en voeders het duidelijkst waren voor het gehalte aan eiwitten en aminozuren en sommige micronutriënten. Hoewel er verschillen werden vastgesteld, waren de voeders voldoende voedzaam voor de opgroeiende kippen, en behalve ten gevolge van de eiwitten, werden er geen grote verschillen in effect op de gekozen parameters voor gezondheid verwacht.

Ofschoon *alle kippen gezond waren*, werden evidente verschillen in gemeten parameters vastgesteld.

De gangbaar gevoerde dieren van de controle-lijn toonden een sterkere gewichtstoename, terwijl de biologische gevoerde dieren een sterkere immuunreactiviteit, een sterkere reactie op de challenge, en een iets sterker herstel van de challenge in termen van inhaalgroei, toonden.

De resultaten zijn gebaseerd op de bevindingen bij de dieren van de controle lijn, daar deze de natuurlijke genetische variatie vertegenwoordigden. Maar de resultaten uit de speciale hoge- en lage lijn kippen in dit onderzoeksmodel, ondersteunden de conclusie ten aanzien van een versterkt immuun-reactief vermogen bij de dieren die biologisch geteeld voer kregen.

Voor wat betreft de voedingsfactoren die dit verschil zouden kunnen verklaren, moet het hogere eiwitgehalte van het gangbare voer als de factor beschouwd worden, die de sterkere gewichtstoename in deze groep veroorzaakt zou kunnen hebben. De factor(en) in het voer die de fysiologische verschillen in reactie op de challenge zou(den) kunnen veroorzaken, zijn nog niet duidelijk. Er zijn aanwijzingen in de literatuur dat een versterkte immuunreactiviteit gerelateerd zou kunnen worden aan het lagere lichaamsgewicht van de betreffende dieren.

De betekenis van de verschillende fysiologische reacties met betrekking tot gezondheid op korte en op lange termijn van deze dieren, is nog onduidelijk. Dit zou in een follow-up studie verhelderd moeten worden.

Alles overziend kan geconcludeerd worden dat de studie een enorme hoeveelheid informatie heeft voortgebracht en tevens effecten heeft opgeleverd, die niet waren voorzien. Een belangrijke uitkomst van deze studie is dat voedingsingrediënten van verschillende herkomst een klein, maar duidelijk effect kunnen hebben op het immuunsysteem en op de stofwisseling van gezonde dieren. Verder werd duidelijk dat het begrip 'gezondheid' en de fysiologie en immunologie van gezondheid een vooralsnog weinig verkend gebied zijn in onderzoeksland.

Evaluatie van de werkhypothese en onderzoeksvragen

De werkhypothese was 'Biologisch geteelde producten hebben een gunstiger effect op de gezondheid'.

Ten aanzien van een potentieel 'groter' gunstig effect op gezondheid van een van de twee voeders, kunnen geen definitieve conclusies worden getrokken. Beide voeders waren als zodanig gezond. Het concept van 'gezondheid' en de daaraan gerelateerde fysiologie en immunologie dienen verder uitgewerkt te worden, voordat definitieve conclusies getrokken kunnen worden.

Met betrekking tot de eerste onderzoeksvraag: 'Kunnen verschillen gevonden worden tussen de ingrediënten van het kippenvoer, verkregen uit biologische en gangbare teeltsystemen?', kan geconcludeerd worden dat de ingrediënten, afkomstig uit biologische en gangbare teelt, het meest verschilden in eiwit- en aminozuurgehalte. Maar tegelijkertijd is duidelijk dat vele, maar niet alle bestanddelen geanalyseerd zijn.

De tweede onderzoeksvraag: 'Kunnen biomarkers voor gezondheidseffecten worden geïdentificeerd, gerelateerd aan de consumptie van biologisch voer vergeleken met gangbaar voer?' en de twee subvragen, kunnen bevestigend beantwoord worden, ook al zijn de implicaties van de waargenomen verschillen in relatie tot gezondheid nog niet duidelijk en is verder onderzoek noodzakelijk. Opgemerkt moet worden dat in dit project slechts één selectie van producten afkomstig van één oogst zijn onderzocht.

Geïdentificeerde biomarkers

De biomarkers die in deze studie duidelijk representatief zijn voor de verschillende effecten van de twee voedingsregimes zijn groei en, met name na blootstelling aan een challenge, evaluatie van de responsiviteit van het immuunsysteem, van metabole reacties in bloed en lever en genetische regulatie in de darm.

Aanbevelingen

De resultaten van deze studie zijn veelbelovend. De studie toonde aan dat kleine verschillen in voer, ten gevolge van verschillende teeltsystemen, gevolgen kunnen hebben voor immuunreactiviteit, stofwisseling en genexpressie in gezonde dieren. Voordat deze resultaten bij mensen gebruikt kunnen worden (het uiteindelijke doel), dienen de resultaten bevestigd te worden. Dat zou allereerst opnieuw bij kippen moeten plaatsvinden, die gedurende een langere tijd vervolgd moeten worden (wellicht tot de natuurlijke dood), en die onderzocht moeten worden na een sterkere challenge met een infectiemodel of ander ziektemodel.

Voeringrediënten voor dergelijk follow-up onderzoek zouden verkregen moeten worden van 'best practice' boerderijen uit dezelfde regio. De voeders die gegeven worden aan dieren, moeten uitgebreid onderzocht worden, om de gevonden effecten bij de dieren te kunnen relateren aan inhoudsstoffen in het voer. Daarnaast zouden de ingrediënten grondig onderzocht moeten worden, ook in relatie tot de producten die de consument koopt, om meer inzicht te krijgen in de representativiteit van de producten.

In de toekomst wordt een onderzoek met zoogdieren aanbevolen, bij voorkeur met varkens, omdat deze dieren het meest met de mens vergelijkbaar zijn. Onderzoek bij mensen is het ultieme doel.

Oorspronkelijke titel van het onderzoeksrapport: Organic, More Healthy? A search for biomarkers of potential health effects induced by organic products, investigated in a chicken model. Machteld Huber M.D. overall editor. ISBN 978-90-74021-56-2

2007 Louis Bolk Instituut, publicatienummer M22

Het rapport is te bestellen via publicaties@louisbolk.nl