

Aus dem Physiologisch-Chemischen Institut der Universität Basel (Schweiz)

Zur Verteilung körperfremder Fettsäuren im Tierkörper: Die Beteiligung der Erucasäure am Aufbau der Organ- und Depotfette nach längeren Gaben von Rapsöl

Von K. BERNHARD, F. LINDLAR und H. WAGNER*)

Mit 7 Tabellen

(Eingegangen am 7. Januar 1960)

In kürzlichen Untersuchungen wurde die Beeinflussung der Fettsäurezusammensetzung der Lipidbestände von Ratten durch Fütterung einer 10% Öle bzw. Fette enthaltenden Diät geprüft (1). In der Folge verabreichten wir auch Rapsöl (2), das bekanntlich zur Hälfte aus Glyceriden der Erucasäure besteht, und bestimmten die Halbwertszeit dieser gewissermaßen körperfremden Verbindung zu etwa 22 Tagen. Im Gegensatz zu der essentiellen Linol- oder Linolensäure (3), deren Halbwertszeiten 70 bzw. 50 Tage betragen, verhält sich die Erucasäure diesbezüglich wie die körperv vertrauten Fettsäuren.

Die Verwendung von Rapsöl zur menschlichen Ernährung war und ist in vielen Ländern seit alters her gebräuchlich. In Kanada wird wieder viel Raps angebaut, so daß das ernährungsphysiologische Verhalten seines Öles erneutem Interesse begegnet. Es schien uns angezeigt, unsere Untersuchungen an Ratten auf Hunde auszudehnen und die Verteilung der Erucasäure in möglichst vielen Organen und Körperanteilen zu ermitteln. Ferner wurde geprüft, ob und in welchem Ausmaße eine Hydrierung zu Behensäure stattfindet.

Wir fütterten Hunden während längerer Zeit mit einer normalen Nahrung Rapsöl und gewannen durch Extraktion Organ- und Depot-Lipide.

Bei Tier 1 erfolgte für die Lipide aus Gehirn, Leber, Lunge und Nieren eine Fraktionierung in Neutralfett incl. Cholesterin, Glycerinphosphatide und Protagonfraktion. Die übrigen Organe wurden zur Gewinnung der Fettsäuren direkt verseift. Bei den Hunden II und III trennten wir die Lipide aller Organe und Depots in Neutralfett und Phosphatide. Nach Verseifung wurde papierchromatographisch die Fettsäurezusammensetzung bestimmt.

Aus Tabelle 1, 2 und 3 sind die Gesamt-Lipid-Gehalte bezogen auf das Trockengewicht, die Menge der wasserlöslichen Extraktivstoffe und die der Trockenrückstände ersichtlich, ferner auch der Anteil der einzelnen Lipidfraktionen an den Gesamtlipiden. Tabelle 4 gibt die Fettsäurezusammensetzung der Neutralfettfraktion aus Gehirn, Leber, Lunge und Nieren von Hund I an, Tabelle 5 diejenige der Gesamtfettsäuren der Lipide aus den übrigen Organen und den Fettdepots. Tabelle 6 enthält die in Mol.-Prozenten berechneten

*) Stipendiat der Sandoz-Stiftung zur Förderung der medizinisch-biologischen Wissenschaften.

Tabelle 1

Prozentuale Zusammensetzung verschiedener Organe von Hund I an Gesamtlipiden etc. berechnet auf Trockensubstanz

Organ	Lipide				Wasser- lösl. Extr.-Stoffe	Extrakt.- Rückstand
	Gesamt	Fraktionen				
		a	b	c		
Gehirn	52,7	12,6	24,0	16,1	2,8	44,5
Leber	23,0	11,7	10,9	0,4	6,9	70,1
Lungen	15,4	6,1	7,8	1,5	8,1	76,5
Nieren	23,7	10,4	11,6	1,7	3,7	72,6

a = Neutralfette und Cholesterin b = Glycerinphosphatide c = Protagonfraktion

Tabelle 2

Prozentuale Zusammensetzung der Organe und Fettgewebe von Hund II und III an Gesamt-Lipiden, wasserlöslichen Extraktivstoffen und extrahiertem Rückstand (berechnet auf Trockensubstanz)

Organ etc.	Gesamt-Lipide		Wasserlös. Extr. Stoffe		Extr. Rückstand	
	II	III	II	III	II	III
Leber	27,4	24,8	7,2	12,9	65,6	62,3
Lunge	11,5	—	8,0	—	80,5	—
Knochenmark	81,2	54,4	1,0	8,4	17,8	37,2
Knochen	8,9	7,3	0,1	0,2	91,0	92,5
Gehirn	66,9	64,7	4,2	3,9	29,0	31,4
Plasma	15,4	12,5	19,1	37,5	65,4	50,0
Nieren	41,5	51,4	5,8	2,7	52,7	45,8
Dünndarm	35,8	38,9	5,7	4,8	58,5	56,3
Dickdarm	58,2	64,7	10,3	2,6	31,5	32,7
Mesenterialfett	98,4	97,8	0,2	0,3	1,3	1,7
Nierenfett	97,7	97,1	0,9	0,6	1,4	2,2
Subcutanfett	95,6	95,8	0	1,2	4,4	3,0

Eruca-, Behen-, Stearin-, Palmitin-, Öl- und Linolsäuregehalte der Neutralfette von Hund II und III und Tabelle 7 die diesbezüglichen Daten für die Phosphatidfraktionen.

Experimentelles

Die Versuche erstrecken sich auf drei gesunde Hunde. Hund I; ein männliches, fünf Jahre altes Tier im Gewichte von 17,5 kg erhielt mit einem normalen Futter während 76 Tagen täglich 100 g Rapsöl.

Hund II und III, weiblich bzw. männlich, im Alter von ca. 3 Jahren und 12,2 bzw. 11,5 kg schwer, bekamen zuerst 60, dann 70 g Rapsöl während 50 bzw. 53 Tagen. Die Körpergewichte betrugen kurz vor dem Tode 18,0, 17,6 bzw. 13,4 kg. In Narconumal-Narkose erfolgte weitgehende Entblutung. Die Blutproben wurden mit Citrat bzw. Oxalat versetzt und zur Abtrennung der Erythrozyten zentrifugiert. Die entnommenen Organe haben wir in einer Fleischhackmaschine bzw. in einem Homogenisator zerkleinert und — sofern sie nicht wie bei Tier I in toto verseift wurden — in Aceton eingetragen.

Tabelle 3

Prozentualer Anteil der Gesamt-Lipide von Hund II und III an Neutralfett (inkl. Cholesterin) und Phosphatiden

Organ etc.	Neutralfett inkl. Cholesterin		Phosphatide	
	II	III	II	III
Leber	38,7	51,1	61,3	48,9
Gehirn	67,6	68,7	32,4	31,2
Plasma	69,1	58,8	30,9	41,2
Dünndarm	81,8	86,4	18,2	13,6
Dickdarm	99,1	96,0	0,9	4,0
Mesenterialfett	97,6	99,2	2,4	0,8
Nierenfett	95,2	99,1	4,8	0,9
Subcutanfett	98,9	99,1	1,1	0,9

Bei Tier I haben wir Gehirn, Lunge und Nieren in üblicher Weise extrahiert und die Lipide in Fett- und Cholesterin-Fractionen (a), Glycerin-phosphatide (b) und Protagon-Fraktion (c) getrennt. Die übrigen untersuchten, sorgfältig fettfrei präparierten Organe wurden in 30%ige wäßrig-methanolische Lauge gebracht und in toto verseift.

Tabelle 4

Fettsäurezusammensetzung in Mol-Prozenten der Neutralfette aus verschiedenen Organen von Hund I

Organ	Erucasäure	Stearinsäure	Palmitin- u. Oelsäure	Linol- u. Palmitoleinsäure
Gehirn	—	17,8	51,8	30,4
Leber	6,3	14,0	76,8	2,9
Lungen	5,7	11,3	61,8	21,2
Nieren	5,9	9,5	61,5	23,1

Die Organ- und Fettproben der Tiere II und III trugen wir in Aceton ein und extrahierten erschöpfend im Soxhlet-Apparat zuerst mit Aceton, dann mit Methanol-Chloroform (3 : 1). Diese Gesamtlipide wurden an Polyäthylensäulen aufgetrennt. Dazu lösten wir erstere in Chloroform, versetzten mit Polyäthylpulver und engten im Vakuum weitgehend ein. Das noch feuchte Pulver nahmen wir unter öfterem Umschütteln in Aceton auf und trockneten wieder im Vakuum. Dieses so erhaltene lipid-imprägnierte Polyäthylpulver gaben wir auf eine mit Aceton eingeschlammte Polyäthylpulversäule und eluierten mit CaCl_2 -gesättigtem Aceton und dann mit Methanol-Chloroform (3 : 1). Die Acetonfraktion enthielt die Neutralfette und Cholesterinester, das Methanol-Chloroform-Eluat die Phosphatide. Beide Fraktionen wurden auf P analysiert (4) und die anfänglich noch P-haltige Neutralfett- und Cholesterinester-Fraktion erneuter Chromatographie unterworfen, bis sie sich als P-frei erwies. Auch die Phosphatidfraktion wurde durch Rechromatographieren vom noch anhaftendem Neutralfett getrennt, bis konstante P-Werte erhalten wurden. Die gereinigte Lipidfraktion verseiften wir mit 30% methanolischer Kalllauge unter Stickstoff und gewannen wie üblich Unverseifbares und Fettsäuren. Letztere untersuchten wir nach unserer Methode (5) papier-chromatographisch auf Eruca-, Behen-, Stearin-, Palmitin- und Oel- und Palmitolein- und Linolsäure. Die Resultate wurden als Mol-Prozente angegeben. Das verabreichte Rapsöl zeigte folgende Zusammensetzung: Stearinsäure 11%, Palmitin- und Oelsäure 21%, Linolsäure 18%, Linolensäure 8%, Erucasäure 42%.

Tabelle 5

Fettsäure-Zusammensetzung der Gesamtlipide aus verschiedenen Organen und Depots von Hund I in Mol.-Prozenten

Organ etc.	Eruca-säure	Stearin-säure	Palmitin- u. Oelsäure	Linol- u. Palmitolein-säure
Haut	3,9	8,0	63,0	25,1
Zunge	9,1	3,8	75,2	11,9
Augen	—	11,2	69,7	19,1
Kaumuskel	4,8	11,2	48,6	35,4
Milz	2,8	10,7	37,5	49,0
Pankreas	6,8	13,7	49,5	30,0
Hoden	5,6	16,3	58,4	19,7
Nebennieren	15,7	20,7	44,8	18,8
Dünndarm	3,4	14,9	27,6	54,1
Dickdarm	3,9	18,2	59,7	18,2
Erythrozyten	—	23,1	48,1	28,8
Plasma	10,7	14,3	40,8	34,2
Gelbes Knochenmark	—	7,9	69,9	22,2
Mesenterialfett	17,7	12,5	47,9	21,9
Nierenfett	15,3	17,9	54,9	11,9
Peritonealfett	11,8	16,0	51,7	20,5
Pericardialfett	20,4	11,4	51,8	16,4
Perigastrisches Fett	15,6	13,9	56,9	13,6
Interscapularfett	13,1	12,3	49,6	25,0
Subcutanfett	14,4	11,7	51,6	22,3
Muskelfett	6,3	6,3	61,1	26,3

Tabelle 6

Fettsäurezusammensetzung der Neutralfettfraktionen (Hund II und III) in Mol.-Prozenten

Organ etc.	Eruca-säure		Behen-säure		Stearin-säure		Palmitin- u. Oelsäure		Palmitolein- u. Linolsäure	
	II	III	II	III	II	III	II	III	II	III
Leber	2,8	0	1,1	0	15,8	19,3	47,4	62,6	33,0	18,1
Lunge	2,1	0	+	0	14,8	6,4	59,6	70,7	23,6	22,9
Knochenmark	5,4	2,3	0	0	8,1	8,1	71,7	82,9	14,8	6,5
Knochen	7,7	4,3	0	0	9,6	5,9	54,6	78,7	28,1	11,1
Gehirn	0	0	0	0	—	—	—	—	—	—
Plasma	6,8	+	0	0	10,3	8,6	57,9	84,2	25,1	27,1
Nieren	6,3	3,0	0	0	9,0	7,6	58,9	53,4	26,2	36,0
Dünndarm	6,7	0	+	0	14,1	11,8	43,1	65,6	36,1	22,6
Dickdarm	4,1	3,7	9,4	0	10,0	7,4	53,9	67,8	22,6	21,1
Mesenterialf.	10,8	7,8	0	0	13,9	12,1	48,5	57,4	26,8	22,7
Nierenfett	10,6	12,9	0	0	8,3	11,3	68,7	60,8	12,4	15,8
Subcutanfett	7,2	6,0	0	0	11,1	6,1	61,1	78,9	18,9	9,0
Fell	2,8	3,0	0	0	7,0	6,6	67,7	70,7	22,6	19,7

Tabelle 7

Fettsäurezusammensetzung der Phosphatidfraktionen (Hund II und III) in Mol-Prozenten

Organ etc.	Erucasäure		Behensäure		Stearinsäure		Palmitin- u. Oelsäure		Palmitolein- u. Linolsäure	
	II	III	II	III	II	III	II	III	II	III
Leber	+	0	+	0	45,3	43,6	39,7	47,9	15,0	8,5
Lunge	4,5	0	1,6	0	27,7	19,4	56,5	74,8	8,0	5,8
Plasma	5,5	0	4,4	3,8	22,3	42,2	50,6	44,5	16,8	9,5
Nieren	2,5	0	+	0	25,8	16,0	58,6	70,0	13,0	14,0

Ergebnisse und Diskussion

Die Neutralfette aus dem Gehirn von Tier I enthalten keine nachweisbaren Mengen Erucasäure; Leber, Lunge und Nieren indessen ähnliche Werte von etwa 6% und die Gesamtlipide aus den Fettdepots 11,8 bis 20,4%. Die Phosphatide aus Gehirn, Leber, Lunge und Niere sind frei von Erucasäure, die auch in den Protagonfraktionen nicht auffindbar ist. Viel Erucasäure wurde im Plasma (10,7%), keine in den Erythrozyten gefunden. Einen hohen Gehalt weisen auch die Nebennieren auf. Die analog gefütterten Hunde II und III zeigen in den Neutralfetten ihrer Körperlipide unterschiedliche Erucasäuregehalte. Bei Tier III ist sie in der Leber, der Lunge und im Gehirn nicht nachweisbar. Hund II zeigte indessen ähnliche Werte wie Hund I. Im Mesenterial- und Nierenfett sind bei den Tieren II und III merkliche Mengen vorhanden. Auch in den Phosphatiden der meisten Organe kommt Erucasäure nicht, oder nur spärlich vor.

Das durchaus reichliche Vorkommen von *Linolsäure* ist in Übereinstimmung mit unseren früheren Untersuchungen und beweist wiederum die ausgeprägte Anreicherungstendenz der Gewebe für diese essentielle Verbindung. Sie fand sich in zahlreichen Depotfetten in ähnlichem Ausmaße vor wie in dem verfütterten Rapsöl selbst. Die angegebenen Werte schließen allerdings gleichzeitig die Palmitoleinsäure ein. Der Gehalt tierischer Gewebe an letzterer ist indessen bei reichlicher linolsäurehaltiger Nahrung nur mäßig.

Unsere Versuche an Hunden bestätigen im Wesentlichen die früher mitgeteilten Befunde an Ratten. Nur in den Fettdepots wie Perikardialfett, Mesenterialfett, Subcutanfett konnten bei Hunden höhere Erucasäuregehalte festgestellt werden:

Hund	I	II	III
Mesenterialfett	17,7 Mol-%	10,8 Mol-%	7,8 Mol-%
Nierenfett	15,3	10,6	12,9
Subcutanfett	14,4	7,2	6,0

Es ist zu schließen, daß Erucasäure leicht abgebaut wird und als körperfremde Verbindung nicht zu einem merklichen Aufbau der Körperlipide, seien es Neutralfette oder Phosphatide, herangezogen wird.

Ihre Hydrierung zu Behensäure dürfte sich mit Hilfe der Darmflora vollziehen. Behensäure konnten wir bei Hund III nur im Plasma und im Fell, bei Hund II in der Lunge und den Erythrozyten, dem Plasma, im Fell und im Dickdarm in merklichen Konzentrationen auffinden. Bei Hund I unterblieb ihr Nachweis.

Die Untersuchungen zeigen, daß Rapsöl als Fettquelle der Nahrung trotz seines hohen Gehaltes an einer körperfremden Fettsäure zu keinerlei Bedenken Anlaß gibt. Eine merkliche Ablagerung bzw. ein wesentlicher Einbau der Erucasäure in die Organlipide tritt auch bei längeren Rapsölgaben, wie sie ernährungsmäßig üblich sind, nicht ein.

Wir danken Fräulein Y. PETIGNAT für ihre geschickte experimentelle Hilfe und der ASTRA, Fett- und Ölwerke A.G., Steffisburg, für eine finanzielle Beihilfe zu diesen Untersuchungen.

Zusammenfassung

Es wurde die Beteiligung der Erucasäure am Aufbau der Organ- und Depotfette von Hunden nach längeren Gaben einer rapsöhlhaltigen Nahrung untersucht. In den Phosphatiden war die Säure meist nicht nachweisbar, während in den Depotfetten eine merkliche Anreicherung vorlag. Gleichzeitige Ermittlung des Diensäuregehaltes ließ erkennen, daß nach Fütterung eines 18% linolsäurehaltigen Rapsöles diese essentielle Fettsäure in Bestätigung früherer Befunde sowohl in Organ- als Depotfett ausgesprochen angereichert wird.

Summary

The participation of erucic acid in the formation of organ and depot fats in dogs after prolonged administration of a diet containing rapeseedoil was examined. In the phosphatides the acid could mostly not be detected whereas it was definitely accumulated in the depot fats. The simultaneous determination of the content of dienic acids showed the definite enrichment of this essential fatty acid in organ as well as in depot fats after feeding of rapeseedoil with a linoleic acid content of 18%. These results therefore confirm our former findings.

Literatur

1. WAGNER, H., SEELIG, E. und BERNHARD, K., Schweiz. med. Wschr. **87**, 1423 (1957). — 2. WAGNER, H., SEELIG, E. und BERNHARD, K., Z. physiol. Chem. **312**, 104 (1958). — 3. WAGNER, H., SEELIG, E. und BERNHARD, K., Z. physiol. Chem. **313**, 235 (1958). — 4. DRYER, R. L., TAMMES, A. R. und ROUTH, J. I., J. Biol. Chem. **225**, 177 (1957). — 5. WAGNER, H., ABISCH, L. und BERNHARD, K., Helv. chim. acta **38**, 1536 (1955).

Anschrift der Verfasser:

Physiol.-Chem. Univ.-Institut Basel (Schweiz)

BUCHBESPRECHUNGEN

Biochemie und Technologie der Hefe. Von E. BERGANDER. Berlin (Technische Fortschrittsberichte, Band 59). X, 190 Seiten mit 15 Abbildungen. (Dresden und Leipzig 1959, Theodor Steinkopff Verlag.) Preis: geb. DM 13,25.

Es gibt nur sehr wenige Bücher, die das Gebiet der Hefetechnologie behandeln. Besonders fehlen zusammenfassende Veröffentlichungen in deutscher Sprache. Es ist deshalb sehr zu begrüßen, daß der Verfasser ein Buch vorlegt, in dem er die Zusammenhänge zwischen theoretischen Erkenntnissen und praktischen Erfahrungen auf dem Gebiet der Hefetechnologie darstellt. Das Hauptmerkmal des Buches ist die Tatsache, daß es von einem Praktiker für den Praktiker geschrieben worden ist. Als Unterlagen dienen nicht nur Vorlesungen, die an der Landwirtschaftlich-Gärtnerischen Fakultät der HUMBOLDT-Universität zu Berlin gehalten wurden, sondern ganz besonders viel Laboratoriums- und Praxiserfahrung des Verfassers. Es beschränkt sich auf die Technologie der Backhefe und behandelt auch an entsprechenden Stellen die Technologie der „Eiweißhefen“. Als Ausgangspunkt dieser technologischen Betrachtung wird die alkoholische Gärung angesehen.