

Institut für Biochemie der Bundesforschungsanstalt für Ernährung, Karlsruhe

Über den Einfluß von Guarmehl in der Nahrung auf die Verwertung von ^{14}C -markiertem Protein und Proteinhydrolysat in jungen Ratten

V. Jakubick und J. F. Diehl

Mit 3 Abbildungen und 3 Tabellen

(Eingegangen am 8. September 1979)

Schwerverdauliche Polysaccharide werden seit langer Zeit als Gelier- und Verdickungsmittel in Konzentrationen unter 1% in der Lebensmittelverarbeitung eingesetzt (1). Da dem Ballaststoffgehalt der Nahrung verschiedene positive gesundheitliche Wirkungen zugeschrieben werden, wird in neuerer Zeit der Zusatz höherer Anteile schwerverdaulicher Polysaccharide diskutiert oder bereits praktiziert (2). Im Zusammenhang damit erhebt sich die Frage, ob ein erhöhter Gehalt dieser Stoffe in der Nahrung die Verwertung einzelner essentieller Nährstoffe beeinflussen kann. In Untersuchungen von *Southgate* und *Durnin* (3) verursachte ein erhöhter Rohfasergehalt der Nahrung im allgemeinen einen erhöhten fäkalen Stickstoffverlust. Ursache hierfür könnte z. B. eine Hemmung der Proteasen im Verdauungstrakt oder eine Bindung von Aminosäuren an die unverdaulichen Polysaccharide sein.

In Versuchen an Ratten verursachte die Verabreichung einer Diät mit 5% Guarmehlzusatz zwar eine deutliche Abnahme der apparenten Proteinverdaulichkeit, jedoch keine signifikante Veränderung der N-Retention (4). Um die Wirkung zu erhöhen, wurden im Unterschied zu der vorhergehenden Arbeit (4) junge, stark wachsende Tiere eingesetzt, deren Bedarf an essentiellen Aminosäuren entsprechend hoch ist. Außerdem

Tab. 1. Zusammensetzung der Futtermischung (%).

	Versuchsgruppe	Kontrollgruppe
Casein	8,9	8,9
Saccharose	22,0	22,0
Öl	4,0	4,0
Maisstärke	46,1	56,1
Cellulose	4,0	4,0
Vitaminmischung ¹⁾	1,0	1,0
Mineralstoffe und Spurenelemente ²⁾	4,0	4,0
Füllstoff ³⁾	10,0	-

¹⁾ Vitamin diet fortification mixture, NBCo

²⁾ Salt mixture USP XIV, NBCo

³⁾ Guarkernmehl: Type 1182, Behrens & Co., Hamburg

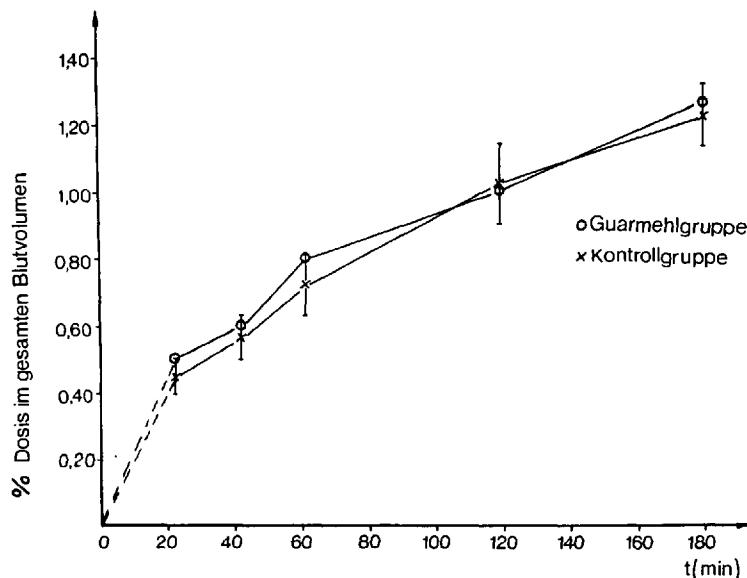


Abb. 1. Prozentualer Anteil der Radioaktivität im Blut der mit Guarmehl gefütterten Ratten – und der Kontrolltiere – nach Verabreichung von ^{14}C -Protein. Dosis: 4 μCi . Die senkrechten Linien geben die Standardabweichungen der Mittelwerte für die Kontrollgruppe an; $n = \text{je } 12$ in der Kontroll- und in der Guarmehlgruppe.

wurde der Füllstoffzusatz von 5 auf 10% erhöht. Unter diesen Bedingungen wird die N-Retention durch Agar-agar und Carrageenan vermindert, nicht jedoch durch Na-Alginat, Guarmehl und Johannisbrotkernmehl (5). Aufgabe der vorliegenden Arbeit war es, den möglichen Einfluß von Guarmehl auf die Verwertung ^{14}C -markierten Proteins und Proteinhydrolysats zu untersuchen.

Material und Methoden

Die Tierhaltung wurde in der vorangegangenen Arbeit (4) beschrieben. Es wurden männliche Sprague-Dawley-Ratten eingesetzt. An 12 Ratten wurde ab dem 25. Lebenstag eine Caseindiät mit 10% Guarmehl, an 12 Kontrolltieren eine Diät ohne Guarzusatz verfüttert. Die Futtermischung (Tab. 1) wurde mit Wasser verrührt, zu einer dünnen Schicht ausgestrichen und im Luftstrom getrocknet. Die Tiere erhielten dieses Futter in Form von Plätzchen ad lib. Auch Trinkwasser war ad lib. verfügbar.

Nach einer 14tägigen Fütterungsperiode wurde den etwa 130 g schweren Ratten das Futter entzogen und die radioaktiv markierte Substanz in 1 ml wässriger Lösung bzw. Suspension per Magensonde verabreicht. Innerhalb von 3 Stunden wurden fünfmal jeweils 100 μl Blut aus dem Orbitalvenenplexus in heparinisierte Gläser abgenommen. Nach 3 Stunden wurden die Tiere unter Äthernarkose getötet. Zur Bestimmung der ^{14}C -Aktivität der Plasmaproteine wurden dabei mehrere ml Blut entnommen. Die Leber wurde durch Perfusion mit 0,9% NaCl entblutet. Von der Rückenmuskulatur wurden etwa 2 g von Sehnen befreites Gewebe genommen. Der gastrointestinale Inhalt wurde mit Salzlösung ausgespült und ebenso wie Magen, gesamter Darm, Leber- und Muskelgewebe gefriergetrocknet.

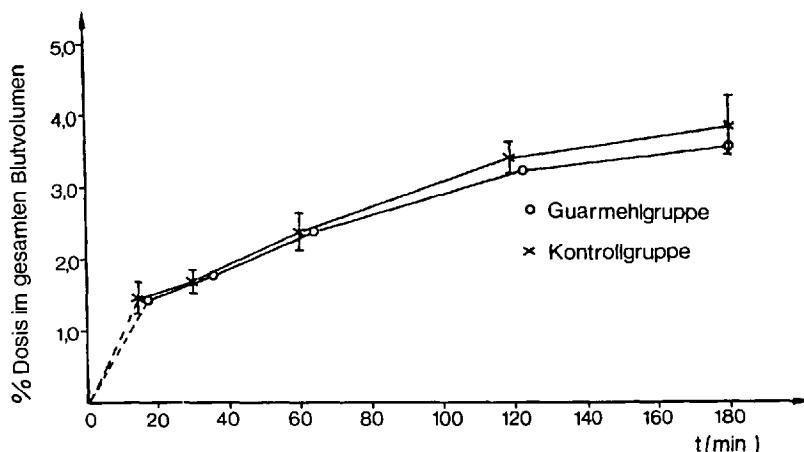


Abb. 2. Prozentualer Anteil der Radioaktivität im Blut der mit Guarmehl gefütterten Ratten – und der Kontrolltiere – nach Verabreichung von ^{14}C -Proteinhydrolysat. Dosis: 2 μCi . Die senkrechten Linien geben die Standardabweichungen der Mittelwerte für die Kontrollgruppe an; $n =$ je 12 in der Kontroll- und in der Guarmehlgruppe.

Die Messung der Radioaktivität von Magen-Darm-Gewebe, Inhalt des Magen-Darm-Trakts (je 20 mg Trockensubstanz) und Urin (100 μl Proben) erfolgte im Szintillationsgel auf Aerosil-Basis¹⁾. Die Blutproben wurden zur Messung nach *Mahin* und *Lofberg* (6) aufbereitet. Die Radioaktivität im Leber- und Muskelgewebe wurde nach einer Trockenveraschung als $^{14}\text{CO}_2$ bestimmt (7, 8). Ein automatisiertes System „Micro-Mat“ (Frieske & Höpfner, Erlangen, Modell BF 5010) wurde dafür verwendet. In einem zusätzlichen Versuch mit 6 Kontrolltieren und 6 mit 10% Guarmehl gefütterten Tieren wurde das ausgeatmete CO_2 in Stoffwechselkäfigen aufgefangen und gemessen (4). Zur Messung der ^{14}C -Aktivität wurde ein Flüssigkeitsszintillationsspektrometer (Beckman, Modell CPM 200) verwendet. Die Proteinfraktion aus Muskel-, Lebergewebe und Blut wurde durch Fällung mit 10% Trichloressigsäure (TCE) gewonnen. Aus technischen Gründen konnte die Radioaktivität der Plasmaproteine und des Urins nicht bei allen Tieren bestimmt werden. Andererseits wurde die ^{14}C -Aktivität im Blut nach Verabreichung des ^{14}C -Proteinhydrolysats in einem Wiederholungsversuch bestimmt, so daß diese Ergebnisse für

Tab. 2. Verteilung der ^{14}C -Aktivität 3 h nach oraler Verabreichung von 4 μCi ^{14}C -Algenprotein an Ratten (% der verabreichten Dosis, Mittelwerte und Standardabweichungen).

	Muskel	Leber	Blut	Magen-Darm-Trakt mit Inhalt
Kontrollgruppe $n=12$	$5,6 \pm 1,8$	$2,1 \pm 0,3$	$1,2 \pm 0,1$	$45,7 \pm 5,3$
Guarmehlgruppe $n=12$	$5,2 \pm 1,0$	$2,0 \pm 0,3$	$1,3 \pm 0,2$	$44,3 \pm 5,9$

¹⁾ 100 g Aerosil (Degussa, Frankfurt/M.); 890 ml Dioxan reinst., 100 g Naphtalin p. a., 7 g PPO, 0,3 g POPOP (Merck, Darmstadt)

Tab. 3. Verteilung der ^{14}C -Aktivität 3 Std. nach oraler Verabreichung von 2 μCi ^{14}C -Proteinhydrolysat an Ratten (% der verabreichten Dosis; Mittelwerte und Standardabweichungen)*.

	Muskel		Leber		Blut		Magen-	Urin
	Gesamt	Protein- fraktion	Gesamt	Protein- fraktion	Gesamt	Plasma- proteine	Darm- Trakt mit Inhalt	
Kontroll- gruppe	16,4 ± 1,8	13,7 ± 1,5	6,2 ± 0,3	5,6 ± 0,3	3,8 ± 0,4 ^a	2,2 ± 0,1 ^c	26,0 ± 4,9	1,4 ± 0,4 ^b
Guar- mehl- gruppe	16,2 ± 3,1	12,6 ± 2,4	6,2 ± 0,8	5,2 ± 0,7	3,5 ± 0,5 ^a	2,7 ± 0,2 ^c	24,1 ± 5,0	1,5 ± 0,2 ^b

*) n = 12 außer

^a) n = 24, ^b) n = 6 und ^c) n = 3

24 Tiere pro Gruppe vorliegen. In den Tabellen und Abbildungen wird die Zahl der Bestimmungen (n) jeweils angegeben. Die Berechnung der Radioaktivität im Muskelgewebe und im Blut basiert auf der Annahme, daß die gesamte Muskelmasse 45% (9), das gesamte Blutvolumen 6,7% des Körpergewichts darstellt (10).

Die markierten Substanzen, [^{14}C]-Proteinhydrolysat aus Algen (50 mCi/m Atom C) und [^{14}C]-Algenprotein (2 mCi/mg Protein), wurden von Amersham-Buchler, Braunschweig, bezogen. Das in Wasser suspendierte Algenprotein wurde unmittelbar vor dem Dosieren mittels Ultraschall (Branson Sonic Power S-75, Danbury, CT, USA) 1 Minute homogenisiert.

Ergebnisse und Diskussion

Wie zu erwarten, trat nach Verabreichung des ^{14}C -Proteins der Tracer langsamer in das Blut über als nach Verabreichung des ^{14}C -Proteinhydrolysats. Im ersten Fall ist nach 3 Std. nur etwas über 1% der verabreichten ^{14}C -Dosis im Blut vorhanden und die Tendenz des Kurvenverlaufs ist weiter ansteigend (Abb. 1). Zu diesem Zeitpunkt liegen die Meßwerte nach Verabreichung des Hydrolysats etwa 3fach höher und der Kurvenverlauf nähert sich dem Plateau (Abb. 2). Weder im einen noch im anderen Fall lassen sich signifikante Unterschiede zwischen den mit Guarmehl gefütterten und den Kontrolltieren erkennen ($p > 0,05$).

Tabelle 2 gibt die Verteilung der Radioaktivität im Körper der mit Guarmehl gefütterten Tiere und der Kontrolltiere 3 Std. nach Verabreichung des homogenisierten ^{14}C -Algenproteins wieder. Der Verzehr von Guarmehl hatte keine Veränderung der Radioaktivitätsaufnahme im Tierkörper zur Folge.

Dies ergab sich auch bei Verabreichung von ^{14}C -Proteinhydrolysat (Tab. 3). Die Differenzen in der Verteilung der ^{14}C -Aktivität der TCE-fällbaren Fraktion von Muskel, Leber und Blutserum sind ebenfalls statistisch nicht gesichert. Auch die Unterschiede der ^{14}C -Aktivität im Magen-Darm-Gewebe und im Inhalt des Magen-Darm-Trakts (in Tab. 3 zur Vereinfachung summiert) sind nicht signifikant.

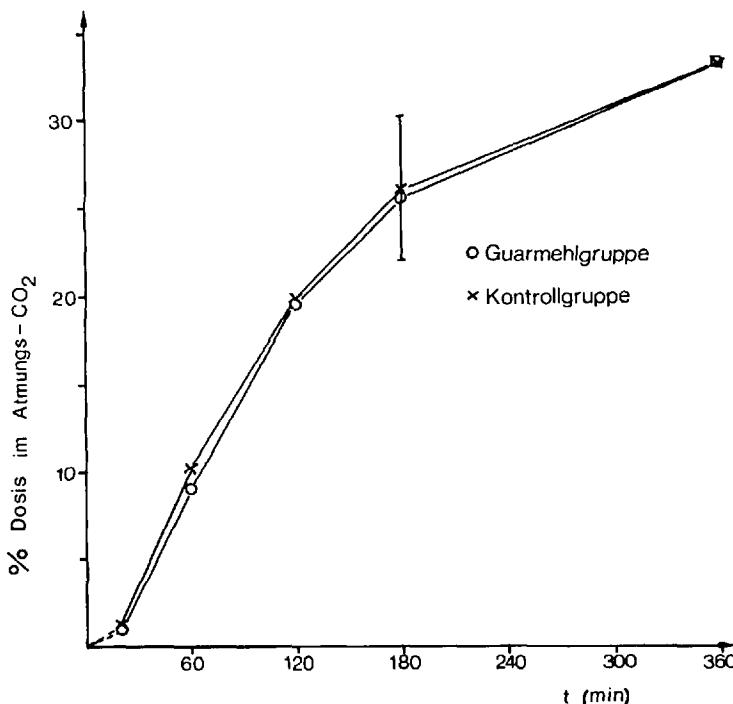


Abb. 3. Prozentualer Anteil der kumulierten Radioaktivität im Atmungs-CO₂ der mit Guarmehl gefütterten Ratten - und der Kontrolltiere - nach Verabreichung von ¹⁴C-Proteinhydrolysat. Dosis: 2 µCi. Die senkrechte Linie gibt die Standardabweichung des 180-min-Mittelwertes für die Kontrollgruppe an; n = je 6 in der Kontroll- und in der Guarmehlgruppe.

Die ¹⁴CO₂-Ausscheidung der mit Guarmehl gefütterten Gruppe und der Kontrollgruppe wurde bis zu 6 Std. nach der Verabreichung von ¹⁴C-Proteinhydrolysat gemessen und zeigte ebenfalls keine signifikante Wirkung der Füllstoff-Verfütterung (Abb. 3). Der Kurvenverlauf stimmt gut mit dem Ergebnis von Yamamoto et al. (11) überein, die 3 Std. nach Verabreichung eines markierten Proteinhydrolysats 29,4% der ¹⁴C-Aktivität als ¹⁴CO₂ gemessen haben.

Wenn auch die vorliegenden Ergebnisse nur ein unvollständiges Bild des Proteinstoffwechsels bieten, so bestärken sie doch den durch Stickstoff-Bilanzversuche (4, 5) und durch Versuche mit ¹⁴C-Algenprotein (4) gewonnenen Eindruck, daß die Verwertung des Nahrungsproteins durch Verzehr von Guarmehl nicht oder nur wenig beeinflußt wird - selbst wenn der Guarmehlgehalt der Diät 10% beträgt. Diese Feststellung steht insoweit nicht im Gegensatz zu dem eingangs zitierten Befund von Southgate und Durnin (3), als die von diesen Autoren verwendeten Diäten andere unverdauliche Polysaccharide als das hier untersuchte Guarmehl enthielten. Es zeigt sich immer deutlicher, daß die vielen, unter Bezeichnungen wie Rohfaser, Ballaststoff, Füllstoff, Plantix (12) usw. zusammengefaßten Stoffe sich in ihrer Wirkung auf die Verdauungsphysiologie sehr stark

unterscheiden können. Versuche, die physikochemischen Eigenschaften der Faserstoffe mit deren physiologischen Wirkungen in Beziehung zu setzen (13), stecken noch in den Anfängen.

Danksagung

Für Rat und Hilfe hinsichtlich Tierhaltung und Versuchsdurchführung danken wir Herrn Dr. med. vet. *H. Renner*, für zuverlässige technische Assistenz Frau *E. Haller* und Herrn *M. Knoll*.

Zusammenfassung

Sprague-Dawley-Ratten wurden ab dem 25. Lebenstag 14 Tage lang mit einer Caseindiät mit einem Zusatz von 10% Guar mehl gefüttert. Den Tieren wurde ^{14}C -Algenprotein oder Hydrolysat von ^{14}C -Algenprotein per Magensonde verabreicht und die Radioaktivität in einigen Geweben und Gewebe proteinen 3 h nach Tracerapplikation bestimmt. Radioaktivität im Blut wurde bis zu 3 h und im Atmungs- CO_2 bis zu 6 h nach Versuchsbeginn gemessen. Die Ergebnisse zeigen keinen Einfluß des Guar mehls auf die Verwertung des Proteins oder der Aminosäuren des Proteinhydrolysat s.

Summary

Beginning on the 25th day of life and for 2 weeks thereafter Sprague-Dawley rats were fed a casein diet containing 10% of gum guar. The animals were given ^{14}C algal protein or ^{14}C algal protein hydrolysate by stomach tube and the radioactivity in some tissues and tissue proteins was determined 3 h after the application. Radioactivity in blood and in respiratory CO_2 was measured up to 3 h and 6 h, respectively, after the application. The results indicate no effect of gum guar on the utilization of the protein or of the amino acids of the protein hydrolysate.

Literatur

1. *Feldmann, G.*: Gelier- und Verdickungsmittel als Lebensmittelzusatzstoffe, *Alimenta* **16**, 113 (1977). - 2. *Spiller, G. A., E. A. Shipley, J. A. Blake*: Recent progress in dietary fiber (plantix) in human nutrition, *CRC Revs. Food Science Nutrit.* **10**, 31 (1978). - 3. *Southgate, D. A. T., J. V. G. A. Durnin*: Calorie conversion factors. An experimental reassessment of the factors used in the calculation of the energy value of human diets, *Brit. J. Nutr.* **24**, 517 (1970). - 4. *Harmuth-Hoene, A.-E., V. Jakubick, R. Schelzen*: Der Einfluß von Guar mahl in der Nahrung auf die Stickstoffbilanz, den Proteinstoffwechsel und die Transitzeit der Nahrung in Ratten, *Nutr. Metab.* **22**, 32 (1978). - 5. *Harmuth-Hoene, A.-E., E. Schwerdtfeger*: The effect of indigestible polysaccharides on protein digestibility and nitrogen retention in growing rats, *Nutr. Metab.* **23**, 399 (1979). - 6. *Mahin, D. T., R. T. Lofberg*: A simplified method of sample preparation for determination of tritium, carbon-14 or sulfur-35 in blood or tissue by liquid scintillation counting, *Anal. Biochem.* **16**, 500 (1966). - 7. *Wegner, L. A., H. Winkelmann*: Die Verbrennung ^{14}C - oder ^3H -haltiger Proben als Vorstufe zur LS-Messung, *Atompraxis* **16**, 19 (1970). - 8. *Wegner, L. A., H. Winkelmann*, in: *Liquid Scintillation Counting*, *M. A. Crook and P. Johnson*, eds., (London, vol. 3, 150, 1974). - 9. *Munro, H. N.*, in: *Mammalian Protein Metabolism*, *H. N. Munro*, ed., (New York and London, vol. 3, 155, 1969). - 10. *Creskoff, A. J., T. Fitzhugh, Jr., E. J. Farris*, in: *The Rat in Laboratory Investigation*, *E. J. Farris and J. Q. Griffith, Jr.*, eds., (New York, 2nd edit., 413, 1963). - 11. *Yamamoto, S., K. Wakabayashi, Y. Nuyama, G. Inoue*: Effects of protein and energy deficiency on the incorporation of ^{14}C -chlorella protein hydrolysate into body constituents of adult rats, *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* **20**, 437 (1974). - 12. *Spiller, G. A., G. Fassett-Cornelius, G. Briggs*: A new

term for plant fibers in nutrition, Am. J. Clin. Nutr. **29**, 934 (1976). - 13. *Eastwood, M. A., R. M. Kay*: An hypothesis for the action of dietary fiber along the gastrointestinal tract, Am. J. Clin. Nutr. **32**, 364 (1979).

Anschrift der Verfasser:

Dr. *Vera Jakubick* und Prof. Dr. *J. F. Diehl*, Bundesforschungsanstalt für Ernährung, Engesserstraße 20, D-7500 Karlsruhe 1