

## Glycerin als Futterkomponente und $^{14}\text{C}$ -Glycerinumsatz bei Ratten

H. Bergner und C. Kijora

Institut für Ernährungsphysiologie, Humboldt-Universität zu Berlin

### Glycerol as a feed component and $^{14}\text{C}$ -Glycerol metabolism in rats

**Zusammenfassung:** 40 männliche Wistaratten mit einer Anfangsmasse von 58 g, in 4 Gruppen zu je 10 Tieren aufgeteilt, erhielten 0,0, 10,6, 21,3 und 31,8 % Glycerin in der Diät-Trockensubstanz (Gruppen 1–4). Die durchschnittliche Lebendmassezunahme pro Tier und Tag betrug während einer 3wöchigen Fütterungsperiode in den Gruppen 1–4 = 2,01, 2,49, 2,57 und 2,52 g. Die höhere Zunahme in den Glyceringruppen resultierte aus der höheren Futteraufnahme.

Im Anschluß an den Fütterungsversuch erhielten 4 Tiere pro Gruppe eine Stunde nach der Morgenfütterung trägerfreies  $^{14}\text{C}$ -Glycerin intraperitoneal injiziert.

Die  $^{14}\text{C}$ -Ausscheidung über die Respirationsluft und über den Harn wurden in den nachfolgenden 10 Stunden gemessen.

Die  $^{14}\text{C}$ -Ausscheidung über das  $\text{CO}_2$  der Atmungsluft betrug in den Gruppen 1–4 = 45,4, 44,2, 39,0 und 37,2 % der injizierten  $^{14}\text{C}$ -Glycerindosis.

Die  $^{14}\text{C}$ -Menge im Harn betrug 17,0, 18,1, 25,1 und 32,3 % der  $^{14}\text{C}$ -Injektionsdosis.

Die höhere Ausscheidung im Harn in den Gruppen 3 und 4 ergibt sich aus der Exkretion von freiem Glycerin über den Harn.

Die Glycerinkonzentration im Blutplasma war in den Gruppen 3 und 4 = 1,9 bzw. 1,5fach höher als in den Gruppen 1 und 2.

Es wird geschlußfolgert, daß bis zu 40 mg Glycerin pro Stunde und Tier (100 g LM) auf physiologischem Wege verstoffwechselt werden (Gruppe 2) können.

Glycerin kann bis zu einer Höhe von 10 % der Diät-Trockensubstanz bei Monogastrern als Futtermittel eingesetzt werden.

**Summary:** Male Wistar rats (initial weight 58 g) received in four groups (10 animals per group) 0.0, 10.6, 21.3, and 31.8 % glycerol in the dry matter of the diet (groups 1 to 4).

The live weight gain of the animals was, after a feeding time of 3 weeks in the groups 1 to 4, 2.01, 2.49, 2.57, and 2.52 g, respectively, per animal and day. The higher gain in the glycerol groups resulted from the higher feed intake in these groups.

Four rats per group received on the 22nd day of the experiment, 1 h after the morning meal, an intraperitoneal injection of carrier-free  $^{14}\text{C}$ -glycerol. The  $^{14}\text{C}$ -excretion in the respiration air and in the urine was measured in the following 10 h.

The  $^{14}\text{C}$ -excretion in the  $^{14}\text{CO}_2$  of the respiration air was in % of the injected  $^{14}\text{C}$ -glycerol dosis in the groups 1 to 4 = 45.4, 44.2, 39.0, and 33.2, respectively. The  $^{14}\text{C}$ -excretion in the urine was 17.0, 18.1, 25.1, and 32.3 %, respectively. The higher values in groups 3 and 4 resulted from the high excretion of free glycerol in the urine. In groups 3 and 4 the glycerol content of the blood plasma was 1.9- and 1.5-fold higher than in groups 1 and 2.

It was concluded that up to 40 mg glycerol per hour and animal (100 g LW) was metabolized in a physiological way in group 2. As a feeding component glycerol can constitute up to 10 % of the diet-DM in monogastric animals.

**Schlüsselwörter:** Glycerinverfütterung –  $^{14}\text{C}$ -Glycerinumsatz – Ratten

**Key words:** Feeding of glycerol –  $^{14}\text{C}$ -glycerol metabolism – rats

## Einleitung

Glycerin spielt als Bestandteil der aufgenommenen Nahrungsfette und als Metabolit im Stoffwechsel von Mensch und Tier eine mengenmäßig untergeordnete Rolle.

Neue ökologische Gesichtspunkte zur CO<sub>2</sub>-Rezyklierung lassen den Anbau von energieintensiven Nutzpflanzen als zweckmäßig erscheinen. Unter den Bedingungen Mitteleuropas und Kanadas kann der Rapsanbau große Ölmengen liefern, die nach Fettspaltung mittels Methanol einen Fettsäuremethylester als geeigneten Motorenreibstoff liefern. Das Abfallprodukt Glycerin müßte dann einer Verwertung zugeführt werden.

Das untoxische Glycerin wird bereits heute im Rahmen der pharmazeutischen- und Nahrungsmittelindustrie genutzt, wobei die aus der derzeitigen Fettspaltung resultierenden Glycerinmengen relativ gering sind. Eine systematische Prüfung von Glycerin in höherer Dosierung hinsichtlich seiner Eignung als Nahrungs- oder Futtermittel über einen längeren Zeitraum ist bisher nicht erfolgt.

Die in der Literatur vorliegenden Toxizitätsuntersuchungen an Menschen mit Dosierungen von 3mal täglich 30 ml Glycerin über einen Zeitraum von 50 Tagen (Johnson et al., 3) erbrachten keine negativen Folgen.

Bei parenteraler Ernährung von Patienten ist Glycerin als Precursor für Glucose geeignet. Das Sterilisieren der Infusionslösungen, bestehend aus Glycerin und Aminosäuren ist problemlos, dagegen führt die Erhitzung von Aminosäuren in Gegenwart von reduzierenden Zuckern bekanntlich zu Additionsverbindungen (Maillard-Reaktion). Nach Untersuchungen von Fairfull-Smith u.a. (1) ergab die Verwendung von Glycerin in der Infusionslösung einen deutlich positiven Effekt des Glycerins auf die N-Bilanz der Patienten. Auch die Insulinkonzentration im Blut war höher und die Konzentration an freien Fettsäuren geringer. Die verbesserte N-Bilanz bei einer täglichen Glycerinverabreichung ist auf eine Einsparung von Aminosäuren zurückzuführen, die bei fehlendem Glycerinzusatz bei den Vergleichspersonen zur Glucoseneogenese verwendet wurden. In dieser Prüfung an Patienten fehlt jedoch der Vergleich zur isoenergetischen Verabreichung von Kohlenhydraten hinsichtlich der Verbesserung der N-Bilanz.

In der vorliegenden Untersuchung sollte nach einer dreiwöchigen Glycerinfütterung an Ratten (Wachstumsversuch) geprüft werden, ob aus der Verstoffwechselung von injiziertem <sup>14</sup>C-Glycerin eine Grenze der Belastbarkeit bei 10, 20 oder 30 % Glycerin in der Diät erkennbar ist.

## Material und Methoden

### Wachstumsversuch

Vierzig männliche Wistaratten mit einer durchschnittlichen Lebendmasse von 58,0 ± 0,4 g dienten dem Versuch. Die Tiere wurden in 4 Gruppen zu je 10 Tieren gleichmäßig aufgeteilt und befanden sich während des 21tägigen Fütterungsversuches in Stoffwechseleinzelkäfigen. Während des Versuches erhielten die Tiere der Kontrollgruppe (Gr. 1) täglich 10 g Originalsubstanz einer Diät auf Weizenschrotbasis. In den Versuchsgruppen 2, 3 und 4 wurden 10, 20 bzw. 30 % des Weizenschrotes durch Glycerin ersetzt. Infolge der Erniedrigung des Proteingehaltes der Diät durch den Weizen-Glycerinaustausch wurde in den Gruppen 2, 3 und 4 das fehlende Weizenprotein durch Casein in Höhe von 1,7; 3,4 bzw. 5,2 % (ebenfalls gegen Weizenschrot ausgetauscht) ersetzt und der Rohproteingehalt der Diäten konstant gehalten. Die Bestimmung der Rohnährstoffgehalte erfolgte nach der Weender Futtermittelanalyse. Die Zusammensetzung der Versuchsrationen ist in Tabelle 1 ausgewiesen.

Tab. 1. Zusammensetzung der Diäten in g je kg Originalsubstanz. Gehalt an Trockensubstanz (TS) und Glyceringehalt in der TA

	Diät 1 (ohne Glycerin)	Diät 2 (10 % Glycerin)	Diät 3 (20 % Glycerin)	Diät 4 (30 % Glycerin)
TS (%)	87,3	88,9	87,7	87,9
Weizen <sup>1)</sup>	934	823	713	602
Casein	—	17	34	52
Glycerin	—	94	187	280
Mineralstoff- mischung <sup>2)</sup>	50	50	50	50
Vitamin- mischung <sup>3)</sup>	16	16	16	16
% Glycerin in der TS	0	10,6	21,3	31,8

<sup>1)</sup> mit 0,5 % L-Lysin-HCl ergänzt<sup>2)</sup> Zusammensetzung je kg Mineralstoffmischung:

222,6 g Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>; 161,9 g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; 142,0 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; 242,8 g CaCO<sub>3</sub>; 129,5 g NaCl; 80,9 g MgSO<sub>4</sub> · 7 H<sub>2</sub>O; 7,77 g Fe(III)-citrat; 7,29 g MnSO<sub>4</sub> · 4 H<sub>2</sub>O; 0,65 g ZnCO<sub>3</sub>; 0,32 g CuSO<sub>4</sub> · 5 H<sub>2</sub>O; 0,16 g NaF; 0,008 g KJ

<sup>3)</sup> Vitaminergänzung je kg Futter:

A 5000 IE; D<sub>3</sub> 500 IE; E 50 IE; K<sub>3</sub> 1 mg; C, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> je 20 mg; B<sub>6</sub> 10 mg; Ca-Panthenonat u. Nicotinsäure je 50 mg; Cholinchlorid 1000 mg; Folsäure 2 mg; Inositol 100 mg, p-Aminobenzoësäure 100 mg; B<sub>12</sub> 30 µg; H-Biotin 200 µg + 16 g Quellstärke (Rubaquell) als Träger

Der Rohnährstoffgehalt der 4 Diäten ist aus Tabelle 2 ersichtlich.

Tab. 2. Rohnährstoffgehalt der Diäten in % der Trockensubstanz

Diät-Nr. (Gruppen- Nr.)	Trocken- substanz in der Original- substanz (%)	Roh- protein	Roh- faser	Roh- fett	N-freie Extrakt stoffe	Roh- asche
1	87,3	13,2	3,1	1,2	77,0	5,2
2	88,9	13,3	3,2	1,2(2,1)*	76,5	5,8
3	87,7	13,4	2,5	1,2(5,4)	77,3	5,6
4	87,9	13,6	2,0	1,2(6,5)	77,6	5,6

\* Werte in Klammern geben den ermittelten Rohfettgehalt nach der Soxhletextraktion (mit Diethyl-ether) an. Da freies Glycerin z.T. mit extrahiert wurde, wurde die Differenz zum Rohfettgehalt der Kontrollration der Fraktion der N-freien Extraktstoffe zugerechnet

Die Tiere wurden 2mal täglich um 7.00 Uhr und um 16.00 Uhr gefüttert. Sie hatten jeweils für eine Stunde Zugang zum Futter. Das Lichtregime entsprach den Tageslichtverhältnissen im Versuchsmonat März mit einer Zusatzbeleuchtung während der Fütterungszeiten. Bereits nach 2 Tagen waren die Tiere an die kurze Fütterungszeit gewöhnt,

Futterreste wurden zurückgewogen. Wasser stand den Tieren ad libitum zur Verfügung. Die Wägungen der Tiere erfolgten vor der Morgenfütterung.

Infolge der Beobachtung einer höheren Harnausscheidung in den Gruppen 3 und 4 wurde ab dem 5. Versuchstag bis zum Versuchsende die tägliche Harnausscheidung aller Versuchtiere quantitativ erfaßt.

Nach einem dreiwöchigen Wachstumsversuch wurden pro Versuchsgruppe 4 Tiere für eine  $^{14}\text{C}$ -Glycerinumsatz-Messung verwendet.

#### *Messung des $^{14}\text{C}$ -Glycerinumsatzes*

Eine Stunde nach der Morgenfütterung erhielten die ausgewählten Tiere pro Versuchsgruppe 1,3 markiertes  $^{14}\text{C}$ -Glycerin intraperitoneal injiziert. Es wurden jeweils 1 ml einer trügerfreien Glycerinlösung (10 µg Glycerin) in physiologischer NaCl-Lösung verabreicht. Die je Tier injizierte Radioaktivitätsmenge betrug 79,5 kBq.

Unmittelbar nach der  $^{14}\text{C}$ -Glycerininjektion wurden die Tiere für 10 Stunden in Respirationskammern gesetzt. Durch die Respirationskammer wurde über diese Zeit mittels Membranpumpe ein Luftstrom gesaugt. Das ausgeatmete  $\text{CO}_2$  gelangte in eine Äthanolamin-Äthanol-Absorptionslösung. Ein Wechsel der Absorptionslösung erfolgte jeweils nach einer Stunde.

In Proben der Absorptionslösung wurden die  $^{14}\text{CO}_2$ -Aktivität bestimmt und nach Fällung mit  $\text{BaCl}_2$ -Lösung die gesamte  $\text{CO}_2$ -Menge gemessen.

Der während der 10 Versuchsstunden abgesetzte Harn wurde quantitativ aufgefangen und ebenfalls der  $^{14}\text{C}$ -Aktivitätsmessung zugeführt. Die Bestimmung des Glycerins im Blutplasma und im Harn erfolgte mittels Testkombination der Fa. Boehringer, Mannheim.

#### *Messung der $^{14}\text{C}$ -Aktivität im Blut und in Körperfraktionen*

Nach der 10stündigen Respirations- und Harnsammelperiode wurden die Tiere mittels Nackenschlag und Dekapitieren getötet, das auslaufende Blut gelangte in heparinisierte Zentrifugengläser.

Durch Zentrifugation (15 min bei 3500 g) erfolgte die Blutplasmagewinnung.

Für die Ermittlung der  $^{14}\text{C}$ -Gesamtaktivität wurden 0,5 ml Blutplasma mit 0,5 ml Hyaminhydroxid als Lösungsvermittler versetzt und etwa 2 Stunden im Trockenschrank bei 50 °C inkubiert.

Nach dem Abkühlen erfolgte ein Zusatz von 10 ml Dioxan-Scintillator und anschließend die Messung der  $^{14}\text{C}$ -Aktivität.

Unmittelbar nach dem Töten der Tiere wurden die Lebern entnommen und die musc. gastrocnemius herauspräpariert.

Die Lebern wurden mittels einer Infusion von physiologischer NaCl-Lösung blutfrei gespült und nach Abtupfen mit Zellstoff ihre Frischmasse ermittelt, zerkleinert, homogenisiert und im Trockenschrank bei 60 °C getrocknet. Etwa 500 mg des getrockneten Gewebes wurden in eine Papierhülse eingewogen und in einer Mikroapparatur, die der Soxhlett-Apparatur entspricht, einer Ätherextraktion unterzogen. Vom extrahierten Fett wurden 20 mg in eine Tricarb-Küvette überführt und mit 1 ml Gewebelöser versetzt. Nach Inkubieren bei 40 °C für 1 Stunde und Abkühlen der Probe erfolgte der Zusatz von Scintillatormischung.

Der musc. gastrocnemius wurde ebenfalls in physiologischer NaCl-Lösung gespült, abgetrocknet und die Masse ermittelt.

Der Muskel wurde in der 4fachen Menge physiologischer NaCl-Lösung homogenisiert, ein Aliquot von etwa 100 mg in eine Tricarb-Küvette eingewogen. Nach Versetzen mit 1 ml Gewebelöser wurde bei 50 °C 2 Stunden lang im Trockenschrank inkubiert. Nach Abkühlen und Versetzen mit 10 ml Scintillatormischung erfolgte die Messung der <sup>14</sup>C-Radioaktivität.

Alle <sup>14</sup>C-Radioaktivitätsmessungen wurden am Szintillationsspektrometer Tricarb der Fa. Packard (USA), Modell 2660 durchgeführt.

### **Biostatistik**

Alle angegebenen Werte stellen die Mittelwerte und die mittleren Fehler der Mittelwerte (SE) dar.

Als Signifikanztest wurde der Tukey Test, lediglich im Falle der täglichen Harnmenge eine t-Test nach Student (bei einem Probenumfang > 100) angewendet.

### **Ergebnisse und Diskussion**

#### **Wachstumsversuch**

Die durchschnittliche Aufnahme an Trockensubstanz (TS) und die Körpermassenzunahmen sind in Tab. 3 verzeichnet. Aus Tab. 3 geht hervor, daß die Diäten mit Glycerinzulage besser aufgenommen wurden als die Kontrolldiät. Auf Trockensubstanz berechnet, lag in den Gruppen 2–4 der Verzehr in der begrenzten Futterzeit um 7,5–8,8 % höher als in Gruppe 1. Die begrenzte Futterzeit von 2mal 1 Stunde pro Tag könnte im vorliegenden Versuch die Gruppen mit Glycerinzulage begünstigt haben, da die Konsistenz der Futtermischung durch die Glycerinzulage in Richtung auf eine bessere Haftfähigkeit verändert war. Unterstellt man, daß 50 % der Futteraufnahme dem Erhaltungsbedarf dienten (etwa 4 g TS/Tier und Tag), so war eine um 15–18 % höhere Wachstumsrate in den Gruppen mit Glycerinzulage zu erwarten. Da das Weizenprotein durch Lysin ergänzt war, dürften die geringen Caseinzulagen die Proteinqualität der Gesamtdiät

Tab. 3. Futteraufnahme und Körpermassezunahme der Versuchsratten (Mittelwerte ± SE)

	Gruppe 1 (Kontrolle)	Gruppe 2 (10 % Glycerin)	Gruppe 3 (20 % Glycerin)	Gruppe 4 (30 % Glycerin)
TS-Aufnahme (g/Tier <sup>*d</sup> ) vom 1.–21. Tag	8,0 a ± 0,25	8,7 b ± 0,07	8,6 b ± 0,06	8,7 b ± 0,03
Zunahmen (g/Tier <sup>*d</sup> ) vom 1.–9. Tag	2,78 a,b ± 0,15	3,10 b ± 0,07	3,02 a,b ± 0,07	2,65 a ± 0,10
Zunahmen (g/Tier <sup>*d</sup> ) vom 1.–21. Tag	2,01 a ± 0,20	2,49 b ± 0,06	2,57 b ± 0,06	2,52 b ± 0,11
Futteraufwand (gTS/g Zunahme) vom 1.–21. Tag	3,98	3,49	3,35	3,45

unterschiedliche Buchstaben zwischen den Gruppen geben signifikante Unterschiede mit  $p < 0,05$  an

nicht entscheidend verbessert haben, so daß die höheren Zunahmen hieraus zu erklären wären. In diesem Fall hätte in Gruppe 4 stets die höchste Zunahme resultieren müssen, was nach Tab. 3 eindeutig nicht der Fall war.

Die niedrig gehaltene Proteingabe mit 13,2–13,6 % Rohprotein in der TS ermöglichte während der Anfangsphase des Versuches noch tägliche Zunahmen in Höhe von 2,6–3,1 g/Tier und Tag. Vom 9. bis 21. Versuchstag erniedrigte sich die Zunahmeleistung auf 1,4–2,2 g, so daß für den 3wöchigen Zeitraum im Durchschnitt Lebendmassezunahmen von 2,0–2,6 g/Tier und Tag zu verzeichnen waren. Der Proteingehalt der Diät wurde deshalb so niedrig gehalten, um eine eventuelle Einsparung von Aminosäuren für die gluconeogenetische Verstoffwechselung infolge der Glycerinzulagen zu erkennen.

Im Rahmen der guten Zunahmen in den Gruppen 3 und 4 ist jedoch auch zu berücksichtigen, daß in diesen Gruppen eine höhere Wasseraufnahme und eine höhere Harnausscheidung (s. Tab. 4) registriert wurden, so daß eine höhere Wassereinlagerung in den Geweben auch zu einer höheren Lebendmassezunahme geführt haben könnte. Insgesamt ist jedoch die Schlußfolgerung erlaubt, daß das Wachstum der Versuchsratten in dieser 3wöchigen Versuchsperiode selbst durch einen sehr hohen Glyceringehalt der Diät (bis 31,8 % der TS) nicht beeinträchtigt wurde.

#### *Glycerinausscheidung über den Harn und Glycerinkonzentration im Blutplasma*

In Tab. 4 sind die Meßergebnisse der Glycerinausscheidung über den Harn während der 10stündigen Meßzeit und die Glycerinkonzentration im Blutplasma verzeichnet.

Tab. 4. Glycerinaufnahme, Glycerinausscheidung über den Harn während der 10stündigen Bilanzperiode, tägliche Harnausscheidung vom 5. bis 21. Versuchstag und Glycerinkonzentration im Blutplasma (Mittelwerte  $\pm S_E$ )

	Gruppe 1 (Kontrolle)	Gruppe 2 (10 % Glycerin)	Gruppe 3 (20 % Glycerin)	Gruppe 4 (30 % Glycerin)
Glycerinauf- nahme/Tier und Tag (mg)	–	922	1832	2735
<sup>2)</sup> Glycerinaus- scheidung im Harn in der 10stündigen Bilanzperiode (mg/Tier)	0 <sup>a</sup>	0,9 ± 0,2 <sup>a</sup>	165 ± 68 <sup>b</sup>	282 ± 14 <sup>b</sup>
in % der Tages- aufnahme	–	0,1	9,0	10,3
<sup>1)</sup> Harn/Tier*d (ml)	2,7 ± 0,2 <sup>a</sup>	2,5 ± 0,2 <sup>a</sup>	7,4 ± 0,5 <sup>b</sup>	16,4 ± 0,6 <sup>c</sup>
<sup>2)</sup> Glycerin- konzentration im Blutplasma (μmol/l)	100 ± 22 <sup>a</sup>	103 ± 17 <sup>a</sup>	196 ± 11 <sup>b</sup>	147 ± 16 <sup>ab</sup>

unterschiedliche Buchstaben in einer Zeile bedeuten Signifikanz

<sup>1)</sup> ( $p < 0,01$ )

<sup>2)</sup> ( $p < 0,05$ )

Aus Tabelle 4 geht hervor, daß in den Gruppen 3 und 4 = 9 % bzw. 10,3 % der Tagesdosis an Glycerin über den Harn ausgeschieden wurden. Bezieht man die Ausscheidung im Zeitraum von 10 Stunden auf 1/2 der Tagesration (Morgenmahlzeit), was der realen Ausscheidungsrate besser entsprechen dürfte, da von der Abendmahlzeit wahrscheinlich analoge Mengen über den Harn eliminiert wurden, so werden in den Gruppen 3 und 4 etwa 19 % des aufgenommenen Glycerins unverändert über die Niere exkretiert. In den Gruppen 3 und 4 war auch die Glycerinkonzentration im Blutplasma deutlich erhöht (Tab. 4). Im Falle der niedrigsten Glyceringabe (Gr. 2 = 10,6 % der Diät-TS) war die Glycerinkonzentration im Blutplasma nicht erhöht und die Glycerinausscheidung über den Harn ebenfalls unwesentlich (0,9 mg/10 h). In den beiden hohen Glycerinbelastungsstufen (Gr. 3 und 4) nahmen die Versuchsratten wesentlich mehr Trinkwasser auf als in den Gruppen 1 und 2. Dementsprechend lag die Harnausscheidung in Gruppe 3 etwa 3fach und in Gruppe 4 = 6fach höher als in der Kontrollgruppe. Die hohe Hygroskopizität des Glycerins erfordert für alle Transportprozesse im Organismus einen höheren Wasserbedarf. Die Glycerinausscheidung über den Harn in Gruppe 4 betrug das 1,7fache der Ausscheidung in Gruppe 3 und die Harnausscheidung lag parallel im Vergleich der beiden Gruppen um das 2,2fache höher.

#### *Umsatz von $^{14}\text{C}$ -Glycerin*

In Abb. 1 ist der Ausscheidungsverlauf des radioaktiven  $^{14}\text{CO}_2$  über die Respirationsluft graphisch dargestellt.

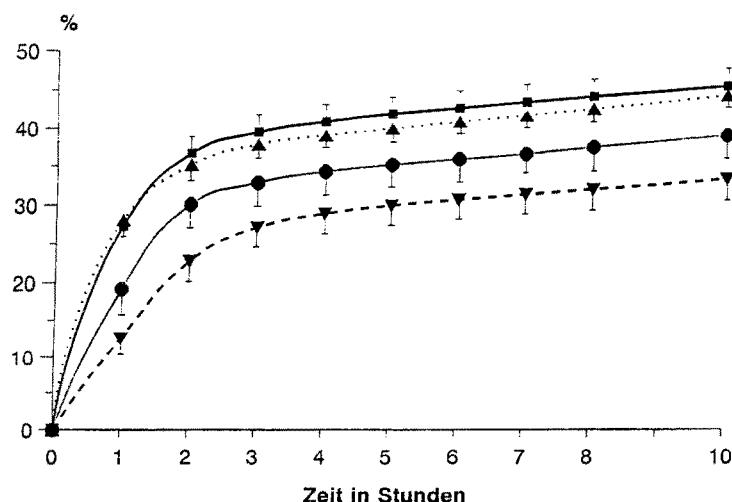


Abb. 1. Kumulative Ausscheidung an  $^{14}\text{C}$ -Aktivität über die Respirationsluft während der 10stündigen Meßperiode in % der injizierten  $^{14}\text{C}$ -Glycerinaktivität (Mittelwerte von 4 Tieren  $\pm$  SE)

- ■ — Kontrolle
- ..... ▲ ..... 10 % Glycerin
- ● — 20 % Glycerin
- ▼ --- 30 % Glycerin

Aus Abbildung 1 geht hervor, daß 10,6 % Glycerin in der Diät-TS (Gruppe 2) den  $^{14}\text{CO}_2$ -Ausscheidungsverlauf gegenüber der Kontrollgruppe 1 kaum veränderten. Insgesamt wurden in der Kontrollgruppe 1 =  $45,4 \pm 1,3\%$  und in Gruppe 2 =  $44,2 \pm 1,3\%$  der injizierten  $^{14}\text{C}$ -Radioaktivität des  $^{14}\text{C}$ -Glycerins in der Respirationsluft wiedergefunden. Hieraus geht hervor, daß die Glycerinaufnahme in Höhe von 460 mg im Rahmen der Morgenmahlzeit in den Glycerinpool und in den Stoffwechsel des Organismus auf physiologische Weise inkorporiert bzw. verstoffwechselt wurden und somit sich auch nicht die Glycerinkonzentration im Blutplasma erhöhte (s. Tab. 4). Aus Abb. 1 geht der zu erwartende Ausscheidungsverlauf an  $^{14}\text{CO}_2$ -Radioaktivität aus dem injizierten  $^{14}\text{C}$ -Glycerin hervor. Er folgt der logischen Markierung des Glycerinpools, d.h. die höchste relative  $^{14}\text{C}$ -Eliminierung über  $\text{CO}_2$  wurde ohne Glyceringabe und die niedrigste bei der höchsten Glyceringabe gemessen.

Die spezifische Radioaktivität des Glycerins (Abb. 2) lag nach der  $^{14}\text{C}$ -Glycerininjektion (2 h nach der Fütterung) erwartungsgemäß in der Reihenfolge der  $^{14}\text{C}$ -Eliminierung nach Abb. 1. Im Vergleich zur 1. Meßstunde der  $\text{CO}_2$ -Absorption verringerte sich die  $\text{CO}_2$ -Ausscheidung zur 2. und 3. Meßstunde in den Gruppen mit hohen Glyceringaben (3 und 4) deutlich stärker als in der Kontrollgruppe. Hieraus resultiert der höhere Wert der spezifischen Radioaktivität des Glycerins in diesen Gruppen gegenüber der Kontrollgruppe zur 3. und 4. Stunde nach der Fütterung (2. und 3. Stunde nach der  $^{14}\text{C}$ -Glycerininjektion). Entweder sind Transitvorgänge im Verdauungstrakt oder metabolische Prozesse im Zusammenhang mit der hohen Glycerinaufnahme hierfür verantwortlich.

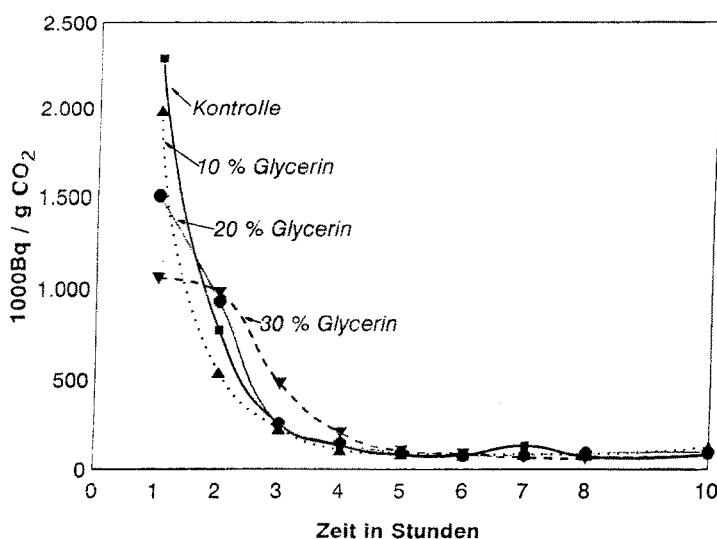


Abb. 2. Spezifische  $^{14}\text{C}$ -Radioaktivität der  $\text{CO}_2$ -Ausscheidung die über Respirationsluft während der 10ständigen Meßperiode

- ■ — Kontrolle
- ..... ▲ ..... 10 % Glycerin
- ● — 20 % Glycerin
- ▽ — 30 % Glycerin

Wie aus den Verlaufskurven der spezifischen Radioaktivität des  $^{14}\text{CO}_2$  (Abb. 2) weiter hervorgeht, war 6 Stunden nach Beendigung der Futteraufnahme und damit auch der Glycerinaufnahme in den Gruppen 2–4 die Eliminierung von  $^{14}\text{C}$ -Radioaktivität über das  $\text{CO}_2$  in allen Gruppen gleich. Somit war zu diesem Zeitpunkt das überschüssige Glycerin auch in den Gruppen 3 und 4 entweder verstoffwechselt oder über die Nieren eliminiert.

Setzt man die zur 6. Stunde ausgeschiedene  $^{14}\text{C}$ -Radioaktivität = 100 % und bezieht die stündlich gemessenen Ausscheidungswerte auf diesen Endwert, so waren bereits 1 h nach Meßbeginn mehr als 40 % in allen Gruppen über die Respirationsgase ausgeschieden worden, wie es aus Tab. 5 ersichtlich ist.

Tab. 5. Relative Ausscheidung der  $^{14}\text{C}$ -Aktivitäten über die Respirationsluft im Verlauf von 6 Stunden in Prozent des Endwertes zur 6. Stunde (= 100 %)

Stunden nach Meßbeginn	Gruppe 1 (Kontrolle)	Gruppe 2 (10 % Glycerin)	Gruppe 3 (20 % Glycerin)	Gruppe 4 (30 % Glycerin)
1	64,1	68,7	53,5	41,0
2	86,2	86,1	83,8	73,9
3	92,7	92,7	91,6	88,3
4	96,0	95,6	95,5	94,1
5	98,4	97,8	98,1	97,7
6	100,0	100,0	100,0	100,0

Gidez und Karnovsky (2) injizierten an Versuchsratten 30 bis 238 mg  $^{14}\text{C}$ -markiertes Glycerin. Sie fanden einen relativ konstanten Prozentsatz der verabreichten  $^{14}\text{C}$ -Radioaktivität im ausgeschiedenen  $^{14}\text{CO}_2$  der Atemluft. Es waren nach 6 Stunden Meßdauer etwa 40 % der injizierten  $^{14}\text{C}$ -Glycerin-Radioaktivität.

In den Experimenten von Gidez und Karnovsky (2) war die  $^{14}\text{C}$ -Glycerin-Katabolisierung zu  $^{14}\text{CO}_2$  unabhängig von der Verabreichungsform des  $^{14}\text{C}$ -Glycerins, es wurden die orale Gabe mit der i.p.- und i.v.-Injektion verglichen.

Dementsprechend ist in den vorliegenden Untersuchungen die i.p.-Injektion des tragerfreien  $^{14}\text{C}$ -Glycerins zur Markierung des Glycerinpools als eine geeignete Methode zu betrachten, um Aussagen über die Verstoffwechselungsrate von sehr hohen oral aufgenommenen Glycerinmengen zu erhalten.

In Abb. 3 ist die Ausscheidung an  $^{14}\text{C}$ -Aktivität über die Respirationsluft und den Harn in Prozent der injizierten  $^{14}\text{C}$ -Glycerindosis graphisch dargestellt.

Über beide Ausscheidungswege gemeinsam wurde etwa gleich viel  $^{14}\text{C}$ -Radioaktivität eliminiert.

Aus Abb. 3 geht hervor, daß mit 20 bzw. 30 % Glycerin in der Diät das Exkretionsverhältnis der Kontrollgruppe mit 27 %  $^{14}\text{C}$ -Exkretion über den Harn und 73 % über die Respirationsluft nicht mehr eingehalten werden kann und in Gruppe 3 das Verhältnis 39 : 61 und in Gruppe 4 = 49 : 51 erreicht. Die Ursache hierfür ist, daß nach Tab. 4 in den Gruppen 3 und 4 hohe Glycerinmengen direkt über die Nieren ausgeschieden werden.

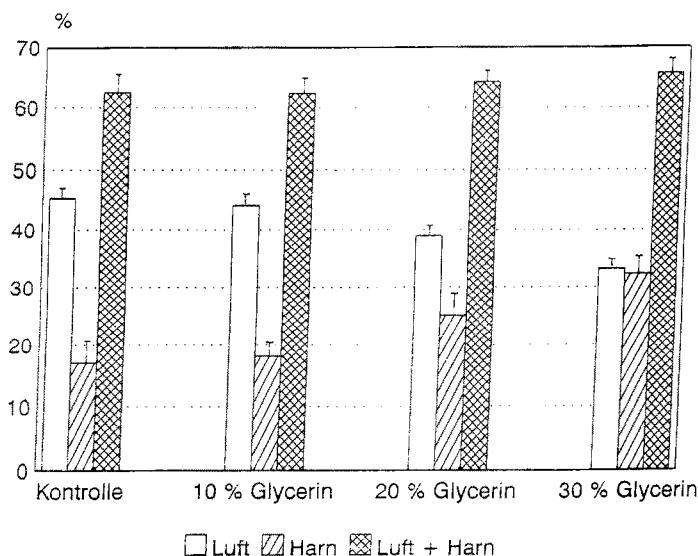


Abb. 3. Ausscheidung an <sup>14</sup>C-Aktivität über Respirationsluft und Harn während der 10stündigen Meßperiode in % der injizierten <sup>14</sup>C-Glycerinaktivität (Mittelwerte von 4 Tieren  $\pm$  SE)

Das bedeutet, daß eine normale Verstoffwechselung des oral aufgenommenen Glycerins ab 20 % Glycerin in der Diät problematisch ist.

Nach Abb. 3 wurden in der Kontrollgruppe 17,0 % der <sup>14</sup>C-Glycerinaktivität über den Harn ausgeschieden und in den Gruppen 3 und 4 = 25,1 bzw. 32,3 %. Die Mehrausscheidung in Höhe von 8,1 bzw. 15,3 % der Aufnahme ist als Schätzwert für die durchschnittliche zusätzliche Glycerinausscheidung über den Harn geeignet, d.h. es wird zugrunde gelegt, daß 17 % der im Glycerinpool markierten C-Atome in der Kontrollgruppe als metabolisierter Kohlenstoff im Harn erscheinen.

Die tatsächliche Glycerinausscheidung innerhalb von 10 Stunden nach Tab. 4 mit etwa 9,5 % der Tagesdosis stimmt mit den Schätzwerten von etwa 8 % bzw. 15 % der Ausscheidung des radioaktiven <sup>14</sup>C in Form von Glycerin relativ gut überein.

Somit sind auch in den Gruppen 3 und 4 bei hoher Glycerinbelastung mindestens 80 % des aufgenommenen Glycerins verstoffwechselt oder zu Synthesezwecken verbraucht worden. Die Nutzung des Glycerins zu Synthesezwecken geht aus der <sup>14</sup>C-Aktivität der gemessenen Gewebe (Tab. 6) hervor. Etwa 30–40 % des Glycerinpools (vgl. Abb. 3) konnten zu Synthesezwecken genutzt werden. Hierbei sind jedoch auch Zwischenstufen einzubeziehen, die später (nach der 10stündigen Meßdauer) verstoffwechselt werden. Die nach Abb. 3 fehlende <sup>14</sup>C-Aktivität (30 % der injizierten Dosis) verteilt sich nach der 10stündigen Meßperiode im Gesamtorganismus. Nach dem Kurvenverlauf in Abb. 3 ist in der Folgezeit auch mit einer weiteren <sup>14</sup>CO<sub>2</sub>-Ausscheidung zu rechnen.

In Tab. 6 sind die Resultate des <sup>14</sup>C-Einbaus in verschiedene Gewebe aufgeführt.

Die höhere spezifische Radioaktivität des Glycerinpools in der Kontrollgruppe (s. auch Abb. 2 für die spezifische Radioaktivität des CO<sub>2</sub> eine Stunde nach der <sup>14</sup>C-Glycerininjektion) läßt eine höhere <sup>14</sup>C-Markierung in den Geweben der Kontrolltiere erwarten. Vergleicht man die Gruppen 1 und 2 mit den Gruppen 3 und 4 mit der

Tab. 6.  $^{14}\text{C}$ -Aktivität in verschiedenen Geweben (in % des injizierten  $^{14}\text{C}$ -Glycerins, 10 h nach der Injektion, Mittelwerte  $\pm S_E$ )

	Gruppe 1 (Kontrolle)	Gruppe 2 (10 % Glycerin)	Gruppe 3 (20 % Glycerin)	Gruppe 4 (30 % Glycerin)
Blutplasma (pro ml)	0,15	0,14	0,11	0,13
musc.gastroc- nemius (pro g Gewebe)	0,30 $\pm 0,02$	0,30 $\pm 0,01$	0,28 $\pm 0,01$	0,24 $\pm 0,01$
Gesamtmuskel	0,38 $\pm 0,04$	0,41 $\pm 0,03$	0,38 $\pm 0,03$	0,29 $\pm 0,01$
Leberfett (pro g Leber)	0,043 $\pm 0,008$	0,036 $\pm 0,004$	0,024 $\pm 0,003$	0,031 $\pm 0,003$
Gesamtleber	0,15 $\pm 0,02$	0,14 $\pm 0,01$	0,11 $\pm 0,02$	0,13 $\pm 0,02$

hohen Glycerinbelastung, so bewirkte die erniedrigte spezifische  $^{14}\text{C}$ -Aktivität des Glycerins im Glycerinpool der Gruppen 3 und 4 auch erniedrigte  $^{14}\text{C}$ -Inkorporationswerte in die Gewebe. Die relativ geringen Unterschiede in der Gewebemarkierung und die hohe  $^{14}\text{C}$ -Ausscheidung über die Respirationsluft zeigen die hohe Nutzungsrate des Glycerins für oxidative Prozesse an.

Gidez und Karnovsky (2) fanden in ihren Versuchen an Ratten nach unterschiedlichen Injektionsdosen an  $^{14}\text{C}$ -Glycerin ebenfalls eine hohe Glycerinoxidation. Bei Dosierungen zwischen 60 und 240 mg  $^{14}\text{C}$ -markiertes Glycerin pro Ratte (160–200 g schwer) als Einzelinjektion lag die  $^{14}\text{C}$ -Ausscheidung über die Respirationsluft nach 4stündiger Meßdauer bei 30 % und nach 6stündiger Meßdauer zwischen 35 und 40 %. Bei Dosierungen von  $\leq 30$  mg  $^{14}\text{C}$ -Glycerin stieg die Oxidationsrate bis auf etwa 65 % an.

Rechnet man im vorliegenden Experiment in Gruppe 4 mit einer gleichmäßigen Oxidation der 2735 mg Glycerinaufnahme (Tab. 3) in 24 h, so ergibt sich ein stündlicher Glycerinabbau in Höhe von 114 mg pro Ratte mit etwa 100 g Lebendmasse (etwa 200 mg/200 g Lebendmasse). Somit stimmen unsere Ergebnisse mit den Resultaten von Gidez und Karnovsky (2) in der Größenordnung der möglichen quantitativen Glycerinoxidation bei der Versuchsratte sehr gut überein. Es ergibt sich, daß in Gruppe 2 mit 10,6 % Glycerin in der Diät-TS eine Glycerinverstoffwechselung in Höhe von etwa 40 mg/h und Tier ohne eine Nierenbelastung möglich war. Eine Verdoppelung dieses Glycerinanteils in der Diät führte jedoch zu einer Erhöhung der Glycerinkonzentration im Blut und zu einer Glycerineliminierung über den Harn. Es ist zu schlußfolgern, daß eine Glycerinverfütterung an monogastrische Nutztiere bis zu einer Höhe von 10 % der Diät problemlos möglich sein müßte.

*Literatur*

1. Fairfull-Smith RJ, Stoski D, Freemann JB (1982) Use of glycerol in peripheral parenteral nutrition. *Surgery*, USA 92:728-732
2. Gidez LJ, Karnovsky ML (1954) The metabolism of C<sup>14</sup>-Glycerol in the intact rat. *J Biol Chem* 206:229-242
3. Johnson V, Carlson AJ, Johnson A (1933) The physiological action of glycerol on the animal organism. *Am J Physiol* 103:517-53

Eingegangen 14. Dezember 1992  
akzeptiert 26. Mai 1993

Für die Verfasser:

Prof. Dr.habil H. Bergner, Institut für Ernährungsphysiologie Invalidenstr. 42, 10115 Berlin