

D.A. Roth-Maier
M. Kirchgeßner

Untersuchungen zur praecaecal Verdaulichkeit von nativem Thiamin, Riboflavin und nativer Pantothensäure am Tiermodell Schwein

Investigations on the precaecal digestibility of naturally occurring thiamin, riboflavin and pantothenic acid

Zusammenfassung Die vorliegenden Untersuchungen dienten dazu, Ergebnisse zur praecaecal Verdaulichkeit von nativem Thiamin, Riboflavin und Pantothensäure aus Mais, Weizenkleie und Magermilchpulver zu liefern. Die praecaecale Verdaulichkeit, als quantitatives Maß für die Verfügbarkeit, wurde an ileorectostomierten Schweinen ermittelt. Dazu wurden bei 6 wachsenden weiblichen DL-Schweinen beim Lebendgewicht von etwa 30 kg auf chirurgischem Weg Ileorectalananomosen in Form der

End-zu-Seit-Anastomosen mit Erhalt der Ileocaecalklappe hergestellt. Die Stoffwechselversuche mit quantitativer Chymussammlung wurden ab etwa der 3. Woche bis 9 Wochen nach der Operation im Gewichtsbereich der Tiere von 40–70 kg durchgeführt.

Die praecaecale Verdaulichkeit aus Mais, Weizenkleie und Magermilchpulver betrug für Thiamin 87 %, 91 % und 96 % (jeweils signifikant verschieden), für Riboflavin 67, 62 und 94 % und für Pantothensäure 20, 47 und 90 %. Damit war die „Verfügbarkeit“ von natürlichem Thiamin deutlich höher als von Riboflavin; Pantothensäure wies mit etwa 50 % den signifikant schlechtesten Wert auf. Das tierische Produkt stellte im Vergleich zu den pflanzlichen Komponenten die Vitamine deutlich am besten zur Verfügung. Die Eignung der Methodik für Verfügbarkeitsstudien wird diskutiert.

Summary The aim of the present investigations was to produce results about precaecal digestibility of naturally occurring thiamin, riboflavin and pantothenic acid from corn, wheat bran and dried skimmilk. Precaecal digestibility is used as a quantitative measure for availability and was determined in ileorectomized growing pigs. Therefore, 6 female DL-pigs with a liveweight of about 30 kg were

fitted with ileorectalananostomosis as end-to-side-anastomosis with preserved ileo-caeco-colic valve. The metabolism trials to collect the chymus quantitatively with these animals were carried out from the third week until 9 weeks after surgery in the liveweight range of about 40–70 kg.

Precaecal digestibilities from corn, wheat bran and dried skimmilk were for thiamin 87, 91 and 96 %, respectively, with all values being significantly different. Riboflavin was 67, 62 and 94 % precaecally digestible, the significantly different values for pantothenic ranged from 20 to 47 and 90 %. “Availability” of native thiamin was higher than of riboflavin and pantothenic acid, which showed the lowest value of about 50 %. The availability of the vitamins from the animal product was significantly higher than from vegetable products. The suitability of the method is discussed.

Schlüsselwörter Thiamin – Riboflavin – Pantothensäure – praecaecale Verdaulichkeit – Verfügbarkeit – Ileorectalananomose

Eingegangen: 17. Februar 1996
Akzeptiert: 3. Mai 1996

Prof. Dr. D.A. Roth-Maier
Prof. Dr. Dr. h. c. mult. M. Kirchgeßner (✉)
Institut für Ernährungsphysiologie
Technische Universität München
85350 Freising-Weihenstephan

Key words Thiamin – riboflavin – pantothenic acid – precaecal digestibility – availability – ileorectalananostomosis

Einleitung

In umfangreichen Untersuchungen wurde von den Arbeitsgruppen um Hennig, Laplace und Souffrant (z.B. 3, 4, 5) die Bestimmung der praecaecalen Verdaulichkeit von Nährstoffen mittels Ileorectalanastromosen bei Schweinen vorgenommen, die als End-zu-Seit- oder End-zu-End-Anastomosen jeweils mit oder ohne erhaltene Ileocaecalklappe ausgeführt wurden. Auch bei B-Vitaminen soll diese praecaecale Verdaulichkeit als Maß für die quantitative Einschätzung der Verfügbarkeit dienen (8). In einer ersten Untersuchung zur Anwendung der Ileorectostomie für die Untersuchung der praecaecalen Verdaulichkeit von B-Vitaminen wurden die entsprechenden Ergebnisse zum Vitamin B₆ bereits mitgeteilt (8). In der vorliegenden Arbeit werden Ergebnisse weiterer analoger Untersuchungen zur praecaecalen Verdaulichkeit von Thiamin (Vitamin B₁), Riboflavin (Vitamin B₂) und Pantothensäure dargestellt, wobei die genannten B-Vitamine aus den beiden pflanzlichen Produkten Mais und Weizenkleie und dem tierischen Futtermittel Magermilchpulver stammten.

Material und Methoden

Die Untersuchungen wurden an 6 weiblichen DL-Schweinen aus 2 Würfen in jeweils 3 Durchgängen im Versuchsschema des lateinischen Quadrates vorgenommen. Damit wurden für jedes untersuchte Lebensmittel 6 Werte von 6 verschiedenen Tieren gewonnen. Die Tiere wurden nach 14tägiger Vorbereitungs- und Eingewöhnungszeit mit etwa 30 kg operiert, wobei die Methodik der End-zu-Seit-Anastomose mit Erhalt der Ileocaecalklappe angewendet wurde. Nähere Details sind bereits früher beschrieben (8).

Die Stoffwechselversuche zur quantitativen Chymussammlung wurden 18–25 Tage nach der Operation begonnen und 60–67 Tage nach der Operation beendet. Die Tiere wiesen in dieser Zeit ein Gewicht von 44–70 kg auf. Die Vorperiode umfaßte jeweils 7 Tage, die Sammelperiode 5 Tage. Während der Sammelperiode erhielten die Tiere einen Blasenkatheder, der täglich gespült und desinfiziert wurde. Die Fütterung erfolgte zweimal täglich (7⁰⁰ und 15³⁰). Die zu prüfenden Komponenten Mais, Weizenkleie und Magermilchpulver wurden in einem möglichst hohen Anteil von 65, 22 und 42 % innerhalb einer Ration verabreicht, die bei Pantothensäure vitaminfrei bzw. bei Thiamin und Riboflavin nahezu vitaminfrei war, sonst aber an allen übrigen Nähr- und Wirkstoffen eine optimale Versorgung der Tiere sicherstellte. Die fettlöslichen Vitamine wurden über eine Vitaminvormischung entsprechend dem optimalen Bedarf eingemischt. In den Rationen wurden als Eiweißträger im wesentlichen Casein (bei Mais und Weizenkleie), als

Energielieferanten Zucker, Stärke und Sojaöl, sowie als Rohfaserlieferant Cellulose verwendet. Die genaue Zusammensetzung der Rationen, die 150 g Rohprotein und 14,5 MJ ME/kg enthielten, findet sich in einer früheren Arbeit (8). Die Tiere erhielten 1,5 kg Futter je Tier und Tag. Die Ration wurde angefeuchtet im Verhältnis Futter:Wasser wie 1:2,5 vorgelegt. Darüber hinaus stand Wasser den Tieren ad libitum zur Verfügung.

Die Chymussammlung erfolgte lichtgeschützt zweimal täglich. In Vorversuchen war überprüft worden, daß während der Zeitabstände dazwischen keine Änderungen im Vitamingehalt des Chymus auftraten. Für die Analysen wurden aliquote Teilproben entnommen, die sofort tiefgefroren (-20 °C), anschließend gefriergetrocknet, danach gemischt und gemahlen wurden. Als Versuchskriterien wurden die Vitaminkonzentrationen in den Komponenten, den Rationen und im Chymus, die tägliche Ausscheidungsmenge über den Chymus und die praecaecale Verdaulichkeit aus dem Verhältnis der Vitaminausscheidung zur Vitaminaufnahme als Maß für die quantitative Verfügbarkeit ermittelt.

Die Thiaminbestimmung wurde nach einer Thiochrommethode (7) vorgenommen. Riboflavin wurde mittels HPLC bestimmt (9, HPLC-Anlage von Merck-Hitachi, Darmstadt; Trennsäule LiChro Chart 125-4, RP-18 Säule 5 µm, mobile Phase aus 30 % Methanol und 70 % Zitronensäure (200 mg/L) isokratisch, Flußrate 0,8 ml/min, Injektionsvolumen 50 µl, temperierte Trennsäule auf 21 °C, Detektion durch Fluoreszenzdetektor bei Anregungswellenlänge von 453 nm und Emissionswellenlänge von 521 nm, externer Standard Riboflavin, 0,2 µg/ml, Retentionszeit ca. 9 min). Die Pantothensäureanalyse erfolgte mikrobiologisch mit Lactobacillus plantarum 17-5 (ATCC-Nr. 8014, (2)). Das Datenmaterial wurde statistisch durch Varianzanalyse mit den Faktoren Futtermittel, Versuch, Durchgang und Interaktionen ausgewertet. Dazu diente das Statistikprogramm SAS (Statistical Analysis System, Inc., Cary, NC, USA). Die Mittelwerte wurden mit dem Student-Newman-Keuls-Test geprüft, unterschiedliche Hochbuchstaben zeigen signifikante Unterschiede an ($p < 0,05$). Die in den Tabellen aufgeführten ±-Werte geben die Standardabweichung der Einzelwerte an.

Ergebnisse

Die erzielten Ergebnisse sind in den Tabellen 1–3 dargestellt. Im Casein wurden je g Trockenmasse (T) lediglich 0,55 µg Thiamin und 1,73 µg Riboflavin analysiert. Pantothensäure konnte nicht nachgewiesen werden. In den Mais- und Weizenkleierationen stammten daher nur 2 bzw. 3 % des Thiamins und 5 bzw. 10 % des Riboflavins aus Casein. Da diese Anteile innerhalb der gesamten Streuung für die Verdaulichkeitsbestimmung nur gering waren, mußten sie nicht gesondert erfaßt werden.

Thiamin wurde gemäß der unterschiedlichen Rationsgehalte auch in deutlich unterschiedlicher Menge täglich aufgenommen (Tab. 1). Die Vitamin-B₁-Konzentration im Chymus war mit 2,4 µgT am höchsten bei Mais und deutlich niedriger, wenn Weizenkleie oder Magermilchpulver verabreicht wurden. Thiamin aus Magermilchpulver wurde mit 96 % nahezu vollständig praecaecal verdaut, statistisch signifikant niedriger lag die praecaecale Verdaulichkeit von Thiamin aus Weizenkleie oder Mais, obwohl auch hier die Werte von 91 bzw. 87 % als sehr hoch zu bewerten sind.

Die Ergebnisse zum Riboflavin zeigt Tabelle 2. Durch die hohe Vitamin-B₂-Konzentration im Magermilchpulver von 23 µg/gT und dessen Anteil von 42 % in der Ration war die tägliche Riboflavinaufnahme mit 12 mg deutlich höher als wenn Mais oder Weizenkleie gegeben wurden. Auch die Riboflavinkonzentration im Chymus unterschied sich bei Einsatz von Magermilchpulver durch signifikant höhere Werte, verglichen mit den beiden anderen Komponenten. Da die Kotmenge jedoch bei Verfütterung von Magermilchpulver wesentlich geringer war als bei den

pflanzlichen Produkten, ergaben sich für die tägliche Ausscheidung an Riboflavin aufgrund der hohen Streuung keine wesentlichen Unterschiede. Die praecaecale Verdaulichkeit von Riboflavin aus Magermilchpulver war mit 94 % hoch und deutlich besser als aus Mais oder Weizenkleie mit 67 bzw. 62 %.

Die Daten für die Pantothenensäure sind in Tabelle 3 zusammengefaßt. Der Pantothensäuregehalt in Weizenkleie und Magermilchpulver war um das 7–10fache höher als in Mais, wodurch auch die jeweiligen täglichen Aufnahmen signifikant verschieden waren. Im Chymus waren die Unterschiede aber auch aufgrund der großen Streuung nicht so deutlich. Die praecaecale Verdaulichkeit von Pantothensäure aus Magermilchpulver war mit 90 % sehr hoch, bei den pflanzlichen Produkten Weizenkleie und Mais mit 47 bzw. 20 % signifikant niedriger. Für die Maisration konnte sogar bei zwei Tieren im dritten Durchgang keine praecaecale Verdaulichkeit ermittelt werden, da die Pantothensäureausscheidung im Chymus die Pantothensäureaufnahme um 24 bzw. 35 % überstieg.

Tabelle 1 Thiaminkonzentration in Futter und Chymus, tägliche Ausscheidung an Thiamin sowie praecaecale Verdaulichkeit von Thiamin aus Mais, Weizenkleie und Magermilchpulver

Komponente	Mais	Weizenkleie	Magermilchpulver
Thiamingehalt der Komponente, µg/gT	4,82	10,30	4,39
Thiamingehalt der gesamten Ration, µg/gT	2,92	2,28	1,91
Tägl. Thiaminaufnahme, µg	3 958 ^a ± 281	3 096 ^b ± 208	2 599 ^c ± 501
Konzentration im Chymus, µg/gT	2,44 ^a ± 0,68	1,29 ^b ± 0,53	1,02 ^b ± 0,61
Tägl. Ausscheidung im Chymus, µg	518 ^a ± 143	273 ^b ± 118	112 ^c ± 68
Praecaecale Verdaulichkeit, %	87 ^c ± 3	91 ^b ± 4	96 ^a ± 2

Tabelle 2 Riboflavinkonzentration in Futter und Chymus, tägliche Riboflavinausscheidung sowie praecaecale Verdaulichkeit von Riboflavin aus Mais, Weizenkleie und Magermilchpulver

Komponente	Mais	Weizenkleie	Magermilchpulver
Riboflavingehalt der Komponente, µg/gT	1,09	1,46	22,9
Riboflavingehalt der gesamten Ration, µg/gT	1,11	1,06	8,81
Tägl. Riboflavinaufnahme, µg	1 501 ^b ± 149	1 434 ^c ± 267	11 999 ^a ± 744
Konzentration im Chymus, µg/gT	2,32 ^b ± 0,39	2,60 ^b ± 1,00	6,78 ^a ± 3,27
Tägl. Ausscheidung im Chymus, µg	491 ± 67	541 ± 213	751 ± 363
Praecaecale Verdaulichkeit, %	67 ^b ± 7	62 ^b ± 12	94 ^a ± 17

Tabelle 3 Pantothensäurekonzentration in Futter und Chymus, tägliche Ausscheidung an Pantothensäure sowie praecaecale Verdaulichkeit von Pantothensäure aus Mais, Weizenkleie und Magermilchpulver

Komponente	Mais	Weizenkleie	Magermilchpulver
Pantothensäuregehalt der Komponente, µg/gT	4,73	35,1	45,3
Pantothensäuregehalt der gesamten Ration, µg/gT	2,51	6,97	17,48
Tägl. Pantothensäureaufnahme, µg	3 874 ^c ± 555	9 916 ^b ± 548	24 786 ^a ± 1 347
Konzentration im Chymus, µg/gT	14,77 ± 3,21	25,23 ± 2,14	22,39 ± 9,64
Tägl. Ausscheidung im Chymus, µg	3 097 ^b ± 518	5 280 ^a ± 829	2 463 ^b ± 1 014
Praecaecale Verdaulichkeit, %	20 ^c ± 7	47 ^b ± 7	90 ^a ± 4

Diskussion

Ziel der vorliegenden Untersuchung war es, anhand weiterer B-Vitamine Ergebnisse dazu zu liefern, ob und inwieweit die Methodik der Anwendung von Ileorectalana-stomosen für quantitative Verfügbarkeitsstudien von B-Vitaminen durch die Ermittlung der praecaecalen Verdaulichkeit geeignet ist. Die Versuchstiere wurden daher mit Ileorectalana-stomosen in Form der End-zu-Seit-Anastomosen mit erhaltenener Ileocaecalklappe ausgestattet. Mit den bislang durchgeföhrten Methoden, wie z.B. Absorptionsmessungen, Ermittlung von Wachstumsraten oder anderen Dosis-Wirkungsbeziehungen, Messungen von Konzentrationen in Plasma oder Organen, Harnauscheidungen oder Bilanzmessungen (siehe z.B. 1, 11), konnten nur qualitative Aussagen zur Verfügbarkeit bzw. Bioverfügbarkeit gemacht werden. Die Versuche wurden an Schweinen durchgeföhr, die aus verdauungsphysiologischer Sicht für die Ermittlung der praecaecalen Verdaulichkeit von Stickstoff und Aminosäuren als optimales Modell für den Menschen gelten (6). Das dürfte auch für die Vitamine zutreffen.

Natives Vitamin B₆ aus Mais, Weizenkleie und Magermilchpulver war mit der vorliegenden Methode bereits untersucht worden (8), wobei das tierische Produkt deutlich mehr „verfügbares“ Vitamin B₆ enthielt. Dies ergab sich auch für alle 3 Vitamine in der vorliegenden Arbeit. Bei zweifaktorieller Auswertung errechnete sich nämlich für Vitamin B₁, Vitamin B₂ und Pantothensäure zusammen eine praecaecale Verdaulichkeit aus Mais von 58 %, aus Weizenkleie von 67 % und aus Magermilchpulver ein signifikant höherer Wert von 93 %.

Betrachtet man die drei Vitamine einzeln, so ist die „Verfügbarkeit“ der Vitamine jeweils deutlich unterschiedlich voneinander. Sie liegt im Mittel über alle drei untersuchten Futtermittel für Thiamin mit 91 % deutlich höher als für Riboflavin mit 74 % und Pantothensäure mit 52 %. Dies dürfte vorwiegend am Vorkommen (Art der Bindungen) in den natürlichen Quellen liegen. So ist Thiamin in pflanzlichen Produkten vorwiegend frei und in tierischen Produkten in phosphorilierter Form enthalten. Riboflavin kommt vorwiegend gebunden in Form seiner Coenzyme vor, während Pantothensäure sowohl gebunden, als auch frei vorliegt (1). Als Verfügbarkeit von Pantothensäure aus natürlichen Lebensmitteln werden aufgrund von vergleichenden Harnmessungen 40–61 % angegeben (10).

Die sehr niedrige errechnete praecaecale Verdaulichkeit für Pantothensäure aus Mais von 20 %, die mit 4 Tieren ermittelt wurde und vor allem die Tatsache, daß bei zwei Tieren die Ausscheidung im Chymus höher als die Aufnahme war, könnten darauf hinweisen, daß bedingt durch den geringen Rückfluß der Digesta in das Colon, mikrobiell synthetisierte Pantothensäure im Chymus ausgeschieden wurde. Dies könnte auch in den anderen Ergebnissen enthalten sein und damit die vorliegende Methodik für Untersuchungen mit B-Vitaminen in Frage stellen. Aus diesem Grunde sollen in einem weiteren Versuchsprogramm quantitative Daten durch End-zu-End-Anastomosen erarbeitet und mit vorliegenden Ergebnissen verglichen werden.

Diese Untersuchungen werden mit Unterstützung der DFG durchgeföhr.

Literatur

1. Bates CJ, Heseker H (1994) Human bioavailability of vitamins. Nutr Res Rev 7:93–127
2. Freed M (1966) Methods of vitamin assay, 3rd ed, ed by: The Association of Vitamin Chemists, Inc., Methods Committee. Interscience Publishers, New York, London, Sydney, pp 197–208
3. Hennig U, Noel R, Herrmann U, Wünsche J, Mehnert E (1986) Ernährungsphysiologische Untersuchungen an Schweinen mit Ileo-Rectal-Anastomosen. Arch Anim Nutr Berlin 36:585–596
4. Hennig U, Wünsche W, Souffrant WB, Herrmann U (1990) Untersuchungen zur präzakalen Rohproteinverdauung

- und Aminosäurenresorption unter Anwendung der Ileorektostomie und Fisteltechnik bei Schweinen. Arch Exper Vet Med Leipzig 44:35–44
5. Laplace JP, Souffrant WB, Hennig U, Chabeauti E, Fevrier C (1994) Measurement of precaecal dietary protein and plant cell wall digestion in pigs; comparison of four surgical procedures for ileorectal anastomosis. Livestock Prod Sci 40:313–328
 6. Mougham PJ, Cranwell PD, Darragh AJ, Rowan AM (1994) The domestic pig as a model for studying digestion in humans. In: VIth International Symposium on Digestive Physiology in Pigs, Proceedings, Vol II, EAAP-publication Nr. 80; Souffrant WB, Hage-
meister H (eds) Forschungsinstitut für die Biologie landwirtschaftlicher Nutztiere, Dummerstorf, pp 389–396
 7. Rettenmaier R, Vuilleminier JP, Müller-Mulot W (1979) Zur quantitativen Vitamin-B₁-Bestimmung in Nahrungsmitteln und biologischem Material. Z Lebensm Unters Forsch 168:120–124
 8. Roth-Maier DA, Kirchgeßner M, Henke J, Metak G, Erhardt W (1996) Methodik zur *in-vivo*-Bestimmung der praecaecalen Verdaulichkeit von Vitaminen. J Anim Physiol a Anim Nutr im Druck
 9. Schüep W, Steiner K (1988) Determination of vitamin B₂ in complete feeds and premixes with HPLC. In: Keller HE (ed) Analytical methods for vitamins and carotenoids in feed. Department of Vitamin Research and Development, Roche Basle, pp 30–32
 10. Tarr JB, Tamura T, Stokstad ELR (1981) Availability of vitamin B₆ and pantothenate in an average American diet in man. Amer J Clin Nutr 34:1328–1337
 11. van den Berg H (1993) General aspects of bioavailability of vitamins. In: Schlemmer U (ed) Bioavailability '93, Proceedings Part 2. Bundesforschungsanstalt für Ernährung, Karlsruhe, pp 267–278