

Diss. ETH Nr. 9551

**SCHÄTZUNG DER MIKROBIELLEN PROTEINSYNTHESE IM
PANSEN VON SCHAFEN AUFGRUND DER AUSSCHIEDUNG VON
PURINMETABOLITEN IM HARN**

ABHANDLUNG

zur Erlangung des Titels
DOKTOR DER TECHNISCHEN WISSENSCHAFTEN
der
EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE
ZÜRICH

vorgelegt von
YUNG-KEUN HAN
M.Sc.Agr., Sungkyunkwan University in Seoul Korea
geboren am 21. November 1956
von Republic of Korea

Angenommen auf Antrag von
Prof. Dr. J. Landis, Referent
Prof. Dr. W. Langhans, Korreferent

Zürich 1991

6. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurde versucht, die Beziehung zwischen der Ausscheidung an Purinmetaboliten im Harn und der Menge der in den Labmagen gelangenden mikrobiellen Substanz zu quantifizieren und damit die Grundlagen für eine quantitative Schätzung der mikrobiellen Proteinsynthese im Pansen aufgrund der Purinmetaboliten-ausscheidung im Harn zu erarbeiten. Zu diesem Zweck erhielten vier Schafe der Rasse "Weisses Alpenschaf", die mit Pansen- und Labmagenfisteln ausgerüstet waren, in 4 verschiedenen Versuchsperioden unterschiedliche Mengen eines Grundfutters, bestehend aus Dürrfutter und einer Mineralstoff-Vitaminmischung. Nach einer Angewöhnungsperiode in Einzelbuchten wurden die Tiere während 6 Tagen in Stoffwechsellkästen gehalten, was eine quantitative Fütterung und eine quantitative Kot- und Harnsammlung ermöglichte. Unmittelbar an diese Grundfutterperioden anschliessend und bei gleichbleibender Fütterung wurden den Tieren unterschiedliche, in jeder Versuchsperiode jedoch konstante Mengen einer Suspension von Trockenhefe (*Candida utilis*) in den Labmagen kontinuierlich infundiert.

1. Bestimmung der Purinmetabolite und Hippursäure im Harn

Allantoin, Harnsäure, Hypoxanthin, Xanthin und Hippursäure im Harn wurden mittels Reversed-Phase-HPLC bestimmt. Die Genauigkeit der Analyse wurde als Variationskoeffizient und Wiederfindungsrate der Einzelwerte angegeben.

2. Bestimmung des Gehaltes an Nucleinsäuren in der für die Infusionen verwendeten Hefe und in Präparaten von Pansenbakterien

Die Purin- und Pyrimidinbasengehalte der Hefe und Pansenbakterien wurden mittels HPLC nach hydrolytischem Druckaufschluss bestimmt. Die Hefe und Pansenbakterien wiesen einen Gesamtpurin-N-Gehalt (g/kg TS) von 5.129 bzw. 9.265 auf. Der berechnete Nucleinsäure-N-Anteil am Gesamt-N der Pansenbakterien betrug 10.99% für RNA und 5.09% für DNA. Diese Grundlagen gestatten es, die mit Hefeinfusionen gewonnenen Ergebnisse für die Schätzung der normalen mikrobiellen Proteinsynthese im Pansen umzurechnen.

3. Quantifizierung der Beziehung zwischen der Menge der in in den Labmagen gelangenden mikrobiellen Substanz und der Ausscheidung an Purinmetaboliten im Harn

Die Erhöhung der Purinmetabolite-N-Ausscheidung durch die infundierten Hefemengen im Vergleich zu den zugehörigen Grundfutterversuchen wurde in Abhängigkeit von der Menge an Gesamtpurin-N(GPN) in der infundierten Hefe durch lineare Regressionsgleichungen beschrieben. Die Auswertung ergab für die einzelnen Purinmetabolite und deren Summe (Gesamtpurinmetabolite-N = GPM-N) folgende Gleichungen:

$$\text{Allantoin-N(mg)} = 0.645 * \text{GPN(mg)} + 30.04, B = 0.9741, \text{RSD} = 39.7$$

$$\text{Harnsäure-N(mg)} = 0.062 * \text{GPN(mg)} + 14.21, B = 0.8941, \text{RSD} = 8.07$$

$$\text{Hypoxanthin-N(mg)} = 0.030 * \text{GPN(mg)} + 24.60, B = 0.3038, \text{RSD} = 17.29$$

$$\text{GPM-N(mg)} = 0.738 * \text{GPN(mg)} + 40.43, B = 0.9910, \text{RSD} = 26.51$$

Die Beziehung ist eng und statistisch hoch gesichert für Allantoin, Harnsäure und vor allem für GPN. Weniger genau ist die Beziehung für Hypoxanthin. Die Genauigkeit der Beziehungen für GPM-N und Allantoin ist so gut, dass sie als Grundlage für die Schätzung der mikrobiellen Proteinsynthese geeignet sein dürfte. Da die Konstanten dieser Gleichungen nicht wesentlich und statistisch nicht signifikant von Null verschieden sind, erscheint es statthaft, diese Konstanten gleich Null zu setzen. Man erhält so folgende Durchschnittswerte für die Purinmetabolite-N-Ausscheidung:

$$\text{GPM-N / GPN} = 0.774 \pm 0.0007 \text{ und } \text{Allantoin-N / GPN} = 0.672 \pm 0.01$$

Unter Mitberücksichtigung der Zusammensetzung der Pansenbakterien erhält man hieraus als Schätzwerte für die mikrobielle Proteinsynthese im Pansen(PMP):

$$\text{PMP (g/Tag)} = 81.14 * \text{GPN-N (g/Tag)} \text{ bzw.}$$

$$\text{PMP (g/Tag)} = 93.46 * \text{Allantoin-N (g/Tag)}$$

4. Anwendung der Schätzmethode auf die Ergebnisse der Grundfutterperiode

In den verschiedenen Versuchsperioden wurden den Tieren unterschiedliche Futtermengen verabreicht. Die Tiere erhielten also unterschiedliche Mengen an im Pansen abbaubaren organischen Stoffen. Um den Einfluss der unterschiedlichen Futtermengen auf die Purinmetabolite-N-Ausscheidung darzustellen, wurde die Ausscheidung an Purinmetaboliten im Harn mit der Aufnahme der Tiere an verdaulicher organischer Substanz(VOS) in den Grundfutterperioden in Beziehung gesetzt. Die resultierenden Regressionsgleichungen sind:

$$\text{Allantoin-N (mg)} = 1.205 [\text{VOS (g)} - 113.45], B = 0.9546, \text{RSD} = 22.97$$

$$\text{GPM-N (mg)} = 1.385 [\text{VOS (g)} - 65.170], B = 0.9526, \text{RSD} = 27.47$$

Wenn man die entsprechenden Umrechnungen vornimmt, so bekommt man als Schätzgleichungen für die mikrobielle Proteinsynthese aufgrund der Allantoinausscheidung

$$\text{PMP (g)} = 112.6 [\text{VOS (kg)} - 0.11345]$$

und aufgrund der GPM-N-Ausscheidung

$$\text{PMP (g)} = 112.4 [\text{VOS (kg)} - 0.065117]$$

Diese Schätzwerte liegen im Bereich der mit andern Methoden gefundenen Werte der Literatur bezüglich der Zunahme der mikrobiellen Proteinsynthese im Pansen pro zusätzlich aufgenommene VOS.

5. Hippursäureausscheidung im Harn

Die Ausscheidung von Hippursäure-N in den Grund- und Infusionsperioden war nicht unterschiedlich, d.h. die Hippursäure-N-Ausscheidung wurde durch die Infusion nicht beeinflusst. Zwischen der VOS-Aufnahme und der Hippursäure-N-Ausscheidung ist die Korrelation hoch ($r = 0.9632$). Wir haben die Ausscheidung des Hippursäure-N im Harn mit der Aufnahme an VOS in Beziehung gesetzt und erhielten folgende Gleichung:

$$\text{Hippursäure-N-Ausscheidung (mg)} = 0.747 * \text{VOS(g)} - 17.964,$$

$$B = 92.78, \text{RSD} = 18.198.$$

6. Kreatininausscheidung im Harn als Standardwert für einen allfälligen Ersatz der mengenmässigen Erfassung der Purinmetaboliteausscheidung im Harn durch entsprechende Konzentrationsverhältnisse

Die über den ganzen Versuch beobachtete durchschnittliche Ausscheidung von Kreatinin-N betrug 9.1 mg/kg LM(Lebendmasse) und wurde durch die Versuchsparameter nicht beeinflusst. Somit erscheint es möglich, die tägliche Purinmetaboliteausscheidung im Harn aufgrund des Verhältnisses der Konzentrationen an Kreatinin und Purinmetaboliten zu schätzen. Zwischen den Schätzwerten und den beobachteten Werten für Allantoin-N(All-N) bzw. Gesamtpurinmetabolite-N(GPM-N) sind die Korrelationen positiv und hoch ($r=0.9720$ für Allantoin, $r=0.9886$ für Gesamtpurinmetabolite).