

Aktivität der Amylase im Darmkanal des Pferdes in Abhängigkeit von der Futterart

Simone Radicke, Elisabeth Landes, Ellen Kienzle und
H. Meyer

Institut für Tierernährung,
Tierärztliche Hochschule Hannover

Schlüsselwörter: Amylase, Chymus, Induktion

Einleitung

Stärke kommt in der Nahrung wildlebender Equiden nur in sehr geringen Mengen vor. Daher stellt sich die Frage, ob im Dünndarm des Pferdes eine ausreichende Kapazität zur Stärkeverdauung durch körpereigene Amylasen vorhanden ist und in welchem Umfang sich dieses Enzym durch stärkereiche Fütterung induzieren läßt.

Material und Methoden

Versuchsplan

Für die Untersuchungen standen jejunum- und caecumfistulierte Pferde zur Verfügung, denen Mais und Hafer in 3 Zubereitungen (heil, gebrochen bzw. gequetscht, geschrotet) sowie Heu angeboten wurde (Tab. 1).

Versuchsrationen

Da Pferde längerfristig die Aufnahme von Getreide ohne rohfaserreiche Zusätze verweigern, wurde Grünmehl zur Abendmahlzeit bzw. bei geschrotetem Getreide zu beiden Mahlzeiten zugelegt. Heu wurde ohne Kraftfutter angeboten. Die Aufnahme der einzelnen Rationskomponenten sind Tabelle 2 zu entnehmen.

Versuchstechnik

Die Probenentnahme des Jejunumchymus erfolgte nach Fütterung von heilem und gebrochenem Getreide (hH, QH, BM+ hM) stündlich, über 11 Stunden ppr., während bei Mais- und Haferschrot von der 3.-7. h ppr. und bei der Heuration nur in der 3., 5. und 7. h ppr. Chymus gewonnen wurde, jeweils über eine Dauer von 15 Minuten. Caecuminhalt wurde per Sonde (Radicke, 1990) jeweils zur 5. h ppr. entnommen.

Methoden

Die Aktivität der α -Amylase im Chymus wurde nach Homogenisierung in Phosphatpuffer (pH 7) mit einem

Zusammenfassung

Bei 6 jejunum- und 2 caecumfistulierten Pferden wurde nach Aufnahme von Heu, Hafer oder Mais (in unterschiedlichen Zubereitungen) die α -Amylaseaktivität bestimmt. Im Jejunumchymus stieg die Aktivität postprandial bei allen Rationen an, mit niedrigen Werten nach Heu-, moderaten nach Mais- und hohen Aktivitäten nach Haferfütterung ($14,0 \pm 4,3$; $37,2 \pm 20,6$; $25,8 \pm 15,6$ U/g uS). Die Zubereitung des Getreides besaß keinen Einfluß. Zwischen den Pferden traten große individuelle Unterschiede auf, mit gleichartigen Abstufungen zwischen allen Rationen. Zum Blinddarm konnte ein Aktivitätsrückgang nachgewiesen werden.

Activity of amylase in the digestive tract of horses in relation to diet type

The α -amylase activity was measured ppr. in 6 horses fitted with permanent fistulas into the jejunum and in 2 with such fistulas into the cecum following the intake of hay, oats and corn (different processing). The amylase activity increased ppr. in the chyme of the jejunum with all rations, with low values after feeding hay, moderate concentrations after the intake of corn and high activities after feeding oat (14.0 ± 4.3 ; 37.2 ± 20.6 ; 25.8 ± 15.6 U/g uS). The preparation of the grain made no difference. Considerable individual variation was seen between the horses; they remained similar with all rations. The amylase activity in the cecum was lower than in the jejunum.

Farbtest (Phadebas^R) bestimmt, der auf der Freisetzung löslicher, gefärbter Bruchstücke aus unlöslicher farbiger Stärke („blue starch derivate“) beruht. Das pH-Optimum der Amylase wurde mit dem DNS-Test erfaßt. Dabei werden die freigesetzten reduzierenden Gruppen mit Dinitrosalicylsäurereagenz, nach Inkubation der Probe mit 1prozentiger gepufferter Stärkelösung photometrisch ermittelt. Für die statistische Auswertung wurden die Mittelwerte mit Standardabweichung als Maß der Streuung berechnet. Der Vergleich zweier Mittelwerte erfolgte mit dem t-Test nach Student und signifikante Unterschiede wurden wie folgt gekennzeichnet: p < 0,05 mit *, p < 0,01 mit ** und p < 0,001 mit ***.

Ergebnisse

Jejunumchymus

Die Amylaseaktivität im Chymus betrug im Mittel $23,7 \pm 15$ (n = 94) U/g uS und schwankte zwischen 0 und 101 U/g Chymus. Postprandial konnte bei allen Rationen ein signifikanter Anstieg der Amylaseaktivität festgestellt werden, wobei die Maxima zwischen der 3. und 7. Stunde nach der Fütterung auftraten (Abb. 1). Dabei bestand zwischen den Werten zu allen Zeitpunkten eine positive lineare Beziehung ($r = 0,55^{**} - 0,95^{**}$). In Abhängigkeit von der Ration konnte die höchste Aktivität nach Hafer-, die geringste nach Heufütterung ermittelt werden; moderate Werte traten bei den Maisrationen auf. Ein Einfluß der Zubereitung ließ sich nicht nachweisen (Tab. 3). Neben den postprandialen Zeitpunkten und der Ration bestanden reproduzierbare signifikante Differenzen zwischen den Pferden.

Tab. 1: Versuchsplan

Entnahme- lokalisation	Rationen						
	Heu	Hafer			Mais		
	H	heil hH	gequetscht QH	geschrotet HS	heil hH	gebrochen BM	geschrotet MS
Jejunum	5	4	4	2	4	4	2
Caecum ¹⁾	2	2	2	-	2	2	-

Zahlenangabe = Anzahl der eingesetzten Versuchstiere; ¹⁾ Probenentnahme nur 5. h ppr. (erwartetes Maximum)

Besonders deutlich traten diese Unterschiede beim täglichen postprandialen Maximum zwischen zwei Pferden hervor (Tab. 4). Die Aktivitätsmaxima der übrigen Pferde lagen zwischen den Extrembereichen, wobei die Rangierung bei allen Rationen erhalten blieb.

Caecumchymus

Die Amylaseaktivität betrug im Mittel $14,2 \pm 14$ (n = 32) U/g uS (1 – 48 U/g Chymus) und war signifikant niedriger als im Jejunuminhalt. Ein Einfluß der Rationen auf die Höhe der Amylaseaktivität konnte auch im Blinddarm nachgewiesen werden, Zubereitungseinflüsse dagegen nicht (Tab. 5).

Diskussion

Die Bestimmung der Amylase erfolgte mit dem Phadebas®-Test, der spezifisch für α -Amylase, jedoch nicht für die Pancreasamylase ist, da neben dieser auch bakterielle α -Amylasen miterfaßt werden können. Radicke (1992)

zeigte unter vergleichbaren Versuchsbedingungen, daß das pH-Optimum der Amylase im Dünndarmchymus dem der Pancreasamylase sehr ähnlich ist, während sich im Caecum und vor allem nach In-vitro-Fermentation von Chymus z. T. deutliche Abweichungen ergaben (Tab. 6).

Im Zusammenhang mit dem Rückgang der Amylaseaktivität vom Jejunum zum Caecum sowie dem bei der In-vitro-Fermentation von Jejunumchymus kann dies als Indiz gewertet werden, daß die Amylase im Dünndarmchymus überwiegend aus dem Pancreas stammt. Im Caecum dagegen ist mit höheren Anteilen mikrobieller Herkunft zu rechnen, bei insgesamt geringerer Aktivität.

Ein wesentlicher Vorteil des Phadebas®-Testes ist, daß feine Partikel aus dem Chymus in den Testansatz mit eingebracht werden können, ohne die Bestimmung zu stören (Entfernung durch Zentrifugieren). Diese Option ist besonders wichtig, da beim Pferd die Amylase zu einem hohen Anteil den Chymuspartikeln anhaftet (Radicke, 1990).

Die Amylaseaktivität im Darminhalt stieg bei den Getreiderationen gegenüber der Heufütterung signifikant an.

Tab. 2: Futteraufnahme g/kg LM/Mahlzeit

	Jejunumfistulierte Pferde				Caecumfistulierte Pferde			
	Getreide	Grünmehl ¹⁾	Heu	Stärke	Getreide	Grünmehl ¹⁾	Heu ¹⁾	Stärke
morgens:								
Heu	-	-	2,5	-	-	-	7,5	-
Maisschrot	2,3	2,3	-	1,8	-	-	-	-
Bruchmais	2,8	-	-	1,9	3,3	-	-	2,1
heiler Mais	2,6	-	-	1,9	3,2	-	-	2,1
Haferschrot	3,5	1,1	-	1,8	-	-	-	-
Quetschhafer	4,0	-	-	1,8	5,2	-	-	2,0
heiler Hafer	4,6	-	-	2,0	5,5	-	-	2,0
abends:								
Heu	-	-	7,5	-	-	-	7,5	-
Maisschrot	2,3	2,3	-	1,8	-	-	-	-
Bruchmais	1,4	3,3	-	1,1	1,7	4,0	-	1,1
heiler Mais	1,3	3,2	-	1,0	1,6	3,2	-	1,1
Haferschrot	3,5	1,1	-	1,8	-	-	-	-
Quetschhafer	1,9	2,9	-	0,9	2,6	3,8	-	1,0
heiler Hafer	2,3	3,2	-	1,0	2,8	3,7	-	1,0

¹⁾ mit Mineralfutter

Diese Unterschiede sind auch erkennbar, wenn der jejuno-ileale Amylasefluß kalkuliert wird (Hafer: 1625 ± 819 [30], Mais: 1271 ± 753 [30] U/11 h/kg LM). Demnach tritt durch Stärke und insbesondere durch leichtverdauliche Stärke (Hafer, Wilke, 1992) ähnlich wie bei anderen Species (Hd, Ktz) eine Induktion der Amylaseproduktion ein (Kienzle, 1988 und 1989).

Inwieweit ein Einfluß der Amylaseaktivität auf die Stärkeverdaulichkeit im Dünndarm vorhanden ist, kann nicht isoliert beurteilt werden, sondern nur im Zusammenhang mit der Stärkeart und der mit ihr verbundenen Verdaulichkeit. Bei niedriger praecaecaler Verdaulichkeit (BM, hM, Wilke, 1992) konnte kein Effekt nachgewiesen werden, bei einer mittleren Verdaulichkeit (hH, QH, MS) bestand dagegen eine signifikante Beziehung zwischen der Aktivität und der Stärkeverdaulichkeit ($r = 0,62^*$). Die Ursache für diesen Unterschied dürfte in der Größe der Getreidepartikel im Dünndarm zu suchen sein, die auf eine feine Zerkleinerung des Futters (Schroten oder Kauen des Pferdes) zurückzuführen ist.

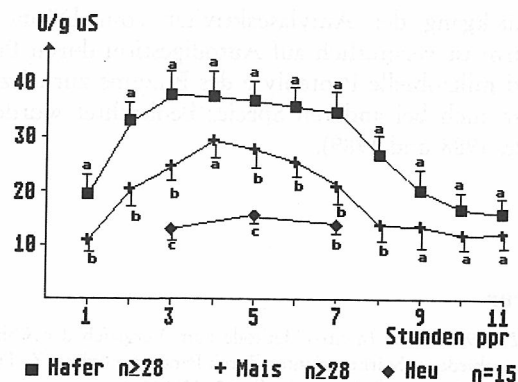


Abb. 1: Postprandialer Verlauf der Amylaseaktivität im Jejunumchymus in Abhängigkeit von Futtermitteln (Mw \pm SEM).

Tab. 3: Mittlere Amylaseaktivität (U/g uS) im Jejunumchymus in Abhängigkeit von der Ration und Zubereitung (MW der 3., 5. + 7. h ppr.)

Ration/ Zubereitung	Heu	(n)	Hafer	(n)	Mais	(n)
gesamt	$14,0 \pm 4,3$	(15)	$37,2 \pm 20,6$	(37)	$25,8 \pm 15,6$	(39)
heil			$36,4 \pm 13,7$	(14)	$20,9 \pm 9,8$	(16)
zerkleinert			$34,4 \pm 17,4$	(23)	$27,4 \pm 15,7$	(23)

Tab. 4: Individuelle Unterschiede der Amylaseaktivität¹⁾ (U/g uS) im Jejunumchymus bei verschiedenen Rationen

Ration/Pferd	Heu	(n)	Hafer	(n)	Mais	(n)
Pferd I	$19,8 \pm 4,9$	(3)	$49,5 \pm 14,8$	(10)**	$42,2 \pm 18,3$	(10)***
Pferd II	$11,9 \pm 2,4$	(3)	$32,6 \pm 10,9$	(12)	$18,3 \pm 6,3$	(13)

¹⁾ = postprandiales Maximum der Meßwerte der 3., 5. und 7. Stunde

* = kennzeichnet signifikante Differenzen zwischen den Tieren

Tab. 5: Amylaseaktivität im Caecumchymus (U/g uS) in Abhängigkeit von der Ration und Zubereitung

Ration/ Zubereitung	Heu	(n)	Hafer	(n)	Mais	(n)
gesamt	$1,4 \pm 0,2$	(4)	$24,4 \pm 13,8$	(16)	$4,7 \pm 3,2$	(12)
heil			$23,6 \pm 15,9$	(10)	$2,6 \pm 2,0$	(6)
geq./gebrochen			$25,8 \pm 10,7$	(6)	$6,8 \pm 2,8$	(6)

Tab. 6: pH-Optima der Amylase (in % der Aktivität bei pH 7) im Jejunumchymus vor und nach Inkubation sowie im Caecumchymus

pH- Bereich	Pancreas	Jejunumchymus		Caecumchymus
		vor Ink.	nach Ink.	
pH 5	29	8 ± 9 (8)	27 ± 28 (8)	44 ± 34 (72)
pH 6	72	72 ± 16 (8)	96 ± 45 (8)	85 ± 19 (72)
pH 7	100	100 (8)	100 (8)	100 (72)
pH 8	74	77 ± 14 (8)	78 ± 27 (8)	84 ± 22 (72)

Der Rückgang der Amylaseaktivität vom Dünn- zum Dickdarm ist vermutlich auf Autodigestion durch Proteasen und mikrobielle Proteolyse des Enzyms zurückzuführen, der auch bei anderen Species beobachtet worden ist (Kienzle, 1988 und 1989).

Literatur

Kienzle, E. (1988): Eine In-vitro-Methode zum Vergleich der Abbaubarkeit verschiedener Stärkevarianten durch Pancreasamylase. Z. Tierphysiol. Tierernähr. und Futtermittelk. 60, 12 - 13.
 Kienzle, E. (1989): Untersuchungen zu Intestinal- und Intermediärstoffwechsel von Kohlenhydraten (Stärke verschiedener Herkunft und Auf-

bereitung, Mono- und Disaccharide) bei der Hauskatze (*Felis catus*). Hannover, Tierärztl. Hochsch., Habilschrift.
 Landes, E. (1992): Amylaseaktivität sowie Konzentration organischer Säuren im Jejunum- und Caecumchymus des Pferdes nach Hafer- und Maisfütterung. Hannover, Tierärztl. Hochsch., Diss.
 Radicke, S. (1990): Untersuchungen zur Verdauung von Mais- und Haferstärke beim Pferd. Hannover, Tierärztl. Hochsch., Diss.
 Radicke, S. (1992): unveröffentlicht.
 Wilke, S. (1992): Zur praeilealen Verdaulichkeit von Hafer und Mais verschiedener Zubereitungen. Hannover, Tierärztl. Hochsch., Diss.

Dr. S. Radicke
 Institut für Tierernährung
 Tierärztliche Hochschule Hannover
 Bischofsholer Damm 15
 3000 Hannover 1