



Verdauung von Proteinersatz-Futtermitteln bei Mastkälbern

René TOULLEC und Jean-Paul LALLES*, Laboratoire du Jeune Ruminant, Institut National de la Recherche Agronomique (INRA), 65 rue de Saint-Brieuc, F-35042 Rennes cedex

Der Ersatz von Magermilchpulver durch andere Proteinquellen bei der Mastkälberaufzucht bewirkt, dass die Proteine und Lipide schneller aus dem Magen in den Dünndarm übergehen und eine grössere Menge an körpereigenen und/oder mit dem Futter aufgenommenen Proteinen der Darmverdauung entgehen. Das Ausmass dieser Veränderungen ist je nach Herkunft und Behandlung der Proteine verschieden. Es gibt Proteine, die zu Unverträglichkeitsreaktionen des Verdauungstraktes führen und die Verdauung stark beeinträchtigen. Beim Soja sind die dafür verantwortlichen Eiweissfraktionen bekannt. Ihre Denaturierung, überwacht durch immunchemische Methoden, führt zu einem gut verwertbaren Produkt.

Über den Einfluss der Art der Futterproteine auf die Magen- und Pankreassäfte gibt es widersprüchliche Angaben (Toullec *et al.* 1983; Guilloteau und Le Huërou-Luron 1996). Nach diesen Autoren zeigte sich, dass der Ersatz von Kasein durch Molken-, Soja- oder Fischproteine einen negativen oder gar keinen Einfluss hat. Vor kurzem hat eine verbesserte Methode zum Messen des Pankreassaftes ergeben, dass die täglich ausgeschiedene Trypsinmenge nicht beeinflusst wurde durch die Fütterung eines mit Alkohol behandelten Soja-Eiweisskonzentrats. Allerdings war die Trypsinproduktion während der ersten zwei Stunden nach der Fütterung jeweils erhöht und elf bis vierzehn Stunden nach der abendlichen Fütterung reduziert. Die anfängliche Steigerung war möglicherweise auf den Anstieg von Cholezystokinin¹ im Blut zurückzuführen, der seinerseits durch die verringerte Verweilzeit der Proteine und Lipide im Magen ausgelöst wurde (siehe weiter unten). Es ist durchaus möglich, dass die Bauchspeicheldrüse den Rhythmus seiner Sekretion der Art der Proteine oder der beschleunigten Passage anpasst. Hingegen sind unseres Wissens bis heute keinerlei Daten über eine veränderte Gallen- und Darmsekretion bekannt.

Beschleunigte Magenentleerung

Durch den Kaseinersatz wird die Koagulation verhindert, was eine beschleunigte Magenentleerung der Proteine und Lipide sowie eine verminderte Hydrolyse im Labmagen zur Folge hat (Toullec und

Lallès 1995). Die Hydrolyse des Kaseins wird auch durch eine teilweise Substitution (50 %) reduziert. Der schnellere Übertritt der Proteine und Lipide in den Zwölffingerdarm bewirkt während fünf bis sieben Stunden nach der Fütterung eine sehr hohe Konzentration an freien Aminosäuren und Triglyceriden im Blut, was ihre effiziente metabolische Verwertung nicht unbedingt fördert.

Unvollständige Verdauung im Darm

Milchproteine werden fast vollständig im Dünndarm verdaut (Tolman und Beelen 1996). Im Gegensatz dazu gelangen gewisse nicht aus der Milch stammende Proteine als Folge einer Immunreaktion unverdaut in den Dickdarm (Lallès und Toullec 1996). Dies gilt vor allem für die wichtigsten Globuline von Soja, nämlich Glycinin, α -Konglycinin und β -Konglycinin, deren nicht verdauter Anteil 10 %, 1 % beziehungsweise 1 % beträgt, wenn das Futter erhitztes antigen wirkendes Sojamehl enthält. Das Glycinin besteht aus sechs Untereinheiten, wobei jede Einheit ein basisches Polypeptid von 20 kDa und ein saures Polypeptid von 40 kDa enthält, die über eine Disulfidbrücke miteinander verbunden sind. Die unverdauten immunreaktiven Teile bestehen aus vollständigen basischen Polypeptiden (20 kDa), die mit sauren, teilweise verdauten Polypeptiden (21, 17, 14 und 7 kDa) verbunden sind. Die Säure-Basen-Struktur des Glycinins könnte folglich dessen Verdauung beeinträchtigen, indem die basischen Polypep-

tide im Innern unzugänglich sind. Mit den Methoden der Immunchemie kann jedoch nicht die Gesamtheit der unverdauten Futterproteine nachgewiesen werden, da einige der Proteine von den auf native Erscheinungsformen vorbereiteten Antikörpern nicht mehr erkannt werden oder in Mikrobenproteine umgewandelt wurden. Andere Ansätze (Vergleichen der Aminosäurezusammensetzung, Markieren der endogenen oder mit dem Futter aufgenommenen Proteine usw.) müssen mit den Methoden der Immunchemie kombiniert werden, damit die Menge der unverdauten Proteine eingeschätzt und bestimmt werden kann.

Bei einem Kalb, das mit Milch gefüttert wird, sind fast alle Proteine, die der Verdauung im Dünndarm entgehen, endogener Natur, auch wenn sie zum Teil (zu 25 bis 35 %) in bakterielle Proteine umgewandelt werden (Toullec und Lallès 1995). Die Menge der unverdauten Proteine nimmt mit der Verabreichung von Ersatzproteinen zu. Manchmal ist das Aminosäurenmuster des Darminhaltes kaum verändert, was den Schluss nahelegt, dass der Anteil der Futterproteine relativ gering bleibt und vor allem die Menge der unverdauten endogenen und bakteriellen Proteine ansteigt. Dies ist vor allem bei den Molken- und Erbsenproteinen und hydrolytisch behandelten Sojaproteinen der Fall. Meistens sind aber erhebliche Verschiebungen im Aminosäurenmuster festzustellen, was auf einen erhöhten Anteil an Futterproteinen hindeutet. Abgesehen von wenigen Ausnahmen unterscheidet sich die Zusammensetzung des Darminhaltes allerdings immer stark von derjenigen der Futtermittel, da es ganz bestimmte Futterfraktionen sind, die der Verdauung entgehen. Deren Zusammensetzung kann annähernd bestimmt werden, indem die Zusammensetzung der Proteine

* Übersetzung: Anita Niederhäusern, Flammatt. Die Originalversion ist erschienen in der Revue suisse d'Agriculture 28 (5), 1996.

¹ Hormon, das die Bauchspeicheldrüse stimuliert.

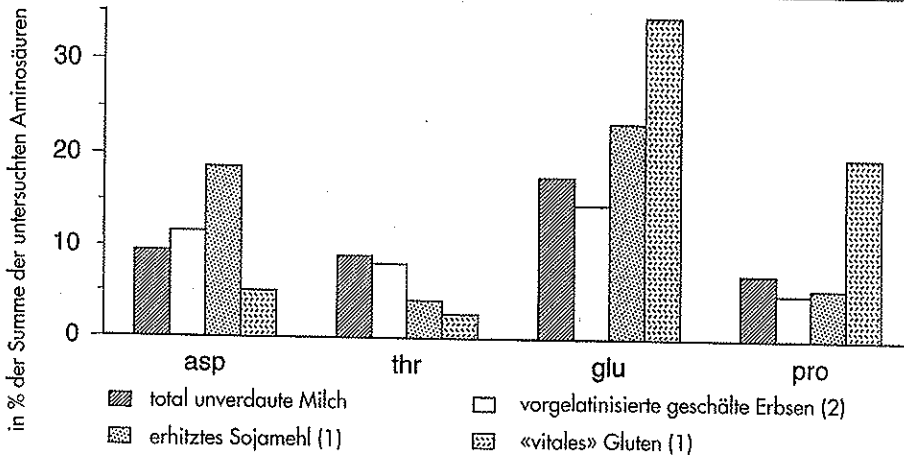


Abb. 1. Gehalt einiger Aminosäuren, die charakteristisch sind für Proteine, die der Verdauung im Dünndarm entgehen, bei Magermilchpulver und beim zusätzlichen unverdauten Anteil bei Fütterung mit Ersatzproteinen. Zusätzlicher unverdauter Anteil = unverdaut mit der untersuchten Futterquelle - unverdaut bei Milch. Anteile an der N-Zufuhr (%): untersuchte Futterquelle 50 (1) oder 35 (2) und Trockenmilch 50 (1) oder 65 (2).

berechnet wird, die als Folge des Milchproteinersatzes nicht verdaut wird (Abb. 1). Beim Ersatz durch Sojaprodukte sind diese Proteine besonders reich an Glutamin- und Asparaginsäure. Beim für die Bestimmung des unverdauten Glycinins verwendeten, erhitzten und antigen wirkenden Sojamehl liegt das Verhältnis Glutamin-/Asparaginsäure der unverdauten Proteine (1:1,3) näher

her bei demjenigen der basischen Polypeptide (1:1) als bei jenem der sauren Polypeptide im Glycinin (1:2,3). Diese Beobachtungen lassen sich auch mit der grösseren Resistenz der basischen Polypeptide bei der Verdauung vereinbaren. Die endogenen Verluste lassen sich in nichtspezifische und spezifische Verluste unterteilen. Die nichtspezifischen Verluste

ste sind eine Folge des Verdauungsgeschehens an sich. Die spezifischen Verluste sind auf die Herkunft der Futterproteine zurückzuführen. Da Milchproteine im Normalfall vollständig verdaut werden, können die unverdauten Anteile bei Milchfütterung den nichtspezifischen Verlusten zugeordnet werden. Mit diesem Ansatz kann die tatsächliche Verdaulichkeit berechnet werden $\{[\text{aufgenommen} - (\text{total nichtverdaut} - \text{nichtspezifische Verluste})] / \text{aufgenommen}\}$, deren Werte in einer Mischung verschiedener Proteinträger in einem Futtermittel additiv sind. Die Kenntnis der tatsächlichen Verdaulichkeit erlaubt es jedoch nicht, die Wechselwirkungen zwischen Proteinquellen und Verdauungstrakt festzustellen. Die Proteinquellen können nämlich Auswirkungen haben auf die Sekrete, die Beschaffenheit und Erneuerung der Darmschleimhaut, die Aktivität der Darmflora usw., sei dies aus mechanischen Gründen oder infolge von antinutritiven Inhaltsstoffen. Die endogenen Fraktionen werden grösstenteils im Dünndarm verdaut, die Intensität der Verdauung ist jedoch vom Futtermittel abhängig. Eine erhöhte Produktion von endogenen Proteinen bedeutet einen er-

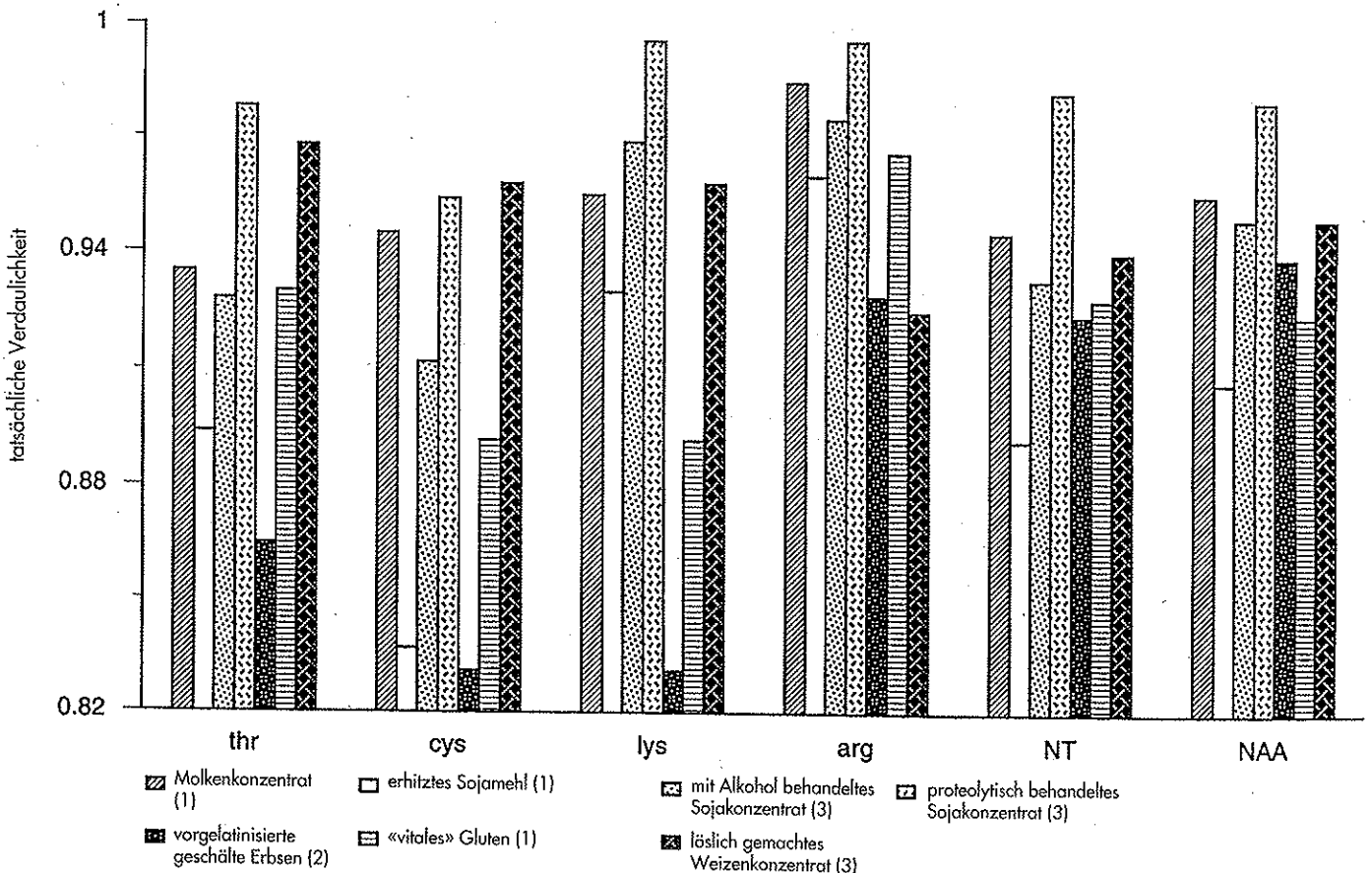


Abb. 2. Wahre ileale Verdaulichkeit einiger Quellen von Ersatzproteinen. Anteile an der N-Zufuhr (%): untersuchte Futterquelle 50 (1), 35 (2) oder 70 (3) und entweder Trockenmilch 50 (1) oder 65 (2) oder Molkenpulver 30 (3). Berechnete Werte für die untersuchte Quelle allein (1,2) oder für die untersuchte Quelle plus Molke (3). NT: Gesamter Stickstoff, NAA: Aminosäuren-N.



Tab. 1. Länge der Darmzotten und Dichte der Lymphozyten in der Jejunum-Schleimhaut bei Kälbern, die während 100 Tagen mit Futtermitteln gefüttert wurden, die Sojaprodukte enthielten (die Werte sind in % derjenigen Werte angegeben, die bei der Fütterung mit Milchpulver gemessen wurden) (Lallès *et al.* 1996).

Verwendetes Soja	nicht antigenes Isolat	antigenes Mehl
Länge der Darmzotten <i>Lamina propria</i>	75	64 ^a
- total B-Lymphozyten	161	305 ^b
- CD4+ T-Lymphozyten	130	228 ^b
- CD8+ T-Lymphozyten	133	279 ^b
Epithelgewebe:		
- CD8+ T-Lymphozyten	95	210 ^b

^a: $p \leq 0,05$ in bezug auf das Kontrolltier; ^b: $p \leq 0,05$ in bezug auf Kontrolltier und nicht antigenes Soja

höhten Energie- und Proteinaufwand. Die tatsächliche Verdaulichkeit von Ersatzproteinen im Dünndarm ist kleiner als 1 (Abb. 2). Für die essentiellen und halbesentiellen Aminosäuren ist sie höher als für den gesamten Stickstoff (dies gilt nicht immer für Cystin und Threonin). Behandlungen führen zu einer besseren Verdaulichkeit von Sojaprodukten, die sich – in aufsteigender Reihenfolge – wie folgt auflisten lassen: Mehl, mit Alkohol behandeltes Konzentrat, hydrolytisch behandeltes Isolat und Konzentrat. Letztere können die Werte von Molkenkonzentraten erreichen. Vorgelatinierte Erbsen und Fisch-Hydrolysat sind mit dem mit Alkohol behandelten Sojakonzentrat vergleichbar. Auch löslich gemachtes Weizenkonzentrat und Soja-Hydrolysat liegen auf ähnlichem Niveau. Im Vergleich zu löslich gemachten Weizenkonzentrat ist die Verdaulichkeit von unveränderter Weizen-gluten nur leicht vermindert.

Allergische Reaktionen im Darm?

Solche Reaktionen wurden vor allem bei Soja untersucht, aber sie wurden auch schon bei der Erbse und bei Weizen gluten festgestellt (Lallès und Toullec 1996). Ungenügend verarbeitete Sojaderivate haben eine Verringerung der Futteraufnahme, der Verdaulichkeit und des Wachstums zur Folge, und dies selbst dann, wenn die Faktoren inaktiviert wurden, die den Nährwert beim Monogastrier beeinträchtigen (Proteaseshemmer und Lektine). Einige Kälber entwickeln innerhalb von wenigen Wochen eine Darmsensibilisierung, charakterisiert durch Atrophie der Darmzotten, Eindringen von Lymphozyten, Hypersekretion und Stö-

rungen in der Motorik, was eine verkürzte Verweilzeit des Futterbreies im Dünndarm und Durchfall zur Folge hat. Diese Störungen werden von einer massiven Produktion von Antikörpern (hauptsächlich IgG1) begleitet, die gegen die wichtigsten Sojaproteine gerichtet sind. Behandlungen, welche die Immunogenität von Sojaprotein verringern, das heißt keine Bildung von Antikörpern provozieren, führen zu einer beträchtlichen verbesserten Verwertung der Proteine durch das Kalb. Damit lässt sich jedoch die Bedeutung der Antikörper für die auftretenden Störungen nicht hinreichend erklären, da eine immunologische Reaktion nicht gleichbedeutend mit einer allergischen Reaktion ist. Eine allergen wirkende Substanz hat die Eigenschaft, nach einer Sensibilisierungsphase innert kürzester Zeit klinisch manifeste Beschwerden hervorzurufen. Damit verbunden ist das Auftreten von spezifischem IgE (Allergie vom Soforttyp). Sämtliche Versuche jedoch, spezifisches IgE² nachzuweisen, blieben erfolglos. Langsamer auftretende Krankheitserscheinungen können auch aufgrund anderer immunologischer Mechanismen entstehen. Dazu gehören zum Beispiel die Bildung von Immunkomplexen (Antigen-Antikörper-Verbindung), die nicht mehr löslich sind (Allergie vom halbverzögerten Typ) oder die Aktivierung von T-Lymphozyten (Allergie vom verzögerten Typ). Die beiden erstgenannten Reaktionen treten je nach Allergietyp sofort oder innerhalb weniger Stunden bis zwei Tage nach der Aufnahme des Allergens auf. Bei der dritten Reaktion handelt es sich um einen chronischen Prozess. Bei den Sojaproteinen wirken das Glycinin, das α -Konglycinin, das β -Konglycinin, die Lektine und die Proteaseshemmer von Bowman-Birk beim Kalb als Immunogene (Lallès und Toullec 1996). Direkte Hauttests zeigen, dass alle bei den soforti-

gen und halbverzögerten allergischen Reaktionen eine Rolle spielen, dass jedoch nur das β -Konglycinin zu einer Reaktion des verzögerten Typs führt. Die zelluläre Natur dieser Reaktion wird durch die stimulierende Wirkung des β -Konglycinins, nicht aber des Glycinins, auf die *in vitro*-Vermehrung der Blutlymphozyten noch unterstrichen.

Die beim Einsatz von Soja beobachtete verminderte Länge der Darmzotten scheint in gleichem Masse auf den Ersatz von Milchproteinen wie auf die Antigenwirkung der Sojaproteine zurückzuführen zu sein (Tab. 1). Hingegen ist Antigenwirkung hauptsächlich verantwortlich für die induzierten zellulären Veränderungen. Diese manifestieren sich durch erhöhte Dichte der B-Lymphozyten (alle Isotypen), der T-Helfer-Zellen (CD4+) und der zellschädigenden Suppressor-Lymphozyten (CD8+) in der *Lamina propria* sowie derjenigen der CD8+-Zellen im Epithelgewebe. Die Störungen der Darmmotorik drücken sich in einem verkürzten durchschnittlichen Dauer der migrierenden myoelektrischen Komplexe aus und stehen hauptsächlich im Zusammenhang mit der Freisetzung von auf H-1-Rezeptoren wirkendem Histamin. Sie treten bei sensibilisierten Kälbern auf, wenn das erhitze Sojamehl pro kg Lebendgewicht^{9,75} und pro Mahlzeit mehr als 40 mg immunreaktives Glycinin und 35 mg β -Konglycinin aufweist. Die morphologischen und funktionellen Veränderungen des Dünndarms könnten möglicherweise auf eine Hyperaktivierung der T-Helfer-Zellen in der *Lamina propria* zurückzuführen sein. Dies könnte eine lokale Erhöhung der Menge entzündungsfördernder Zytokine, verbunden mit einer Zytolyse des Epithelgewebes, zur Folge haben. Andere Zellen, wie zum Beispiel die Mastzellen der Darmwand, können, indem sie Mediatorsubstanzen freisetzen, vermutlich ebenfalls für die lokalen Störungen verantwortlich gemacht werden.

Wie sollen Sojaderivate ausgewählt werden?

Heute werden ausgehend von der Sojabohne die unterschiedlichsten Produkte industriell präpariert. Das Herstellen von Mehl, mit oder ohne vorgängige Extraktion mit Wasser, ergibt gut verwertbare Produkte für Monogastrier, nicht aber für das säugende Kalb. Eine weitergehende Denaturierung der Proteine durch physikochemische (vor allem durch Erhitzung in

² Nachweis mittels: Anti-IgE-Rind

Wasser-Ethanol-Mischung) oder enzymatische Verfahren (Proteolyse) ist notwendig, um die Verdaulichkeit merklich zu verbessern und die Produktion spezifischer Antikörper und die morphologischen und funktionellen Störungen des Dünndarms zu vermindern. Die im Soja enthaltenen Oligosaccharide sind oft Ursache von Verdauungsbeschwerden während die Zellulose und Hemizellulose sehr schwer verdaulich sind. Die Konzentrate ohne Oligosaccharide und vor allem auch Isolate, die fast keine Kohlenhydrate enthalten, sind daher dem Mehl vorzuziehen. Von grossem Nutzen sind *in vitro*-Testsysteme, die voraussagen können, ob die Sojaprodukte vom saugenden Kalb gut vertragen werden. Wir konnten signifikante lineare Beziehungen zwischen der scheinbaren (fäkalen) Verdaulichkeit des Soja-Stickstoffs einerseits und dem Verhältnis zwischen den «nativen» Proteinen (löslich in Karbonatpuffern und präzipitierbar bei einem pH von 4,5), den Glycininen, den α -Konglycininen und den immunoreaktiven β -Konglycininen und schliesslich der trypsinhemmenden Aktivität nachweisen (Lallès und Toullec 1996). Mit α -Konglycinin war die Korrelation am stärksten. Anhand des Zusammenhangs zwischen den nativen Proteinen, der Antitrypsinaktivität und dem α -Konglycinin einerseits und dem β -Konglycinin andererseits konnte die Verdaulichkeit des Soja-Stickstoffs auf 1 % genau vorhergesagt werden.

Da das Glycinin im Dünndarm weniger gut verdaut wird als das β -Konglycinin, scheint es überraschend, dass die Menge an β -Konglycinin am besten mit der von Sojaprotein korreliert ist. Als Erklärung dafür könnte dessen stärkere Beteiligung an Immunreaktionen in Frage kommen. Ausserdem besteht die Möglichkeit, dass β -Konglycinin eine direkte entzündungsauslösende Wirkung auf die Darmschleimhaut hat, aufgrund von anderen Mechanismen, die noch genauer untersucht werden müssen.

Folgerung

Die Auswirkungen von Ersatzproteinen auf die Verdauungssekrete sind noch widersprüchlich. Untersuchungen der molekularen und zellulären Mechanismen werden es in Zukunft jedoch ermöglichen, diese Auswirkungen besser zu verstehen. Die Veränderungen der Verdauung im Magen sind weitgehend bekannt. Die ileale Verdaulichkeit der wichtigsten

Futterquellen wurde gemessen und die Herkunft der unverdauten Fraktionen konnte teilweise geklärt werden. Es müssen allerdings noch viele Untersuchungen gemacht werden, um diese Angaben zu überprüfen und zu vervollständigen und um den Einfluss der Art der Proteine auf die endogenen Vorgänge in den verschiedenen Abschnitten des Verdauungstraktes, vor allem im Dünndarm, zu bestimmen. Dank einem besseren Verständnis der Überempfindlichkeits-Reaktionen konnten analytische Kriterien aufgestellt werden, anhand derer Sojaprodukte beurteilt werden. Der Einfluss der verschiedenen antigen wirkenden Proteine im Dünndarm muss jedoch noch *in vivo* aufgezeigt werden. Das Histamin ist ein Schlüsselmediator für die Erhöhung der Sekretion und der Darmmotrik. Die Rolle anderer löslicher, von den T-Lymphozyten und weiteren beteiligten Zellen (Makrophagen) produzierter Botenstoffe ist jedoch noch kaum bekannt. Andere pflanzliche Proteine werden in Milchersatz-Futtermitteln eingesetzt oder stellen bei angemessenen Behandlungen eine interessante Alternative dar. Deren physiopathologische Auswirkungen müssen ebenfalls noch untersucht werden.

LITERATUR

Guilloteau P. et Le Hucrou-Luron I., 1996. Les sécrétions exocrines pancréatiques et leur régulation chez le veau préruminant. In: Le veau de boucherie à l'horizon de l'an 2 000. Fédération de la vitellerie française, Paris, 177-198.

Lalles J.P., Dreau D., Femenia F., Parodi A.L. and Toullec R., 1996. Feeding heated soyabean flour increases the density of B and T lymphocytes in the small intestine of calves. *Vet. Immunopathol.* 48, sous presse.

Lalles J.P. et Toullec R., 1996. Digestion des protéines végétales et mécanismes des réactions d'hypersensibilité digestive chez le veau préruminant. In: Le veau de boucherie à l'horizon de l'an 2000. Fédération de la vitellerie française, Paris, 217-236.

Tolman G.H. et Beelen G.M., 1996. Flux d'azote et d'acides aminés endogènes à la fin de l'iléon du veau de boucherie et digestibilité iléale des protéines du lait écrémé, d'un concentrat soluble de blé et d'un isolat de soja. In: Le veau de boucherie à l'horizon de l'an 2000. Fédération de la vitellerie française, Paris, 199-216.

Toullec R., Guilloteau P., Patureau-Mirand P. and Sissons J.W., 1983. Digestion and absorption of protein in the pruruminant. In: Arnal M., Pion R., Bonin D., Protein metabolism and nutrition. INRA, Paris, 245-261.

Toullec R. et Lalles J.P., 1995. Digestion dans la caillette et l'intestin grêle. In: Jarrige R., Ruckebush Y., Demarquilly C., Farce M.H., Journet M., Nutrition des ruminants domestiques. INRA, Paris, 527-581.

SUMMARY

Digestion of protein substitutes by the veal calf

The replacement of skim milk powder by other protein sources in milk substitutes results in a faster abomasal emptying of protein and fat, and in increased amounts of endogenous and/or dietary proteins escaping digestion in the small intestine. These changes depend on the protein source and treatment. Some proteins may induce digestive hypersensitivity reactions, that alter digestion strongly. As far as soyabean is concerned, the protein fractions involved in these reactions are known; their denaturation, checked by immunochemistry, provides suitable products.

KEY WORDS: protein substitutes, veal calf, digestive secretions, abomasal emptying, ileal digestibility, immune reactions

RÉSUMÉ

Digestion des protéines de substitution par le veau de boucherie

Le remplacement de la poudre de lait écrémé par d'autres sources de protéines dans les aliments d'allaitement entraîne une accélération de l'évacuation gastrique des protéines et des lipides, ainsi qu'une augmentation des quantités de protéines endogènes et/ou alimentaires échappant à la digestion intestinale. Ces modifications varient avec l'origine et le traitement des protéines. Certaines d'entre elles peuvent provoquer des réactions d'hypersensibilité digestive, qui altèrent fortement la digestion. Dans le cas du soja, les fractions protéiques responsables sont connues; leur dénaturation, contrôlée par immuno-chimie, permet d'obtenir des produits bien utilisés.