

Einfluss des Typs und der Konzentration an Fischöl auf die ruminale Biohydrierung von Omega-3-Fettsäuren *in vitro*

F. DOHME^{1,2,3}, M. ROMERO¹, V. I. FIEVEZ¹, K. RAES¹ und D. I. DEMEYER¹

¹Vakgroep Dierlijke Productie, Universiteit Gent, Proefhoevestraat 10, B-9090 Melle, Belgien

²Institut für Nutztierwissenschaften, Tierernährung, ETH Zürich, CH-8092 Zürich

³Inhaberin eines OECD-Forschungsstipendiums

Eicosapentaensäure (EPA; C20:5n3) und Docosahexaensäure (DHA; C22:6n3) zählen zu den sogenannten Omega-3 (n3) Fettsäuren, die, bei ausreichendem Konsum, das Risiko von kardiovaskulären Erkrankungen beim Menschen vermindern sollen (WILLIAMS, 2000). Der Anteil dieser Fettsäuren in der Milch sowie im essbaren Gewebe des Wiederkäuers ist nur gering, da ungesättigte Fettsäuren im Futter von Pansenmikroben zumeist in einem hohen Mass hydriert werden, bevor sie in das Milch- und Körperfett eingelagert werden können. Bei der ruminale Biohydrierung von EPA und DHA *in vitro* kam es allerdings in der Vergangenheit zu unterschiedlichen Beobachtungen. Während ASHES et al. (1992) nur von einer geringfügigen Biohydrierung dieser Fettsäuren nach einer Inkubationszeit von 48h berichteten, verzeichneten FIEVEZ et al. (2000) nach 24h-Inkubation von Fischöl mit einem geringeren Anteil an EPA und DHA im eingesetzten Fett eine Biohydrierung von 61.7% und 77.7% für EPA bzw. DHA. Bei der Untersuchung der Dosis-Wirkungs-Beziehung beobachteten GULATI et al. (1999), dass bei einer insgesamt konstanten Fettsupplementierung (5mg/ml Pansensaft) der Ersatz von Baumwollsaatöl durch mehr als 1mg Fischöl zu einer eindeutig verminderten Biohydrierung von EPA und DHA führte.

In der vorliegenden Studie wurden die Auswirkungen von zwei unterschiedlich zusammengesetzten Fischölen [Typ A (%w/w): C20:5n3, 18.7; C22:6n3, 11.7; Typ B (%w/w): C20:5n3, 5.8; C22:6n3, 7.6] auf die Freisetzung von EPA und DHA und ihre anschliessende Biohydrierung während anaerober Inkubation von 24h und 48h mittels Pansensimulationstechnik (batch cultures) untersucht und mit der Freisetzungs- und Biohydrierungsrate von Linolsäure (LA) in Sojaöl (%w/w: C18:2n6, 53.2), verglichen. Die verschiedenen Öle wurden jeweils zu 12.5mg, 25mg, 50mg, 75mg, 100mg oder 125mg mit 25ml eines Phosphatpuffer-Pansensaft-Gemisches (4:1, vol/vol) und 400mg gemahlenem Heu in Glaskolben gegeben, mit CO₂ begast und im Wasserschüttelbad bei 39°C inkubiert. Der Pansensaft wurde von vier pansenfistulierten Hammeln, die eine auf Gras basierende Ration erhielten, kurz vor der Morgenfütterung entnommen. Nach einer Inkubationszeit von 24h wurden alle Kolben aus dem Wasserbad genommen, wobei die Kolben, die für die 48h-Inkubation bestimmt waren, erneut mit 25ml des Puffer-Pansensaft-Gemisches und 400mg Heu versetzt und für weitere 24h inkubiert wurden. Die Lipidextraktion sowie die Trennung der freien Fettsäuren und Triacylglyceriden mit Dünnschichtchromatographie wurde gemäss DEMEYER et al. (1978) sowie

VAN NEVEL und DEMEYER (1996) durchgeführt. Die Identifizierung der Fettfraktionen erfolgte mit Gaschromatographie nach RAES et al. (2001). Die Freisetzungs- und Biohydrierungsraten der einzelnen Fettsäuren wurden als Verhältnis der inkubierten Proben (24h, 48h) zu den nicht inkubierten Proben (0h) ausgedrückt. Jedes Fischöl war in jeder Konzentrationsstufe pro Inkubationsserie zweimal vertreten. Insgesamt wurden drei Inkubationsserien durchgeführt. Die Inkubation des Sojaöls wurde pro Konzentrationsstufe zweimal wiederholt.

Die Freisetzungsrates von LA wurde durch die unterschiedlich langen Inkubationszeiten von 24h und 48h (ausser bei 125mg) sowie durch die Höhe der Sojaölgabe nicht beeinflusst und betrug im Durchschnitt 91.8% (24h-Inkubation) und 96.0% (48h-Inkubation). Bei den Fischölen zeigte sich, dass EPA und DHA mit steigender Supplementierung im Verhältnis zu denen im Triacylglycerid gebundenen Fettsäuren in signifikant geringerer Masse als freie Fettsäuren vorlagen ($P < 0.001$). Nach 24h-Inkubation wurden mit niedrigster Fischölgabe von 12.5mg in beiden Typen durchschnittlich 77.1% EPA und 77.9% DHA und mit höchster Gabe von 125mg 48.8% EPA und 48.5% DHA freigesetzt. Anders als beim Sojaöl bewirkt bei den Fischölen eine Verlängerung der Inkubationszeit von 24h auf 48h eine deutliche Erhöhung des Anteils an freier EPA und DHA ($P < 0.05$) innerhalb der einzelnen Konzentrationsstufen. Die Resultate zur Biohydrierung von LA liess keinen eindeutigen Schluss auf die Wirkung von Supplementierungshöhe und Inkubationszeiten zu. Während nach 24h-Inkubation bei Sojaölgaben von 12.5 und 25 mg LA vollständig hydriert war, lagen die Raten ansonsten zwischen 84.1% (50mg) und 93.3% (75mg). Eine Verlängerung der Inkubationsdauer auf 48h bewirkte in den Konzentrationsstufen 12.5, 50, 75 und 100mg eine vollständigen Biohydrierung. Bei EPA und DHA wurde deutlich, dass nicht nur die Höhe der Fischölsupplementierung, sondern auch der Fischöltyp einen signifikanten Einfluss auf die Biohydrierung hat. In Typ A, der einen höheren Anteil an $n3$ -Fettsäuren im Fettsäurenmuster aufwies als Typ B, wurden bei der niedrigsten Konzentrationsstufe nach 24h-Inkubation 39.4% EPA und 29.5% DHA hydriert bei der höchsten hingegen nur noch 1.1% bzw. 1.9%. Im Typ B lagen die Raten bei 74.1% (EPA) und 57.2% (DHA) mit 12.5mg sowie bei 17.1% bzw. 24.5% mit 125mg. Eine Verlängerung der Inkubationszeit führte in beiden Fischölen zu einer erhöhten Biohydrierung, allerdings war in Typ B dieser Einfluss bei DHA ab 75mg und bei EPA mit 125mg nicht mehr signifikant.

Die Ergebnisse der Studie zeigen, dass im Gegensatz zur LA die Freisetzung und Biohydrierung von EPA und DHA deutlich dosisabhängig ist. Während sich der Anteil an freigesetzter EPA und DHA mehr durch die absolute Menge an supplementiertem Fischöl beeinflussen liess, war bei der Biohydrierung zudem die Fettsäurezusammensetzung der Öle von Bedeutung. Die Gründe für dieses Verhalten sind bisher noch nicht eindeutig geklärt, allerdings könnte eine toxische Wirkung

von *n*3-Fettsäuren auf die an der Lipolyse und Biohydrierung beteiligten Pansenmikroben eine Rolle spielen.

Literatur:

ASHES, J.R., SIEBERT, B.D., GULATI, S.K., CUTHBERTSON, A.Z. and SCOTT, T.W. (1992): Incorporation of n-3 fatty acids of fish oil into tissue and serum lipids of ruminants. *Lipids*. **27**: 629-631.

DEMEYER, D.I., HENDERSON, C. and PRINS, R.A. (1978): Relative significance of exogenous and de novo synthesized fatty acids in the formation of rumen microbial lipids *in vitro*. *Appl. Environ. Microbiol.* **35**: 24-31.

FIEVEZ, V.I., VAN NEVEL, C.J. and DEMEYER, D.I. (2000): Lipolysis and biohydrogenation of PUFA's from fish oil during *in vitro* incubation with rumen contents. *Proc. Nutr. Soc.* **35**: 31A.

GULATI, S.K., ASHES, J.R. and SCOTT, T.W. (1999): Hydrogenation of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids and their incorporation into milk fat. *Anim. Feed. Sci. Technol.* **79**: 57-64.

RAES, K., DE SMET, S. and DEMEYER, D. (2001): Effect of double-muscling in Belgian Blue young bulls on intramuscular fatty acid composition with emphasis on conjugated linoleic acid and polyunsaturated fatty acids. *Anim. Sci.* im Druck.

Van Nevel, C.J. and Demeyer D.I. (1996): Influence of pH on lipolysis and biohydrogenation of soyabean oil by rumen contents *in vitro*. *Reprod. Nutr. Dev.* **36**: 53-63.

WILLIAMS, C.M. (2000): Dietary fatty acids and human health. *Ann. Zootech.* **49**: 165-180.