

*Aus dem Institut für Pharmakologie, Toxikologie u. Pharmazie  
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München  
(Direktor: Prof. Dr. Dr. h. c. K. ZIPF)*

## **Über das Vorkommen mit dem Futter aufgenommenen Strontiums im Hühnerei**

### **1. Mitteilung: Ablagerung im Dotter**

VON K. ZIPF, A. SCHMID und J. GROPP

Mit 2 Tabellen

(Eingegangen am 9. Mai 1962)

Das ähnliche Verhalten von Strontium und Calcium im Stoffwechsel legt bei der Bedeutung des Hühnereis als Nahrungsmittel und der biologischen Gefährlichkeit von  $^{90}\text{Sr}$  (4) die Frage nahe, inwieweit mit dem Futter aufgenommenes Strontium im Hühnerei wiedergefunden wird. Insbesondere interessieren Umfang und Schnelligkeit der Ablagerung, die Verteilung auf Dotter, Eiweiß und Schale und die Zeitspanne, in welcher Hühner nach oraler Strontiumaufnahme noch strontiumhaltige Eier legen.

In der Literatur sind wenige Untersuchungen über die Ablagerung von Strontium im Hühnerei beschrieben worden. U. a. konnte nach parenteraler Verabreichung festgestellt werden, daß Strontium vor allem in die Schale eingebaut wird (5). Im Eiweiß wurde eine geringe Menge und im Eigelb kein Strontium gefunden. Bei oraler Applikation im Rahmen anderer Untersuchungen (2, 3, 6) wurden Spuren von Strontium in Dotter und Eiweiß nachgewiesen.

### **Experimenteller Teil**

Die hier beschriebenen Versuche wurden mit 4 Hennen (Weißes Leghorn) durchgeführt, welche bei Versuchsbeginn etwa 1 Jahr alt waren. Sie erhielten ein mit Vitamin A, B<sub>2</sub> und D<sub>3</sub> angereichertes, Spurenelemente enthaltendes, käufliches Legehennenalleinfutter (DEWA Preßmischfutter L, Hersteller: DEWA Kraftfutterwerk, Emskirchen in Bayern), das folgende Zusammensetzung hatte: Futterweizen (geschrotet) 15%, Gerste (geschrotet) 15%, Weizenfuttermehl 15%, Mais (geschrotet) 10%, Hafer (geschrotet) 10%, Eiweißkonzentrat (aus 35% Fischmehl, 15% Dorschmehl, 15% Tierkörpermehl, 10% Sojaschrot extr., 10% Futterknochenschrot, 8% Trockenfutterhefe, 7% Blutmehl) 10%, Maiskleberfutter 10%, Reisfuttermehl 5%, Melasse 5%, Weizennachmehl 4%, Mineralstoffmischung Ia (Reg. Nr. 2370/55) 1%. Das Gesamtfutter enthielt 18,1% Rohprotein, 3,7% Fett, 4,4% Rohfaser, 6,8% Asche, 6,2% Zucker, 1,9% Calcium und 0,8% Phosphor. Diesem Futter wurden nach Anfeuchten 180 Tage lang 2 mVal  $\text{SrCO}_3$  (Strontiumfutter) und anschließend 218 Tage lang 2 mVal  $\text{CaCO}_3$  (Calciumfutter) pro 100 g Trockensubstanz beigemischt. Es wurde den Hühnern, ebenso wie Wasser, ad libitum angeboten.

Von den Versuchshennen starb ein Tier 47 Tage nach Beginn der Strontiumfütterung, ein weiteres wurde bei Beendigung der Strontiumzugabe (also nach 180 Versuchstagen) und die übrigen beiden bei Versuchsende (gesamte Versuchsdauer 607 Tage) getötet. Allen Hühnern wurden die Tibiae und einige Halswirbel zur Untersuchung auf Strontium und Calcium entnommen.

Der Eieranfall betrug 209 Stück. Davon entfielen 135 auf die Zeit der Strontiumfütterung und der Rest auf die übrige Versuchsdauer.

Zur Aufarbeitung wurden die Eier nach Anbringen eines Einstiches in die Luftkammer bei 90–100° C im Trockenschrank denaturiert, in Schale, Eiweiß und Dotter getrennt, zerkleinert und 3–4 Tage lang bei derselben Temperatur getrocknet.

Die Bestimmung von Strontium und Calcium im Dotter wurde unter Verwendung folgender Chemikalien und Lösungen vorgenommen (p. a. Qualität):  $\text{HClO}_4$  11,6 molar,  $\text{NH}_3$  13,3 molar,  $\text{FeCl}_3$  0,38 molar,  $\text{CH}_3\text{COONH}_4$  1,14 molar,  $\text{NH}_4\text{Cl}$  0,38 molar,  $\text{CH}_3\text{COOH}$  0,253 molar,  $\text{SrCO}_3$  und  $\text{CaCO}_3$  (durch Umfällen besonders gereinigt).

Der getrocknete Dotter wurde 2 Tage lang bei 600 °C geglüht, zur vollständigen Veraschung mit 2 ml Perchlorsäure abgeraucht und dann 12 Stunden bei 600 °C gehalten.

Zur Untersuchung auf Strontium und Calcium wurden etwa 20 mg Dotterasche in 2 ml  $\text{HClO}_4$  unter Erwärmen gelöst (nicht gelöste Spuren von Kieselsäure blieben unberücksichtigt) und nach Verdünnen mit 2 ml Ammoniaklösung versetzt. Dann wurde das pH mit verdünnter Perchlorsäure auf 7,00 eingestellt, 1 ml Eisenchlorid- und 1 ml Ammoniumacetatlösung tropfenweise zugegeben und kurz aufgeköcht. Nach Abkühlen, Auffüllen ad 300 ml mit entsalztem Wasser (Leitfähigkeit  $< 0,2 \mu\text{S}$ ), Mischen und Filtrieren kam Strontium und Calcium im Filtrat wie unter (8) beschrieben flammenspektrophotometrisch zur Bestimmung.

Zur Herstellung der Eichlösung wurden der Asche angepaßte Mengen  $\text{SrCO}_3$  und  $\text{CaCO}_3$  in Wasser aufgeschlämmt, mit wenig Perchlorsäure gelöst und verdünnt. Dann wurden 6,7 ml  $\text{NH}_3$ -Lösung zugefügt und das pH mit verdünnter Perchlorsäure auf 7,00 eingestellt. Nach Zugabe von 3,8 mMol  $\text{NH}_4\text{Cl}$  sowie 2,53 mMol Essigsäure wurde ad 1000 ml aufgefüllt.

Der Flammenuntergrund wurde bei der Calciumbestimmung mit entsalztem Wasser und bei der Strontiumbestimmung mit einer Lösung ermittelt, die wie die Eichlösung hergestellt war, jedoch kein Strontium enthielt.

Um den physiologischen Strontiumgehalt des Dotters und etwaige Abweichungen der Emission der Nulllösung vom wahren Nullwert auszuschalten, wurde die Asche von 10 Normaleiern analysiert und der gefundene „Strontiumgehalt“ ( $0,08 \pm 0,002\%$ ; Standardabweichung) von den Analyseergebnissen der Versuchseier abgezogen).

Die Hühnerknochen wurden nach kurzem Kochen in verdünnter Natronlauge (pH etwa 8) von dem anhängenden Gewebe befreit, mit stark verdünnter Salzsäure und entsalztem Wasser abgespült, zerbrochen, 7 Tage bei 90–100 °C getrocknet und dann bei 600 °C trocken verascht. Die Strontium- und Calciumanalysen in der Knochenasche erfolgten flammenspektrophotometrisch nach dem früher angegebenen Verfahren (8).

## Ergebnisse

In der folgenden Tabelle sind die in der Dotterasche erhobenen Befunde der Strontiumfütterungsperiode zusammengestellt. Es handelt sich um arithmetische Mittelwerte aus Doppelbestimmungen mit einer Spannweite (range) von 0,19% Calcium und 0,04% Strontium.

Aus der Tabelle läßt sich entnehmen, daß Strontium 4 Tage nach oraler Aufnahme im Dotter nachgewiesen werden konnte. Die Konzentration stieg an und variierte schließlich um einen mittleren Wert von 0,5% der Asche; der mittlere Calciumgehalt lag bei 7,5%.

Nach Beendigung der Strontiumzufütterung war der Strontiumgehalt in der Dotterasche bis zum 27. Tag auf 0,20% und am 186. Tag auf 0,06% abgefallen. In allen folgenden Eiern bis zum 427. Tag nach Absetzen des Strontiumfutters wurde kein Strontium mehr nachgewiesen. Der mittlere Calciumgehalt dieser Eier lag bei 7,6% der Dotterasche.

Tabelle 1.

Strontium- und Calciumgehalte der Dotterasche während der Strontiumfütterung (%)

El. Nr.	Fütterungsdauer (Tage)	Strontium	Calcium
10	0	0,00	6,26
11	0	0,00	7,81
12	1	0,00	7,68
13	1	0,00	7,07
14	2	0,00	6,84
15	2	0,00	6,67
16	3	0,00	6,14
17	3	0,00	6,49
18	4	0,09	6,40
19	4	0,02	6,68
20	6	0,12	6,26
21	6	0,08	6,52
22	6	0,00	6,65
23	7	0,19	6,66
24	9	0,35	6,76
25	9	0,04	6,25
26	9	0,23	6,22
27	11	0,19	7,10
28	11	0,48	6,82
29	13	0,27	6,84
30	13	0,54	6,95
31	14	0,39	6,59
32	15	0,22	7,23
33	16	0,24	6,91
34	16	0,68	7,90
35	18	0,28	7,65
36	18	0,27	8,32
37	19	0,58	7,71
38	19	0,85	8,46
39	21	0,40	7,62
40	21	0,39	6,67
41	22	0,44	7,53
42	22	0,72	8,09
43	23	0,36	7,21
44	24	0,58	7,61
45	24	0,49	8,42
46	25	0,35	7,09
47	25	0,31	7,91
48	27	0,45	8,57
49	27	0,26	7,74
50	28	0,24	7,77
51	28	0,33	7,85
52	28	0,42	8,02
53	30	0,54	8,27
54	30	0,47	6,65
55	32	0,31	7,21
56	32	0,49	8,45
57	32	0,38	6,91

Tabelle 1 (Fortsetzung)

Ei Nr.	Fütterungsdauer (Tage)	Strontium	Calcium
58	35	0,67	8,18
59	35	0,58	7,56
60	37	0,72	8,04
61	46	0,35	8,10
85	62	0,86	7,25
87	63	0,77	7,05
88	65	0,50	8,11
89	65	0,57	7,77
90	70	0,71	7,75
91	71	0,70	8,03
91 <sub>a</sub>	72	0,60	8,83
93	76	0,67	7,28
94	77	0,71	7,85
95	78	0,70	8,45
96	79	0,74	8,23
97	81	0,76	7,66
98	82	0,55	9,05
99	84	0,78	8,12
100	84	0,33	7,03
101	85	0,63	7,97
102	86	0,39	6,61
104	89	0,44	7,32
105	90	0,35	7,82
106	92	0,48	8,24
107	94	0,55	8,54
108	97	1,02	7,80
110	99	0,48	8,43
111	100	0,46	8,13
112	101	0,59	8,59
113	102	0,57	8,20
114	102	0,32	8,52
116	103	0,29	8,28
117	104	0,35	8,13
118	104	0,36	8,32
119	106	0,42	8,04
120	106	0,40	8,02
121	107	0,40	8,55
122	109	0,57	8,64
123	110	0,40	8,42
125	110	0,49	7,36
126	111	0,47	7,59
127	112	0,71	8,58
128	117	0,45	6,24
129	123	0,62	8,41
130	124	0,59	7,31
131	126	0,34	6,90
132	126	0,59	6,50
133	129	0,47	6,39
134	130	0,63	6,94

Über die Ergebnisse der Knochenanalysen orientiert die nächste Tabelle.

Tabelle 2. Asche-, Strontium- und Calciumgehalt des Skeletts

Asche d. wasserfreien Gesamtknochens (%)		Strontiumgehalt (%) der Asche		Calciumgehalt (%) der Asche		Bemerkungen
Tibiae	Wirbel	Tibiae	Wirbel	Tibiae	Wirbel	
61,7	60,1	0,34	0,39	38,5	38,7	47 Tg. Sr-Futter; spontan gestorben
		0,32	0,36	38,9	38,5	
55,7	56,2	0,50	0,59	38,6	38,4	nach 180 Tg. Sr-Futter getötet
		0,51	0,58	38,9	38,0	
62,0	60,7	0,16	0,19	39,3	38,3	180 Tg. Sr-Futter; 218 Tg. Ca-Futter; 209 Tg. kein Zusatz; nach 607 Tg. getötet
		0,14	0,18	39,1	38,4	
62,1	61,8	0,14	0,13	39,2	38,6	
		0,14	0,14	39,0	38,3	

Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß der Strontiumgehalt der Tibiae nach 47 Tagen bei 0,33 und der Wirbel bei 0,37% der Asche lag. Er stieg bis zum Ende der Strontiumfütterung auf 0,50 bzw. 0,58% an. Nach dem Absetzen des Strontiumfutters fiel er in 427 Tagen wieder auf 0,14 bzw. 0,16% ab.

### Diskussion

Aus den Ergebnissen läßt sich entnehmen, daß Strontium einige Tage nach oraler Aufnahme im Dotter abgelagert wird. Dies stimmt mit den Befunden, die andere Untersucher – zum Teil mit Calcium – erhielten, überein (1, 2, 6, 9).

Die höchsten Strontiumkonzentrationen im Dotter wurden nach zwei bis drei Wochen beobachtet. Da sie im weiteren Verlauf der Strontiumfütterung (mit gewissen Schwankungen) gehalten wurden, muß sich ein Gleichgewicht zwischen Strontiumaufnahme und -ausscheidung eingestellt haben. Dabei war das Strontium:Calcium-Verhältnis im Futter 1:22 und im Dotter 1:15. Daraus ergibt sich eine Strontiumanreicherung im Dotter um den Faktor 1,4 bis 1,5 in Bezug auf Calcium ( $OR_{\text{Dotter/Nahrung}} \approx 1,4$ ).

Nach Beendigung der Strontiumfütterung war noch 186 Tage lang Strontium im Dotter nachweisbar. Als Erklärung wird – im Hinblick auf die Knochenanalysen (s. Tab. 2) – die Abgabe im Skelett gespeicherten Strontiums an den Dotter angesehen werden dürfen.

Im Skelett zeigte Strontium das von Untersuchungen mit Ratten bekannte Verhalten (7).

### Zusammenfassung

Legenden Hennen wurde 180 Tage lang strontiumhaltiges Futter (Sr:Ca  $\approx$  1:22) verabreicht; der gesamte Versuch erstreckte sich über 607 Tage.

Die Dotter der angefallenen Eier und das Skelett wurden auf Strontium und Calcium untersucht.

Das Eigelb enthielt erstmals vier Tage nach Versuchsbeginn einen nachweisbaren Strontiumgehalt, der nach zwei bis drei Wochen ein Niveau um 0,5% der Asche erreichte. Das Strontium:Calcium-Verhältnis des Dotters war jetzt 1:15.

Nach Absetzen des Strontiumfutters war Strontium noch bis zum 186. Tag in der Dotterasche nachweisbar. Der Befund wird mit einer Umlagerung von Skelett-Strontium in den Dotter erklärt.

In der Asche der Tibiae und Halswirbel stieg der Strontiumgehalt bis zum Ende der Strontiumfütterung auf 0,50 bzw. 0,58% an. Er fiel in den folgenden 427 Tagen auf 0,14 bzw. 0,16% ab.

### *Schrifttum*

1. COMAR, C. L. und J. C. DRIGGERS, Science **109**, 282 (1949). — 2. DREA, W. F., J. Nutrit. **10**, 351 (1935). — 3. DREA, W. F., J. Nutrit. **16**, 325 (1938). — 4. GRAUL, E. H., Ärztl. Mitt. **43**, 846 (1958). — 5. POSIN, D. Q., Proc. Montana Acad. Sci. (Missoula) **3/4**, 10 (1942/43). — 6. PRESS, R., Nature **148**, 753 (1941). — 7. SCHMID, A., Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **326**, 177 (1961). — 8. SCHMID, A. und K. ZIPF, Biochem. Z. **331**, 144 (1959). — 9. SPINKS, J. W. T., M. R. BERTIE und J. B. O'NEIL, Science **110**, 232 (1949).

### *Anschrift des Verfassers:*

Institut für Pharmakologie, Toxikologie und Pharmazie der Tierärztlichen Fakultät der Universität München  
8000 München 22, Veterinärstr. 13