

*Aus dem Institut für Pharmakologie, Toxikologie und 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

2. Mitteilung: Ablagerung in der Schale

Von K. ZIPF, A. SCHMID und U. FRITZ

Mit 2 Tabellen

(Eingegangen am 9. Mai 1962)

Die Schale des Hühnereis besteht zu 90 bis 95 % aus Calciumcarbonat (4,8). Sie ist damit wesentlich calciumreicher als Dotter und Eiweiß. Es ist nahe-liegend, daß Strontium im Ei vor allem in der Schale abgelagert wird. Befunde von POSIN (5) bestätigen diese Erwartung.

Einen Anhaltspunkt über die Schnelligkeit, mit welcher die Ablagerung erfolgt, geben Untersuchungen mit radioaktivem Calcium: Bei Verabreichung von $^{45}\text{CaCl}_2$ in den Kropf einer nüchternen Henne (1) waren schon 15 Minuten später 0,07% der Dosis in der Schale nachweisbar. Nach 24 Stunden enthielt die Schale ein Drittel; in den folgenden 19 Tagen (die Untersuchungen erstreckten sich auf 20 Tage und 14 Eier) fiel die Konzentration auf 0,5% der Dosis ab. In anderen Untersuchungen (7) wurden nach einmaliger, oraler Applikation von $^{45}\text{CaCO}_3$ in der Schale des ersten von 11 untersuchten Eiern Spuren von ^{45}Ca gefunden. In der Schale des zweiten Eies war die meiste Aktivität enthalten; später trat ein rascher Abfall ein.

Experimentelle Untersuchungen

Die Arbeit stellt eine Fortsetzung von Untersuchungen an mehr als 200 Eiern von Hühnern dar, denen im Verlauf von 807 Versuchstagen zunächst 180 Tage lang strontiumhaltiges Futter verabreicht worden war. Versuchsanordnung, Versuchstiere und Aufarbeitung der Eier wurden in der ersten Mitteilung (9) beschrieben. Untersuchungsgegenstand ist der Strontium- und Calciumgehalt der Eierschale.

Die Durchführung der Analysen geschah in folgender Weise: 10 mg der 42 Stunden bei 700 °C geglühten Eierschalen wurden mit 1 ml molarer HCl (p. a.) gelöst, ad 300 ml mit entsalztem Wasser (Leitfähigkeit $< 0,2 \mu\text{S}$) aufgefüllt und flammenspektrophotometrisch mit einer Eichlösung verglichen, deren Sr-, Ca-, PO_4 - und HCl-Gehalte der Analysenlösung angepaßt waren. Zur Herstellung der Eichlösung wurden folgende Chemikalien und Lösungen (p. a.-Qualität) verwendet: SrCO_3 und CaCO_3 (durch Umfällen besonders gereinigt), 0,1 n H_3PO_4 und m HCl. Der Flammenuntergrund wurde mit entsalztem Wasser ermittelt.

Von den erhaltenen Strontiumwerten wurde der Mittelwert aus 10 in gleicher Weise untersuchten Schalen von Normaleiern ($0,17 \pm 0,015\%$; Standardabweichung) in Abzug gebracht.

Ergebnisse

Die Ergebnisse sind in den folgenden Tabellen dargestellt.

Tabelle 1. Strontium- und Calciumgehalte der Eierschalen während der Strontiumfütterung
(Angaben in % der Asche; t_F Fütterungsdauer in Tagen)

El-Nr.	t_F	Sr	Ca	El-Nr.	t_F	Sr	Ca
1	—	0,00	71,6	23	7	2,21	63,3
		0,00	71,7			2,21	63,3
2	—	0,00	73,1	24	9	1,89	69,7
		0,00	72,5			1,84	69,2
3	—	0,00	71,8	25	9	1,35	68,1
		0,00	72,5			1,34	68,8
4	—	0,00	73,5	26	9	2,34	62,0
		0,00	73,9			2,45	61,5
5	—	0,00	73,4	27	11	1,63	66,7
		0,00	73,6			1,51	66,9
6	—	0,00	73,4	28	11	2,40	64,6
		0,00	72,8			2,30	63,9
7	—	0,00	74,6	29	13	1,99	66,1
		0,00	74,6			1,96	66,4
8	—	0,00	72,9	30	13	1,96	63,5
		0,00	72,8			1,88	62,8
9	—	0,00	72,8	31	14	2,35	63,3
		0,00	72,4			2,27	63,5
10	0	0,62	72,4	32	15	1,44	66,9
		0,68	71,9			1,50	67,4
11	0	0,82	71,1	33	16	1,71	53,1
		0,70	71,5			1,73	53,3
12	1	0,00	71,9	34	16	2,87	51,3
		0,00	71,8			2,80	52,0
13	1	0,00	72,4	35	18	2,17	66,7
		0,00	71,9			2,15	66,5
14	2	1,32	69,4	36	18	1,71	64,5
		1,32	70,0			1,62	64,8
15	2	0,36	73,6	37	19	2,96	61,8
		0,35	73,5			2,97	61,5
16	3	1,73	69,3	38	19	2,53	64,9
		1,73	69,3			2,49	65,3
17	3	1,77	70,2	39	21	1,49	68,5
		1,72	69,5			1,43	67,9
18	4	1,20	70,6	40	21	2,27	68,4
		1,36	71,1			2,28	67,9
19	4	0,76	66,0	41	22	2,47	69,6
		0,75	66,1			2,45	69,4
20	6	1,03	64,7	42	22	2,40	67,6
		1,03	65,3			2,42	67,4
21	6	0,99	70,5	43	23	1,24	67,2
		0,97	70,5			1,29	66,6
22	6	0,36	57,4	44	24	1,85	66,4
		0,36	56,7			1,90	66,2

Tabelle 1 (Fortsetzung)

Ei-Nr.	t_F	Sr	Ca	Ei-Nr.	t_F	Sr	Ca
45	24	1,31	68,0	61	46	1,09	65,0
		1,31	68,0			1,14	65,1
46	25	1,61	61,1	69	47	3,27	59,2
		1,70	61,6			3,21	59,7
47	25	1,04	69,3	70	47	2,82	66,8
		0,98	69,2			2,88	67,3
48	27	2,55	69,2	71	48	2,65	63,9
		2,42	69,2			2,68	63,9
49	27	2,13	70,1	72	50	2,39	60,2
		1,93	70,2			2,44	60,9
50	28	2,16	69,2	73	50	2,27	67,3
		2,11	69,6			2,29	67,9
51	28	2,08	69,7	74	52	2,96	62,3
		2,07	69,2			2,96	62,0
52	28	2,56	70,5	75	54	2,17	61,4
		2,58	70,5			2,12	62,0
53	30	2,73	69,7	76	54	2,76	61,7
		2,76	69,4			2,78	62,1
54	30	1,86	69,3	77	55	2,78	66,9
		1,87	69,2			2,79	66,6
55	32	2,64	68,7	78	55	2,47	67,3
		2,53	68,3			2,42	67,8
56	32	1,77	66,2	79	56	2,12	63,5
		1,80	65,9			2,12	64,1
57	32	3,40	60,5	80	56	2,35	62,8
		3,39	60,1			2,38	63,1
58	35	2,58	67,0	81	57	4,11	65,1
		2,56	67,3			4,08	64,6
59	35	3,40	66,2	82	57	4,97	62,1
		3,38	66,5			4,98	62,4
60	37	2,73	66,1	83	60	3,84	65,3
		2,72	65,7			3,80	64,8
62	39	2,64	65,8	84	62	4,60	65,8
		2,61	65,8			4,55	65,5
63	39	2,34	66,4	85	62	3,40	67,3
		2,38	67,0			3,40	67,2
64	41	3,32	62,3	86	63	3,01	63,6
		3,30	62,8			3,04	63,0
65	41	4,23	65,3	87	63	2,94	69,4
		4,24	65,7			2,90	68,9
66	42	2,40	67,9	88	65	2,92	64,1
		2,41	67,7			2,91	64,4
67	43	2,93	66,0	89	65	2,12	65,9
		2,85	65,6			2,21	65,9
68	43	2,70	64,6	90	70	2,27	64,1
		2,62	63,9			2,24	64,5

Tabelle 1 (Fortsetzung)

El-Nr.	t_F	Sr	Ca	El-N	t_F	Sr	Ca
91	71	2,87	67,6	113	102	2,92	69,6
		2,92	67,4			2,92	69,6
91 a	72	2,77	65,4	114	102	2,34	71,0
		2,73	65,0			2,26	71,0
92	75	3,15	65,6	115	103	3,10	67,7
		3,04	65,3			3,10	68,1
93	76	4,00	63,8	116	103	2,50	68,5
		4,17	63,2			2,52	68,8
94	77	4,26	65,7	117	104	2,53	70,1
		4,15	66,4			2,68	70,5
95	78	2,82	67,1	118	104	2,78	70,1
		2,86	67,1			2,77	69,7
96	79	2,74	66,6	119	106	2,32	70,6
		2,79	66,2			2,34	70,2
97	81	1,67	68,4	120	106	3,02	69,5
		1,76	68,4			3,08	69,6
98	82	1,61	62,1	121	107	2,82	69,0
		1,68	62,3			2,79	69,0
99	84	1,98	65,1	122	109	3,72	68,8
		1,89	65,0			3,69	68,8
100	84	1,31	69,1	123	110	2,28	71,6
		1,35	69,1			2,36	71,6
101	85	1,95	66,7	124	110	2,93	70,7
		1,95	66,1			2,91	70,4
102	86	1,75	60,7	125	110	2,44	69,9
		1,72	60,1			2,42	70,2
103	86	2,44	69,2	126	111	2,62	69,9
		2,41	69,4			2,56	69,9
104	89	1,52	70,0	127	112	3,05	69,0
		1,52	70,0			3,04	69,0
105	90	2,66	67,6	128	117	3,23	68,4
		2,68	67,6			3,20	67,9
106	92	3,19	71,0	129	123	2,69	69,0
		3,09	71,1			2,68	68,3
107	94	2,48	70,6	130	124	2,86	68,5
		2,51	71,3			2,88	68,9
108	97	2,53	69,6	131	126	2,33	71,2
		2,58	70,3			2,30	71,0
109	98	1,89	71,2	132	126	3,19	68,0
		1,87	71,8			3,20	68,1
110	99	0,73	73,1	133	129	2,57	68,0
		0,72	72,9			2,47	67,9
111	100	0,83	72,8	134	130	2,79	68,7
		0,81	72,7			2,82	69,0
112	101	1,07	73,5	Ende der Strontiumfütterung			
		1,06	73,1				

Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß Strontium bereits in der Schale von Eiern nachgewiesen werden konnte, die am Tage der Strontiumaufnahme gelegt worden waren. Die Einlagerung stieg zunächst an und erreichte nach 57 Tagen Dauerfütterung mit rund 5% der Asche den höchsten beobachteten Wert.

Tabelle 2. Strontium- und Calciumgehalte der Eierschalen nach Beendigung der Strontiumfütterung (Angaben in % der Asche; t_E Zeit nach Fütterungsende in Tagen)

Ei-Nr.	t_E	Sr	Ca	Ei-Nr.	t_E	Sr	Ca
135	27	0,80	72,5	151	216	0,01	72,9
		0,78	73,1			0,03	72,3
136	32	0,68	72,3	152	218	0,02	72,2
		0,73	71,8			0,01	72,3
137	40	0,76	72,9	153	219	0,13	73,3
		0,81	72,8			0,14	72,6
137 a	44	0,33	62,6	154	220	0,01	55,9
		0,28	62,6			0,03	55,9
137 b	49	0,57	62,8	155	223	0,01	57,6
		0,57	62,8			0,02	57,3
137 c	54	0,44	62,4	156	224	0,05	55,9
		0,39	62,8			0,03	55,8
137 d	170	0,07	62,1	157	225	0,03	56,4
		0,07	61,5			0,03	56,2
137 e	174	0,04	60,6	158	227	0,01	56,6
		0,00	61,1			0,00	56,8
137 f	179	0,23	60,0	159	228	0,02	56,8
		0,25	60,3			0,02	56,7
138	183	0,25	72,4	160	229	0,00	53,4
		0,27	71,7			0,02	54,0
139	184	0,24	71,5	161	230	0,00	53,9
		0,24	72,2			0,00	54,5
140	186	0,27	71,8	162	231	0,00	54,3
		0,30	71,8			0,00	54,3
141	194	0,14	72,8	163	232	0,03	55,4
		0,14	72,8			0,02	55,7
142	200	0,10	73,1	164	233	0,02	55,6
		0,11	73,6			0,01	55,7
143	202	0,11	71,5	165	234	0,05	55,2
		0,11	71,8			0,03	55,3
144	206	0,08	73,3	166	234	0,03	55,8
		0,08	73,6			0,05	55,8
145	207	0,08	71,6	167	236	0,01	53,5
		0,07	72,2			0,02	53,1
146	208	0,07	71,8	168	238	0,04	55,6
		0,07	72,2			0,02	55,9
147	210	0,05	72,6	169	239	0,01	53,2
		0,05	72,4			0,00	53,2
148	212	0,05	71,8	170	240	0,03	55,7
		0,03	72,3			0,03	55,5

Tabelle 2 (Fortsetzung)

Ei-Nr.	t_E	Sr	Ca	Ei-Nr.	t_E	Sr	Ca
149	213	0,04 0,05	70,7 71,3	171	241	0,02 0,01	54,5 55,2
150	214	0,05 0,05	72,2 71,9	172	242	0,00 0,00	55,9 55,9
173	242	0,03 0,03	55,1 55,6	183	253	0,00 0,00	55,8 55,8
174	244	0,00 0,00	55,8 55,5	184	253	0,00 0,00	54,9 54,7
175	244	0,00 0,01	56,9 57,3	185	254	0,00 0,00	56,5 56,3
176	245	0,00 0,00	57,6 57,6	186	255	0,00 0,00	55,6 55,4
177	246	0,00 0,00	56,7 56,5	187	258	0,00 0,00	56,2 56,2
178	247	0,00 0,00	54,2 54,5	188	259	0,00 0,00	56,1 56,3
179	249	0,01 0,01	53,6 53,9	189	259	0,00 0,00	55,6 55,6
180	250	0,00 0,00	56,4 56,4	190	261	0,00 0,00	56,4 56,4
181	251	0,00 0,00	55,1 55,1	191	262	0,00 0,00	56,1 56,1
182	252	0,00 0,00	56,4 56,3	192	267	0,00 0,00	56,7 57,2

Der zweiten Tabelle läßt sich entnehmen, daß der Strontiumgehalt der Schalen nach Beendigung der Strontiumfütterung anhaltend abfiel. Trotzdem konnte Strontium mehr als 200 Tage nach Beendigung der Aufnahme noch mit Sicherheit in der Schale nachgewiesen werden.

Diskussion

Die Ergebnisse zeigen, daß Strontium nach oraler Aufnahme am gleichen Tag in der Schale des Hühnereis abgelagert werden kann. Es verhält sich somit wie ^{45}Ca bei entsprechenden Untersuchungen (1, 7).

Im Verlauf der Dauerfütterung wies die Strontiumkonzentration in der Schalenasche starke Schwankungen auf (s. Tab. 1). Trotzdem ist erkennbar, daß die Strontiumgehalte zunächst anstiegen und später diese Tendenz verloren. Das Ende der Anstiegsphase läßt sich allerdings nicht exakt festlegen. Da der höchste Strontiumgehalt jedoch nach 57tägiger Strontiumfütterung festgestellt wurde, muß der Konzentrationsanstieg spätestens nach dieser Zeitspanne beendet gewesen sein. Der Sättigungswert dürfte durch den mittleren Strontiumgehalt der Eierschalen, die nach Erreichen des Strontium-maximums gelegt worden sind, angenähert werden. Er beträgt $2,65 \pm 0,79\%$ der Asche (Standardabweichung).

Als Ursache für die Schwankungen kommt die Herkunft der Eier von verschiedenen Hühnern oder eine unregelmäßige Futteraufnahme in Frage. Wir halten den letzten Punkt für weniger wahrscheinlich, weil die Schwankungen der Strontiumkonzentration auch nach Beendigung der oralen Strontiumaufnahme relativ groß sind.

Der mittlere Calciumgehalt der Eierschalen, die vor Beginn der Strontiumfütterung gelegt worden waren (Ei Nr. 1 mit 9), betrug $73,0 \pm 1,2\%$ der Asche. Nach Einstellung der Strontiumsättigung (Ei Nr. 82 mit 134) fiel der Calciumgehalt auf $68,1 \pm 2,7\%$ ab. Der Unterschied ist mit einer Wahrscheinlichkeit von 99,7% signifikant. Offenbar liegt hier eine Verdrängung von Calcium durch Strontium vor, wie sie z. B. auch in Knochen beobachtet wurde (3, 6).

Wenn die mittleren Strontium- und Calciumgehalte nach Einstellung der Sättigung in Beziehung gesetzt werden, ergibt sich ein Verhältnis von etwa 1:26. Im Hinblick auf ein Strontium:Calcium-Verhältnis von 1:22 im Futter deutet das Verhältnis in der Schale (bei allem Vorbehalt wegen der starken Schwankungen) an, daß hier auf einen Gewichtsteil Calcium weniger Strontium kommt als im Futter. Dies stünde in Einklang mit der bei biologischen Vorgängen häufig beobachteten Verdünnung von Strontium relativ zu Calcium (s. z. B. 2).

Nach Beendigung der oralen Strontiumaufnahme nimmt die Strontiumkonzentration der Schale offensichtlich schnell ab; Strontium ist jedoch noch mehr als 200 Tage lang nachweisbar. Wir sehen diese Tatsache in Verbindung mit dem fallenden Strontiumgehalt des Skeletts (9) als Beweis dafür an, daß im Knochensystem abgelagertes Strontium in die Eierschale übertreten kann.

Der abrupte Abfall des Calciumgehaltes von durchschnittlich 69,8% (Ei Nr. 135–153) auf im Mittel 55,6% (Ei Nr. 154–192) hängt mit dem Aufhören der CaCO_3 -Zufütterung zusammen. Er zeigt, in welchem hohem Maß der Calciumgehalt der Eierschale von der Zusammensetzung des Futters abhängig ist.

Zusammenfassung

Legende Hennen erhielten ein Futter, dem 180 Tage lang 2 mVal Strontium- und 218 Tage lang dieselbe Menge Calciumcarbonat beigemischt war.

Sie legten im Verlauf des Versuches mehr als 200 Eier, deren Schalen nach Veraschung auf Strontium und Calcium untersucht wurden.

Strontium war bereits am Tage der ersten oralen Aufnahme nachweisbar. Die Strontiumkonzentration zeigte im weiteren Verlauf starke Schwankungen. Sie stieg in höchstens 57 Tagen auf einen Sättigungswert von etwa 2,6% der Asche an.

Nach Beendigung der Strontiumverabreichung war Strontium in der Schalenasche noch mehr als 200 Tage lang nachweisbar. Der Befund wird als Umlagerung von Skelett-Strontium in die Schale erklärt.

Schrifttum

1. COMAR, C. L. und J. C. DRIGGERS, Science **109**, 282 (1949). — 2. COMAR, C. L., R. H. WASSERMAN, S. ULLBERG und G. A. ANDREWS, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **95**, 386 (1957). — 3. MACDONALD, N. S., R. E. NUSBAUM, R. STEARNS, F. EZMIRLIAN, C. MCARTHUR und P. SPAIN, J. biol. Chem. **188**, 137 (1951). — 4. MAYNEORD, W. V., Brit. J. Radiol. **23**, 19 (1927). — 5. POSIN, D. Q., Proc. Montana Acad. Sci. (Missoula) **3/4**, 10 (1942/43). — 6. SCHMID, A., Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **326**, 177 (1961). — 7. SPINKS,

J. W. T., M. R. BERLIE und J. B. O'NEIL, *Science* **110**, 232 (1949). — 8. STUART, und WEITZEL, zit. n. GRZIMEK, *Das Eierbuch*, 6. Aufl. (Stuttgart u. Berlin 1951). — 9. ZIFF, K., A. SCHMID und J. GROPP, *Z. Ernährungswiss.* (1962, im Druck).

Anschrift des Verfassers:

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

*From the Nutrition Laboratories, Rutgers - The State University New Brunswick, New Jersey
(USA)*

The Nutritional Requirement of the Protein-Depleted Chicken

IV. Amino Acid Needs and Utilization during Repletion¹⁾

By J. D. SUMMERS and HANS FISHER

With 5 tables

(Received June 5, 1962)

The growth rate of protein-depleted chickens during repletion has been shown to vary with the type of depletion regimen and the level of protein in the repletion diet (SUMMERS and FISHER 1962). In the same study we observed that depleted birds required more dietary protein to achieve maximum weight gain than did control animals of the same starting weight.

The possibility that the optimum essential amino acid requirement pattern for repletion of malnourished subjects may differ from that of normal individuals has been suggested by SCRIMSHAW et al., (1958). FISHER et al., (1959) reported that chicks depleted for one week on a N (nitrogen)-free diet required a higher protein intake to achieve maximum growth, but that the requirement for lysine, as a percent of dietary protein, remained essentially the same as that of control animals of the same age but not the same body weight.

The present study was initiated to investigate the essential amino acid pattern required for repletion of malnourished chickens of similar body weight but of different age.

Experimental

In order to obtain a good response to amino acid supplementation, a protein level of 17% was chosen for the repletion diets. This level is sufficiently above that required for maintenance to ensure good growth, yet far enough below the amount required for maximum growth so that the response from amino acid supplementation would be on the steep portion of the dose-response curve. In the present study comparisons were made between controls and birds depleted 1) on an essentially N-free diet²⁾, 2) on a 15% gelatin diet or

¹⁾ Paper of the Journal Series, New Jersey Agricultural Experiment Station, Department of Poultry Science, New Brunswick. Supported by a grant-in-aid from the National Science Foundation G-11399.

²⁾ This diet supplied only trace amount etc. p. 47.