

Aus dem Institut für Physiologie und Ernährung der Tiere der Universität München
(Vorstand: Prof. Dr. Dr. J. Brüggemann)

Toxikologische Untersuchungen an Saugferkeln bei Verfütterung Aldrin*)-behandelter Möhren (*Daucus carota*)

Von J. BRÜGGEMANN, CH. ZENTZ, K. DREPPER, J. TIEWS und K.-H. NIESAR

Mit 12 Tabellen

(Eingegangen am 11. Juni 1964)

KÜBLER (1960) beobachtete an Säuglingen nach reichlichen Möhrengaben verminderte Gewichtszunahmen und ein Absinken der Carotin- und Vitamin-A-Werte im Plasma. Er äußerte den Verdacht, daß die von ihm verwendeten Möhren im Verlaufe ihrer Vegetationsperiode mit Aldrin, einem wirksamen Insektizid gegen die Möhrenfliege (*psila rosae*), behandelt gewesen sein könnten.

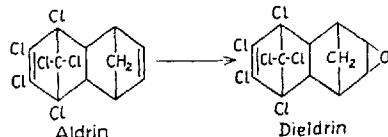
Spätere vom gleichen Autor wiederholte Untersuchungen mit Möhren, die nachweislich während ihres Wachstums nicht mit Aldrin in Berührung gekommen waren, verliefen ohne Zwischenfälle. Die eingangs erwähnten Ausfallserscheinungen an Säuglingen wurden nicht beobachtet.

Etwa zur gleichen Zeit stellte SCHUPHAN (1960) in Möhren, die einer fachgerechten Behandlung mit Aldrin während ihrer Vegetationsperiode unterworfen worden waren, fest, daß Rückstände von Aldrin und Dieldrin (Formel vgl. S. 2, berechnet als Aldrin) in Höhe von 0,05 bis > 2 mg/kg (= ppm) vorlagen. Damit wurden die für Möhren festgelegten Toleranzwerte (GRAHAM und Mitarb. 1958) von 0,1 mg Dieldrin je kg und 0,25 mg Aldrin je kg Frischmöhre zum Teil weit überschritten.

Obgleich ein Zusammenhang zwischen Aldrinbehandlung von Möhren und den von KÜBLER (1960) beobachteten Krankheitserscheinungen an Säuglingen nicht schlüssig bewiesen werden konnte, wurde diese Frage wegen der hohen Bedeutung der Möhre in der Säuglingernährung experimentell in einem Saugferkelversuch geprüft. Saugferkel sind für solche Untersuchungen besonders geeignet, weil der Ablauf ihrer Stoffwechselvorgänge dem des menschlichen Säuglings sehr ähnlich ist. Fütterungsart und Futterzubereitung sollten möglichst weitgehend der Ernährung menschlicher Säuglinge entsprechen.

Experimenteller Teil

Die Bestimmung von Aldrin und dem hieraus im pflanzlichen und tierischen Organismus durch Oxydation leicht entstehenden Dieldrin



in Möhren und einigen Schweineorganen erfolgte beim *ersten Hauptversuch* (vgl. unten) chemisch nach dem Phenylacidverfahren von O'DONNELL und Mitarb. (1954).

*) Aldrin = 1, 2, 3, 4, 10, 10-Hexachloro-1, 4, 4a, 5, 8, 8a-Hexahydro-1, 4-Endo, Exo-5, 8-Dimethanonaphthalin

Durch Behandlung von Aldrin mit Phenylacid in der Hitze entsteht Aldrin-dihydro-phenyl-Triazol, das durch diazotiertes Dinitroanilin und konzentrierte Salzsäure zu Aldrin-anilin umgewandelt wird. Unter Einwirkung von Schwefelsäure bildet sich daraus ein rot gefärbter Komplex, dessen Extinktion spektrophotometrisch (Unicam) bei einer Wellenlänge von 515 μ m, d = 1 cm gegen aqua dest. gemessen wird.

Dieldrin wird nach Behandlung mit Bromwasserstoffsäure und Essigsäureanhydrid durch Zink zum teilweise dechlorierten Aldrin reduziert und mit der für Aldrin beschriebenen Phenylacidmethode bestimmt.

Zur Bestimmung des Aldrins und Dieldrins im zweiten Hauptversuch fand die von GOODWIN und Mitarb. (1961) angegebene gaschromatographische Methode Verwendung.

Nach Verseifung des Untersuchungsmaterials werden Aldrin und Dieldrin aus dem Verseifungsrückstand mit Diäthyläther extrahiert und der Ätherextrakt an Aluminiumoxyd chromatographisch gereinigt. Aldrin und Dieldrin werden nach Abdestillieren des Äthers in n-Hexan aufgenommen und gaschromatographisch (Perkin-Elmer-Fraktometer 116 E, Kieselgursäure, Helium als Trägergas) bestimmt.

Der Carotin-Gehalt in Möhren wurde nach chromatographischer Reinigung an Aluminiumoxyd spektrophotometrisch bestimmt (A.O.A.C.-Methode 1960).

Die Bestimmung des Carotin- und Vitamin-A-Gehaltes in Leber und Blutplasma erfolgte nach alkalischer Hydrolyse spektrophotometrisch mit Hilfe der Carr-Price-Methode (TIEWS, 1959).

Als Tiermaterial für die Fütterungsversuche wurden Saugferkel des Deutschen veredelten Landschweines verwendet. Zu Beginn der Versuche betrug das Körpergewicht 2 bis 4 kg bei einem Lebensalter von 1-3 Wochen (unterschiedlich bei den jeweiligen Versuchen). Die Ferkel wurden am Markt gekauft und hinsichtlich Körpergewicht und Geschlecht gleichmäßig auf die Versuchsgruppen verteilt.

Die Fütterungsversuche an Saugferkeln wurden in 3 Abschnitten durchgeführt:

1. Vorversuch zur Ausarbeitung eines Fütterungsplanes, der einen möglichst hohen Möhrenverzehr pro Tier und Tag gewährleistet (7 Ferkel).
2. Erster Hauptversuch unter Verfütterung von Aldrin -bzw. Aldrin-Prevenol¹)-behandelten Möhren (24 Ferkel).
3. Zweiter Hauptversuch unter Verfütterung von unbehandelten Möhren, aber mit abgestuften Aldrinzusätzen, die in Mengen von 25-100 mg/kg dem Sauenmilchersatzfutter zugesetzt wurden (24 Ferkel).

Vor der Fütterung wurden die Möhren gewaschen, gekocht und gemust. Das Möhrenmuss wurde unter Zusatz von Sauenmilchersatzfutter²) und Wasser (40 °C) als Trank (Suppenkonsistenz) verfüttert. Die für jede Mahlzeit frisch bereitete Tränke wurde in solcher Menge vorgelegt, daß das Futter 2 Stunden nach Beginn der Fütterung aufgenommen war. In der 1. und 2. Woche wurde 4 mal, in der 3.-5. Woche 3 mal, in der 4.-8. Woche (zweiter Hauptversuch) 2 mal täglich gefüttert. Diese Fütterungstechnik wurde in allen durchgeführten Versuchen beibehalten.

¹) Prevenol = Isopropyl N (3-chlorophenyl) carbamat

²) Als Sauenmilchersatzfutter wurde „Bilactal“ (Fa. H. W. Schaumann, Ütersen, Holstein) verwendet. Die Zusammensetzung wird vom Hersteller wie folgt angegeben:

50,00% Hafermehl

35,32% Magermilchpulver

4,75% Blutmehl

4,50% Schweineschmalz

2,20% Sojaöl

2,00% Mineralstoffmischung DLG II a

0,60% Eurofac 2 A

0,50% Vitaminvormischung (A + D₃) enthält 20000 I.E. Vit. A/kg Sauenmilchersatzfutter

0,13% Eisensulfat

100,00%

Ergebnisse

Tab. 1 gibt die durchschnittlichen Gewichtszunahmen und den Futterverzehr während des *Vorversuches* wieder.

*Tabelle 1. Gewichtszunahmen und Futteraufnahme im Vorversuch
(Anfangsgewicht durchschnittl. 2,3 kg)*

Versuchswöche	Durchschnittl. Körpergewicht nach der Woche, kg	Durchschnittliche Zunahme g/Tier/Tag	Aufnahme an Sauenmilchersatzfutter g/Tier/Tag	Aufnahme an Möhren g/Tier/Tag
1.	3,1	90	100-140	-
2.	4,2	151	160-200	60-240
3.	5,5	180	200	340-520
4.	7,4	278	200	680-920
5.	8,5	162	200	1000
1.-5.	-	173	186,4	496

Die für den Vorversuch verwendeten Möhren waren nicht mit Aldrin behandelt. Ihr analytisch ermittelter Carotингehalt betrug 167 mg/kg Frischsubstanz (berechnet als β -Carotin). Der Vitamin-A-Gehalt im Plasma bei Versuchsende betrug im Durchschnitt der Tiere 122 I.E./100 ml Plasma ($s = \pm 13,7$ I.E.¹⁾

In der fünften Woche trat bei allen Tieren ein geringgradiger Durchfall auf.

Je kg Gewichtszunahme wurden 1,09 kg Sauenmilchersatzfutter und 2,87 kg Möhren (12% Trockensubstanz) aufgenommen.

Im ersten *Hauptversuch* sollte geprüft werden, ob eine gegen den Befall mit Möhrenfliegen gerichtete gebräuchliche Behandlung der wachsenden Möhren mit Aldrin bzw. Aldrin-Prevenol²⁾ einen Einfluß auf die Gewichtszunahmen, die Futteraufnahme, die Rohverwertungszahlen und die Vitamin-A-Gehalte im Blutplasma und der Leber bei Ferkeln ausübt.

Der Versuch wurde mit 4 Gruppen à 6 Ferkeln durchgeführt. Die Versuchsdauer betrug 5 Wochen. Die Fütterung erfolgte entsprechend dem im Vorversuch ermittelten Fütterungsplan, die etwas höheren durchschnittlichen Anfangsgewichte wurden dabei berücksichtigt. Das Futter wurde von allen Tieren gut aufgenommen.

Die Unterschiede im Vitamin-A-Gehalt zwischen den einzelnen Gruppen waren weder im Blutplasma noch in den Lebern statistisch zu sichern.

¹⁾ Der Vitamin-A-Gehalt im Plasma wurde nach alkalischer Hydrolyse bestimmt. Eine Differenzierung in Vitamin-A-Alkohol bzw. Vitamin-A-Ester war dementsprechend nicht möglich (der überwiegende Anteil des Vitamins A im Plasma dürfte indessen als Alkohol vorgelegen haben).

²⁾ Herrn Prof. Dr. W. SCHUPHAN, Direktor der Bundesanstalt für Qualitätsforschung pflanzlicher Erzeugnisse, Geisenheim/Rhg., danken wir für die Beschaffung und Bereitstellung des Möhrenmaterials.

Aldrinbehandlung: 20 kg „Drilltox“/ha = 0,6 kg reines Aldrin/ha.

Aldrin-Prevenol-Behandlung: 20 kg „Drilltox“ + 16 l „Prevenol 56“/ha.

Tabelle 2. Ergebnisse des ersten Hauptversuches

Gruppe I, die nur mit Sauenmilchersatzfutter ohne Möhrenzulage gefüttert wurde, war bei Versuchsende an Gewicht überlegen. Die ermittelten geringgradigen Unterschiede in der Gewichtszunahme und der Futterverwertung zwischen den Versuchsgruppen II, III und IV waren statistisch nicht signifikant und konnten somit nicht auf die Art der Vorbehandlung der Möhren zurückgeführt werden.

Gruppe	Möhren (Daucus carota)	Durch- schnittl. Anfangs- gewicht kg	Gewichts- zunahme kg/Tier/ Tag	Durch- schnittl. Körper- gewicht nach 5 Wochen kg	Aufnahme an Sauenmilchersatz- futter		Aufnahme an Möh- ren (12% Trocken- substanz)	
					g/Tier/ Tag	kg je kg Gew.-Zu- nahme	g/Tier/ Tag	kg je kg Gew.-Zu- nahme
I	-	4,1	0,203	13,2	432	2,13	-	-
II	unbehandelt	3,9	0,180	10,2	231	1,28	744	4,13
III	aldrinbehandelt	3,8	0,191	10,4	231	1,21	744	3,88
IV	aldrin-prevenol- behandelt	3,9	0,188	10,5	231	1,23	744	3,96

Vitamin-A-Untersuchungen:

Tabelle 3. Carotingehalte in den verfütterten Möhren

Möhren	mg Carotin je kg Frischsubstanz (berechnet als β -Carotin)
unbehandelt	167 \pm 5%
aldrinbehandelt	156 \pm 5%
aldrin-prevenol-behandelt	145 \pm 5%

Tabelle 4. Durchschnittlicher Vitamin-A-Gehalt im Blutplasma bei Versuchsende¹⁾

Gruppe	Möhren	I. E. Vitamin A/100 ml Plasma
I	-	105 (s = \pm 8,1)
II	unbehandelt	107 (s = \pm 32,9)
III	aldrinbehandelt	107 (s = \pm 27,0)
IV	aldrin-prevenol-behandelt	107 (s = \pm 15,7)

¹⁾ vgl. Fußnote 1, S. 114

Tabelle 5. Durchschnittlicher Vitamin-A-Gehalt in der Leber bei Versuchsende¹⁾

Gruppe	I. E. Vitamin A in der Gesamtleber	I. E. Vitamin A je 1 g Leber
I	116000 (s = \pm 54200 = \pm 46,7%)	311 (s = \pm 38,8 = \pm 12,4%)
II	98000 (s = \pm 13900 = \pm 14,2%)	371 (s = \pm 48,5 = \pm 13,1%)
III	108000 (s = \pm 9900 = \pm 9,2%)	303 (s = \pm 36,8 = \pm 12,1%)
IV	117000 (s = \pm 20200 = \pm 17,5%)	359 (s = \pm 68,9 = \pm 19,2%)

¹⁾ Der Vitamin-A-Gehalt in der Leber lag vorwiegend (~ 95%) als langkettiger Vitamin-A-Ester vor. Nach seinem papierchromatographischen Verhalten handelt es sich um den Ester des Vitamins A mit einer C₁₆-C₁₈-Säure.

Aldrin-Dieldrin-Rückstände:

Mit Hilfe der chemischen Bestimmungsmethode (vgl. S. 3) wurden die Möhren sowie Leber, Niere, Muskel und Körperfett aller Versuchstiere, die aldrinvorbehandelte Möhren erhalten hatten (6 Ferkel jeder Gruppe), untersucht.

Die untere Nachweisgrenze lag in Abhängigkeit von den zur Verfügung stehenden Materialmengen unterschiedlich für Aldrin bei 0,07 bis 0,25 ppm, für Dieldrin bei 0,13 bis 0,50 ppm in der Frischsubstanz.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen ergaben weder bei den Möhren noch bei den untersuchten Organen einen positiven Nachweis von Aldrin oder Dieldrin.

Im zweiten *Hauptversuch* sollte geprüft werden, ob der Zusatz von abgestuften, extrem hohen Mengen Aldrin zum Futter bei gleichzeitiger Fütterung von unbehandelten Möhren einen Einfluß auf die Versuchskriterien (vgl. erster Hauptversuch) ausübt.

Der Versuch wurde mit 4 Gruppen à 6 Ferkeln durchgeführt. Die Versuchsdauer betrug 8 Wochen. Die Fütterung erfolgte entsprechend dem im Vorversuch ermittelten Fütterungsplan. Dem verwendeten Sauenmilchersatzfutter wurden die in Tab. 6 angegebenen Aldrinmengen zugemischt.

Tabelle 6. Aldrinzusätze zum Sauenmilchersatzfutter

Gruppe	I	II	III	IV
Aldrinzusatz in mg/kg	—	25	50	100

Das Futter wurde von allen Tieren gut aufgenommen.

Versuchsablauf

Tabelle 7. Ergebnisse des zweiten Hauptversuches

Gruppe	Durchschnitl. Anfangsgewicht kg	Gew.-Zunahme g/Tier/Tag	Durchschn. Körpergewicht nach 8 Wochen kg	Durchschn. Aufnahme an Sauenmilchersatzfutter g/Tier/Tag	kg je kg Gew.-Zunahme	Durchschn. Aldrin- aufnahme während 8 Wochen mg je Tier	Aufnahme an Möhren unbehandelt*) (10% Trockensubstanz) g/Tier/Tag	kg je kg Gew.-Zunahme	Durchschn. Aldrinkonz. je kg aufgenomm. Futtertrockensubstanz (Sauenmilchersatzfutter + Möhren)
I	3,3	267 ± 89,6 g	18,3	380	1,42	—	844	3,16	—
II	3,1	266 ± 47,1 g	18,0	378	1,42	529	844	3,17	20
III	3,4	252 ± 44,7 g	17,5	381	1,51	1065	844	3,35	40
IV	3,0	228 ± 58,7 g	15,8	368	1,61	2063	844	3,70	80

± = Standardabweichung (s)

*) Der Carotingehalt in den verfütterten Möhren betrug 144,5 mg/kg Frischsubstanz Mittel aus 4 Untersuchungen während des Versuchs).

Bei drei Tieren der Gruppe IV (höchster Aldringehalt im Futter) traten in der ersten bzw. zweiten Woche nach Fütterungsbeginn Unruhe, Bewegungsstörungen (Rückwärtstreten!), Muskelzittern an Rumpf und Extremitäten und schließlich klonische Krämpfe auf. Es bestand starke Dyspnoe. Pupillenstarre und starke Sehstörungen wurden zeitweise beobachtet. Die Temperatur war nicht erhöht, die Futteraufnahme stark vermindert. Eine Therapie wurde nicht eingeleitet.

Trotz fortgesetzter Verabreichung des aldrinhaltigen Futters verschwanden die Symptome nach 2–4 Tagen von selbst. Das Auftreten der Krankheitsscheinungen bei 3 von insgesamt 6 Tieren der Gruppe IV kann mit einiger Sicherheit auf die den Ferkeln zugeführten Aldrinmengen zurückgeführt werden. Auffallend war der vorübergehende Charakter der beobachteten Störungen. Ihr Abklingen kann vielleicht als Adaptation des Organismus an eine fortgesetzte Aldrinzufluhr gewertet werden. Das Befinden aller anderen Versuchstiere, insbesondere das der Gruppen I, II und III, war ungestört.

Vitamin-A-Untersuchungen:

Tabelle 8. Durchschnittlicher Vitamin-A-Gehalt im Blutplasma bei Versuchsende¹⁾

Gruppe	Aldrinaufnahme während 56 Tagen mg/Tier	I. E. Vitamin A/100 ml Plasma
I	–	68,2 (s = \pm 38,6 I. E.)
II	529	49,6 (s = \pm 28,5 I. E.)
III	1065	51,5 (s = \pm 18,1 I. E.)
IV	2063	49,8 (s = \pm 12,8 I. E.)

¹⁾ vgl. Fußnote 1, S. 114

Die Vitamin-A-Werte im Plasma waren bei den mit Aldrin gefütterten Tieren in der Tendenz erniedrigt. Der Unterschied zur Kontrollgruppe ließ sich indessen statistisch nicht sichern.

Insgesamt gesehen sind die Vitamin-A-Plasmawerte in diesem Versuch mit durchschnittlich 50–60 I.E. je 100 ml Plasma wesentlich kleiner als im Vorversuch (122 I. E.) und im ersten Hauptversuch (105 I. E.). Wir führen diese Abweichungen auf das insgesamt höhere Lebensalter der Tiere bei Versuchsende mit 8 Wochen (gegenüber 5 Wochen im Vor- und ersten Hauptversuch) zurück. Eine abnehmende Tendenz der Vitamin-A-Werte im Blutplasma mit fortschreitendem Alter von Saugferkeln wurde des öfteren von uns festgestellt.

Auch die direkte Aldrinfütterung (2. Hauptversuch) hat demnach die Vitamin-A-Werte im Blutplasma nicht signifikant beeinflußt.

Obgleich auch bei den Leber-Vitamin-A-Gehalten im 2. Hauptversuch eine statistische Sicherung der gefundenen Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen wegen der hohen Streuung nicht möglich war, läßt sich aus den Werten die Tendenz zu abnehmendem Vitamin-A-Gehalt in der Gesamtleber bei steigender Aldrinaufnahme ablesen.

Die im Vergleich zum 1. Hauptversuch höheren Leber-Vitamin-A-Werte bei den Tieren der Tab. 9 erklären sich aus dem höheren Lebensalter und entsprechend höherem Gewicht der Saugferkel bei Versuchsende. Der Vitamin-A-Ge-

halt der Leber pflegt – reichliche Vitamin-A-Zufütterung vorausgesetzt – mit dem Lebendgewicht anzusteigen. Im Gegensatz dazu zeigen die Vitamin-A-Plasma-
werte zumindest in den ersten Lebenswochen mit steigendem Lebendgewicht
eine abfallende Tendenz.

Tabelle 9. Durchschnittlicher Vitamin-A-Gehalt in der Leber bei Versuchsende¹⁾

Gruppe	Aldrinauf- nahme während 56 Tagen mg/Tier	I. E. Vitamin A in der Gesamtleber	I. E. Vitamin A je 1 g Leber
I	–	232500 (s = \pm 83900 = \pm 36,1%)	530 (s = \pm 95 = \pm 17,9%)
II	529	218100 (s = \pm 27900 = \pm 12,8%)	539 (s = \pm 46 = \pm 8,5%)
III	1055	213750 (s = \pm 50120 = \pm 23,5%)	478 (s = \pm 75 = \pm 15,8%)
IV	2063	192200 (s = \pm 45190 = \pm 23,5%)	449 (s = \pm 49 = \pm 10,9%)

1) vgl. Fußnote Tabelle 5

Tabelle 10. Ergebnisse der Rückstandsbestimmungen von Aldrin und Dieldrin in Organen von Ferkeln nach Verfütterung von Aldrin im Milchersatzfutter
(Angaben in mg/kg Frischsubstanz)

		I	II	III	IV
Analysierter Aldrin- gehalt im Milcher- satzfutter (bestimmt in lufttrockener Sub- stanz)	–	24,1		48,4	95,7
Muskel	Aldrin	–	< 0,1	< 0,1	< 0,1
	Dieldrin	–	1,7 (1,4–2,2)	3,6 (2,5–5,3)	7,3 (4,2–10,6)
Niere	Aldrin	–	< 0,1	< 0,1	< 0,1
	Dieldrin	–	2,9 (2,0–3,8)	6,1 (4,2–7,7)	11,0 (7,4–17,2)
Leber	Aldrin	–	< 0,1	< 0,1	< 0,1– 0,8
	Dieldrin	–	2,0 (0,9–3,1)	4,4 (3,0–6,0)	9,5 (6,4–16,0)
Unter- hautfett	Aldrin	–	0,9 (0,7–1,0)	1,6 (1,2–2,0)	2,4 (1,3– 3,0)
	Dieldrin	–	7,4 (6,1–8,9)	19,1 (12,5–25,4)	34,5 (14,8–60,8)

Die in Tab. 10 angegebenen, analytisch ermittelten Aldrin- und Dieldrin-
Konzentrationen in Organen der mit Aldrin im Milchersatzfutter gefütterten
Ferkel zeigen eine deutliche Abhängigkeit von der verabreichten Dosierung.
Insbesondere im Unterhautfettgewebe konnte eine fast lineare Zunahme an
Aldrin, besonders aber an Dieldrin mit steigender Aldrinaufnahme festgestellt
werden. Etwa 5% der während des gesamten Versuchszeitraumes aufgenom-
menen Aldrinmengen konnten nach Tötung der Tiere im Körper (Muskel, Un-
terhautfett, Leber, Niere) wiederaufgefunden werden.

Neben den beschriebenen Rückstandsuntersuchungen wurden Leber, Gehirn und Niere aller mit Aldrin gefütterten Tiere nach der Tötung einer histologischen Untersuchung unterzogen¹⁾. In keinem Falle konnten pathologische Veränderungen diagnostiziert werden, die sich mit der Aldrinbeifütterung hätten in Zusammenhang bringen lassen.

Rattenversuche zur Prüfung evtl. Resorptionsbehinderung des Vitamins A durch Aldrin bzw. Dieldrin

Zur Überprüfung der Frage, ob durch orale Gaben von Aldrin bzw. Dieldrin eine Resorptionsbehinderung von gleichzeitig verabfolgtem Vitamin A erfolgt, wurde mit Hilfe des Vitamin-A-Leberspeicherungstestes der Resorptionsindex für Vitamin A ermittelt (BRÜGGMANN, TIEWS 1956).

Die je Tier vorgesehene Vitamin-A-Dosis (= 4000 I. E. Vitamin-A-Acetat in Isopropanol gelöst) und die vorgesehenen Aldrin- (3 mg) bzw. Dieldrinmengen (1,5 mg) wurden dreifach unterteilt und an drei aufeinanderfolgenden Versuchstagen mit der Schlundsonde eingegeben. 8 männliche Albinoratten mit einem durchschnittlichen Körpergewicht von 170 g standen in jeder Gruppe zur Verfügung.

96 Stunden nach Versuchsbeginn wurden die Versuchtiere getötet, die Lebern exenteriert und der Vitamin-A-Gehalt für jede Leber gesondert bestimmt.

Tabelle 11. Vitamin-A-Resorptionsindizes bei gemeinsamer Verabreichung von Vitamin A und Aldrin bzw. Dieldrin an Ratten

Gruppe	I	II	III
Vitamin-A-Gabe je Tier	3 × 1420 I. E. in 0,2 ml Isopropanol	3 × 1420 I.E. in 0,2 ml Isopropanol	3 × 1420 I.E. in 0,2 ml Isopropanol
Aldrin-Gabe je Tier	—	3 × 1 mg in 0,1 ml Isopropanol	—
Dieldrin-Gabe je Tier	—	—	3 × 0,5 mg in 0,1 ml Isopropanol
Resorptionsindex ¹⁾	61,22 (s = ± 3,51%)	57,24 (s = ± 3,34%)	58,96 (s = ± 2,82%)

¹⁾ Vitamin-A-Gehalt der Lebern in % der eingegebenen Dosis.

Die Resorptionsindices zeigten keine Beeinflussung durch die Beifütterung der relativ hohen Mengen an Aldrin bzw. an Dieldrin. Die Resorption von Vitamin A aus dem Verdauungstrakt wurde also durch die verabreichten chlorierten Kohlenwasserstoffe nicht beeinträchtigt. Die beobachteten Differenzen der Resorptionsindices zwischen den Gruppen sind zufällig und im statistischen Sinne nicht signifikant.

¹⁾ Herrn Professor Dr. H. SEDLMEIER, Vorstand des Institutes für Tierpathologie der Universität München, danken wir für die Durchführung der Untersuchungen.

Untersuchungen über die Speicherungsfähigkeit der Leber für Vitamin A bei Aldrinfütterung

KÜBLER (1960a) äußerte die Ansicht, daß durch im Futter verabfolgte Aldrinmengen die Wiederausschüttung des Vitamins A aus der Leber möglicherweise gestört wird. Die von ihm bei Säuglingen festgestellten verringerten Vitamin-A-Werte im Blutplasma könnten hierdurch eine Erklärung finden.

Zur Überprüfung dieser These wurden 30 Ratten mit einem durchschnittlichen Anfangsgewicht von 180 g in 3 Gruppen mit gleichem Durchschnittsgewicht eingeteilt. Bis zu diesem Zeitpunkt wurde allen Tieren ein Futter mit 10000 I. E. Vitamin A je kg zur freien Aufnahme verabreicht. Eine Gruppe wurde getötet und der Vitamin-A-Gehalt in der Leber untersucht, einer weiteren Gruppe wurde ein Vitamin-A-freies Futter ohne und der dritten Gruppe ein Vitamin-A-freies Futter mit 25 mg Aldrin je kg Futter für 2 Wochen gefüttert.

Tabelle 12. Vitamin-A-Gehalte in Rattenlebern nach Verabreichung eines Vitamin-A-freien Futters für 14 Tage
(Jede Zahl = Mittel aus 10 Tieren)

	I. E. Vitamin A in der Gesamtleber	Lebergewicht g
Kontrolle (bei Versuchsbeginn getötet)	4658 ($s = \pm 990 = 21\%$)	9,77 \pm 1,3
Vitamin-A-freies Futter	3470 ($s = \pm 1205 = 35\%$)	13,3 \pm 3,2
Vitamin-A-freies Futter +25 mg Aldrin/kg	3595 ($s = \pm 1310 = 36\%$)	15,6 \pm 2,2

Die Ratten, die Vitamin-A-freies Futter +25 mg Aldrin/kg erhalten hatten, haben in der 14tägigen Versuchszeit durchschnittlich 10,5 mg Aldrin/Tier aufgenommen.

Bei der Gruppe mit Aldrinzufütterung ist der Vitamin-A-Gehalt in der Leber etwa gleich stark durch die Vitamin-A-freie Fütterung vermindert worden, wie bei der Gruppe ohne Aldrinzulage. Eine geringere Vitamin-A-Ausschüttung aus der Leber durch Aldrinzufütterung hat somit nicht vorgelegen.

Diskussion

Die beschriebenen 3 Ferkelversuche wurden so geplant, daß in Anlehnung an die Ernährung menschlicher Säuglinge neben einer Grundnahrung, die eine ausreichende Nährstoffversorgung gewährleistete, eine hohe Menge an Möhren aufgenommen wurde. Es wurde dabei bewußt die tägliche Gabe an Sauenmilchersatzfutter gering gehalten, um die Aufnahme an Möhren möglichst zu steigern. Die Gewichtszunahmen der Ferkel lagen dabei unter vergleichbaren Werten der normalen Ferkelaufzucht. Ein evtl. vorhandener Einfluß des in den Möhren enthaltenen oder gleichzeitig verfütterten Aldrins oder Dieldrins auf die Versuchskriterien hätte jedoch unter diesen Versuchsbedingungen klar zum Ausdruck kommen müssen.

Die im *ersten Hauptversuch* verwendeten Möhren, die in der Vegetationsperiode z. T. mit Aldrin (Aldrin-Prevenol) behandelt worden waren oder aber unbehandelt blieben, enthielten zum Zeitpunkt ihrer Versütterung (Januar 1961) keine nachweisbaren Mengen Aldrin (< 0,1 mg/kg Frischsubstanz) und Dieldrin (< 0,2 mg/kg Frischsubstanz).

Der mit diesem Möhrenmaterial durchgeföhrte Ferkel-Fütterungsversuch von 5 Wochen Dauer ließ bei gleich großem Möhrenverzehr in den verschiedenen Versuchsgruppen keinen signifikanten Einfluß der behandelten Möhren auf Gewichtszunahmen, Verwertungszahlen und die Vitamin-A-Gehalte im Blutplasma und Lebern erkennen. In den nach der Schlachtung untersuchten Organen der Ferkel (Leber, Niere, Muskel, Unterhautfett) waren keine Rückstände von Aldrin oder Dieldrin nachweisbar. (Erfassbarkeitsgrenze für die Organe unterschiedlich bei Aldrin 0,07–0,25 mg/kg, bei Dieldrin 0,13–0,50 mg/kg Frischsubstanz.)

Diese Befunde erklären sich aus der nur geringen (wenn überhaupt vorhandenen) Aufnahme an Aldrin und Dieldrin mit den behandelten Möhren.

Beim *zweiten Hauptversuch*, in dem neben Milchaustauschfutter und unbehandelten Möhren Aldrin in abgestuften Konzentrationen zur Verfütterung kam, waren die festgestellten Unterschiede zwischen den Gewichtszunahmen bzw. Verwertungszahlen statistisch nicht signifikant. Es zeigte sich jedoch die Tendenz einer Verschlechterung dieser Werte mit zunehmender Aldrinaufnahme. Während die Vitamin-A-Gehalte im Blutplasma der Ferkel keine Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen erkennen ließen, waren die Vitamin-A-Gehalte in den Lebern mit steigender Aldrinaufnahme verringert, ohne daß allerdings eine statistische Sicherung der Unterschiede möglich war.

Wenn man einen Aldrin- und Dieldringehalt von aldrinbehandelten Möhren (entsprechend den USA-Toleranzwerten) zu maximal 0,25 ppm Aldrin und 0,1 ppm Dieldrin unterstellt (zusammen 0,35 ppm), so lag die Dosierung von Aldrin über das Milchaustauschfutter, berechnet auf die aufgenommenen Möhren, im zweiten Hauptversuch bei

Gruppe 2: ca. 30 mal höher (10 mg/kg Möhren)

Gruppe 3: ca. 60 mal höher (20 mg/kg Möhren)

Gruppe 4: ca. 120 mal höher (40 mg/kg Möhren)

Die über die gesamte Versuchszeit berechnete durchschnittliche tägliche Aufnahme an Aldrin je kg Körpergewicht betrug bei Gruppe II ca. 0,95, bei Gruppe III ca. 1,9, bei Gruppe IV ca. 3,7 mg Aldrin. Bei der Aufnahme von 3,7 mg Aldrin je kg Körpergewicht kam es bei 3 von 6 Tieren vorübergehend zu schweren Gesundheitsstörungen (Bewegungsstörungen, Krämpfe, Pupillenstarre, Sehstörungen).

Die in den tierischen Organen analysierten Rückstände von Aldrin und Dieldrin waren in ihrer Höhe von der verabreichten Aldringabe abhängig.

Die aufgefundenen Rückstände nach den sehr hoch gewählten Fütterungsdosierungen von Aldrin betrugen fast 5% der insgesamt während des Versuchszitraumes aufgenommenen Aldrinmenge. Bei täglicher Verabfolgung von fachgerecht behandelten Möhren mit einem Gehalt von maximal 0,25 mg Aldrin und 0,1 mg Dieldrin je kg Frischmöhren (USA-Toleranzwerte) sind demnach die zu erwartenden Rückstände so gering, daß sie selbst im Unterhautfettge-

webe als bevorzugtem Speicherungsorgan mit den angewendeten Methoden nicht nachweisbar sind.

Fütterungsversuche an Ratten ergaben, daß durch Aldrinbeifütterung weder die Vitamin-A-Resorption aus dem Verdauungstrakt, noch die Wiederausschüttung von Vitamin A aus der Leber beeinflußt wird.

Nach Abschluß der durchgeführten Untersuchungen wurde uns ein Bericht des wissenschaftlichen Beratungsausschusses des Präsidenten der USA (1963) bekannt, in dem u. a. folgende Ausführungen über die Giftigkeit von Aldrin und Dieldrin enthalten sind:

„Es liegen viele Fälle akuter Vergiftung bei Menschen vor, die Dieldrin bei ihrer Arbeit ausgesetzt waren. Vergiftungsmerkmale schließen das Zentralnervensystem ein, sie können weiter elektro-enzephalographische Veränderungen, Muskelzittern und Krämpfe umfassen. Einzelpersonen erlitten Rückfälle von diesen Symptomen, nachdem sie mehr als einen Monat nach der letzten Exposition frei davon waren.

Unsere Kenntnisse über die Giftigkeit schwächerer Dosen stammen hauptsächlich von Versuchen der „Food and Drug-Administration“, bei denen Mäusen Futter verschiedener Konzentrationen von Dieldrin und Aldrin gegeben wurde. Dauerfütterung mit nur 0,5 ppm erzeugte Schäden im Lebergewebe, Steigerung auf 10 ppm ergab eine vierfache Erhöhung der Häufigkeit von Lebertumoren. Über die Wirkung auf die Embryonalentwicklung liegen effektiv keine Angaben vor. In einem der wenigen der Fachgruppe bekanntgewordenen Versuche ergab Verfüttern von Dieldrin (0,6 mg je kg Körpergewicht) an tragende Hunde ein 100%iges Absterben der untersuchten 14 säugenden Welpen. Die Weibchen wurden während der Tragzeit, jedoch nicht während der Stillperiode mit dem Pestizid gefüttert. In einer anderen Studie zeigten mit 2,5 ppm Dieldrin im Futter ernährte Ratten einen bedeutenden Rückgang der Schwangerschaftsfälle und eine erhöhte Sterblichkeit der säugenden Junges.“

Diese Ausführungen stellen also Gesundheitsstörungen beim Menschen durch Dieldrinvergiftungen heraus, die denjenigen ähneln, wie sie in den eigenen Versuchen bei 3 Ferkeln mit sehr hohen Aldringaben (durchschnittlich 80 mg je kg Futtertrockensubstanz) beobachtet wurden. Schädigungen des Lebergewebes bei Schweinen wurden dagegen nicht beobachtet. Auch die Leber von Ratten aus dem Leberspeicherungstest und aus dem Versuch über die Speicherungsfähigkeit der Leber für Vitamin A unter Beifütterung von Aldrin (25 mg je kg Futter) ließen keine Veränderungen erkennen.

Über die Einwirkung von Aldrin oder Dieldrin auf die Fruchtbarkeit und Embryonalentwicklung geben die eigenen Untersuchungen naturgemäß keinen Aufschluß.

Die Verfütterung von Aldrin an Saugferkel war bis auf das vorübergehende Auftreten der beschriebenen Gesundheitsstörungen bei 3 Tieren aus der Gruppe mit ca. 80 mg Aldrin/kg Futtertrockensubstanz = ca. 3,7 mg Aldrin je kg Körpergewicht täglich, ohne Einfluß auf die Entwicklung der Tiere.

Schlußbemerkung

Unter der Annahme, daß die Ergebnisse der hier durchgeführten Ferkel- und Rattenversuche auch auf die Säuglingsernährung übertragbar sind, wären bei einer Verabreichung von Möhren mit einem im Toleranzbereich liegenden Aldrin- und Dieldringehalt auf Grund der klinischen, der histologisch-pathologischen Untersuchung, sowie der Vitamin-A-Analysen und der Rückstands-

bestimmungen von Aldrin und Dieldrin in den Organen gesundheitsschädigende Wirkungen nicht zu erwarten.

Zusammenfassung

In Fütterungsversuchen an Ferkeln wurde der Einfluß des Insektizids Aldrin auf Allgemeinbefinden, Gewichtszunahme, Futterverwertung, Vitamin-A-Gehalt im Blutplasma und Leber, sowie die Rückstandsbildung an Aldrin und Dieldrin in verschiedenen Organen geprüft. Gestaffelte Aldrinzusätze (25—100 ppm) zu einem Milchersatzfutter führten bei 3 Tieren der höchsten Dosierungsstufe (= 3,7 mg Aldrin/kg Körpergewicht täglich) in der 1.—2. Versuchswoche vorübergehend zu nervösen Ausfallserscheinungen: Motorische Unruhe, Muskelzittern, klonische Krämpfe, Dyspnoe, Pupillenstarre, Sehstörungen. Unterschiede im Vitamin-A-Plasmawert zwischen Kontroll- und Versuchsgruppen wurden nicht festgestellt. Aldrin- und Dieldrinrückstände im Gewebe, besonders im Unterhautfettgewebe stiegen mit der Aldrinxonzentration im Futter an. 3 mg Aldrin bzw. 1,5 mg Dieldrin per os beeinflußte die Vitamine -A-Speicherung in der Leber von Ratten nach hohe Vitamin-A-Dosierung nicht.

Literatur

1. A.O.A.C., Official Methods of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemists, Washington D. C., S. 654 (1960). — 2. Bericht des Wissenschaftlichen Beratungsausschusses des Präsidenten der Vereinigten Staaten von Amerika, „Der Gebrauch von Pestiziden“, Herausgeber: Interparlamentarische Arbeitsgemeinschaft (Bonn 1963). —
3. BRÜGGERMANN, J. und J. TIEWS, Zt. Tierernähr. Futtermittell. **11**, 21—32 (1956). —
4. GOODWIN, E. S., R. GOULDEN und J. J. REYNOLDS (Persönliche Mitteilung, 1961). —
5. GRAHAM, R.C.B. und U. G. ALLMARK, Canad. J. Publ. Health **49**, 430—434 (1958). —
6. KÜBLER, W., Qualitas plantarum et Materiae Vegetabilis **7**, 229 (1960). — 7. KÜBLER, W., (Persönliche Mitteilung, 1960a). — 8. O'DONNEL, A. E., M. M. NEAL, F. T. WEISS, J. M. BANN, T. J. DELINO und S. C. CAU, Agric. Food Chem. **2**, 573 (1954) und **3**, 757 (1955). — 9. SCHUPHAN, W., Zt. Pflanzenkrankh. Pflanzenschutz **67**, 340 (1960). — 10. TIEWS, J. Vitamine u. Hormone **8**, 185 (1959).

Anschrift der Verfasser:
München 22, Veterinärstraße 13

Aus dem Max-Planck-Institut für Ernährungsphysiologie, Dortmund

Papierchromatographische Thiamin-Bestimmung in Nahrungsmitteln

Von LIESEL WILDEMANN

Mit 4 Abbildungen und 3 Tabellen

(Eingegangen am 22. Juni 1964)

In der Veröffentlichung über quantitative Bestimmung des Vitamins B₁ in Nahrungsmitteln mit Hilfe der Papierchromatographie aus dem Jahre 1960 (1) wurde zum Schluß erwähnt, daß es nicht möglich sei, Thiamin in stark zuckerhaltigen Lebensmitteln papierchromatographisch zu bestimmen. In der Zwischenzeit ist es gelungen, eine Aufbereitungsform zu finden, die es erlaubt, alle