

Aus dem Institut für Tierernährung
der Universität Hohenheim
Fachgebiet: Tierernährung
Prof. Dr. med. vet. & agr. Dr. h.c. W. Drochner

**Zum Einfluß von mikrobieller Phytase und Calcium auf die Blei-,
Cadmium- und Zinkretention beim wachsenden Schwein**

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors
der Agrarwissenschaften

vorgelegt
der Fakultät IV - Agrarwissenschaften II
(Agrarökonomie, Agrartechnik und Tierproduktion)

von
Bernhard Zacharias
Dipl.-Agr. Biol.
aus Augsburg
1997

Die vorliegende Arbeit wurde am 19.11.1997 von der der Fakultät IV - Agrarwissenschaften II - der Universität Hohenheim als „Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Agrarwissenschaften“ angenommen.

Tag der mündlichen Prüfung: 18.12.1997

Dekan: Prof. Dr. T. Jungbluth

Berichterstatter, 1. Prüfer: Prof. Dr. Dr. Dr. h.c. W. Drochner

Mitberichterstatter, 2. Prüfer: Prof. Dr. H. Schenkel

3. Prüfer: Prof. Dr. H. G. Classen

INHALTSVERZEICHNIS

1 EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG	1
2 LITERATURÜBERSICHT	2
2.1 Blei, Cadmium und Zink in der Umwelt	2
2.2 Phytat und Phytase	4
2.3 Einfluß von Phytat und Phytase auf die Schwermetallretention	8
2.3.1 Blei	8
2.3.2 Cadmium	9
2.3.3 Zink	12
2.4 Einfluß der Calciumversorgung auf die Schwermetallretention	15
2.4.1 Blei	15
2.4.2 Cadmium	17
2.4.3 Zink	19
3 EIGENE UNTERSUCHUNGEN	23
3.1 Material und Methoden	23
3.1.1 Versuchstiere und Versuchsaufbau	23
3.1.2 Herstellung und Zusammensetzung der Rationen	24
3.1.3 Gewinnung und Aufbereitung der Proben für die Mineralstoff- und Spurenanalytik	26
3.1.3.1 Organe	26
3.1.3.2 Futtermittel und Futtermischungen	27
3.2 Bestimmung der Mineralstoffe und Spurenelemente	28
3.2.1 Verwendete Reagenzien und Reinigung der Laborgeräte	28
3.2.2 Messung am Atomabsorptionsspektralphotometer mit Graphitrohrküvette	29
3.2.3 Messung am Atomabsorptionsspektralphotometer in der Luft-Acetylen Flamme	30
3.2.4 Messung am Photometer	31
3.2.5 Überprüfung der Richtigkeit der Analysenverfahren	31
3.2.6 Nachweis- und Bestimmungsgrenzen	32
3.3 Roh Nährstoff-, Energie- und Aminosäurenbestimmung im Futter	32
3.4 Bestimmung der Phytaseaktivität und des Phytatgehaltes	33
3.5 Statistische Auswertung	34
3.6 Ergebnisse	34
3.6.1 Versuchsverlauf	34
3.6.2 Chemische Analyse der Versuchsrationen	34
3.6.3 Expositionszeit und Gewichtsentwicklung	35
3.6.4 Elementgehalte der untersuchten Organe	36
3.6.4.1 Niere	37
3.6.4.1.1 Blei	37
3.6.4.1.2 Cadmium	40
3.6.4.1.3 Zink	43
3.6.4.1.4 Gemeinsame Auswertung der Schwermetallherkünfte	45
3.6.4.2 Leber	47
3.6.4.2.1 Blei	47
3.6.4.2.2 Cadmium	49
3.6.4.2.3 Zink	52
3.6.4.2.4 Gemeinsame Auswertung der Schwermetallherkünfte	54

3.6.4.3 Knochen (Phalanx 1)	56
3.6.4.3.1 Blei	56
3.6.4.3.2 Cadmium	58
3.6.4.3.3 Zink	61
3.6.4.3.4 Calcium	63
3.6.4.3.5 Phosphor	66
3.6.4.3.6 Gemeinsame Auswertung der Schwermetallherkünfte	68
3.6.4.4 Muskel (Unterarm)	70
3.6.4.4.1 Blei	70
3.6.4.4.2 Cadmium	73
3.6.4.4.3 Zink	75
3.6.4.4.4 Gemeinsame Auswertung der Schwermetallherkünfte	78
3.7 Diskussion	79
3.7.1 Einfluß der Schwermetallbelastung und der Phytase auf die Gewichtsentwicklung	79
3.7.2 Einfluß der Bindungsform von Blei, Cadmium und Zink auf die Gehalte dieser Elemente in den untersuchten Organen	80
3.7.3 Einfluß der Phytase und des Calciums auf die Blei-, Cadmium-, und Zinkretention in den untersuchten Organen	84
3.7.4 Einfluß der Phytase auf die Phosphorverdaulichkeit und -retention	90
3.7.5 Einfluß der Phytase auf die Calciumverdaulichkeit und -retention	91
3.7.6 Einfluß der Phytase auf die Carry-over Rate von Blei, Cadmium und Zink	93
3.8 Schlußfolgerungen	95
4 ZUSAMMENFASSUNG	97
5 SUMMARY	98
6 LITERATURVERZEICHNIS	100
7 TABELLENANHANG	116

Verwendete Abkürzungen:

μ	mikro	s	Sekunde
1,25(OH) ₂ D	1,25 Dihydroxycholecalciferol	Se	Selen
25(OH)D	25-Hydroxycholecalciferol	Ser	Serin
Ala	Alanin	Thr	Threonin
Arg	Arginin	TS	Trockensubstanz
Asp	Asparagin	Tyr	Tyrosin
BHT	Butylhydroxytoluol	U	Einheiten
Ca	Calcium	Val	Valin
CaBP	Calcium-bindendes-Protein	XA	Rohasche
CaCl ₂	Calciumchlorid	XF	Rohfaser
CaCO ₃	Calciumcarbonat	XL	Rohfett
Cd	Cadmium	XP	Rohprotein
CdCl ₂	Cadmiumchlorid	XS	Rohstärke
CdCl ₂ • H ₂ O	Cadmiumchloridmonohydrat	XZ	Rohzucker
Cu	Kupfer	Zn	Zink
Cys	Cystein	ZnCl ₂	Zinkchlorid
Da	Dalton	ZnSO ₄	Zinksulfat
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure	ZnSO ₄ • 7 H ₂ O	Zinksulfatheptahydrat
Fe	Eisen		
FS	Frischsubstanz		
g	Gramm		
GE	Gross Energy		
Glu	Glutamin		
Gly	Glycin		
h	Stunde		
HCl	Salzsäure		
His	Histidin		
HNO ₃	Salpetersäure		
Ile	Isoleucin		
J	Jod		
K	Kalium		
kg	Kilogramm		
KJ	Kaliumjodid		
l	Liter		
Leu	Leucin		
Lys	Lysin		
M	Mol		
m	milli		
m ³	Kubikmeter		
ME	umsetzbare Energie		
Met	Methionin		
Mg	Magnesium		
Mn	Mangan		
n	nano		
Na	Natrium		
Na ₂ SeO ₃ • 5 H ₂ O	Natriumselenitpentahydrat		
NaCl	Natriumchlorid		
NaOH	Natronlauge		
NfE	N-freie-Extraktstoffe		
OR	organischer Rest		
OS	organische Substanz		
P	Phosphor		
Pb	Blei		
Pb(CH ₃ COO) ₂	Bleiacetat		
Pb(CH ₃ COO) ₂ • 3 H ₂ O	Bleiacetattrihydrat		
Phe	Phenylalanin		

1 Einleitung und Problemstellung

Mikrobielle Phytase, ein Fütterungsenzym das Phosphor, aber auch andere Mengen- und Spurenelemente (Ca, Mg, Zn, Fe), die in den generativen Teilen pflanzlicher Futtermittel zum größten Teil an die Phytinsäure gebunden sind, aus dieser Komplexverbindung freisetzen und somit für eine Absorption im Darmlumen verfügbar machen kann (Lantzsch 1990), wird zunehmend in Rationen für Geflügel und Schweine eingesetzt. Dadurch kann auf eine Supplementierung der Diäten, vor allem mit Phosphor, weitgehend verzichtet werden (Pointillart, 1994), wodurch eine verringerte Ausscheidung bzw. ein herabgesetzter Eintrag von Phosphor in den ökologischen Kreislauf erreicht wird. Das Enzym, das auch nativ in Pflanzen vorkommt, hier jedoch nur eine geringe Aktivität besitzt, wird gentechnisch hergestellt. In der vorliegenden Arbeit wird untersucht, welche Auswirkung die Supplementierung von Rationen für Monogastrier mit mikrobieller Phytase auf die Absorption und Retention der Schwermetalle Blei, Cadmium und Zink hat. Daß diese Elemente ebenfalls an Phytinsäure gebunden sein können, ist bereits seit längerer Zeit bekannt (Wise und Gilbert, 1981; Nolan et al., 1987). Insbesondere in Hinblick auf ein mögliches Risiko für die Gesundheit des Menschen, kommt der Untersuchung des Stoffwechselerhaltens von Schwermetallen und der Ermittlung der Faktoren, die Absorption und Retention dieser Elemente beeinflussen können, wesentliche Bedeutung zu, zumal die Belastung der Umwelt durch die Emission von Schwermetallen aus Industrieanlagen, Heizungen und Kraftfahrzeugen, sowie Abfällen, Fluß- und Klärschlämmen seit Beginn der Industrialisierung stark zugenommen hat (Galler 1992). Elemente wie Blei, Cadmium und Zink reichern sich dadurch vermehrt in der Nahrungskette an. In diesem Zusammenhang stellt sich weiterhin die Frage, welche Möglichkeiten die Landwirtschaft hat, den Schwermetalltransfer in der Nahrungskette zu beeinflussen bzw. zu reduzieren. Mikrobielle Phytase könnte ein Faktor sein, der wesentlichen Einfluß auf die Schwermetallkinetik im tierischen Organismus hat und somit für den Schwermetallumsatz im ökologischen Kreislauf bedeutsam wäre.

2 Literaturübersicht

2.1 Blei, Cadmium und Zink in der Umwelt

Schwermetalle wie Blei, Cadmium und Zink gelten als potentielle Umweltschadstoffe.

Während Cadmium erst 1817 von Stromeyer in Zinkoxid entdeckt wurde, ist Blei eines der ältesten Gebrauchsmetalle, das schon im Altertum zur Herstellung von Küchengeräten, Wasserrohren und anderen Gegenständen des täglichen Bedarfs verwendet wurde (Zumkley, 1983 a; Römpf et al., 1989).

Im Vordergrund steht heute die technische und industrielle Nutzung dieser Elemente. So werden in der Bundesrepublik Deutschland derzeit ca. 300000 t Blei und 2000 t Cadmium jährlich verarbeitet. Man kann davon ausgehen, daß aus diesen anthropogenen Emissionsquellen 340 mal soviel Blei und 19 mal soviel Cadmium in den biologischen Kreislauf gelangt, als aus natürlichen Quellen (Heintz und Reinhardt, 1990).

Blei kommt in der Natur in größeren Mengen in verschiedenen Bleierzen vor, von denen Bleiglanz für industrielle Produktionsprozesse am bedeutsamsten ist (Römpf et al., 1989).

Blei wird für die Herstellung von Akkumulatoren (Autobatterien) benötigt und in der Farbenindustrie (Mennige) verwendet. Ebenso ist es als Antiklopfmittel (Bleitetraethyl) in verbleitem Benzin für Ottomotoren enthalten (Heintz und Reinhardt, 1990). Bei der Produktion von Lettern, Lagermetallen, Kabelummantelungen und Auskleidungen von Rohren für aggressive Flüssigkeiten wird Blei ebenso benötigt wie zur Abschirmung radioaktiver Strahlung (Römpf et al., 1989). Auch Haarfärbemittel und Augenbrauenstifte sind oft bleihaltig (Zumkley, 1983 a).

Der Haupteintrag von Blei in den biologischen Kreislauf stammt nach wie vor aus Abgasen von Kraftfahrzeugen. Zwar nahm die Bleimenge im Benzin mit der Einführung bleifreier Kraftstoffe ab, doch noch immer fahren sehr viele Fahrzeuge vor allem in Osteuropa mit verbleitem Benzin (Radke, 1993).

Darüberhinaus wird Blei auch in größeren Mengen von der Eisen- und Stahlindustrie sowie bei der Kohleverfeuerung (Stein- und Braunkohlekraftwerke) und Müllverbrennung freigesetzt (Heintz und Reinhardt, 1990).

Die größte Bleimenge stammt somit aus der Luft (Radke, 1993).

Der Bleigehalt der Atmosphäre unterliegt hierbei größeren Schwankungen, die von der Verkehrsdichte, sowie von Industrialisierungsgrad und -art abhängen. In weit abgelegenen Gegenden der nördlichen Halbkugel liegt er zwischen 0,1 und 10 ng/m³, in

ländlichen Gegenden zwischen 0,1 und 1 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ und in Städten zwischen 0,5 und 10 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (Wiegand und Schlipkötter, 1983).

In den Boden gelangte Blei früher in erster Linie durch die Beaufschlagung landwirtschaftlicher Flächen mit schwermetallhaltigen Schlämmen. Die Böden der Bundesrepublik Deutschland sind heute mit durchschnittlich 30 mg Blei pro kg Boden belastet, wobei hier größere lokale Schwankungen auftreten können (Heintz und Reinhardt, 1990).

Cadmium kommt in der Natur in zinkhaltigen Erzen vor und ist dem Zink physikalisch und chemisch sehr ähnlich.

Cadmium und seine Salze werden in zahlreichen industriellen Produktionsprozessen verwendet. Das Element wird hauptsächlich bei der Galvanisierung eingesetzt. Daneben ist es Bestandteil von Lötmetall und von schmelzbaren Legierungen, unter anderem auch von Amalgam, das in der Zahnmedizin verwendet wird. Auch bei der Herstellung von Nickel-Cadmium Batterien und in der Gravur wird Cadmium genutzt. Cadmiumacetat wird in der Töpferei und Porzellanindustrie benötigt, Cadmiumbromide und -iodide finden in der Photographie und Litographie, Cadmiumoxide bei der Herstellung von Keramikgläsern und Silberlegierungen, Cadmiumselenide in Photoleitern, photoelektrischen Zellen und Gleichrichtern Verwendung. Cadmiumsulfide sind in gefärbten Gläsern, Seifen, Textilien, Papier, Radiergummis, Tinten, Keramikgläsern und Feuerwerksraketen zu finden (Berman, 1980).

Der Hauptanteil des emittierten Cadmiums stammt aus der Eisen-, Stahl- und Zementproduktion, sowie aus der Kohleverbrennung, wo es zu einer Anreicherung von Cadmium im Staub der Verbrennungsabgase kommt. Ebenso wird die Luft bei der Müllverbrennung mit größeren Cadmiummengen belastet. Früher gelangte Cadmium zudem bei der Beaufschlagung landwirtschaftlicher Flächen mit schwermetallhaltigen Schlämmen in den Boden (Heintz und Reinhardt, 1990).

Aber auch bei der Verbrennung von Öl, Benzin und Diesel gelangt Cadmium in die Umwelt (Radke, 1993).

Zink weist mit Cadmium viele Gemeinsamkeiten auf. Beide Elemente sind chemisch nah verwandt und kommen in der Natur, wie bereits erwähnt, oft in Zinkerzen vergesellschaftet vor. Die wichtigsten Mineralien sind die Sulfide Sphalerit und Wurtzit und ihre Verwitterungsprodukte Smithsonit (ZnCO_3) und Hemimorphit ($\text{Zn}_4\text{Si}_2\text{O}_7(\text{OH}_2) \cdot \text{H}_2\text{O}$) (Römpf et al., 1989).

Zink wird hauptsächlich zum Galvanisieren von Eisen- und Stahlprodukten verwendet. Der Anwendungsbereich erstreckt sich von verzinkten Mülltonnen über Stacheldraht

und Maschendrahtzäune, Stahlkabel, Leitplanken bis zu Funktürmen, Überlandleitungsmasten, Bauelementen und Brückenkonstruktionen. Im Zinkbad galvanisierte Endlosstahlbleche finden für Fassadenverkleidungen, Dachrinnen, Abflußrohre, Lüftungskanäle, im Autobau und für Werkzeuge Verwendung. Große Mengen Zink werden für Legierungen (Messing, Zinkdruckguß, Rotguß, Neusilber, Münzen) und Walzzink (Zinkblech) benötigt. Zinkstaub wird als Pigment und Reduktionsmittel eingesetzt (Henkin, 1984).

Die Zinkbelastung der Atmosphäre ist sowohl natürlichen als auch anthropogenen Ursprungs. Natürliche Quellen sind Pflanzen bzw. deren Exudate und Abwürfe, Waldbrände und Vulkanausbrüche, aber auch zinkhaltige Seesalzaerosole. Die Hauptquelle anthropogener Zinkemissionen stellt die Verhüttung von Zink aus Zinkerzen und die industrielle Nutzung von Zink, insbesondere bei der Eisen- und Stahlindustrie dar. Darüberhinaus gelangt Zink bei der Müllverbrennung, Kohleverfeuerung und Brandrodung in die Atmosphäre (Nriagu und Davidson, 1980).

Aber auch der Straßenverkehr trägt zur Zinkbelastung der Umwelt bei. So können am Straßenrand 2 bis 4-fach höhere Zinkkonzentrationen festgestellt werden, als in einer Entfernung von 10 bis 15 m (Münch, 1992).

2.2 Phytat und Phytase

In den reifen Samen von Getreide, Hülsen- und Ölfrüchten treten natürlicherweise P-haltige Verbindungen auf, die aus myo-Inosit und Orthophosphorsäure bestehen. Sind 6 mol Phosphorsäure mit dem Inositmolekül verestert, wird die Verbindung Phytinsäure (myo-Inositol 1, 2, 3, 4, 5, 6 hexakisdihydrogenphosphat) genannt.

Bei schwach saurem bis neutralem pH-Wert liegt die Phytinsäure größtenteils in dissoziierter Form vor und besitzt dadurch starke metallbindende Eigenschaften. So werden in den Pflanzenzellen und im Darmlumen überwiegend die als Phytate bezeichneten Salze der Phytinsäure angetroffen, an die die Mengenelemente Ca, Mg, K und Na, sowie die Spurenelemente Fe, Cu, Zn und Mn gebunden sein können.

Für Monogastrier stellen Phytate unerwünschte Inhaltsstoffe dar. Bei diesen Spezies ist die Verfügbarkeit von Phosphor für die Absorption aufgrund schlechter Lösungseigenschaften der Phytate im pH-Bereich des Verdauungstraktes und ungenügender enzymatischer Hydrolyse stark eingeschränkt. Dadurch sind auch die an den Phosphatgruppen gebundenen Mineralstoffe und essentiellen Spurenelemente nicht für die Absorption verfügbar. Die Folge ist eine geringere Absorption und ein verminderter Mineralstoffumsatz.

Zwischen den einzelnen Futtermitteln weisen sowohl die absoluten Phytat-P-Gehalte als auch die relativen Anteile erhebliche Unterschiede auf. So enthalten Sonnenblumen- und Rapsextraktionsschrote mit 7,6 und 7,9 g/kg TS ungefähr dreimal soviel Phytat-P wie Getreide oder Kokosexpeller. Die relativen Anteile variieren zwischen 41 % bei Kokosexpellern und 75 % bei Mais und Sonnenblumenextraktionsschrot. Im Durchschnitt liegt der Phytat-P-Anteil am Gesamt-P bei 65 % (Lantzsch, 1990).

Da Futtermischungen für Schweine zu wesentlichen Teilen aus Samen von Getreide, Hülsen- und Ölfrüchten, sowie deren Verarbeitungsprodukten bestehen, werden diese Mischungen mit P-Quellen mineralischer oder tierischer Herkunft ergänzt, obwohl der Gehalt an Gesamt-P in diesen Rationen für die Bedarfsdeckung der Tiere eigentlich ausreichend wäre (Düngelhoef und Rodehutschord, 1995).

Durch Zusätze des Enzyms Phytase zum Futter kann die hydrolytische Spaltung der Phytinsäure im Verdauungstrakt erheblich verbessert werden. Dadurch wird die Verfügbarkeit von Phosphor verbessert, so daß auf eine Phosphorsupplementierung der Diäten teilweise oder ganz verzichtet werden kann (Pointillart, 1994). Daneben werden auch die in der Phytatbindung vorliegenden Mineralstoffe und Spurenelemente freigesetzt, die im Anschluß absorbiert werden können. Dies könnte auch bei toxischen Elementen wie Blei und Cadmium möglich sein, worauf unter 2.3 näher eingegangen wird.

Phytasen gehören zu der Enzymgruppe der sauren Phosphatasen. Ihre chemische Bezeichnung lautet myo-Inositol-Hexakisphosphat-phosphohydrolasen. Sie katalysieren die Hydrolyse von Inositolhexaphosphorsäure unter Freisetzung von Orthophosphat, verschiedener phosphorylierter Zwischenstufen und freiem Inositol. Ihre Aktivität wird in Einheiten (U) angegeben, wobei 1 U der Menge an anorganischem Phosphor in mM entspricht, die unter definierten Bedingungen (37 °C; gepufferte Lösung pH 5,5; Substratsättigung) pro Minute und g freigesetzt wird (Scheuermann et al., 1988 b).

Phytasen werden auch als substratunspezifische Phosphormonoesterhydrolasen bezeichnet, da sie nicht nur die Phytinsäure und ihre Salze, sondern auch andere Phosphatverbindungen enzymatisch spalten können (Düngelhoef und Rodehutschord, 1995).

Sie kommen in Pflanzen, Mikroorganismen und im Gastrointestinaltrakt verschiedener Tierarten und auch des Menschen vor.

Zwischen den verschiedenen Futtermitteln bestehen z.T. große Unterschiede bei den Aktivitäten der pflanzlichen Phytasen (EC 3.1.3.26). So besitzt Roggen eine sehr hohe Phytaseaktivität (5130 U/kg), Triticale (1688 U/kg) und Weizen (1193 U/kg) eine hohe

und Gerste (582 U/kg) eine geringe Phytaseaktivität (Eeckhout und DePaepe, 1994). Im Mais kann keine Phytaseaktivität nachgewiesen werden (Lantzsich et al., 1988 a).

Hierbei besteht kein Zusammenhang zwischen dem Phytasegehalt und dem Gesamtphosphor- oder Phytatphosphorgehalt der Samen (Düngelhoef und Rodehutschord, 1995). Zudem haben Scheuermann et al. (1988 b) festgestellt, daß Maisphytat auch von Weizenphytase hydrolysiert werden kann.

Der optimale pH-Wert für pflanzliche Phytasen liegt zwischen 4 und 6 (Irvin, 1980), das Temperaturoptimum bei 47-55 °C (Mandal et al., 1972).

Im Gegensatz zur pflanzlichen Phytase besitzt die mikrobielle Phytase zwei pH-Optima. Sie liegen zwischen 2,2 und 2,5 und zwischen 4,0 und 6,0 (Irvin, 1980). Dies hat zur Folge, daß mikrobielle Phytase auch im Fundusbereich des Magens eine hydrolytische Aktivität zeigt und Phytatbindungen spalten kann (Jongbloed et al., 1992).

Das Temperaturoptimum der mikrobiellen Phytase liegt mit 60 °C etwas höher, als das der pflanzlichen Phytasen (Hoppe, 1992). Eine Inaktivierung erfolgt erst bei 80 °C, wie sich bei Pelletversuchen von Simons et al. (1990) gezeigt hat.

Erste Versuche, mikrobiell erzeugte Phytasen für die Ernährung monogastrischer Tiere zu nutzen, wurden von Nelson et al. (1968, 1971) durchgeführt. Durch die Zufuhr einer partiell gereinigten Phytase aus *Aspergillus ficuum* zu einer Mais/Soja-Diät konnten für Broiler deutliche Effekte hinsichtlich der täglichen Zunahmen und der Knochenmineralisierung erzielt werden, die Werten von Mischungen entsprachen, denen mineralischer Phosphor zugesetzt worden war.

Die industrielle Produktion mikrobieller Phytase (EC 3.1.3.8) erfolgt mit Hilfe der Gentechnik. Im Falle des Phytasepräparates Natuphos^R des niederländischen Herstellers Gist-Brocades wird das Phytase-Gen des Schimmelpilzes *Aspergillus ficuum* NRRL 3135 auf *Aspergillus niger* (van Tieghem) übertragen. Durch diesen gentechnischen Schritt ist eine effiziente, kommerzielle Herstellung von Phytase möglich (Pallauf et al., 1992 a). Dieses Präparat ist vom Bundesministerium für Ernährung Landwirtschaft und Forsten auf Grundlage des §11 des Futtermittelgesetzes, über eine Ausnahmegenehmigung im April 1992 für den Einsatz in der Tierernährung zugelassen worden (Bundesministerium für Ernährung, 1993). Für die Schweinefütterung werden 500 Einheiten des Enzyms pro kg Futter empfohlen (BASF, 1996/1997).

Desweiteren können mit Hilfe der Gentechnik auch transgene Pflanzen bzw. Samen mit höherer Phytaseaktivität hergestellt werden. So übertrugen Pen et al. (1993) das Phytasegen von *Aspergillus niger* auf Samen von Tabakpflanzen. Bei Einsatz der transgenen, phytasehaltigen Samen in Rationen für Broiler konnten sie ein verbessertes

Wachstum der Tiere feststellen. Darüberhinaus erwiesen sich die transgenen Saaten als stabiler und robuster Träger der Phytaseaktivität.

Im Gastrointestinaltrakt vorkommende Phytasen konnten bei Ratten, Hühnern, Kälbern und beim Menschen nachgewiesen werden (Bitar und Reinhold, 1972). Auch Kaninchen, Meerschweinchen und Hamster (Cooper und Gowing, 1983), sowie das Schwein (Lantzsch et al., 1988 b) besitzen körpereigene Phytasen.

Die Phytaseaktivitäten sind jedoch unterschiedlich. Im Gastrointestinaltrakt der Ratte fanden Iqbal et al. (1994) eine 30 mal höhere Aktivität als im menschlichen Intestinum.

Allerdings gehen Yang et al. (1991) davon aus, daß zwischen der intestinalen Phytase und der alkalischen Phosphatase kein Unterschied besteht. Ob Phytaseaktivität oder Phosphataseaktivität auftritt, ist nach Ansicht von Yang et al. (1991) pH-abhängig. Durch die pH-Änderung kann es zu einer Konformationsänderung an dem Enzym kommen.

Die Phytasen der Darmschleimhaut verschiedener Tierarten besitzen unterschiedliche pH-Optima. So lag es beim Schwein bei 4,5 (Lantzsch et al., 1988 b), bei der Ratte zwischen 7,2 und 7,8 (Davies und Flett, 1978) und beim Rind bei 6,0 (Williams et al., 1985).

Allerdings sind die intestinalen Phytaseaktivitäten nur sehr gering.

Pointillart et al. (1984) konnten in der Duodenalmukosa des Schweines Phytaseaktivitäten von 0,6 bis 1,3 U/mg Protein nachweisen.

Eine effiziente Phytathydrolyse durch intestinale Phytasen dürfte somit nicht möglich sein (Pointillart et al., 1984; Pointillart, 1994).

Die Phytaseaktivität ist jedoch nicht nur von Temperatur und pH-Wert abhängig, sondern kann auch durch verschiedene Ionen, darunter auch Calcium, beeinflusst werden (Scheuermann et al., 1988 b).

In in vitro Versuchen ließ sich zeigen, daß Calcium im sauren pH-Bereich ($\text{pH} < 3,0$) die Bildung von schwerlöslichen Phytat-Proteinkomplexen verhindern kann (Scheuermann et al., 1988 a). Bei höheren pH-Werten ($\text{pH} > 5,0$) hingegen, bilden sich schwer lösliche Calciumphytate, die der Phytase nicht mehr als Substrat zur Verfügung stehen, da Phytase nur lösliche Phytatkomplexe spalten kann (Lantzsch, 1990).

Bei hohen Calciumkonzentrationen im Gastrointestinaltrakt kann somit davon ausgegangen werden, daß es, aufgrund des dort vorherrschenden pH-Wertes, zur Bildung von schwerlöslichen Calciumphytaten kommt (Düngelhoef und Rodehutschord, 1995).

So konnten Schulz und Oslage (1972) bei Schweinen eine verringerte Gesamthydrolyse des Phytats mit steigender Calciumkonzentration im Futter nachweisen. Besonders

deutlich zeigte sich der Abfall der Phytathydrolyse bei Calciumgehalten von mehr als 6 g/kg Futter.

Auch Lantzsich et al. (1995) konnten bei Mastschweinen feststellen, daß die positive Wirkung eines Phytasezusatzes auf die scheinbare Phosphorabsorption mit steigenden Calciumkonzentrationen im Futter zurückging.

Zum selben Ergebnis kommen Sandberg et al. (1993). Sie konnten im Colon von Schweinen bei hoher Anflutung von Calcium einen verminderten Phytatabbau nachweisen.

2.3 Einfluß von Phytat und Phytase auf die Schwermetallretention

Aus in vitro Untersuchungen ist bekannt, daß die Schwermetalle Blei, Cadmium und Zink z.T. an Phytinsäure gebunden werden (Wise und Gilbert, 1981; Nolan et al., 1987).

2.3.1 Blei

Untersuchungen zum Einfluß der Phytase auf die Bleiretention liegen bislang nicht vor. Mehrere Arbeiten wurden jedoch bereits zum Einfluß des Phytats auf die Blei-einlagerung des Organismus durchgeführt.

So untersuchte Wise (1981) den Einfluß des Phytats auf die Bleiretention bei weiblichen Mäusen. Die Tiere wurden mit semisynthetischen Rationen auf der Basis von Kasein und Maisstärke ernährt. Der Basaldiät wurde einmal Bleiacetat alleine oder zusammen mit Calciumphytat zugesetzt. Die Bleikonzentration in den Diäten betrug 1g/kg. Die Tiere wurden nach acht Tagen getötet und Leber und Nieren zur Bleianalyse entnommen. Wurde Bleiacetat zusammen mit Calciumphytat verfüttert, lagen die Bleikonzentrationen in den untersuchten Organen signifikant niedriger, als bei Verfütterung der Diät ohne Calciumphytat. Die Autoren sehen aufgrund des Ergebnisses ihrer Untersuchung Calciumphytat als einen natürlichen Faktor an, der eine nutritive, akute Bleiintoxikation verhindern kann, da Bleiacetat das ohne gleichzeitige Verabreichung von Calciumphytat verfüttert wurde, bei den Tieren extrem toxisch wirkte.

In einer weiteren Arbeit, die ebenfalls an Mäusen durchgeführt wurde, untersuchte Wise (1982) den Effekt einer chronischen Bleiexposition, indem den Tieren Diäten mit 0, 2, 10 und 50 mg Blei/kg in Form von Bleiacetat verabreicht wurden. Jede Diät wurde einmal ohne und einmal mit einer Zulage von 20 g Calciumphytat/kg verfüttert. Jeweils die Hälfte der Tiere einer Gruppe wurde nach 3 Monaten, die restlichen Tiere nach 6 Monaten getötet. Sowohl nach 3 als auch nach 6 Monaten Expositionszeit konnte Wise bei den Tieren die 2 mg Blei/kg erhalten hatten, keine signifikant höheren

Bleikonzentrationen im Blut feststellen als bei der Kontrollgruppe. Bei Verfütterung der mit 10 mg Blei/kg belasteten Ration konnte der Autor bei den Tieren, die die Rationen über 6 Monate aufgenommen hatten, eine signifikant geringere Bleikonzentration im Blut nachweisen, wenn gleichzeitig Calciumphytat aufgenommen wurde. Bei den Tieren die 50 mg Blei/kg über die Diäten aufnahmen, war dies bereits nach 3 Monaten signifikant nachweisbar.

Rose und Quarterman (1984), sowie Quarterman und Rose (1985) verfütterten Diäten an Ratten, die mit 200 mg Blei/kg belastet waren. Den Rationen setzten sie entweder 6 g Ca/kg, 10 g Phytinsäure/kg oder beides zu. Gegenüber einer Kontrollgruppe, die marginal mit Calcium versorgt wurde (2 g/kg Futter) konnten sie bei den Versuchsgruppen eine verringerte Bleiretention feststellen, wobei der Effekt bei kombinierter Gabe von Phytinsäure und Calcium am deutlichsten ausgeprägt war.

In einem parallel laufenden Experiment, das ebenfalls an Ratten durchgeführt wurde, konnten Quarterman und Rose (1985) zudem zeigen, daß der Phytinsäurezusatz nur bei bedarfsgerechter Calciumversorgung eine Verminderung der Bleiretention zur Folge hatte.

James et al. (1985) führten Untersuchungen zur Bleiaufnahme beim Menschen durch und prüften hierbei auch den Einfluß von Phytat auf die Bleiretention. Hierzu wurde 23 Erwachsenen, nach einer Fastenperiode von 12 Stunden, ^{203}Pb als Bleiacetat oral verabreicht und die Bleiretention 7 Tage später in einem Ganzkörperzähler ermittelt. Sie konnten feststellen, daß die Aufnahme einer mineralstoffbalancierten, vor allem im Calcium- und Phosphorgehalt ausgewogenen Diät, die Bleiretention wesentlich reduzierte, was durch eine antagonistische Wirkung, vor allem des Calciums, auf die Bleiretention erklärbar sein könnte. Darüberhinaus konnten sie nachweisen, daß die Bleiretention durch Phytat zusätzlich verringert wurde.

2.3.2 Cadmium

Turecki et al. (1994) beobachteten bei in vitro Untersuchungen an Rattendärmen, bei Cadmiumkonzentrationen von 5 und 25 mg/kg im Inkubationsmedium, einen Rückgang des intestinalen Cadmiumtransports und einen höheren Anteil von nicht absorbiertem Cadmium nach Zugabe von 10 mMol Phytinsäure. Durch eine gleichzeitige Zugabe von 50 mMol Calcium wurde dieser Effekt zusätzlich verstärkt, während bei alleiniger Zugabe von Calcium mit steigenden Cadmiumkonzentrationen im Inkubationsmedium die intestinale Cadmiumtransportrate linear anstieg. Die Autoren erklären den Effekt der Phytinsäure durch die Bildung unlöslicher Calcium-Phytat-Komplexe, bei denen

Cadmium kopräzipitiert wird und somit nicht mehr über die Bürstensaummembran aufgenommen werden konnte.

Rose und Quarterman (1984) fanden in einem Fütterungsversuch an Ratten, die mit 5 mg Cadmium/kg belastete Rationen erhielten, ebenfalls eine verringerte Cadmiumretention in Leber und Niere, wenn den Rationen 10 g Phytinsäure/kg zugesetzt wurde. Dies war allerdings nur feststellbar, wenn die Rationen gleichzeitig 6 g Calcium/kg enthielten. Eine alleinige Zulage von Phytinsäure zeigte keine Auswirkungen auf die Cadmiumgehalte in den untersuchten Organen, während die Calciumzulage, ohne gleichzeitige Phytatzugabe eine signifikant erhöhte Cadmiumretention zur Folge hatte.

In einem weiteren Versuch an Ratten, die Rationen erhielten, die mit 3 mg Cadmium/kg belastet waren, konnten Turecki et al. (1995) keinen Effekt einer Phytinsäurezulage von bis zu 10 g/kg Futter auf den Cadmiumgehalt von Duodenum, Leber und Niere feststellen.

In Untersuchungen an Wachteln, Hühnern und Ratten stellten Rambeck und Mitarbeiter eine reduzierte Cadmiemeinlagerung in Lebern und Nieren fest, wenn phytathaltigen Rationen mikrobielle Phytase zugesetzt wurde (Rambeck und Walther, 1993; Rambeck, 1994 a; Rambeck, 1994 b; Rambeck et al., 1994; Walther, 1994).

Dies konnten Guillot und Rambeck (1995) auch bei Truthühnern feststellen, die Rationen erhielten, die mit 0,2 mg Cadmium/kg belastet waren. Nach Zusatz von 1000 Einheiten mikrobieller Phytase/kg Futter wiesen die Tiere eine verringerte Cadmiumkonzentration in Niere und Leber auf.

Guillot et al. (1994) setzten in einem Versuch mit 24 männlichen Sprague Dawley Ratten einer Basalration, die mit 3 mg Cadmium/kg belastet war, 500, 1000 und 2000 U Phytase/kg Futter zu. Bei der Gruppe mit einer Phytasezulage von 500 U kam es zu einer signifikanten Verminderung der Cadmiumretention in Leber und Niere von 20 bzw. 27 % gegenüber der Kontrollgruppe. Die Steigerung des Phytasezusatzes von 500 auf 1000 und 2000 U brachte keine weitere signifikante Reduktion der Cadmiumgehalte in diesen Organen.

In einem parallel laufenden Versuch mit 28 Wachteln und einer Cadmiumkonzentration von 9 mg/kg im Futter fanden Guillot et al. ähnliche Ergebnisse. Gegenüber einer Kontrollgruppe erhielten zwei Versuchsgruppen jeweils 1g Na-Phytat/kg Futter, wobei einer Gruppe zusätzlich 1000 U Phytase/kg Diät verabreicht wurde. Eine dritte Versuchsgruppe erhielt 1000 U Phytase/kg Futter ohne weitere Zusätze. Die Gruppen mit Na-Phytat wiesen gegenüber der Kontrollgruppe eine höhere Cadmiumretention in

Niere und Leber auf. Bei gleichzeitigem Zusatz von Phytase kam es gegenüber der Phytatgruppe zu einer Verminderung der Cadmiumretention in Niere und Leber. Bei Verfütterung der Ration ohne Na-Phytat, mit Phytase, war die geringere Cadmiumretention auch gegenüber der Kontrollgruppe festzustellen (Guillot et al., 1994).

In einer weiteren Untersuchung an einen Tag alten Hühnerküken, die über 6 Wochen eine mit 5 mg Cadmium/kg belastete Ration erhielten, setzten Guillot et al. (1995) gegenüber einer Kontrollgruppe jeweils 600 U Phytase/kg Futter zu. Die Rationen waren in einem Versuch bezüglich des Phosphorgehaltes mit 6,5 g P/kg Futter bedarfsdeckend, in einem anderen Versuch mit 5 g P/kg Futter im Phosphorgehalt erniedrigt. Bei einer Phosphorversorgung von 6,5 g/kg Futter konnten sie bei Einsatz von Phytase eine Erniedrigung der Cadmiumakkumulation in der Leber um 15 % und in der Niere um 29 % feststellen. Bei niedriger Phosphorversorgung war diese verminderte Cadmiumretention hochsignifikant. Dies war ebenso bei niedriger Calciumversorgung der Fall (Guillot, 1995).

Die Autoren der vorangehend genannten Untersuchungen erklären den cadmiumsenkenden Effekt der Phytase durch die gleichzeitige Freisetzung von Calcium, Zink, Phosphor und Eisen aus dem Phytatkomplex. Von diesen Elementen ist bekannt, daß sie eine cadmiumsenkende Wirkung haben, die in erster Linie durch die Besetzung von Bindungsstellen bei Absorptions- und Regulationsvorgängen zustande kommt.

In weiteren Versuchen mit Ratten (Rimbach et al., 1994; Rimbach et al., 1995 a; Rimbach et al., 1995 b) wurden Diäten auf der Basis von Eiweiß und Stärke verfüttert, die im Mittel mit 5 mg Cadmium/kg belastet waren. Die Kontrollgruppe erhielt eine Ration ohne Zusatz von Phytinsäure und Phytase. Bei den Gruppen 2 und 3 wurde Stärke durch 0,5 % Phytinsäure ersetzt. Gruppe 3 erhielt zusätzlich 2000 U mikrobielle Phytase/kg Futter. Nach 28 Tagen wurden die Tiere getötet und Leber und Nieren entnommen. Es kam zu einer erhöhten Cadmiumretention in Leber und Nieren der Tiere der Gruppe 2, während bei den Tieren der Gruppe 3 eine verringerte Cadmiumeinlagerung in diesen Organen festgestellt werden konnte.

Im Gegensatz zu den bisher angeführten Untersuchungen an Geflügel und Labornagern, liegen bei Schweinen diametral entgegengesetzte Ergebnisse zur Wirkung einer Phytasezulage auf die Cadmiumretention vor.

So konnte bei 4 Wochen alten Schweinen, die über einen Versuchszeitraum von bis zu 6 Wochen cadmiumkontaminierte Rationen erhielten, keine signifikanten

Veränderungen der Cadmiumkonzentrationen in Leber und Niere durch einen Phytasezusatz festgestellt werden (Guillot et al., 1995).

Rimbach et al. (1996 a, b) führten weitere Untersuchungen an Schweinen im Gewichtsbereich von 25 bis 100 kg durch. Der Zusatz von 800 U *Aspergillus niger* Phytase/kg Futter, das relativ geringe native Cadmiumgehalte aufwies (12,7 bis 23,4 µg/kg), führte in Leber und Niere bei marginaler Calcium und Phosphorversorgung (0,32 bis 0,46 % P, 0,52 bis 0,69 % Ca) zu einer Erhöhung der Cadmiumgehalte. Die Autoren halten es für möglich, daß die unterschiedlichen Ergebnisse bei Ratte und Schwein durch Speciesunterschiede, z.T. auch durch unterschiedliche Cadmiumbindungsformen in der Diät, bedingt sein könnten.

In einem weiteren Fütterungsversuch an 96 Mastschweinen wurde der Einfluß von 1000 U mikrobieller Phytase/kg Futter bei normalem und reduziertem Phosphorgehalt der Diät untersucht. Die Tiere erhielten bis zu einem Mastendgewicht von 60 bzw. 100 kg Rationen, die mit 0,5 mg Cadmium/kg belastet waren. Der Phytasezusatz führte sowohl bei normalem als auch bei reduziertem Phosphorgehalt zu einer verstärkten Cadmiumakkumulation in Leber und Niere (Hollwich, 1995; Thielen et al., 1996).

In einer weiteren Arbeit untersuchten Thielen et al. (1997), ob die Fütterungstechnik einen Einfluß auf die phytasebedingte, erhöhte Cadmiumabsorption und -retention hat. Sie verabreichten mittels Flüssigfütterung an 36 Mastschweine im Gewichtsbereich von 11,7 bis 100 kg eine mit 0,5 mg Cadmium pro kg lufttrockener Substanz belastete Ration. Im Unterschied zur Trockenfütterung, kann hier die Enzymwirkung bereits beim Anmischen des Futters, vor der Futteraufnahme, einsetzen. Ein Zusatz von 1000 U mikrobieller Phytase führte sowohl bei normalem als auch bei reduziertem Phosphorgehalt der Ration, auch bei dieser Fütterungstechnik zu einer verstärkten Cadmiumakkumulation in Niere und Leber.

Im Vergleich zu der vorangehenden Arbeit von Thielen et al. (1996), wurden hier bei den entsprechenden Gruppen in der Leber höhere, in der Niere geringere Cadmiumkonzentrationen festgestellt.

2.3.3 Zink

Bereits 1955 beobachteten Tucker und Salmon, daß bei Verfütterung von Rationen mit bis zu 44 mg Zn/kg, bei Schweinen eine Parakeratose auftrat. Die Autoren weisen in ihrer Untersuchung darauf hin, daß neben dem absoluten Zinkgehalt der Ration auch die Calcium- und Phosphorkonzentration in den Diäten in diesem Zusammenhang von Bedeutung sein könnte.

Die Ergebnisse der nachfolgend genannten, neueren Untersuchungen zeigen, daß neben Calcium und Phosphor, auch der Phytatgehalt der Rationen einen deutlichen Einfluß hat, wobei insbesondere die Calciumkonzentration in phytatreichen Diäten von Bedeutung sein kann, worauf unter 2.4.3 noch näher eingegangen wird.

Der Zusammenhang zwischen Phytase und der Zinkverwertung ist insofern von ernährungsphysiologischem Interesse, da die Versorgungsempfehlungen für Zink beim Ferkel mit 80-100 mg/kg Futter um ein vielfaches höher liegen als der tatsächliche Nettobedarf (Pallauf, 1992).

Höhler (1992) und Höhler et al. (1992) verfütterten Rationen auf der Basis von Mais und Sojaextraktionsschrot an Ferkel. Der Gehalt der Diäten an Phytinsäure betrug 0,7 bis 0,9 %. Eine native Phytaseaktivität konnte nicht nachgewiesen werden. Ein Zusatz von 1000 U mikrobieller Phytase verbesserte die Zinkverwertung.

In einem dreiwöchigen Versuch mit männlichen Albinoratten prüften Rimbach und Pallauf (1992), ob eine Zulage an mikrobieller Phytase die Bioverfügbarkeit von Zink aus einer phytathaltigen Diät beeinflusst. Die Tiere erhielten halbsynthetische Rationen auf der Basis von Eiklarprotein und Maisstärke, denen 20 mg Zn/kg Diät zugesetzt waren. Die Versuchsgruppen erhielten zusätzlich 0,5 und 1 % Phytat als Na-Phytat, jeweils mit und ohne Zulage von 1000 U mikrobieller Phytase/kg. Die Zulage des Natriumphytats führte zu einer geringeren scheinbaren Absorption und Retention von Zink. Die Zinkkonzentrationen in Femur, Testes und Blutplasma gingen zurück. Darüberhinaus war die freie Zinkbindungskapazität und die Aktivität der alkalischen Phosphatase verringert. Durch die Phytasezulage wurden diese Parameter deutlich positiv beeinflusst und die Bioverfügbarkeit von Zink entscheidend verbessert.

Lei et al. (1993 a) untersuchten in zwei Experimenten den Effekt einer Phytasezulage bei wachsenden Schweinen auf die Zinkretention. In der ersten Untersuchung erhielten 24 Tiere über 4 Wochen eine Zulage von 0, 30 und 60 mg Zink/kg, zu einer Ration auf der Basis von Getreide und Sojaextraktionsschrot, jeweils mit und ohne Zulage von 1350 U mikrobieller Phytase/g (bei dem verwendeten finnischen Produkt Finase gilt: 1 U = 1 nmol P/g). In der zweiten Untersuchung wurde der Mineralstoffstatus an 12 Tieren festgestellt, die entweder die Basaldiät, die Diät mit 30 mg Zink/kg oder die Ration mit 1350 U Phytase/g erhalten hatten. Beide Untersuchungen kamen zum selben Ergebnis. Sowohl die Zink- als auch die Phytasezulage alleine führten zu einem Anstieg der Aktivität der alkalischen Phosphatase und der Zinkkonzentration im Plasma. Die Zinkretention wurde weder von der Phytase- noch von der Zinkzulage beeinflusst.

Pallauf et al. (1994) untersuchten die Wirkung einer Zulage mikrobieller Phytase zu einer Diät auf der Basis von Ackerbohnen, Weizen, Futtererbsen und Gerste an 24 männlichen kastrierten Hybridferkeln im Gewichtsbereich 12 bis 16 kg. Zum nativen Phytasegehalt von 260 U/kg Futter wurden 350 und 700 U mikrobieller Phytase/kg zugelegt. Die Zinkkonzentrationen im Plasma wurden durch die Phytasesupplementierung signifikant gesteigert.

In einem Experiment mit 96 Ferkeln setzten Kirchgessner et al. (1994) einem Futter auf der Basis von Weizen, Gerste und Soja 500 U mikrobieller Phytase/kg zu. Der Phytasezusatz erhöhte die scheinbare Zinkverdaulichkeit signifikant um 6 %.

Adeola et al. (1995) führten ebenfalls einen Versuch mit wachsenden Schweinen durch. Die Tiere erhielten Rationen auf der Basis von Getreide und Sojaextraktionsschrot, jeweils mit und ohne 1500 U mikrobieller Phytase/kg und einer Zulage von 100 mg Zink/kg. Die Zinkkonzentration im Plasma stieg bei den Tieren an, die die Ration mit Phytasezulage ohne Zinksupplementation erhalten hatten. Wurde gleichzeitig Phytase und Zink in die Rationen eingebracht, konnten die Autoren keinen zusätzlichen Effekt der Phytase auf die Zinkkonzentration im Plasma feststellen.

Zum selben Ergebnis kommt Adeola (1995) in einer weiteren Untersuchung an wachsenden Schweinen, die auf der Basis von Mais und Sojaextraktionsschrot gefüttert wurden. Nach Zulage von 1500 U mikrobieller Phytase/kg konnte er höhere Zinkkonzentrationen im Serum der Tiere feststellen.

Sebastian et al. (1996) untersuchten an 180 Broilerküken den Einfluß einer Zulage von mikrobieller Phytase auf die relative Retention und die Plasmakonzentration von Zink sowie den Zinkgehalt des Knochens (Tibia). Die Tiere erhielten hierbei eine Ration, die den Bedarf an Phosphor deckte (Kontrolle), sowie eine bezüglich Phosphor nicht bedarfsdeckende Ration, ohne oder mit einer Zulage von 600 U Phytase/kg Futter. Bei Verfütterung der zuletzt genannten Ration konnten Sebastian et al. einen Anstieg der relativen Zinkretention feststellen. Ein Einfluß der Phytase auf die Zinkkonzentration im Plasma war ebensowenig zu erkennen, wie Auswirkungen auf den Zinkgehalt des Knochens.

Windisch und Kirchgessner (1996) führten Untersuchungen mit Diäten durch, bei denen bis zu 1000 U mikrobieller Phytase/kg Futter in abgestuften Mengen in die Rationen eingebracht wurden. Hierbei konnten sie bei Schweinen einen Anstieg der scheinbaren Zinkverdaulichkeit, bei Broilern eine verbesserte Ausnutzung von Zink nachweisen.

Qian et al. (1996) stellten nach einer Phytasesupplementierung einer semisynthetischen Diät auf Sojabasis höhere Zinkkonzentrationen im Knochen von Truthühnern fest.

Yi et al. (1996) verfütterten an einen Tag alte männliche Broiler über 3 Wochen eine Getreide-Sojabohnen Basaldiät mit einer nativen Zinkkonzentration von 20 mg/kg. Der Basaldiät wurden zudem 5, 10 und 20 mg Zink/kg als Zinksulfat zugelegt. Parallel dazu wurden dieselben Basaldiäten mit einem Phytasezusatz von 150, 300, 450 und 600 U mikrobieller Phytase/kg Futter versehen. Die absolut retinierte Zinkmenge stieg linear mit steigenden Zinkkonzentrationen und Phytasesupplementierungen an. Die retinierte Zinkmenge in Prozent der Aufnahme, nahm mit steigenden Zinkgehalten in den phytasefreien Rationen zwar ab, stieg jedoch durch den Phytasezusatz linear an. Ebenso stieg die Zinkkonzentration und absolute Zinkmenge in Tibia und Zehen durch den Zink- und Phytasezusatz an. Die Zinkkonzentration in der Leber war durch die Zinkzulage signifikant erhöht, der absolute Zinkgehalt der Leber stieg sowohl durch die Zink- als auch durch die Phytasesupplementierung signifikant an.

2.4 Einfluß der Calciumversorgung auf die Schwermetallretention

Im Rahmen der Mineralstoffversorgung ist Calcium von wesentlicher Bedeutung für das stoffwechselkinetische Verhalten von Schwermetallen.

In einem Überblick von Schenkel (1988 a) zum Einfluß einer unterschiedlichen Calciumzufuhr auf Retention und Verteilung von Schwermetallen wird deutlich, daß eine ausreichende Calciumversorgung die Aufnahme von Schwermetallen in den Körper wesentlich vermindern kann und in gewissem Umfang toxischen Effekten entgegenwirkt.

2.4.1 Blei

Die hohe Affinität von Blei zu intrazellulären Calciumrezeptoren und Transportproteinen, sowie der Einfluß von Blei auf calciumabhängige Prozesse, kann wohl als molekulare Basis für ein breites Spektrum zellulärer und systemischer Effekte dieses Elements angesehen werden. Hierbei stellen die Bürstensaumzellen der intestinalen Mukosa das erste Regelglied bei der Calciumhomöostase des Körpers dar und können somit als erste Barriere einer Bleiaufnahme entgegenwirken.

Quarterman und Rose (1985) untersuchten den Einfluß des Calciumversorgungsstatus auf die Bleieinlagerung in verschiedene Gewebe von Ratten. Sie verfütterten an submarginal mit Calcium versorgte Ratten phytinsäurefreie Diäten mit 2 g und 12 g Calcium/kg, wobei die Diäten zum einen 31 Stunden vor einer Infundierung von ^{203}Pb , zum anderen gleichzeitig mit der Bleigabe verabreicht wurden. Nach zwei Tagen wiesen die Tiere, die bereits 31 Stunden vor der Bleigabe mit 12 g Calcium/kg versorgt worden waren, signifikant niedrigere Bleikonzentrationen in den Geweben auf, als die

Tiere, die erst bei der Bleigabe ausreichend mit Calcium versorgt wurden. Die Autoren ziehen hieraus den Schluß, daß der Effekt des Calciums auf die Bleiaufnahme eher auf dem physiologischen Calciumstatus beruht, als auf einem Einfluß des Calciumgehaltes der Ration auf die Calciumkonzentration im Darm.

Mehrere Studien verdeutlichen, daß die intestinale Bleiabsorption bei marginaler oder submarginaler Calcium- (Mykkanen und Wasserman, 1981; Edelstein et al., 1984) und Phosphorversorgung (Mykkanen et al., 1984) ansteigt.

Die Verabreichung von Vitamin D und seinen Metaboliten steigert diesen Effekt zusätzlich (Smith et al., 1978; Mykkanen und Wasserman, 1982; Edelstein et al., 1984). Die Ursache hierfür dürfte in der hohen Affinität des Bleis für das Vitamin D abhängige Calcium-bindende Protein (CaBP) liegen. So weist das CaBP des Huhnes vier Bindungsstellen, das CaBP des Rindes zwei Bindungsstellen für Blei auf. Bei der Besetzung dieser Bindungsstellen kann Blei mit Calcium in Konkurrenz treten (Fullmer et al., 1985).

Neben dem CaBP existiert in der Darmmukosa mindestens noch ein weiteres, nicht näher spezifiziertes Protein mit hohem Molekulargewicht, das Bindungsstellen für Calcium aufweist, die ebenfalls von Blei besetzt werden können. An dieses Protein wird ein sehr hoher Bleianteil gebunden, so daß die Rolle dieses Eiweißes für die intestinale Bleiabsorption noch bedeutsamer sein könnte, als die des CaBP's (Barton et al., 1978). Neben diesen Untersuchungen, die auf die Existenz eines Vitamin-D abhängigen Transportsystems, das gleichzeitig von Blei und Calcium genutzt wird, hinweisen, werden auch andere Mechanismen diskutiert.

So berichten Barton et al. (1978, 1980), daß marginal mit Calcium versorgte Ratten eine verminderte Exkretion und damit höhere Retention von Blei aufwiesen.

Untersuchungen von Aungst und Fung (1985), die ebenfalls an Ratten durchgeführt wurden, zeigten ebenso, daß eine Calciumunterversorgung eine verringerte Bleiclearence der Niere und einen gleichzeitigen Anstieg der Bleiabsorption zur Folge hat.

Doch es gibt auch Hinweise, daß Blei direkt enzymatische Prozesse blockieren kann.

So fand Rosen (1985) bei klinischen Studien an Kindern, die hohe Bleikonzentrationen im Blut aufwiesen und eine verringerte Calcium und Vitamin D Aufnahme hatten, erniedrigte Konzentrationen von Ca, 25(OH)D und 1,25(OH)₂D im Serum. Eine Behandlung mit Ca-EDTA hatte einen Anstieg der Konzentration von 1,25(OH)₂D zur Folge, was bei 25(OH)D nicht festzustellen war. Der Autor zieht hieraus den Schluß,

daß die Umwandlung von 25(OH)D in 1,25(OH)₂D in der Niere durch hohe Bleikonzentrationen im Blut blockiert wird.

In Versuchen an Hühnern und Ratten konnte ebenso eine verringerte Synthese von 1,25(OH)₂D in der Niere und damit eine geringere Konzentration von 1,25(OH)₂D im Blut nachgewiesen werden, wenn Blei über längere Zeit mit dem Futter aufgenommen wurde (Smith et al., 1981; Edelstein et al., 1984).

Hierbei war bei mit Vitamin-D unterversorgten Ratten, die hohe Bleimengen über das Futter aufnahmen, der aktive intestinale Calciumtransport ebenso vermindert, wobei dies durch eine geringe Calciumversorgung über die Nahrung noch verstärkt wurde und durch eine 1,25(OH)₂D-Applikation nicht beeinflußt werden konnte. Dies deutet darauf hin, daß Blei nicht nur die Biosynthese von 1,25(OH)₂D blockieren kann, sondern auch eine direkte Wirkung auf die calciumtransportierenden Zellen der intestinalen Mukosa haben könnte (Smith et al., 1981).

Doch Wechselwirkungen zwischen Blei und Calcium treten auch bei anderen Ca-abhängigen Enzymen auf.

Innerhalb der Zelle liegt Calcium z.T. in komplexer Bindung an Calmodulin vor, einem sauren Protein das reversible Komplexe mit Calcium bildet. Hierbei kann Blei Calcium bei der Aktivierung der Calmodulin-abhängigen Phosphodiesterase ersetzen (Goldstein und Ar, 1983; Habermann et al., 1983; Chao et al., 1984; Habermann et al., 1983). Dies ist auch bei der Ca²⁺-ATPase der Zellmembranen menschlicher Erythrozyten möglich (Pfleger und Wolf, 1975). Ebenso kann es eine Aktivierung der Calmodulin-unabhängigen Proteinkinase-C einleiten und Calmodulin-sensitive K-Kanäle beeinflussen. Die Aktivierung der Calmodulin-unabhängigen Proteinkinase-C durch Blei kann dabei von größerer biologischer Bedeutung sein, als die Aktivierung von Calmodulin, da hierfür bereits Bleikonzentrationen im Bereich weniger Picomol ausreichen. Hierdurch könnte die Neurotoxizität von schon geringen Bleimengen bedingt sein (Goldstein, 1993).

Dies bedeutet, daß die Ca²⁺-ATPase und andere Prozesse nicht unbedingt blockiert werden, wenn Blei statt Calcium an Calmodulin gebunden wird. Andererseits kann die hohe Affinität von Blei für Calciumbindungsstellen eine calciumabhängige Regulation stören, indem es Calcium als Regulator verdrängt.

2.4.2 Cadmium

Die Wechselwirkungen zwischen Cadmium und Calcium sind denen zwischen Blei und Calcium sehr ähnlich. Auch hier sind die Interaktionen zwischen beiden Elementen sehr

komplex. Cadmium besitzt eine sehr hohe Affinität zu dem Vitamin-D abhängigen Calcium-bindenden Protein (CaBP) und kann an diesem Protein Calcium von den Bindungsstellen verdrängen (Ingersoll und Wasserman, 1971).

Diese hohe Affinität dürfte in erster Linie durch den ähnlichen Ionenradius von Cadmium und Calcium zustande kommen (Bredderman und Wasserman, 1974).

Fullmer et al. (1980) untersuchten an Hühnern den Einfluß einer oralen Cadmiumaufnahme auf die intestinale Calciumabsorption und das Vitamin-D abhängige CaBP. Die Cadmiumbelastung führte zu einer signifikanten, dosisabhängigen Abnahme der intestinalen Calciumabsorption und der Konzentration des CaBP's in der Dünndarmmukosa. Nachteilige Effekte auf die Hydroxylierungsreaktionen des Vitamin-D's konnten Fullmer et al. (1980) nicht beobachten.

Winkler et al. (1984) konnten bei der Verfütterung einer Diät, die mit 27 mg Cadmium/kg belastet war, bei Hühnerküken eine leichte Verminderung des CaBP's der Dünndarmmukosa feststellen. Sie erklären im Gegensatz zu Fullmer den Effekt durch eine cadmiumbedingte Hemmung der Synthese von 1,25-Dihydroxycholecalciferol in der Niere, das die Bildung von CaBP einleitet. Eine zusätzliche Vitamin-D₃ Zulage führte bei einer leichten Calciumunterversorgung zu erhöhten Cadmiumkonzentrationen in der Niere, während bei bedarfsgerechter oder einer über den Bedarf hinausgehenden Calciumversorgung geringere Konzentrationen feststellbar waren.

Die verminderte Calciumresorption aus dem Gastrointestinaltrakt bei hoher oraler Cadmiumaufnahme kann sowohl durch eine direkte toxische Schädigung des Darmepithels als auch durch eine Störung der Synthese von 1,25-Dihydroxycholecalciferol in den Nierentubuli verursacht werden (Task Group on Metal Interaction, 1978).

Washko und Cousins (1977) fanden bei calciumunterversorgten Ratten nach Applikation von 5 µCi ¹⁰⁹Cd als CdCl₂ über das Futter erhöhte Cadmiumkonzentrationen in Organen und Körperflüssigkeiten und weniger Cadmium in den Faeces als bei Tieren mit adäquater Calciumversorgung. Subkutane Cadmiuminjektionen hatten dagegen keine Auswirkungen auf die Cadmiumaufnahme. Die Autoren führen den Effekt auf eine Konkurrenz zwischen Calcium und Cadmium um denselben Transportmechanismus zurück. Diesen gemeinsamen Transportmechanismus dürfte das CaBP darstellen.

Doch Cadmium kann auch direkte Effekte auf Stoffwechselforgänge ausüben, an denen Calcium beteiligt ist.

In einem 14-tägigen Versuch an Ratten, die über das Trinkwasser 20 und 40 mg Cadmium/kg erhielten, konnten Pleasants et al. (1992) nach der Verabreichung von

Vitamin D₃ und 1,25 Dihydroxyvitamin-D₃ verbesserte Zunahmen beobachten. Sowohl Vitamin-D₃ als auch 1,25 Dihydroxyvitamin-D₃ zeigten darüberhinaus einen protektiven Effekt auf die Niere, Vitamin D₃ auch auf den Hoden.

Desweiteren kann Cadmium zu einer nicht kompetitiven Hemmung der Ca²⁺-ATPase der Erythrozyten führen (Visser et al., 1993).

Ebenso führen bereits geringe Cadmiumkonzentrationen zu einer sofortigen Freisetzung von Calcium an den dermalen Fibroblasten des Menschen. Die Cadmiumwirkung scheint hierbei über einen Lectin-Rezeptor an der Zelloberfläche zustandekommen (Chen und Smith, 1992).

Effekte des Cadmiums auf den Calciumgehalt des Knochens waren besonders bei der mit Beginn des 20. Jahrhunderts in der Präfektur Toyama in Japan auftretenden Itai-Itai Krankheit, von der auffallend viele multipare Frauen mit marginaler Calcium- und Vitamin-D-Versorgung betroffen waren, von Interesse.

Es kam zu Gelenkbeschwerden, Skelettdeformationen und Spontanfrakturen, gefolgt von gastrointestinalen Syndromen, Störungen der Pankreasfunktion und Nierenschädigungen (Zumkley, 1983 b). Noch bis heute sind dort Reisfelder mit Cadmium kontaminiert und es können nach wie vor Nierenschädigungen und verringerte Knochengewichte bei der Bevölkerung in den betroffenen Gebieten festgestellt werden (Kasuya et al., 1992; Teranishi et al., 1992).

Untersuchungen von Wang und Bhattacharyya (1993) an Mäusen, die cadmiumkontaminierte Rationen erhielten und submarginal mit Calcium versorgt wurden, zeigen, daß der Effekt des Cadmiums auf den Knochen, der sich in einer gesteigerten Calciumfreisetzung äußert, kein sekundärer Effekt ist, der aus einer Nierenschädigung resultiert. Vielmehr scheint es sich hier um eine unmittelbare, direkte Wirkung des Cadmiums zu handeln, die sich in einer erhöhten Cadmiumretention des Knochens und einer vermehrten endogenen Ausscheidung von Calcium im Kot äußert.

2.4.3 Zink

In einer Untersuchung von Hsu et al. (1975) an wachsenden Schweinen konnten geringere Zinkkonzentrationen im Blut und in den Knochen festgestellt werden, wenn die Tiere eine phytatfreie Ration mit 1,1 % Calcium erhielten.

Huber und Gershoff (1970) verfütterten phytatfreie Rationen an Ratten, die zum einen marginale Zinkkonzentrationen enthielten (1 bis 6 mg/kg), zum anderen bedarfsdeckend waren (15 bis 16,3 mg/kg) oder über den Bedarf hinausgingen (1550 mg/kg) und gleichzeitig 0,6 oder 1,3 % Calcium enthielten. Sie konnten mit steigenden

Zinkkonzentrationen im Futter eine steigende Zinkretention feststellen, fanden aber bei hoher Calciumkonzentration in den Rationen eine signifikant verringerte Zinkretention bei den marginal mit Zink versorgten Tieren. Huber und Gershoff gehen davon aus, daß Calcium einen deutlichen Einfluß auf die Zinkabsorption hat, der nicht nur von der Calciumkonzentration sondern auch vom Phosphor- und Zinkgehalt der Rationen abhängt.

Zu ähnlichen Ergebnissen kommen Adham und Song (1980). Sie infundierten 7,5 mMol $^{65}\text{ZnCl}_2$ entweder alleine oder zusammen mit 500 mMol CaCl_2 in das Duodenum von Ratten. Die Tiere wurden zwei Stunden später getötet und der Zinkgehalt in Leber, Niere, Herz, Pankreas, Milz, Hoden, Muskel, Blutserum und im Intestinum bestimmt. Wurden Calcium und Zink gleichzeitig verabreicht, konnten die Autoren signifikant geringere Zinkgehalte in den genannten Organen feststellen. Gleichzeitig konnten Adham und Song (1980) bei in vitro Untersuchungen am Jejunum von Ratten bereits 40 Minuten nach Inkubation mit 25 mMol CaCl_2 eine um 40 % verringerte Zinktransportrate von der mukosalen zur serosalen Seite nachweisen. Eine weitere Steigerung der Calciumkonzentration bis zu 62,5 mMol hatte keine weitere Reduzierung der Zinktransportrate durch die Mukosa zur Folge. Adham und Song (1980) gehen aufgrund ihrer Ergebnisse nicht davon aus, daß ein gemeinsamer Transportmechanismus von Calcium und Zink existiert. Sie sehen die Ursache für die geringere Zinkabsorption und Retention bei hohen Calciumkonzentrationen im intestinalen Lumen in einer herabgesetzten Kationendurchlässigkeit der interzellulären Transportwege, die durch hohe Calciumkonzentrationen hervorgerufen wird.

Song et al. (1985) fanden nach einer intraperitonealen Injektion von Zink bei Ratten, einen signifikanten Anstieg des Calciumgehaltes im Duodenum. Im Plasma ging die Calciumkonzentration leicht zurück. Bei oralen Zinkgaben fiel der Calciumgehalt des Intestinums und des Plasmas leicht ab. Aufgrund der bei intraperitonealer Verabreichung von Zink beobachteten Effekte, nehmen Song et al. (1985) an, daß der Plasmacalciumspiegel an der Regulation der endogenen Calciumsekretion beteiligt ist oder daß die Synthese von calciumbindenden Komplexen im Duodenum durch intraperitoneale Zinkgaben beeinflusst wird.

Bei diesen Vorgängen könnten Prostaglandine (Song und Adham, 1978) oder auch Calcitonin (Chausemer et al., 1980) beteiligt sein.

Song et al. (1985) gehen davon aus, daß der Calciumgehalt des Intestinums von der Aktivität des Zinktransportmechanismus beeinflusst wird, wobei die Aktivität dieses

Transportmechanismus weniger vom Zinkangebot im Intestinum, sondern eher vom Zinkbedarf des Organismus abhängt.

Berzin und Bauman (1987) fanden in der Dünndarmmukosa von Hühnern ein Vitamin-A abhängiges Glykoprotein, mit einem Molekulargewicht von 83 kDa, und Hexose als Kohlenhydratkomponente, das an der Absorption von Zink beteiligt zu sein scheint. Die Autoren berichten jedoch, daß dieses Protein für Zink hochspezifisch ist und divalente Kationen, darunter auch Ca^{2+} , mit Zink nicht um die Bindungsstellen an diesem Protein konkurrieren können.

Rodriguez Yoldi et al. (1995 a) fanden bei Untersuchungen an Neuseeländischen Kaninchen eine durch Zink bedingte, reduzierte Absorption von L-Threonin im Jejunum, bei hohen Calciumkonzentrationen.

Zum selben Ergebnis kommen Rodriguez Yoldi et al. (1995 b) bei der Untersuchung des Einflusses von Calcium und Zink auf den intestinalen Transport von D-Galaktose. Auch hier kommt es zu einer zinkbedingten, reduzierten Absorption von D-Galaktose bei hohen Calciumkonzentrationen.

Sie schließen hieraus, daß Calcium und Zink gemeinsame Bindungsstellen in der Enterocytenmembran besitzen und die Wechselwirkungen zwischen Calcium und Zink somit auch Auswirkungen auf die Absorption von Aminosäuren und Zuckern haben können (Rodriguez Yoldi et al., 1995 a; Rodriguez Yoldi et al., 1995 b).

Atkinson et al. (1993) verfütterten an 4 Tage alte Ferkel Rationen mit Zulagen an Calciumglycerophosphat und Zink. Verglichen mit der Kontrollgruppe, die keine Zinkzulage erhalten hatte, war die relative Zinkabsorption signifikant verringert. Die Autoren gehen davon aus, daß der Effekt entweder durch das höhere Zinkangebot in der Versuchsdiät bedingt sein könnte oder daß Calcium einen inhibitorischen Effekt auf die Zinkabsorption besitzt. Sie weisen jedoch darauf hin, daß der Effekt einer Calcium bzw. Calciumglycerophosphatzulage auf die Zinkabsorption weiterer Klärung bedarf.

In Untersuchungen an Menschen konnten keine Auswirkungen der Calciumversorgung auf den Zinkversorgungsstatus oder die Nettoabsorption von Zink festgestellt werden (Spencer et al., 1984).

Rossowska und Nakamoto (1993) injizierten adulten Ratten Zinkchlorid in physiologischer Kochsalzlösung. In Herz und Gehirn sowie in der Leber konnten sie keine Wechselwirkungen zwischen Zink und Calcium feststellen. Im Skelettmuskel fanden sie jedoch geringere Calciumkonzentrationen und einen signifikanten Anstieg des Zinkgehaltes im sarkoplasmatischen Retikulum. Sie gehen davon aus, daß der antagonistische Effekt von Calcium und Zink im Muskel durch Änderungen der in-

trazellulären Calciumverteilung einen bedeutsamen Einfluß auf die Zellfunktion in diesem Gewebe haben könnte.

Neben den bisher angeführten Wechselwirkungen zwischen Calcium und Zink, muß in diesem Zusammenhang auch auf die negativen Einflüsse von Calcium auf die Zinkverfügbarkeit in phytathaltigen Rationen hingewiesen werden.

Dies wurde von Oberleas et al. bereits 1962 nachgewiesen, die bei Schweinen durch Verfütterung einer phytathaltigen Ration, eine durch Zinkmangel bedingte Parakeratose feststellen konnten. Wurden die Tiere auf hohem Calciumniveau versorgt, konnten sie zusätzlich eine stärkere Wachstumsdepression feststellen, als auf niederem Calciumniveau.

Somit beeinflußt der Calciumgehalt des Futters die Bioverfügbarkeit von Zink in additiver Wirkung zum Phytat (Oberleas et al., 1966 a, b). Dies läßt sich auf eine, die Präzipitation von unlöslichem Calcium-Zink-Phytat fördernde Wirkung der Calcium-Ionen zurückführen, was durch in vitro Versuche von Oberleas et al. (1966 a) nachgewiesen wurde.

3 Eigene Untersuchungen

3.1 Material und Methoden

3.1.1 Versuchstiere und Versuchsaufbau

Für den Versuch standen 80 Böрге der Rasse DL x Pit. aus privater Zucht (R. Kolb, Brachbach) mit einem mittleren Anfangsgewicht von $16,7 \pm 0,9$ kg zur Verfügung. 72 Tiere wurden zu je 8 auf 9 Versuchsgruppen verteilt und einzeln aufgestellt. Aufgrund der hohen Tierzahl mußte der Versuch in vier Wiederholungen mit je 20 Tieren durchgeführt werden. Zu Beginn jeder Wiederholung wurden zwei Tiere zur Ermittlung der Ausgangsbelastung mit Schwermetallen geschlachtet (Nullgruppe).

Die Versuchsrationen bestanden aus einer einfachen Gerste/Soja-Mischung, unter Zusatz von Mineral- und Wirkstoffen (Tabelle 1). Den Versuchsaufbau zeigt Abbildung 1.

Nullgruppe Schlachtung zu Versuchsbeginn		
Gruppe 1 unbelastete Ration ohne Zusatz mikrobieller Phytase; 6 g Ca/kg		
Ca	native Belastung der Ration	künstliche Belastung der Ration
6 g/kg	Gruppe 2 ohne Zusatz von mikrobieller Phytase	Gruppe 4 ohne Zusatz von mikrobieller Phytase
	Gruppe 3 + 800 U mikrobielle Phytase	Gruppe 5 + 800 U mikrobielle Phytase
12 g/kg	Gruppe 6 ohne Zusatz von mikrobieller Phytase	Gruppe 8 ohne Zusatz von mikrobieller Phytase
	Gruppe 7 + 800 U mikrobielle Phytase	Gruppe 9 + 800 U mikrobielle Phytase

Abbildung 1: Versuchsaufbau

Die Gruppe 1 erhielt als Kontrollgruppe eine unbelastete Ration mit üblicherweise anzutreffenden Cd-, Pb- und Zn-Konzentrationen (pro kg TS: 0,03 mg Cd, 0,3 mg Pb, 34,2 mg Zn), üblicher Ca-Konzentration (6 g/kg) und ohne Zusatz mikrobieller Phytase. Die Gruppen 2, 3, 6 und 7 bzw. 4, 5, 8 und 9 bekamen schwermetallangereicherte

Rationen, entweder über eine auf einem belasteten Standort im Raum Freiberg/Sachsen aufgewachsene Gerste, im folgenden als „native“ Belastung bezeichnet, bzw. über Zusätze von Schwermetallsalzen (CdCl_2 , $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$, ZnSO_4) in derselben Höhe zu einer unbelasteten Gerste, im folgenden als „künstliche“ Belastung bezeichnet. Bei jeweils der Hälfte der Gruppen beider Belastungsreihen wurde die Ca-Konzentration der Rationen mit CaCO_3 auf 6 (Gruppen 2 und 3 bzw. 4 und 5) bzw. 12 g/kg (Gruppen 6 und 7 bzw. 8 und 9) eingestellt. Zusätzlich erhielt jeweils eine Gruppe jeder Belastungsreihe und Ca-Stufe einen Zusatz von 800 U mikrobieller Phytase pro kg TS (Gruppen 3 und 7 bzw. 5 und 9).

Die Tiere wurden mit durchschnittlich 82 g/kg $W^{0,75}$ restriktiv gefüttert, um eine vollständige Futteraufnahme zu garantieren. Die Tagesrationen wurden in zwei Mahlzeiten, jeweils um 8.00 Uhr und 16.00 Uhr, verabreicht. Trinkwasser stand in Form von Leitungswasser ad libitum zur Verfügung. Der Blei-, Cadmium- und Zinkgehalt des Leitungswassers lag unter der Nachweisgrenze.

Um den Einfluß der Expositionsdauer zu erfassen, wurden die Tiere 1 bis 4 jeder Gruppe mit 30 kg, die Tiere 5 bis 8 mit 50 kg geschlachtet und die Leber, beide Nieren, Muskulatur des linken Unterarmes und der rechte Fuß zur Präparation der Phalanx 1 entnommen.

3.1.2 Herstellung und Zusammensetzung der Rationen

Da die Rationen für die einzelnen Versuchsgruppen im Mittel gleiche Schwermetallbelastungen aufweisen sollten, wurden zunächst die Einzelkomponenten (unbelastete und belastete Gerste, Sojaextraktionsschrot) auf ihren Cd-, Pb- und Zn-Gehalt untersucht (s. Anhang, Tabelle I). Um eine möglichst homogene Verteilung der in die Rationen mit künstlicher Belastung einzubringenden geringen Mengen an Cd- und Pb-Verbindungen zu erreichen, wurden die benötigten Mengen an Cadmiumchlorid ($\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, p.a.: Fa. Merck, Darmstadt, Nr. 2011) und Bleiacetat ($\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, p.a.: Fa. Merck, Darmstadt, Nr. 7375) in aqua bidest. gelöst und in aufgeschlammte Cellulose (Cellulosepulver, Nr. 023 Fa. Schleicher und Schuell, Dassel) eingerührt. Die Aufschlammung wurde gefriergetrocknet und anschließend in einer Mörsermühle fein pulverisiert. Im Mittel von 4 Wiederholungen wies die Cd/Pb-Cellulose-Mischung $3,59 \pm 0,06$ mg Cd und $8,185 \pm 0,09$ mg Pb pro g TS auf. Sie wurde in der zur Anhebung der Cd- und Pb-Konzentrationen auf das Niveau der belasteten Gerste benötigten Menge ($0,157$ g/kg Endmischung) über die Mineral- und Wirkstoffmischung in die Rationen 4, 5, 8 und 9 eingemischt.

Die Herstellung aller Mineral- und Wirkstoffmischungen, sowie aller Rationen, erfolgte in institutseigenen Mischanlagen der Fa. Loedige, Paderborn.

Die Zusammensetzung der Basalration zeigt Tabelle 1.

Mit den Mischungen für die Rationen 4, 5, 8 und 9 wurde eine Anhebung der Cd-, Pb- und Zn-Konzentrationen der unbelasteten Gerste (0,02 mg Cd, 0,18 mg Pb, 25,0 mg Zn/kg TS) auf das Niveau der belasteten Gerste (1,11 mg Cd, 2,67 mg Pb, 66,9 mg Zn) angestrebt.

Über die Mischungen für die Rationen 3, 5, 7 und 9 erfolgte ein Zusatz von 800 U/kg mikrobieller Phytase (Natuphos^R 5000, BASF AG Ludwigshafen). Durch die Mischungen für die Rationen 1, 2, 3, 4 und 5 bzw. 6, 7, 8 und 9 wurde eine Anhebung der Ca-Konzentration auf 6 bzw. 12 g/kg erreicht (CaCO₃: Kohlensaurer Futterkalk des Handels).

Zur Bedarfsdeckung und zum Ausgleich der Unterschiede in den Lysin-Konzentrationen beider Gersten wurden die Rationen 1, 4, 5, 8 und 9 bzw. 2, 3, 6 und 7 über die entsprechenden Vormischungen mit 1,5 bzw. 0,9 g Lysin pro kg ergänzt (L-Lysin-Monohydrochlorid: Eurolysine S.A., Amiens Cedex L).

Tabelle 1: Zusammensetzung der Basalration

Komponenten	g/kg
Gerste	770
Sojaextraktionsschrot	190
Mineral- und Wirkstoffmischung ¹	40

¹ Um den teilweise unterschiedlichen Anforderungen an die Zusammensetzung der Rationen zu entsprechen bzw. unterschiedliche Gehalte der belasteten und unbelasteten Gerste auszugleichen, wurden 9 verschiedene Mineral- und Wirkstoffmischungen hergestellt, die sich in ihrem Gehalt an Cd, Pb, Zn, Ca, mikrobieller Phytase und Lysin unterschieden. Sie gewährleisteten andererseits dieselbe Versorgung mit Vitaminen, Virginiamycin, BHT, Se, J und Na. Die Mischungen wurden mit Maisstärke (Cerestar GL 03402, Cerestar Deutschland GmbH, Krefeld) zum Kilo ergänzt.

Alle Rationen enthielten über die Mineral- und Wirkstoffmischungen die in Tabelle 2 angegebenen Zusätze.

Tabelle 2: Über die Mineral- und Wirkstoffvormischung in die Rationen eingebrachte Zusätze pro kg¹

Komponente		
Vitamin A	IE	18000
Vitamin D ₃	IE	2000
Vitamin E	mg	30
Vitamin K	mg	3
Vitamin B ₁	mg	3
Vitamin B ₂	mg	13
Vitamin B ₆	mg	10
Vitamin B ₁₂	µg	50
Nikotinsäure	mg	70
Panthothensäure	mg	30
Folsäure	mg	1
Biotin	mg	0,5
Cholin	mg	600
Virginiamycin	mg	50
BHT	mg	150
Zn	mg	27,1
Na	g	1,5
Se	mg	0,2
J	mg	0,2

¹ Vitamine, Virginiamycin, BHT: Fa. Animedica, Horb/Neckar.
 NaCl: Viehsalz des Handels.
 ZnSO₄•7H₂O, p.a.: Fa. Merck, Darmstadt, Nr. 8883.
 Na₂SeO₃•5H₂O, p.a.: Fa. Merck, Darmstadt, Nr. 6607.
 KJ, p.a.: Fa. Merck, Darmstadt, Nr. 5403.

3.1.3 Gewinnung und Aufbereitung der Proben für die Mineralstoff- und Spurenanalytik

3.1.3.1 Organe

Für die Entnahme der Organe wurden bei der Schlachtung Edelmessers verwendet. Anschließend wurde mit Hilfe eines Skalpell Bindegewebe und Fett abpräpariert. Die Leber und beide Nieren wurden nachfolgend gewogen (Einzelwerte s. Anhang, Tabelle VI und Tabelle VII).

Der Vorderfuß wurde bei 80 °C 2 h autoklaviert. Danach wurde anhängendes Gewebe abpräpariert, die Phalanx 1 entnommen und gewogen (Einzelwerte s. Anhang, Tabelle VIII).

Das Gewebe von Leber, Muskel und beiden Nieren wurde nachfolgend grob zerkleinert, in Petrischalen eingewogen, tiefgefroren und für die Bestimmung der lufttrockenen Substanz 12-24 Stunden lyophilisiert (Gefriertrocknung, Edwards, Modell 12 K Supermodulyo Freeze Dryer). Bei den Nieren erfolgte keine getrennte Aufarbeitung von Mark und Rinde.

Das getrocknete Material wurde in einer quarzbeschichteten Mörsermühle (Pulverisette, Fa. Fritsch Typ 02.102, Nr. 3209) mindestens 15 min zu einem feinen, homogenen Pulver vermahlen.

Für die Restwasserbestimmung wurde ca. 1 g in Trockensubstanzgläser eingewogen und 4 h bei 84 °C und 100 Torr im Vakuumtrockenschrank (Heraeus RVT 360) getrocknet.

Der Aufschluß der lufttrockenen Substanz erfolgte in einer Druckaufschlußapparatur nach Tölg. Hierzu wurden ca. 0,3 g des Materials auf einer Analysenwaage (Sartorius, Genauigkeit: $\pm 0,1$ mg) in 50 ml PTFE-Aufschlußgefäße eingewogen und nach Zugabe von 4 ml konzentrierter Salpetersäure (70 %, suprapur, Fa. Baker Nr. 9598-53) bei 180 °C über 4 Stunden aufgeschloßen. Nach Beendigung des Aufschlusses wurden die Gefäße geöffnet und ca. 30 min auf einer Heizplatte bei 50 °C zur Entfernung der beim Aufschluß entstehenden nitrosen Gase abgeraucht. Die klaren Aufschlußlösungen wurden nachfolgend unter einer Clean Banch in Messkolben überführt. Die Aufschlüsse der Muskeln wurden in 10 ml Meßkolben, die der Lebern und Nieren in 25 ml Meßkolben aufgenommen, wobei mit 10 %-iger Salpetersäure eine Säurekonzentration von 1 % HNO_3 eingestellt wurde, um die Probenlösungen zu stabilisieren.

Die Trockensubstanzbestimmung in den Knochen erfolgte über 4 Stunden bei 103 °C in einem Trockenschrank (Heraeus). Für die Aschebestimmung wurden die Proben 24 Stunden bei 450 °C im Muffelofen verascht und die Asche durch Wägung bestimmt. Für die Erstellung der Probenlösungen wurde ein Knochen in Porzellantiegel eingewogen und ca. 12 Stunden bei 450 °C im Muffelofen verascht. Im Anschluß wurde das Material mit konzentrierter Salzsäure (37 %, suprapur, Fa. Baker Nr. 9530-53) auf einem Wasserbad abgeraucht. Der Inhalt der Ascheschalen wurde über einen aschefreien Filter mit bidestilliertem Wasser in einen 200 ml Meßkolben überspült. Der Filter wurde nachfolgend weitere 12 Stunden verascht, wiederum mit konzentrierter Salzsäure abgeraucht und der Rückstand in den Meßkolben überführt. Diese Behandlung wurde solange wiederholt, bis der Filter rückstandsfrei war. In den so erstellten Lösungen wurde ebenfalls mit 10 %-iger Salpetersäure eine Säurekonzentration von 1 % HNO_3 eingestellt.

3.1.3.2 Futtermittel und Futtermischungen

Die Probenahme erfolgte nach Vorschrift des VDLUFA (Naumann und Bassler, 1976). Die Proben wurden mit einem Probenahmestock aus den Futtermitteln und den Futtermischungen gezogen. Zunächst wurde eine Sammelprobe erstellt, die durch

Ausvierteln zu einer Analysenprobe reduziert wurde.

Die Futterproben wurden in einer edelstahlbeschichteten Schwingscheibenmühle (Fa. Loedige) staubfein vermahlen.

Für die Bestimmung der Trockensubstanz der Proben wurden 10 g Futtermittel in Trockensubstanz-Bestimmungsschalen eingewogen und für 4 h bei 103 °C in einen Trockenschrank (Heraeus) verbracht.

Für den Aufschluß der Proben wurden 10 g eingewogen. Der Aufschluß erfolgte, wie bereits für die Knochen beschrieben, ebenfalls durch trockene Veraschung im Muffelofen unter denselben Bedingungen, so daß weitere Ausführungen hierzu entfallen können. Die Aufschlüsse wurden in 250 ml Messkolben aufgenommen und ebenfalls eine Säurekonzentration von 1 % HNO₃ eingestellt.

3.2 Bestimmung der Mineralstoffe und Spurenelemente

3.2.1 Verwendete Reagenzien und Reinigung der Laborgeräte

Um die vor allem in der Spurenanalytik bestehende Kontaminationsgefahr, insbesondere durch ubiquitär vorkommende Elemente wie Blei, möglichst gering zu halten, wurden für die Herstellung sämtlicher Probe-, Mess- und Bezugslösungen nur Chemikalien mit dem Reinheitsgrad suprapur und bidestilliertes Wasser, das laufend in einer Quarzdestillationsapparatur aus deionisiertem Wasser hergestellt wurde, verwendet.

Für die Bestimmung aller Elemente diente jeweils eine Stammlösung der Konzentration 1 g/l in 1 %-iger HNO₃ (Titrisol, Merck). Aus dieser Stammlösung wurden über mehrere Zwischenverdünnungen Bezugslösungen erstellt, deren Konzentrationen innerhalb des linearen Bereichs der Messgeräte lagen.

Sämtliche Laborgeräte wurden zunächst in einer Spülmaschine mit handelsüblichen Reinigungsmitteln, in einem anschließenden Spülgang zusätzlich mit EDTA gereinigt. Anschließend wurden die Geräte mit bidestilliertem Wasser nachgespült und in verdünnter Salzsäure (5 %) aufbewahrt. Kurz vor Gebrauch wurde nochmals mit bidestilliertem Wasser nachgespült.

Die PTFE-Aufschlußgefäße wurden ebenfalls mit bidestilliertem Wasser vorgespült und mit verdünnter Salzsäure befüllt, die nach 12 h gewechselt wurde. Anschließend wurde auch hier mit bidestilliertem Wasser nachgespült. Vor der Verwendung für die Aufschlüsse der Proben wurden Blindaufschlüsse durchgeführt und der Spülvorgang im Fall einer Kontamination wiederholt.

Die PTFE-Behälter für den Autosampler des AAS-Gerätes mit Graphitrohrküvette wurden vor der Verwendung in verdünnter Salzsäure kurz aufgekocht und danach mehrfach mit bidestilliertem Wasser gespült.

3.2.2 Messung am Atomabsorptionsspektralphotometer mit Graphitrohrküvette

Die Cadmium- und Bleibestimmung in Futter, Leber, Muskel und Knochen erfolgte mit Hilfe der flammenlosen Atomabsorption an einem Atomabsorptionsspektralphotometer der Fa. Perkin Elmer mit Zeeman Untergrundkompensation (Modell 3030 Zeeman) und HGA-Graphitrohrküvette (HGA 600, Fa. Perkin Elmer). In die pyrolytisch beschichteten Graphitrohre (Pyrographitrohr, B010-9322, Fa. Perkin Elmer) wurde eine L'vov Plattform (B010-9324, Fa. Perkin Elmer) eingesetzt, um bei der Messung thermisch stabile Bedingungen zu erhalten (STPF-Prinzip, Stabilized Temperature Platform Furnace).

Über einen Autosampler (AS 60, Fa. Perkin Elmer) wurde ein Probenvolumen von 20 µl eingespritzt.

Cadmium wurde auf der Resonanzlinie bei 228,8 nm, Blei bei 283,3 nm vermessen.

Als Strahlungsquellen wurden Hohlkathodenlampen eingesetzt (HKL-Intensitron, Fa. Perkin Elmer). Der Lampenstrom betrug bei Blei 10 mA, bei Cadmium 4 mA.

Die spektrale Spaltbreite des Monochromators wurde sowohl bei Blei als auch bei Cadmium auf 0,7 nm eingestellt.

Als Inertgas diente Argon (Argon 99,998 %, Sauerstoffwerk Friedrichshafen GmbH).

Das Meßsignal wurde über eine Peakflächenintegration ausgewertet, wobei jeweils drei Einzelmessungen erfolgten, aus denen ein Mittelwert gebildet wurde. Die Messzeit betrug sowohl bei Blei als auch bei Cadmium 3 s.

Das Abdampfen des Lösungsmittels, die thermische Vorbehandlung und die Atomisierung der Probe im Graphitrohr wird elektronisch gesteuert. Tabelle 3 und Tabelle 4 zeigen die hierfür eingesetzten Temperatur-, Zeitprogramme.

Tabelle 3: Temperatur-, Zeitprogramm für die Cadmiumbestimmung mit Graphitrohr-AAS

Stufe Nr.	Ofen Temp. °C	Ramp s	Hold s	Gasströmung ml/min	Read
1	90	5	20	300	---
2	130	25	20	300	---
3	630	20	15	300	---
4	1800	0	3	0	*
5	2500	1	4	300	---
6	20	1	10	300	---

* Auswertung der Atomisierungsstufe

Tabelle 4: Temperatur-, Zeitprogramm für die Bleibestimmung mit Graphitrohr-AAS

Stufe Nr.	Ofen Temp. °C	Ramp s	Hold s	Gasströmung ml/min	Read
1	90	5	20	300	---
2	130	25	20	300	---
3	600	30	25	300	---
4	600	1	5	0	---
5	1600	0	3	0	*
6	2650	1	4	300	---
7	20	1	10	300	---

* Auswertung der Atomisierungsstufe

Zur Matrixmodifikation wurden sämtlichen Mess- und Bezugslösungen je ml 10 µl 1 %-iges KH_2PO_4 (Kaliumdihydrogenphosphat, suprapur, Merck Art. Nr. 5108) und 20 µl 10 %-iges $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ (Ammoniumdihydrogenphosphat, suprapur, Merck Art. Nr. 1440) zugegeben.

Bei der Vermessung der Knochen wurde zusätzlich Palladium zur Matrixmodifikation verwendet. Pro ml Messlösung wurden 50 µl Palladium-Modifizier zugesetzt. Der Modifizier wurde aus 300 mg Palladium-Metallpulver (Fa. Ventron, Karlsruhe, Art. Nr. 400030), das in wenig konzentrierter HNO_3 gelöst und in einem Volumen von 100 ml aufgenommen wurde, hergestellt.

3.2.3 Messung am Atomabsorptionsspektrophotometer in der Luft-Acetylen Flamme

Na, K, Ca, Mg, Zn, Fe, Cu und Mn im Futter, Zn in allen untersuchten Organen sowie Cd in den Nieren und Calcium in den Knochen, wurde an einem Atomabsorptionsspektrophotometer in einer oxidierenden Luft-Acetylen Flamme (AAS 3030,

Fa. Perkin Elmer) bestimmt. Im kontinuierlichen Messbetrieb erfolgten jeweils drei Einzelmessungen, aus denen ein Mittelwert gebildet wurde.

Na und K wurden in 1 %-iger HNO_3 ohne Zusatz eines spektrochemischen Puffers, nach entsprechender Verdünnung, mittels Atomemission gemessen.

Die anderen Elemente wurden im Messbetrieb Atomabsorption vermessen.

Als Strahlungsquellen dienten auch hier Hohlkathodenlampen (HKL-Intensitron, Fa. Perkin Elmer).

Für die Bestimmung von Ca und Mg wurde den 1 % salpetersauren Mess- und Bezugslösungen 1/5 des Volumens, für die Bestimmung von Cu, Fe, Zn und Mn 1/10 des Volumens, 5 %-ige Lanthanlösung in 0,5 n HCl zugesetzt. Die Lösung wurde aus Lanthanoxid (Riedel de Haen, Art. Nr. 10573) durch Zugabe von konz. suprapurer HCl hergestellt.

3.2.4 Messung am Photometer

Nur Phosphor im Futter und Knochen wurde photometrisch nach der Vanadat-Molybdat-Methode bestimmt (Naumann und Bassler, 1976). Die Proben wurden hierzu verdünnt und in salpetersaurer Lösung (5 %) kurz aufgeköcht. Anschließend wurde Vanadat-Molybdat Reagenz im Überschuß zugegeben. Hierbei bildet sich ein gelb gefärbter Komplex, dessen Extinktion bei 436 nm am Photometer gemessen wurde.

3.2.5 Überprüfung der Richtigkeit der Analysenverfahren

Die Überprüfung der Richtigkeit der Spurenelementbestimmung erfolgte mit Hilfe von Standardreferenzmaterialien, in denen die Elementgehalte zertifiziert sind und die regelmäßig den gesamten Analysengang, entsprechend den zu bestimmenden Proben, durchliefen. Hierzu wurde eine Rinderleber (Bovine Liver Nr. 1577 a) des National Bureau of Standards (NBS) und eine Grünalge (Chlorella) des National Institute for Environmental Studies (NIES) verwendet. Die in der Trockensubstanz zertifizierten Elementgehalte, sowie die aus zehn durchgeführten Einzelbestimmungen errechneten Mittelwerte, sind in Tabelle 5 aufgeführt (Einzelwerte s. Anhang Tabelle II und Tabelle III).

Tabelle 5: Zertifizierte und tatsächlich bestimmte Elementgehalte in den Standardreferenzmaterialien Chlorella und Bovine Liver

Element	Chlorella		Bovine Liver	
	zertifiziert	gemessen	zertifiziert	gemessen
Pb mg/kg	0,60	0,62 ± 0,01	0,135 ± 0,015	0,14 ± 0,01
Cd mg/kg	0,026	0,03 ± 0,01	0,44 ± 0,06	0,47 ± 0,01
Zn mg/kg	20,5 ± 1	20,0 ± 0,31	123 ± 8	120 ± 0,74

3.2.6 Nachweis- und Bestimmungsgrenzen

Nachweis- und Bestimmungsgrenzen für die Messlösungen wurden nach der deutschen Norm für die Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenzen (Deutsche Norm, 1994) ermittelt. Hierzu wurde aus Leerwerten die Nachweisgrenze als doppelte Verfahrensstandardabweichung berechnet (Schnellschätzung der Nachweisgrenze). Die Bestimmungsgrenze wurde durch Multiplikation der Nachweisgrenze mit dem Faktor 3 festgelegt. Tabelle 6 zeigt Nachweis- und Bestimmungsgrenzen für die einzelnen Elemente die mittels Atomabsorptionsspektrometrie vermessen wurden.

Tabelle 6: Nachweis- und Bestimmungsgrenzen (in den Messlösungen) der einzelnen Elemente für die Messung mittels flammenloser Atomabsorptionsspektrometrie (G-AAS) und Atomabsorptionsspektrometrie in der Luft-Acetylen Flamme (F-AAS)

Element	Nachweisgrenze		Bestimmungsgrenze	
	G-AAS	F-AAS	G-AAS	F-AAS
Cd	0,03 µg/l	0,02 mg/l	0,09 µg/l	0,06 mg/l
Pb	0,09 µg/l	-----	0,27 µg/l	-----
Zn	-----	0,01 mg/l	-----	0,03 mg/l

3.3 Rohnährstoff-, Energie- und Aminosäurenbestimmung im Futter

Rohasche, Rohprotein, Rohfett und Rohfaser wurden nach dem Weender Verfahren bestimmt und die N-freien Extraktstoffe aus der Differenz zwischen organischer Substanz und Rohprotein, Rohfett und Rohfaser errechnet.

Die Bruttoenergie wurde durch Verbrennung einer ca. 1 g schweren Futterpille unter Sauerstoffsättigung in einem adiabatischen Bombenkalorimeter (IKA-Kalorimeter, C 400) ermittelt.

Die Aminosäurenbestimmung wurde mit Hilfe eines Aminosäurechromatographen (Biotronik Eppendorf LC 2000) durchgeführt. Nach saurer Hydrolyse erfolgte eine Trennung an einer Kationenaustauschersäule mit nachfolgender Derivatisierung mit Ninhydrin und Messung an einem UV-Vis Detektor.

3.4 Bestimmung der Phytaseaktivität und des Phytatgehaltes

Für die Bestimmung der Phytaseaktivität wurden jeweils 1 g des fein vermahlenden Probenmaterials (≤ 1 mm) für Probenleerwert und Probe in einen 50 ml Messkolben eingewogen und mit 10 ml eines 0,25 M Citrat/NaOH-Puffers (pH 5,5) 5 min in einem Schüttelwasserbad vorinkubiert. Der Probenleerwert wurde durch Zugabe von 1,6 ml 10 n HCl gestoppt, die Probe nach Substratsättigung mit 10 ml vorgewärmter Na-Phytatlösung (Sigma Chemical, P-8810) 60 min weiter inkubiert. Dann wurde die Enzymreaktion durch Zugabe von 1,6 ml 10 n HCl gestoppt. Nach Auffüllen zur Marke mit aqua dest. wurde das Protein ausgefroren und anschließend bei 5000 U/min zentrifugiert. In 0,5 ml des klaren Überstandes wurde der freigesetzte P nach der Methode von Heinonen und Lahti (1981) bestimmt. Aus der Differenz der P-Gehalte von Probe und Probenleerwert wurde die durch die Phytase in 60 min freigesetzte P-Menge ermittelt und in Einheiten (U) umgerechnet ($1 \text{ U} = 1 \text{ mMol P} \times \text{min}^{-1} \times \text{g}^{-1}$).

Die Phytatbestimmung erfolgte nach der Methode von Harland und Oberleas (1986), bei der die Phytinsäure nach saurer Extraktion durch Anionenaustausch-Chromatographie bei pH 6 (Verhinderung von Phytinsäure-Protein-Komplexen) und in Gegenwart von EDTA (Verhinderung von Phytinsäure-Metall-Komplexen) vom anorganischen Phosphat abgetrennt und nach nassem Aufschluß eine P-Bestimmung (Vanadat-Molybdat-Methode) durchgeführt wird.

Hierfür wurden ca. 3 g Probenmaterial in 100 ml Messkolben eingewogen, mit 50 ml 2,4 %-iger HCl versetzt und 3 h bei Raumtemperatur durch Schütteln extrahiert. Anschließend wurde mit bidest. Wasser bis zur Marke aufgefüllt und bei 5000 U/min abzentrifugiert.

Zu 1 bis 4 ml Extrakt wurden 1 ml EDTA/NaOH-Lösung (10,23 g Na_2EDTA , p.a. Merck Nr. 8418 und 7,50 g NaOH, p.a., mit bidest. Wasser in 250 ml Messkolben gelöst) zugegeben, mit bidest. Wasser auf ein Volumen von ca. 20 ml aufgefüllt und mit 1 M NaOH ein pH-Wert von 6 eingestellt.

Diese Lösung wurde quantitativ auf Econo-Säulen (Fa. Biorad), die mit ca. 0,5 g Anionenaustauschharz befüllt wurden (AG1-X8, Chlorid-Form, 200-400 mesh, Fa. Biorad, Nr. 140-1451; das Harz wurde zuvor mit 15 ml 0,5 M NaCl-Lösung äquilibriert und mit 15 ml bidest. Wasser gewaschen), aufgetragen. Zunächst wurde mit 15 ml dest. Wasser, nachfolgend mit 15 ml 0,1 M NaCl-Lösung eluiert. Diese Eluate wurden verworfen. Im Anschluß wurde mit 0,5 M NaCl-Lösung eluiert und das Eluat in 50 ml PTFE-Aufschlußgefäßen aufgefangen. Der Aufschluß erfolgte mit 1 ml $\text{HNO}_{3\text{konz.}}$ in einer Druckaufschlussapparatur nach Tölg. Die P-Bestimmung in der Aufschlußlösung

erfolgte mit Hilfe der Vanadat-Molybdat-Methode.

3.5 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Programm SAS für Windows (Ver. 6.08).

Es wurde zunächst eine vierfaktorielle Varianzanalyse mit den Faktoren Gewicht, Schwermetallbelastung, Phytase und Calcium durchgeführt.

Die Unterschiede zwischen den Gruppenmittelwerten wurden mit dem Scheffe Test auf ihre Signifikanz für Irrtumswahrscheinlichkeiten $p \leq 0,05$ geprüft. In den Tabellen sind die Gruppenmittelwerte mit ihren Standardabweichungen dargestellt.

Um Effekte der Expositionszeit zu ermitteln, wurde im Anschluß eine Korrelationsanalyse durchgeführt und eine lineare Regression berechnet.

3.6 Ergebnisse

3.6.1 Versuchsverlauf

Während des Versuchs musste ein Tier aufgrund einer Lungenentzündung eingeschläfert werden. Weitere Tierverluste oder Krankheiten traten nicht auf. Die übrigen Tiere zeigten während des Versuchs ein gutes Allgemeinbefinden.

3.6.2 Chemische Analyse der Versuchsrationen

Die Versuchsdiäten wurden auf ihre Gehalte an Rohnährstoffen, Bruttoenergie, Mineralstoffen und Spurenelementen, Aminosäuren, Phytat und Phytaseaktivität untersucht (Tabelle 7 bis Tabelle 9).

Tabelle 7: Rohnährstoffe und Bruttoenergie (pro kg TS¹)

	Gr. 1	Gr. 2	Gr. 3	Gr. 4	Gr. 5	Gr. 6	Gr. 7	Gr. 8	Gr. 9
XA g	52,5	46,3	46,6	51,5	50,8	60,6	61,6	65,3	66,8
XL g	15,1	16,1	15,2	14,1	13,7	14,3	12,7	13,3	12,7
XP g	183,8	209,0	204,4	185,1	184,2	207,1	205,3	182,7	177,2
XF g	54,8	58,9	58,2	56,3	53,5	54,7	52,8	52,8	56,1
NfE g	693,9	669,8	675,8	693,1	697,8	663,4	667,7	686,0	687,2
XS g	475,7	475,6	475,8	475,7	475,7	475,8	475,8	475,6	475,5
XZ g	41,8	41,8	41,7	41,8	41,9	41,7	41,9	41,8	41,7
OS g	947,5	953,8	953,5	948,5	949,3	939,4	938,4	934,7	933,2
OR g	176,3	152,4	158,2	175,5	180,3	145,8	149,9	168,5	170,0
GE MJ	18,20	18,48	18,45	18,17	18,20	18,13	18,10	17,90	17,85
ME MJ/kg ²	14,1	14,5	14,4	14,1	14,1	14,4	14,3	14,0	13,8

¹TS: Gruppe 1 bis 9 (%): 88,19; 88,38; 88,37; 88,20; 88,16; 88,39; 88,25; 88,33; 88,21.

²berechnet nach Kirchgessner und Roth (1983): ME (MJ/kg) = 0,0223 XP + 0,0341 XL + 0,017 XS + 0,0168 XZ + 0,0074 OR - 0,0109 XF

Tabelle 8: Mineralstoffe, Spurenelemente, Schwermetalle, Gesamt-Phytaseaktivität (mikrobielle und pflanzliche Phytase) und Phytat-P (pro kg TS¹)

	Gr. 1	Gr. 2	Gr. 3	Gr. 4	Gr. 5	Gr. 6	Gr. 7	Gr. 8	Gr. 9
Na g	1,74	1,97	1,73	1,72	1,65	1,54	1,65	1,61	1,66
K g	9,21	7,98	7,96	8,52	8,41	6,88	7,53	8,15	8,15
Ca g	5,96	6,95	6,88	6,69	6,73	12,6	13,2	13,7	13,8
Mg g	1,48	1,41	1,40	1,49	1,48	1,34	1,33	1,48	1,47
ges. P g	4,63	4,02	3,97	4,55	4,56	3,95	3,64	4,46	4,36
Phyt.-P g	1,85	1,50	1,79	1,94	2,30	1,55	1,45	1,86	2,25
Cu mg	7,84	9,44	8,44	8,19	7,49	8,28	7,57	8,02	7,92
Fe mg	222,4	137,1	129,7	197,1	178,8	148,5	140,0	226,4	216,1
Mn mg	27,7	21,9	21,4	25,3	23,8	22,5	21,7	26,0	25,9
Zn mg	34,2	57,9	56,1	51,2	50,9	55,9	51,9	58,1	63,4
Cd mg	0,03	0,82	0,82	0,74	0,69	0,77	0,72	0,80	0,84
Pb mg	0,30	0,95	1,09	1,77	1,89	1,00	0,88	2,04	1,97
Phytase-akt. U	499	404	1215	539	1469	348	1174	506	1434

¹TS: siehe Tabelle 7**Tabelle 9:** Aminosäuren (pro kg TS¹)

	Gr. 1	Gr. 2	Gr. 3	Gr. 4	Gr. 5	Gr. 6	Gr. 7	Gr. 8	Gr. 9
Cys g	3,5	3,7	3,6	3,3	3,2	3,5	3,4	3,2	3,1
Asp g	15,7	16,6	16,4	15,8	15,5	16,5	16,2	15,1	15,5
Met g	2,3	2,5	2,5	2,3	2,1	2,5	2,4	2,3	2,1
Thr g	6,4	7,2	7,2	6,3	6,2	7,0	7,0	6,2	6,2
Ser g	8,6	9,7	9,7	8,8	8,6	9,8	9,5	8,5	8,5
Glu g	34,1	39,5	39,4	34,3	34,0	39,6	39,4	33,9	33,6
Gly g	7,5	8,3	8,0	7,4	7,4	7,9	7,9	7,2	7,1
Ala g	7,7	8,3	8,3	7,8	7,7	8,2	7,9	7,3	7,3
Val g	7,7	8,4	8,5	7,8	8,0	8,5	8,3	7,7	7,9
Ile g	6,6	7,0	7,1	6,8	6,7	7,2	7,0	6,4	6,5
Leu g	12,6	14,0	13,8	12,7	12,6	14,0	13,8	12,3	12,3
Tyr g	5,1	5,8	5,4	5,0	5,1	5,7	5,6	4,9	5,0
Phe g	8,5	9,9	9,7	8,9	8,8	9,8	10,0	8,6	8,8
Lys g	10,8	10,2	10,1	10,4	10,6	10,1	10,1	10,0	10,3
His g	4,4	5,0	4,9	4,5	4,5	4,9	4,8	4,3	4,4
Arg g	10,6	11,2	11,2	10,7	10,8	11,2	11,1	10,2	10,3

¹TS: siehe Tabelle 7

Pb-, Zn-, Ca-, Phytase- und Lysinwerte, stimmen mit Ausnahme der zu tiefen Pb-Werte in den Futtermischungen mit „nativer“ Pb-Belastung (Gruppen 2, 3, 6 und 7), gut mit den erwarteten Werten überein. Trotz mehrfacher und gut übereinstimmender Pb-Bestimmungen in der „nativ“ belasteten Gerste muß der ermittelte Durchschnittswert

von $2,67 \pm 0,32$ mg Pb/kg TS zu hoch sein, weshalb bei den künstlich belasteten Rationen ein zu hoher Bleizusatz erfolgte.

3.6.3 Expositionszeit und Gewichtsentwicklung

Das mittlere Anfangsgewicht der für den Versuch zur Verfügung stehenden Tiere betrug 16,7 kg. Die Tiere im Gewichtsabschnitt bis 30 kg erreichten nach durchschnittlich 40,3 Tagen ein mittleres Endgewicht von 30,9 kg. Das mittlere Endgewicht aller Tiere im Gewichtsabschnitt bis 50 kg betrug 50,9 kg und wurde im Mittel nach 80,9 Tagen erreicht (s. Tabelle 10). Die Expositionszeiten und Gewichte der einzelnen Tiere sind in Tabelle IV und Tabelle V, Anhang aufgeführt.

Die täglichen Zunahmen sind aufgrund der restriktiven Fütterung relativ gering. Ein signifikanter Einfluß der Schwermetallbelastung oder des Phytasezusatzes auf die täglichen Zunahmen ist nicht festzustellen. Es besteht aber die Tendenz zu geringeren Zunahmen bei den Ca-supplementierten Gruppen 6, 7, 8 und 9 im Gewichtsabschnitt bis 50 kg, bei den Gruppen 8 und 9 auch im Gewichtsabschnitt bis 30 kg.

Tabelle 10: Expositionszeit und Gewichtsentwicklung

	Gewichtsabschnitt bis 30 kg		Gewichtsabschnitt bis 50 kg	
	Expositionszeit d	Zunahme g/d	Expositionszeit d	Zunahme g/d
Gruppe 1	$38,8 \pm 2,22$	$353,4 \pm 25,0$	$76,5 \pm 4,36$	$461,0 \pm 26,9$
Gruppe 2	$38,8 \pm 2,22$	$347,4 \pm 35,2$	$78,0 \pm 6,16$	$430,2 \pm 36,2$
Gruppe 3	$38,8 \pm 2,22$	$347,1 \pm 43,2$	$80,8 \pm 3,50$	$447,1 \pm 50,1$
Gruppe 4	$40,0 \pm 2,94$	$363,3 \pm 37,9$	$78,8 \pm 0,50$	$443,4 \pm 37,4$
Gruppe 5	$38,8 \pm 2,22$	$340,2 \pm 40,2$	$78,3 \pm 6,55$	$445,9 \pm 26,7$
Gruppe 6	$41,3 \pm 4,99$	$334,2 \pm 39,3$	$84,0 \pm 3,37$	$405,8 \pm 45,6$
Gruppe 7	$41,7 \pm 4,16$	$338,7 \pm 4,01$	$84,0 \pm 3,37$	$411,4 \pm 24,1$
Gruppe 8	$41,8 \pm 3,40$	$311,6 \pm 4,29$	$84,0 \pm 3,37$	$418,4 \pm 16,3$
Gruppe 9	$43,0 \pm 4,69$	$314,1 \pm 18,9$	$84,0 \pm 3,37$	$413,8 \pm 38,8$

3.6.4 Elementgehalte der untersuchten Organe

Die Schwermetallgehalte in den Organen und Geweben sind nachfolgend als Konzentrationen bezogen auf Trockensubstanz angegeben, um eine einheitliche Bezugsbasis zu gewährleisten (Konzentrationen bezogen auf Frischsubstanz s. Tabellenanhang).

Die statistische Auswertung der Schwermetallkonzentrationen in den Knochen, bezogen auf die üblicherweise angegebenen Elementgehalte in der Knochenasche, ergibt - trotz der stark schwankenden Aschegehalte - keine anderen Ergebnisse, als die hier auf Trockensubstanz bezogene Darstellung.

Die statistische Auswertung der absoluten Elementgehalte in den Organen ergab kein

anderes Ergebnis, als die hier angeführte Auswertung der Konzentrationen, so daß auf eine gesonderte Darstellung verzichtet wurde.

3.6.4.1 Niere

Der mittlere Trockensubstanzgehalt der Niere betrug $18,42 \pm 0,82$ % (Einzelwerte s. Anhang, Tabelle IX). Ein Einfluß der Schwermetallbelastung der Rationen sowie der Phytase und des Calciums auf den Trockensubstanzgehalt der Niere konnte nicht festgestellt werden.

3.6.4.1.1 Blei

Die Bleikonzentrationen in den Nieren der Gruppen 0 bis 9 sind in Tabelle 11 angeführt.

Tabelle 11: Bleikonzentrationen in den Nieren (mg/kg TS)

Gr.	Pb	Phytase	Ca	Schlachtung zu Versuchsbeginn					
				MW		s		n	
0	-----	-----	-----	0,24		0,14		8	
				Schlachtung mit 30 kg			Schlachtung mit 50 kg		
				MW	s	n	MW	s	n
1	-----	-----	-----	0,29	0,08	4	0,20	0,04	4
2	nativ	-----	-----	0,34	0,11	4	0,37	0,04	4
3	nativ	+	-----	0,38	0,01	4	0,37	0,05	4
4	kstl.	-----	-----	0,66	0,28	4	0,63	0,07	4
5	kstl.	+	-----	0,58	0,08	4	0,73	0,13	4
6	nativ	-----	+	0,28	0,20	4	0,32	0,01	4
7	nativ	+	+	0,24	0,02	3	0,35	0,11	4
8	kstl.	-----	+	0,37	0,07	4	0,71	0,34	4
9	kstl.	+	+	0,49	0,19	4	0,77	0,40	4

„Native“ Pb-Belastung der Rationen											
Varianzanalyse ¹ : p ≤ 0,05: Belastung p ≥ 0,05: Gewicht, Phytase, Calcium											
		bis 30 kg					bis 50 kg				30 kg vs 50 kg
Gruppe	0	1	2	3	6	0	1	2	3	6	
1	ns					ns					ns
2	ns	ns				ns	s				ns
3	ns	ns	ns			ns	s	ns			ns
6	ns	ns	ns	ns		ns	s	s	ns		ns
7	ns	ns	ns	s	ns	ns	s	ns	ns	ns	ns

„Künstliche“ Pb-Belastung der Rationen											
Varianzanalyse ¹ : p ≤ 0,05: Belastung p ≥ 0,05: Gewicht, Phytase, Calcium											
		bis 30 kg					bis 50 kg				30 kg vs 50 kg
Gruppe	0	1	4	5	8	0	1	4	5	8	
1	ns					ns					ns
4	s	s				s	s				ns
5	s	s	ns			s	s	ns			ns
8	ns	ns	ns	s		s	s	ns	ns		ns
9	s	ns	ns	ns	ns	s	s	ns	ns	ns	ns

Signifikante Unterschiede zwischen „künstlicher“ und „nativer“ Pb-Belastung der Ration									
	bis 30 kg				bis 50 kg				
Gruppe	2 vs 4	3 vs 5	6 vs 8	7 vs 9	2 vs 4	3 vs 5	6 vs 8	7 vs 9	
	ns	s	ns	ns	s	s	ns	ns	

s=signifikant, ns=nicht signifikant; p≤0,05

¹Wechselwirkungen nicht berücksichtigt

Im Vergleich zu den Bleikonzentrationen in den Nieren der Gruppe 0, die zu Versuchsbeginn entnommen wurden, ließ sich kein Anstieg der Bleigehalte in den Nieren, bei Verabreichung einer normal bleibelasteten Ration (Gruppe 1), im Verlauf der Mast bis 50 kg feststellen.

Eine Anreicherung der Rationen durch zwei verschiedene Bleiquellen (bleiangericherte Gerste oder Bleiacetat) erhöhte, mit Ausnahme im Mastabschnitt bis 30 kg bei „nativer“ Belastung der Ration, signifikant die Bleiakкумуляtion in den Nieren (Gruppe 1 vs 2 bzw. 4).

Ein Zusatz mikrobieller Phytase zu bleibelastetem Futter hatte weder bei „nativer“ (Gruppe 2 vs 3) noch bei „künstlicher“ Belastung der Ration (Gruppe 4 vs 5) einen signifikanten Effekt auf die Bleispeicherung in den Nieren.

Aufgrund teilweise hoher Streuungen der Einzelwerte bleibt der Einfluß einer Erhöhung des Futter-Calciums, sowohl in den Gruppen ohne, als auch mit mikrobieller Phytase, auf die Bleiakкумуляtion in den Nieren unklar. Eine signifikante Abnahme wurde bei „nativer“ Bleibelastung in der Gruppe 7 (Phytase+Calcium) gegenüber Gruppe 3 (+ Phytase) im Gewichtsabschnitt bis 30 kg und in der Gruppe 6 (+ Calcium) gegenüber Gruppe 2 (ohne Calcium) im Gewichtsabschnitt bis 50 kg festgestellt. Bei „künstlicher“ Bleibelastung wiesen die Nieren der Tiere in Gruppe 8 (+ Calcium) im Gewichtsabschnitt bis 30 kg signifikant weniger Blei auf, als die der Tiere in Gruppe 5 (+ Phytase).

Ein deutlicher Anstieg des Bleigehaltes der Niere im Gewichtsabschnitt von 30 kg bis 50 kg, ließ sich bei den einzelnen Gruppen nicht feststellen.

Sowohl im Gewichtsabschnitt bis 30 kg, als auch im Gewichtsabschnitt bis 50 kg, wurde Blei, das „künstlich“ in die Rationen eingebracht wurde, in größerem Umfang in der Niere retiniert, als Blei aus einer nativ belasteten Ration.

Tabelle 12 zeigt die jeweiligen Regressionsgleichungen, das zugehörige Bestimmtheitsmaß und die Korrelationskoeffizienten für die Beziehung zwischen der Bleikonzentration in den Nieren und der Expositionszeit.

Für die Gruppe 1 mit normaler Bleibelastung der Ration, als auch für die Gruppen mit „nativer“ Bleibelastung (2, 3, 6, 7) konnte keine bzw. nur eine schwach positive Beziehung zwischen Expositionszeit und der Bleiakкумуляtion in der Niere nachgewiesen werden. Eine höhere Korrelation zwischen dem Bleigehalt der Niere und der Expositionszeit war nur bei den Gruppen, die „künstlich“ bleibelastete Rationen erhielten, feststellbar (Gruppe 4, 5, 8 und 9).

Tabelle 12: Bestimmtheitsmaße, Korrelationskoeffizienten und Regressionsgleichungen für die Beziehung zwischen Expositionszeit und Bleikonzentration in der Niere (s=signifikant, ns=nicht signifikant)

Gruppe	Regressionsgleichung	R ²	r	Korrelation
1	$y = 0,25 - 0,0003 x$	0,01	- 0,10	ns
2	$y = 0,25 + 0,002 x$	0,22	+ 0,47	ns
3	$y = 0,25 + 0,002 x$	0,25	+ 0,50	s
4	$y = 0,28 + 0,005 x$	0,47	+ 0,69	s
5	$y = 0,26 + 0,006 x$	0,76	+ 0,87	s
6	$y = 0,24 + 0,001 x$	0,08	+ 0,28	ns
7	$y = 0,23 + 0,001 x$	0,14	+ 0,37	ns
8	$y = 0,22 + 0,005 x$	0,51	+ 0,71	s
9	$y = 0,23 + 0,006 x$	0,54	+ 0,73	s

R²: Bestimmtheitsmaß; r: Korrelationskoeffizient; y: Bleigehalt Niere (mg/kg TS); x: Expositionszeit (Tage)

3.6.4.1.2 Cadmium

Tabelle 13 zeigt die Cadmiumkonzentrationen in den Nieren der Gruppen 0 bis 9.

Im Vergleich zu den Cadmiumkonzentrationen der Nieren bei Versuchsbeginn (Gruppe 0) stiegen die Werte bei Verabreichung eines normal mit Cadmium belasteten Futters (Gruppe 1) im Verlauf der Mast bis 50 kg an. Der Anstieg ließ sich allerdings, aufgrund der z.T. großen Streuungen zwischen den Tieren der Gruppe 0, statistisch nicht absichern.

Eine Cadmiumanreicherung des Futters durch zwei verschiedene Cadmiumquellen (cadmiumangereicherte Gerste oder Cadmiumchlorid) erhöhte signifikant die Cadmiumakkumulation in den Nieren (Gruppe 1 vs 2 bzw. 4) nach 40 bzw. 80 Tagen Expositionszeit.

Ein Zusatz mikrobieller Phytase zum cadmiumbelasteten Futter verstärkte die Cadmiumspeicherung in den Nieren. Dies war allerdings nach „nativer“ Belastung (Gruppe 2 vs 3) weniger ausgeprägt und erst nach 80 Tagen Expositionszeit statistisch gesichert, als nach der „künstlichen“ Belastung mit Cadmiumchlorid (Gruppe 4 vs 5).

Tabelle 13: Cadmiumkonzentrationen in den Nieren (mg/kg TS)

Gr.	Cd	Phytase	Ca	Schlachtung zu Versuchsbeginn					
				MW		s		n	
0	-----	-----	-----	0,44		0,22		8	
				Schlachtung mit 30 kg			Schlachtung mit 50 kg		
				MW	s	n	MW	s	n
1	-----	-----	-----	0,64	0,10	4	1,10	1,02	4
2	nativ	-----	-----	4,97	0,67	4	7,13	0,38	4
3	nativ	+	-----	5,59	1,30	4	10,8	2,90	4
4	kstl.	-----	-----	4,04	0,80	4	7,33	2,02	4
5	kstl.	+	-----	8,25	1,63	4	12,6	3,31	4
6	nativ	-----	+	4,58	0,67	4	8,98	0,81	4
7	nativ	+	+	6,34	0,92	3	8,85	1,66	4
8	kstl.	-----	+	4,64	0,97	4	6,82	2,24	4
9	kstl.	+	+	3,06	0,67	4	4,57	0,73	4

„Native“ Cd-Belastung der Rationen											
Varianzanalyse ¹ : p ≤ 0,05: Belastung, Phytase, Gewicht											
p ≥ 0,05: Calcium											
	bis 30 kg					bis 50 kg					30 kg vs 50 kg
Gruppe	0	1	2	3	6	0	1	2	3	6	
1	ns					ns					ns
2	s	s				s	s				s
3	s	s	ns			s	s	s			s
6	s	s	ns	ns		s	s	s	ns		s
7	s	s	ns	ns	s	s	s	ns	ns	ns	ns

„Künstliche“ Cd-Belastung der Rationen											
Varianzanalyse ¹ : p ≤ 0,05: Gewicht, Calcium, Belastung											
p ≥ 0,05: Phytase											
	bis 30 kg					bis 50 kg					30 kg vs 50 kg
Gruppe	0	1	4	5	8	0	1	4	5	8	
1	ns					ns					ns
4	s	s				s	s				s
5	s	s	s			s	s	s			ns
8	s	s	ns	s		s	s	ns	s		ns
9	s	s	ns	s	s	s	s	s	s	ns	s

Signifikante Unterschiede zwischen „künstlicher“ und „nativer“ Cd-Belastung der Ration									
	bis 30 kg				bis 50 kg				
Gruppe	2 vs 4	3 vs 5	6 vs 8	7 vs 9	2 vs 4	3 vs 5	6 vs 8	7 vs 9	
	ns	s	ns	s	ns	ns	ns	ns	s

s=signifikant, ns=nicht signifikant; p≤0,05

¹ Wechselwirkungen nicht berücksichtigt

Durch eine gleichzeitige, über den Bedarf hinausgehende Erhöhung der Calciumkonzentration von 0,6 auf 1,2 % im Futter, konnte die durch mikrobielle Phytase hervorgerufene Cadmiumakkumulation in den Nieren aus beiden Cadmiumherkünften verhindert werden (Gruppe 3 vs 7 bzw. 5 vs 9). Die alleinige Erhöhung der Calciumkonzentration hatte keinen Einfluß auf die Cadmiumspeicherung in den Nieren (Gruppe 2 vs 6 bzw. 4 vs 8).

Die Cadmiumkonzentration in der Niere stieg bei allen Gruppen sowohl bei „künstlicher“ als auch bei „nativer“ Belastung der Rationen im Gewichtsabschnitt von 30 kg bis 50 kg an.

Auf niederem Calciumniveau konnte im Gewichtsabschnitt bis 30 kg bei den Gruppen mit Phytasezulage (Gruppe 3 vs 5) bei „nativer“ Cd-Belastung der Ration eine signifikant geringere Cadmiumkonzentration in der Niere festgestellt werden, als bei den Tieren, deren Ration „künstlich“ kontaminiert war. Auf hohem Calciumniveau zeigte sich beim Vergleich der entsprechenden Gruppen (Gruppe 7 vs 9) der gegenteilige Effekt. Die Tiere deren Rationen „nativ“ belastet waren wiesen signifikant höhere Cadmiumgehalte in der Niere auf. Im Gewichtsabschnitt bis 50 kg war der beschriebene Effekt nur tendenziell, auf hohem Calciumniveau ebenfalls signifikant feststellbar.

Tabelle 14 zeigt die jeweiligen Regressionsgleichungen, das zugehörige Bestimmtheitsmaß und die Korrelationskoeffizienten für die Beziehung zwischen den Cadmiumkonzentrationen der Nieren und der Expositionszeit.

Tabelle 14: Bestimmtheitsmaße, Korrelationskoeffizienten und Regressionsgleichungen für die Beziehung zwischen Expositionszeit und Cadmiumkonzentration in der Niere (s=signifikant, ns=nicht signifikant)

Gruppe	Regressionsgleichung	R ²	r	Korrelation
1	$y = 0,40 + 0,009 x$	0,27	+ 0,52	s
2	$y = 0,68 + 0,09 x$	0,95	+ 0,97	s
3	$y = 0,51 + 0,13 x$	0,89	+ 0,94	s
4	$y = 0,45 + 0,09 x$	0,90	+ 0,95	s
5	$y = 0,91 + 0,15 x$	0,85	+ 0,92	s
6	$y = 0,45 + 0,10 x$	0,97	+ 0,98	s
7	$y = 0,70 + 0,10 x$	0,92	+ 0,96	s
8	$y = 0,63 + 0,08 x$	0,85	+ 0,92	s
9	$y = 0,51 + 0,05 x$	0,94	+ 0,97	s

R²: Bestimmtheitsmaß; r: Korrelationskoeffizient; y: Cadmiumgehalt Niere (mg/kg TS);
x:Expositionszeit (Tage)

Bei den Gruppen, die belastete Rationen erhielten, bestand sowohl bei „künstlicher“ als auch bei „nativer“ Belastung der Ration eine signifikante positive Korrelation zwischen Expositionszeit und Cadmiumkonzentration in der Niere.

3.6.4.1.3 Zink

Die Zinkkonzentrationen in den Nieren der einzelnen Gruppen sind in Tabelle 15 wiedergegeben.

Im Vergleich zu den Zn-Konzentrationen der Nieren zu Versuchsbeginn (Gruppe 0) fielen die Werte bei Verabreichung einer normal mit Zink belasteten Ration (Gruppe 1) im Verlauf der Mast signifikant ab.

Eine Zinkanreicherung des Futters durch zwei verschiedene Zinkquellen (zinkangereicherte Gerste oder Zinkchlorid) erhöhte signifikant die Zinkakkumulation in den Nieren (Gruppe 1 vs 2 bzw. 4) nach 40 bzw. 80 Tagen Expositionszeit.

Wie bei Blei führte ein Zusatz mikrobieller Phytase zum zinkbelasteten Futter zu keiner weiteren signifikanten Erhöhung der Zinkspeicherung in den Nieren (Gruppe 2 vs 3 bzw. 4 vs 5).

Eine Erhöhung der Calciumkonzentration im Futter von 0,6 auf 1,2 % verringerte die Zinkspeicherung in der Niere nur bei Gruppe 6 (ohne Phytase) gegenüber der Gruppe 7 (+ Phytase) signifikant.

Ein deutlicher Anstieg der Zinkkonzentration in der Niere im Gewichtsabschnitt von 30 kg bis 50 kg zeigte sich nur bei Gruppe 6.

Die unterschiedlichen Zinkherkünfte („künstlich“ oder „nativ“) hatten keine Auswirkungen auf den Zinkgehalt der Nieren.

Tabelle 15: Zinkkonzentrationen in den Nieren (mg/kg TS)

Gr.	Zn	Phytase	Ca	Schlachtung zu Versuchsbeginn							
				MW		s		n			
0	-----	-----	-----	217,9		89,1		8			
				Schlachtung mit 30 kg			Schlachtung mit 50 kg				
				MW	s	n	MW	s	n		
1	-----	-----	-----	100,1	6,93	4	96,6	7,80	4		
2	nativ	-----	-----	115,0	8,84	4	121,6	13,5	4		
3	nativ	+	-----	119,4	7,97	4	130,6	12,3	4		
4	kstl.	-----	-----	132,7	23,7	4	123,3	7,81	4		
5	kstl.	+	-----	126,2	20,1	4	130,0	15,1	4		
6	nativ	-----	+	108,2	3,76	4	134,9	13,9	4		
7	nativ	+	+	122,4	6,01	3	125,9	11,5	4		
8	kstl.	-----	+	101,4	22,8	4	125,5	17,4	4		
9	kstl.	+	+	112,1	8,10	4	113,5	11,1	4		
„Native“ Zn-Belastung der Rationen											
Varianzanalyse ¹ : p ≤ 0,05: Gewicht, Belastung p ≥ 0,05: Phytase, Calcium											
		bis 30 kg					bis 50 kg				30 kg vs 50 kg
Gruppe	0	1	2	3	6	0	1	2	3	6	
1	s					s					ns
2	s	s				ns	s				ns
3	ns	s	ns			ns	s	ns			ns
6	s	ns	ns	s		ns	s	ns	ns		s
7	ns	s	ns	ns	s	ns	s	ns	ns	ns	ns
„Künstliche“ Zn-Belastung der Rationen											
Varianzanalyse ¹ : p ≤ 0,05: Calcium, Belastung p ≥ 0,05: Gewicht, Phytase											
		bis 30 kg					bis 50 kg				30 kg vs 50 kg
Gruppe	0	1	4	5	8	0	1	4	5	8	
1	s					s					ns
4	ns	s				ns	s				ns
5	ns	s	ns			ns	s	ns			ns
8	s	ns	ns	ns		ns	s	ns	ns		ns
9	s	ns	ns	ns	ns	s	s	ns	ns	ns	ns
Signifikante Unterschiede zwischen „künstlicher“ und „nativer“ Zn-Belastung der Ration											
		bis 30 kg					bis 50 kg				
Gruppe	2 vs 4	3 vs 5	6 vs 8	7 vs 9	2 vs 4	3 vs 5	6 vs 8	7 vs 9			
	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns			

s=signifikant, ns=nicht signifikant; p≤0,05

¹ Wechselwirkungen nicht berücksichtigt

Tabelle 16 zeigt die jeweiligen Regressionsgleichungen, das zugehörige Bestimmtheitsmaß und die Korrelationskoeffizienten für die Beziehung zwischen dem Zinkgehalt der Nieren und der Expositionszeit. Die durchwegs negativen Korrelationskoeffizienten deuten an, daß mit fortschreitender Expositionsdauer bzw. im Mastverlauf bis 50 kg die Zinkkonzentrationen in der Niere abnehmen. Dies ist maßgeblich durch die starke Abnahme der Zinkgehalte in der Wachstumsperiode bis 30 kg bedingt.

Tabelle 16: Bestimmtheitsmaße, Korrelationskoeffizienten und Regressionsgleichungen für die Beziehung zwischen Expositionszeit und Zinkkonzentration in der Niere (s=signifikant, ns=nicht signifikant)

Gruppe	Regressionsgleichung	R ²	r	Korrelation
1	$y = 207,4 - 1,71 x$	0,42	- 0,65	s
2	$y = 208,3 - 1,34 x$	0,33	- 0,57	s
3	$y = 208,0 - 1,27 x$	0,29	- 0,54	s
4	$y = 210,9 - 1,32 x$	0,31	- 0,56	s
5	$y = 209,4 - 1,26 x$	0,29	- 0,54	s
6	$y = 205,9 - 1,26 x$	0,27	- 0,52	s
7	$y = 210,6 - 1,29 x$	0,30	- 0,55	s
8	$y = 205,2 - 1,37 x$	0,30	- 0,55	s
9	$y = 208,0 - 1,48 x$	0,35	- 0,59	s

R²: Bestimmtheitsmaß; r: Korrelationskoeffizient; y: Zinkgehalt Niere (mg/kg TS); x: Expositionszeit (Tage)

3.6.4.1.4 Gemeinsame Auswertung der Schwermetallherkünfte

Für eine von der Schwermetallherkunft unabhängige Betrachtung der Cadmium-, Blei- und Zinkkonzentrationen in der Niere wurden die Ergebnisse beider Versuchsreihen zusammengefaßt. Dieses Vorgehen verbessert gleichzeitig die Basis der statistischen Auswertung.

Tabelle 17 zeigt getrennt für die beiden Gewichtsabschnitte den Effekt der Phytase und des Calciums auf die Cadmium-, Blei- und Zinkretention in der Niere wachsender Schweine, ohne Berücksichtigung der beiden Schwermetallherkünfte.

Auch bei Zusammenfassung der Ergebnisse, läßt sich der Anstieg der Cadmiumkonzentration in den Nieren nach Verfütterung einer normal mit Cadmium belasteten Ration (Gruppe 1) gegenüber der Ausgangssituation (Gruppe 0) statistisch nicht sichern, während bei Zink die Abnahme der Konzentration in der Niere statistisch gesichert bleibt und bei Blei keine Veränderungen auftreten.

Tabelle 17: Cadmium-, Blei- und Zinkkonzentrationen in der Niere (mg/kg TS) ohne Berücksichtigung der Belastungsherkünfte (B=Belastung, P=Phytase, Ca=Calcium, x=Wechselwirkungen)

	Gr. 0	Gr. 1	Gr. 2+4	Gr. 3+5	Gr. 6+8	Gr. 7+9	Varianzanalyse $p \leq 0,05$
B	-----	-----	+	+	+	+	
P	-----	-----	-----	+	-----	+	
Ca	-----	-----	-----	-----	+	+	
Gewichtsabschnitt bis 30 kg							
Cd mg/kg	0,44 ^a ± 0,22	0,64 ^a ± 0,10	4,51 ^b ± 0,84	6,92 ^c ± 1,97	4,61 ^b ± 0,77	4,47 ^b ± 1,89	P, Ca, BxCa, PxCa,BxPxCa
Pb mg/kg	0,24 ^a ± 0,14	0,29 ^{ab} ± 0,08	0,50 ^{cb} ± 0,26	0,48 ^c ± 0,12	0,32 ^{ac} ± 0,14	0,39 ^{ac} ± 0,19	B, Ca
Zn mg/kg	217,9 ^a ± 89,1	100,1 ^b ± 6,93	123,8 ^c ± 19,1	122,8 ^c ± 14,6	104,8 ^{cb} ± 15,6	116,5 ^c ± 8,69	Ca
Gewichtsabschnitt bis 50 kg							
Cd mg/kg	0,44 ^a ± 0,22	1,10 ^a ± 1,02	7,23 ^b ± 1,35	11,7 ^c ± 3,03	7,90 ^b ± 1,94	6,71 ^b ± 2,58	P, Ca, BxCa, PxCa
Pb mg/kg	0,24 ^a ± 0,14	0,20 ^{ab} ± 0,04	0,50 ^c ± 0,15	0,55 ^c ± 0,22	0,51 ^{cb} ± 0,30	0,56 ^{cb} ± 0,35	B
Zn mg/kg	217,9 ^a ± 89,1	96,6 ^b ± 7,80	122,5 ^c ± 10,2	130,3 ^c ± 12,7	130,2 ^c ± 15,4	119,7 ^c ± 12,4	P, Ca

Die Schwermetallanreicherung des Futters hatte überwiegend statistisch zu sichernde höhere Cadmium-, Blei- und Zinkkonzentrationen in der Niere zur Folge (Gruppe 1 vs 2+4)

Ein Zusatz mikrobieller Phytase zu einer cadmiumbelasteten Ration verstärkte signifikant die Cadmumeinlagerung in der Niere, sowohl im Gewichtsabschnitt bis 30 kg, als auch im Gewichtsabschnitt bis 50 kg. Ein Einfluß auf die Blei- und Zinkkonzentrationen war auch nach gemeinsamer Auswertung beider Schwermetallherkünfte nicht feststellbar (Gruppe 2+4 vs 3+5).

Eine über den Bedarf hinausgehende Erhöhung der Calciumkonzentration von 0,6 auf 1,2 % im Futter verhinderte die durch Phytase hervorgerufene vermehrte Cadmiumspeicherung der Niere.

Auch bei gemeinsamer Auswertung der beiden Schwermetallherkünfte konnte bei Blei und Zink kein Einfluß des erhöhten Calciumgehaltes der Rationen auf die Konzentration dieser Elemente in den Nieren festgestellt werden (Gruppe 3+5 vs 7+9).

Die alleinige Calciumzulage zu schwermetallbelasteten Diäten hatte keinen Effekt auf die Cadmium-, Blei- und Zinkkonzentration in der Niere (Gruppe 2+4 vs 6+8).

3.6.4.2 Leber

Der mittlere Trockensubstanzgehalt der Leber betrug $28,80 \pm 1,52$ % (Einzelwerte s. Anhang, Tabelle X). Ein Einfluß der Schwermetallbelastung der Rationen sowie der Phytase und des Calciums auf den Trockensubstanzgehalt der Leber konnte nicht festgestellt werden.

3.6.4.2.1 Blei

Die Bleikonzentrationen in den Lebern zeigt Tabelle 18.

Im Vergleich zu den Bleikonzentrationen der Lebern zu Versuchsbeginn (Gruppe 0) stiegen die Werte bei Verabreichung einer normal mit Blei belasteten Ration (Gruppe 1) im Verlauf der Mast bis 50 kg nicht an.

Eine Bleianreicherung des Futters über zwei verschiedene Bleiquellen (bleiangereicherte Gerste oder Bleiacetat) führte nur bei der Ration mit Bleiacetat (Gruppe 1 vs 4) zu einer signifikanten Bleiakкумуляtion in den Lebern.

Weder ein Zusatz mikrobieller Phytase, allein oder in Kombination mit Calcium, noch ein alleiniger Calciumzusatz bewirkten im Verlauf der Mast einen signifikanten Effekt auf die Bleiakкумуляtion in den Lebern.

Allerdings traten signifikante Unterschiede bei beiden Belastungsformen zwischen den Gruppen mit alleiniger Phytasezulage und den Gruppen mit alleiniger Calciumzulage auf (Gruppe 3 vs 6 bzw. 5 vs 8). Die Tiere der Gruppen mit Calciumzulage (Gruppe 6 und 8) wiesen geringere Bleikonzentrationen in den Lebern auf, als die Tiere der Gruppen mit Phytasezulage (Gruppe 3 und 5).

Die Bleikonzentration in der Leber zeigte im Gewichtsabschnitt von 30 kg bis 50 kg keine deutlichen Veränderungen.

Sowohl im Gewichtsabschnitt bis 30 kg als auch im Gewichtsabschnitt bis 50 kg zeigte sich, daß Blei, das „künstlich“ in die Rationen eingebracht wurde, in größerem Umfang in der Leber retiniert wurde, als „nativ“ in den Rationen vorhandenes Blei.

Tabelle 18: Bleikonzentrationen in den Lebern (mg/kg TS)

Gr.	Pb	Phytase	Ca	Schlachtung zu Versuchsbeginn					
				MW		s		n	
0	-----	-----	-----	0,13		0,10		8	
				Schlachtung mit 30 kg			Schlachtung mit 50 kg		
				MW	s	n	MW	s	n
1	-----	-----	-----	0,14	0,06	4	0,11	0,07	4
2	nativ	-----	-----	0,19	0,08	4	0,15	0,06	4
3	nativ	+	-----	0,17	0,02	4	0,19	0,06	4
4	kstl.	-----	-----	0,32	0,08	4	0,32	0,08	4
5	kstl.	+	-----	0,34	0,07	4	0,43	0,09	4
6	nativ	-----	+	0,12	0,01	4	0,11	0,04	4
7	nativ	+	+	0,13	0,02	3	0,15	0,04	4
8	kstl.	-----	+	0,20	0,04	4	0,25	0,03	4
9	kstl.	+	+	0,26	0,01	4	0,37	0,27	4

„Native“ Pb-Belastung der Rationen											
Varianzanalyse ¹ : p ≤ 0,05: Calcium											
p ≥ 0,05: Gewicht, Phytase, Belastung											
		bis 30 kg					bis 50 kg				30 kg vs 50 kg
Gruppe	0	1	2	3	6	0	1	2	3	6	
1	ns					ns					ns
2	ns	ns				ns	ns				ns
3	ns	ns	ns			ns	ns	ns			ns
6	ns	ns	ns	s		ns	ns	ns	ns		ns
7	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

„Künstliche“ Pb-Belastung der Rationen											
Varianzanalyse ¹ : p ≤ 0,05: Phytase, Calcium, Belastung											
p ≥ 0,05: Gewicht											
		bis 30 kg					bis 50 kg				30 kg vs 50 kg
Gruppe	0	1	4	5	8	0	1	4	5	8	
1	ns					ns					ns
4	s	s				s	s				ns
5	s	s	ns			s	s	ns			ns
8	ns	ns	ns	s		s	s	ns	s		ns
9	s	s	ns	ns	ns	s	ns	ns	ns	ns	ns

Signifikante Unterschiede zwischen „künstlicher“ und „nativer“ Pb-Belastung der Ration									
	bis 30 kg				bis 50 kg				
Gruppe	2 vs 4	3 vs 5	6 vs 8	7 vs 9	2 vs 4	3 vs 5	6 vs 8	7 vs 9	
	ns	s	s	s	s	s	s	ns	

s=signifikant, ns=nicht signifikant; p≤0,05

¹ Wechselwirkungen nicht berücksichtigt

Tabelle 19 zeigt die jeweiligen Regressionsgleichungen, das zugehörige Bestimmtheitsmaß und die Korrelationskoeffizienten für die Beziehung zwischen der Bleikonzentration in der Leber und der Expositionszeit.

Tabelle 19: Bestimmtheitsmaße, Korrelationskoeffizienten und Regressionsgleichungen für die Beziehung zwischen Expositionszeit und Bleikonzentration in der Leber (s=signifikant, ns=nicht signifikant)

Gruppe	Regressionsgleichung	R ²	r	Korrelation
1	$y = 0,13 - 0,0002 x$	0,01	- 0,10	ns
2	$y = 0,14 + 0,0004 x$	0,02	+ 0,14	ns
3	$y = 0,13 + 0,0008 x$	0,13	+ 0,36	ns
4	$y = 0,14 + 0,003 x$	0,47	+ 0,69	s
5	$y = 0,14 + 0,004 x$	0,70	+ 0,84	s
6	$y = 0,13 - 0,0002 x$	0,01	- 0,10	ns
7	$y = 0,13 + 0,0002 x$	0,01	+ 0,10	ns
8	$y = 0,13 + 0,001 x$	0,37	+ 0,61	s
9	$y = 0,13 + 0,003 x$	0,39	+ 0,62	s

R²: Bestimmtheitsmaß; r: Korrelationskoeffizient; y: Bleigehalt Leber (mg/kg TS); x: Expositionszeit (Tage)

Anhand der Korrelationskoeffizienten zeigen sich wiederum die Unterschiede zwischen den beiden Bleiherkünften. Während bei den Gruppen mit „nativer“ Belastung (Gruppe 2, 3 6, 7) keine Abhängigkeit der Bleikonzentration in den Lebern von der Expositionszeit zu erkennen ist, bestand eine solche bei den Gruppen mit künstlicher Belastung (Gruppe 4, 5, 8, 9).

3.6.4.2.2 Cadmium

Tabelle 20 zeigt die Cadmiumkonzentrationen in den Lebern.

Im Vergleich zu den Cadmiumkonzentrationen in den Lebern bei Versuchsbeginn (Gruppe 0) stiegen die Werte bei Verabreichung eines normal mit Cadmium belasteten Futters (Gruppe 1) im Verlauf der Mast bis 50 kg nicht an.

Die Cadmiumanreicherung des Futters durch zwei verschiedene Cadmiumquellen (cadmiumangereicherte Gerste oder Cadmiumchlorid) erhöhte signifikant die Cadmiumakkumulation in den Lebern (Gruppe 1 vs 2 bzw. 4) nach 40 bzw. 80 Tagen Expositionszeit.

Tabelle 20: Cadmiumkonzentrationen in den Lebern (mg/kg TS)

Gr.	Cd	Phytase	Ca	Schlachtung zu Versuchsbeginn					
				MW		s		n	
0	-----	-----	-----	0,04		0,01		8	
				Schlachtung mit 30 kg			Schlachtung mit 50 kg		
				MW	s	n	MW	s	n
1	-----	-----	-----	0,05	0,01	4	0,05	0,03	4
2	nativ	-----	-----	0,53	0,03	4	0,68	0,03	4
3	nativ	+	-----	0,70	0,01	4	0,98	0,11	4
4	kstl.	-----	-----	0,46	0,05	4	0,64	0,03	4
5	kstl.	+	-----	0,55	0,12	4	0,93	0,02	4
6	nativ	-----	+	0,53	0,04	4	0,68	0,30	4
7	nativ	+	+	0,54	0,04	3	0,69	0,13	4
8	kstl.	-----	+	0,43	0,04	4	0,70	0,11	4
9	kstl.	+	+	0,41	0,09	4	0,58	0,08	4

„Native“ Cd-Belastung der Rationen											
Varianzanalyse ¹ : p ≤ 0,05: Gewicht, Phytase, Calcium, Belastung											
		bis 30 kg					bis 50 kg				30 kg vs 50 kg
Gruppe	0	1	2	3	6	0	1	2	3	6	
1	ns					ns					ns
2	s	s				s	s				s
3	s	s	s			s	s	s			s
6	s	s	ns	s		s	s	ns	ns		ns
7	s	s	ns	s	ns	s	s	ns	s	ns	ns

„Künstliche“ Cd-Belastung der Rationen											
Varianzanalyse ¹ : p ≤ 0,05: Gewicht, Calcium, Belastung											
p ≥ 0,05: Phytase											
		bis 30 kg					bis 50 kg				30 kg vs 50 kg
Gruppe	0	1	4	5	8	0	1	4	5	8	
1	ns					ns					ns
4	s	s				s	s				s
5	s	s	ns			s	s	s			s
8	s	s	ns	ns		s	s	ns	s		s
9	s	s	ns	ns	ns	s	s	ns	s	ns	s

Signifikante Unterschiede zwischen „künstlicher“ und „nativer“ Cd-Belastung der Ration									
	bis 30 kg				bis 50 kg				
Gruppe	2 vs 4	3 vs 5	6 vs 8	7 vs 9	2 vs 4	3 vs 5	6 vs 8	7 vs 9	
	s	s	s	ns	ns	ns	ns	ns	

s=signifikant, ns=nicht signifikant; p≤0,05

¹ Wechselwirkungen nicht berücksichtigt

Ein Zusatz mikrobieller Phytase zum Futter verstärkte die Cadmiumeinlagerung in die Leber sowohl bei „nativer“ (Gruppe 2 vs 3), als auch bei „künstlicher“ Belastung (Gruppe 4 vs 5). Bei künstlicher Belastung ließ sich der Anstieg allerdings erst nach 80 Tagen Expositionszeit statistisch sichern.

Durch eine über den Bedarf hinausgehende Erhöhung der Calciumkonzentration von 0,6 auf 1,2 % im Futter konnte die durch mikrobielle Phytase verursachte Erhöhung der Cadmiumkonzentration in der Leber aus beiden Cadmiumherkünften verhindert werden (Gruppe 3 vs 7 bzw. 5 vs 9). Im Gewichtsabschnitt bis 30 kg bei „künstlicher“ Belastung der Ration konnte dies allerdings nicht statistisch gesichert werden.

Die alleinige Erhöhung der Calciumkonzentration hatte keinen Einfluß auf die Cadmiumspeicherung in den Lebern (Gruppe 2 vs 6 bzw. 4 vs 8).

Im Gewichtsabschnitt bis 30 kg war festzustellen, daß als Cadmiumchlorid-Monohydrat in die Rationen eingebrachtes Cadmium in geringerem Umfang in der Leber eingelagert wurde, als nativ in der Ration vorhandenes Cadmium. Im Gewichtsabschnitt bis 50 kg war dieser Effekt dagegen nicht eindeutig zu erkennen.

Die Cadmiumkonzentration in der Leber stieg im Gewichtsabschnitt von 30 kg bis 50 kg, mit Ausnahme bei Gruppe 1, die eine unbelastete Ration erhalten hatte, an.

Tabelle 21 zeigt die jeweiligen Regressionsgleichungen, das zugehörige Bestimmtheitsmaß und die Korrelationskoeffizienten für die Beziehung zwischen der Cadmiumkonzentration in der Leber und der Expositionszeit.

Es bestand keine zeitabhängige Beziehung zwischen der Cadmiumaufnahme aus einer normal mit Cadmium belasteten Ration und der Cadmiumkonzentration in der Leber (Gruppe 1). Die hohen Bestimmtheitsmaße und positiven Korrelationskoeffizienten bei den übrigen Gruppen zeigen, daß Cadmium mit fortschreitender Expositionszeit zunehmend in der Leber akkumuliert wird.

Tabelle 21: Bestimmtheitsmaße, Korrelationskoeffizienten und Regressionsgleichungen für die Beziehung zwischen Expositionszeit und Cadmiumkonzentration in der Leber (s=signifikant, ns=nicht signifikant)

Gruppe	Regressionsgleichung	R ²	r	Korrelation
1	$y = 0,04 + 0,00009 x$	0,03	+ 0,17	ns
2	$y = 0,07 + 0,009 x$	0,92	+ 0,96	s
3	$y = 0,08 + 0,012 x$	0,94	+ 0,97	s
4	$y = 0,06 + 0,008 x$	0,96	+ 0,98	s
5	$y = 0,06 + 0,011 x$	0,96	+ 0,98	s
6	$y = 0,08 + 0,008 x$	0,75	+ 0,87	s
7	$y = 0,07 + 0,008 x$	0,90	+ 0,95	s
8	$y = 0,05 + 0,008 x$	0,97	+ 0,98	s
9	$y = 0,06 + 0,007 x$	0,94	+ 0,97	s

R²: Bestimmtheitsmaß; r: Korrelationskoeffizient; y: Cadmiumgehalt Leber (mg/kg TS);
x: Expositionszeit (Tage)

3.6.4.2.3 Zink

Die Zinkkonzentrationen in den Lebern zeigt Tabelle 22. Die Gehalte in den Lebern fielen bei Verfütterung einer normal mit Zink belasteten Diät (Gruppe 1) im Verlauf der Mast sowohl bis 30 kg als auch bis 50 kg signifikant ab.

Eine Zinkanreicherung des Futters durch zwei verschiedene Zinkquellen (zinkangereicherte Gerste oder Zinkchlorid) erhöhte die Zinkakkumulation in der Leber, allerdings erst nach einer Expositionszeit von 80 Tagen signifikant (Gruppe 1 vs 2 bzw. 4)

Die hohe Streuung der Zinkkonzentrationen in den Lebern zu Versuchsbeginn (Gruppe 0) weist auf eine sehr unterschiedliche Zinkversorgung der zugekauften Tiere hin.

Die Zinkkonzentrationen in den Lebern fielen bei Verfütterung einer normal mit Zink belasteten Diät (Gruppe 1) im Verlauf der Mast sowohl bis 30 kg als auch bis 50 kg signifikant ab.

Ein Zusatz mikrobieller Phytase zum zinkbelasteten Futter verstärkte nur bei „künstlicher“ Belastung die Zinkeinlagerung in die Leber (Gruppe 4 vs 5). Der Effekt ließ sich statistisch nicht absichern.

Eine Erhöhung der Calciumkonzentration von 0,6 auf 1,2 % im Futter hatte weder alleine noch in Kombination mit mikrobieller Phytase bei keiner der beiden Zinkherkünfte einen signifikanten Einfluß auf die Zinkkonzentrationen der Lebern. Auffallend ist die hohe Streuung der Einzelwerte insbesondere im ersten Teil der Mast.

Tabelle 22: Zinkkonzentrationen in den Lebern (mg/kg TS)

Gr.	Zn	Phytase	Ca	Schlachtung zu Versuchsbeginn					
				MW		s		n	
0	-----	-----	-----	906,4		680,2		8	
				Schlachtung mit 30 kg			Schlachtung mit 50 kg		
				MW	s	n	MW	s	n
1	-----	-----	-----	106,9	29,2	4	84,5	17,4	4
2	nativ	-----	-----	189,7	84,7	4	205,0	75,6	4
3	nativ	+	-----	203,1	63,9	4	173,2	42,7	4
4	kstl.	-----	-----	136,2	18,6	4	143,6	44,7	4
5	kstl.	+	-----	202,1	108,5	4	234,3	88,8	4
6	nativ	-----	+	119,3	36,8	4	145,4	48,8	4
7	nativ	+	+	234,6	91,0	3	209,4	41,8	4
8	kstl.	-----	+	122,7	33,4	4	148,9	66,5	4
9	kstl.	+	+	191,4	51,1	4	195,2	42,6	4

„Native“ Zn-Belastung der Rationen											
Varianzanalyse ¹ : p ≤ 0,05: Belastung											
p ≥ 0,05: Gewicht, Phytase, Calcium											
	bis 30 kg					bis 50 kg					30 kg vs 50 kg
Gruppe	0	1	2	3	6	0	1	2	3	6	
1	s					s					ns
2	ns	ns				ns	s				ns
3	ns	s	ns			ns	s	ns			ns
6	s	ns	ns	ns		ns	ns	ns	ns		ns
7	ns	s	ns	ns	ns	ns	s	ns	ns	ns	ns

„Künstliche“ Zn-Belastung der Rationen											
Varianzanalyse ¹ : p ≤ 0,05: Phytase											
p ≥ 0,05: Gewicht, Calcium, Belastung											
	bis 30 kg					bis 50 kg					30 kg vs 50 kg
Gruppe	0	1	4	5	8	0	1	4	5	8	
1	s					s					ns
4	ns	ns				ns	s				ns
5	ns	ns	ns			ns	s	ns			ns
8	s	ns	ns	ns		ns	ns	ns	ns		ns
9	ns	s	ns	ns	ns	ns	s	ns	ns	ns	ns

Signifikante Unterschiede zwischen „künstlicher“ und „nativer“ Zn-Belastung der Ration									
	bis 30 kg				bis 50 kg				
Gruppe	2 vs 4	3 vs 5	6 vs 8	7 vs 9	2 vs 4	3 vs 5	6 vs 8	7 vs 9	
	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

s=signifikant, ns=nicht signifikant; p≤0,05

¹ Wechselwirkungen nicht berücksichtigt

Signifikante Unterschiede zwischen den Zinkkonzentrationen der Lebern im Gewichtsabschnitt bis 30 kg und im Gewichtsabschnitt bis 50 kg ließen sich bei den einzelnen Gruppen nicht feststellen.

Die unterschiedlichen Zinkherkünfte („künstlich“ oder „nativ“) hatten keine Auswirkungen auf die Zinkkonzentrationen in den Lebern.

Tabelle 23 zeigt die jeweiligen Regressionsgleichungen, das zugehörige Bestimmtheitsmaß und die Korrelationskoeffizienten für die Beziehung zwischen der Zinkkonzentration in der Leber und der Expositionszeit.

Die negativen Korrelationskoeffizienten zwischen Expositionszeit und Zinkkonzentration in der Leber, ergeben sich in erster Linie durch die starke Abnahme der Zinkgehalte vom Beginn des Versuchs bis zum Ende der Mastperiode bis 30 kg.

Tabelle 23: Bestimmtheitsmaße, Korrelationskoeffizienten und Regressionsgleichungen für die Beziehung zwischen Expositionszeit und Zinkkonzentration in der Leber

Gruppe	Regressionsgleichung	R ²	r	Korrelation
1	$y = 835,9 - 11,6 x$	0,37	- 0,61	s
2	$y = 838,1 - 9,81 x$	0,31	- 0,56	s
3	$y = 838,7 - 9,75 x$	0,32	- 0,57	s
4	$y = 837,7 - 10,6 x$	0,34	- 0,58	s
5	$y = 837,6 - 9,41 x$	0,29	- 0,54	s
6	$y = 827,8 - 9,85 x$	0,33	- 0,57	s
7	$y = 858,0 - 8,84 x$	0,30	- 0,55	s
8	$y = 830,7 - 9,85 x$	0,34	- 0,58	s
9	$y = 842,5 - 9,23 x$	0,32	- 0,57	s

R²: Bestimmtheitsmaß; r: Korrelationskoeffizient; y: Zinkgehalt Leber (mg/kg TS); x: Expositionszeit (Tage)

3.6.4.2.4 Gemeinsame Auswertung der Schwermetallherkünfte

Für eine von der Schwermetallherkunft unabhängige Betrachtung der Cadmium-, Blei- und Zinkkonzentrationen in der Leber wurden die Ergebnisse beider Versuchsreihen zusammengefaßt.

Tabelle 24 zeigt, getrennt für die beiden Gewichtsabschnitte, den Effekt der Phytase und des Calciums auf die Cadmium-, Blei- und Zinkretention in der Leber wachsender Schweine ohne Berücksichtigung der beiden Schwermetallherkünfte.

Tabelle 24: Cadmium-, Blei- und Zinkkonzentrationen in der Leber (bezogen auf TS) ohne Berücksichtigung der Belastungsherkünfte (B=Belastung, P=Phytase, Ca=Calcium, x=Wechselwirkungen)

	Gr. 0	Gr. 1	Gr. 2+4	Gr. 3+5	Gr. 6+8	Gr. 7+9	Varianzanalyse $p \leq 0,05$
B	-----	-----	+	+	+	+	
P	-----	-----	-----	+	-----	+	
Ca	-----	-----	-----	-----	+	+	
Gewichtsabschnitt bis 30 kg							
Cd mg/kg	0,04 ^a ± 0,02	0,05 ^a ± 0,01	0,50 ^b ± 0,06	0,62 ^c ± 0,11	0,48 ^b ± 0,07	0,48 ^b ± 0,09	B, P, Ca, PxCa
Pb mg/kg	0,13 ^a ± 0,10	0,14 ^{ab} ± 0,06	0,25 ^b ± 0,10	0,25 ^b ± 0,11	0,16 ^{ab} ± 0,05	0,20 ^{ab} ± 0,07	B, Ca
Zn mg/kg	906,4 ^a ± 680,2	106,9 ^b ± 29,2	162,9 ^{bc} ± 63,6	202,6 ^{bc} ± 82,4	121,0 ^{bc} ± 32,6	210,0 ^c ± 67,8	P
Gewichtsabschnitt bis 50 kg							
Cd mg/kg	0,04 ^a ± 0,02	0,05 ^a ± 0,03	0,66 ^b ± 0,03	0,95 ^c ± 0,08	0,69 ^b ± 0,21	0,63 ^b ± 0,12	P, Ca, PxCa
Pb mg/kg	0,13 ^a ± 0,10	0,11 ^a ± 0,07	0,23 ^{ab} ± 0,11	0,31 ^b ± 0,15	0,18 ^{ab} ± 0,08	0,26 ^{ab} ± 0,21	B
Zn mg/kg	906,4 ^a ± 680,2	84,5 ^b ± 17,4	174,3 ^c ± 66,2	203,7 ^c ± 72,3	147,2 ^{bc} ± 54,0	202,3 ^c ± 39,8	P

Im Vergleich zu den Cadmium- und Bleikonzentrationen der Lebern zu Versuchsbeginn (Gruppe 0) stiegen die Werte bei Verabreichung eines normal mit Cadmium, Blei und Zink belasteten Futters (Gruppe 1) im Verlauf der Mast bis 50 kg nicht an. Demgegenüber ist bei Zink eine signifikante Abnahme der Zinkkonzentrationen in der Leber feststellbar.

Eine Anreicherung der Diäten mit Cadmium, Blei und Zink hatte bei allen Elementen höhere Konzentrationen in den Lebern zur Folge (Gruppe 1 vs 2+4), die bei Cadmium in beiden und bei Zink im zweiten Gewichtsabschnitt statistisch gesichert sind.

Ein Zusatz mikrobieller Phytase zu cadmiumbelasteten Rationen verstärkte signifikant die Cadmiumeinlagerung in die Leber. Bei Zink ließ sich dies nur tendenziell erkennen, ebenso bei Blei im Gewichtsabschnitt bis 50 kg (Gruppe. 2+4 vs 3+5).

Eine über den Bedarf hinausgehende Erhöhung der Calciumkonzentration von 0,6 auf 1,2 % im Futter verhinderte die durch Phytase hervorgerufene, erhöhte Cadmiumakkumulation in der Leber signifikant (Gruppe 3+5 vs 7+9). Die Bleikonzentration der Leber blieb unbeeinflusst, während der schwache, ungesicherte Effekt der

mikrobiellen Phytase auf die Zinkkonzentration auch in Gegenwart von Calcium erhalten blieb (Gruppe 3+5 vs 7+9).

Eine alleinige Erhöhung der Calciumkonzentration hatte keinen Effekt auf die Cadmiumspeicherung in der Leber, bei den Blei- und Zinkkonzentrationen deutete sich eine verringerte Einlagerung dieser Elemente in die Leber an (Gruppe 2+4 vs 6+8).

3.6.4.3 Knochen (Phalanx 1)

Der mittlere Aschegehalt der Phalanx 1 (in der Originalsubstanz) lag bei $32,71 \pm 7,02$ %, der mittlere Trockensubstanzgehalt bei $65,13 \pm 4,93$ % (Einzelwerte s. Anhang, Tabelle XI und Tabelle XII). Ein Einfluß der Schwermetallbelastung der Rationen sowie der Phytase und des Calciums auf den Trockensubstanz- und Aschegehalt der Knochen konnte nicht festgestellt werden.

3.6.4.3.1 Blei

Die Bleikonzentrationen in der Phalanx 1 sind in Tabelle 25 angeführt.

Im Vergleich zu den Bleikonzentrationen der Knochen zu Versuchsbeginn (Gruppe 0) fielen die Werte bei Verabreichung einer normal mit Blei belasteten Ration (Gruppe 1) ab, wobei sich dies erst nach einer Expositionszeit von 80 Tagen statistisch sichern ließ.

Eine Bleianreicherung des Futters durch zwei verschiedene Bleiquellen (bleiangereicherte Gerste oder Bleiacetat) erhöhte die Bleiakкумуляtion des Knochens sowohl nach 40 als auch nach 80 Tagen Expositionszeit signifikant (Gruppe 1 vs 2 bzw. 4).

Ein Zusatz mikrobieller Phytase zum bleibelasteten Futter verstärkte die Bleianreicherung in der Phalanx 1 erst nach der längeren Expositionszeit von 80 Tagen und nur bei „künstlicher“ Belastung signifikant (Gruppe 2 vs 3 bzw. 4 vs 5).

Durch eine gleichzeitige über den Bedarf hinausgehende Erhöhung der Calciumkonzentration von 0,6 auf 1,2 % im Futter konnte die phytasebedingte Bleiakкумуляtion verhindert werden (Gruppe 3 vs 7 bzw. 5 vs 9), was sich allerdings nur im Gewichtsabschnitt bis 30 kg statistisch sichern ließ.

Tabelle 25: Bleikonzentrationen in den Knochen (mg/kg TS)

Gr.	Pb	Phytase	Ca	Schlachtung zu Versuchsbeginn					
				MW		s		n	
0	-----	-----	-----	1,22		0,54		8	
				Schlachtung mit 30 kg			Schlachtung mit 50 kg		
				MW	s	n	MW	s	n
1	-----	-----	-----	0,64	0,24	4	0,41	0,05	4
2	nativ	-----	-----	1,04	0,19	4	0,91	0,17	4
3	nativ	+	-----	1,01	0,26	4	1,21	0,33	4
4	kstl.	-----	-----	1,15	0,34	4	1,13	0,25	4
5	kstl.	+	-----	1,29	0,22	4	1,65	0,18	4
6	nativ	-----	+	0,76	0,25	4	0,66	0,13	4
7	nativ	+	+	0,47	0,15	3	0,76	0,29	4
8	kstl.	-----	+	0,66	0,12	4	0,96	0,23	4
9	kstl.	+	+	0,82	0,15	4	1,19	0,43	4

„Native“ Pb-Belastung der Rationen											
Varianzanalyse ¹ : p ≤ 0,05 Belastung, Calcium											
p ≥ 0,05 Phytase, Gewicht											
		bis 30 kg					bis 50 kg				30 kg vs 50 kg
Gruppe	0	1	2	3	6	0	1	2	3	6	
1	ns					s					ns
2	ns	s				ns	s				ns
3	ns	ns	ns			ns	s	ns			ns
6	ns	ns	ns	ns		ns	s	ns	s		ns
7	s	ns	s	s	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

„Künstliche“ Pb-Belastung der Rationen											
Varianzanalyse ¹ : p ≤ 0,05: Phytase, Calcium, Belastung											
p ≥ 0,05: Gewicht											
		bis 30 kg					bis 50 kg				30 kg vs 50 kg
Gruppe	0	1	4	5	8	0	1	4	5	8	
1	ns					s					ns
4	ns	s				ns	s				ns
5	ns	s	ns			ns	s	s			s
8	ns	ns	s	s		ns	s	ns	s		ns
9	ns	ns	ns	s	ns	ns	s	ns	ns	ns	ns

Signifikante Unterschiede zwischen „künstlicher“ und „nativer“ Pb-Belastung der Ration									
	bis 30 kg				bis 50 kg				
Gruppe	2 vs 4	3 vs 5	6 vs 8	7 vs 9	2 vs 4	3 vs 5	6 vs 8	7 vs 9	
	ns	ns	ns	s	ns	ns	ns	ns	ns

s=signifikant, ns=nicht signifikant; p≤0,05

¹ Wechselwirkungen nicht berücksichtigt

Die alleinige Erhöhung der Calciumkonzentration hatte ebenfalls eine leichte Verringerung der Bleigehalte des Knochens zur Folge - statistisch jedoch nur für den Gewichtsabschnitt bis 30 kg bei „künstlicher“ Belastung der Ration zu sichern (Gruppe 2 vs 6 bzw. 4 vs 8).

Ein signifikanter Anstieg des Bleigehaltes der Knochen im Gewichtsabschnitt von 30 kg bis 50 kg ließ sich nur bei Gruppe 5 feststellen.

In beiden Gewichtsabschnitten deutete sich an, daß Blei, das „künstlich“ in die Rationen eingebracht wurde, in größerem Umfang im Knochen retiniert wurde, als „nativ“ in den Rationen vorhandenes Blei. Bei den Gruppen 7 und 9 im Gewichtsabschnitt bis 30 kg ließ sich dies statistisch sichern.

Tabelle 26 zeigt die jeweiligen Regressionsgleichungen, das zugehörige Bestimmtheitsmaß und die Korrelationskoeffizienten für die Beziehung zwischen den Bleikonzentrationen im Knochen und der Expositionszeit. Der nur bei Gruppe 1 etwas höhere, negative Korrelationskoeffizient von - 0,67 weist darauf hin, daß bei Verfütterung einer normal mit Blei belasteten Ration der Bleigehalt der Phalanx 1 im Verlauf der Mast bis 50 kg abnimmt.

Tabelle 26: Bestimmtheitsmaße, Korrelationskoeffizienten und Regressionsgleichungen für die Beziehung zwischen Expositionszeit und Bleikonzentration im Knochen (s=signifikant, ns=nicht signifikant)

Gruppe	Regressionsgleichung	R ²	r	Korrelation
1	$y = 1,19 - 0,01 x$	0,45	- 0,67	s
2	$y = 1,23 - 0,004 x$	0,12	- 0,35	ns
3	$y = 1,18 - 0,0004 x$	0,001	- 0,03	ns
4	$y = 1,23 - 0,001 x$	0,01	- 0,10	ns
5	$y = 1,19 - 0,005 x$	0,17	+ 0,41	ns
6	$y = 1,19 - 0,007 x$	0,29	- 0,54	s
7	$y = 1,14 - 0,006 x$	0,21	- 0,46	ns
8	$y = 1,14 - 0,004 x$	0,10	- 0,32	ns
9	$y = 1,15 - 0,001 x$	0,01	- 0,10	ns

R²: Bestimmtheitsmaß; r: Korrelationskoeffizient; y: Bleigehalt Knochen (mg/kg TS); x: Expositionszeit (Tage)

3.6.4.3.2 Cadmium

Tabelle 27 zeigt die Cadmiumkonzentrationen in der Phalanx 1.

Tabelle 27: Cadmiumkonzentrationen in der Phalanx 1 ($\mu\text{g}/\text{kg}$ TS)

Gr.	Cd	Phytase	Ca	Schlachtung zu Versuchsbeginn							
				MW		s		n			
0	-----	-----	-----	19,9		5,40		8			
				Schlachtung mit 30 kg			Schlachtung mit 50 kg				
				MW	S	n	MW	s	n		
1	-----	-----	-----	13,9	4,49	4	10,2	3,37	4		
2	nativ	-----	-----	16,8	2,25	4	17,0	3,13	4		
3	nativ	+	-----	13,3	1,53	4	15,0	1,68	4		
4	kstl.	-----	-----	17,8	6,77	4	20,3	13,0	4		
5	kstl.	+	-----	17,0	6,62	4	18,8	5,78	4		
6	nativ	-----	+	16,3	4,33	4	15,7	6,43	4		
7	nativ	+	+	15,8	6,54	3	15,1	4,25	4		
8	kstl.	-----	+	14,8	2,88	4	15,2	1,85	4		
9	kstl.	+	+	11,9	3,32	4	8,51	3,96	4		
„Native“ Cd-Belastung der Rationen											
Varianzanalyse ¹ : $p \geq 0,05$ Gewicht, Phytase, Calcium, Belastung											
		bis 30 kg					Bis 50 kg				30 kg vs 50 kg
Gruppe	0	1	2	3	6	0	1	2	3	6	
1	ns					s					ns
2	ns	ns				ns	s				ns
3	s	ns	s			ns	s	Ns			ns
6	ns	ns	ns	ns		ns	ns	Ns	ns		ns
7	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	Ns	ns	ns	ns
„Künstliche“ Cd-Belastung der Rationen											
Varianzanalyse ¹ : $p \leq 0,05$: Calcium, Belastung $p \geq 0,05$: Gewicht, Phytase											
		bis 30 kg					Bis 50 kg				30 kg vs 50 kg
Gruppe	0	1	4	5	8	0	1	4	5	8	
1	ns					s					ns
4	ns	ns				ns	ns				ns
5	ns	ns	ns			ns	s	Ns			ns
8	ns	ns	ns	ns		ns	s	Ns	ns		ns
9	s	ns	ns	ns	ns	s	ns	Ns	s	s	ns
Signifikante Unterschiede zwischen „künstlicher“ und „nativer“ Cd-Belastung der Ration											
		bis 30 kg					bis 50 kg				
Gruppe	2 vs 4	3 vs 5	6 vs 8	7 vs 9	2 vs 4	3 vs 5	6 vs 8	7 vs 9			
	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns			

s=signifikant, ns=nicht signifikant; $p \leq 0,05$ ¹ Wechselwirkungen nicht berücksichtigt

Im Gegensatz zu den bisher angeführten Elementkonzentrationen in Niere und Leber, liegen die Cadmiumgehalte des ausgewählten Knochens wesentlich niedriger, so daß die Werte hier in µg/kg TS angegeben werden.

Im Vergleich zu den Cadmiumkonzentrationen des Knochens zu Versuchsbeginn (Gruppe 0) fielen die Werte bei Verabreichung eines normal mit Cadmium belasteten Futters (Gruppe 1) im Verlauf der Mast bis 50 kg ab, wobei sich dies erst bei einer Expositionszeit von 80 Tagen statistisch sichern ließ.

Eine Cadmiumanreicherung der Ration durch zwei verschiedene Cadmiumquellen (cadmiumangereicherte Gerste oder Cadmiumchlorid) führte zu einer Erhöhung der Cadmiumeinlagerung in der Phalanx 1, statistisch gesichert jedoch nur im Gewichtsbereich bis 50 kg bei „nativer“ Belastung der Ration (Gruppe 1 vs 2 bzw. 4).

Abweichend von den Effekten bei Niere und Leber führte ein Zusatz mikrobieller Phytase zum cadmiumbelasteten Futter bei der Phalanx 1 zu keiner Erhöhung der Cadmiumkonzentrationen, sondern zu einer geringfügigen Abnahme, wobei sich dies im Gewichtsabschnitt bis 30 kg bei „nativer“ Belastung statistisch sichern ließ (Gruppe 2 vs 3 bzw. 4 vs 5).

Durch eine gleichzeitige Erhöhung der Calciumkonzentration von 0,6 auf 1,2 % im Futter war bei „künstlicher“ Belastung der Ration eine Abnahme der Cadmiumkonzentrationen feststellbar (Gruppe 5 vs 9), die sich allerdings erst nach einer Expositionsdauer von 80 Tagen statistisch sichern ließ. Bei „nativer“ Belastung der Ration trat dieser Effekt nicht auf (Gruppe 3 vs 7).

Ebenfalls führte die alleinige Erhöhung der Calciumkonzentration nur bei „künstlicher“ Belastung der Diät zu einer leichten Abnahme der Cadmiumkonzentrationen (Gruppe 4 vs 8), nicht aber bei „nativer“ Belastung (Gruppe 2 vs 6).

Signifikante Unterschiede der Cadmiumgehalte in den Knochen traten bei den einzelnen Gruppen zwischen den Gewichtsabschnitten bis 30 und bis 50 kg nicht auf.

Die unterschiedlichen Cadmiumherkünfte („künstlich“ oder „nativ“) hatten keine Auswirkungen auf die Cadmiumkonzentrationen in den Knochen.

Tabelle 28 zeigt die jeweiligen Regressionsgleichungen, das zugehörige Bestimmtheitsmaß und die Korrelationskoeffizienten für die Beziehung zwischen der Cadmiumkonzentration in den Knochen und der Expositionszeit.

Die Cadmiumkonzentration in der Phalanx 1 nahm im Verlauf der Mast bei Verfütterung einer normal mit Cadmium belasteten Ration ab (Gruppe 1). Die Cadmiumbelastung, der Phytase- und Calciumzusatz sowie die kombinierte Gabe von Phytase und Calcium beeinflussten diesen Verlauf unterschiedlich: Die Cadmiumbelastung der Diäten

minderte den Abfall, der Phytasezusatz unterstützte ihn, hierbei noch verstärkt in Kombination mit Calcium. Aber auch die alleinige Calciumgabe hatte geringere Cadmiumkonzentrationen in der Phalanx 1 zur Folge.

Tabelle 28: Bestimmtheitsmaße, Korrelationskoeffizienten und Regressionsgleichungen für die Beziehung zwischen Expositionszeit und Cadmiumkonzentration im Knochen (s=signifikant, ns=nicht signifikant)

Gruppe	Regressionsgleichung	R ²	r	Korrelation
1	$y = 19,6 - 0,13 x$	0,45	– 0,67	s
2	$y = 19,7 - 0,04 x$	0,11	– 0,33	ns
3	$y = 19,1 - 0,07 x$	0,24	– 0,49	ns
4	$y = 19,5 - 0,001 x$	0,00	0,00	ns
5	$y = 19,6 - 0,02 x$	0,02	– 0,14	ns
6	$y = 19,6 - 0,05 x$	0,13	– 0,36	ns
7	$y = 19,6 - 0,06 x$	0,16	– 0,40	ns
8	$y = 19,4 - 0,06 x$	0,22	– 0,47	ns
9	$y = 19,4 - 0,14 x$	0,55	– 0,74	s

R²: Bestimmtheitsmaß; r: Korrelationskoeffizient; y: Cadmiumgehalt Knochen (µg/kg TS);
x: Expositionszeit (Tage)

3.6.4.3.3 Zink

Die Zinkkonzentrationen in der Phalanx 1 sind in Tabelle 29 angeführt.

Im Vergleich zu den Zinkkonzentrationen der Knochen zu Versuchsbeginn (Gruppe 0) fielen die Werte bei Verabreichung einer normal mit Zink belasteten Ration (Gruppe 1) im Verlauf der Mast bis 30 und bis 50 kg signifikant ab.

Eine Zinkanreicherung des Futters durch zwei verschiedene Zinkquellen (zinkangereicherte Gerste und Zinkchlorid) erhöhte die Zinkakkumulation in den Knochen, allerdings bei einer Expositionszeit von 40 Tagen weniger ausgeprägt, als nach einer Expositionszeit von 80 Tagen, wo sich der Effekt durchwegs statistisch sichern ließ (Gruppe 1 vs 2 bzw. 4).

Tabelle 29: Zinkkonzentrationen in den Knochen (mg/kg TS)

Gr.	Zn	Phytase	Ca	Schlachtung zu Versuchsbeginn							
				MW		s		n			
0	-----	-----	-----	199,9		58,9		8			
				Schlachtung mit 30 kg			Schlachtung mit 50 kg				
				MW	s	n	MW	s	n		
1	-----	-----	-----	94,5	27,9	4	36,2	7,00	4		
2	nativ	-----	-----	122,1	9,36	4	107,0	34,5	4		
3	nativ	+	-----	153,9	42,7	4	125,0	14,4	4		
4	kstl.	-----	-----	100,6	12,1	4	82,5	15,9	4		
5	kstl.	+	-----	132,8	32,2	4	108,7	30,2	4		
6	nativ	-----	+	122,9	14,3	4	91,1	4,60	4		
7	nativ	+	+	189,8	67,1	3	139,7	21,9	4		
8	kstl.	-----	+	123,0	30,1	4	90,4	18,9	4		
9	kstl.	+	+	149,3	13,9	4	119,0	16,0	4		
„Native“ Zn-Belastung der Rationen											
Varianzanalyse ¹ : p ≤ 0,05 Phytase, Gewicht, Belastung											
p ≥ 0,05 Calcium											
		bis 30 kg					bis 50 kg				30 kg vs 50 kg
Gruppe	0	1	2	3	6	0	1	2	3	6	
1	s					s					s
2	s	ns				s	s				ns
3	ns	ns	ns			s	s	ns			ns
6	s	ns	ns	ns		s	s	ns	s		s
7	ns	s	ns	ns	ns	ns	s	ns	ns	s	ns
„Künstliche“ Zn-Belastung der Rationen											
Varianzanalyse ¹ : p ≤ 0,05: Gewicht, Phytase, Belastung											
p ≥ 0,05: Calcium											
		bis 30 kg					bis 50 kg				30 kg vs 50 kg
Gruppe	0	1	4	5	8	0	1	4	5	8	
1	s					s					s
4	s	ns				s	s				ns
5	ns	ns	ns			s	s	ns			ns
8	s	ns	ns	ns		s	s	ns	ns		ns
9	ns	s	s	ns	ns	s	s	s	ns	ns	s
Signifikante Unterschiede zwischen „künstlicher“ und „nativer“ Zn-Belastung der Ration											
		bis 30 kg					bis 50 kg				
Gruppe	2 vs 4	3 vs 5	6 vs 8	7 vs 9	2 vs 4	3 vs 5	6 vs 8	7 vs 9			
	s	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	

s=signifikant, ns=nicht signifikant; p≤0,05

¹ Wechselwirkungen nicht berücksichtigt

Ein Zusatz mikrobieller Phytase zum zinkbelasteten Futter verstärkte tendenziell die Zinkspeicherung im Knochen (Gruppe 2 vs 3 bzw. 4 vs 5), was auch bei einer gleichzeitigen, über den Bedarf hinausgehenden Anhebung der Calcium-konzentration von 0,6 auf 1,2 % im Futter, festgestellt werden konnte (Gruppe 3 vs 7 bzw. 5 vs 9).

Die alleinige Erhöhung der Calciumkonzentration hatte keinen Einfluß auf die Zinkeinlagerung in den Knochen (Gruppe 2 vs 6 bzw. 4 vs 8).

Die Zinkkonzentrationen im Knochen nahmen im Gewichtsabschnitt von 30 kg bis 50 kg ab, was sich bei den Gruppen 1, 6 und 9 statistisch sichern ließ.

Bei der Zinkretention im Knochen deutete sich eine etwas verringerte Zinkeinlagerung bei „künstlicher“ Belastung der Rationen an, was sich im Gewichtsabschnitt bis 30 kg bei den Gruppen 2 und 4 statistisch sichern ließ.

Tabelle 30 zeigt die jeweiligen Regressionsgleichungen, das zugehörige Bestimmtheitsmaß und die Korrelationskoeffizienten für die Beziehung zwischen der Zinkkonzentration in den Knochen und der Expositionszeit. Es zeigt sich eine abnehmende Zinkkonzentration in den Knochen mit fortschreitender Expositionszeit.

Tabelle 30: Bestimmtheitsmaße, Korrelationskoeffizienten und Regressionsgleichungen für die Beziehung zwischen Expositionszeit und Zinkkonzentration im Knochen (s=signifikant, ns=nicht signifikant)

Gruppe	Regressionsgleichung	R ²	r	Korrelation
1	$y = 195,7 - 2,19 x$	0,73	- 0,85	s
2	$y = 194,8 - 1,29 x$	0,48	- 0,69	s
3	$y = 197,9 - 0,95 x$	0,34	- 0,58	s
4	$y = 192,8 - 1,59 x$	0,60	- 0,77	s
5	$y = 196,1 - 1,22 x$	0,50	- 0,71	s
6	$y = 195,1 - 1,33 x$	0,56	- 0,75	s
7	$y = 202,7 - 0,68 x$	0,12	- 0,35	ns
8	$y = 196,0 - 1,36 x$	0,55	- 0,74	s
9	$y = 198,1 - 0,98 x$	0,42	- 0,65	s

R²: Bestimmtheitsmaß; r: Korrelationskoeffizient; y: Zinkgehalt Knochen (mg/kg TS); x: Expositionszeit (Tage)

3.6.4.3.4 Calcium

Um mögliche Effekte einer Schwermetallbelastung bzw. des Einsatzes von Phytase in schwermetallkontaminierten Rationen auf den Calcium-Phosphor Haushalt festzustellen, wurde stellvertretend für die Skelettspeicherung die Einlagerung von Calcium und Phosphor in die Phalanx 1 untersucht. Die nachfolgenden Tabellen zeigen die Ergebnisse dieser Bestimmungen.

Die Calciumkonzentrationen in den Knochen zeigt Tabelle 31. Im Vergleich zu den

Calciumkonzentrationen in den Knochen zu Versuchsbeginn (Gruppe 0) veränderten sich die Werte bei Verabreichung einer normalen, bedarfsgerechten Ration (Gruppe 1) im Verlauf der Mast bis 50 kg nicht.

Eine Schwermetallbelastung des Futters durch die Elemente Cadmium (eingebracht als cadmiumangereicherte Gerste oder als Cadmiumchlorid), Blei (eingebracht als bleiangereicherte Gerste oder Bleiacetat) und Zink (eingebracht als zinkangereicherte Gerste oder Zinkchlorid) hatte keine signifikanten Auswirkungen auf den Calciumgehalt des Knochens (Gruppe 1 vs 2 bzw. 4).

Ein Zusatz mikrobieller Phytase zum schwermetallbelasteten Futter führte sowohl bei „nativer“ als auch bei „künstlicher“ Belastung zu einem tendenziellen Anstieg der Calciumkonzentrationen in der Phalanx 1 (Gruppe 2 vs 3 bzw. 4 vs 5), der durch gleichzeitige Calciumzulagen noch verstärkt wurde (Gruppe 3 vs 7 bzw. 5 vs 9).

Gegenüber den nicht mit Phytase und Calcium supplementierten Gruppen 2 bzw. 4 überschritten die höheren Calciumkonzentrationen bei den Gruppen 7 und 9 in den beiden Gewichtsabschnitten teilweise die Signifikanzschwelle.

Die alleinige Steigerung der Calciumkonzentration im Futter führte ebenfalls tendenziell, mit Ausnahme im Gewichtsabschnitt bis 50 kg bei nativer Belastung der Ration, zu einem höheren Calciumgehalt des Knochens (Gruppe 2 vs 6 bzw. 4 vs 8).

Der Calciumgehalt der Knochen weist innerhalb der einzelnen Gruppen zwischen dem Gewichtsabschnitt bis 30 kg und dem Gewichtsabschnitt bis 50 kg keine statistisch sicherbaren Unterschiede auf.

Die beiden Belastungsherkünfte („künstlich“ oder „nativ“) hatten keine unterschiedlichen Auswirkungen auf die Calciumretention der Knochen.

Tabelle 31: Calciumkonzentrationen in der Phalanx 1 (g/kg TS)

Gr.	Bel.	Phytase	Ca	Schlachtung zu Versuchsbeginn							
				MW		s	n				
0	-----	-----	-----	165,9		20,9	8				
				Schlachtung mit 30 kg			Schlachtung mit 50 kg				
				MW	s	n	MW	s	n		
1	-----	-----	-----	156,9	21,3	4	168,0	25,8	4		
2	nativ	-----	-----	155,1	19,3	4	154,3	11,8	4		
3	nativ	+	-----	161,1	8,89	4	172,2	15,6	4		
4	kstl.	-----	-----	148,2	12,8	4	150,1	22,9	4		
5	kstl.	+	-----	161,8	8,47	4	171,2	22,7	4		
6	nativ	-----	+	163,6	15,1	4	153,1	8,44	4		
7	nativ	+	+	166,2	12,9	3	181,3	6,56	4		
8	kstl.	-----	+	177,2	23,8	4	160,7	13,2	4		
9	kstl.	+	+	178,4	20,9	4	173,9	9,39	4		
„Native“ Cd-, Pb- und Zn-Belastung der Rationen											
Varianzanalyse ¹ : p ≤ 0,05 Phytase											
p ≥ 0,05 Gewicht, Calcium, Belastung											
		bis 30 kg					bis 50 kg				30 kg vs 50 kg
Gruppe	0	1	2	3	6	0	1	2	3	6	
1	ns					ns					ns
2	ns	ns				ns	ns				ns
3	ns	ns	ns			ns	ns	ns			ns
6	ns	ns	ns	ns		ns	ns	ns	ns		ns
7	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	s	ns	s	ns
„Künstliche“ Cd-, Pb- und Zn-Belastung der Rationen											
Varianzanalyse ¹ : p ≤ 0,05: Calcium											
p ≥ 0,05: Phytase, Gewicht, Belastung											
		bis 30 kg					bis 50 kg				30 kg vs 50 kg
Gruppe	0	1	4	5	8	0	1	4	5	8	
1	ns					ns					ns
4	ns	ns				ns	ns				ns
5	ns	ns	ns			ns	ns	ns			ns
8	ns	ns	ns	ns		ns	ns	ns	ns		ns
9	ns	ns	s	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Signifikante Unterschiede zwischen „künstlicher“ und „nativer“ Cd-, Pb- und Zn-Belastung der Ration											
		bis 30 kg					bis 50 kg				
Gruppe	2 vs 4	3 vs 5	6 vs 8	7 vs 9	2 vs 4	3 vs 5	6 vs 8	7 vs 9			
	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns			

s=signifikant, ns=nicht signifikant; p≤0,05

¹ Wechselwirkungen nicht berücksichtigt

Tabelle 32 zeigt die jeweiligen Regressionsgleichungen, das zugehörige Bestimmtheitsmaß und die Korrelationskoeffizienten für die Beziehung zwischen dem Calciumgehalt der Knochen und der Expositionszeit. Ein Zusammenhang zwischen Expositionszeit und Calciumeinlagerung in den Knochen konnte nicht nachgewiesen werden.

Tabelle 32: Bestimmtheitsmaße, Korrelationskoeffizienten und Regressionsgleichungen für die Beziehung zwischen Expositionszeit und Calciumkonzentration im Knochen (s=signifikant, ns=nicht signifikant)

Gruppe	Regressionsgleichung	R ²	r	Korrelation
1	$y = 164,3 - 0,003 x$	0,00	0,00	ns
2	$y = 165,1 - 0,16 x$	0,09	- 0,30	ns
3	$y = 164,2 + 0,07 x$	0,02	+ 0,14	ns
4	$y = 164,2 - 0,23 x$	0,14	- 0,37	ns
5	$y = 164,5 + 0,06 x$	0,01	+ 0,10	ns
6	$y = 166,5 - 0,14 x$	0,09	- 0,30	ns
7	$y = 165,0 + 0,16 x$	0,12	+ 0,35	ns
8	$y = 168,8 - 0,04 x$	0,01	- 0,10	ns
9	$y = 167,8 + 0,10 x$	0,04	+ 0,20	ns

R²: Bestimmtheitsmaß; r: Korrelationskoeffizient; y: Calciumgehalt Knochen (g/kg TS);
x: Expositionszeit (Tage)

3.6.4.3.5 Phosphor

Die Phosphorkonzentrationen in den Knochen zeigt Tabelle 33.

Im Vergleich zu den Phosphorkonzentrationen in den Knochen zu Versuchsbeginn (Gruppe 0) veränderten sich die Werte bei der gewählten Phosphorkonzentration des Futters (Gruppe 1) im Verlauf der Mast bis 50 kg nicht.

Eine Schwermetallbelastung des Futters, durch die Elemente Cadmium (eingebracht als cadmiumangereicherte Gerste oder als Cadmiumchlorid), Blei (eingebracht als bleiangereicherte Gerste oder Bleiacetat) und Zink (eingebracht als zinkangereicherte Gerste oder Zinkchlorid) hatte, trotz tendenziell leicht abnehmender Phosphorgehalte des Knochens, keine signifikanten Auswirkungen (Gruppe 1 vs 2 bzw. 4).

Unbeeinflusst von der Calciumzulage verbesserte die Zulage mikrobieller Phytase zum Futter (Gruppe 3 und 7 bzw. 5 und 9) die Phosphorkonzentration in der Phalanx 1 im Vergleich zu den nicht supplementierten Gruppen 2 und 6 bzw. 4 und 8, im Gewichtsabschnitt bis 50 kg, teilweise signifikant.

Tabelle 33: Phosphorkonzentrationen in den Knochen (g/kg TS)

Gr.	Bel.	Phytase	Ca	Schlachtung zu Versuchsbeginn					
				MW		s		n	
0	-----	-----	-----	81,5		8,80		8	
				Schlachtung mit 30 kg			Schlachtung mit 50 kg		
				MW	s	n	MW	s	n
1	-----	-----	-----	74,4	9,94	4	81,2	11,6	4
2	nativ	-----	-----	71,9	10,9	4	74,3	3,57	4
3	nativ	+	-----	78,1	5,06	4	83,4	7,49	4
4	kstl.	-----	-----	71,0	4,88	4	70,8	11,4	4
5	kstl.	+	-----	77,4	3,78	4	83,0	9,76	4
6	nativ	-----	+	75,3	7,84	4	67,6	3,91	4
7	nativ	+	+	75,6	7,79	3	81,4	6,97	4
8	kstl.	-----	+	75,9	8,87	4	72,1	2,94	4
9	kstl.	+	+	79,6	8,13	4	80,7	4,81	4

„Native“ Cd-, Pb- und Zn-Belastung der Rationen											
Varianzanalyse ¹ : p ≤ 0,05 Phytase											
p ≥ 0,05 Gewicht, Calcium, Belastung											
Gruppe	0	bis 30 kg				0	bis 50 kg				30 kg vs 50 kg
		1	2	3	6		1	2	3	6	
1	ns					ns					ns
2	ns	ns				ns	ns				ns
3	ns	ns	ns			ns	ns	ns			ns
6	ns	ns	ns	ns		s	ns	s	ns		ns
7	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	s	ns

„Künstliche“ Cd-, Pb- und Zn-Belastung der Rationen											
Varianzanalyse ¹ : p ≤ 0,05: Phytase											
p ≥ 0,05: Gewicht, Calcium, Belastung											
Gruppe	0	bis 30 kg				0	bis 50 kg				30 kg vs 50 kg
		1	4	5	8		1	4	5	8	
1	ns					ns					ns
4	ns	ns				ns	ns				ns
5	ns	ns	ns			ns	ns	ns			ns
8	ns	ns	ns	ns		ns	ns	ns	ns		ns
9	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	s	ns

Signifikante Unterschiede zwischen „künstlicher“ und „nativer“ Cd-, Pb- und Zn-Belastung der Ration									
Gruppe	bis 30 kg				bis 50 kg				
	2 vs 4	3 vs 5	6 vs 8	7 vs 9	2 vs 4	3 vs 5	6 vs 8	7 vs 9	
	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

s=signifikant, ns=nicht signifikant; p≤0,05

¹ Wechselwirkungen nicht berücksichtigt

Der Phosphorgehalt der Knochen zeigte innerhalb der einzelnen Gruppen zwischen dem Gewichtsabschnitt bis 30 kg und dem Gewichtsabschnitt bis 50 kg keine statistisch sicherbaren Unterschiede.

Die beiden Belastungsherkünfte („künstlich“ oder „nativ“) zeigten keine unterschiedlichen Auswirkungen auf die Phosphorretention der Knochen.

Tabelle 34 zeigt die jeweiligen Regressionsgleichungen, das zugehörige Bestimmtheitsmaß und die Korrelationskoeffizienten für die Beziehung zwischen der Phosphorkonzentration in den Knochen und der Expositionszeit. Auch bei Phosphor kann, ebenso wie bei Calcium, kein Zusammenhang zwischen Expositionszeit und Phosphoreinlagerung in den Knochen hergestellt werden.

Tabelle 34: Bestimmtheitsmaße, Korrelationskoeffizienten und Regressionsgleichungen für die Beziehung zwischen Expositionszeit und Phosphorkonzentration im Knochen

Gruppe	Regressionsgleichung	R ²	r	Korrelation
1	$y = 80,4 - 0,03 x$	0,01	- 0,10	ns
2	$y = 80,4 - 0,11 x$	0,16	- 0,40	ns
3	$y = 80,6 + 0,02 x$	0,01	+ 0,10	ns
4	$y = 80,6 - 0,15 x$	0,26	- 0,51	s
5	$y = 80,5 + 0,01 x$	0,01	+ 0,10	ns
6	$y = 81,4 - 0,16 x$	0,34	- 0,58	s
7	$y = 80,7 - 0,02 x$	0,01	- 0,10	ns
8	$y = 81,4 - 0,12 x$	0,26	- 0,51	ns
9	$y = 81,4 - 0,02 x$	0,01	- 0,10	ns

R²: Bestimmtheitsmaß; r: Korrelationskoeffizient; y: Phosphorgehalt Knochen (g/kg TS);
x: Expositionszeit (Tage)

3.6.4.3.6 Gemeinsame Auswertung der Schwermetallherkünfte

Für eine von der Schwermetallherkunft unabhängige Betrachtung der Cadmium-, Blei-, Zink-, Calcium- und Phosphorkonzentrationen in den Knochen wurden die Ergebnisse beider Versuchsreihen zusammengefaßt.

Tabelle 35 zeigt, getrennt für die beiden Gewichtsabschnitte, den Effekt der Phytase und des Calciums auf die Blei-, Cadmium-, Zink-, Calcium- und Phosphorretention in der Phalanx 1 wachsender Schweine ohne Berücksichtigung der beiden Schwermetallherkünfte.

Die Cadmiumkonzentrationen in der Phalanx 1 wurden weder durch die Zulage mikrobieller Phytase, allein oder in Kombination mit einer Calciumzulage, noch durch eine alleinige Calciumzulage zu einer schwermetallbelasteten Ration in keinem der beiden geprüften Wachstumsabschnitte signifikant beeinflusst.

Dagegen wurde die Bleikonzentration nach längerer Verfütterung der Phytase-supplementierten Ration (bis 50 kg) signifikant erhöht (Gruppe 2+4 vs 3+5), durch eine gleichzeitige Calciumzulage die Erhöhung verhindert (Gruppe 7+9). Eine Verminderung der Bleikonzentrationen in der Phalanx 1 trat auch bei alleiniger Calciumzulage ein (Gruppe 2+4 vs 6+8). Sie ließ sich allerdings nur im Gewichtsabschnitt bis 30 kg statistisch sichern.

Tabelle 35: Cadmium-, Blei-, Zink-, Calcium- und Phosphorkonzentrationen in den Knochen (alle Angaben auf TS bezogen) ohne Berücksichtigung der Belastungsherkünfte ($p \leq 0,05$; B=Belastung, P=Phytase, Ca=Calcium, x=Wechselwirkungen)

	Gr. 0	Gr. 1	Gr. 2+4	Gr. 3+5	Gr. 6+8	Gr. 7+9	Varianzanalyse $p \leq 0,05$
B	-----	-----	+	+	+	+	
P	-----	-----	-----	+	-----	+	
Ca	-----	-----	-----	-----	+	+	
Gewichtsabschnitt bis 30 kg							
Cd $\mu\text{g/kg}$	19,9 ^a $\pm 5,40$	13,9 ^{ab} $\pm 4,50$	17,3 ^{ab} $\pm 4,71$	15,1 ^{ab} $\pm 4,88$	15,5 ^{ab} $\pm 3,50$	13,5 ^b $\pm 4,91$	-----
Pb mg/kg	1,22 ^{ac} $\pm 0,54$	0,64 ^{ab} $\pm 0,24$	1,10 ^c $\pm 0,26$	1,15 ^c $\pm 0,27$	0,71 ^b $\pm 0,19$	0,67 ^b $\pm 0,23$	Ca
Zn mg/kg	199,9 ^a $\pm 58,9$	94,5 ^b $\pm 27,9$	111,3 ^{bc} $\pm 15,2$	143,3 ^{cd} $\pm 36,8$	122,9 ^{bc} $\pm 21,8$	166,6 ^{ad} $\pm 45,5$	P
Ca g/kg	165,9 ^a $\pm 20,9$	156,9 ^a $\pm 21,3$	151,6 ^a $\pm 15,6$	161,4 ^a $\pm 8,05$	170,4 ^a $\pm 19,8$	173,2 ^a $\pm 17,8$	Ca
P g/kg	81,5 ^a $\pm 8,80$	74,4 ^{ab} $\pm 9,94$	71,4 ^b $\pm 7,83$	77,7 ^{ab} $\pm 4,15$	75,6 ^{ab} $\pm 7,76$	77,9 ^{ab} $\pm 7,60$	-----
Gewichtsabschnitt bis 50 kg							
Cd $\mu\text{g/kg}$	19,9 ^a $\pm 5,40$	10,2 ^b $\pm 3,37$	18,6 ^{abc} $\pm 8,95$	16,9 ^{ac} $\pm 4,44$	15,4 ^{abc} $\pm 4,39$	11,8 ^{bc} $\pm 5,18$	-----
Pb mg/kg	1,22 ^{acd} $\pm 0,54$	0,41 ^b $\pm 0,05$	1,02 ^c $\pm 0,23$	1,43 ^d $\pm 0,34$	0,81 ^c $\pm 0,24$	0,98 ^c $\pm 0,41$	B, P, Ca
Zn mg/kg	199,9 ^a $\pm 58,9$	36,2 ^b $\pm 7,00$	94,7 ^c $\pm 28,1$	116,8 ^{cd} $\pm 23,6$	90,8 ^c $\pm 12,7$	129,3 ^d $\pm 20,9$	P
Ca g/kg	165,9 ^{ab} $\pm 20,9$	168,0 ^{ab} $\pm 25,8$	152,2 ^a $\pm 17,0$	171,7 ^b $\pm 18,0$	156,9 ^a $\pm 11,0$	177,6 ^b $\pm 8,48$	P
P g/kg	81,5 ^{ac} $\pm 8,80$	81,2 ^{ac} $\pm 11,6$	72,6 ^{ab} $\pm 8,04$	83,2 ^c $\pm 8,05$	69,9 ^b $\pm 3,99$	81,0 ^c $\pm 5,56$	P

Die höheren Zinkkonzentrationen in der Phalanx 1 der Tiere mit einer Zulage mikrobieller Phytase allein (Gruppe 3+5) oder zusammen mit Calcium (Gruppe 7+9), im Vergleich zu den nicht supplementierten Gruppen (2+4) konnten statistisch nicht gesichert werden. Die alleinige Calciumzulage beeinflusste die Zinkkonzentrationen nicht.

Die Zulage mikrobieller Phytase verbesserte den Calcium- und Phosphoransatz in der Phalanx 1 im Gewichtsabschnitt bis 50 kg signifikant (Gruppe 2+4 vs 3+5). Die alleinige Calciumzulage hatte keinen Einfluß auf die Calcium- und Phosphorkonzentrationen der Phalanx 1 (Gruppe 6+8 vs 2+4).

3.6.4.4 Muskel (Unterarm)

Der mittlere Trockensubstanzgehalt der Muskeln betrug $21,43 \pm 0,89$ % (Einzelwerte s. Anhang, Tabelle XIII). Ein Einfluß der Schwermetallbelastung der Rationen sowie der Phytase und des Calciums auf den Trockensubstanzgehalt der Muskeln konnte nicht festgestellt werden.

3.6.4.4.1 Blei

Tabelle 36 zeigt die Bleikonzentrationen in der Unterarmmuskulatur.

Die Bleikonzentrationen der Muskeln nahmen bei Verabreichung einer normal mit Blei belasteten Ration im Verlauf der Mast bis 30 kg ab (Gruppe 0 vs 1). Die Abnahme ließ sich allerdings aufgrund großer Streuungen zwischen den Tieren der Gruppe 0 statistisch nicht absichern. Im Wachstumsabschnitt von 30 bis 50 kg traten keine weiteren Veränderungen auf.

Weder durch Bleizulagen in „nativer“ Form über eine belastete Gerste, noch durch „künstliche“ Kontamination der Rationen durch Bleiacetat wurden die Bleikonzentrationen der Unterarmmuskulatur beeinflusst (Gruppe 1 vs 2 bzw. 4).

Auch eine Zulage mikrobieller Phytase hatte keinen Effekt (Gruppe 2 vs 3 bzw. 4 vs 5).

Tabelle 36: Bleikonzentration in den Muskeln (Unterarm, µg/kg TS)

Gr.	Pb	Phytase	Ca	Schlachtung zu Versuchsbeginn					
				MW		s		n	
0	-----	-----	-----	54,9		55,5		8	
				Schlachtung mit 30 kg			Schlachtung mit 50 kg		
				MW	s	n	MW	s	n
1	-----	-----	-----	23,0	12,0	4	23,8	4,84	4
2	nativ	-----	-----	43,1	24,7	4	22,3	9,11	4
3	nativ	+	-----	69,4	59,4	4	22,3	4,50	4
4	kstl.	-----	-----	31,6	10,9	4	34,8	12,0	4
5	kstl.	+	-----	38,9	6,24	4	46,3	12,9	4
6	nativ	-----	+	41,8	7,43	4	44,2	16,8	4
7	nativ	+	+	29,2	4,99	3	22,8	9,49	4
8	kstl.	-----	+	23,6	5,86	4	21,0	7,25	4
9	kstl.	+	+	34,2	15,9	4	22,3	6,85	4

„Native“ Pb-Belastung der Rationen											
Varianzanalyse ¹ : p ≥ 0,05 Phytase, Belastung, Gewicht, Calcium											
	bis 30 kg					bis 50 kg					30 kg vs 50 kg
Gruppe	0	1	2	3	6	0	1	2	3	6	
1	ns					ns					ns
2	ns	ns				ns	ns				ns
3	ns	ns	ns			ns	ns	ns			ns
6	ns	s	ns	ns		ns	s	ns	s		ns
7	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

„Künstliche“ Pb-Belastung der Rationen											
Varianzanalyse ¹ : p ≤ 0,05: Phytase, Calcium, Belastung p ≥ 0,05: Gewicht											
	bis 30 kg					bis 50 kg					30 kg vs 50 kg
Gruppe	0	1	4	5	8	0	1	4	5	8	
1	ns					ns					ns
4	ns	ns				ns	ns				ns
5	ns	ns	ns			ns	s	ns			ns
8	ns	ns	ns	s		ns	ns	ns	s		ns
9	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	s	ns	ns

Signifikante Unterschiede zwischen „künstlicher“ und „nativer“ Pb-, Belastung der Ration									
	bis 30 kg				bis 50 kg				
Gruppe	2 vs 4	3 vs 5	6 vs 8	7 vs 9	2 vs 4	3 vs 5	6 vs 8	7 vs 9	
	ns	ns	s	ns	ns	s	s	ns	

s=signifikant, ns=nicht signifikant; p≤0,05

¹ Wechselwirkungen nicht berücksichtigt

Die Calciumzulage zeigte keine eindeutigen Auswirkungen. Bei „künstlicher“ Belastung mit Bleiacetat reduzierte die Calciumzulage in beiden Wachstumsphasen die Bleikonzentration im Vergleich zu den Gruppen mit mikrobieller Phytase signifikant (Gruppe 5 vs 8), bei „nativer“ Belastung wurde im längeren Wachstumsabschnitt bis 50 kg eine signifikante Erhöhung gefunden (Gruppe 3 vs 6).

Es traten signifikante Wirksamkeitsunterschiede zwischen beiden Bleiquellen auf. Mikrobielle Phytase erhöhte die Bleiaufnahme in die Unterarmmuskulatur aus Bleiacetat gegenüber der nativen Bindungsform im Wachstumsabschnitt bis 50 kg statistisch gesichert (Gruppe 3 vs 5), Calciumzulagen reduzierten sie aus dieser Bindungsform in beiden Wachstumsabschnitten (Gruppe 6 vs 8).

Innerhalb der einzelnen Gruppen traten im Gewichtsabschnitt von 30 kg bis 50 kg keine signifikanten Änderungen der Bleikonzentration in der Unterarmmuskulatur auf.

Tabelle 37 zeigt die jeweiligen Regressionsgleichungen, das zugehörige Bestimmtheitsmaß und die Korrelationskoeffizienten für die Beziehung zwischen der Bleikonzentration im Muskel und der Expositionszeit.

Tabelle 37: Bestimmtheitsmaße, Korrelationskoeffizienten und Regressionsgleichungen für die Beziehung zwischen Expositionszeit und Bleikonzentration im Muskel

Gruppe	Regressionsgleichung	R ²	r	Korrelation
1	$y = 52,0 - 0,45 x$	0,12	- 0,35	ns
2	$y = 55,7 - 0,41 x$	0,11	- 0,33	ns
3	$y = 60,0 - 0,32 x$	0,05	- 0,22	ns
4	$y = 52,7 - 0,29 x$	0,06	- 0,24	ns
5	$y = 52,5 - 0,13 x$	0,01	- 0,10	ns
6	$y = 53,0 - 0,13 x$	0,01	- 0,10	ns
7	$y = 53,3 - 0,39 x$	0,12	- 0,35	ns
8	$y = 52,0 - 0,43 x$	0,14	- 0,37	ns
9	$y = 54,3 - 0,40 x$	0,12	- 0,35	ns

R²: Bestimmtheitsmaß; r: Korrelationskoeffizient; y: Bleigehalt Muskel (µg/kg TS); x: Expositionszeit (Tage)

Ein Zusammenhang zwischen Expositionszeit und Bleikonzentration in der Unterarmmuskulatur bestand nicht.

3.6.4.4.2 Cadmium

Tabelle 38 zeigt die Cadmiumkonzentrationen in den Muskeln. Aufgrund der geringen Gehalte sind die Konzentrationen in $\mu\text{g}/\text{kg}$, ebenfalls bezogen auf Trockensubstanz angegeben.

Im Vergleich zu den Cadmiumkonzentrationen der Muskeln zu Versuchsbeginn (Gruppe 0) veränderten sich die Werte bei Verabreichung einer normal mit Cadmium belasteten Ration (Gruppe 1) im Verlauf der Mast bis 50 kg nicht.

Die Effekte der Cadmiumbelastung und die Wirkungen zusätzlicher Phytase- und Calciumgaben auf die Cadmiumkonzentrationen der ausgewählten Muskeln erwiesen sich als inkonstant und teilweise widersprüchlich. So erhöhte die Cadmiumanreicherung des Futters in der „nativen“ Bindungsform die Cadmiumkonzentration der Muskeln im Wachstumsabschnitt bis 50 kg signifikant (Gruppe 1 vs 2), nicht aber die Verabreichung des Cadmiums in der löslicheren Form des CdCl_2 (Gruppe 1 vs 4). Der direkte Vergleich der beiden Bindungsformen in diesem Wachstumsabschnitt (Gruppe 2 vs 4) ergibt ebenfalls eine signifikant höhere Speicherwirkung des „nativen“ Cadmiums. Hingegen wurde Cadmium in der CdCl_2 - Form nach Zulage mikrobieller Phytase signifikant im Muskel angereichert (Gruppe 4 vs 5), nicht aber nach Zulage des Enzyms zur Ration mit Cadmium in „nativer“ Bindungsform (Gruppe 2 vs 3).

Calciumzulagen senkten die Cadmiumkonzentrationen im Muskel nur in der kürzeren Wachstumsphase bis 30 kg signifikant, wenn Cadmium in „nativer“ Bindungsform (Gruppe 2 vs 6 bzw. 7), nicht aber wenn es in der Cadmiumchloridform verabreicht wurde. Im längeren Wachstumsabschnitt bis 50 kg trat der Effekt nicht mehr auf.

Im Verlauf des Wachstums von 30 bis 50 kg stiegen die Cadmiumkonzentrationen im Muskel bei zwei Gruppen mit „nativer“ Belastung (Gruppe 2 und 6) und einer Gruppe mit „künstlicher“ Belastung (Gruppe 5) signifikant an, in den anderen Gruppen tendenziell.

Tabelle 38: Cadmiumkonzentration in den Muskeln (Unterarm, µg/kg TS)

Gr.	Cd	Phytase	Ca	Schlachtung zu Versuchsbeginn					
				MW		s		n	
0	-----	-----	-----	7,29		2,91		8	
				Schlachtung mit 30 kg			Schlachtung mit 50 kg		
				MW	s	n	MW	s	n
1	-----	-----	-----	7,48	2,42	4	6,43	3,58	4
2	nativ	-----	-----	8,83	1,44	4	11,5	1,10	4
3	nativ	+	-----	9,19	3,76	4	11,8	2,77	4
4	kstl.	-----	-----	6,21	1,64	4	8,00	0,81	4
5	kstl.	+	-----	7,65	1,21	4	10,5	0,86	4
6	nativ	-----	+	6,37	0,39	4	13,2	2,95	4
7	nativ	+	+	5,27	0,76	3	8,93	3,06	4
8	kstl.	-----	+	6,39	3,24	4	8,58	3,79	4
9	kstl.	+	+	8,78	3,19	4	9,16	1,80	4

„Native“ Cd-Belastung der Rationen											
Varianzanalyse ¹ : p ≤ 0,05 Gewicht											
p ≥ 0,05 Phytase, Calcium, Belastung											
	bis 30 kg					bis 50 kg					30 kg vs 50 kg
Gruppe	0	1	2	3	6	0	1	2	3	6	
1	ns					ns					ns
2	ns	ns				s	s				s
3	ns	ns	ns			s	ns	ns			ns
6	ns	ns	s	ns		s	s	ns	ns		s
7	ns	ns	s	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

„Künstliche“ Cd-Belastung der Rationen											
Varianzanalyse ¹ : p ≤ 0,05: Phytase											
p ≥ 0,05: Gewicht, Calcium, Belastung											
	bis 30 kg					bis 50 kg					30 kg vs 50 kg
Gruppe	0	1	4	5	8	0	1	4	5	8	
1	ns					ns					ns
4	ns	ns				ns	ns				ns
5	ns	ns	ns			ns	ns	s			s
8	ns	ns	ns	ns		ns	ns	ns	ns		ns
9	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Signifikante Unterschiede zwischen „künstlicher“ und „nativer“ Cd-, Belastung der Ration									
	bis 30 kg				bis 50 kg				
Gruppe	2 vs 4	3 vs 5	6 vs 8	7 vs 9	2 vs 4	3 vs 5	6 vs 8	7 vs 9	
	ns	ns	ns	ns	s	ns	ns	ns	ns

s=signifikant, ns=nicht signifikant; p≤0,05

¹ Wechselwirkungen nicht berücksichtigt

Tabelle 39 zeigt die jeweiligen Regressionsgleichungen, das zugehörige Bestimmtheitsmaß und die Korrelationskoeffizienten für die Beziehung zwischen der Cadmiumkonzentration im Muskel und der Expositionszeit.

Tabelle 39: Bestimmtheitsmaße, Korrelationskoeffizienten und Regressionsgleichungen für die Beziehung zwischen Expositionszeit und Cadmiumkonzentration im Muskel

Gruppe	Regressionsgleichung	R ²	r	Korrelation
1	$y = 7,39 - 0,009 x$	0,01	- 0,10	ns
2	$y = 7,21 + 0,05 x$	0,39	+ 0,62	s
3	$y = 7,29 + 0,05 x$	0,28	+ 0,53	s
4	$y = 7,01 + 0,006 x$	0,01	+ 0,10	ns
5	$y = 7,06 + 0,04 x$	0,26	+ 0,51	s
6	$y = 6,63 + 0,06 x$	0,35	+ 0,59	s
7	$y = 6,86 + 0,02 x$	0,04	+ 0,20	ns
8	$y = 6,94 + 0,01 x$	0,03	+ 0,17	ns
9	$y = 7,33 + 0,03 x$	0,11	+ 0,33	ns

R²: Bestimmtheitsmaß; r: Korrelationskoeffizient; y: Cadmiumgehalt Muskel (µg/kg TS);
x: Expositionszeit (Tage)

Die mit Ausnahme der Gruppe 1 durchwegs positiven Korrelationskoeffizienten, die bei den „nativ“ belasteten Gruppen 2, 3 und 6, sowie bei der „künstlich“ belasteten Gruppe 5 signifikant sind, deuten an, daß Cadmium mit fortschreitender Expositionszeit zwar langsam, aber doch zunehmend im Muskel akkumuliert wird.

3.6.4.4.3 Zink

Tabelle 40 zeigt die Zinkkonzentrationen in den Muskeln.

Im Vergleich zu den Zinkkonzentrationen der Muskeln bei Versuchsbeginn (Gruppe 0) stiegen die Werte bei Verabreichung einer normal mit Zink belasteten Ration (Gruppe 1) im Verlauf der Mast bis 50 kg tendenziell an.

Eine Zinkanreicherung des Futters durch zwei verschiedene Zinkquellen (zinkangereicherte Gerste oder Zinkchlorid) erhöhte die Zinkakkumulation der Muskeln, was sich allerdings nur im Gewichtsabschnitt bis 50 kg bei „künstlicher“ Belastung der Ration statistisch sichern ließ (Gruppe 1 vs 2 bzw. 4).

Ein Zusatz mikrobieller Phytase hatte keine Auswirkungen auf die Zinkeinlagerung der Muskeln (Gruppe 2 vs 3 bzw. 4 vs 5)

Tabelle 40: Zinkkonzentration in den Muskeln (mg/kg TS)

Gr.	Zn	Phytase	Ca	Schlachtung zu Versuchsbeginn					
				MW		s		n	
0	-----	-----	-----	128,3		11,4		8	
				Schlachtung mit 30 kg			Schlachtung mit 50 kg		
				MW	s	n	MW	s	n
1	-----	-----	-----	138,4	25,4	4	143,3	11,5	4
2	nativ	-----	-----	147,2	8,69	4	164,3	17,1	4
3	nativ	+	-----	143,6	14,8	4	156,3	30,1	4
4	kstl.	-----	-----	144,8	14,0	4	160,7	6,56	4
5	kstl.	+	-----	154,9	6,57	4	161,4	12,8	4
6	nativ	-----	+	160,6	9,58	4	150,2	14,7	4
7	nativ	+	+	151,3	11,6	3	160,2	6,51	4
8	kstl.	-----	+	164,1	6,39	4	156,8	13,9	4
9	kstl.	+	+	152,4	16,0	4	154,3	12,4	4

„Native“ Zn-Belastung der Rationen											
Varianzanalyse ¹ : p ≥ 0,05 Gewicht, Phytase, Calcium											
Belastung											
	bis 30 kg					bis 50 kg					30 kg vs 50 kg
Gruppe	0	1	2	3	6	0	1	2	3	6	
1	ns					ns					ns
2	s	ns				s	ns				ns
3	ns	ns	ns			s	ns	ns			ns
6	s	ns	ns	ns		s	ns	ns	ns		ns
7	s	ns	ns	ns	ns	s	s	ns	ns	ns	ns

„Künstliche“ Zn-Belastung der Rationen											
Varianzanalyse ¹ : p ≤ 0,05: Belastung											
p ≥ 0,05: Gewicht, Phytase, Calcium											
	bis 30 kg					bis 50 kg					30 kg vs 50 kg
Gruppe	0	1	4	5	8	0	1	4	5	8	
1	ns					ns					ns
4	ns	ns				s	s				ns
5	s	ns	ns			s	ns	ns			ns
8	s	ns	s	ns		s	ns	ns	ns		ns
9	s	ns	ns	ns	ns	s	ns	ns	ns	ns	ns

Signifikante Unterschiede zwischen „künstlicher“ und „nativer“ Zn-, Belastung der Ration									
	bis 30 kg				bis 50 kg				
Gruppe	2 vs 4	3 vs 5	6 vs 8	7 vs 9	2 vs 4	3 vs 5	6 vs 8	7 vs 9	
	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

s=signifikant, ns=nicht signifikant; p≤0,05

¹ Wechselwirkungen nicht berücksichtigt

Dies war ebenso bei einer gleichzeitigen, über den Bedarf hinausgehenden Erhöhung der Calciumkonzentration von 0,6 auf 1,2 % im Futter der Fall (Gruppe 3 vs 7 bzw. 5 vs 9).

Die alleinige Anhebung des Calciumgehaltes in der Ration führte nur im Gewichtsabschnitt bis 30 kg zu einer Erhöhung der Zinkkonzentration des Muskels, die bei „künstlicher“ Belastung statistisch gesichert werden konnte (Gruppe 2 vs 6 bzw. 4 vs 8). Bei den Zinkkonzentrationen im Muskel ließen sich innerhalb der einzelnen Gruppen zwischen dem Gewichtsabschnitt bis 30 kg und dem Gewichtsabschnitt bis 50 kg keine statistisch sicherbaren Unterschiede feststellen.

Die unterschiedlichen Zinkherkünfte („künstlich“ oder „nativ“) hatten keine Auswirkungen auf den Zinkgehalt des Muskels.

Tabelle 41 zeigt die jeweiligen Regressionsgleichungen, das zugehörige Bestimmtheitsmaß und die Korrelationskoeffizienten für die Beziehung zwischen der Zinkkonzentration im Muskel und der Expositionszeit.

Trotz relativ niedriger Bestimmtheitsmaße, konnten die positiven Korrelationen zwischen Expositionszeit und Zinkkonzentration im Knochen, mit Ausnahme der Gruppe 1, statistisch gesichert werden.

Tabelle 41: Bestimmtheitsmaße, Korrelationskoeffizienten und Regressionsgleichungen für die Beziehung zwischen Expositionszeit und Zinkkonzentration im Muskel

Gruppe	Regressionsgleichung	R ²	r	Korrelation
1	$y = 128,6 + 0,21 x$	0,18	+ 0,42	ns
2	$y = 128,6 + 0,46 x$	0,63	+ 0,79	s
3	$y = 129,1 + 0,34 x$	0,31	+ 0,56	s
4	$y = 128,5 + 0,41 x$	0,62	+ 0,79	s
5	$y = 130,0 + 0,45 x$	0,67	+ 0,82	s
6	$y = 132,2 + 0,31 x$	0,37	+ 0,61	s
7	$y = 129,6 + 0,39 x$	0,66	+ 0,81	s
8	$y = 132,4 + 0,38 x$	0,48	+ 0,69	s
9	$y = 130,6 + 0,32 x$	0,44	+ 0,66	s

R²: Bestimmtheitsmaß; r: Korrelationskoeffizient; y: Zinkgehalt Muskel (mg/kg TS); x: Expositionszeit (Tage)

3.6.4.4 Gemeinsame Auswertung der Schwermetallherkünfte

Für eine von der Schwermetallherkunft unabhängige Betrachtung der Cadmium-, Blei- und Zinkkonzentrationen in den Muskeln wurden die Ergebnisse beider Versuchsreihen zusammengefaßt.

Tabelle 42 zeigt, getrennt für die beiden Gewichtsabschnitte, den Effekt der Phytase und des Calciums auf die Cadmium-, Blei- und Zinkretention im Muskel wachsender Schweine, ohne Berücksichtigung der beiden Schwermetallherkünfte.

Tabelle 42: Cadmium-, Blei- und Zinkkonzentrationen in den Muskeln (alle Angaben auf TS bezogen) ohne Berücksichtigung der Belastungsherkünfte (B=Belastung, P=Phytase, Ca=Calcium)

	Gr. 0	Gr. 1	Gr. 2+4	Gr. 3+5	Gr. 6+8	Gr. 7+9	Varianzanalyse $p \leq 0,05$
B	-----	-----	+	+	+	+	
P	-----	-----	-----	+	-----	+	
Ca	-----	-----	-----	-----	+	+	
Gewichtsabschnitt bis 30 kg							
Cd µg/kg	7,29 ^a ± 2,91	7,48 ^a ± 2,42	7,52 ^a ± 2,00	8,42 ^a ± 2,71	6,38 ^a ± 2,14	7,27 ^a ± 2,97	BxCa
Pb µg/kg	54,9 ^a ± 55,5	23,0 ^a ± 12,0	37,4 ^a ± 18,7	54,2 ^a ± 42,4	32,7 ^a ± 11,6	32,0 ^a ± 11,9	-----
Zn mg/kg	128,3 ^a ± 11,4	138,4 ^{ab} ± 25,4	146,0 ^b ± 10,9	149,2 ^{bc} ± 12,2	162,3 ^c ± 7,77	151,9 ^{bc} ± 13,2	Ca
Gewichtsabschnitt bis 50 kg							
Cd µg/kg	7,29 ^a ± 2,91	6,43 ^a ± 3,58	9,76 ^{ab} ± 2,09	11,1 ^b ± 2,02	10,9 ^{ab} ± 3,98	9,05 ^{ab} ± 2,33	B, BxP
Pb µg/kg	54,9 ^a ± 55,5	23,8 ^a ± 4,84	28,5 ^a ± 11,9	34,3 ^a ± 15,6	32,6 ^a ± 17,2	22,6 ^a ± 7,67	BxP, BxCa, PxCa
Zn mg/kg	128,3 ^a ± 11,4	143,3 ^{ab} ± 11,5	162,5 ^c ± 12,1	158,8 ^{bc} ± 21,6	153,5 ^{bc} ± 13,7	157,2 ^{bc} ± 9,66	-----

Im Vergleich zu den Ausgangswerten der Muskeln zu Versuchsbeginn (Gruppe 0), stiegen die Konzentrationen bei Verabreichung einer normal mit Cadmium, Blei und Zink belasteten Ration bei Zink tendenziell an, nahmen bei Blei tendenziell ab und zeigten bei Cadmium keine Veränderung.

Ohne Berücksichtigung der beiden Schwermetallherkünfte führte nur die Erhöhung der Zinkbelastung zu einem signifikanten Anstieg der Konzentration in der Muskulatur des Unterarmes im Wachstumsabschnitt bis 50 kg (Gruppe 1 vs 2+4).

Die Cadmium-, Blei- und Zinkkonzentrationen wurden durch mikrobielle Phytase im Futter nicht beeinflusst (Gruppe 2+4 vs 3+5).

Die alleinige Erhöhung der Calciumkonzentration der Diäten hatte keine Wirkung auf die Cadmium- und Bleikonzentrationen der Muskeln. Der Zinkgehalt der Unterarmmuskulatur wurde im Gewichtsbereich bis 30 kg signifikant erhöht (Gruppe 2+4 vs 6+8).

3.7 Diskussion

3.7.1 Einfluß der Schwermetallbelastung und der Phytase auf die Gewichtsentwicklung

In der vorliegenden Arbeit konnte bei einer Konzentration von durchschnittlich 1,45 mg Pb/kg TS und 0,78 mg Cd/kg TS in den Rationen der Versuchsgruppen kein Einfluß der Schwermetallbelastung auf die Gewichtsentwicklung der Tiere festgestellt werden. Dieser Befund deckt sich mit der Mehrzahl der Versuche, bei denen Blei und Cadmium in ähnlichen Dosierungen wachsenden Schweinen verabreicht wurde.

Hsu et al. (1975) fanden bei wachsenden Schweinen erst bei Bleikonzentrationen von 1000 mg/kg und Zinkgehalten von 4000 mg/kg verminderte Zunahmen, wobei der Effekt bei niederem Calciumgehalt der Ration verstärkt wurde.

Schell und Kornegay (1996) konnten bei Verfütterung von Diäten, die bis zu 3000 mg Zink/kg enthielten, keinen Einfluß der Zinkkonzentration auf die Leistung von Ferkeln feststellen.

Petersen und Vemmer (1979) konnten keinen eindeutigen Einfluß von Bleikonzentrationen bis zu 614 mg/kg im Futter wachsender Schweine auf Futterverzehr, Wachstum und Futterverwertung nachweisen. In der Tendenz trat jedoch eine gewisse Leistungsminderung ab etwa 156 mg Pb/kg Futter auf.

King et al. (1992) fanden bei Cadmiumkonzentrationen von 0,44 bis 4,43 mg/kg Futter bis zu einem Mastendgewicht von 90 kg keinen Einfluß der Cadmiumbelastung der Ration auf die Lebendmassezunahme.

Cadmiumbedingte Wachstumsdepressionen treten nach Angaben von Sharma et al. (1979) erst ab einem Cadmiumgehalt des Futters von 10 mg/kg auf. Vemmer und Petersen (1979) gehen sogar davon aus, daß dies erst bei Cadmiumkonzentrationen von mehr als 100 mg/kg Futter der Fall ist.

Der Einfluß von Phytase auf die Gewichtsentwicklung wurde von Pointillart (1991) untersucht. Nach Zulage von pflanzlicher Phytase zu einer Ration für 40 kg schwere Schweine, konnte er eine tendenzielle Steigerung der täglichen Zunahmen feststellen.

Auch Pallauf et al. (1992 b) fand nach Zusatz von 500 und 1000 U Phytase/kg Futter nur eine tendenzielle Verbesserung der täglichen Zunahmen.

Demgegenüber konnten Beers und Jongbloed (1992), nach Zulage von 1450 U Phytase/kg Diät, bei Ferkeln signifikant höhere tägliche Zunahmen beobachten. Ebenso war die Futtermittelverwertung gegenüber einer Versuchsmischung, die mit 1 bis 2 g mineralischem Phosphor/kg Futter ergänzt war, verbessert.

Dies konnten auch Hoppe und Schwarz (1993) in einer weiteren Untersuchung an Ferkeln feststellen.

Lei et al. (1993 a) fanden ebenfalls nach Zulage von 1350 U Phytase/g (Finase, 1 U = 1 pmol P/g) signifikant verbesserte Zunahmen bei Ferkeln.

In den genannten Arbeiten, bei denen signifikante Effekte einer Phytasezulage auf die Gewichtsentwicklung festgestellt werden konnten, wurden relativ hohe Phytasezulagen eingesetzt.

Daß in der vorliegenden Arbeit kein Effekt der Phytase auf die Gewichtsentwicklung festgestellt werden konnte, dürfte jedoch in erster Linie auf die stark restriktive Fütterung zurückzuführen sein.

3.7.2 Einfluß der Bindungsform von Blei, Cadmium und Zink auf die Gehalte dieser Elemente in den untersuchten Organen

In der vorliegenden Arbeit war bei Blei in Leber, Niere und Knochen eine höhere Konzentration bei „künstlicher“ Belastung der Ration festzustellen. Die Ursache dürfte primär nicht auf ein unterschiedliches Verhalten der beiden Bleibindungsarten bei Absorption und Retention sein, sondern die im Mittel um 51 % höhere Bleikonzentration in der „künstlich“ belasteten Ration, wie unter 3.6.2 bereits angeführt. Daß der Umfang der Retention von Schwermetallen in verschiedenen Organen, neben der Expositionszeit, vor allem von der Höhe der Schwermetallbelastung des Futters abhängt, ist aus zahlreichen Untersuchungen bekannt, die alle zeigen, daß eine Steigerung der Schwermetallkonzentration der Diät und damit eine steigende orale Aufnahme von Elementen wie Blei, zu erhöhten Schwermetallkonzentrationen in verschiedenen Organen führt (Literaturübersichten bei Kreuzer und Rosopulo, 1981; Schenkel, 1988 b; Schenkel, 1990 a; Schenkel, 1990 b).

Die Cadmiumkonzentrationen in Muskel und Knochen lagen sowohl bei „künstlicher“ als auch bei „nativer“ Belastung der Ration auf demselben Niveau. In der Niere zeigte sich auf hohem Calciumniveau bei Zulage von Phytase eine verminderte Cadmiumretention bei „künstlicher“ Belastung der Diät. Dies deutete sich auch in der Leber an.

Diese Ergebnisse dürften jedoch auch hier weniger auf eine unterschiedliche Stoffwechselkinetik von „nativem“ und „künstlichem“ Cadmium zurückzuführen sein, sondern eher auf eine vermehrte Bildung von unlöslichem Cadmium-Calcium-Phytat bei „künstlicher“ Rationsbelastung, da Cadmium in der „nativen“ Bindungsform in geringerem Umfang phytatgebunden sein könnte und damit weniger unlösliches Cadmium-Calcium-Phytat gebildet wird. Unlösliche Komplexverbindungen wie Cadmium-Calcium-Phytat können durch die Phytase nicht mehr hydrolysiert werden, womit Cadmium auch nicht für eine Absorption zur Verfügung steht. Daß nur lösliche Phytatkomplexe von Phytase hydrolysiert werden können, und die Verfügbarkeit der darin gebundenen Elemente dadurch erhöht wird, geht aus der von Lantzsch (1990) unter 2.2 bereits erwähnten Arbeit hervor.

Bei Zink lagen die Konzentrationen in den untersuchten Organen sowohl bei „künstlicher“ als auch bei „nativer“ Belastung der Rationen auf derselben Höhe.

Somit lässt sich zusammenfassend festhalten, daß in der vorliegenden Untersuchung weder bei Blei, noch bei Cadmium und Zink ein eindeutig unterschiedliches stoffwechselkinetisches Verhalten der beiden Schwermetallbindungsformen in den Rationen festgestellt werden konnte. Die Beantwortung der Frage, inwieweit Unterschiede beim stoffwechselkinetischen Verhalten zwischen anorganischen und organischen Schwermetallverbindungen bestehen, ist von großem praktischen Interesse, da experimentell in erster Linie anorganische Verbindungen eingesetzt werden, über die Nahrung aufgenommene Schwermetalle aber vorwiegend in biologisch gebundener Form vorliegen. Hierzu existieren teilweise widersprüchliche Berichte.

Den Einfluß verschiedener Bleibindungsformen auf die Bioverfügbarkeit dieses Elements untersuchten Dieter et al. (1993) an Ratten. Bei Verfütterung von Rationen, die mit 10 bis 100 mg Blei/kg über weniger lösliche Bleiverbindungen, wie Bleisulfid oder Bleiverbindungen aus nativ vorkommenden Bleierzen, belastet waren, konnten sie geringere Bleikonzentrationen im Knochen und in der Niere feststellen, als nach Belastung der Rationen mit leichter löslichen Verbindungen wie Bleioxid oder Bleiacetat.

Freeman et al. (1991) verfütterten über 30 Tage Rationen, in die Blei über nativ belastete Böden aus einem Bergbaugebiet eingebracht wurde, an junge Sprague-Dawley Ratten. Sie konnten zeigen, daß im Vergleich zu einer Mischung, in die Blei über leicht lösliches Bleiacetat eingebracht wurde, aus der nativ belasteten Ration weniger Blei im Blut, Knochen und in der Leber eingelagert wurde.

Demgegenüber kommen LaVelle et al. (1991) zu einem anderen Ergebnis. Sie untersuchten die Bioverfügbarkeit von Blei an Miniaturschweinen, die zum einen Rationen erhielten, die über Rückstände aus der Erzgewinnung, zum anderen über Bleisulfid oder Bleinitrat belastet waren. Bei den Tieren, die die Rationen erhielten, die über Bergbaurückstände kontaminiert waren, konnten sie höhere Bleikonzentrationen im Blut feststellen, als bei den Tieren die mit Bleisulfid oder -nitrat belastete Diäten erhielten. Sie gehen deshalb davon aus, daß Blei, das auf „natürlichem“ Weg z.B. über Emissionen der Bergbauindustrie in die Nahrung gelangt, in größerem Umfang absorbiert wird, als „künstlich“ eingebrachtes Blei. Gleichzeitig weisen sie jedoch darauf hin, daß neben der Partikelgröße auch die kristalline Bindungsform dieses Elements für die Einlagerung in den Organismus von Bedeutung ist.

Aus Untersuchungen an Ratten, die anorganisches oder in Algen gebundenes Cadmium mit dem Futter erhielten, geht hervor, daß bestimmte Formen anorganischen Cadmiums zwar schneller aus dem Darm absorbiert werden als biologisch gebundenes Cadmium, die Akkumulation in Leber und Niere aber keine Unterschiede zwischen den beiden Cadmiumbindungsformen erkennen läßt (Nentwig, 1979; Runkel und Payer, 1984).

Ebenso wie in der vorliegenden Untersuchung konnten auch Wagner et al. (1984) und Weigel et al. (1987) keine Unterschiede zwischen natürlich in Weizen und Roggen gebundenem Cadmium und anorganischem Cadmium bei Absorption und Verteilung im Organismus finden.

Es wurde jedoch auch schon, sowohl von einer geringeren Verfügbarkeit von biologisch gebundenem Cadmium gegenüber anorganischem Cadmiumchlorid (Uthe und Chou, 1979), als auch von einer erhöhten Cadmiumakkumulation in den Nieren bei Verabreichung von biologischen Cadmiumverbindungen anstelle von anorganischen, berichtet (Sullivan et al., 1984).

Untersuchungen zum Einfluß der Cadmiumbindungsform auf die Cadmiumretention beim landwirtschaftlichen Nutztier wurden zunächst an wachsenden Hühnerküken durchgeführt. Hierbei wurde die Bioverfügbarkeit von Cadmium aus chemisch synthethisiertem Cadmiumphytat (Cd_3phytat , Cd_6phytat) mit der aus CdCl_2 und natürlich kontaminiertem Getreide verglichen. Ein Einfluß der unterschiedlichen Bindungsformen auf die Cadmiumeinlagerung in Leber und Niere war hier bei Cadmiumkonzentrationen von 1, 3 und 9 mg/kg im Futter nicht festzustellen.

In weiteren Untersuchungen an männlichen Broilern wurde gleichfalls festgestellt, daß die Bindungsform des Cadmiums, das als CdCl_2 , synthethisch hergestelltes Cd_3phytat

und in Form eines nativ belasteten Weizens in Konzentrationen von 1 mg/kg in der Diät verfüttert wurde, keinen Einfluß auf die Cadmiumretention in Niere und Leber hatte. Dies war ebenso bei der Verfütterung von CdCl_2 und Cd_3phytat in Konzentrationen von 3 und 9 mg/kg im Futter der Fall. Neben anderen Nahrungsfaktoren wurde hierbei auch der Effekt von Pektin, von dem bekannt ist, daß es die Bioverfügbarkeit von Calcium beeinflussen kann, untersucht. Hierbei konnte bei Pektinkonzentrationen von 1 % und 2,5 % in der Ration gegenüber der Kontrollgruppe kein Unterschied bei den Cadmiumkonzentrationen in der Niere festgestellt werden (Rambeck et al., 1986; Rambeck et al., 1988).

Jackl et al. (1985) untersuchte die Retention von ^{109}Cd an Ratten, das den Tieren entweder als Cadmiumchlorid oder als Cadmiumphytat einmalig über eine Schlundsonde appliziert wurde. Die Tiere erhielten zum einen Rationen mit einem Phytat-P-Gehalt von 0,29 %, zum anderen mit weniger als 0,1 % Phytat-P. Hohe Konzentrationen an ^{109}Cd wurden bei den Tieren festgestellt, die ^{109}Cd als Chlorid aufnahmen und welche die Ration mit einem Phytatgehalt von 0,1 % erhielten. Bei den Tieren, die ^{109}Cd als Phytat erhalten hatten und ebenfalls mit der Ration mit 0,1 % Phytat-P ernährt wurden, lagen die Konzentrationen von ^{109}Cd in Leber, Niere, Herz und Pankreas auf demselben niedrigeren Niveau, wie bei den Tieren welche die Ration mit 0,29 % Phytat-P erhielten. Gleichzeitig weisen die Autoren darauf hin, daß auch Calcium, das in Konzentrationen von 1 % in den Rationen enthalten war, in diesem Zusammenhang von Bedeutung sein könnte, da Calcium zu einer Präzipitation von Phytat bzw. Cadmiumphytat führen könne.

Nockels et al. (1993) verfütterten Rationen an Kälber, in die 36,6 mg Zink/kg entweder über Zinkmethionin oder über Zinksulfat eingebracht wurden. Hierbei konnten sie bei der scheinbaren Zinkabsorption und der Zinkausscheidung mit dem Kot keine Unterschiede zwischen den beiden Zinkbindungsformen erkennen.

Auch Spears (1989) kommt bei einer ähnlichen Untersuchung, in der Zink zum einen als Zinkmethionin, zum anderen als Zinkoxid an Lämmer verabreicht wurde, zu einem ähnlichen Ergebnis. Die scheinbare Zinkabsorption war bei beiden Zinkbindungsformen gleich. Allerdings konnte er bei Verfütterung von Zinkmethionin eine verringerte Zinkausscheidung über den Urin feststellen.

Schell und Kornegay (1996) supplementierten Diäten für Ferkel mit 1000, 2000 und 3000 mg Zink/kg aus ZnO , Zinkmethionin, Zinklysin und Zinksulfat. Die höchste Verfügbarkeit konnten sie bei der Verabreichung von Zinksulfat feststellen, die geringste

bei Verfütterung von Zinkoxid, während das in organischer Bindungsform vorliegende Zink hierbei eine Zwischenstellung einnahm.

Wedekind et al. (1993) verfütterten an wachsende Schweine bis zu 15 mg Zink/kg in Form von $ZnSO_4$, ZnO , Zinkmethionin und Zinklysin. Die beste Verfügbarkeit wies auch hier $ZnSO_4$ auf. Im Vergleich hierzu lag die Verfügbarkeit von ZnO bei 84,4 %, von Zinkmethionin bei 24,3 % und von Zinklysin bei 69,5 %.

In einer ähnlichen Untersuchung kommen Wedekind et al. (1994) ebenfalls zu dem Ergebnis, daß Zink, das als $ZnSO_4$ in die Rationen eingebracht wurde, die beste Verfügbarkeit aufwies, gefolgt von Zinkmethionin, Zinkoxid und Zinklysin.

Ebenso lag die Aktivität der alkalischen Phosphatase in einer Arbeit von Kuznetsov et al. (1984) bei Ferkeln nach Supplementierung der Rationen mit $ZnSO_4$ höher, als nach Verabreichung von ZnO .

3.7.3 Einfluß der Phytase und des Calciums auf die Blei-, Cadmium-, und Zinkretention in den untersuchten Organen

Da aus zahlreichen Untersuchungen bekannt ist, daß Phytase die Verfügbarkeit von Phosphor durch die Hydrolyse des Phytatkomplexes erhöht und damit einhergehend auch die an den Phosphatgruppen gebundenen Spurenelemente einer Absorption zugänglich macht (Lantzsch, 1990; Döngelhof und Rodehutschord, 1995), muß davon ausgegangen werden, daß dies auch für Blei und Cadmium zutrifft, zumal aus *in vitro* Untersuchungen von Wise und Gilbert (1981) und Nolan et al. (1987) bekannt ist, daß diese Elemente phytatgebunden sein können. Daß Zink im Phytatkomplex gebunden ist und dessen Verfügbarkeit durch einen Phytasezusatz gesteigert werden kann, ist bereits seit längerer Zeit bekannt (siehe Lantzsch, 1990).

Gleichzeitig ist die Wirkung der Phytase durch hohe Calciumkonzentrationen im Futter bzw. im Gastrointestinaltrakt durch die Bildung von unlöslichen Calcium-Phytat-Komplexen stark eingeschränkt (siehe Döngelhof und Rodehutschord, 1995), womit sich die, trotz Phytasezusatz, verringerte Schwermetallakkumulation in den untersuchten Organen auf hohem Calciumniveau erklären ließe.

In der vorliegenden Arbeit konnte durch den Phytasezusatz zu den bleikontaminierten Rationen eine signifikante Steigerung der Bleikonzentration im Knochen festgestellt werden. Eine über den Bedarf hinausgehende Calciumversorgung konnte dies verhindern. In Niere und Leber war der Effekt ebenfalls, wenn auch nur tendenziell, nachweisbar. Im Muskel war diesbezüglich nichts zu erkennen. Wie aus zahlreichen Untersuchungen, darunter auch von Kreuzer und Rosopulo (1981) hervorgeht, wird mit

der Nahrung aufgenommenes Blei in erster Linie im Knochen, aber auch in der Niere retiniert, was auch in dieser Arbeit wiederum nachweisbar war.

Die Steigerung der Bleiretention in den genannten Organen, dürfte aus den bereits unter 3.7.3 genannten Gründen auf eine, durch den Phytasezusatz verbesserte Verfügbarkeit von phytatgebundenem Blei zurückzuführen sein.

Arbeiten, die den Einfluß von Phytase auf die Bleiretention beim landwirtschaftlichen Nutztier behandeln, liegen bisher nicht vor. Allerdings wurden bereits mehrere Untersuchungen an Labornagern durchgeführt, bei denen geprüft wurde, welchen Einfluß Phytat auf die Bleiakкумуляtion im tierischen Organismus hat.

Wise (1981) verfütterte an Mäuse eine mit 1000 mg Pb/kg belastete Ration. In der Leber konnte er bei Verfütterung einer phytatfreien Ration 6,4 mg Pb/kg, in der Niere 40 mg Pb/kg nachweisen. Enthielten die Rationen 20 g Calciumphytat/kg, konnte er in Leber und Niere Bleikonzentrationen von 1,2 bzw. 3,9 mg/kg feststellen. Die von Wise (1981) eingesetzte Bleikonzentration im Futter überstieg hierbei die Bleigehalte der Rationen in der vorliegenden Arbeit, die im Mittel bei 1,45 mg/kg i. TS lag, bei weitem. Somit liegen auch die von Wise (1981) in Niere und Leber gefundenen Bleikonzentrationen wesentlich höher, als in der vorliegenden Untersuchung. Der von ihnen gefundene „protektive“ Effekt einer Calciumphytatzulage läßt jedoch darauf schließen, daß im Fall einer Phytasesupplementierung bleikontaminierter Rationen mit einer verstärkten Bleiakкумуляtion zu rechnen wäre, wie dies in der vorliegenden Arbeit der Fall ist. Allerdings ist hier die Frage zu stellen, inwieweit Untersuchungsergebnisse bei der Maus auf Schweine übertragen werden können.

Auch bei der Verfütterung von Rationen an Mäuse, die nur mit 50 mg Blei/kg belastet waren, konnte Wise (1982), bei der Untersuchung der Bleigehalte des Blutes, geringere Konzentrationen feststellen, wenn den Diäten Calciumphytat zugesetzt war.

Ähnliche Untersuchungen stellten Rose und Quarterman (1984) sowie Quarterman und Rose (1985) an Ratten an. Hierbei verfütterten sie Diäten mit 200 mg Blei/kg, das als Bleiacetat eingebracht wurde. Nach vier Wochen konnten sie in Knochen- und Leberasche Bleikonzentrationen von 332 mg/kg bzw. 1,21 mg/kg nachweisen. Wurden gleichzeitig 10 g Phytinsäure/kg verabreicht, gingen die Bleigehalte in Knochen und Leber auf 124 bzw. 0,71 mg/kg zurück. Dieser Effekt wurde durch eine zusätzliche Supplementierung der phytinsäurehaltigen Diäten mit Calcium noch verstärkt. Die Bleikonzentrationen in Knochen und Leber fielen weiter auf 39 bzw. 0,57 mg/kg.

In der vorliegenden Arbeit war kein eindeutiger Effekt einer über den Bedarf hinausgehenden Calciumsupplementierung der phytasefreien, bleisupplementierten Diäten

auf die Bleieinlagerung in den Organismus nachzuweisen. Somit müßte davon ausgegangen werden, daß ein protektiver Effekt einer zusätzlichen Calciumgabe, bei Verfütterung bleikontaminierter Rationen nicht zu erwarten ist.

Aus einer Übersichtsarbeit von Schenkel (1988 a) geht hervor, daß bei höherer Bleikonzentration im Futter eine zusätzliche Calciumgabe einen protektiven Effekt auf die Bleiretention haben könnte, insbesondere jedoch auf eine bedarfsgerechte Calciumversorgung zu achten ist.

Weiterhin muß aufgrund des fehlenden Calciumeffektes in den phytasefreien Rationen wohl davon ausgegangen werden, daß bei diesen Gruppen nicht phytatgebundenes Blei, sondern eine andere Bindungsform, evtl. Bleiphytochelatin, die Hauptquelle der Bleibelastung des tierischen Organismus darstellt, da phytatgebundenes Blei durch zusätzliche Calciumgaben präzipitiert werden kann und damit nicht mehr für Absorption und Retention zur Verfügung steht. Untersuchungen zur Bindung von Blei an Phytochelatine liegen bislang nicht vor, jedoch kann Cadmium, wie nachfolgend noch beschrieben, phytochelatingebunden sein.

Der Einsatz von Phytase führte in der vorliegenden Untersuchung unabhängig von der Belastungsherkunft des Cadmiums in den Rationen („künstlich“ oder „nativ“), zu einer signifikanten Steigerung der Cadmiumkonzentration in Leber und Niere, die durch eine gleichzeitige, über den Bedarf hinausgehende Calciumversorgung verhindert werden konnte. In Muskel und Knochen konnten die Effekte nicht festgestellt werden.

Dies war aufgrund der bisher vorliegenden Untersuchungen zum stoffwechselkinetischen Verhalten von Cadmium zu erwarten, da Niere und Leber die Hauptspeicherorgane für dieses Element darstellen, während Muskel und Knochen von einer alimentären Cadmiumexposition nur in geringem Umfang betroffen sind (Schenkel, 1994).

Auch bei Cadmium dürfte, ebenso wie bei Blei, eine verbesserte intestinale Verfügbarkeit dieses Elements durch den Einsatz von Phytase die Ursache für eine gesteigerte Cadmiumretention in den genannten Organen sein, wobei durch eine über den Bedarf hinausgehende Calciumzulage der Phytaseeffekt, durch die Bildung von unlöslichem Calcium-Cadmium-Phytat, verhindert wird.

Bei Verfütterung von Diäten mit Cadmiumkonzentrationen im µg/kg-Bereich (12,7 - 23,4 µg/kg in der Frischsubstanz) an Schweine im Gewichtsbereich bis 100 kg fanden Rimbach et al. (1996 a, b) nach Zusatz von 800 U Phytase/kg Futter eine Erhöhung der Cadmiumkonzentration in der Leber von 11,8 µg/kg auf 17,3 µg/kg, in der Niere von 59,6 auf 102 µg/kg. Die Rationen enthielten hierbei eine mittlere Calciumkonzentration

von 0,69 %. In der vorliegenden Arbeit konnte in Leber und Niere im Gewichtsabschnitt bis 50 kg eine Erhöhung der Cadmiumgehalte durch den Zusatz von 800 U Phytase/kg von 0,66 auf 0,95 mg/kg bzw. von 7,23 auf 11,7 mg/kg festgestellt werden. Die hier höheren Gehalte in den untersuchten Organen lassen sich durch die höheren Cadmiumkonzentrationen in den eingesetzten Rationen (im Mittel 0,76 mg/kg i. TS) erklären.

Bei ähnlichen Cadmiumkonzentrationen im Futter (0,5 mg/kg) wie in der vorliegenden Arbeit, fanden Hollwich (1995) und Thielen et al. (1996) bei Schweinen im Gewichtsabschnitt bis 100 kg, durch den Zusatz von 1000 U Phytase/kg Futter, gegenüber einer Kontrollgruppe, sowohl bei normalem als auch bei reduziertem Phosphorgehalt der Ration eine durchschnittliche Steigerung des Cadmiumgehaltes von 0,14 auf 0,19 mg/kg in der Leber-FS und von 1,91 auf 2,47 mg/kg in der Nieren-FS. Bei einem mittleren Trockensubstanzgehalt der Leber von 29 % und der Niere von 19 % lagen die Konzentrationen in diesen Organen in derselben Größenordnung, wie in der vorliegenden Untersuchung.

Wurde eine mit 0,5 mg Cd/kg supplementierte Ration an Mastschweine mittels Flüssigfütterung verabreicht, konnte bei Zulage von 1000 U Phytase/kg Futter derselbe Effekt festgestellt werden. Nach Zulage von 1000 U Phytase/kg Futter kam es sowohl bei normalem als auch bei reduziertem Phosphorgehalt der Ration zu einer Steigerung der Cadmiumkonzentration in der Leber von 0,25 auf 0,42 mg/kg, in der Niere von durchschnittlich 1,42 auf 2,07 mg/kg (Thielen et al., 1997).

Das Ergebnis der vorliegenden Arbeit deckt sich mit den bisher durchgeführten Untersuchungen zum Einfluß der Phytase auf die Cadmiumretention beim Schwein.

Bei dieser Tierart ist, wie unter 2.3.2 bereits angeführt, der Phytaseeffekt gegenüber anderen Spezies (Huhn, Wachtel, Ratte) diametral entgegengesetzt.

Die von Rambeck (1994 a) und Guillot (1995), aufgrund ihrer Ergebnisse aus Untersuchungen an Hühnerküken, aufgestellte These, daß ein Phytasezusatz zu einer Reduktion der Cadmiumretention führt, indem Phosphor, aber auch Calcium, Zink und Eisen zusätzlich verfügbar werden, trifft nach den Ergebnissen dieser und anderer Untersuchungen auf das Schwein offensichtlich nicht zu. Ebenso erklären Rimbach et al. (1994, 1995 a, 1995 b), die nach Phytasezulage bei Ratten verringerte Cadmiumretention in Leber und Niere, durch eine verbesserte Bioverfügbarkeit von Calcium und Magnesium.

Hierbei stellt sich jedoch die Frage, warum Antagonisten des Cadmiums, wie z.B. Calcium, Zink oder Eisen, bei unterschiedlichen Tierarten unterschiedliche Wirkungen zeigen sollten.

Weiterhin war in der vorliegenden Arbeit kein Effekt einer über den Bedarf hinausgehenden Calciumsupplementierung der phytasefreien, cadmiumsupplementierten Diäten auf die Cadmiumretention in den untersuchten Organen nachzuweisen. Ebenso wie bei Blei, wäre hieraus zunächst abzuleiten, daß ein protektiver Effekt einer zusätzlichen Calciumgabe, bei Verfütterung cadmiumkontaminierter Rationen nicht zu erwarten ist. Dies geht auch aus der bereits erwähnten Übersichtsarbeit von Schenkel (1988 a) hervor, in der zahlreiche Arbeiten angeführt sind, deren Ergebnisse darauf hinweisen, daß bei höherer Cadmiumkonzentration im Futter eine zusätzliche Calciumgabe keine Effekte hat, eine bedarfsgerechte Calciumversorgung die Cadmiumbelastung des Organismus jedoch wesentlich mindern kann.

Weiterhin muß aufgrund des fehlenden Calciumeffektes in den phytasefreien Rationen wohl davon ausgegangen werden, daß bei diesen Gruppen nicht phytatgebundenes Cadmium, sondern eine andere Bindungsform, evtl. Cadmiumphytochelatin, die Hauptquelle der Cadmiumbelastung des tierischen Organismus darstellt, da phytatgebundenes Cadmium durch zusätzliche Calciumgaben präzipitiert werden kann und damit nicht mehr für Absorption und Retention zur Verfügung steht.

Daß bei Pflanzen und verschiedenen Pilzen eine Schwermetallexposition die Synthese metallbindender Peptide, der sogenannten Phytochelatine induzieren kann, ist bereits seit längerer Zeit bekannt. Cadmium kann durch diese Phytochelatine in schwefelhaltige Komplexverbindungen überführt werden (Juang 1993).

In der vorliegenden Arbeit konnte in Knochen und Leber, wohl aufgrund der zu geringen Tierzahl je Gruppe, nur tendenziell eine vermehrte Zinkeinlagerung bei Zulage von 800 U Phytase/kg Futter festgestellt werden. In der Niere war diese Tendenz weniger deutlich, im Muskel nicht zu erkennen. Die unter 2.4.3 bereits genannte Wechselwirkung zwischen Calcium und Zink, die insbesondere bei höheren Calciumkonzentrationen zur Bildung von unlöslichen Calcium-Zink-Phytat führt, das durch Phytase nicht mehr hydrolytisch gespalten werden kann und somit die Wirkung der Phytase auf die Zinkverfügbarkeit einschränkt, kam bei bedarfsgerechter Calciumversorgung in dieser Untersuchung offensichtlich nicht zum tragen. Dies war auch in den nachfolgend genannten Arbeiten der Fall, bei denen Calcium ebenfalls bedarfsgerecht gefüttert wurde. Ebensowenig konnte in der vorliegenden Arbeit auf hohem Calciumniveau eine Wechselwirkung von Calcium und Zink festgestellt werden.

Bei den bisher vorliegenden Untersuchungen zur Wirkung einer Phytasezulage beim Schwein auf die Zinkverwertung, wurden neben der scheinbaren Absorption, in erster Linie die Zinkstatusparameter freie Zinkbindungskapazität, Aktivität der alkalischen Phosphatase und Zinkkonzentration im Plasma bestimmt. Untersuchungen beim Schwein, bei denen die Zinkkonzentrationen in verschiedenen Organen nach Supplementierung der Diäten mit Phytase gemessen wurden, liegen nicht vor, so daß hier kein direkter Vergleich mit den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit möglich ist. Doch die sich in der vorliegenden Arbeit an den Zinkkonzentrationen der untersuchten Organe andeutende, verbesserte Zinkretention nach einer Phytasezulage wird durch andere Arbeiten bestätigt.

Pallauf et al. (1992 b) untersuchten an männlichen, kastrierten Ferkeln in einem 5-wöchigen Versuch im Gewichtsbereich von 9 bis 25 kg die Wirkung einer Zulage von 500 und 1000 U Phytase/kg auf die scheinbare Absorption von Zink. Gegenüber einer Kontrollgruppe, die im Mittel eine scheinbare Zinkabsorption von 16,7 % aufwies, war bei Zulage von 500 U Phytase ein Anstieg der scheinbaren Zinkabsorption auf 24 % festzustellen, bei Zulage von 1000 U war der Anstieg auf 30,6 % signifikant. Der durch die Phytasezulage verbesserte Zinkstatus zeigte sich auch anhand der Zinkstatusparameter Plasma-Zink-Gehalte und freie Zinkbindungskapazität, während die Aktivität der alkalischen Phosphatase unbeeinflusst blieb.

Lantsch und Wjst (1992) verfütterten eine Ration mit 31 mg Zn/kg an Schweine im Gewichtsabschnitt von 20 bis 25 kg. Ein Zusatz von 1000 U Phytase/kg steigerte gegenüber einer nicht phytasesupplementierten Kontrollgruppe die scheinbare Absorption von Zink von 25,1 auf 44,2 %. Darüberhinaus stieg der Zinkgehalt des Serums von 23,8 auf 74,9 µg/100 ml.

In einer Untersuchung von Lei et al. (1993 a) konnte kein Effekt einer Phytasezulage von 1350 U /g (Finase, 1 U = 1 pmol P/g) auf die Zinkretention bei Schweinen festgestellt werden. Sie fanden jedoch höhere Zinkkonzentrationen im Plasma.

Pallauf et al. (1994) fand nach Zulage von 350 und 700 U Phytase/kg Futter, das einen nativen Phytasegehalt von 260 U/kg hatte, höhere Zinkgehalte im Plasma von Ferkeln. Bei Zulage von 350 U stieg die Zinkplasmakonzentration gegenüber einer Kontrollgruppe mit einem Zinkplasmagehalt von 0,59 µg/ml, auf 0,7 µg/ml an, bei Zulage von 700 U war der Anstieg auf 0,8 µg/ml signifikant. Ebenso stieg die scheinbare Zinkabsorption (in % der Aufnahme) von 22 % bei der Kontrollgruppe, auf knapp 35 % bei der Gruppe mit der Zulage von 350 U an. Ein weiterer Anstieg bei Zulage von 700 U war nicht festzustellen.

Adeola et al. (1995) fanden bei Schweinen bei Verfütterung nicht zinksupplementierter Rationen nach Zulage von 1500 U Phytase/kg Futter einen Anstieg der Zinkkonzentration im Plasma von 0,35 auf 0,83 mg/kg. Nach Zulage von 100 mg Zn/kg Futter konnten sie diesen Effekt der Phytase nicht mehr nachweisen. Darüberhinaus fanden sie bei Verfütterung der Diäten ohne Zinkzulage einen phytasebedingten Anstieg der Zinkretention von 7 auf 10 mg/Tag. Waren die Diäten gleichzeitig mit Zink supplementiert, kam es zu einer Erhöhung der Zinkretention von 34 auf 57 mg/Tag. Adeola et al. ziehen aus ihren Untersuchungen den Schluß, daß ein Zusatz von Phytase zum Futter wachsender Schweine durch die Freisetzung von Zink aus dem Phytatkomplex eine ausreichende Zinkversorgung der Tiere gewährleisten kann, auch wenn die Diäten nicht zusätzlich mit Zink supplementiert werden.

In einer weiteren Untersuchung an Ferkeln kommt Adeola (1995) zum selben Ergebnis. Wurden die Diäten mit 1500 U Phytase/kg ergänzt, fand er einen Anstieg der Zinkkonzentration im Plasma von 0,85 auf 1,17 mg/kg. Ebenso wie in der vorangehenden Arbeit kam es zu einem Anstieg der Zinkretention von 19,77 auf 22,92 mg Zink/Tag.

3.7.4 Einfluß der Phytase auf die Phosphorverdaulichkeit und -retention

In der vorliegenden Arbeit konnte bei den Gruppen, die eine Zulage von 800 U Phytase/kg Futter erhalten hatten, im Verlauf der Mast eine deutliche Steigerung der Phosphorkonzentrationen im Knochen festgestellt werden.

Dieses Ergebnis wird durch verschiedene Untersuchungen bestätigt, bei denen nach Zulage von mikrobieller Phytase eine erhöhte Phosphorretention im Körper wachsender Schweine nachgewiesen werden konnte, die durch die Hydrolyse des Phytatkomplexes durch die Phytase und eine damit einhergehende, höhere Verfügbarkeit von Phosphor zu erklären ist.

So fanden Jongbloed et al. (1992) bei einer Zulage von 1500 U mikrobieller Phytase/kg Futter zu einer Mais/Sojaschrot Diät eine Steigerung der P-Verdaulichkeit von 13 auf 43 %.

Auch Simons et al. (1990) fanden Werte, die mit der vorangehend genannten Arbeit gut übereinstimmen. Bei der Verabreichung einer Mais-Soja Diät an Schweine im Lebendmassebereich von 35 - 70 kg, konnten sie durch eine Zulage von 1000 U Phytase/kg eine Steigerung der Phosphorabsorption von 20 auf 46 % feststellen.

Einen positiven Effekt einer Phytasezulage auf die scheinbare Phosphorabsorption konnten auch Beers und Jongbloed (1992) beobachten. Nach Zulage von 1450 U

Phytase/kg Futter konnten sie eine Steigerung der Phosphorabsorption von 38 auf 60 % nachweisen.

Lantzsch und Wjst (1992) fanden im Gewichtsabschnitt von 20 bis 25 kg nach Zulage von 1000 U mikrobieller Phytase/kg Futter ebenfalls eine signifikante Steigerung der Phosphorabsorption von 45 auf 72 %. Auch die Retention von Phosphor war verbessert. Wurde hierbei die Calciumkonzentration der Versuchsmischungen von 5 auf 7 g/kg gesteigert, so hatte dies eine Senkung der Phosphorabsorption auf 69 % zur Folge. Die P-Retention wurde jedoch verbessert. Eine weitere Erhöhung des Calciumgehaltes im Futter auf 8 g/kg reduzierte die Phosphorabsorption zusätzlich auf 65 % und verschlechterte auch die Phosphorretention. Somit sollte bei der Beurteilung einer Phytasewirkung auch die renale Exkretion von Phosphor berücksichtigt werden.

Pallauf et al. (1992 a) untersuchten die Wirkung einer Zulage an mikrobieller Phytase im Vergleich zu einer mineralischen Phosphorzulage zu einer Mais-Soja-Diät im Lebendmasseabschnitt von 9 bis 25 kg. Die Futtermittelverwertung wurde durch die mineralische Phosphorzulage, ebenso wie durch die Supplementierung der Diäten mit 1000 U Phytase, signifikant, durch 500 U Phytase tendenziell verbessert. Bei Zusatz von 500 bzw. 1000 U Phytase/kg Futter stieg die scheinbare Phosphorabsorption von 29 auf 55 bzw. 64 % an.

Näsi et al. (1995) untersuchten den Effekt einer Phytasezulage an Schweinen im Gewichtsbereich von 28 bis 70 kg. Nach Zulage von 1000 U Phytase/g (Finase, 1 U = 1 pmol P/g) fanden sie eine signifikante Steigerung der Phosphorabsorption von 36 auf 45 %. Ebenso kam es zu einer signifikanten Verbesserung der Phosphorretention von 31 auf 36 %.

Auch Adeola et al. (1995) fanden denselben Effekt. Bei Supplementierung einer Getreide-Soja-Ration mit 1500 U Phytase/kg fanden sie gegenüber einer Kontrollgruppe eine Steigerung der P-Konzentration im Plasma von 119 auf 135 mg/kg. Der absorbierte Phosphor stieg von 2,98 auf 3,59 g/d an. Auch die Phosphorretention war verbessert. Gegenüber der Kontrollgruppe stieg sie von 2,97 auf 3,31 g/d an.

3.7.5 Einfluß der Phytase auf die Calciumverdaulichkeit und -retention

Ebenso wie bei Phosphor war in der vorliegenden Arbeit durch die Supplementierung der Rationen mit 800 U Phytase/kg, sowohl auf hohem als auch auf niederem Calciumniveau eine Steigerung der Calciumkonzentration im Knochen festzustellen. Dies lässt sich ebenfalls auf eine phytasebedingte Hydrolyse des Phytatkomplexes und

damit gesteigerte Verfügbarkeit von Calcium, das im Phytatkomplex gebunden ist, zurückführen.

Diese Steigerung der Verfügbarkeit von Calcium durch den Einsatz von Phytase, wird durch andere Arbeiten bestätigt.

So stellten auch Simons et al. (1990) nach Zulage von 1000 U Phytase/kg bei Schweinen im Lebendmassebereich von 35 bis 70 kg eine Steigerung der scheinbaren Calciumabsorption fest. Bei Verfütterung einer Mais-Soja-Diät konnten sie einen tendenziellen Anstieg der Calciumabsorption von 44 auf 50 % feststellen. Wurde eine komplexere praxisübliche Ration eingesetzt, fanden sie durch die Phytasesupplementierung einen signifikanten Anstieg der Calciumabsorption von 50 auf 58 %.

Pointillart (1991) fand nach Zulage von pflanzlicher Phytase zu einer Mais-Soja-Diät für Ferkel eine tendenzielle Verbesserung der scheinbaren Calciumabsorption von 50 auf 53 %.

Pallauf et al. (1992 a) verfütterten eine Mais-Soja-Diät an Ferkel im Lebendmasseabschnitt zwischen 9 und 25 kg, mit einem Calciumgehalt von 6,2 g/kg. Nach Zulage von 500 bzw. 1000 U Phytase/kg konnten sie eine deutliche Verbesserung der Calciumverwertung feststellen. Die Absorption von Calcium stieg von 56 % auf 74 % bzw. signifikant auf 79 % an.

In einer weiteren Untersuchung berichten Pallauf et al. (1992 b) ebenso von einer verbesserten Verwertung von Calcium.

Adeola (1995) verfütterte ebenfalls eine Getreide-Sojaschrot-Mischung an wachsende Schweine. Supplementierte er die Mischungen mit 1500 U Phytase/kg, konnte er einen tendenziellen Anstieg der retinierten Calciummenge von 62 auf 64 % (in % der Aufnahme) beobachten.

In einer weiteren Untersuchung konnten Adeola et al. (1995) den Effekt einer Zulage von 1500 U Phytase/kg bestätigen. Die retinierte Calciummenge stieg von 4 auf 4,28 g/d. Die Wirksamkeit der Phytasezulage zeigte sich auch in der Calciumkonzentration des Blutplasmas. Gegenüber einer Kontrollgruppe ohne Phytasezulage mit einer Plasmacalciumkonzentration von 98 mg/l, kam es zu einem Anstieg auf 103 mg/l.

Auch Lantzsich und Wjst (1992) konnten nach Zulage von 1000 U Phytase/kg Futter eine signifikante Steigerung der scheinbaren Absorption und Retention von Calcium beobachten.

Lei et al. (1993 b) sehen die Ursache für eine erhöhte Calciumabsorption, in einer verstärkten Phosphoreinlagerung in das Skelett.

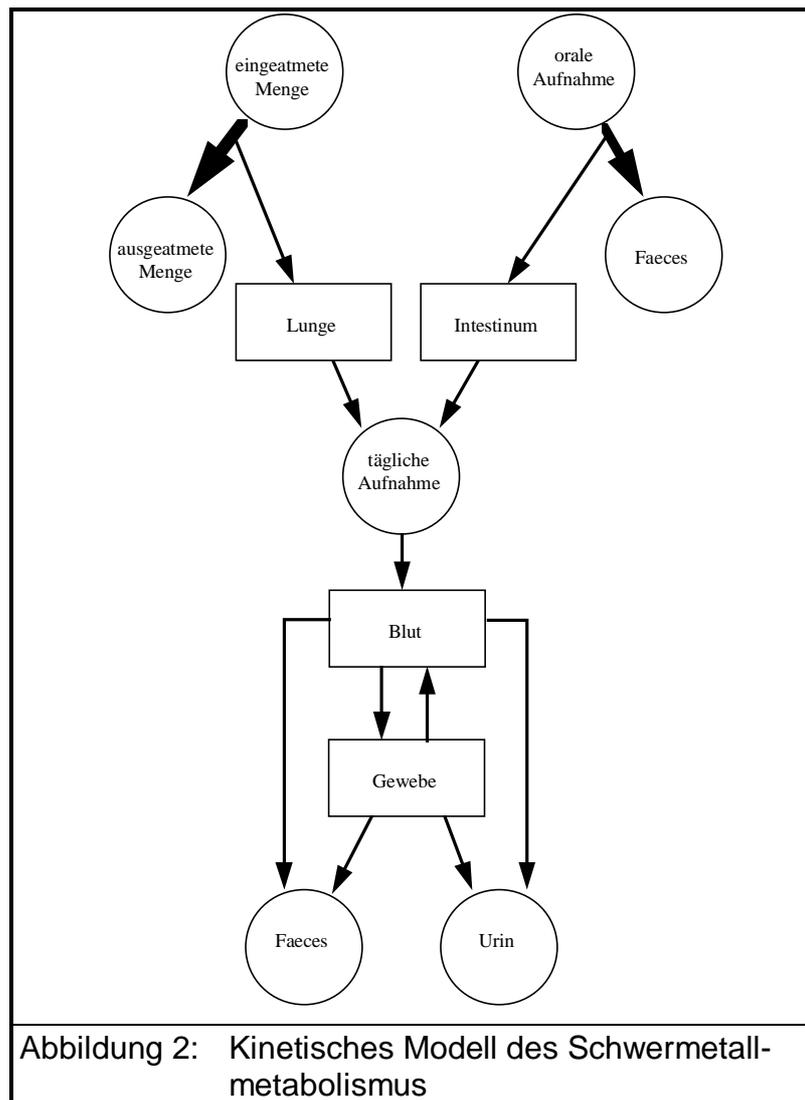
Pointillart (1988) führt die erhöhte Calciumretention aus Mischungen mit besserer Phosphorabsorption auf eine vermehrte Phosphorretention zurück, da das Verhältnis von Calcium zu Phosphor im Knochen relativ konstant ist. Dies ist auch in der vorliegenden Arbeit der Fall.

3.7.6 Einfluß der Phytase auf die Carry-over Rate von Blei, Cadmium und Zink

Abbildung 2 zeigt einen Überblick zum Carry-over von Schwermetallen wie Blei, Cadmium und Zink. Schwermetalle können über die Haut, die Lungen und den Gastrointestinaltrakt in den Körper gelangen. Die Aufnahme über die Haut und die Lungen spielt hierbei nur eine untergeordnete Rolle, wenn man von speziellen Expositionsbedingungen absieht, die am Arbeitsplatz, am Wohnort oder in der Nähe schwermetalleemittierender Industrieanlagen auftreten können (Foulkes 1986).

Unmittelbar nach der Aufnahme aus dem Darm gelangen die Schwermetalle in das Blut.

Blei wird im Blut zum größten Teil an Erythrozytenproteine gebunden (Grün, 1987). Cadmium kann zunächst im Plasma nachgewiesen werden, wo es an verschiedene Plasmaproteine gebunden wird, beispielsweise an das Albumin. Während der folgenden 24 Stunden nimmt die Cadmiumkonzentration in den Erythrozyten zu, so daß die Hauptmenge einer aufgenommenen Cadmiumdosis in den Blutzellen auftaucht. Ein weiterer Teil des Cadmiums wird an frei im Plasma zirkulierendes Methallothionein gebunden (Kjellström und Nordberg, 1978; Nordberg und Kjellström 1979).



Zink wird im Blut, ebenso wie Cadmium, an Proteine, wie das Albumin gebunden (Henkin, 1984).

Vom Blut gelangt Blei innerhalb kurzer Zeit in den sogenannten „rapid exchange pool“ (Herz, Lunge, Leber, Niere, Gehirn). In diesem Weichgewebepool treten, im Gegensatz zum Skelett, hohe Austauschraten auf. Im Skelett, einem sehr tiefen pharmakokinetischen Kompartiment („slow exchange pool“), wird die Hauptmenge des Bleis langfristig gespeichert (Grün 1987).

Cadmium wird zu verschiedenen Körpergeweben transportiert, in erster Linie zunächst zur Leber, wo es hauptsächlich an Metallothionein gebunden wird. Cadmium besitzt in der Leber eine relativ lange Halbwertszeit. Nach einer einmalig verabreichten Cadmiumdosis nimmt die Konzentration in der Leber erst nach längerer Zeit ab, während die in der Niere retinierte Menge zunimmt (Piscator, 1979).

Zink wird in verschiedene Organe transportiert, vor allem in die Knochen, die Muskeln, die Prostata, die Leber und die Niere (Henkin, 1984).

Die Schwermetallexkretion erfolgt primär über Kot und Harn, wobei sich die im Kot ausgeschiedene Menge aus dem nicht absorbierten Anteil der aufgenommenen Menge und den endogenen Ausscheidungen ergibt.

Annähernd 90 % der aufgenommenen Bleimenge wird im Darm nicht absorbiert und über den Kot ausgeschieden. Der absorbierte Anteil verlässt den Organismus in erster Linie über den Urin (Tsuchiya, 1986).

Auch bei Cadmium wird die überwiegende Menge aufgrund der geringen Absorptionsrate im Darm wieder über den Kot ausgeschieden. Ebenso wird der absorbierte Anteil hauptsächlich über den Kot exkretiert, während die Cadmiumausscheidung über den Urin nur gering ist (Bremner, 1979).

Zink wird ebenfalls hauptsächlich über den Kot ausgeschieden, wobei hier der Anteil der nicht absorbierten Menge starken Schwankungen unterliegen kann (Henkin, 1984).

Die Wirkung der Phytase auf den oben beschriebenen Carry-over der Elemente Blei, Cadmium und Zink, dürfte in erster Linie auf der Ebene der Absorption einsetzen. Der Phytasezusatz führt zu einer Erhöhung des absorbierten Anteils von Schwermetallen und damit zu einer Verringerung der Ausscheidung über den Kot. Werden die Schwermetalle in einem Kompartiment eingelagert, das nur eine geringe Austauschrate besitzt, wie z.B. das Skelett, muß mit einer langfristigen Schwermetallbelastung des Organismus gerechnet werden.

3.8 Schlußfolgerungen

Aus der vorliegenden Arbeit wird deutlich, daß die Supplementierung von blei- und cadmiumkontaminierten Rationen für Schweine mit mikrobieller Phytase eine höhere Verfügbarkeit und damit eine gesteigerte Retention von Blei und Cadmium im tierischen Organismus zur Folge hat. Im Fall einer Cadmiumkontamination der Ration sind in erster Linie die Leber und die Niere betroffen, bei Blei der Knochen, während im Muskel durch die Schwermetallbelastung der Diäten keine deutlich erhöhten Werte festzustellen sind. Abgesehen von lokalen Ernährungsgewohnheiten stellt das Muskelfleisch den größten Anteil am Lebensmittelkorb. Vor diesem Hintergrund kann davon ausgegangen werden, daß bei Schwermetallkonzentrationen in Futtermitteln für Schweine, die in einer ähnlichen Größenordnung wie die Gehalte in den Rationen dieser Arbeit liegen und die als relativ praxisnah bezeichnet werden können, sowie bei

gleichzeitigem Einsatz von Phytase, mit dem Genuß des Fleisches der damit versorgten Tiere keine zusätzliche gesundheitliche Gefährdung des Verbrauchers verbunden ist.

Obwohl unter diesem Gesichtspunkt die Filterfunktion des landwirtschaftlichen Nutztieres positiv zu bewerten wäre, da Schwermetalle in Organen, die kaum für die menschliche Ernährung genutzt werden, „zurückgehalten“ werden, sollte jedoch bei Einsatz von schwermetallhaltigen Diäten für Schweine, auf dieses Fütterungsenzym verzichtet werden, da hierdurch, trotz der positiven Effekte in Bezug auf eine bessere Versorgung mit Phosphor, Calcium, Zink und anderen essentiellen Elementen, auch eine höhere Schwermetallretention im tierischen Organismus auftritt.

Unter betriebswirtschaftlichen Gesichtspunkten scheint es ebenfalls unsinnig, die durch Phytase gesteigerte Schwermetallretention durch eine über den Bedarf hinausgehende Calciumsupplementierung der Diäten zu unterbinden.

Somit kann aus den Ergebnissen der vorliegenden Untersuchung abgeleitet werden, daß bei Einsatz von schwermetallhaltigen Diäten weder der Zusatz von Phytase, noch über den Bedarf hinausgehende Calciumgaben erfolgen sollten, jedoch auf eine bedarfsgerechte Calciumversorgung zu achten ist, da dies eine Schwermetalleinlagerung in den tierischen Organismus zwar nicht verhindern aber doch wesentlich vermindern kann.

4 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluß einer Supplementierung von Rationen für wachsende Schweine mit mikrobieller Phytase und/oder Calcium auf die Blei-, Cadmium- und Zinkretention in Niere, Leber, Muskel (Unterarm) und Knochen (Phalanx 1) untersucht.

Die Versuche wurden an wachsenden Börgen (DL x Pit.), aus konventioneller Haltung, im Gewichtsabschnitt 15 bis 30 bzw. 50 kg durchgeführt. Die Rationen bestanden aus einer Gerste-Soja-Mischung, in die Blei, Cadmium und Zink in Form einer Pb-, Cd- und Zn-belasteten Gerste oder über entsprechende CdCl_2 , $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$, und ZnSO_4 -Zusätze zu einer unbelasteten Gerste eingebracht wurden. Die Rationen enthielten im Mittel 1,45 mg Pb, 0,78 mg Cd und 55,7 mg Zn je kg TS und wurden jeweils ohne und mit einer Zulage von 800 U mikrobieller Phytase/kg verfüttert. Die Calciumkonzentrationen der Diäten wurden mit CaCO_3 auf 6 bzw. 12 g/kg eingestellt. Die Blei-, Cadmium- und Zinkkonzentration einer unbelasteten Kontrollration betrug 0,30, 0,03 und 34,2 mg/kg TS.

Gegenüber der Kontrollgruppe war bei Verfütterung der schwermetallhaltigen Rationen in allen untersuchten Organen und Geweben ein Anstieg der Konzentrationen der entsprechenden Elemente festzustellen.

Der Zusatz von mikrobieller Phytase führte bei normaler Calciumversorgung (6 g/kg) zu einer deutlichen Erhöhung der Bleikonzentration im Knochen und der Cadmiumkonzentration in Niere und Leber. Bei Zink kam es nur zu einem tendentiellen Anstieg der Konzentrationen in Knochen und Leber.

Durch Erhöhung der Calciumkonzentration (12 g/kg FS) konnte die durch den Phytasezusatz vermehrte Bleiretention im Knochen, sowie die höhere Cadmiumeinlagerung in Niere und Leber, verhindert werden. Bei Zink ließ sich dieser Calciumeffekt nicht nachweisen.

Die höhere Bleikonzentration in Leber, Niere und Knochen bei Belastung der Rationen durch $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$, dürfte auf die im Mittel um 51 % höhere Bleikonzentration gegenüber den durch eine nativ kontaminierte Gerste belasteten Rationen zurückzuführen sein. Die in der Niere auf hohem Calciumniveau feststellbare ge-ringere Cadmiumbelastung bei Kontamination der Diäten durch CdCl_2 , könnte mit einer

vermehrten Bildung von unlöslichem Cadmium-Calcium-Phytat erklärbar sein, das durch Phytase nicht mehr hydrolysiert werden kann.

Der Phytasezusatz dürfte bei den Schwermetallen Blei, Cadmium und Zink zu einer erhöhten Verfügbarkeit infolge Phytase-induzierter Hydrolyse des Phytatkomplexes führen. Die Wirkung einer über den Bedarf hinausgehenden Calciumversorgung ist wohl durch die Verringerung der Phytatlöslichkeit zu erklären, die zu einer Herabsetzung der Phytatspaltung durch Phytase und damit zu einer verringerten Freisetzung von Schwermetallen führt.

5 Summary

The aim of the present study was to investigate the influence of microbial phytase and/or calcium supplementation in rations of growing pigs on the retention of lead, cadmium and zinc in kidneys, liver, muscles (forearm) and bones (phalanx 1).

The experiments were carried out with barrows (DL x Pit.) in the growing periods of 15 to 30 and 15 to 50 kg. The rations consisted of a barley-soy mixture that was supplemented with lead, cadmium and zinc either in the form of Pb-, Cd- and Zn-polluted barley or of CdCl_2 , $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$, and ZnSO_4 . The rations contained an average of 1,45 mg Pb, 0,78 mg Cd, and 55,7 mg Zn per kg dry matter and were given either with or without an addition of 800 U microbial phytase per kg. The calcium concentration was adjusted to 6 or 12 g per kg with CaCO_3 . The concentration of Pb, Cd, and Zn of an unpolluted reference ration was 0,30, 0,03 and 34,2 mg per kg of dry matter.

As compared to the reference group, the pigs that were fed with the rations containing heavy metals showed an increase in heavy metal concentrations in all analysed organs and tissues.

With a normal calcium supply (6 g per kg), the addition of microbial phytase resulted in a significant increase in the concentration of lead in the phalanx 1 and cadmium in kidneys and liver. The zinc concentration, however, only was increased in tendency in bones and liver.

By augmenting the calcium concentration to 12 g per kg it was possible to avoid phytase-induced increase in the retention of lead in phalanx 1 and in the deposition of cadmium in kidneys and liver. For zinc, however, this effect of calcium could not be detected.

The higher lead concentration in liver, kidneys and bones after addition of $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ may be due to the 51 % higher dietary lead level as compared to the normally polluted barley rations. The reduced Cd-accumulation in livers and kidneys after feeding CdCl_2 supplemented diets with a high calcium level may be explained by an increased formation of insoluble cadmium-calcium-phytate that cannot be hydrolysed by phytase.

For the heavy metals lead, cadmium, and zinc the addition of phytase might probably result in an increased metal availability due to phytase-induced hydrolysis of the phytate complex. The effect of a calcium supply exceeding the recommended level may be explained by a reduction in the solubility of phytate which results in a decreased ability of phytate to be splitted by phytase and therefore leads to a reduced release of heavy metals.

6 Literaturverzeichnis

Adeola, O.; B. V. Lawrence; A. L. Sutton und T. R. Cline (1995). "Phytase-induced changes in mineral utilization in zinc-supplemented diets for pigs." *J. Anim. Sci.* **73** (11): 3384-3391.

Adeola, O. (1995). "Digestive utilization of minerals by weanling pigs fed copper- and phytase-supplemented diets." *Can. J. Anim. Sci.* **75** (4): 603-610.

Adham, N. F. und M. K. Song (1980). "Effect of calcium and copper on zinc absorption in the rat." *Nutr. Metabol.* **24**: 281-290.

Atkinson, S.; J. Shah; C. Webber; I. Gibson und R. Gibson (1993). "A multi-element isotopic tracer assessment of true fractional absorption of minerals from formula with additives of calcium, phosphorus, zinc, copper and iron in young piglets." *J. Nutr.* **123** (9): 1586-1593.

Aungst, B. J. und H. L. Fung (1985). "The effects of dietary calcium on lead absorption, distribution and elimination kinetics in rats." *J. Toxicol. and Environm. Health* **16**: 147-159.

Barton, J.; M. Conrad; L. Harrison und S. Nuby (1978). "Effects of calcium on the absorption and retention of lead." *J. Lab. Clin. Med.* **91** (3): 366-376.

Barton, J. C.; M. E. Conrad; L. Harrison und S. Nuby (1980). "Effects of vitamin D on the absorption and retention of lead." *Am. J. Physiol.* **238**: G124-G130.

BASF (1996/1997). "Zum Thema Futterzusatzstoffe." *Techn. Informationen*: 110.

Beers, S. und A. Jongbloed (1992). "Effect of supplementary *Aspergillus niger* phytase in diets for piglets on their performance and apparent digestibility of phosphorus." *Anim. Prod.* **55** (3): 425-430.

Berman, E. (1980). Cadmium.
in: *Toxic metals and their analysis*. Heyden Verlag, London, Philadelphia, Rheine: 65-73.

Berzin, N. I. und V. K. Bauman (1987). "Vitamin A dependent zinc-binding protein and intestinal absorption of Zn in chicks." *Br. J. Nutr.* **57** (2): 255-268.

Bitar, K. und J. G. Reinhold (1972). "Phytase and alkaline phosphatase activities in intestinal mucosae of rat, chicken, calf and man." *Biochim. Biophys. Acta* **268**: 442-452.

Bredderman, P. J. und R. H. Wasserman (1974). "Chemical composition, affinity for calcium, and some related properties of the vitamin D dependent calcium-binding protein." *Biochem.* **13**: 1687-1694.

Bremner, I. (1979). "Mammalian absorption, transport and excretion of cadmium". In: Webb, M. (Hrsg.). *The chemistry, biochemistry and biology of cadmium*. Elsevier Verlag, Amsterdam: S. 175-193

Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten. (1993). *Ausnahmegenehmigung nach §11 Abs. 1 Futtermittelgesetz mit Bescheid vom 8. April 1992, zuletzt geändert durch Bescheid vom 15.05.1993, hier: Phytase.*

Chao, S. H.; Y. Suzuki; J. R. Zysk und W. Y. Cheung (1984). "Activation of calmodulin by various metal cations as a function of ionic radius." *Molec. Pharmacol.* **26**: 75-82.

Chausemer, A. B.; M. D. Stevens und R. Zears (1980). "Influence of parathyroid hormone and calcitonin on tissue zinc homeostasis in the rat." *Metabolism* **29**: 617.

Chen, Y. und J. Smith (1992). "A putative lectin-binding receptor mediates cadmium-evoked calcium release." *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **117** (2): 249-256.

Cooper, J. R. und H. S. Gowing (1983). "Mammalian small intestinal phytase (EC 3.1.3.8)." *Br. J. Nutr.* **50**: 673-678.

Davies, N. T. und A. A. Flett (1978). "The similarity between alkaline phosphatase (EC 3.1.3.1.) and phytase (EC 3.1.3.8.) activities in rat intestine and their importance in phytase-induced zinc deficiency." *Br. J. Nutr.* **39**: 307-316.

Deutsche Norm, (1994). "Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze.": 2-10.

Dieter, M.; H. Matthews; R. Jeffcoat und R. Moseman (1993). "Comparison of lead bioavailability in F344 rats fed lead acetate, lead oxide, lead sulfide, or lead ore concentrate from skagway, Alaska." *J. Toxicol. Environm. Health* **39** (1): 79-93.

Düngelhoef, M. und M. Rodehutschord (1995). "Wirkung von Phytasen auf die Verdaulichkeit des Phosphors beim Schwein." *Übers. Tierernährung* **23**: 133-157.

- Edelstein, S.; C. S. Fullmer und R. H. Wasserman (1984). "Gastrointestinal absorption of lead in chicks: Involvement of the cholecalciferol endocrine system." *J. Nutr.* **114**: 692-700.
- Eeckhout, W. und M. DePaepe (1994). "Total phosphorus, phytate-phosphorus and phytase activity in plant feedstuffs." *Anim. Feed Sci. and Technol.* **47**: 19-29.
- Foulkes, E. C. (1986). "Absorption of cadmium". In: Foulkes, E. C. (Hrsg). *Cadmium*. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York: S. 75-100
- Freeman, G. B.; J. D. Johnson; J. M. Killinger; S. C. Liao; P. I. Feder; A. O. Davis; M. V. Ruby; R. L. Chaney; S. C. Lovre und P. D. Bergstrom (1991). "Relative bioavailability of lead from mining waste soil in rats." *Fundam. Appl. Toxicol.* **19**: 388-398.
- Fullmer, C. S.; T. Oku und R. H. Wasserman (1980). "Effect of cadmium administration on intestinal calcium absorption and vitamin D-dependent calcium-binding protein." *Environm. Res.* **22**: 386-399.
- Fullmer, C.; S. Edelstein und R. Wasserman (1985). "Lead-binding properties of intestinal calcium-binding proteins." *J. Biol. Chem.* **260** (11): 6816-6819.
- Galler, J. (1992). "Schwermetalltransfer in der Nahrungskette." *Der Förderungsdienst* **40** (9): 61-68.
- Goldstein, G. W. und D. Ar (1983). "Lead activates calmodulin-sensitive processes." *Life Sci.* **33**: 1001-1006.
- Goldstein, G. (1993). "Evidence that lead acts as a calcium substitute in 2nd messenger metabolism." *Neurotoxicol.* **14** (2-3): 97-102.
- Grün, M. (1987). "Blei in der Umwelt, Teil I: Tier". Akademie der Landwirtschaftswissenschaften der DDR, Institut für landwirtschaftliche Information und Dokumentation, Berlin (Hrsg.). **25** (10)
- Guillot, I.; B. D. und R. W. (1994). "L'influence de l'enzyme phytase sur la retention du cadmium chez le rat et la caille." *Revue Med. Vet.* **145** (5): 387-389.
- Guillot, I. und W. A. Rambeck (1995). Influence of the feed enzyme phytase on cadmium accumulation in turkeys. Second European Symposium on Feed Enzymes, Noordwijkerhout, Netherlands. 301

Guillot, I. (1995). Der Einfluss von Phytase auf die Cadmiumretention bei Hühnerküken.
Diss. Ludwig-Maximilians Universität München.

Guillot, I.; T. Hollwich; C. Thielen; G. Schwarz und W. A. Rambeck (1995).
"Einfluss von Phytat und Phytase auf die Cadmiumakkumulation bei Ratte, Wachtel, Hühnerküken und Schwein." Proc. Soc. Nutr. Physiol. **4**: 94

Habermann, E.; K. Crowell und P. Janicki (1983). "Lead and other metals can substitute for Ca²⁺ in calmodulin." Arch. Toxicol. **54**: 61-70.

Harland, B. F. und D. Oberleas (1986). "Anion-exchange method for determination of phytate in foods: Collaborative study." J. Ass. Off. Anal. Chem. **69** (4): 667-670.

Heinonen, J. K. und R. J. Lahti (1981). "A new and convenient colorimetric determination of inorganic orthophosphate and its application to the assay of inorganic pyrophosphatase." Anal. Biochem. **113**: 313-317.

Heintz, A. und G. Reinhardt (1990). Schwermetalle in der Umwelt.
in: Chemie und Umwelt. Verlag Vieweg, Braunschweig: 229.

Henkin, R. I. (1984) "Zink".
In: Merian, E. (Hrsg.): Metalle in der Umwelt. Verlag Chemie, Weinheim, Deerfield Beach, Basel: 597-629.

Höhler, D. (1992). Untersuchungen zum Einfluss einer Zulage an Citronen- und Fumarsäure zu einer Mais-Soja-Diät auf die Verwertung von Zink sowie weiterer Mineralstoffe beim Ferkel.
Diss.: Justus-Liebig-Universität Giessen

Höhler, D.; G. Rimbach und J. Pallauf (1992). Untersuchungen zum Zn-Stoffwechsel des Ferkels bei differierender alimentärer Zn-Zufuhr und Citronensäure- bzw. Phytasezulagen zu einer Mais-Soja-Diät. Mengen- und Spurenelemente - 12. Arbeitstagung, Jena: 81-88

Hollwich, B. (1995). Der Einfluss von Phytase auf die Cadmiumretention beim Schwein.
Diss.: Ludwig-Maximilians-Universität München

Hoppe, P. P. (1992). "Überblick über die biologischen Wirkungen und die ökologische Bedeutung der Phytase beim Schwein." Aus Forschung und Praxis **30**: 3-15.

Hoppe, P. P. und G. Schwarz (1993). Experimental approaches to establish the phosphorus equivalency of *Aspergillus-niger*-phytase in pigs. *Enzyme in der Tierernährung, Schriftenreihe aus dem Institut für Nutztierwissenschaften ETH Zürich*: 187-191

Hsu, F.; L. Krook; W. Pond und J. Duncan (1975). "Interactions of dietary calcium with toxic levels of lead and zinc in pigs." *J. Nutr.* **105** (1): 112-118.

Huber, A. M. und S. N. Gershoff (1970). "Effects of dietary zinc and calcium on the retention and distribution of zinc in rats fed semipurified diets." *J. Nutr.* **100** (8): 949-954.

Ingersoll, R. J. und R. H. Wasserman (1971). "Vitamin D3-induced calcium binding protein." *J. Biol. Chem.* **246**: 2808-2814.

Iqbal, T. H.; K. O. Lewis und B. T. Cooper (1994). "Phytase Activity in the Human and Rat Small-Intestine." *Gut* **35** (9): 1233-1236.

Irvin, G. C. J. (1980). Phytase.

In: Cosgrove, D. J., Irving, G. C. J. (Hrsg). *Inositol phosphates. Their chemistry, biochemistry and physiology.* Elsevier Science Publisher Company, Amsterdam, Oxford, New York: 85.

Jackl, G. A.; W. A. Rambeck und W. E. Kollmer (1985). "Retention of cadmium in organs of the rat after a single dose of labeled cadmium-3-phytate." *Biol. Trace Elem. Res.* **7**: 69-74.

James, H. M.; M. E. Hilburn und J. A. Blair (1985). "Effects of meals and meal times on uptake of lead from the gastrointestinal tract in humans." *Human Toxicol.* **4** (4): 401-407.

Jongbloed, A. W.; Z. Mroz und P. A. Kemme (1992). "The effect of supplementary *Aspergillus niger* phytase in diets for pigs on concentration and apparent digestibility of dry matter, total phosphorus and phytic acid in different sections of the alimentary tract." *J. Anim. Sci.* **70**: 1159-1168.

Juang, R. H.; McCue, K. F. und D. W. Ow (1993). "Two purine biosynthetic enzymes that are required for cadmium tolerance in *Schizosaccharomyces pombe* utilize cysteine sulfinate in vitro." *Arch. Biochem. Biophys.* **304**: 392-401

Kasuya, M.; H. Teranishi; K. Aoshima; T. Kato; H. Horiguchi; Y. Morikawa; M. Nishijo und K. Iwata (1992). "Water pollution by cadmium and the onset of Itai-Itai disease." *Water Sci. and Technol.* **25** (11): 149-156.

- King, R.; W. Brown; V. Amenta; B. Shelley; P. Handson; N. Greenhill und G. Willcock (1992). "The effect of dietary cadmium intake on the growth performance and retention of cadmium in growing pigs." *Anim. Feed Sci. and Technol.* **37** (1-2): 1-7.
- Kirchgessner, M. und F. X. Roth (1983). "Schätzgleichungen zur Ermittlung des energetischen Futterwertes von Mischfuttermitteln für Schweine." *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* **50**: 270-275.
- Kirchgessner, M.; W. Windisch und F. X. Roth (1994). "Effect of phytase supplementation on apparent digestibility of Fe, Cu, Zn and Mn at varying dietary P levels in piglets." *Agribiolol. Res.* **47** (2): 156-159.
- Kjellström, T. und G. F. Nordberg (1978). "A kinetic model of cadmium metabolism in the human being". *Environ. Res.* **16**: 248-269
- Kreuzer, W. und A. Rosopulo (1981). "Zur gegenwärtigen Rückstandssituation bei Cadmium, Blei, Quecksilber und Arsen in Fleisch und Organen von Schlachttieren." *Arch. f. Lebensmittel und Hygiene* **32**: 181-200.
- Kuznetsov, S. G.; A. P. Bataeva und B. Kal'nitskii (1984). "Zinc deficiency in piglets and bioavailability of zinc compounds." *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya* **10**: 107-110.
- Lantsch, H. J.; S. E. Scheuermann und K. H. Menke (1988 a). "Untersuchungen zur gastrointestinalen Hydrolyse von Phytat aus Weizen, Gerste und Mais bei jungen Schweinen." *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* **59**: 273-284.
- Lantsch, H. J.; S. E. Scheuermann und K. H. Menke (1988 b). "Einfluss verschiedener Phytatherkünfte auf den P-, Ca- und Zn-Stoffwechsel junger Schweine bei unterschiedlicher Zn-Versorgung" *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* **60** (3): 146-157.
- Lantsch, H. J. (1990). "Untersuchungen über ernährungsphysiologische Effekte des Phytats bei Monogastriern (Ratte, Schwein)" *Übers. Tierernährung* **18** (3): 197-211.
- Lantsch, H. J. und S. Wjst (1992). "Wirkung mikrobieller Phytase (*Aspergillus niger*) auf den Phosphor-, Calcium-, Magnesium- und Zinkstoffwechsel junger Schweine unter dem Einfluß steigender Calciumgehalte im Futter." *Proc. Soc. Nutr. Physiol.* **1** :107

Lantzsch, H. J.; S. Wjst und W. Drochner (1995). "The effect of dietary calcium on the efficacy of microbial phytase in rations for growing pigs." *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* **73**: 19-26.

LaVelle, J. M.; R. H. Poppenga; B. J. Thacker; J. P. Geisy; C. Weis; R. Othoudt und C. Vandervoort (1991). "Bioavailability of lead in mining wastes: An oral intubation study in young swine." *Chem. Spec. Bioavail.* **3**: 105-111.

Lei, X. G.; P. K. Ku; E. R. Miller; D. Ullrey und M. T. Yokoyama (1993 a). "Supplemental microbial phytase improves bioavailability of dietary zinc to weanling pigs." *J. Nutr.* **123** (6): 1117-1123.

Lei, X. G.; P. K. Ku; E. R. Miller und M. T. Yokoyama (1993 b). "Supplementing corn-soybean meal diets with microbial phytase linearly improves phosphorus utilization by weanling pigs." *J. Anim. Sci.* **71**: 3359-3367.

Mandal, N. C.; S. Burman und B. B. Biswas (1972). "Metabolism of inositol phosphates. 3. Isolation, purification and characterization of phytase from germinating mung beans." *Phytochem.* **11**: 495-502.

Münch, D. (1992). "Waldbodenbelastung an einer Straße durch Zink, Blei, Cadmium und Benzo(a)pyren." *Afz* (14): 756-757.

Mykkanen, H. M. und R. H. Wasserman (1981). "Gastrointestinal absorption of lead (203Pb) in chicks: Influence of lead, calcium and age." *J. Nutr.* **111**: 1757-1765.

Mykkanen, H. M. und R. H. Wasserman (1982). "Effect of vitamin D on the intestinal absorption of 203Pb and 47Ca in chicks." *J. Nutr.* **112**: 520-527.

Mykkanen, H. M.; C. S. Fullmer und R. H. Wasserman (1984). "Effect of phosphate on the intestinal absorption of lead (203Pb) in chicks." *J. Nutr.* **114**: 68-74.

Näsi, J. M.; E. H. Helander und K. H. Partanen (1995). "Availability for growing pigs of minerals and protein of a high phytate barley-rapeseed meal diet treated with *Aspergillus niger* phytase or soaked with whey." *Anim. Feed Sci. Technol.* **1** (2): 83-98.

Naumann, K. und R. Bassler (1976). *Verband deutscher Landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten, Methodenbuch III. Die chemische Untersuchung von Futtermitteln.* Verlag J. Neumann-Neudamm, Melsungen, Berlin, Basel, Wien.

Nelson, T. S.; T. R. Shie; R. J. Wodzinski und J. H. Ware (1968). "The availability of phytate phosphorus in soya bean meal before and after treatment with mold phytase." *Poultry Science* **47**: 1842-1848.

Nelson, T. S.; T. R. Shie; R. J. Wodzinski und J. H. Ware (1971). "Effect of supplemental phytase on the utilization of phytate phosphorus by chicks." *J. Nutr.* **101** (10): 1289-1294.

Nentwig, U. (1979). Vergleich der biologischen Verfügbarkeit von anorganischem und in *Scenedesmus acutus* gebundenem Cadmium durch die Ratte. Diss.: Justus-Liebig-Universität Gießen.

Nockels, C.; J. Debonis und J. Torrent (1993). "Stress induction affects copper and zinc balance in calves fed organic and inorganic copper and zinc sources." *J. Anim. Sci.* **71** (9): 2539-2545.

Nolan, K. B.; P. A. Duffin und D. J. McWeeny (1987). "Effects of phytate on mineral bioavailability. In vitro studies of Mg²⁺, Ca²⁺, Fe³⁺, Cu²⁺ and Zn²⁺ (also Cd²⁺) solubilities in the presence of phytate." *J. Sci. Food and Agr.* **40**: 79-85.

Nordberg, G. F. und T. Kjellström (1979). "Metabolic model for cadmium in man". *Environ. Health Perspect.* **28**: 211-217

Nriagu, J. O. und C. I. Davidson (1980). Zinc in the atmosphere. In: Nriagu, J. O. (Hrsg.). *Zinc in the Environment*. Verlag John Wiley & Sons, New York, Chichester, Brisbane, Toronto: 113-159.

Oberleas, D.; M. E. Muhrer und B. L. O'Dell (1962). "Effects of phytic acid on zinc availability and parakeratosis in swine." *J. Anim. Sci.* **21**: 57-61.

Oberleas, D.; M. E. Muhrer und B. L. O'Dell (1966 a). "Dietary metal-complexing agents and zinc availability in the rat." *J. Nutr.* **90**: 56-62.

Oberleas, D.; M. E. Muhrer und B. L. O'Dell (1966 b). The availability of zinc from foodstuffs. In: Prasad, A. S., Thomas, C. (Hrsg.). *Zinc Metabolism*. Verlag C. C. Thomas: 225-238.

Pallauf, J. (1992). "Phytase als Zusatzstoff beim Schwein zur Verbesserung der Verwertung von Phosphor und weiteren Mengenelementen sowie Spurenelementen" *Schweinezucht und Schweinemast* **40**(9): 258-261.

- Pallauf, J.; D. Höhler; G. Rimbach und H. Neusser (1992 a). "Einfluß einer Zulage an mikrobieller Phytase zu einer Mais-Soja-Diät auf die scheinbare Absorption von Phosphor und Calcium beim Ferkel." *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* **67**: 30-40.
- Pallauf, J.; D. Höhler; G. Rimbach und H. Neusser (1992 b). "Effect of microbial phytase supplementation to a maize-soya-diet on the apparent absorption of Mg, Fe, Cu, Mn and Zn and parameters of Zn-status in piglets." *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* **68**(1): 1-9.
- Pallauf, J.; G. Rimbach; S. Pippig; B. Schindler; D. Hoehler und E. Most (1994). "Effekt pflanzlicher Phytase und mikrobieller Phytasezulagen zu einer Diät aus Ackerbohnen, Weizen, Erbsen und Gerste auf die Verwertung von Phosphor, Calcium, Magnesium, Zink und Protein bei Ferkeln" *Zeitschrift für Ernährungswissenschaft und Supplementum* **33** (2): 128-135.
- Pen, J.; T. Verwoerd; P. Vanparidon; R. Beudeker; P. Vandanelzen; K. Geerse; J. Vanderklis; H. Versteegh; A. Vanooyen und A. Hoekema (1993). "Phytase-containing transgenic seeds as a novel feed additive for improved phosphorus utilization." *Bio/Technol.* **11** (7): 811-814.
- Petersen, U. und H. Vemmer (1979). "Untersuchungen über den Einfluß von Bleizulagen auf die Entwicklung von Mastschweinen und auf die Rückstandsbildung in verschiedenen Geweben. 1. Mitteilung: Entwicklung der Tiere und Schlachtbefunde." *Landw. Forschung* **32** (3): 316-325.
- Pfleger, H. und H. U. Wolf (1975). "Activation of membrane-bound high-affinity calcium ion-sensitive adenosine triphosphatase of human erythrocytes by bivalent metal ions." *Biochem. Journal* **147**: 359-361.
- Piscator, M. (1979). "Metabolism and effects of cadmium". In: International conference "management and control of heavy metals in the environment". Published by CEP Consultants Ltd., Edinburgh
- Pleasant, E.; M. Sandow; S. Decandido; B. Waslien und B. Naughton (1992). "The effect of Vitamin D3 and 1,25-Dihydroxyvitamin D3 on the toxic symptoms of cadmium exposed rats." *Nutr. Res.* **12** (11): 1393-1403.
- Pointillart, A. (1988). Phytate phosphorus utilization in growing pigs. *Digestive Physiology in the Pig, 4 th international Seminar at the Institute of Animal Physiology and Nutrition, Jablonna, Poland*: 319-326
- Pointillart, A.; N. Fontaine und M. Thomasset (1984). "Phytate phosphorus utilization and intestinal phosphatases in pigs fed low phosphorus: wheat or corn diets." *Nutr. Rep. Internat.* **29**: 473-483.

Pointillart, A. (1991). "Enhancement of phosphorus utilization in growing pigs fed phytate-rich diets by using rye bran." *J. Anim. Sci.* **69**: 1109-1115.

Pointillart, A. (1994). "The importance of cereal phytases." *Feed Mix* **2** (3): 12-15.

Qian, H.; E. T. Kornegay und H. P. Veit (1996). "Effects of Supplemental Phytase and Phosphorus on Histological, Mechanical and Chemical Traits of Tibia and Performance of Turkeys Fed on Soybean-Meal-Based Semi-Purified Diets High in Phytate Phosphorus." *Br. J. Nutr.* **76** (2): 263-272.

Quarterman, J. und H. E. Rose (1985). "Influence of dietary phytic acid and calcium on lead retention in the rat." *TEMA* **5**: 170

Radke, M. (1993). "Schwermetalle und Kohlenwasserstoffe in unserer Nahrung." *Der Förderungsdienst* **41** (3): 64-68.

Rambeck, W.; G. Meiringer; W. Kollmer und H. Zucker (1986). "Bioverfügbarkeit von Cadmium beim Hühnerküken." *VDLUFA - Schriftenreihe* **20**: 635-639.

Rambeck, W.; C. Bruckner; S. Meier; H. Zucker und W. Kollmer (1988). "Cadmium-bioavailability and the influence of feed components in chickens." *Trace Element Analytical Chemistry in Medicine and Biology (Proceedings of the fifth international workshop, Neuherberg)* **5**: 416-422

Rambeck, W. und P. Walther (1993). "Phytase reduces cadmium retention in rats and in japanese quails." *Enzyme in der Tierernährung, Schriftenreihe aus dem Institut für Nutztierwissenschaften, ETH Zürich*, **11**: 199-201

Rambeck, W. (1994 a). "Beeinflussung des Carry overs von Cadmium in der Nahrungskette." *Proc. Soc. Nutr. Physiol.* **2**: 23-29

Rambeck, W. (1994 b). "Carry-over von Cadmium." *Übers. Tierernährung* **22** (1): 184-190.

Rambeck, W.; I. Guillot; C. Thielen und F.-J. Schöner (1994). Einfluß des Fütterungsenzyms Phytase auf die Cadmiumakkumulation beim Hühnerküken. 3. Tagung Schweine- und Geflügelernährung, Halle/Saale

Rimbach, G. und J. Pallauf (1992). "Effect of an addition of microbial phytase on zinc-availability." *Zeitschrift für Ernährungswissenschaft* **31** (4): 269-277.

Rimbach, G.; H.-J. Ingelmann; K. Brandt; E. Most und J. Pallauf (1994). "Effect of dietary phytate and microbial phytase on the zinc bioavailability and cadmium accumulation in growing rats." Defizite und Überschüsse an Mengen- und Spurenelementen in der Ernährung, 10. Jahrestagung der Gesellschaft für Mineralstoffe und Spurenelemente e.V., Friedrich Schiller Universität Jena: 518-525

Rimbach, G.; J. Pallauf; K. Brandt und E. Most (1995 a). "Effect of Phytic Acid and Microbial Phytase on Cd Accumulation, Zn Status, and Apparent Absorption of Ca, P, Mg, Fe, Zn, Cu, and Mn in Growing Rats." *Ann. Nutr. Metabol.* **39** (6): 361-370.

Rimbach, G.; K. Brandt; E. Most und J. Pallauf (1995 b). "Supplemental Phytic Acid and Microbial Phytase Change Zinc Bioavailability and Cadmium Accumulation in Growing Rats." *J. Trace Elem. Med. and Biol.* **9** (2): 117-122.

Rimbach, G.; J. Pallauf und O. P. Walz (1996 a). "Effect of Microbial Phytase on Cadmium Accumulation in Pigs." *Arch. Anim. Nutr.* **49** (4): 279-286.

Rimbach, G.; K. Brandl; J. Pallauf und O. P. Walz (1996 b). "Cadmiumakkumulation beim Schwein unter dem Einfluß mikrobieller Phytase." *Proc. Soc. Nutr. Physiol.* **5**: 28

Rodriguez Yoldi, M. C.; J. E. Mesonero und M. J. Rodriguez Yoldi (1995 a). "Interaction between calcium and zinc on L-threonine absorption in rabbit jejunum." *Can. J. Physiol. Pharmacol.* **73** (6): 724-728.

Rodriguez Yoldi, M. C.; J. E. Mesonero und M. J. Rodriguez Yoldi (1995 b). "Study of interaction between calcium and zinc on D-galactose intestinal transport." *Biol. Trace Elem. Res.* **50** (1): 1-11.

Römpf, H., J. Falbe und M. Regitz (Hrsg.) (1989). *Römpf's Chemielexikon*. Thieme Verlag, Stuttgart-New York.

Rose, H. E. und J. Quarterman (1984). "Effects of dietary phytic acid on lead and cadmium uptake and depletion in rats." *Environm. Res.* **35** (2): 482-489.

Rosen, J. F. (1985). *Metabolic and cellular effects of lead: A guide to low level lead toxicity in children.*
in: *Dietary and Environmental Lead: Human Health Effects. Topics in Environmental Health.* Hrsg.: K. R. Mahaffey: 157-186

Rossowska, M. und T. Nakamoto (1993). "Interaction between zinc and calcium in skeletal muscle in young growing rats." *Biol. Trace Elem. Res.* **38** (3): 301-309.

Runkel, K. H. und H. D. Payer (1984). "Resorption von Cadmium und Zink aus Futtermitteln und Akkumulation von Cadmium in Leber und Niere". GSF-Bericht: Schwermetalle - Biologische Wirkungen und Expositionsquellen, A6-84: 68-77

Sandberg, A.; T. Larsen und B. Sandström (1993). "High dietary calcium level decreases colonic phytate degradation in pigs fed a rapeseed diet." J. Nutr. **123**: 559-566.

Schell, T. C. und E. T. Kornegay (1996). "Zinc concentrations in tissues and performance of weanling pigs fed pharmacological levels of zinc from ZnO, Zn-methionine, Zn-lysine, or ZnSO₄." J. Anim. Sci. **74** (7): 1584-1593.

Schenkel, H. (1988 a). "Zur Rolle des Calciums als Inhibitor bei höheren Schadstoffbelastungen." DLG-Forschungsberichte über Tierernährung **Nr.538031**: 1-46.

Schenkel, H. (1988 b). "Zum Stoffwechselverhalten von Cadmium bei landwirtschaftlichen Nutztieren. I. Mitteilung: Rinder." Übers. Tierernährung **16**: 265-305.

Schenkel, H. (1990 a). "Zum Stoffwechselverhalten von Cadmium bei landwirtschaftlichen Nutztieren. II. Mitteilung: Kleine Wiederkäuer und Schweine." Übers. Tierernährung **18**: 39-76.

Schenkel, H. (1990 b). "Zum Stoffwechselverhalten von Cadmium bei landwirtschaftlichen Nutztieren. III. Mitteilung: Pferde." Übers. Tierernährung **18**: 247-262.

Schenkel, H. (1994). "Stoffwechselkinetisches Verhalten und Toxikologie von Cadmium." Proc. Soc. Nutr. Physiol. **2**: 17-22

Scheuermann, S. E.; H. J. Lantzsich und K. H. Menke (1988 a). "In vitro und in vivo Untersuchungen zur Hydrolyse von Phytat, I. Löslichkeit von Phytat." J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. **60**: 55-63.

Scheuermann, S. E.; H. J. Lantzsich und K. H. Menke (1988 b). "In vitro und in vivo Untersuchungen zur Hydrolyse von Phytat, II. Aktivität pflanzlicher Phytase." J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. **60**: 64-75.

Schulz, E. und H. J. Oslage (1972). "Untersuchungen zur intestinalen Hydrolyse von Inositolphosphorsäureester und zur Absorption von Phytinphosphor beim Schwein. 2. Mitteilung: Untersuchungen zur Hydrolyse der Inositolphosphorsäureester im Verdauungstrakt des Schweines." J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. **30**: 76-91.

Sebastian, S.; S. P. Touchburn; E. R. Chavez und P. C. Lague (1996). "The effects of supplemental microbial phytase on the performance and utilization of dietary calcium, phosphorus, copper, and zinc in broiler-chickens fed corn-soybean diets." *Poultry Science* **75** (6): 729-736.

Sharma, R. P.; J. C. Street; M. P. Verma und J. L. Shupe (1979). "Cadmium uptake from feed and its distribution to food products of livestock." *Environm. Health Persp.* **28**: 59-66.

Simons, P. C.; H. A. J. Versteegh; A. W. Jongbloed; P. A. Kemme; P. Slump; K. D. Bos; M. G. E. Wolters; R. F. Beudeker und G. J. Verschoor (1990). "Improvement of phosphorus availability by microbial phytase in broilers and pigs." *Br. J. Nutr.* **64**: 525-540.

Smith, C. M.; H. F. De Luca; Y. Tanaka und K. R. Mahaffey (1978). "Stimulation of lead absorption by vitamin D administration." *J. Nutr.* **108**: 843-847.

Smith, C. M.; H. F. De Luca; Y. Tanaka und K. R. Mahaffey (1981). "Effect of lead ingestion of functions on vitamin D and its metabolites." *J. Nutr.* **111**: 1321-1329.

Song, M. K. und N. F. Adham (1978). "Role of prostaglandine E2 in zinc absorption in the rat." *Am. J. Physiol.* **234**: E99-E105.

Song, M. K.; N. F. Adham und M. E. Ament (1985). "A possible role of zinc on the intestinal calcium absorption mechanisms in rats." *Nutr. Rep. Intern.* **31**(1): 43-51.

Spears, J. W. (1989). "Zinc methionine for ruminants: Relative bioavailability of zinc in lambs and effects of growth and performance of growing heifers." *J. Anim. Sci.* **67** (3): 835-843.

Spencer, H.; L. Kramer; C. Norris und D. Osis (1984). "Effect of calcium and phosphorus on zinc metabolism in man." *Am. J. Clin. Nutr.* **40**: 1213-1218.

Sullivan, M. F.; J. T. Hardy; B. M. Miller; R. L. Buschbom und T. C. Siewicki (1984). "Absorption and distribution of cadmium in mice fed diets containing either inorganic or oyster-incorporated cadmium." *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **72**: 210-217.

Task Group on Metal Interaction (1978). "Factors influencing metabolism and toxicity of metals. A consensus report." *Environm. Health Persp.* **35**: 3-41.

- Teranishi, H.; H. Horiguchi; Y. Morikawa; M. Nishijo; K. Iwata; T. Katoh; K. Aoshima; M. Kasuya und M. Kanai (1992). "A 15-year follow-up study on renal disfunction among people living in cadmium-polluted area." *Water Sci. Technol.* **25** (11): 157-164.
- Thielen, C.; T. Hollwich und W. A. Rambeck (1996). "Einfluß von Phytase auf die Cadmiumakkumulation beim Schwein und die Aluminiumakkumulation bei der Wachtel." *Proc. Soc. Nutr. Physiol.* **5**: 25
- Thielen, C.; T. Frey und W. A. Rambeck (1997). "Einfluß von Phytase in der Flüssigfütterung auf die Cadmiumkonzentration in Leber und Niere beim Mastschwein." *Proc. Soc. Nutr. Physiol.* **6**: 51
- Tsuchiya, K. (1986). "Lead". In: Friberg, L., Nordberg, G. F., Vouk, V. B. (Hrsg.). *Handbook on the toxicology of metals, Vol. 2*. Amsterdam, New York, Oxford: S. 298-353
- Tucker, H. F. und W. D. Salmon (1955). "Parakeratosis or zinc deficiency disease in the pig." *Proc. Soc. Experim. Biol. and Med.* **88**: 613-616.
- Turecki, T.; R. C. Ewan und H. M. Stahr (1994). "Effect of phytic acid and calcium on the intestinal absorption of cadmium in vitro." *Bull. Environm. Contam. and Toxicol.* **53**: 464-470.
- Turecki, T.; R. C. Ewan und H. M. Stahr (1995). "Effect of dietary phytic acid and cadmium on the availability of cadmium, zinc, copper, iron and manganese to rats." *Bull. Environm. Contam. Toxicol.* **54**: 760-767.
- Uthe, J. F. und C. L. Chou (1979). "Cadmium levels in selected organs of rats fed three dietary forms of cadmium." *J. Environm. Sci. and Health* **14**: 117-134.
- Vemmer, H. und U. Petersen (1979). "Untersuchungen über den Einfluß steigender Cadmiumzulagen auf die Entwicklung von Mastschweinen und auf die Rückstandsbildung in verschiedenen Geweben, 2. Mitteilung: Cadmiumrückstände in verschiedenen Geweben." *Landw. Forschung* **32** (3): 303-315.
- Visser, G.; P. Peters und A. Theuvenet (1993). "Cadmium ion is a non-competitive inhibitor of red cell Ca²⁺-ATPase activity." *Biochim. Biophys. Acta* **1152** (1): 26-34.
- Wagner, G. J.; E. Nulty und M. Lefevre (1984). "Cadmium in wheat grain: its nature and fate after ingestion." *J. Toxicol. Environm. Health* **13**: 979-989.

- Walther, P. (1994). Der Einfluss von Phytase auf die Cadmiumretention bei Ratten und Wachteln.
Diss.: Ludwig-Maximilians-Universität München.
- Wang, C. und M. Bhattacharyya (1993). "Effect of cadmium on bone calcium and Ca-45 in nonpregnant mice on a calcium-deficient diet - Evidence of direct effect of cadmium on bone." *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **120** (2): 228-239.
- Washko, P. W. und R. J. Cousins (1977). "Role of dietary calcium and calcium-binding protein in cadmium toxicity in rats." *J. Nutr.* **107**: 920-928.
- Wedekind, K. J.; A. J. Lewis und M. A. Giesemann (1993). Bioavailability of inorganic and organic zinc sources in swine. *TEMA* 8: 410-411
- Wedekind, K. J.; A. J. Lewis; M. A. Giesemann und P. S. Miller (1994). "Bioavailability of zinc from inorganic and organic sources for pigs fed corn-soybean meal diets." *J. Anim. Sci.* **72** (10): 2681-2689.
- Weigel, H. J.; D. Ilge; I. Elmadfa und H. J. Jäger (1987). "Availability and toxicological effects of low levels of biologically bound cadmium." *Arch. Environm. Contam. and Toxicol.* **16**: 85-93.
- Wiegand, H. und H.-W. Schlipkötter (1983). Spurenelemente und Luftverschmutzung.
In: Zumkley, H. (Hrsg.) Spurenelemente. Thieme Verlag, Stuttgart, New York: 268-275.
- Williams, S. A.; J. S. Culp und L. G. Butler (1985). "The relationship of alkaline phosphatase, CaATPase and phytase." *Arch. Biochem. Biophys.* **241**: 10-13.
- Windisch, W. und M. Kirchgessner (1996). "Zum Effekt von Phytase auf die scheinbare Verdaulichkeit und Gesamtverwertung von Eisen, Kupfer, Zink und Mangan bei abgestufter Ca-Versorgung in der Ferkelaufzucht und in der Broilermast." *Agribiol. Res.* **49** (1): 23-29.
- Winkler, C.; W. A. Rambeck; W. E. Kollmer und H. Zucker (1984). "Der Einfluß der Calcium-, Phosphor- und Vitamin D-Zufuhr auf die Cadmium-Retention in Leber und Nieren beim wachsenden Huhn." *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* **51**: 250-256.
- Wise, A. und D. J. Gilbert (1981). "Binding of Cadmium and Lead to the calcium-phytate complex in vitro." *Toxicol. Letters* **9** (1): 45-50.

Wise, A. (1981). "Protective action of calcium phytate against acute lead toxicity in mice." *Bull. Environm. Cont. Toxicol.* **27** (5): 630-633.

Wise, A. (1982). "Blood lead levels after chronic feeding to mice of lead acetate with calcium phytate in the diet." *Bull. Environm. Cont. Toxicol.* **29** (5): 550-553.

Yang, W. Y.; Y. Matsuda; S. I. Sano; H. Masutani und H. Nakagawa (1991). "Purification and characterization of phytase from rat intestinal mucosa." *Biochim. Biophys. Acta* **1075**: 75-82.

Yi, Z.; E. T. Kornegay und D. M. Denbow (1996). "Supplemental Microbial Phytase Improves Zinc Utilization in Broilers." *Poultry Science* **75** (4): 540-546.

Zumkley, H. (1983 a). Weitere Spurenelemente.
In: Zumkley, H. (Hrsg.). Spurenelemente. Thieme Verlag, Stuttgart, New York: 215-229.

Zumkley, H. (1983 b). Cadmium.
In: Zumkley, H. (Hrsg.). Spurenelemente. Thieme Verlag, Stuttgart, New York: 75-80

7 Tabellenanhang

Tabelle I: Analytisch ermittelte Gehalte der Ausgangskomponenten (pro kg TS¹)

	unbelastete Gerste	belastete Gerste	Sojaextraktions- schrot
XA g	25,7	25,5	68,1
XL g	18,1	20,1	6,90
XP g	115,9	145,9	520,4
XF g	49,0	64,5	79,2
NfE g	791,3	744,0	325,4
OS g	974,3	974,5	931,9
GE MJ	18,34	18,77	19,44
Na g	0,05	0,03	0,05
K g	6,11	4,69	23,8
Ca g	0,42	0,81	2,67
Mg g	1,03	1,04	3,05
P g	4,05	3,85	6,08
Cu mg	4,43	6,20	19,6
Fe mg	91,8	61,9	344,1
Mn mg	10,4	13,9	46,2
Zn mg	25,0	66,9	53,4
Cd mg	0,02	1,11	0,02
Pb mg	0,18	2,67	0,28
Cys g	3,3	3,2	7,6
Asp g	9,4	8,2	67,5
Met g	2,4	1,9	6,8
Thr g	4,4	4,7	19,2
Ser g	6,4	6,7	27,8
Glu g	27,6	34,4	80,0
Gly g	5,9	5,7	23,3
Ala g	4,8	5,8	18,0
Val g	5,1	6,4	17,7
Ile g	3,5	4,4	16,9
Leu g	9,0	9,6	35,7
Tyr g	3,8	3,9	18,6
Phe g	6,4	7,0	26,3
Lys g	4,9	5,8	31,4
His g	2,9	3,0	13,7
Arg g	6,4	6,6	36,4

¹TS-Gehalte: unbel. Gerste 87,65 %, bel. Gerste 85,35 %, Sojaextraktionsschrot 87,17 %

Tabelle II: Ergebnis der Bestimmung der einzelnen Elemente in dem Standardreferenzmaterial Chlorella bezogen auf Trockensubstanz

	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	X ₅	X ₆	X ₇	X ₈	X ₉	X ₁₀
Pb mg/kg	0,62	0,62	0,63	0,60	0,62	0,63	0,62	0,61	0,61	0,61
Cd mg/kg	0,03	0,04	0,04	0,03	0,02	0,02	0,02	0,01	0,02	0,02
Zn mg/kg	20,1	20,2	20,2	20,3	20,1	20,0	20,1	19,2	19,9	19,8
P %	1,80	1,79	1,78	1,78	1,80	1,81	1,71	1,72	1,73	1,71
Ca %	0,46	0,45	0,47	0,48	0,48	0,46	0,48	0,45	0,43	0,49
K %	1,19	1,20	1,18	1,21	1,22	1,20	1,26	1,22	1,19	1,18

Tabelle III: Ergebnis der Bestimmung der einzelnen Elemente in dem Standardreferenzmaterial Bovine Liver bezogen auf Trockensubstanz

	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	X ₅	X ₆	X ₇	X ₈	X ₉	X ₁₀
Pb mg/kg	0,14	0,13	0,13	0,13	0,15	0,14	0,13	0,14	0,13	0,14
Cd mg/kg	0,49	0,48	0,48	0,46	0,45	0,46	0,46	0,47	0,45	0,45
Zn mg/kg	120	120	121	121	119	119	120	120	121	120
P %	1,11	1,12	1,15	1,12	1,12	1,11	1,14	1,13	1,14	1,12
Ca mg/kg	118	115	115	118	119	116	116	117	115	115
K %	1,01	1,05	1,09	1,06	1,05	1,05	1,04	1,00	1,01	1,01
Na%	0,26	0,23	0,22	0,23	0,22	0,23	0,21	0,21	0,20	0,20

Tabelle IV: Expositionszeit der einzelnen Versuchstiere in Tagen

	Gewichtsabschnitt bis 30 kg				Gewichtsabschnitt bis 50 kg			
	Tier 1	Tier 2	Tier 3	Tier 4	Tier 5	Tier 6	Tier 7	Tier 8
Gruppe 1	42	37	38	38	79	70	78	79
Gruppe 2	42	37	38	38	79	70	78	85
Gruppe 3	42	37	38	38	79	79	86	79
Gruppe 4	42	37	43	38	79	79	78	79
Gruppe 5	42	37	38	38	86	70	78	79
Gruppe 6	42	37	48	38	86	79	86	85
Gruppe 7	37	43	45	----	86	79	86	85
Gruppe 8	42	37	43	45	86	79	86	85
Gruppe 9	42	37	48	45	86	79	86	85

Tabelle V: Gewichtsentwicklung der Einzeltiere (VA=Versuchsanfang, VE=Versuchsende, ΔW =tägl. Zunahme)

Schlachtung zu Versuchsbeginn				kg			
Gr. 0		Tier 1					13,5
		Tier 2					19,9
		Tier 3					18,2
		Tier 4					17,8
		Tier 5					22,9
		Tier 6					13,5
		Tier 7					22,0
		Tier 8					11,5
Gewichtsabschnitt bis 30 kg				Gewichtsabschnitt bis 50 kg			
	VA kg	VE kg	ΔW g/d		VA kg	VE kg	ΔW g/d
Gr. 1				Gr. 1			
Tier 1	16,7	31,1	342,9	Tier 5	16,9	52,8	454,4
Tier 2	17,9	32,3	389,2	Tier 6	15,3	49,7	494,4
Tier 3	17,1	30,4	350,0	Tier 7	17,8	51,3	429,5
Tier 4	19,1	31,7	331,6	Tier 8	13,4	50,2	465,8
Gr. 2				Gr. 2			
Tier 1	15,6	30,9	364,3	Tier 5	17,6	50,1	411,4
Tier 2	16,2	29,6	362,2	Tier 6	16,1	48,2	458,6
Tier 3	16,2	30,2	368,4	Tier 7	20,0	50,3	388,5
Tier 4	20,5	31,7	294,7	Tier 8	12,9	52,2	462,4
Gr. 3				Gr. 3			
Tier 1	17,9	33,9	381,0	Tier 5	15,9	52,3	460,8
Tier 2	18,6	29,1	283,8	Tier 6	14,7	51,9	470,9
Tier 3	16,7	30,4	360,5	Tier 7	18,0	50,1	373,3
Tier 4	20,4	34,2	363,2	Tier 8	13,5	51,7	483,5
Gr. 4				Gr. 4			
Tier 1	14,1	30,2	383,3	Tier 5	17,2	54,5	472,2
Tier 2	18,1	32,7	394,6	Tier 6	15,0	52,4	473,4
Tier 3	16,4	29,7	309,3	Tier 7	19,0	49,8	394,9
Tier 4	17,9	31,8	365,8	Tier 8	15,7	49,9	432,9
Gr. 5				Gr. 5			
Tier 1	18,2	31,7	321,4	Tier 5	14,6	50,3	415,1
Tier 2	16,9	31,7	400,0	Tier 6	16,1	49,3	474,3
Tier 3	17,1	29,5	326,3	Tier 7	17,3	51,1	433,3
Tier 4	18,3	30,2	313,2	Tier 8	15,1	51,5	460,8
Gr. 6				Gr. 6			
Tier 1	18,9	32,4	321,4	Tier 5	16,2	51,2	407,0
Tier 2	17,2	30,6	362,2	Tier 6	16,0	51,6	450,6
Tier 3	13,7	31,4	368,8	Tier 7	20,1	49,6	343,0
Tier 4	19,5	30,3	284,2	Tier 8	13,6	49,5	422,4
Gr. 7				Gr. 7			
Tier 1	12,9	25,6	343,2	Tier 5	15,0	52,1	431,4
Tier 2	16,2	30,7	337,2	Tier 6	19,6	51,1	398,7
Tier 3	18,2	33,3	335,6	Tier 7	18,3	51,3	383,7
Tier 4	-----	-----	-----	Tier 8	15,5	52,2	431,8
Gr. 8				Gr. 8			
Tier 1	18,1	31,1	309,5	Tier 5	14,1	51,2	431,4
Tier 2	19,7	31,4	316,2	Tier 6	13,9	48,1	432,9
Tier 3	16,2	29,7	314,0	Tier 7	17,5	51,9	400,0
Tier 4	19,0	32,8	306,7	Tier 8	14,9	49,7	409,4
Gr. 9				Gr. 9			
Tier 1	15,4	29,3	331,0	Tier 5	16,3	52,4	419,8
Tier 2	18,3	30,5	329,7	Tier 6	14,5	51,3	465,8
Tier 3	16,0	30,4	300,0	Tier 7	18,7	51,2	377,9
Tier 4	17,9	31,2	295,6	Tier 8	14,9	48,2	391,8

Tabelle VI: Frischgewicht beider Nieren in g

	Tier 1	Tier 2	Tier 3	Tier 4	Tier 5	Tier 6	Tier 7	Tier 8
Gruppe 0	65,6	102,4	88,1	88,1	125,3	61,3	105,3	68,9
Gruppe 1	86,2	92,1	111,5	114,3	178,3	173,8	201,0	160,2
Gruppe 2	104,7	126,0	116,7	129,1	176,7	165,1	175,3	189,7
Gruppe 3	98,0	161,4	112,2	114,7	173,7	165,6	176,1	179,5
Gruppe 4	81,0	130,7	122,0	109,3	162,1	167,6	165,3	153,4
Gruppe 5	107,0	100,9	105,1	100,9	161,8	151,8	155,5	178,2
Gruppe 6	110,0	133,9	163,4	120,4	208,2	190,5	205,7	228,5
Gruppe 7	134,5	119,7	145,7	-----	194,1	176,3	185,9	220,2
Gruppe 8	101,2	112,5	119,7	136,4	216,3	231,8	187,8	229,3
Gruppe 9	84,3	122,5	142,6	128,4	183,7	193,4	172,7	184,9

Tabelle VII: Frischgewicht der Leber in g

	Tier 1	Tier 2	Tier 3	Tier 4	Tier 5	Tier 6	Tier 7	Tier 8
Gruppe 0	360,9	507,4	412,5	434,2	608,6	391,7	591,5	307,0
Gruppe 1	582,5	588,3	655,3	733,6	996,4	1006,1	1203,3	933,9
Gruppe 2	599,6	637,5	684,5	790,7	947,0	997,0	1066,7	974,7
Gruppe 3	615,2	814,7	683,1	635,7	905,9	1128,8	968,9	986,4
Gruppe 4	535,7	578,4	777,08	845,1	1042,3	1074,1	1175,8	814,7
Gruppe 5	653,9	590,7	595,7	665,7	916,1	865,8	1098,1	981,7
Gruppe 6	602,0	564,0	819,9	590,3	897,9	1082,9	1211,7	1063,3
Gruppe 7	564,4	718,2	685,0	-----	901,5	1052,7	902,6	950,0
Gruppe 8	622,4	599,1	760,6	663,1	800,8	1095,3	993,1	999,9
Gruppe 9	517,1	543,7	696,4	605,3	848,1	1060,2	898,3	955,9

Tabelle VIII: Frischgewicht Phalanx 1 in g

	Tier 1	Tier 2	Tier 3	Tier 4	Tier 5	Tier 6	Tier 7	Tier 8
Gruppe 0	3,33	3,32	3,21	4,54	3,49	2,73	3,71	2,66
Gruppe 1	6,92	4,79	6,55	6,33	9,41	6,77	7,18	7,54
Gruppe 2	4,60	6,02	7,03	6,33	7,33	5,54	10,3	7,60
Gruppe 3	7,52	5,55	4,84	5,47	7,60	8,04	7,31	7,82
Gruppe 4	5,56	5,89	5,79	6,43	10,0	9,43	7,91	9,08
Gruppe 5	4,90	5,55	6,20	5,72	9,46	9,51	6,38	10,6
Gruppe 6	4,78	5,52	9,62	4,29	8,93	8,54	5,50	8,70
Gruppe 7	4,03	4,16	6,15	-----	9,41	8,31	7,86	10,4
Gruppe 8	4,60	6,08	5,26	6,90	11,3	7,01	8,13	8,10
Gruppe 9	5,46	5,83	5,30	5,03	10,5	9,11	9,54	9,88

Tabelle IX: Trockensubstanzgehalt der Niere in %

	Nullgr.	Gr. 1	Gr. 2	Gr. 3	Gr. 4	Gr. 5	Gr. 6	Gr. 7	Gr. 8	Gr.9
Tier 1	16,77	18,85	17,89	18,92	19,45	18,65	18,13	17,03	20,07	19,42
Tier 2	16,71	18,82	18,34	17,59	18,78	18,75	18,13	19,15	18,54	17,88
Tier 3	17,90	18,91	18,20	18,87	17,85	19,20	18,70	18,14	18,36	18,22
Tier 4	17,85	18,15	18,29	17,89	18,36	17,45	17,30	----	17,33	17,46
Tier 5	18,12	19,63	19,12	18,24	19,68	19,10	17,37	18,59	17,44	19,81
Tier 6	17,80	18,86	19,10	18,70	20,42	18,43	20,37	19,51	17,62	17,89
Tier 7	17,55	19,40	18,45	18,71	19,11	19,32	18,57	18,78	18,91	18,53
Tier 8	16,07	18,33	19,16	18,10	18,64	17,76	17,91	17,82	18,36	17,66
MW	17,35	18,87	18,57	18,38	19,04	18,58	18,31	18,43	18,33	18,36
s	0,73	0,49	0,49	0,49	0,81	0,68	0,97	0,84	0,90	0,85
n	8	8	8	8	8	8	8	7	8	8

Tabelle X: Trockensubstanzgehalt der Leber in %

	Nullgr.	Gr. 1	Gr. 2	Gr. 3	Gr. 4	Gr. 5	Gr. 6	Gr. 7	Gr. 8	Gr.9
Tier 1	26,25	28,88	28,60	29,69	28,04	28,38	28,95	26,11	29,65	28,82
Tier 2	26,24	28,02	27,35	27,91	28,29	27,42	27,15	28,99	28,89	28,33
Tier 3	26,59	27,87	28,87	27,84	29,16	27,33	29,93	30,40	29,66	28,36
Tier 4	26,82	30,25	30,79	29,56	30,59	29,32	31,23	-----	30,02	29,47
Tier 5	24,87	28,33	26,98	26,90	25,67	27,52	26,66	28,80	27,73	27,42
Tier 6	27,51	27,99	28,88	29,73	30,62	28,85	31,16	29,53	31,48	29,87
Tier 7	27,11	29,45	29,59	29,40	29,71	29,85	30,18	29,93	29,16	29,14
Tier 8	25,03	30,44	30,94	30,11	29,62	30,74	30,12	31,60	29,79	30,44
MW	26,30	28,90	29,00	28,89	28,96	28,68	29,42	29,34	29,55	28,98
s	0,94	1,03	1,43	1,17	1,63	1,25	1,72	1,71	1,06	0,96
n	8	8	8	8	8	8	8	7	8	8

Tabelle XI: Trockensubstanzgehalt der Knochen in %

	Nullgr.	Gr. 1	Gr. 2	Gr. 3	Gr. 4	Gr. 5	Gr. 6	Gr. 7	Gr. 8	Gr.9
Tier 1	58,61	62,95	63,58	55,29	67,51	75,98	67,98	68,59	70,21	66,44
Tier 2	63,63	60,91	61,74	62,61	62,22	65,45	57,35	66,55	64,29	69,98
Tier 3	58,99	57,95	69,14	61,25	68,48	59,10	70,14	63,94	60,48	63,92
Tier 4	58,06	71,37	61,66	62,66	67,58	65,11	75,90	-----	70,51	68,25
Tier 5	64,29	63,56	65,60	65,46	65,33	73,91	67,88	58,15	61,59	60,24
Tier 6	56,32	70,64	59,73	70,79	67,61	63,30	65,65	54,96	66,95	63,17
Tier 7	63,11	64,47	60,45	67,39	64,24	70,84	70,91	62,61	65,11	60,46
Tier 8	58,49	73,36	73,72	76,91	67,12	69,15	65,04	69,47	63,48	67,77
MW	60,19	65,65	64,45	65,30	66,26	67,86	67,61	63,47	65,33	65,03
s	3,01	5,50	4,83	6,55	2,14	5,66	5,37	5,38	3,69	3,64
n	8	8	8	8	8	8	8	7	8	8

Tabelle XII: Aschegehalt der Knochen in % (in der Originalsubstanz)

	Nullgr.	Gr. 1	Gr. 2	Gr. 3	Gr. 4	Gr. 5	Gr. 6	Gr. 7	Gr. 8	Gr.9
Tier 1	25,98	37,91	30,12	25,72	49,08	34,38	30,74	34,14	31,77	36,31
Tier 2	35,18	25,45	22,09	30,40	44,35	31,55	26,30	24,85	29,97	35,26
Tier 3	27,59	26,97	33,80	28,14	26,77	27,41	36,78	26,06	29,33	27,99
Tier 4	25,01	42,97	28,37	27,16	26,57	27,58	30,93	-----	26,07	30,58
Tier 5	30,51	46,13	32,05	32,80	44,96	38,21	30,47	39,58	36,06	27,85
Tier 6	27,70	63,60	28,09	36,54	41,07	29,70	28,23	28,71	30,19	31,47
Tier 7	27,38	39,67	47,82	37,46	32,89	39,43	26,87	33,72	27,13	31,19
Tier 8	25,14	45,95	31,00	34,06	37,83	38,62	27,66	39,29	28,01	31,54
MW	28,06	41,08	31,67	31,54	37,94	33,36	29,75	32,34	29,82	31,52
s	3,37	12,04	7,40	4,37	8,48	4,99	3,36	5,98	3,11	3,02
n	8	8	8	8	8	8	8	7	8	8

Tabelle XIII: Trockensubstanzgehalt der Muskeln in %

	Nullgr.	Gr. 1	Gr. 2	Gr. 3	Gr. 4	Gr. 5	Gr. 6	Gr. 7	Gr. 8	Gr.9
Tier 1	18,59	21,79	21,75	21,77	20,41	21,69	21,50	20,81	21,72	21,39
Tier 2	19,55	21,06	20,12	21,30	20,45	21,10	21,29	21,85	21,14	21,25
Tier 3	19,31	20,62	21,78	21,63	22,22	20,96	22,51	21,40	21,75	20,75
Tier 4	19,79	22,47	21,89	22,48	21,42	21,02	22,07	-----	21,58	21,23
Tier 5	19,85	20,80	21,08	20,52	21,55	21,35	21,39	22,37	21,31	20,88
Tier 6	20,91	21,75	20,57	21,50	21,59	21,37	22,14	21,93	22,71	21,70
Tier 7	19,12	22,09	23,25	21,81	21,96	21,97	22,31	22,25	22,15	21,98
Tier 8	18,27	21,70	21,34	21,74	21,68	21,98	21,78	21,26	21,43	20,72
MW	19,42	21,54	21,47	21,59	21,41	21,43	21,87	21,70	21,72	21,24
s	0,82	0,65	0,95	0,55	0,66	0,41	0,45	0,56	0,50	0,45
n	8	8	8	8	8	8	8	7	8	8

Tabelle XIV: Cadmiumkonzentrationen in den Nieren in mg/kg TS

	Tier 1	Tier 2	Tier 3	Tier 4	Tier 5	Tier 6	Tier 7	Tier 8
Gruppe 0	0,36	0,42	0,21	0,32	0,88	0,62	0,45	0,22
Gruppe 1	0,52	0,61	0,76	0,66	0,49	0,24	1,14	2,52
Gruppe 2	4,27	5,48	5,60	4,53	7,58	6,72	7,30	6,92
Gruppe 3	3,77	6,33	5,55	6,70	7,75	13,5	8,98	13,1
Gruppe 4	4,93	3,02	4,28	3,94	4,91	6,86	9,79	7,74
Gruppe 5	6,68	9,13	10,1	7,09	7,80	14,8	14,8	13,0
Gruppe 6	5,44	4,79	4,02	4,08	9,63	9,18	7,79	9,31
Gruppe 7	5,47	7,30	6,25	----	7,58	9,49	7,42	10,9
Gruppe 8	3,99	4,66	6,00	3,91	5,70	6,28	10,1	5,18
Gruppe 9	2,97	2,51	4,03	2,74	4,00	3,90	5,04	5,34

Tabelle XV: Cadmiumkonzentrationen in den Nieren in mg/kg FS

	Tier 1	Tier 2	Tier 3	Tier 4	Tier 5	Tier 6	Tier 7	Tier 8
Gruppe 0	0,06	0,07	0,04	0,06	0,16	0,11	0,08	0,04
Gruppe 1	0,10	0,11	0,14	0,12	0,10	0,05	0,22	0,46
Gruppe 2	0,76	1,01	1,02	0,83	1,45	1,28	1,35	1,33
Gruppe 3	0,71	1,11	1,05	1,20	1,41	2,52	1,68	2,37
Gruppe 4	0,96	0,57	0,76	0,72	0,97	1,40	1,87	1,44
Gruppe 5	1,25	1,71	1,94	1,24	1,49	2,73	2,86	2,31
Gruppe 6	0,99	0,87	0,75	0,71	1,67	1,87	1,45	1,67
Gruppe 7	0,93	1,40	1,13	----	1,41	1,85	1,39	1,94
Gruppe 8	0,80	0,86	1,10	0,68	0,99	1,11	1,91	0,95
Gruppe 9	0,58	0,45	0,73	0,48	0,79	0,70	0,93	0,94

Tabelle XVI: Bleikonzentrationen in den Nieren in mg/kg TS

	Tier 1	Tier 2	Tier 3	Tier 4	Tier 5	Tier 6	Tier 7	Tier 8
Gruppe 0	0,39	0,23	0,16	0,48	0,30	0,16	0,10	0,10
Gruppe 1	0,33	0,37	0,18	0,29	0,16	0,22	0,25	0,18
Gruppe 2	0,29	0,45	0,20	0,40	0,32	0,38	0,38	0,41
Gruppe 3	0,36	0,39	0,37	0,38	0,35	0,37	0,43	0,31
Gruppe 4	0,41	1,06	0,54	0,64	0,65	0,63	0,53	0,70
Gruppe 5	0,69	0,54	0,51	0,56	0,87	0,80	0,56	0,70
Gruppe 6	0,18	0,15	0,57	0,22	0,30	0,33	0,33	0,32
Gruppe 7	0,23	0,27	0,23	-----	0,50	0,36	0,24	0,30
Gruppe 8	0,34	0,35	0,30	0,47	0,45	0,78	1,16	0,44
Gruppe 9	0,47	0,37	0,77	0,36	1,36	0,63	0,63	0,46

Tabelle XVII: Bleikonzentrationen in den Nieren in mg/kg FS

	Tier 1	Tier 2	Tier 3	Tier 4	Tier 5	Tier 6	Tier 7	Tier 8
Gruppe 0	0,07	0,04	0,03	0,09	0,05	0,03	0,02	0,02
Gruppe 1	0,06	0,07	0,03	0,05	0,03	0,04	0,05	0,03
Gruppe 2	0,05	0,08	0,04	0,07	0,06	0,07	0,07	0,08
Gruppe 3	0,07	0,07	0,07	0,07	0,06	0,07	0,08	0,06
Gruppe 4	0,08	0,20	0,10	0,12	0,13	0,13	0,10	0,13
Gruppe 5	0,13	0,10	0,10	0,10	0,17	0,15	0,11	0,12
Gruppe 6	0,03	0,03	0,11	0,04	0,05	0,07	0,06	0,06
Gruppe 7	0,04	0,05	0,04	-----	0,09	0,07	0,05	0,05
Gruppe 8	0,07	0,06	0,06	0,08	0,08	0,14	0,22	0,08
Gruppe 9	0,09	0,07	0,14	0,06	0,27	0,11	0,12	0,08

Tabelle XVIII: Zinkkonzentrationen in den Nieren in mg/kg TS

	Tier 1	Tier 2	Tier 3	Tier 4	Tier 5	Tier 6	Tier 7	Tier 8
Gruppe 0	127,1	126,1	157,2	279,2	325,3	331,3	142,1	254,6
Gruppe 1	109,1	101,2	92,7	97,4	105,2	90,3	89,7	101,2
Gruppe 2	110,8	126,1	105,6	117,3	105,1	138,0	120,6	122,8
Gruppe 3	121,9	129,5	111,7	114,6	146,7	133,5	121,9	120,2
Gruppe 4	160,2	142,8	121,5	106,1	113,7	126,8	131,8	120,8
Gruppe 5	155,1	117,5	123,0	109,2	124,7	152,4	122,4	120,4
Gruppe 6	110,2	103,3	111,9	107,3	127,4	154,5	123,2	134,4
Gruppe 7	125,7	126,1	115,5	-----	125,7	118,2	117,3	142,2
Gruppe 8	104,5	125,0	70,1	105,8	148,1	123,3	124,7	105,7
Gruppe 9	109,7	107,2	124,1	107,3	113,4	99,4	114,7	126,6

Tabelle XIX: Zinkkonzentrationen in den Nieren in mg/kg FS

	Tier 1	Tier 2	Tier 3	Tier 4	Tier 5	Tier 6	Tier 7	Tier 8
Gruppe 0	21,3	21,1	28,1	49,8	58,9	59,0	24,9	40,9
Gruppe 1	20,6	19,0	17,5	17,7	20,7	17,0	17,4	18,5
Gruppe 2	19,8	23,1	19,2	21,5	20,1	26,4	22,3	23,5
Gruppe 3	23,1	22,8	21,1	20,5	26,8	25,0	22,8	21,8
Gruppe 4	31,2	26,8	21,7	19,5	22,4	25,9	25,2	22,5
Gruppe 5	28,9	22,0	23,6	19,1	23,8	28,1	23,6	21,4
Gruppe 6	20,0	18,7	20,9	18,6	22,1	31,5	22,9	24,1
Gruppe 7	21,4	24,1	21,0	-----	23,4	23,1	22,0	25,3
Gruppe 8	21,0	23,2	12,9	18,3	25,8	21,7	23,6	19,4
Gruppe 9	21,3	19,2	22,6	18,7	22,5	17,8	21,3	22,4

Tabelle XX: Cadmiumkonzentrationen in den Lebern in mg/kg TS

	Tier 1	Tier 2	Tier 3	Tier 4	Tier 5	Tier 6	Tier 7	Tier 8
Gruppe 0	0,04	0,06	0,02	0,03	0,06	0,05	0,04	0,03
Gruppe 1	0,06	0,04	0,06	0,05	0,05	0,02	0,08	0,03
Gruppe 2	0,53	0,55	0,56	0,49	0,72	0,66	0,68	0,67
Gruppe 3	0,71	0,69	0,70	0,69	0,93	0,94	0,91	1,14
Gruppe 4	0,53	0,43	0,45	0,42	0,64	0,61	0,63	0,67
Gruppe 5	0,58	0,61	0,63	0,37	0,90	0,94	0,92	0,94
Gruppe 6	0,57	0,55	0,50	0,50	0,22	0,82	0,81	0,85
Gruppe 7	0,58	0,51	0,53	-----	0,63	0,61	0,62	0,88
Gruppe 8	0,41	0,40	0,40	0,49	0,78	0,56	0,80	0,67
Gruppe 9	0,39	0,36	0,54	0,36	0,67	0,47	0,57	0,60

Tabelle XXI: Cadmiumkonzentrationen in den Lebern in mg/kg FS

	Tier 1	Tier 2	Tier 3	Tier 4	Tier 5	Tier 6	Tier 7	Tier 8
Gruppe 0	0,01	0,02	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Gruppe 1	0,02	0,01	0,02	0,02	0,01	0,01	0,02	0,01
Gruppe 2	0,15	0,15	0,16	0,15	0,19	0,19	0,20	0,21
Gruppe 3	0,21	0,19	0,19	0,20	0,25	0,28	0,27	0,34
Gruppe 4	0,15	0,12	0,13	0,13	0,16	0,19	0,19	0,20
Gruppe 5	0,16	0,17	0,17	0,11	0,25	0,27	0,27	0,29
Gruppe 6	0,17	0,15	0,15	0,16	0,06	0,26	0,24	0,26
Gruppe 7	0,15	0,15	0,16	-----	0,18	0,18	0,19	0,28
Gruppe 8	0,12	0,12	0,12	0,15	0,22	0,18	0,23	0,20
Gruppe 9	0,11	0,10	0,15	0,11	0,18	0,14	0,17	0,18

Tabelle XXII: Bleikonzentrationen in den Lebern in mg/kg TS

	Tier 1	Tier 2	Tier 3	Tier 4	Tier 5	Tier 6	Tier 7	Tier 8
Gruppe 0	0,25	0,08	0,07	0,30	0,13	0,09	0,03	0,06
Gruppe 1	0,19	0,11	0,07	0,17	0,21	0,05	0,09	0,07
Gruppe 2	0,18	0,30	0,16	0,10	0,18	0,22	0,14	0,07
Gruppe 3	0,17	0,20	0,15	0,15	0,14	0,16	0,28	0,17
Gruppe 4	0,28	0,40	0,22	0,36	0,42	0,24	0,30	0,30
Gruppe 5	0,43	0,33	0,35	0,25	0,50	0,49	0,39	0,32
Gruppe 6	0,12	0,14	0,11	0,11	0,15	0,07	0,08	0,13
Gruppe 7	0,11	0,13	0,15	-----	0,19	0,17	0,11	0,11
Gruppe 8	0,25	0,16	0,17	0,23	0,26	0,25	0,21	0,27
Gruppe 9	0,27	0,26	0,25	0,25	0,75	0,26	0,33	0,14

Tabelle XXIII: Bleikonzentrationen in den Lebern in mg/kg FS

	Tier 1	Tier 2	Tier 3	Tier 4	Tier 5	Tier 6	Tier 7	Tier 8
Gruppe 0	0,07	0,02	0,02	0,08	0,03	0,02	0,01	0,02
Gruppe 1	0,05	0,03	0,02	0,05	0,06	0,01	0,03	0,02
Gruppe 2	0,05	0,08	0,05	0,03	0,05	0,06	0,04	0,02
Gruppe 3	0,05	0,06	0,04	0,04	0,04	0,05	0,08	0,05
Gruppe 4	0,08	0,11	0,06	0,11	0,11	0,07	0,09	0,09
Gruppe 5	0,12	0,09	0,10	0,07	0,14	0,14	0,12	0,10
Gruppe 6	0,03	0,04	0,03	0,03	0,04	0,02	0,02	0,04
Gruppe 7	0,03	0,04	0,05	-----	0,05	0,05	0,03	0,03
Gruppe 8	0,07	0,05	0,05	0,07	0,07	0,08	0,06	0,08
Gruppe 9	0,08	0,07	0,07	0,07	0,21	0,08	0,10	0,04

Tabelle XXIV: Zinkkonzentrationen in den Lebern in mg/kg TS

	Tier 1	Tier 2	Tier 3	Tier 4	Tier 5	Tier 6	Tier 7	Tier 8
Gruppe 0	275,4	171,0	519,1	1099,3	1878,4	1903,2	489,6	914,9
Gruppe 1	147,1	102,8	100,3	77,2	109,1	83,6	69,1	76,3
Gruppe 2	200,6	297,3	167,8	93,0	279,8	259,0	127,2	154,0
Gruppe 3	223,6	242,4	238,4	108,1	152,7	236,2	161,4	142,4
Gruppe 4	142,3	159,3	117,3	125,7	192,9	102,2	109,5	169,8
Gruppe 5	122,8	177,5	361,3	146,7	261,0	344,8	191,0	140,2
Gruppe 6	154,4	142,3	72,7	107,7	203,0	88,3	128,4	162,0
Gruppe 7	338,2	167,8	197,8	-----	248,5	168,5	178,2	242,2
Gruppe 8	126,2	168,5	99,2	96,7	246,0	108,9	137,7	103,1
Gruppe 9	244,9	184,0	212,2	124,4	252,1	162,2	203,4	162,9

Tabelle XXV: Zinkkonzentrationen in den Lebern in mg/kg FS

	Tier 1	Tier 2	Tier 3	Tier 4	Tier 5	Tier 6	Tier 7	Tier 8
Gruppe 0	72,3	44,9	138,0	294,8	467,2	523,6	132,7	229,0
Gruppe 1	42,5	28,8	28,0	23,4	30,9	23,4	20,3	23,2
Gruppe 2	57,4	81,3	48,4	28,6	75,5	74,8	37,6	47,6
Gruppe 3	66,4	67,7	66,4	32,0	41,1	70,2	47,5	42,9
Gruppe 4	39,9	45,1	34,2	38,5	49,5	31,3	32,5	50,3
Gruppe 5	34,9	48,7	98,7	43,0	71,8	99,5	57,0	43,1
Gruppe 6	44,7	38,6	21,8	33,6	54,1	27,5	38,8	48,8
Gruppe 7	88,3	48,6	60,1	-----	71,6	49,8	53,3	76,5
Gruppe 8	37,4	48,7	29,4	29,0	68,2	34,3	40,2	30,7
Gruppe 9	70,6	52,1	60,2	36,7	69,1	48,4	59,3	49,6

Tabelle XXVI: Cadmiumkonzentrationen in den Knochen in µg/kg TS

	Tier 1	Tier 2	Tier 3	Tier 4	Tier 5	Tier 6	Tier 7	Tier 8
Gruppe 0	17,2	21,2	24,5	20,5	14,2	29,9	13,8	18,0
Gruppe 1	19,8	11,7	9,40	14,7	15,1	7,68	8,47	9,33
Gruppe 2	14,8	16,1	20,0	16,1	15,4	19,2	20,0	13,4
Gruppe 3	14,0	13,8	14,3	11,0	12,5	15,7	16,3	15,3
Gruppe 4	26,0	19,5	16,0	9,78	17,9	12,9	39,3	10,9
Gruppe 5	11,6	11,4	20,2	24,8	15,5	20,4	26,1	13,0
Gruppe 6	19,7	19,8	14,8	10,8	22,2	17,2	6,81	16,4
Gruppe 7	12,4	23,3	11,6	-----	14,9	13,0	21,1	11,4
Gruppe 8	17,9	12,8	11,9	16,5	13,2	15,4	14,5	17,6
Gruppe 9	9,00	14,2	15,2	8,99	9,78	2,82	9,42	12,0

Tabelle XXVII: Cadmiumkonzentrationen in den Knochen in µg/kg FS

	Tier 1	Tier 2	Tier 3	Tier 4	Tier 5	Tier 6	Tier 7	Tier 8
Gruppe 0	10,1	13,5	14,5	11,9	9,13	16,8	8,71	10,5
Gruppe 1	12,5	7,13	5,45	10,5	9,60	5,43	5,46	6,84
Gruppe 2	9,41	9,94	13,8	9,93	10,1	11,5	12,1	9,88
Gruppe 3	7,74	8,64	8,76	6,89	8,18	11,1	11,0	11,8
Gruppe 4	17,6	12,1	11,0	6,61	11,7	8,72	25,2	7,32
Gruppe 5	8,81	7,46	11,9	16,1	11,5	12,9	18,5	8,99
Gruppe 6	13,4	11,4	10,4	8,20	15,1	11,3	4,83	10,7
Gruppe 7	8,51	15,5	7,42	-----	8,66	7,14	13,2	7,92
Gruppe 8	12,6	8,23	7,20	11,6	8,13	10,3	9,44	11,2
Gruppe 9	5,98	9,94	9,72	6,14	5,89	1,78	5,70	8,13

Tabelle XXVIII: Bleikonzentrationen in den Knochen in mg/kg TS

	Tier 1	Tier 2	Tier 3	Tier 4	Tier 5	Tier 6	Tier 7	Tier 8
Gruppe 0	2,24	0,68	1,04	1,74	0,72	1,25	1,25	0,85
Gruppe 1	0,99	0,54	0,44	0,57	0,48	0,37	0,40	0,37
Gruppe 2	1,18	1,15	1,07	0,77	1,05	1,01	0,90	0,68
Gruppe 3	1,11	1,31	0,90	0,71	1,30	1,42	1,41	0,72
Gruppe 4	1,29	1,57	0,90	0,85	1,48	1,08	1,08	0,89
Gruppe 5	1,59	1,23	1,29	1,05	1,63	1,47	1,89	1,61
Gruppe 6	0,56	1,04	0,91	0,54	0,82	0,70	0,58	0,54
Gruppe 7	0,64	0,35	0,43	-----	1,18	0,72	0,65	0,50
Gruppe 8	0,73	0,57	0,79	0,53	1,16	1,16	0,75	0,78
Gruppe 9	0,91	0,80	0,94	0,61	1,69	1,36	1,03	0,69

Tabelle XXIX: Bleikonzentrationen in den Knochen in mg/kg FS

	Tier 1	Tier 2	Tier 3	Tier 4	Tier 5	Tier 6	Tier 7	Tier 8
Gruppe 0	1,31	0,43	0,61	1,01	0,46	0,70	0,79	0,50
Gruppe 1	0,62	0,33	0,25	0,41	0,31	0,26	0,26	0,27
Gruppe 2	0,75	0,71	0,74	0,47	0,69	0,60	0,54	0,50
Gruppe 3	0,61	0,82	0,55	0,44	0,85	1,01	0,95	0,55
Gruppe 4	0,87	0,98	0,62	0,57	0,97	0,73	0,69	0,60
Gruppe 5	1,21	0,81	0,76	0,68	1,20	0,93	1,34	1,11
Gruppe 6	0,38	0,60	0,64	0,41	0,56	0,46	0,41	0,35
Gruppe 7	0,44	0,23	0,27	-----	0,69	0,40	0,41	0,35
Gruppe 8	0,51	0,37	0,48	0,37	0,71	0,78	0,49	0,50
Gruppe 9	0,60	0,56	0,60	0,42	1,02	0,86	0,62	0,47

Tabelle XXX: Zinkkonzentrationen in den Knochen in mg/kg TS

	Tier 1	Tier 2	Tier 3	Tier 4	Tier 5	Tier 6	Tier 7	Tier 8
Gruppe 0	141,6	155,1	215,9	221,2	239,6	312,4	146,2	166,9
Gruppe 1	76,0	114,2	122,2	65,5	38,8	31,6	44,9	29,6
Gruppe 2	126,6	131,9	119,4	110,3	97,6	158,0	88,3	84,0
Gruppe 3	131,0	193,7	185,5	105,2	133,1	122,3	138,6	105,9
Gruppe 4	87,2	113,3	108,1	93,9	82,0	70,8	105,1	72,1
Gruppe 5	112,2	128,4	179,6	110,9	89,1	115,2	148,6	81,8
Gruppe 6	104,2	119,3	135,4	132,6	98,0	88,4	88,9	89,2
Gruppe 7	158,7	266,8	143,8	-----	151,5	149,4	106,9	151,0
Gruppe 8	102,0	166,2	120,9	102,9	118,4	84,2	77,4	81,5
Gruppe 9	145,6	155,0	164,5	132,0	109,1	121,5	140,5	104,8

Tabelle XXXI: Zinkkonzentrationen in den Knochen in mg/kg FS

	Tier 1	Tier 2	Tier 3	Tier 4	Tier 5	Tier 6	Tier 7	Tier 8
Gruppe 0	83,0	98,7	127,4	128,4	154,0	175,9	92,3	97,6
Gruppe 1	47,8	69,6	70,8	46,7	24,7	22,3	28,9	21,7
Gruppe 2	80,5	81,4	82,6	68,0	64,0	94,4	53,4	61,9
Gruppe 3	72,4	121,3	113,6	65,9	87,1	86,6	93,4	81,4
Gruppe 4	58,9	70,5	74,0	63,5	53,6	47,9	67,5	48,4
Gruppe 5	85,2	84,0	106,1	72,2	65,9	72,9	105,3	56,6
Gruppe 6	70,8	68,4	95,0	100,6	66,5	58,0	63,0	58,0
Gruppe 7	108,9	177,6	91,9	-----	88,1	82,1	66,9	104,9
Gruppe 8	71,6	106,8	73,1	72,6	72,9	56,4	50,4	51,7
Gruppe 9	96,7	108,5	105,1	90,1	65,7	76,8	84,9	71,0

Tabelle XXXII: Calciumkonzentrationen in den Knochen in g/kg TS

	Tier 1	Tier 2	Tier 3	Tier 4	Tier 5	Tier 6	Tier 7	Tier 8
Gruppe 0	154,5	212,4	162,2	149,5	168,2	176,2	152,2	151,9
Gruppe 1	162,9	181,1	153,7	130,0	164,8	175,1	197,2	135,0
Gruppe 2	168,8	127,2	167,1	157,1	164,7	162,6	150,6	139,2
Gruppe 3	157,1	162,7	172,6	151,8	166,4	169,4	194,5	158,5
Gruppe 4	158,7	159,7	136,6	137,6	148,8	128,4	182,1	141,0
Gruppe 5	159,1	171,9	164,2	151,8	178,7	163,5	197,9	144,5
Gruppe 6	156,8	173,4	178,5	145,8	158,4	158,1	140,6	155,2
Gruppe 7	177,7	168,6	152,3	-----	180,1	184,5	187,9	172,7
Gruppe 8	192,6	200,7	166,3	149,1	177,8	162,1	146,1	156,6
Gruppe 9	203,0	188,2	158,4	164,0	162,7	180,1	183,0	169,7

Tabelle XXXIII: Calciumkonzentrationen in den Knochen in g/kg FS

	Tier 1	Tier 2	Tier 3	Tier 4	Tier 5	Tier 6	Tier 7	Tier 8
Gruppe 0	90,6	135,2	95,7	86,8	108,1	99,2	96,1	88,8
Gruppe 1	102,5	110,3	89,1	92,8	104,7	123,7	127,1	99,0
Gruppe 2	107,3	78,5	115,5	96,9	108,0	97,1	91,0	102,6
Gruppe 3	86,9	101,9	105,7	95,1	108,9	119,9	131,1	121,9
Gruppe 4	107,1	99,4	93,5	93,0	97,2	86,8	117,0	94,6
Gruppe 5	120,9	112,5	97,0	98,8	132,1	103,5	140,2	99,9
Gruppe 6	106,6	99,4	125,2	110,7	107,5	103,8	99,7	100,9
Gruppe 7	121,9	112,2	97,4	-----	104,7	101,4	117,6	120,0
Gruppe 8	135,2	129,0	100,6	105,1	109,5	108,5	95,1	99,4
Gruppe 9	134,9	131,7	101,2	111,9	98,0	113,8	110,6	115,0

Tabelle XXXIV: Phosphorkonzentrationen in den Knochen in g/kg TS

	Tier 1	Tier 2	Tier 3	Tier 4	Tier 5	Tier 6	Tier 7	Tier 8
Gruppe 0	75,4	99,7	81,5	73,4	81,6	87,3	73,1	79,7
Gruppe 1	77,6	85,6	72,3	61,9	78,4	88,9	91,3	66,0
Gruppe 2	74,4	56,0	80,5	76,7	75,5	76,0	76,7	69,0
Gruppe 3	77,7	79,9	83,3	71,3	83,2	86,0	91,1	73,3
Gruppe 4	75,3	75,1	66,6	66,9	67,4	61,1	87,3	67,4
Gruppe 5	78,1	82,1	76,4	73,0	88,0	78,7	93,7	71,7
Gruppe 6	74,1	76,1	85,1	66,0	70,7	68,9	61,9	69,0
Gruppe 7	82,4	77,3	67,1	-----	78,1	87,3	87,0	73,1
Gruppe 8	79,5	83,6	77,4	63,2	74,6	74,2	68,3	71,2
Gruppe 9	89,6	82,6	71,7	74,4	76,7	83,7	85,8	76,4

Tabelle XXXV: Phosphorkonzentrationen in den Knochen in g/kg FS

	Tier 1	Tier 2	Tier 3	Tier 4	Tier 5	Tier 6	Tier 7	Tier 8
Gruppe 0	44,2	63,4	48,1	42,6	52,5	49,2	46,1	46,6
Gruppe 1	48,8	52,1	41,9	44,2	49,8	62,8	58,9	48,4
Gruppe 2	47,3	34,6	55,7	47,3	49,5	45,4	46,4	50,9
Gruppe 3	43,0	50,0	51,0	44,7	54,5	60,9	61,4	56,4
Gruppe 4	50,8	46,7	45,6	45,2	44,0	41,3	56,1	45,2
Gruppe 5	59,3	53,7	45,2	47,5	65,0	55,5	66,4	49,6
Gruppe 6	50,4	43,6	59,7	50,1	48,0	45,2	43,9	44,9
Gruppe 7	56,5	51,4	42,9	-----	45,4	48,0	54,5	50,8
Gruppe 8	55,8	53,7	46,8	44,6	45,9	49,7	44,5	45,2
Gruppe 9	59,5	57,8	45,8	50,8	46,2	52,9	51,9	51,8

Tabelle XXXVI: Cadmiumkonzentrationen in den Muskeln in µg/kg TS

	Tier 1	Tier 2	Tier 3	Tier 4	Tier 5	Tier 6	Tier 7	Tier 8
Gruppe 0	9,31	9,14	4,23	7,53	7,14	11,9	2,79	6,29
Gruppe 1	4,12	7,33	9,51	8,96	11,5	4,12	6,39	3,70
Gruppe 2	7,91	7,77	8,74	10,9	12,9	11,1	11,8	10,3
Gruppe 3	8,07	6,26	7,73	14,7	11,2	14,0	8,08	13,8
Gruppe 4	8,32	4,53	6,57	5,42	8,83	7,64	7,04	8,48
Gruppe 5	8,19	8,66	7,86	5,90	11,6	10,7	9,97	9,67
Gruppe 6	6,21	5,95	6,86	6,47	13,2	16,9	9,71	12,8
Gruppe 7	5,68	4,40	5,74	-----	11,1	6,68	5,94	12,0
Gruppe 8	3,63	3,67	8,26	9,99	5,80	5,31	9,79	13,4
Gruppe 9	11,2	4,93	11,6	7,37	7,06	8,29	10,4	10,9

Tabelle XXXVII: Cadmiumkonzentrationen in den Muskeln in µg/kg FS

	Tier 1	Tier 2	Tier 3	Tier 4	Tier 5	Tier 6	Tier 7	Tier 8
Gruppe 0	1,73	1,79	0,82	1,49	1,42	2,49	0,53	1,15
Gruppe 1	0,90	1,54	1,96	2,01	2,39	0,90	1,41	0,80
Gruppe 2	1,72	1,56	1,90	2,39	2,72	2,28	2,74	2,20
Gruppe 3	1,76	1,33	1,67	3,30	2,30	3,01	1,76	3,00
Gruppe 4	1,70	0,93	1,46	1,16	1,90	1,65	1,55	1,84
Gruppe 5	1,78	1,83	1,65	1,24	2,48	2,29	2,19	2,13
Gruppe 6	1,34	1,27	1,54	1,43	2,82	3,74	2,17	2,79
Gruppe 7	1,18	0,96	1,23	-----	2,48	1,46	1,32	2,55
Gruppe 8	0,79	0,78	1,80	2,16	1,24	1,21	2,17	2,87
Gruppe 9	2,40	1,05	2,41	1,56	1,47	1,80	2,29	2,26

Tabelle XXXVIII: Bleikonzentrationen in den Muskeln in µg/kg TS

	Tier 1	Tier 2	Tier 3	Tier 4	Tier 5	Tier 6	Tier 7	Tier 8
Gruppe 0	133,7	46,8	40,6	150,2	14,0	29,1	7,42	17,0
Gruppe 1	6,17	30,9	32,1	22,7	24,1	18,3	30,0	22,6
Gruppe 2	50,7	27,7	74,5	19,6	30,5	23,5	25,7	9,30
Gruppe 3	153,0	67,5	16,9	40,2	18,7	18,2	25,3	27,0
Gruppe 4	18,9	44,1	27,2	36,2	49,3	25,3	40,1	24,6
Gruppe 5	39,2	47,6	33,9	34,9	62,6	47,4	43,8	31,4
Gruppe 6	48,1	33,8	48,2	37,2	61,9	23,4	52,5	38,8
Gruppe 7	32,6	31,6	23,5	-----	35,4	12,5	22,7	20,5
Gruppe 8	21,5	22,2	18,5	32,0	27,5	10,7	23,9	21,9
Gruppe 9	17,2	54,3	37,9	27,2	28,9	27,3	18,3	14,8

Tabelle XXXIX: Bleikonzentrationen in den Muskeln in µg/kg FS

	Tier 1	Tier 2	Tier 3	Tier 4	Tier 5	Tier 6	Tier 7	Tier 8
Gruppe 0	24,9	9,15	7,84	29,7	2,78	6,08	1,42	3,11
Gruppe 1	1,34	6,51	6,62	5,10	5,01	3,98	6,63	4,90
Gruppe 2	11,0	5,57	16,2	4,29	6,43	4,83	5,98	1,98
Gruppe 3	33,3	14,4	3,66	9,04	3,84	3,91	5,52	5,87
Gruppe 4	3,86	9,02	6,04	7,75	10,6	5,46	8,81	5,33
Gruppe 5	8,50	10,0	7,11	7,34	13,4	10,1	9,62	6,90
Gruppe 6	10,3	7,20	10,9	8,21	13,2	5,18	11,7	8,45
Gruppe 7	6,78	6,90	5,03	-----	7,92	2,74	5,05	4,36
Gruppe 8	4,67	4,69	4,02	6,91	5,86	2,43	5,29	4,69
Gruppe 9	3,68	11,5	7,86	5,77	6,03	5,92	4,02	3,07

Tabelle XL: Zinkkonzentrationen in den Muskeln in mg/kg TS

	Tier 1	Tier 2	Tier 3	Tier 4	Tier 5	Tier 6	Tier 7	Tier 8
Gruppe 0	133,8	112,1	128,5	112,2	142,6	139,8	126,2	131,2
Gruppe 1	162,1	153,5	105,0	132,9	154,0	144,7	127,1	147,5
Gruppe 2	156,8	137,1	143,5	151,5	187,0	159,1	164,8	146,1
Gruppe 3	135,4	162,7	147,4	129,0	198,4	156,5	130,3	139,8
Gruppe 4	142,6	164,3	130,9	141,3	166,4	166,3	155,3	154,7
Gruppe 5	159,6	156,3	145,2	158,3	179,9	159,7	152,0	153,9
Gruppe 6	172,6	153,2	163,9	152,5	166,9	148,9	153,8	131,3
Gruppe 7	161,4	138,6	153,8	-----	164,8	166,7	154,7	154,4
Gruppe 8	158,2	173,1	163,5	161,6	173,7	157,5	139,7	156,3
Gruppe 9	149,3	172,2	133,4	154,5	167,3	152,7	138,1	159,2

Tabelle XLI: Zinkkonzentrationen in den Muskeln in mg/kg FS

	Tier 1	Tier 2	Tier 3	Tier 4	Tier 5	Tier 6	Tier 7	Tier 8
Gruppe 0	24,9	21,9	24,8	22,2	28,3	29,2	24,1	24,0
Gruppe 1	35,3	32,3	21,7	29,9	32,0	31,5	28,1	32,0
Gruppe 2	34,1	27,6	31,3	33,2	39,4	32,7	38,3	31,2
Gruppe 3	29,5	34,7	31,9	29,0	40,7	33,6	28,4	30,4
Gruppe 4	29,1	33,6	29,1	30,3	35,9	35,9	34,1	33,5
Gruppe 5	34,6	33,0	30,4	33,3	38,4	34,1	33,4	33,8
Gruppe 6	37,1	32,6	36,9	33,7	35,7	33,0	34,3	28,6
Gruppe 7	33,6	30,3	32,9	-----	36,9	36,6	34,4	32,8
Gruppe 8	34,4	36,6	35,6	34,9	37,0	35,8	30,9	33,5
Gruppe 9	31,9	36,6	27,7	32,8	34,9	33,1	30,4	33,0

Ich möchte mich an dieser Stelle bei Herrn Prof. Dr. Dr. Dr. h.c. Drochner für die Überlassung des Themas, seine Anregungen und die stets gewährte Unterstützung bei der Anfertigung dieser Arbeit bedanken.

Herrn Prof. Dr. Schenkel gilt mein Dank für die Übernahme des Koreferats und seine wertvollen Hinweise bei analytischen Fragen und Problemen.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. Lantsch, der mir bei der Planung, Durchführung und Auswertung der Untersuchungen eine große Hilfe war.

Weiterhin möchte ich Frau Silke Roth und Frau Helga Ott für die gute Zusammenarbeit im Labor danken.

Danken möchte ich auch allen anderen Institutsangehörigen, die auf ihre Weise zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.