



Das Lebensministerium



Arsentransfer Futter - Schaf

Schriftenreihe des Landesamtes für Umwelt, Landwirtschaft und Geologie

Heft 14/2009

Freistaat  Sachsen

Landesamt für Umwelt, Landwirtschaft und Geologie

Untersuchungen zur Wirkung und zum Transfer von Arsen bei Schafen

Dr. Jeannette Boguhn, Ricarda Krüger, Dr. Olaf Steinhöfel, Prof. Dr. Markus Rodehutschord

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Untersuchungsschwerpunkte	2
3	Chemische Analysen	3
4	Mathematisch-statistische Auswertungen	5
5	<i>In vitro</i> Untersuchungen	5
5.1	Hohenheimer Futterwerttest	5
5.1.1	Material und Methoden	5
5.1.2	Ergebnisse	8
5.1.2.1	As-Zusatz über synthetische Verbindungen	8
5.1.2.2	As-Zusatz über kontaminierte Erde	11
5.1.2.3	Fazit.....	12
5.2	Pansensimulation	12
5.2.1	Material und Methoden	12
5.2.2	Ergebnisse	15
5.2.3	Fazit.....	18
6	Verdaulichkeitsuntersuchungen	18
6.1	Material und Methoden	18
6.2	Ergebnisse	20
6.2.1	As-Zusatz über kontaminierte Erde	20
6.2.2	As-Zusatz über di-Arsentrioxid in Konzentraten	23
6.3	Fazit.....	24
7	Studie mit Mutterschafen.....	25
7.1	Material und Methoden	25
7.2	Ergebnisse	28
7.2.1	Blutparameter	28
7.2.2	Mutterschafe.....	28
7.2.3	Lämmer	32
7.3	Fazit.....	33
8	Zusammenfassung und Schlussfolgerungen	34
9	Literaturverzeichnis	35
Anhang	38

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Kalkulierte und analysierte As-Konzentrationen (mg/kg T) in den Varianten der Dosis-Wirkungs-Studie	7
Tabelle 2: Chemische Zusammensetzung der drei Grasprodukte mit und ohne Zusatz von As-kontaminierter Erde sowie die analysierten As-Konzentrationen	7
Tabelle 3: Geschätztes Gasbildungspotenzial (<i>b</i>), maximale Gasbildungsrate und Zeitpunkt des Erreichens ($t_{\text{Wendepunkt}}$) beim Zusatz synthetischer As-Verbindungen (di-Arsentrioxid - AsIII und di-Natriumhydrogenarsenat Heptahydrat - AsV) in Zulagen von 0 (ohne), 2, 5, 10, 20 und 50 mg/kg T zu einer Grassilage (n = 8)	10
Tabelle 4: Geschätztes Gasbildungspotenzial (<i>b</i>), maximale Gasbildungsrate und Zeitpunkt des Erreichens ($t_{\text{Wendepunkt}}$) beim Zusatz einer As-haltigen Erde zu Grasprodukten (n = 8).....	12
Tabelle 5: Mittlerer Abbau der Rohnährstoffe nach 48-stündiger Inkubation und Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese beim Zusatz synthetischer As-Verbindungen (di-Arsentrioxid - AsIII und di-Natriumhydrogenarsenat Heptahydrat - AsV) in Höhe von 0 (ohne), 5 und 20 mg/kg T zu einer Grassilage (Mittelwerte und s, n = 3)	16
Tabelle 6: Aminosäurenkonzentrationen im Rohprotein der Referenzmikroben beim Zusatz synthetischer As-Verbindungen (di-Arsentrioxid - AsIII und di-Natriumhydrogenarsenat Heptahydrat - AsV) in Höhe von 0 (ohne), 5 und 20 mg/kg T zu einer Grassilage nach der Inkubation in einem Pansensimulations-System (g Aminosäure/100 g analysierte Aminosäuren, Mittelwerte und s, n = 3).....	17
Tabelle 7: Bilanzierung der mittleren As-Mengen beim Zusatz synthetischer As-Verbindungen (di-Arsentrioxid - AsIII und di-Natriumhydrogenarsenat Heptahydrat - AsV) in Höhe von 0 (ohne), 5 und 20 mg/kg T zu einer Grassilage bei der Inkubation in einem Pansensimulations-System (Angaben in $\mu\text{g}/\text{Tag}$, Mittelwerte und s, n = 3).....	17
Tabelle 8: Verdaulichkeit der Rohnährstoffe (n = 4, Mittelwerte und s) und aus den verdaulichen Rohnährstoffen abgeleitete umsetzbare Energie (ME) bei der Fütterung von Grasprodukten mit oder ohne eine As-kontaminierte Erde an Hammel	20
Tabelle 9: As-Aufnahmen und -Ausscheidungen bei der Fütterung von Grasprodukten mit oder ohne eine kontaminierte Erde an Hammel (mg/Tier und Tag).....	22
Tabelle 10: Verdaulichkeit der Rohnährstoffe (n = 4, Mittelwerte und s) und aus den verdaulichen Rohnährstoffen abgeleitete umsetzbare Energie (ME) bei der Fütterung einer Grundration und einem Konzentrat ohne oder mit di-Arsentrioxid an Hammel	23
Tabelle 11: As-Aufnahmen und As-Ausscheidungen bei der Fütterung einer Grundration und einem Konzentrat ohne oder mit di-Arsentrioxid an Hammel (mg/Tier und Tag).....	24
Tabelle 12: Mittlere, analysierte Rohnährstoffgehalte sowie kalkulierte As- und Energiegehalte in der Gesamtration in Abhängigkeit vom Status der Mutterschafe.....	27
Tabelle 13: Mittlere As-Konzentrationen im Blut der Mutterschafe zu den Terminen der Probennahme (Mittelwerte und s, $\mu\text{g}/\text{l}$)	29

Tabelle 14: Mittlere As-Konzentrationen in Geweben der Mutterschafe (n = 3, Mittelwerte und s)	31
Tabelle 15: Mittlere As-Konzentrationen in der Milch zu den Terminen der Probennahme (Mittelwert und s, µg/l).....	32
Tabelle 16: Mittlere As-Konzentrationen im Blut und in Geweben der Lämmer (n = 3, Mittelwerte und s)	32

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Flussdiagramm zum Aufschluss der gewonnenen Proben zur As-Analyse (modifiziert nach VDLUFA-Methode 2.1.3, BASSLER 2007).....	4
Abbildung 2:	Links Rotor mit Kolbenprobern im Inkubationsschrank;.....	6
Abbildung 3:	Kumulative Gasbildung (Mittelwerte und s) beim Zusatz synthetischer As-Verbindungen (di-Arsentrioxid - AsIII und di-Natriumhydrogenarsenat Heptahydrat - AsV) in Zulagen von 0 (ohne), 2, 5, 10, 20 und 50 mg/kg T zu einer Grassilage	9
Abbildung 4:	Kumulative Gasbildung (ml Gas/200 mg organische Substanz, Mittelwerte und s) für die geprüften Grasprodukte mit und ohne Zusatz As-kontaminierter Erde	11
Abbildung 5:	Schematische Darstellung eines Pansensimulations-Systems (modifiziert nach CZERKAWSKI und BRECKENRIDGE 1977).....	13
Abbildung 6:	Aufstallung der Mutterschafe in Einzelboxen.....	26
Abbildung 7:	Mittlere Konzentrationen der analysierten Blutparameter (Mittelwerte und Standardfehler) für die Mutterschafe zu den Terminen der Probennahme	29
Abbildung 8:	Mittlere As-Konzentrationen in Wolle und Horn der Mutterschafe der mit As supplementierten Gruppe zu den Terminen der Probennahme (Mittelwert und s, mg/kg T; u.N. unterhalb der Nachweisgrenze von 40 µg As je Liter Aufschlusslösung)	30

1 Einleitung

Arsen (As) ist ubiquitär in allen Lebewesen vorhanden. Es wurde als regelmäßiger Bestandteil in fast allen Organen nachgewiesen. Demgegenüber führen schon relativ niedrige As-Konzentrationen zu toxischen Effekten bei Menschen und Tieren. Für Menschen werden As-Konzentrationen zwischen 1 und 3 mg/kg Körpergewicht als letal eingeschätzt (HUGHES 2002), wobei jedoch große Unterschiede in der Toxizität einzelner As-Verbindungen bestehen.

Die Freisetzung größerer As-Mengen in die Umwelt erfolgt überwiegend durch Auswaschung aus Abraumhalden oder durch landwirtschaftliche Applikationen (Herbizide, Futterzusatzstoffe) und kann regional zu hohen As-Konzentrationen im Oberflächenwasser und den angrenzenden Auenböden führen (DUKER ET AL. 2005).

Die Problematik von so verursachten Schwermetallrückständen in Böden verschiedener Regionen Sachsens ist nicht neu (SCHWARZ et al. 1991). Die Belastung der Auenböden mit As in der sächsischen Mulde erreicht an einigen Standorten Werte, die weit über dem Maßnahmewert der Bundesverordnung für Bodenschutz von 50 mg/kg Boden liegen (HAßLER und KLOSE 2006). Der Transfer des As aus der Bodenlösung in die Wurzeln und nachfolgend auch in den Spross der Pflanzen wurde bereits mehrfach nachgewiesen (FITZ und WENZEL 2002). Dies führte bei einem Teil des Weideaufwuchses zu Überschreitungen des Grenzwertes für Futtermittel von 2 mg As/kg Futter (ermittelt wurden bis zu 9,6 mg As/kg Futter, HAßLER und KLOSE 2006).

Die As-Akkumulation in potenziellen Futterpflanzen, d.h. in überirdischen Pflanzenteilen erfolgt jedoch nur in geringem Maße, sodass eine Kontamination von Silagen und anderen Grasprodukten überwiegend auf Verschmutzungen während der Futterbergung zurückzuführen ist. Zudem nehmen weidende Tiere größere Mengen an Erde während des Grasens auf und können so mit As in Berührung kommen (FIELD 1964). Da sowohl die Weide als auch die gewonnenen Konservate in Rationen für Tiere zur Lebensmittelproduktion genutzt werden, ist es angebracht, diese Problematik aufzugreifen und weiterführend Fragen zu der Wirkung von As im tierischen Organismus und zu einer möglichen Akkumulation in Geweben und damit zum Eintrag in die Nahrungskette des Menschen zu betrachten.

Es ist allgemein anerkannt, dass anorganisches As toxischer ist als organische As-Verbindungen. Besonders in der Form von di-Arsentrioxid wird As sehr schnell und in beträchtlichem Umfang absorbiert (NRC 1980). FELDMANN et al. (2000) fanden 13 verschiedene As-Verbindungen in Blut und Harn bei Schafen aus der Region der Orkneyinseln (Nordschottland), die traditionell auf den dem Meer nahe gelegenen Seewiesen gehalten werden. Dies verdeutlicht die relativ große Anzahl an potenziell toxischen bzw. weniger toxischen As-Verbindungen.

Der Transfer in Gewebe und die Toxizität einzelner As-Verbindungen variiert zwischen den Tierarten (FROST et al. 1955). So ist von Rindern und Hunden eine Detoxifikation des As über Methylie-

rungen und Ausscheidungen mit dem Harn bekannt (LAKSO und PEOPLES 1975). Bislang besteht jedoch nur eine unzureichende Datenlage hinsichtlich der Ausscheidungen über Kot und Harn bei der Aufnahme von As durch landwirtschaftliche Nutztiere. Es blieb bislang unklar, ob die aufgenommene As-Menge vollständig mit Kot und Harn ausgeschieden wird (HANSEN et al. 2003). FELDMANN et al. (2000) zeigten, dass eine deutliche As-Anreicherung in Geweben von Schafen erfolgt, die ein Algemisch mit As-Konzentrationen zwischen 5 und 72 mg/kg erhielten. Untersuchungen mit Milchkühen (VREMAN et al. 1986) und Schafen (VAN DER VEEN und VREMAN 1986) bestätigen eine As-Anreicherung in Muskelgewebe, Leber und Niere bei der Applikation von di-Arsentrioxid über einen längeren Zeitraum. Untersuchungen mit Labortieren lassen dagegen vermuten, dass eine vollständige Exkretion des aufgenommenen As mit dem Harn möglich ist (ODANAKA et al. 1980). Darüber hinaus scheint die As-Abreicherung in den Geweben auf das Ausgangsniveau nach As-Depletion innerhalb kürzester Zeit (wenige Tage) zu erfolgen (CALVERT und SMITH 1980). Dies setzt eine schnelle und vollständige Ausscheidung voraus.

Weiterhin bestehen widersprüchliche Angaben darüber, ob es bei der Fütterung As-haltiger Rationen zu höheren As-Konzentration in der Milch laktierender Tiere kommt (CALVERT und SMITH 1980, VREMAN et al. 1986). Zur intrauterinen As-Übertragung auf den Fötus ist für landwirtschaftliche Nutztiere bisher nichts bekannt. Humanstudien deuten an, dass aufgenommenes As sowohl in der Plazenta als auch im Fötus akkumuliert werden kann (WILLHITE und FERM 1984).

Erste Untersuchungen weisen darauf hin, dass die mikrobielle Aktivität im Pansen durch As-Verbindungen inhibiert wird (SIERRA-ALVAREZ et al. 2004). Ob und in welchem Ausmaß sich diese Beobachtung auf die Verdaulichkeit der Rohnährstoffe im gesamten Verdauungstrakt auswirkt, blieb bislang ungeklärt.

2 Untersuchungsschwerpunkte

Auf der Basis der bisherigen Erkenntnisse zur Wirkung von As im tierischen Organismus wurden für das hier vorgestellte Gemeinschaftsprojekt der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg und der Sächsischen Landesanstalt für Landwirtschaft folgende Untersuchungsschwerpunkte formuliert:

- 1) Wird die mikrobielle Aktivität (Abbau der Rohnährstoffe, Höhe der mikrobiellen Proteinsynthese) durch den Zusatz von einer As-Verbindung beeinflusst?
- 2) Ab welchen Konzentrationen verschiedener As-Verbindungen ist von einer Beeinflussung der mikrobiellen Prozesse im Pansen auszugehen?
- 3) Gibt es Unterschiede zwischen dreiwertigen und fünfwertigen As-Verbindungen in der Wirkung auf die fermentativen Prozesse?
- 4) Sind die unter 1) und 2) hinterfragten Effekte auch relevant, wenn die As-Supplementierung über eine kontaminierte Erde erfolgt?
- 5) Wie hoch sind die As-Ausscheidungen mit dem Kot und dem Harn bei einer definierten As-Aufnahme über synthetische As-Verbindungen oder eine kontaminierte Erde? Muss von einer Akkumulation in Geweben ausgegangen werden?

- 6) Wie hoch ist die As-Akkumulation in einzelnen Geweben (Blut, Wolle, Horn, Leber, Niere, Muskel) von Mutterschafen bei einer kontinuierlichen und längerfristigen Gabe von As?
- 7) Erfolgt eine plazentale Übertragung des verabreichten As?
- 8) Mit welchen As-Konzentrationen in der Milch muss gerechnet werden?
- 9) Führt eine As-Applikation der Muttertiere zu Akkumulationen in den Geweben der Lämmer?

Die aus der hier vorgestellten Studie abgeleiteten Schlussfolgerungen sollen zukünftig verwendet werden, um Empfehlungen zum Umgang mit As-belastetem Futter und zur Vermeidung von As-Einträgen in die menschliche Nahrung abzuleiten.

3 Chemische Analysen

Die Analysen der Weender Rohnährstoffe in allen Proben wurden in Laboren des Institutes für Agrar- und Ernährungswissenschaften der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg nach den Vorschriften des VDLUFA (NAUMANN und BASSLER 1976) durchgeführt.

Die Analysen der As-Konzentrationen für die *in vitro* Studien und die Verdaulichkeitsuntersuchungen wurden im Labor der Sächsischen Landesanstalt für Landwirtschaft, Fachbereich Landwirtschaftliches Untersuchungswesen vorgenommen. Die Bearbeitung der Proben erfolgte dabei in Anlehnung an die Vorgaben von LEITERER et al. (1997) gemäß der VDLUFA-Methode 2.1.3 (BASSLER 2007) mittels Mikrowellen-gestützten Druckaufschlusses (Abbildung 1). Für die Messung der As-Konzentrationen in den Lösungen stand ein Q-ICP-MS (Quadropol - Inductively Coupled Plasma - Massenspektrometer, Elan 6000, Perkin Elmer, Waltham, USA) zur Verfügung. Die detaillierte Beschreibung der Messmethode kann der VDLUFA-Methode 2.2.2.5 (BASSLER 2003) entnommen werden.

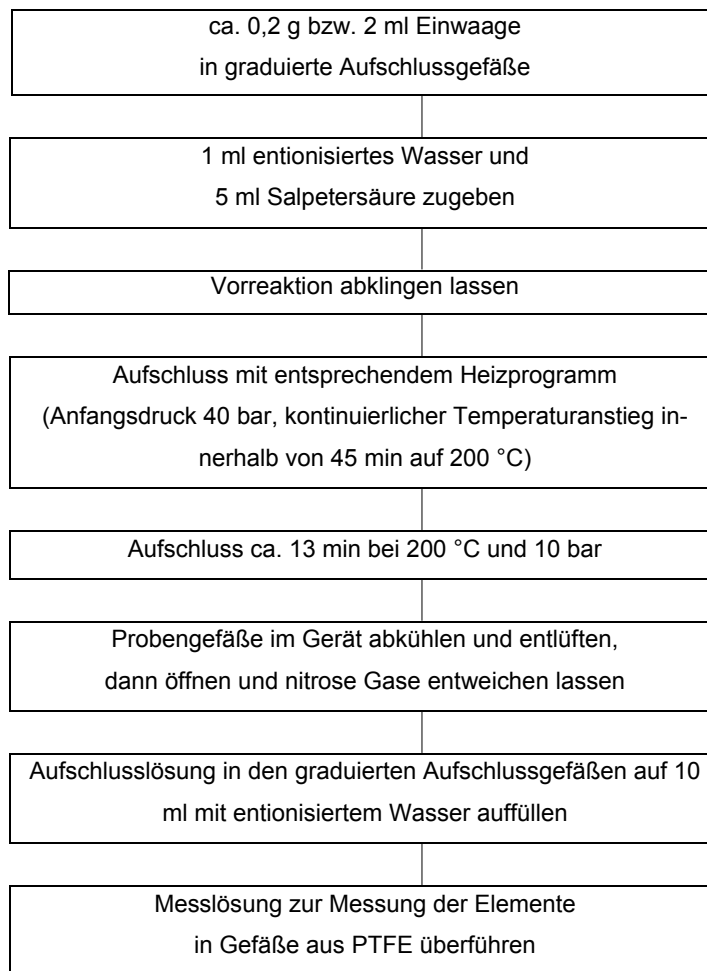


Abbildung 1: Flussdiagramm zum Aufschluss der gewonnenen Proben zur As-Analyse (modifiziert nach VDLUFA-Methode 2.1.3, BASSLER 2007)

Der Mikrowellen-gestützte Druckaufschluss aller Proben aus der Studie mit Mutterschafen erfolgte an der Landesanstalt für Landwirtschaftliche Chemie der Universität Hohenheim. Die Analyse mit Ausnahme der Plasma- und Milchproben wurde am institutseigenen ICP-OES (Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometer, HORIBA Jobin Yvon GmbH, München) unter Verwendung der Wellenlänge von 193,695 nm durchgeführt. Die Kalibrierung erfolgte mittels Verdünnungsreihe eines handelsüblichen As-Standards (0, 30, 60, 100, 150, 200 und 300 µg/l) und einer Blindprobe. Nach jeweils 10 Messungen wurde eine Rekalibrierung mit der Blindprobe und jeweils einer Verdünnungsstufe durchgeführt. Die maximal zugelassene Abweichung des Anstiegs bezüglich der Kalibrierung betrug hierbei 5 %.

Die Analysen der Plasma- und Milchproben erfolgten aufgrund der geringen As-Konzentrationen mittels Q-ICP-MS (Quadrupol - Inductively Coupled Plasma-Massenspektrometer, Elan 6000, Per-

kin Elmer, Sciex, Kanada) an der Landesanstalt für Landwirtschaftliche Chemie der Universität Hohenheim. Das Messprinzip entsprach den Vorgaben der VDLUFA, Methode 2.2.2.5 (BASSLER 2003). Die Kalibrierung des Gerätes erfolgte mittels Multielementstandard (VI, Merck, Darmstadt) und Rhodium (10 µg/l) als internen Standard (Merck, Darmstadt).

4 Mathematisch-statistische Auswertungen

Die statistische Auswertung aller Daten erfolgte mit dem Softwarepaket SAS für Windows (Version 9.1, 1999 – 2001, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) unter Verwendung der Prozedur *glm*. Signifikante Unterschiede wurden jeweils im Mittelwertvergleich mittels t-Test ab einem *P*-Wert von $\leq 0,05$ erkannt.

5 In vitro Untersuchungen

Für diese Untersuchungen mit nativem Pansensaft standen fünf Pansen-fistulierte Schafe (Rasse Schwarzköpfiges Fleischschaf) zur Verfügung, die im Nutztierwissenschaftlichen Zentrum der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg in Merbitz auf Tiefstreu gehalten wurden. Die Tiere erhielten täglich 200 g eines handelsüblichen Konzentrates ("Schäferstolz", Mischfutter und Landhandel GmbH, Edderitz/Pfaffendorf) einschließlich 10 g einer Mineralstoff- und Vitaminmischung. Daneben stand den Schafen Wiesenheu mittlerer Qualität und frisches Trinkwasser zur freien Aufnahme zur Verfügung.

5.1 Hohenheimer Futterwerttest

5.1.1 Material und Methoden

Die Methode zur Bestimmung der Gasbildung durch Inkubation eines zu untersuchenden Futters mit einem Gemisch aus nativem Pansensaft und einer Pufferlösung ist als Hohenheimer Futterwerttest (HFT) bekannt. Diese *in vitro* Methode diente ursprünglich der Schätzung der Energiekonzentration und der Verdaulichkeit der organischen Substanz eines Futtermittels. Zur Beurteilung des Futterwertes sind daneben jedoch auch Informationen über den zeitlichen Verlauf der Gasbildung und damit verbunden der Fermentation von Bedeutung (BEUVINK et al. 1992, KRISHNAMOORTHY et al. 1991).

In Abwandlung der von MENKE et al. (1979) beschriebenen Methode (siehe auch VDLUFA-Methode 25.1, NAUMANN und BASSLER 2004) betrug die Dauer der in dieser Studie durchgeführten Versuche 92 h, wobei nach 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 20, 24, 28, 32, 40, 48, 56, 68, 80 und 92 h die Gasbildung erfasst wurde. Die Korrektur der Werte der Gasbildung erfolgte anhand von drei Blindproben unter weiterer Berücksichtigung von jeweils drei Proben mit definierten Standards von Heu und Konzentratfutter.

Es wurden jeweils ca. 200 mg der lufttrockenen, auf 1 mm Siebdurchgang vermahlenden Futtersubstanz in die Kolbenprober eingewogen und mit 30 ml der Inkubationslösung versetzt. Die so vorbereiteten Kolbenprober wurde danach in einen auf konstant 39 °C temperierten Inkubationsschrank

verbracht (Abbildung 2). Für die kontinuierliche Durchmischung von Futtersubstanz und Inkubationslösung diente ein Rotor.

Je Variante wurden mindestens acht Kolbenprober bestückt. Der Pansensaft war zuvor jeweils von drei pansenfistulierten Schafen vor der Morgenfütterung gewonnen worden.



**Abbildung 2: Links Rotor mit Kolbenprobern im Inkubationsschrank;
Rechts einzelner Kolbenprober mit Pansensaft und Inkubationslösung**

In einer Dosis-Wirkungs-Studie wurden zwei verschiedene, synthetische As-Verbindungen (di-Arsentrioxid und di-Natriumhydrogenarsenat Heptahydrat) in jeweils fünf Zulagen (2, 5, 10, 20 und 50 mg As/kg Trockensubstanz) geprüft. Grundlage bildete hier eine Grassilage mit 218 g Rohprotein, 241 g Rohfaser und 40 g Rohfett je kg Trockensubstanz (T). Die jeweilige As-Verbindung wurde entsprechend der angestrebten As-Konzentration in destilliertem Wasser gelöst, einem Teil der eingewogenen Menge an Grassilage zugegeben und im Trockenschrank bei 65 °C getrocknet. Danach wurden beide Teilmengen der jeweiligen Variante wieder vereinigt. In den Gesamtproben konnten für das di-Arsentrioxid nicht die angestrebten As-Konzentrationen ermittelt werden (Tabelle 1). Eine deutliche Abstufung ist dagegen für das verwendete Natriumhydrogenarsenat zu erkennen.

Die beschriebenen 10 Varianten einschließlich der Grassilage ohne As-Zusatz wurden in zwei aufeinander folgenden Versuchsdurchgängen mit jeweils vier Wiederholungen pro Variante geprüft.

Der hohe Aschegehalt der Grassilage und die damit verbundenen Ausfälle einiger Kolbenprober verhinderte die Einbeziehung aller Daten in die Auswertung.

Tabelle 1: Kalkulierte und analysierte As-Konzentrationen (mg/kg T) in den Varianten der Dosis-Wirkungs-Studie

Zulage	di-Arsentrioxid	di-Natriumhydrogenarsenat
2	0,45	2,30
5	0,57	3,48
10	0,73	8,09
20	1,55	16,9
50	5,05	48,4

Da eine As-Akkumulation in potenziellen Futterpflanzen nur in geringem Maße erfolgt, ist eine Kontamination von Silagen und anderen Grasprodukten überwiegend auf Verschmutzungen während des Bergens zurückzuführen. Zudem nehmen weidende Tiere größere Mengen an Erde während des Grasens auf (THORNTON und ABRAHAMS 1983) und kommen auf diesem Wege mit dem Element in Berührung.

Ausgehend von diesen Überlegungen wurden in einem zweiten Versuch die in Tabelle 2 definierten Grasprodukte mit oder ohne Zusatz einer As-kontaminierten Erde in achtfacher Wiederholung inkubiert.

Tabelle 2: Chemische Zusammensetzung der drei Grasprodukte mit und ohne Zusatz von As-kontaminierter Erde sowie die analysierten As-Konzentrationen

Grasprodukt	Erde	T	Organische Substanz	Rohprotein	Rohfett	Rohfaser	As
		g/kg					
Grassilage	ohne	606	875	117	9,6	351	0,31
Grassilage	mit	586	795	115	10,6	299	17,8
Grünfutter	ohne	229	851	136	22,1	291	0,58
Grünfutter	mit	269	715	94	12,0	244	23,1
Heu	ohne	918	933	154	18,5	298	0,33
Heu	mit	901	896	136	15,0	284	4,2

Die zur Verfügung stehende Grassilage enthielt geringe Mengen an Luzerne und wurde auf dem Versuchsfeld des Institutes für Agrar- und Ernährungswissenschaften der Universität in Rundballen siliert. Das Grünfutter stammte von einem extensiven Grünland, das vor dem hier genutzten 2. Schnitt von Rindern beweidet worden war. Das Heu wurde in einem brandenburgischen Landwirtschaftsbetrieb Ende Mai 2005 (1. Schnitt) von intensiv geführtem Grünland im Stadium Anfang Blüte geborgen.

Die verwendete Erde stammt aus dem Überschwemmungsgebiet der Mulde im Freistaat Sachsen (analysierter As-Gehalt = 175 mg/kg).

Der hohe Aschegehalt bei der Zulage von Erde führte auch hier häufig zu Undichtheiten der Kolbenprober, sodass nicht in jedem Fall acht Wiederholungen pro Variante in die Auswertung einbezogen werden konnten.

Die Schätzung der Parameter und die grafische Darstellung der kumulativen Gasbildung erfolgte mit der Software GraphPad Prism 4 für Windows unter Nutzung folgender modifizierter Gompertz-Funktion (BEUVINK und KOGUT 1993):

$$y = b * \exp \frac{\mu_{0r} * \exp(-D_r * t)}{D_r} - \frac{\mu_{0s} * \exp(-D_s * t)}{D_s} \quad (1)$$

- b = Gasbildungspotenzial
- μ_{0r} = Gasbildungsrate für schnell fermentierbares Substrat je h
- D_r = Zerfallskonstante für schnell fermentierbares Substrat
- μ_{0s} = Gasbildungsrate für langsam fermentierbares Substrat je h
- D_s = Zerfallskonstante für langsam fermentierbares Substrat
- t = Zeit nach Beginn der Inkubation in h.

Neben der hier relevanten Bestimmung des Gasbildungspotenzials (b , Plateau) der eingesetzten Futtermittel ist dieses Modell ebenfalls für die Schätzung der schnell und langsam fermentierbaren Bestandteile zum Zeitpunkt t geeignet. Mit der ersten Ableitung der Funktion kann die maximale Gasbildungsrate am Wendepunkt der Funktion ($t_{Wendepunkt}$) berechnet werden. Notwendige Bedingung ist, dass die zweite Ableitung null ist.

Die statistische Auswertung der geschätzten Werte des Gasbildungspotenzials folgte den Angaben von HORN und ERDMANN (1978). Signifikante Unterschiede sind danach durch ein Nicht-Überschneiden der jeweiligen Konfidenzintervalle gekennzeichnet ($P < 0,025$).

5.1.2 Ergebnisse

5.1.2.1 As-Zusatz über synthetische Verbindungen

Der Verlauf der Gasbildung beim Zusatz von As-Verbindungen unterschiedlicher Wertigkeit (di-Arsentrioxid oder di-Natriumhydrogenarsenat Heptahydrat) zu einer Grassilage war unabhängig von der Höhe der As-Konzentration (Abbildung 3).

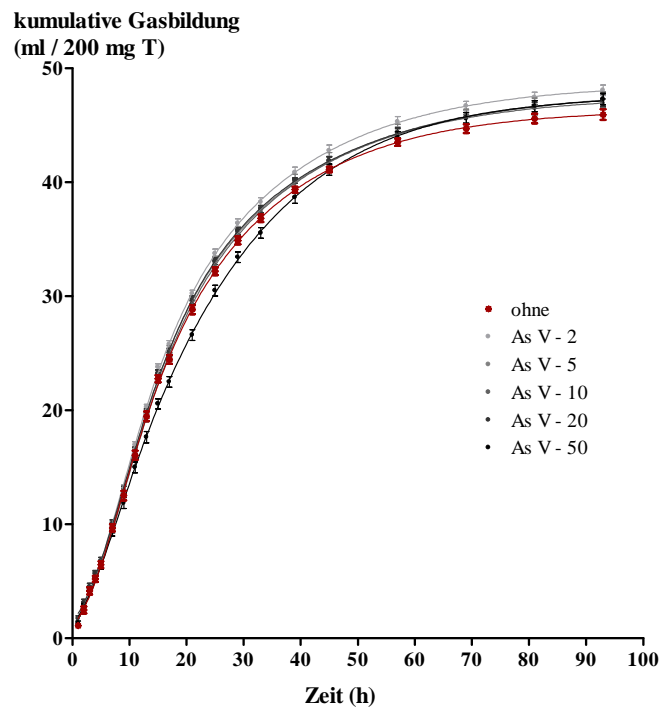
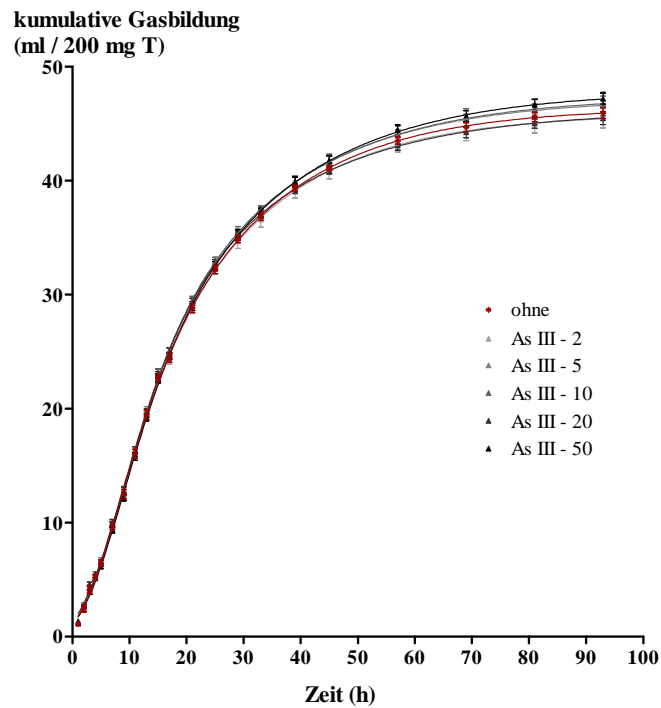


Abbildung 3: Kumulative Gasbildung (Mittelwerte und s) beim Zusatz synthetischer As-Verbindungen (di-Arsentrioxid - AsIII und di-Natriumhydrogenarsenat Heptahydrat - AsV) in Zulagen von 0 (ohne), 2, 5, 10, 20 und 50 mg/kg T zu einer Grassilage

As in der dreiwertigen Form wird als toxischer für Mikroorganismen des Pansens angesehen (FORSBERG 1978). Der Zusatz von dreiwertigem As zu Reinkulturen methanogener Mikroben hatte ab einer Konzentration von 50 µmol/l zu einer deutlichen Reduktion der mikrobiellen Aktivität geführt (SIERRA-ALVAREZ et al. 2004). Die Abweichungen der kalkulierten von den analysierten As-Gehalten für di-Arsentrioxid in der Grassilage lässt jedoch für diese Untersuchung keine Aussage der Wirkung für diese Bindungsform zu (Tabelle 1).

Eine klare Abstufung der As-Konzentration war in der vorliegenden Untersuchung für das verwendete Natriumhydrogenarsenat zu erkennen gewesen. Bis zu einer As-Konzentration von 50 mg/kg T scheint jedoch keine Beeinträchtigung der Gasbildung zu bestehen. Eine Studie von FORSBERG (1978) hatte dagegen gezeigt, dass bereits As-Konzentrationen von 5 mg/l (entspricht ca. 0,5 mg AsIII je kg inkubiertes Substrat) zu einer Reduktion der Gasmenge innerhalb von 3 h von bis zu 30 % führt.

Die geschätzten Gasbildungspotenziale unterschieden sich nicht zwischen der Kontrollvariante (ohne) und den Varianten mit Zulage einer As-Verbindung und lagen zwischen 46 und 49 ml/200 mg T (Tabelle 3). Mit Ausnahme der Variante mit 50 mg di-Natriumhydrogenarsenat Heptahydrat lagen die maximalen Gasbildungsraten zwischen 1,7 und 1,8 ml/h und wurden unabhängig von der Variante nach 7,4 bis 7,9 h nach Inkubationsbeginn erreicht. Beim Zusatz von 50 mg di-Natriumhydrogenarsenat Heptahydrat wurde eine maximale Gasbildungsrate von 1,5 ml/h kalkuliert, die bereits nach 7,1 h erreicht wurde.

Tabelle 3: Geschätztes Gasbildungspotenzial (b), maximale Gasbildungsrate und Zeitpunkt des Erreichens ($t_{\text{Wendepunkt}}$) beim Zusatz synthetischer As-Verbindungen (di-Arsentrioxid - AsIII und di-Natriumhydrogenarsenat Heptahydrat - AsV) in Zulagen von 0 (ohne), 2, 5, 10, 20 und 50 mg/kg T zu einer Grassilage (n = 8)

Variante	b ml / 200 mg T	maximale Gasbildungsrate ml/h	$t_{\text{Wendepunkt}}$ h
ohne	46,4	1,7	7,4
2 mg AsIII ¹	45,9	1,7	7,5
5 mg AsIII ²	47,2	1,7	7,6
10 mg AsIII ²	47,4	1,7	7,6
20 mg AsIII ³	46,2	1,7	7,8
50 mg AsIII	47,9	1,7	7,9
2 mg AsV	48,7	1,8	7,5
5 mg AsV ²	48,0	1,7	7,7
10 mg AsV	47,6	1,7	7,9
20 mg AsV	48,0	1,7	7,9
50 mg AsV	47,7	1,5	7,1

¹n = 6; ²n = 7; ³n = 5

5.1.2.2 As-Zusatz über kontaminierte Erde

Die gebildete Gasmenge wird üblicherweise in ml Gas/200 mg T angegeben, um den Wert eines Futtermittels einzuschätzen und die Energiekonzentration zu kalkulieren. Da im vorliegenden Fall jedoch der Einfluss einer As-Zulage aus einer Erde auf die Fermentation beurteilt werden sollte, bietet sich der Vergleich der Gasbildung zwischen den Varianten in ml Gas/200 mg organische Substanz an, um die niedrigeren Nährstoffgehalte im Fall der Erdezulage zu berücksichtigen.

Mit Ausnahme des Grünfutters waren keine Differenzen beim Bezug der Gasbildung auf die Menge der inkubierten organischen Substanz zwischen den Varianten mit oder ohne As-haltiger Erde erkennbar (Abbildung 4).

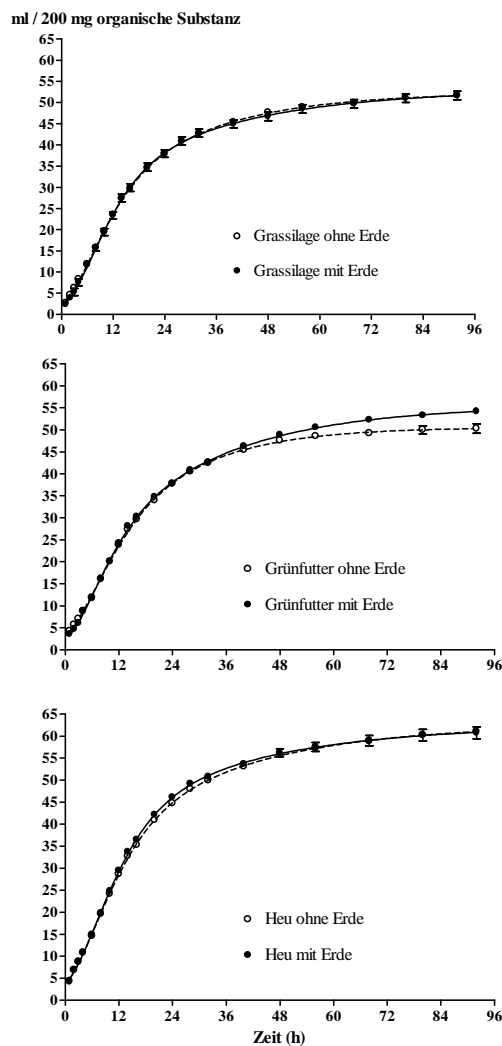


Abbildung 4: Kumulative Gasbildung (ml Gas/200 mg organische Substanz, Mittelwerte und s) für die geprüften Grasprodukte mit und ohne Zusatz As-kontaminierter Erde

Weder für die Grassilage noch für das Heu konnten Unterschiede in der Dynamik der Gasbildung zwischen den Fütterungsvarianten ausgemacht werden (Tabelle 4). Das geschätzte Gasbildungspotenzial lag bei 52 bzw. 53 ml/200 mg organische Substanz für die Grassilage sowie bei 62 bzw. 63 ml/200 mg organische Substanz für das Heu. Das Grünfutter ohne Erde wies im Vergleich zur supplementierten Variante ein niedrigeres Gasbildungspotenzial auf ($b = 51$ vs. 55 ml/200 mg organische Substanz).

Die Differenzen in der Höhe und dem Zeitpunkt des Erreichens der maximalen Gasbildung zwischen den Varianten mit oder ohne Zusatz von As-kontaminierter Erde betragen für die hier verwendeten Grasprodukte maximal 0,2 ml/h bzw. 0,3 h (Tabelle 4).

Tabelle 4: Geschätztes Gasbildungspotenzial (b), maximale Gasbildungsrate und Zeitpunkt des Erreichens ($t_{\text{Wendepunkt}}$) beim Zusatz einer As-haltigen Erde zu Grasprodukten ($n = 8$)

Futtermittel	Erde	b	maximale Gasbildungsrate	$t_{\text{Wendepunkt}}$
		ml/200 mg organische Substanz	ml/h	h
Grassilage ¹	ohne	52	2,1	7,3
Grassilage ¹	mit	53	2,2	7,6
Grünfutter	ohne	51 ^a	1,9	7,1
Grünfutter ²	mit	55 ^b	2,1	6,8
Heu	ohne	63	2,4	7,0
Heu	mit	62	2,5	7,2

¹ $n = 6$; ² $n = 5$

^{a,b} kennzeichnen signifikante Unterschiede innerhalb eines Grasproduktes zwischen den Varianten ohne und mit Erde laut HORN und ERDMANN (1978) ($P < 0,025$)

5.1.2.3 Fazit

Es bleibt festzuhalten, dass mit Ausnahme des Grünfutters weder der Zusatz einer synthetischen As-Verbindung bis zu einer Konzentration von 50 mg/kg T noch die Beimischung einer As-haltigen Erde (maximale Konzentration in der Mischung: 23 mg As/kg T) zu einer signifikanten Beeinträchtigung des Gasbildungspotenzials und des Verlaufes der Gasbildung bei der Inkubation von Grasprodukten mit nativem Pansensaft geführt hat.

5.2 Pansensimulation

5.2.1 Material und Methoden

Zur Bestimmung des ruminalen Abbaus der Rohnährstoffe und der mikrobiellen Syntheseleistung bei Zusatz verschiedener As-Verbindungen in unterschiedlichen Konzentrationen zu einer Grassilage wurde ein semi-kontinuierliches Pansensimulations-System genutzt (Abbildung 5, CZERKAWSKI und BRECKENRIDGE 1977). Aufbauend auf der Dosis-Wirkungsstudie zur Dynamik der Gasbildung

wurde eine Grassilage (218 g Rohprotein, 241 g Rohfaser und 40 g Rohfett je kg T) ohne und mit Zusatz von jeweils 5 oder 20 mg As je kg T in Form von di-Arsentrioxid und di-Natriumhydrogenarsenat Heptahydrat geprüft.

Für diese Untersuchung wurden fünf Fermenter mit einem Fassungsvermögen von jeweils 800 ml genutzt, die sich in einem auf 39 °C temperiertem Wasserbad befanden. Die perforierten Innenbehälter, in denen die Futterbeutel platziert wurden, waren über ein Gestänge mit einem Elektromotor verbunden. Mit einer Frequenz von 10-12 Hüben pro Minute konnte die Pansenmotorik simuliert werden.

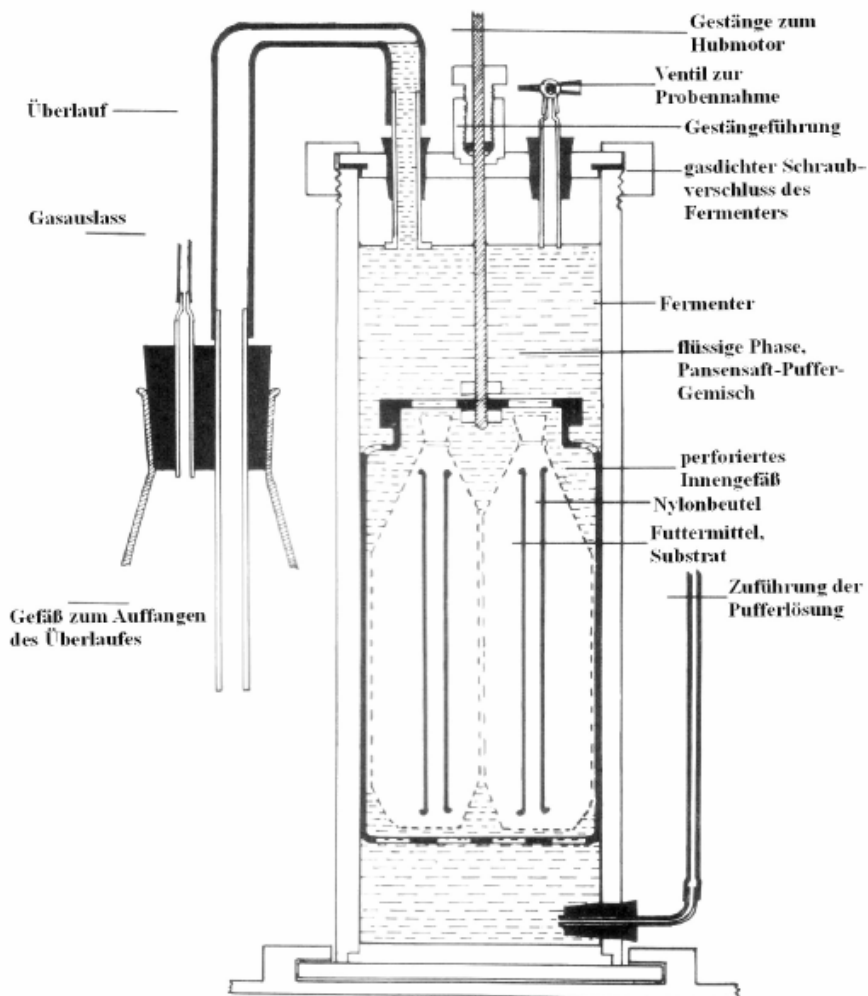


Abbildung 5: Schematische Darstellung eines Pansensimulations-Systems (modifiziert nach CZERKAWSKI und BRECKENRIDGE 1977)

Die Futterbeutel aus Nylon mit einer Porengröße von 100 µm enthielten jeweils 15 g der luftgetrockneten, auf 1 mm Siebdurchgang vermahlenden Grassilage. Die entsprechende Menge der jeweiligen As-Verbindung wurde separat pro Futterbeutel eingewogen, um die angestrebte As-

Konzentration sicherzustellen. Es wurden zeitgleich jeweils zwei Futterbeutel pro Fermenter inkubiert, wobei täglich ein Futterbeutel durch einen neuen ersetzt wurde. Jeder Futterbeutel verblieb somit 48 h im System. Die entnommenen Futterbeutel wurden jeweils in 2 x 35 ml der verwendeten Pufferlösung gespült, bei 65 °C innerhalb von 24 h getrocknet und nach dem Abkühlen zurück gewogen. Die Spülflüssigkeit wurde in den jeweiligen Fermenter zurückgegeben.

Zum Start der Inkubation wurden sowohl Pansensaft als auch Teile der festen Phase von fünf pansenfistulierten Schafen vor der Morgenfütterung gewonnen. Die Zuführung der Pufferlösung (McDOUGALL 1948) erfolgte kontinuierlich mit einer Dosierpumpe in einem Volumen von ca. 600 ml pro Fermenter und Tag. Zur Markierung des Pools von Ammonium-N wurde der Pufferlösung mit ¹⁵N angereichertes Ammoniumchlorid in einer Dosierung von 0,7 mmol NH₃N je Liter zugesetzt. Der anfallende Überlauf aus den Fermentern wurde in Glasgefäßen aufgefangen, die in einem eiskalten Wasserbad standen, um die mikrobielle Aktivität zu unterbinden.

320 ml des Überlaufes wurden nach den Vorgaben von BRANDT UND ROHR (1981) zentrifugiert, um die so genannten Referenzmikroben zu gewinnen. Nach einer zweimaligen Vorzentrifugation bei 2000 g für 5 min bei 4 °C zur Abtrennung von feinen Futterpartikeln und Protozoen folgte die Hauptzentrifugation bei 27 000 g für 15 min bei 4 °C. Dieser Zentrifugationsschritt wurde insgesamt dreimal vorgenommen, der Überstand verworfen und das entstehende Mikropellet mit NaCl-Lösung (0,9 %ig) gespült. Nach der letzten Hauptzentrifugation wurden die Mikropellets bei -18 °C bis zur Gefriertrocknung und Vermahlung gelagert.

In den drei durchgeführten Teilversuchen wurde jeweils ein Fermenter pro Variante geprüft, sodass insgesamt drei Wiederholungen zur Auswertung kamen. Einer 7-tägigen Anpassungsphase folgte jeweils eine 7-tägige Sammelperiode. Die Proben des Futterrestes, des Überlaufes nach der ersten Hauptzentrifugation und der Referenzmikroben wurden von Tag 7 bis 14 gesammelt und pro Fermenter gepoolt analysiert. Folgende Analysen wurden im institutseigenen Labor durchgeführt:

Futter	Weender Rohrnährstoffe, ¹⁵ N
Futterrest	Weender Rohrnährstoffe, ¹⁵ N
Referenzmikroben	N, ¹⁵ N
Überlauf	N, ¹⁵ N
NH ₄ Cl	¹⁵ N

Die N-Konzentrationen in den Referenzmikroben und den Überläufen sowie die ¹⁵N-Gehalte in allen Proben wurden mit einem Elementaranalysator (EuroVector, HEKAtech GmbH, Wegberg) bestimmt, der mit einem Isotopen-Massenspektrometer (Delta V Advantage, ThermoScientific GmbH, Bremen) gekoppelt war.

Der Abbau der Rohnährstoffe wurde aus der Differenz zwischen der täglich mit dem Futter zugeführten Nährstoffmenge und der mit dem Futterrest entnommenen Nährstoffmenge in Relation zur zugeführten Nährstoffmenge pro Fermenter berechnet. Die am Futterrest anhaftenden Mikroben blieben unberücksichtigt.

Die mikrobielle Proteinsynthese wurde kalkuliert nach:

$$MXP = \frac{{}^{15}N_{in} - {}^{15}N_{out}}{{}^{15}N_{Plateau}} \times 6,25 \quad (2)$$

- MXP = Menge mikrobielles Rohprotein in g pro Tag
 ${}^{15}N_{in}$ = ${}^{15}N$ - Eintrag mit der Pufferlösung in μg pro Tag
 ${}^{15}N_{out}$ = ${}^{15}N$ -Austrag mit dem Futterrest und dem Überlauf (ohne Referenzmikroben) in μg pro Tag
 ${}^{15}N_{Plateau}$ = mittlere ${}^{15}N$ -Anreicherung in den Referenzmikroben gewonnen an den Tagen 7 - 14 nach Infusionsbeginn in $\mu\text{g } {}^{15}N$ je mg N
 6,25 = Umrechnungsfaktor von N zu Rohprotein.

Die Darstellung der Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese erfolgte als g mikrobielles Rohprotein je kg abgebaute organische Substanz.

5.2.2 Ergebnisse

Der mittlere Abbau der organischen Substanz im Pansensimulations-System lag für alle fünf geprüften Varianten in einem Bereich zwischen 40 bis 44 % (Tabelle 5). Signifikante Unterschiede ergaben sich zwischen den Varianten mit jeweils 20 mg As je kg T der 3- und 5-wertigen As-Form (di-Arsentrioxid und di-Natriumhydrogenarsenat Heptahydrat).

Für den Abbau des Rohproteins und der Rohfaser wurden Werte zwischen 49 und 53 % bzw. 16 und 25 % ermittelt. Es bestanden keine signifikanten Unterschiede zwischen den geprüften Varianten. Es ist zu beachten, dass die Nichtberücksichtigung der an den Futterresten anhaftenden Mikroben zu einer Unterschätzung insbesondere des Abbaus des Rohproteins führt.

Die berechnete Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese lag in einem sehr hohen Bereich zwischen 330 und 356 g mikrobielles Rohprotein je kg abgebaute organische Substanz¹. Es bestanden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Varianten ohne und mit Zulage von di-Arsentrioxid oder di-Natriumhydrogenarsenat Heptahydrat.

¹ Die hohen Werte für die Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese sind auf die hohen Rohproteingehalte in der Grassilage (22 %), die geringen N-Mengen im Überlauf und daraus resultierenden hohen N-Einbau in die Mikroben bei gleichzeitig sehr geringem Abbau der organischen Substanz zurückzuführen.

Tabelle 5: Mittlerer Abbau der Rohnährstoffe nach 48-stündiger Inkubation und Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese beim Zusatz synthetischer As-Verbindungen (di-Arsentrioxid - AsIII und di-Natriumhydrogenarsenat Heptahydrat - AsV) in Höhe von 0 (ohne), 5 und 20 mg/kg T zu einer Grassilage (Mittelwerte und s, n = 3)

Variante		Organische Substanz %	Rohprotein %	Rohfaser %	Effizienz ¹ g/kg
ohne	MW	40,9 ^{ab}	49,9	20,5	355
	s	4,1	4,5	6,4	31
5 mg AsIII	MW	40,1 ^{ab}	49,4	16,0	356
	s	2,3	3,9	8,6	21
20 mg AsIII	MW	39,5 ^a	49,0	16,7	353
	s	1,8	4,0	5,8	5
5 mg AsV	MW	40,9 ^{ab}	49,6	20,9	330
	s	1,8	4,5	4,2	17
20 mg AsV	MW	44,2 ^b	52,8	25,1	331
	s	1,5	3,2	3,0	14

¹ g mikrobielles Rohprotein je kg abgebaute organische Substanz

^{a,b} Unterschiedliche Hochbuchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Varianten laut t-Test (P < 0,05)

Ebenso zeigten sich mit Ausnahme von Prolin keine Unterschiede im Muster der Aminosäuren des mikrobiellen Proteins beim Zusatz von di-Arsentrioxid oder di-Natriumhydrogenarsenat Heptahydrat (Tabelle 6).

Die Bilanzierung der As-Mengen im Pansensimulations-System zeigte, dass nicht die gesamte Menge des zugeführten As in den Futterresten bzw. den Überläufen wieder gefunden wurde (Tabelle 7). Es muss davon ausgegangen werden, dass ein Teil dieses As in die Mikroben eingebaut wurde. Aufgrund der sehr geringen Probenmengen schloss sich jedoch eine As-Analyse der gewonnenen Mikroben aus. Zum anderen können auch gasförmige Verluste aufgetreten sein, die mit dieser Methode nicht erfasst wurden.

Nicht zuletzt sei darauf verwiesen, dass die geringen Einwaagehöhen ein erhöhtes Fehlerpotenzial bei der Bilanzierung der tatsächlichen As-Mengen bedingten.

Tabelle 6: Aminosäurenkonzentrationen im Rohprotein der Referenzmikroben beim Zusatz synthetischer As-Verbindungen (di-Arsentrioxid - AsIII und di-Natriumhydrogenarsenat Heptahydrat - AsV) in Höhe von 0 (ohne), 5 und 20 mg/kg T zu einer Grassilage nach der Inkubation in einem Pansensimulations-System (g Aminosäure/100 g analysierte Aminosäuren, Mittelwerte und s, n = 3)

	ohne		5 mg AsIII		20 mg AsIII		5 mg AsV		20 mg AsV	
	MW	s	MW	s	MW	s	MW	s	MW	s
Alanin	10,2	0,17	10,2	0,23	10,2	0,12	10,3	0,09	10,3	0,05
Arginin	13,6	0,78	13,8	0,85	13,7	0,82	14,3	0,91	13,8	1,30
Asparaginsäure	9,6	0,18	9,5	0,23	9,6	0,09	9,4	0,20	9,5	0,30
Cystin	1,0	0,12	1,0	0,16	1,0	0,14	0,9	0,13	1,0	0,14
Glutaminsäure	9,9	0,13	9,9	0,27	9,8	0,30	9,7	0,24	9,7	0,25
Glycin	8,4	0,09	8,4	0,12	8,3	0,06	8,5	0,12	8,4	0,05
Isoleucin	4,7	0,20	4,7	0,19	4,7	0,13	4,6	0,18	4,7	0,20
Leucin	6,8	0,27	6,7	0,22	6,8	0,23	6,9	0,22	6,9	0,14
Lysin	10,9	0,64	10,9	0,54	10,9	0,48	10,6	0,56	10,9	0,52
Methionin	2,1	0,08	2,1	0,10	2,1	0,09	2,0	0,10	2,1	0,09
Phenylalanin	3,2	0,02	3,2	0,01	3,2	0,03	3,2	0,03	3,2	0,05
Prolin	4,1 ^a	0,14	4,4 ^b	0,06	4,3 ^{ab}	0,17	4,2 ^{ab}	0,12	4,3 ^{ab}	0,11
Serin	4,2	0,06	4,2	0,03	4,2	0,01	4,2	0,06	4,2	0,04
Threonin	5,2	0,03	5,2	0,03	5,2	0,05	5,1	0,02	5,2	0,03
Valin	6,1	0,14	6,0	0,15	6,0	0,13	6,1	0,09	6,1	0,07

^{a,b} Unterschiedliche Hochbuchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Varianten laut t-Test (P < 0,05)

Tabelle 7: Bilanzierung der mittleren As-Mengen beim Zusatz synthetischer As-Verbindungen (di-Arsentrioxid - AsIII und di-Natriumhydrogenarsenat Heptahydrat - AsV) in Höhe von 0 (ohne), 5 und 20 mg/kg T zu einer Grassilage bei der Inkubation in einem Pansensimulations-System (Angaben in µg/Tag, Mittelwerte und s, n = 3)

Variante	Input ¹	Output ²		Differenz
		MW	s	
ohne	7,5	6,0	0,9	1,5
5 mg AsIII	75,9	34,3	4,1	41,6
20 mg AsIII	281,0	172,4	2,8	108,6
5 mg AsV	75,9	40,0	10,5	35,9
20 mg AsV	281,0	205,7	7,5	75,3

¹ As-Mengen aus der Grassilage und den synthetisch zugesetzten As-Verbindungen

² As-Mengen aus den Futterresten nach Inkubation und den Überläufen

5.2.3 Fazit

In Bestätigung der Versuche zur Höhe und Dynamik der Gasbildung wurden auch unter den standardisierten Bedingungen einer Pansensimulation keine Beeinträchtigungen der mikrobiellen Syntheseleistung im Pansen durch As-Konzentrationen bis zu 20 mg/kg T nachgewiesen. Sowohl der Abbau der Rohnährstoffe als auch die mikrobiell gebildete Proteinmenge und deren Aminosäuremuster mit Ausnahme von Prolin waren zur Kontrollvariante ohne As-Supplementierung nicht verschieden.

6 Verdaulichkeitsuntersuchungen

6.1 Material und Methoden

Zur Quantifizierung der As-Ausscheidungen mit Kot und Harn sowie zur Ermittlung der Verdaulichkeit der Rohnährstoffe und Ableitung der Energiekonzentration in verschiedenen Grasprodukten mit und ohne Zusatz As-kontaminierter Erde aus dem Überschwemmungsgebiet der Mulde im Freistaat Sachsen wurden standardisierte Verdaulichkeitsbestimmungen nach den Vorgaben des AfBN (1991) im Nutztierwissenschaftlichen Zentrum der Universität Halle-Wittenberg in Merbitz durchgeführt. Dazu standen acht Hammel (Rasse Rauwolliges Pommersches Landschaf) zur Verfügung. Jeweils vier Tiere erhielten Grassilage, Grünfutter oder Heu in Höhe des kalkulierten Erhaltungsbedarfes an umsetzbarer Energie mit oder ohne Zusatz As-kontaminierter Erde. Die zu prüfenden Futtermittel waren identisch mit denen im *in vitro* Versuch genutzten Chargen (Tabelle 2) und wurden jeweils vor dem Versuchsdurchgang in Höhe der halben täglichen Futtermenge pro Tier (800 g Grassilage, 1 250 g Grünfutter bzw. 400 g Heu) in Folienbeutel eingewogen und bei -18 °C, im Fall des Heus bei Zimmertemperatur, gelagert. Bei der Einwaage erfolgte jeweils die Entnahme einer repräsentativen Probe zur Analyse.

Die Futtervorlage erfolgte jeweils um 07:00 und 14:00 Uhr, wobei zuvor für die vier Tiere der Variante mit As-kontaminierter Erde 10 % der kalkulierten Futtertrockenmasse an Erde zugesetzt wurde (40, 30 bzw. 35 g Erde pro Tier und Mahlzeit für Grassilage, Grünfutter und Heu). Diese Vorgehensweise folgte dem Ziel, den Aschegehalt von angenommenen 10 % auf 20 % in der T anzuheben und As-Gehalte von ca. 17 mg/kg T einzustellen. Dabei war es erforderlich, das jeweilige Futter und die zugesetzte Erde anzufeuchten, um eine Bindung zwischen Futtermittel und Erde zu erreichen und somit ein Entmischen und Sortieren durch die Tiere zu erschweren. Trotzdem konnte es nicht vermieden werden, dass insbesondere bei der Grassilage und dem Heu größere Mengen der zugesetzten Erde nicht von den Schafen aufgenommen wurden.

Alle Tiere erhielten bei der morgendlichen Fütterung 10 g einer Mineralstoffmischung für Schafe und hatten ständig Zugang zu frischem Wasser.

Die Phase zur Anpassung an die zu prüfende Ration betrug 17, 16 bzw. 14 Tage für Grassilage, Grünfutter oder Heu, in der die Tiere in Einzelkäfigen mit einer Grundfläche von ca. 1,5 x 1,0 m gehalten wurden. Daran schloss sich direkt jeweils eine 6-tägige Sammelperiode in Bilanzkäfigen

an, in der die täglich ausgeschiedenen Kot- und Harnmengen sowie auftretende Futterreste tierindividuell erfasst wurden.

10 % der täglichen Kotmenge wurden als Sammelprobe pro Tier entnommen und bei -18 °C bis zur Aufbereitung (Trocknung bei 65 °C über 24 h, Vermahlung auf 1 mm Siebdurchgang) gelagert. Vom Harn wurde täglich ein Aliquot in Höhe von 2,5 % der Gesamtmenge entnommen, zu einer Sammelprobe je Tier vereinigt und tief gefroren gelagert. Die Futterreste wurden vollständig erfasst und bei -18 °C bis zur Trocknung bei 65 °C über 24 h und Vermahlung auf 1 mm Siebdurchgang gelagert.

Analog zu der eben beschriebenen Untersuchung mit einzelnen Futtermitteln wurde zudem eine Futtermischung unter Einbeziehung einer synthetischen As-Verbindung (di-Arsentrioxid) in einem weiteren Versuch geprüft. Dies geschah mit dem Ziel, zum einen die Entmischung des Futters und der zugesetzten Erde zu vermeiden und zum anderen, die in der Studie mit Mutterschafen verwendete Ration hinsichtlich ihres Futterwertes zu überprüfen (siehe Abschnitt 7).

Die eingesetzten Futtermittel (Heu, Stroh und Grassilage) wurden jeweils vor dem Versuchsdurchgang in Höhe der benötigten Tagesration (250, 150 und 500 g Originalsubstanz) eingewogen und im Fall der Grassilage bei -18 °C, im Fall von Stroh und Heu bei Zimmertemperatur gelagert. Bei der Einwaage erfolgte die Entnahme repräsentativer Proben zur Analyse. Jeweils vier Hammel erhielten zusätzlich 100 g eines handelsüblichen Konzentratfuttermittels pro Mahlzeit ("Schäferstolz", Mischfutter und Landhandel GmbH, Edderitz/Pfaffendorf) ohne oder mit di-Arsentrioxid. Die kalkulierte As-Konzentration in der Gesamtration betrug 10 mg/kg T. Die Phase zur Anpassung an die zu prüfende Ration betrug 21 Tage. Die sich anschließende Sammlung von Kot und Harn über einen Zeitraum von sieben Tagen folgte dem oben beschriebenen Vorgehen.

Die Verdaulichkeit der Roh Nährstoffe (D_x in %) wurde anhand der Differenz zwischen Nährstoffaufnahme (*Intake* in g pro Tag) mit dem Futter und Nährstoffausscheidung mit dem Kot (*Output* in g pro Tag) in Relation zur Nährstoffaufnahme berechnet:

$$D_x = \frac{Intake - Output}{Intake} \times 100\% \quad (3)$$

Die Berechnung der Umsetzbaren Energie erfolgte aus den verdaulichen Roh Nährstoffen laut GFE (2001).

6.2 Ergebnisse

6.2.1 As-Zusatz über kontaminierte Erde

Bei der Interpretation der nachfolgend beschriebenen Ergebnisse ist zu beachten, dass die Tiere die zugesetzte Erde stark selektierten und nicht die gesamte Futtermenge aufnahmen.

Die Verdaulichkeit der organischen Substanz lag für die Grassilage in einem niedrigen Bereich zwischen 54 und 59 % (Tabelle 8), wobei unter dem Zusatz von As-kontaminierter Erde signifikant weniger organische Substanz verdaut wurde. Dies ist v. a. auf den Abfall der Verdaulichkeit der Rohfaser um 8 %-Punkte im Vergleich zur Kontrollvariante (57 %) zurückzuführen. Die Verdaulichkeiten des Rohproteins und des Rohfettes unterschieden sich für die Grassilage nicht zwischen den Varianten.

Die schlechte Qualität der hier verwendeten Grassilage wird in der berechneten Energiekonzentration von 7,6 bzw. 6,5 MJ ME/kg T für die Varianten ohne bzw. mit As-kontaminierter Erde deutlich.

Tabelle 8: Verdaulichkeit der Rohnährstoffe (n = 4, Mittelwerte und s) und aus den verdaulichen Rohnährstoffen abgeleitete umsetzbare Energie (ME) bei der Fütterung von Grasprodukten mit oder ohne eine As-kontaminierte Erde an Hammel

Grasprodukt	Erde		Organische	Rohprotein	Rohfett	Rohfaser	ME
			Substanz	%	%	%	%
Grassilage	ohne	MW	59 ^a	60	8,2	57 ^a	7,6
		s	1,3	1,6	9,0	2,0	
Grassilage ¹	mit	MW	54 ^b	59	11	49 ^b	6,5
		s	2,2	1,4	0,6	2,5	
Grünfutter	ohne	MW	57	61 ^a	46 ^a	55	7,4
		s	1,6	2,7	11,7	3,1	
Grünfutter	mit	MW	58	52 ^b	0,0 ^b	59	6,2
		s	1,5	1,2		3,3	
Heu	ohne	MW	63	67 ^a	31 ^a	6,5	8,9
		s	1,2	0,9	4,0	2,4	
Heu	mit	MW	63	62 ^b	13 ^b	64	8,4
		s	0,4	1,8	6,1	2,1	

¹ n = 3

^{a,b} kennzeichnen signifikante Unterschiede innerhalb eines Grasproduktes zwischen den Varianten ohne und mit Erde laut t - Test ($P < 0,05$)

Für das Grünfutter wurden keine Unterschiede in den Verdaulichkeiten von 57 bzw. 58 % für die organische Substanz und 55 bzw. 59 % für die Rohfaser bei den Varianten ohne bzw. mit Zusatz von Erde ermittelt (Tabelle 8). Die Verdaulichkeit des Rohproteins unter Zusatz As-kontaminierter

Erde war mit 52 % signifikant niedriger als bei der unsupplementierten Variante. Die berechneten Verdaulichkeiten des Rohfettes für die Tiere der Variante mit Erde lagen ausnahmslos im negativen Bereich und wurden daher mit `null` angenommen. Diese Unsicherheit wird auf die geringen Fettgehalte in allen analysierten Proben zurückgeführt, was bei einer Korrektur um die Anteile in den Futterresten in einer Unterschätzung der Fettaufnahme resultieren kann.

Der hohe Extensivierungsgrad des beprobten Grünlandes und der späte Schnitzeitpunkt zeigen sich auch in der aus den verdaulichen Rohnährstoffen berechneten umsetzbaren Energie von 7,4 bzw. 6,2 MJ/kg T.

Die Verdaulichkeiten der organischen Substanz (jeweils 63 %) und der Rohfaser (65 bzw. 64 %) des Heus unterschieden sich nicht zwischen den Varianten ohne und mit Zusatz As-kontaminierter Erde (Tabelle 8). Die Supplementierung der Erde bewirkte jedoch einen signifikanten Abfall der Verdaulichkeiten des Rohproteins (67 vs. 62 %) und des Rohfettes (31 vs. 13 %). Es ist nicht auszuschließen, dass analog der Betrachtung zur Grassilage die intensive Futterselektion der Tiere in der Variante mit dem Zusatz von Erde einen Einfluss auf die ermittelten Werte ausgeübt hat.

Im Vergleich zu den beiden anderen Grasprodukten wies das hier verwendete Heu eine bessere Qualität auf, wie anhand der aus den verdaulichen Rohnährstoffen berechneten Energiekonzentrationen von 8,9 bzw. 8,4 MJ ME / kg T deutlich wird.

Die mittlere, analysierte As-Konzentration im Boden betrug 175 mg/kg. Aus den eingemischten Bodenmengen und der den Tieren angebotenen Futtertrockensubstanz wurden As-Konzentrationen von 15,0, 15,7 und 17,0 mg/kg T für die Varianten mit Grassilage, Grünfutter und Heu kalkuliert. Insbesondere für die Variante mit dem Heu ergaben sich demnach große Abweichungen zu den analysierten As-Konzentrationen (siehe Tabelle 2), die auf Entmischungen in den Proben zurückgeführt werden. Diese Annahme wurde für die Futterreste bei einer wiederholten Analyse jedoch nicht bestätigt (Anhang, Tabelle A 1).

Für die Bilanzierung der As-Mengen wurden bei den supplementierten Varianten die eben genannten, kalkulierten Werte im Futter pro Tier und Tag genutzt. Die Berechnungen für die Varianten ohne Erde beruhen auf den analysierten As-Konzentrationen (Tabelle 9).

Sowohl der Kot als auch der Harn wiesen bei Zusatz As-kontaminierter Erde höhere Konzentrationen an As auf (Anhang, Tabelle A 2 und Tabelle A 3). Für die Ausscheidungen der Tiere in der Fütterungsvariante ohne Erde wurden nur Spuren von As analysiert.

Die Bilanzierung der As-Mengen aus den Verdaulichkeitsversuchen ließ jedoch keine eindeutigen Rückschlüsse zu, ob eine vollständige Ausscheidung der aufgenommenen As-Menge oder eine Akkumulation im Tierkörper erfolgt (Tabelle 9).

Bei den Tieren der Variante ohne Zusatz von Erde kann von einer vollständigen Ausscheidung der zudem geringen aufgenommenen As-Mengen ausgegangen werden.

Bei der Fütterung einer Grassilage war die Differenz aus As-Aufnahme und As-Ausscheidung in der Variante mit As-kontaminierter Erde nur für das Tier 8 im positiven Bereich. Die Bilanzierung der As-Mengen bei der Fütterung von Heu plus Erde ergab durchgehend negative Werte, wogegen drei der vier Tiere bei der Fütterung von Grünfutter scheinbar geringe As-Mengen akkumulierten. Diese widersprüchlichen Aussagen werden auf die Schwierigkeiten bei der Bindung der zugesetzten Erde an das jeweilige Futter und die damit einhergehende Separierung der Erde durch die Tiere zurückgeführt. Die resultierenden Futterreste bedingen ein erhöhtes Fehlerpotenzial bei der Bilanzierung der tatsächlich aufgenommenen As-Mengen.

Tabelle 9: As-Aufnahmen und -Ausscheidungen bei der Fütterung von Grasprodukten mit oder ohne eine kontaminierte Erde an Hammel (mg/Tier und Tag)

	Tier	As-Aufnahme		As-Ausscheidungen		Differenz ¹
		Futter	Futterrest	Kot	Harn	
Grassilage, ohne Erde	1	0,303	0,009	0,165	0,067	0,062
	2	0,303	0,018	0,178	0,073	0,034
	3	0,303	0,008	0,178	0,084	0,033
	4	0,303	0,009	0,169	0,076	0,049
Grassilage, mit Erde	5	14,02	15,18	1,76	1,33	- 4,25
	7	14,02	12,90	1,70	1,22	- 1,80
	8	14,02	8,04	2,23	1,37	2,38
Grünfutter, ohne Erde	1	0,331	-	0,270	0,044	0,017
	2	0,331	-	0,227	0,038	0,066
	3	0,331	0,173	0,162	0,031	- 0,035
	4	0,331	0,045	0,239	0,036	0,011
Grünfutter, mit Erde	5	10,52	1,86	5,32	1,52	1,82
	6	10,52	2,89	5,08	1,13	1,42
	7	10,52	6,00	3,26	1,01	0,25
	8	10,52	9,35	4,52	0,82	- 4,17
Heu, ohne Erde	1	0,240	-	0,244	0,111	- 0,115
	2	0,240	-	0,190	0,092	- 0,042
	3	0,240	0,131	0,160	0,108	- 0,159
	4	0,240	0,014	0,188	0,112	- 0,074
Heu, mit Erde	5	12,27	8,01	3,90	2,19	- 1,83
	6	12,27	1,15	8,61	6,11	- 3,60
	7	12,27	4,12	6,31	4,33	- 2,49
	8	12,27	3,01	7,56	4,81	- 3,11

¹ Es handelt sich bei den Angaben um eine rein rechnerische Differenz, die wegen der beschriebenen Unsicherheiten bei der Erfassung des As-Verzehrs für die Varianten mit Zusatz von Erde nicht als Bilanz interpretiert werden darf.

Aus der sich hier ergebenden Datenlage lassen sich demnach noch keine Aussagen zum Verbleib des As treffen. Der Anstieg in der renalen Ausscheidung etwa um den Faktor 30 bei Zusatz der Erde belegt jedoch, dass offensichtlich größere Mengen an As in das Blut gelangen und damit eine Aufnahme in Gewebe und Organe nicht ausgeschlossen werden kann.

6.2.2 As-Zusatz über di-Arsentrioxid in Konzentraten

Für die in diesem Versuch eingesetzte Ration einschließlich des Konzentratfutters wurden folgende Werte analysiert (g/kg T): organische Substanz 897, Rohprotein 136, Rohfaser 266 und Rohfett 30. Die Gehalte an Neutraler und Saurer Detergentienfaser lagen bei 500 und 310 g/kg T. Die analysierten As-Gehalte in den Konzentraten betragen 0,09 und 62,7 mg/kg T für die Varianten ohne und mit di-Arsentrioxid. Die As-Gehalte der Gesamtrationen lagen bei 0,10 und 7,00 mg/kg T und demnach unter dem kalkulierten Wert von 10 mg/kg T für die Variante mit As. Es wird vermutet, dass dies auf einen Verlust des di-Arsentrioxid während des Pelletiervorganges und dabei auftretenden höheren Temperaturen zurückzuführen ist.

Die Verdaulichkeit der organischen Substanz lag auf einem erwarteten niedrigen Niveau zwischen 62 und 63 % (Tabelle 10). Die im Futter enthaltene Rohfaser war zu 52 bis 53 % verdaulich. Es traten keine Unterschiede in den berechneten Verdaulichkeiten der Rohnährstoffe zwischen den Varianten ohne und mit di-Arsentrioxid auf.

Die aus den verdaulichen Rohnährstoffen berechnete umsetzbare Energie für die Rationen betrug 8,7 MJ/kg T (Tabelle 10).

Tabelle 10: Verdaulichkeit der Rohnährstoffe (n = 4, Mittelwerte und s) und aus den verdaulichen Rohnährstoffen abgeleitete umsetzbare Energie (ME) bei der Fütterung einer Grundration und einem Konzentrat ohne oder mit di-Arsentrioxid an Hammel

Ration		Organische Substanz	Rohprotein	Rohfett	Rohfaser	ME
		%	%	%	%	MJ/kg T
ohne As	MW	63	65	69	53	8,7
	s	0,3	1,3	2,7	1,6	
mit As ¹	MW	62	64	70	52	8,7
	s	4,1	1,4	1,4	9,5	

¹ n = 3

Die Konzentrate wurden von allen Tieren vollständig verzehrt. Es traten mit Ausnahme eines Tieres nur sehr geringe Futterreste auf, die sich auf Teile der Grundration beschränkten. Es wurde bei der Bilanzierung davon ausgegangen, dass die As-Konzentration in den Futterresten der Grundration ohne Konzentrate entspricht (0,27 mg As/kg T).

Die aufgezeigten Daten in Tabelle 11 induzieren, dass im Zeitraum der Probensammlung größere Mengen an As ausgeschieden als mit dem Futter aufgenommen wurden.

Diese negative Bilanz ist vor allem auf die sehr hohen As-Mengen im Kot zurückzuführen. Die um ein Vielfaches erhöhten As-Konzentrationen im Harn belegen jedoch, dass größere As-Mengen in das Blut gelangen und damit eine Aufnahme in andere Gewebe und Organe wahrscheinlich ist. Es kann aber vermutet werden, dass die Kapazität der As-Akkumulation im Körper zumindest begrenzt ist, da nach 21-tägiger Supplementierung mit As offensichtlich die gesamte As-Menge von den Tieren mit Kot und Harn ausgeschieden wird.

Tabelle 11: As-Aufnahmen und As-Ausscheidungen bei der Fütterung einer Grundration und einem Konzentrat ohne oder mit di-Arsentrioxid an Hammel (mg/Tier und Tag)

Ration	As-Aufnahme			As-Ausscheidungen		Differenz ¹
	Tier	Futter	Futterrest	Kot	Harn	
ohne As	1	0,116	$2,89 \times 10^{-4}$	0,123	0,045	-0,053
	2	0,116	$5,13 \times 10^{-4}$	0,111	0,041	-0,037
	3	0,116	$1,57 \times 10^{-4}$	0,131	0,035	-0,051
	4	0,116	-	0,181	0,036	-0,101
mit As	5	7,89	0,174	8,37	2,55	-3,20
	6	7,89	0,020	8,91	2,28	-3,32
	7	7,89	0,328	7,83	2,21	-2,48
	8	7,89	0,010	11,23	1,99	-5,34

¹ Es handelt sich bei den Angaben um eine rein rechnerische Differenz.

6.3 Fazit

In Übereinstimmung mit den *in vitro* erhobenen Daten zu einer möglichen Beeinträchtigung der ruminalen Umsetzungen durch As konnten für die Verdaulichkeiten der Rohnährstoffe im gesamten Verdauungstrakt keine wesentlichen Unterschiede zwischen den Varianten mit und ohne Supplementierung mit di-Arsentrioxid gefunden werden. Der Zusatz einer As-kontaminierten Erde führte dagegen zu signifikanten Unterschieden in der Verdaulichkeit einzelner Rohnährstoffe von Grasprodukten. Der verwendete Versuchsansatz lässt keine Rückschlüsse zu, ob diese Effekte allein auf das As oder andere Bestandteile der Erde zurückzuführen sind.

Eine Akkumulation von As in den Geweben konnte nicht ausgeschlossen werden, da größere As-Mengen im Urin gefunden wurden. Allerdings wies die Bilanzierung der As-Mengen auf eine vollständige Ausscheidung hin.

7 Studie mit Mutterschafen

7.1 Material und Methoden

In dieser längerfristig angelegten Studie sollte nachfolgend der Transfer von As sowohl in einzelne Organe als auch in tierische Produkte (Fleisch, Milch, Wolle) sowie in den Fötus näher betrachtet werden.

Dafür wurden drei nicht tragende und 24 tragende Mutterschafe (Rasse Merino Landschaf) in Einzelboxen mit einer Fläche von 1 x 2 m im Nutztierwissenschaftlichen Zentrum der Universität in Merbitz aufgestellt (Abbildung 6), wobei die Zuordnung der Tiere zu zwei Versuchsgruppen (mit oder ohne As-Supplementierung) zufällig erfolgte. Mindestens drei Mutterschafe pro Behandlung trugen dabei laut Ultraschalluntersuchung zwei Lämmer.

Unter Berücksichtigung des Energiebedarfes der Tiere wurde die Rationszusammensetzung wie folgt gestaltet und dem Trächtigkeits- bzw. Laktationsstatus angepasst (g Originalsubstanz pro Tier und Tag):

- niedertragend (bis vier Wochen vor dem geschätzten Termin der Ablammung): 1 000 g Grassilage, 500 g Heu und 400 g Konzentrate;
- hochtragend (vier Wochen vor dem geschätzten Termin der Ablammung): 1 500 g Grassilage, 800 g Heu und 700 g Konzentrate;
- laktierend: 2 000 g Grassilage, 1 000 g Heu und 1 000 g Konzentrate.



Abbildung 6: Aufstallung der Mutterschafe in Einzelboxen

Diese Rationen wurden in zwei Portionen jeweils gegen 07:00 und 14:00 Uhr tierindividuell verabreicht. Stroh und frisches Trinkwasser standen jederzeit zur freien Verfügung. Tabelle 12 zeigt die auf der Basis der mittleren, analysierten Gehalte in den Einzelfuttermitteln berechneten Rohnährstoffgehalte der Gesamtrationen im jeweiligen Trächtigkeitsstadium. Die Strohaufnahme wurde dabei in einer Höhe von 200 g pro Tier und Tag in der Kalkulation der Gesamtration angenommen.

Die As-Supplementierung erfolgte durch das Einmischen von di-Arsentrioxid in der universitätseigenen Mischfutteranlage in ein handelsübliches Konzentratfutter ("Schäferstolz", Mischfutter und Landhandel GmbH, Edderitz/Pfaffendorf). Hierbei wurde ein Endgehalt von 93 mg di-Arsentrioxid/kg Konzentratfutter kalkuliert.

Die Menge der mit Arsen angereicherten Konzentrate pro Tier und Tag wurde durch Mischen mit dem unsupplementierten Konzentrat in der Form angepasst, dass in der Gesamtration unabhängig vom Status der Tiere As-Konzentrationen von ca. 15 mg/kg T erreicht wurden (Tabelle 12).

Die Kontrollgruppe erhielt ausschließlich das Konzentratfutter ohne As-Zusatz. Die Höhe und die Zusammensetzung der Grundrationen waren für die Tiere beider Behandlungen identisch.

Tabelle 12: Mittlere, analysierte Rohnährstoffgehalte sowie kalkulierte As- und Energiegehalte in der Gesamtration in Abhängigkeit vom Status der Mutterschafe

Status	Variante	Organische Substanz	Rohprotein	Rohfaser	Rohfett	ME ¹	As
			g/kg T				
niedertragend	Kontrolle	909	150	254	27	9,6	u.N.
	Arsen						18
hochtragend	Kontrolle	894	158	247	29	9,9	u.N.
	Arsen						15
laktierend	Kontrolle	896	155	248	30	9,9	u.N.
	Arsen						13

¹ kalkuliert auf Basis der Rohnährstoffgehalte nach Angaben von BOGUHN et al. (2003) für Mischrationen u. N. unterhalb der Nachweisgrenze von 40 µg As je Liter Aufschlusslösung

Die Erfassung der Lebendmassen erfolgte zu Versuchsbeginn bzw. bei den Lämmern zur Geburt und nachfolgend im vierwöchigen Rhythmus. Zu diesen Terminen wurden weiterhin Proben von Klauenhorn (linke Vorderklaue) und Wolle (linkes Schulterblatt) gewonnen, um eine mögliche As-Akkumulation in Geweben mit einer eher geringen Umschlagsrate zu dokumentieren.

Die zeitgleich gewonnenen Proben von Blutserum dienten der Analyse der Gehalte an Erythrozyten, Leukozyten und Hämoglobin sowie des Hämatokritwertes in einem externen Labor (Laboklin, Bad Kissingen). Im Abstand von 14 Tagen ab dem Termin der Ablammung wurden zusätzlich von jedem Muttertier Milchproben gewonnen. Zudem erfolgte eine einmalige Probennahme von Kolostrum und der Plazenta unmittelbar nach der Geburt.

Die Schlachtungen der Mutterschafe und Lämmer zur Entnahme der Gewebeproben fanden zu folgenden Zeitpunkten statt:

- zu Versuchsbeginn (15.11.2006): drei nicht tragende, weibliche Schafe;
- zum Termin der Ablammung: pro Gruppe drei Mutterschafe mit Lamm und je drei Lämmer aus Zwillingsgeburten;
- vier Wochen nach der Ablammung: Kontroll-Gruppe zwei Lämmer und Arsen-Gruppe drei Lämmer;
- acht Wochen nach der Ablammung: pro Gruppe drei Mutterschafe mit verbliebenem Zwillingslamm und drei weitere Lämmer je Gruppe.

Dabei wurden Teile der Leber (lobus hepatis sinister), die linke Niere und Muskelgewebe (musculus deltoideus, bei Lämmern zusätzlich musculus infraspinatus, linke Seite) entnommen. Diese Gewebe sind im Vergleich zu Wolle und Klauenhorn stoffwechselintensive Organe mit einer hohen Umschlagsrate.

Ab einem Lebensalter von vier Wochen wurde allen Lämmern bis zur Schlachtung, also ca. vier Wochen, Konzentratfutter zugefüttert. Die nach der Schlachtung zum Termin der Ablammung verbliebenen Zwillinglämmer erhielten behandlungstreu täglich 200 g Konzentratfutter. Drei weitere Lämmer aus jeder Gruppe bekamen jeweils 200 g Konzentrat der jeweils anderen Behandlung, um die As-Konzentration in Geweben bei unterschiedlichen As-Quellen (Milch vs. Konzentrat) zu beschreiben.

Alle genannten Proben wurden bis zur Verarbeitung und As-Analyse bei -20 °C gelagert.

7.2 Ergebnisse

7.2.1 Blutparameter

Die Auswertung der Blutanalysen ergab keine Werte außerhalb des Referenzbereiches für Schafe². Es wurden insgesamt nur wenige Unterschiede zwischen den Behandlungen für die erhobenen Parameter ermittelt (Abbildung 7).

Aus der Humanmedizin gibt es Hinweise, dass As eine hämototoxische Wirkung hat (WEGNER 2002). Die Hypothese sinkender Erythrozytenzahlen und des Hämoglobingehaltes beim Zusatz von As zu einer Ration konnte im Gegensatz zu älteren Untersuchungen an wachsenden Schafen (BUCY et al. 1955) bei den Mutterschafen nicht bestätigt werden. Ebenso ist im Gegensatz zu Beobachtungen am Menschen die Leukozytenzahl der Tiere eher erhöht, wenn di-Arsentrioxid zugegeben wurde.

7.2.2 Mutterschafe

Die As-Konzentration im Blut der Mutterschafe war zu Versuchsbeginn für beide Tiergruppen auf einem ähnlichen Niveau von im Mittel 4,8 bzw. 4,6 µg/l (Tabelle 13). An allen folgenden Terminen der Probennahme einschließlich des Zeitpunktes der Schlachtung wurden As-Konzentrationen für die Mutterschafe der Kontrollgruppe in einem Bereich von 4,9 bis 8,6 µg/l analysiert. Die As-Konzentrationen im Blut der Tiere aus der Variante mit As-Supplementierung waren im Vergleich zur Kontrolle bis zum 10-Fachen signifikant erhöht. Dies zeigt noch einmal deutlich, dass größere As-Mengen in den Blutkreislauf und damit in alle Gewebe der Tiere gelangten. Ein kontinuierlicher Anstieg der As-Konzentration bis zum Versuchsende wurde nicht beobachtet. Anscheinend stellt sich die As-Konzentration im Blut schnell auf den Verzehr von As ein.

² Die Referenzwerte für die analysierten Blutparameter beim Schaf liegen zwischen 7,3 und 11,3 x 10⁹ Erythrozyten/l, 4 und 10 x 10⁶ Leukozyten/l, 80 und 120 g Hämoglobin/l und 0,29 und 0,38 für den Hämatokritwert.

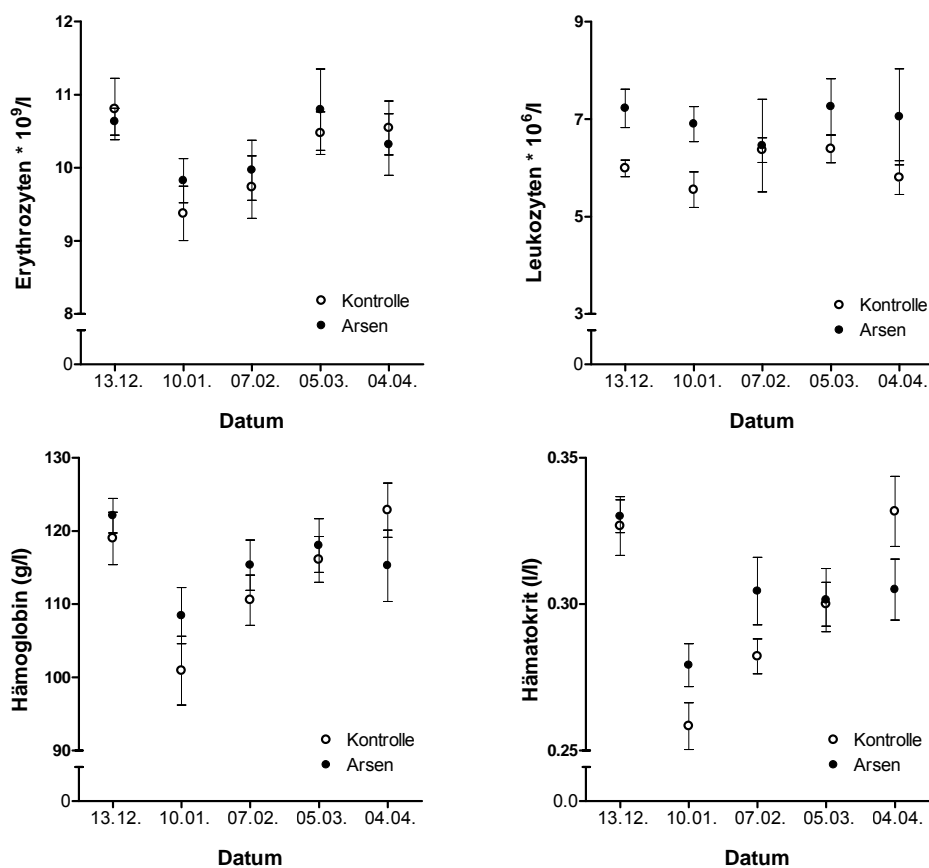


Abbildung 7: Mittlere Konzentrationen der analysierten Blutparameter (Mittelwerte und Standardfehler) für die Mutterschafe zu den Terminen der Probennahme

Tabelle 13: Mittlere As-Konzentrationen im Blut der Mutterschafe zu den Terminen der Probennahme (Mittelwerte und s, µg/l)

Termin	15.11.	13.12.	10.01.	07.02.	05.03.	04.04.	Schlachtung
Kontrolle							
MW	4,81	6,43 ^a	7,20 ^a	4,92 ^a	5,80 ^a	8,64 ^a	5,99 ^a
s	0,83	1,60	1,09	0,88	0,65	1,20	1,80
Arsen							
MW	4,57	44,7 ^b	39,9 ^b	34,8 ^b	59,8 ^b	27,3 ^b	42,2 ^b
s	0,35	7,23	3,90	5,91	10,50	13,59	6,57

^{a,b} kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Varianten zu einem Termin der Proben-nahme laut t - Test ($P < 0,05$)

Für alle gewonnenen Gewebe der Tiere der Kontrollgruppe lagen die As-Gehalte unterhalb der messtechnischen Nachweisgrenze von 40 µg/l Aufschlusslösung und werden nachfolgend nicht näher betrachtet.

Sowohl für Wolle als auch Horn konnten bei den mit As supplementierten Mutterschafen steigende As-Konzentrationen im Verlauf des Versuches beobachtet werden (Abbildung 8). Ein Plateau in der Konzentration war jedoch auch nach viermonatiger Applikation von di-Arsentrioxid nicht erkennbar.

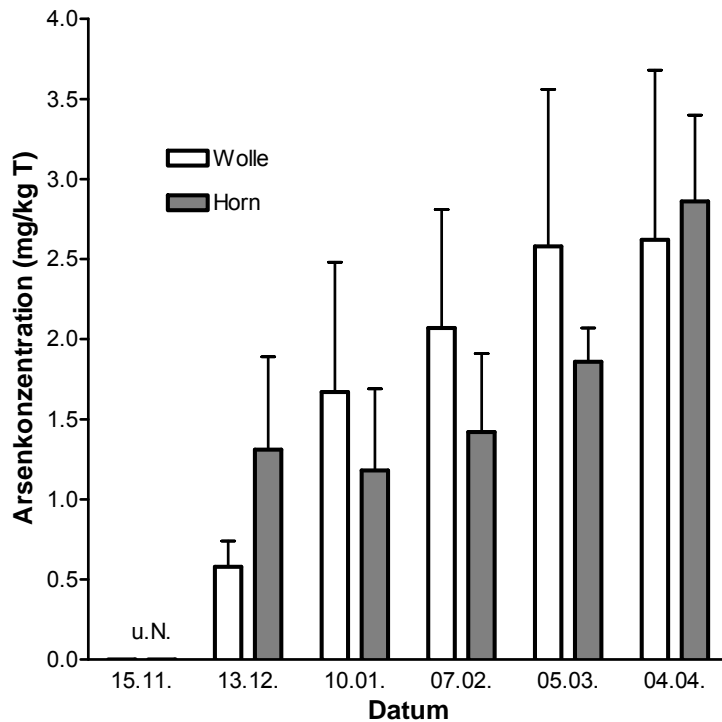


Abbildung 8: Mittlere As-Konzentrationen in Wolle und Horn der Mutterschafe der mit As supplementierten Gruppe zu den Terminen der Probennahme (Mittelwert und s, mg/kg T; u.N. unterhalb der Nachweisgrenze von 40 µg As je Liter Aufschlusslösung)

Im Muskelgewebe der Mutterschafe der Arsengruppe lagen die As-Gehalte bei der Schlachtung vier Wochen nach der Ablammung unter der messtechnischen Nachweisgrenze (Tabelle 14). Die As-Konzentrationen in den Nieren waren mit 0,89 bzw. 0,82 mg/kg T ca. doppelt so hoch wie im Lebergewebe (0,41 bzw. 0,46 mg/kg T). Diese Beobachtung deckt sich mit den Angaben von VREMAN et al. (1986) bei ähnlichen Untersuchungen mit Milchkühen.

Die geringen Differenzen zwischen den Zeitpunkten der Probennahme deuten darauf hin, dass die Anreicherung in diesen Geweben begrenzt ist und bereits zum Zeitpunkt der Ablammung ihr Maximum erreicht hatte.

Tabelle 14: Mittlere As-Konzentrationen in Geweben der Mutterschafe (n = 3, Mittelwerte und s)

Zeitpunkt			Versuchsbeginn	Ablammung		8 Wochen ¹	
				Kontrolle	Arsen	Kontrolle	Arsen
Muskel	mg/kg T	MW	u.N.	u.N.	u.N.	u.N.	0,67
		s					0,28
Leber	mg/kg T	MW	u.N.	u.N.	0,41	u.N.	0,46
		s			0,10		0,05
Niere	mg/kg T	MW	u.N.	u.N.	0,89	u.N.	0,82
		s			0,49		0,16
Plazenta	mg/kg T	MW	-	u.N.	2,16	-	-
		s			1,68		

¹ Probennahme acht Wochen nach dem jeweiligen Termin der Ablammung
u. N. unterhalb der Nachweisgrenze von 40 µg As je Liter Aufschlusslösung

Die As-Konzentrationen in den gewonnenen Plazenten variierten für die Tiere der As-supplementierten Gruppe in einem Bereich von 0,6 und 6,3 mg/kg T (Tabelle 14). Humanstudien hatten belegt, dass aufgenommenes As in der Plazenta eingelagert und in geringen Mengen an den Fötus abgegeben werden kann (WILLHITE und FERM 1984). Diese Beobachtung scheint sich für diese Untersuchung mit Schafen zu bestätigen, da sowohl im Blut als auch in Geweben neugeborener Lämmer der mit As supplementierten Mutterschafe höhere As-Konzentrationen als bei Lämmern der Kontrolle gefunden wurden (Tabelle 16).

Die As-Konzentrationen im Kolostrum der Mutterschafe lagen bei 8,8 bzw. 26,8 µg/l für die Kontrollgruppe bzw. die As-supplementierte Gruppe (Tabelle 15). An allen darauf folgenden Terminen der Probennahme lagen die As-Konzentrationen in der Milch unterhalb dieser Werte. Im Kontrast dazu hatten ANTUNOVIC et al. (2005) eher höhere As-Gehalte im Verlauf der Laktation im Vergleich zum Kolostrum ermittelt. Die As-Aufnahme der Schafe der genannten Studie begrenzte sich jedoch auf die natürlicherweise vorkommenden Mengen im Weidefutter von As-unkontaminierten Flächen. As-Anreicherungen im Gewebe der Milchdrüse vor Beginn der Laktation wie sie für polychlorierte Biphenyle (PCB) bei Menschen nachgewiesen wurden (ROGAN et al. 1986) können für As nicht ausgeschlossen werden.

Die As-Konzentrationen in der Milch der Arsengruppe lagen in der vorliegenden Untersuchung um das 2- bis 5-Fache signifikant höher als in der Kontrollgruppe. Diese Ergebnisse sind überraschend, da frühere Untersuchungen mit Milchkühen nicht zu einer messbaren Erhöhung der As-Gehalte in der Milch bei der Fütterung As-haltiger Futtermittel geführt hatten (VREMAN et al. 1986).

Tabelle 15: Mittlere As-Konzentrationen in der Milch zu den Terminen der Probennahme (Mittelwert und s, µg/l)

Termin	Ablammung	07.02.	21.02.	05.03.	21.03.	04.04.
		Kontrolle				
MW	8,77 ^a	1,79 ^a	2,21 ^a	1,72 ^a	1,38 ^a	1,13 ^a
s	3,93	0,57	0,59	0,62	0,81	0,54
		Arsen				
MW	26,8 ^b	6,70 ^b	5,31 ^b	6,39 ^b	6,98 ^b	7,58 ^b
s	18,27	4,11	1,50	3,44	2,72	0,52

^{a,b} kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Varianten zu einem Termin der Probennahme laut t - Test ($P < 0,05$)

7.2.3 Lämmer

Die mittlere As-Konzentration im Blut der neugeborenen Lämmer, deren Mütter das mit As-supplementierte Futter erhielten, war im Vergleich zur Kontrollvariante um 2,5 µg/l höher (Tabelle 16). Vier Wochen nach der Ablammung lagen die As-Konzentrationen im Blut bei 4,2 bzw. 4,7 µg/l für die Lämmer der Kontroll- bzw. der As-Gruppe. Die As-Menge, die von den Lämmern über die Milch aufgenommen wurde, führte demnach nicht zu einem Anstieg der As-Konzentration im Blut.

Tabelle 16: Mittlere As-Konzentrationen im Blut und in Geweben der Lämmer (n = 3, Mittelwerte und s)

Zeitpunkt			Ablammung ¹		4 Wochen ²		8 Wochen ²		8 Wochen ³	
			Kontrolle	Arsen	Kontrolle	Arsen	Kontrolle	Arsen	Kontrolle	Arsen
Blut	µg/l	MW	3,32 ^a	5,68 ^b	4,17 ⁴	4,70	5,08 ^a	45,5 ^b	43,3	6,63
		s	0,96	0,71		0,53	0,33	6,41	25,0	0,18
Muskel	mg/kg T	MW	u.N.	u.N.	u.N.	u.N.	u.N.	0,41	0,58	u.N.
		s						0,01	0,30	
Leber	mg/kg T	MW	u.N.	u.N.	u.N.	u.N.	u.N.	0,46	0,46	u.N.
		s						0,16	0,19	
Niere	mg/kg T	MW	u.N.	u.N.	u.N.	u.N.	u.N.	0,82	0,89	u.N.
		s						0,13	0,47	

¹ n = 6

² Probennahme vier bzw. acht Wochen nach dem jeweiligen Termin der Ablammung innerhalb einer Variante

³ Probennahme acht Wochen nach dem jeweiligen Termin der Ablammung bei Fütterung der Konzentrate der jeweils anderen Variante

⁴ n = 2

u.N. unterhalb der Nachweisgrenze von 40 µg As je Liter Aufschlusslösung

^{a,b} kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Varianten zu einem Termin der Probennahme laut t - Test ($P < 0,05$)

Die Fütterung des mit As supplementierten Konzentrates an die Lämmer der Arsengruppe ab der 4. Woche nach Geburt führte dagegen zu einem Anstieg der Blutkonzentration auf das 10-Fache der Ausgangskonzentration und auf ein mit den Mutterschafen vergleichbares Niveau (Tabelle 13). Gleiches gilt für die As-Konzentrationen im Blut der Lämmer, die ab der 4. Woche nach Geburt das Konzentrat der jeweils anderen Fütterungsgruppe erhielten. Hier erreichten die As-Konzentrationen im Blut der Lämmer der Kontrollgruppe Werte von $>40 \mu\text{g/l}$, wogegen die Lämmer der Arsengruppe nur Werte von $6,6 \mu\text{g/l}$ aufwiesen.

Für die Gewebeproben der Lämmer können ähnliche Aussagen wie bei den Mutterschafen getroffen werden (Tabelle 16). Die As-Gehalte nach vierwöchiger Milchfütterung lagen unterhalb der messtechnischen Nachweisgrenze, was für einen geringen Beitrag des As aus der Milch für die As-Akkumulation in den Geweben spricht. Acht Wochen nach der Geburt und nach vierwöchiger Fütterung des As-haltigen Konzentrates an die Lämmer wurden As-Konzentrationen von 0,41, 0,46 und 0,82 mg/kg T im Muskel, Leber und Niere ermittelt.

Analog zu den Beobachtungen bei den As-Konzentrationen im Blut stieg mit der Fütterung des As-haltigen Konzentrates an Lämmer der Kontrollgruppe die As-Konzentration in den Geweben auf das Niveau der Lämmer der As-Gruppe nach vierwöchiger Konzentratfütterung an (Tabelle 16). Gleichzeitig lagen die As-Konzentrationen in den inneren Organen der Lämmer der As-Gruppe, die das Konzentrat der Kontroll-Gruppe erhielten, in einem Bereich unterhalb der messtechnischen Nachweisgrenze.

7.3 Fazit

Aus dem Versuch mit tragenden und säugenden Mutterschafen geht hervor, dass bei einer As-Supplementierung des Futters größere As-Mengen über das Blut in alle Gewebe transportiert und dort eingelagert werden. Dies gilt für Muttertiere und für Lämmer gleichermaßen. Die im Vergleich zur Kontrolle erhöhten As-Konzentrationen in den Plazenten und dem Blut der neugeborenen Lämmer lassen vermuten, dass ein plazentaler Übertritt von As in den Fötus stattfindet. Die As-Absorption der Lämmer und As-Einlagerung in die Gewebe aus der Milch dürfte demgegenüber gering sein.

Die über den Versuchszeitraum gleich bleibenden As-Konzentrationen in Niere und Leber der Mutterschafe deuten darauf hin, dass sich in diesen Organen ein Maximalgehalt nach entsprechend langer As-Supplementierung einstellt. Für Wolle und Horn scheint die maximale As-Akkumulation nach viermonatiger Fütterung mit As-haltigen Konzentraten nicht erreicht zu sein. Grund dafür könnten die niedrigen Umschlagsraten in den letztgenannten Geweben sein, die eine Ausschleusung und Ausscheidung des akkumulierten As erschweren.

8 Zusammenfassung und Schlussfolgerungen

Die regional hohen As-Konzentrationen in Fließgewässern und den angrenzenden Auenböden könnten die Nutzung der Grasaufwüchse auf diesen Flächen für die Produktion von Lebensmitteln begrenzen. Ob und in welchem Maße das von einem landwirtschaftlichen Nutztier über das Futter aufgenommene As in den Blutkreislauf und in die für den menschlichen Verzehr bestimmten Organe gelangt, ist bisher wenig untersucht worden.

Unter Verwendung verschiedener methodischer Ansätze sollte in der vorliegenden Studie geklärt werden, inwieweit sich eine As-Supplementierung auf die Pansenfermentation und die Ausscheidung bzw. Akkumulation von As in verschiedenen Geweben bei Schafen auswirkt.

Die Zugabe von zwei verschiedenen As-Verbindungen oder einer As-haltigen Erde zu Gras und Graskonservaten führte zu keiner Beeinträchtigung der ruminalen Fermentation. Sowohl die absolute Höhe der Gasbildung als auch der Abbau der Rohnährstoffe blieb bei der Inkubation mit Pansensaft von der As-Applikation unbeeinflusst. Die Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese und das Aminosäuremuster des mikrobiellen Proteins unterschieden sich nicht zwischen den Varianten mit und ohne As-Supplementierung. Es kann daher festgehalten werden, dass weder die Quelle oder Form der As-Verbindung noch die As-Konzentration bis zu einer Höhe von 20 mg As/kg Futtertrockenmasse einen messbaren Effekt auf die Fermentationsleistung im Pansen ausübte.

Gleiches gilt für die Verdaulichkeit der Rohnährstoffe bei der Fütterung von Grasprodukten an Hammel, wenn anorganisches As in Form von di-Arsentrioxid zugesetzt wurde. Unterschiede in den Verdaulichkeiten einzelner Rohnährstoffe wurden bei der Supplementierung einer As-kontaminierten Erde zu Grasprodukten nachgewiesen. Ob dies ein Effekt des As oder anderer Bodenbestandteile war, ließ sich anhand dieses Versuchsansatzes nicht klären.

Die As-Ausscheidungen mit dem Harn belegen, dass größere As-Mengen in den Blutkreislauf und damit in die tierischen Gewebe gelangen können. Inwieweit eine vollständige und zeitnahe Ausscheidung des aufgenommenen Arsens erfolgt, konnte mit den Bilanzstudien nicht eindeutig geklärt werden.

Wie aus einer Studie mit Mutterschafen hervorgeht, ist es wahrscheinlich, dass regelmäßig aufgenommenes As in verschiedenen Geweben akkumuliert wird. Dabei ist die maximale As-Konzentration in inneren Organen (Leber, Niere) und im Muskel vermutlich begrenzt. In der vorliegenden Untersuchung wurde nicht untersucht, ob die As-Gehalte in den Geweben von der As-Konzentration im verabreichten Futter abhängen.

Die Kapazität der As-Akkumulation in der Wolle und dem Klauenhorn der Tiere scheint nach viermonatiger As-Supplementierung noch nicht erreicht zu sein. Ursache dieser Diskrepanz zu den inneren Organen und dem Muskelgewebe könnten die unterschiedlichen Umschlagraten in den

betrachteten Geweben sein. Dies sollte bei weiterführenden Untersuchungen zur Relevanz des As-Transfers in die menschliche Nahrungskette oder in Verarbeitungsprodukte aus tierischen Geweben berücksichtigt werden. Des Weiteren bleibt zukünftigen Studien vorbehalten, Fragen zur Geschwindigkeit der Mobilisierung von akkumuliertem As aus den Geweben und dessen Ausscheidung zu untersuchen.

Eine plazentale Übertragung von As auf die Föten ist anzunehmen, da sowohl die As-Konzentrationen in den Plazenten als auch im Blut der Lämmer nach der Geburt im Vergleich zur Kontrollgruppe erhöht waren. Die As-Menge, die über die Milch von den Lämmern absorbiert wird, scheint dagegen gering zu sein. Vielmehr ist die Verabreichung As-haltiger Futtermittel entscheidend bei der As-Anreicherung in den Geweben auch der wachsenden Tiere. In weiterführenden Untersuchungen sollte geklärt werden, ob das As in der Milch in freier Form oder an organische Fraktionen der Milch gebunden vorliegt.

9 Literaturverzeichnis

- AFBN (1991): Leitlinien für die Bestimmung der Verdaulichkeit von Rohnährstoffen an Wiederkäuern. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 65, 229-234
- ANTUNOVIC, Z.; I. BOGUT; D. SENCIC; M. KATIC UND P. MIJIC (2005): Concentrations of selected toxic elements (cadmium, lead, mercury and arsenic) in ewe milk in dependence on lactation stage. *Czech Journal of Animal Science* 50, 369-375
- BASSLER, R. (2003): VDLUFA-Methodenbuch, Vol. VIII, Umweltanalytik, 2. Auflage, VDLUFA-Verlag, Darmstadt
- BASSLER, R. (2007): VDLUFA-Methodenbuch, Vol. VIII, Umweltanalytik, 3. Auflage, VDLUFA-Verlag, Darmstadt
- BEUVINK, J. M. W. UND J. KOGUT (1993): Modeling gas production kinetics of grass silages incubated with buffered ruminal fluid. *Journal of Animal Science* 71, 1041-1046
- BEUVINK, J. M. W.; S.F. SPOELSTRA UND R.J. HOGENDORP (1992): An automated method for measuring time-course of gas production of feedstuffs incubated with buffered rumen fluid. *Netherlands Journal of Agricultural Science* 40, 401-407
- BOGUHN, J.; H. KLUTH; O. STEINHÖFEL; M. PETERHÄNSEL UND M. RODEHUTSCORD (2003): Nutrient digestibility and prediction of metabolizable energy in total mixed rations for ruminants. *Archives of Animal Nutrition* 57, 253-266
- BRANDT, M. UND K. ROHR (1981): Beiträge zur Quantifizierung der N-Umsetzungen in den Vormägen von Milchkühen 1. Mitteilung: Bestimmung des Mikrobenstickstoffs im Duodenalchymus mit Hilfe von ¹⁵N. *Zeitschrift für Tierphysiologie, Tierernährung und Futtermittelkunde* 46, 39-48
- BUCY, L. L.; U.S. GARRIGUS; R. M. FORBES; H.W. NORTON UND W.W. MOORE (1955): Toxicity of some arsenicals fed to growing-fattening lambs. *Journal of Animal Science* 14, 435-445
- CALVERT, C.C. UND L.W. SMITH (1980): Arsenic in tissues of sheep and milk of dairy cows fed arsenilic acid and 3-nitro-4-hydroxyphenylarsonic acid. *Journal of Animal Science* 51, 414-421

- CZERKAWSKI, J.W. UND G. BRECKENRIDGE (1977): Design and development of a long-term rumen simulation technique (Rusitec). *British Journal of Nutrition* 38, 371-384
- DUKER, A.A.; E.J.M. CARRANZA UND M. HALE (2005): Arsenic geochemistry and health. *Environment International* 31, 631-641
- FELDMANN, J.; K. JOHN UND P. PENGPRECHA (2000): Arsenic metabolism in seaweed-eating sheep from Northern Scotland. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry* 368, 116-121
- FIELD, A.C. (1964): The intake of soil by grazing sheep. *Proceedings of Nutrition Society* 62, XXIV-XXV
- FITZ, W.J. UND W.W. WENZEL (2002): Arsenic transformations in the soil-rhizosphere-plant system: fundamentals and potential application to phytoremediation. *Journal of Biotechnology* 99, 259-278
- FORSBERG, C.W. (1978): Some effects of arsenic on the rumen microflora; an in vitro study. *Canadian Journal Animal Science* 24, 36-44
- FROST, D.V.; L.R. OVERBY UND H.C. SPRUTH (1955): Studies with arsanilic acid and related compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 3, 235-243
- GfE (2001): Empfehlungen zur Energie- und Nährstoffversorgung der Milchkühe und Aufzuchtrinder. 1. Auflage, DLG Verlags GmbH, Frankfurt/Main
- HANSEN, H.R.; A. RAAB; K.A. FRANCESCONI UND J. FELDMANN (2003): Metabolism of arsenic by sheep chronically exposed to arsenosugars as a normal part of their diet. 1. Quantitative intake, uptake, and excretion. *Environmental science and technology* 37, 845-851
- HÄBLER, S. UND R. KLOSE (2006): Untersuchungen zum Arsentransfer Boden - Pflanze auf Grünlandstandorten. *Schriftenreihe der Sächsischen Landesanstalt für Landwirtschaft* 14, Freistaat Sachsen.
- HORN, M. UND A. ERDMANN (1978): Zu einem häufig begangenen Fehler beim statistischen Vergleich von Populationen mit Hilfe von Vertrauensintervallen. *Zeitschrift für Versuchstierkunde* 20, 229-232
- HUGHES, M.F. (2002): Arsenic toxicity and potential mechanisms of action. *Toxicology letters* 133, 1-16
- KRISHNAMOORTHY, U., H. SOLLER, H. STEINGASS, AND K. MENKE. 1991. A comparative study on rumen fermentation of energy supplements in vitro. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 65:28-35.
- LAKSO, J.U. UND S.A. PEOPLES (1975): Methylation of inorganic arsenic by mammals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 23, 674-676
- LEITERER, M.; J.W. EINAX; C. LÖSER UND A. VETTER (1997): Trace analysis of metals in plant samples with inductively coupled plasma – mass spectrometry. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry* 359, 423-426
- MCDUGALL, E.I. (1948): Studies on ruminant saliva, 1. The composition and output of sheep's saliva. *The Biochemical Journal* 43, 99-109
- MENKE, K.; L. RAAB; A. SALEWSKI; H. STEINGASS; D. FRITZ UND W. SCHNEIDER (1979): The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedstuffs from the gas produc-

- tion when they are incubated with rumen liquor in vitro. *The Journal of Agricultural Science, Cambridge* 93, 217-222
- NAUMANN, C. UND R. BASSLER (1976): VDLUFA-Methodenbuch, Vol. III. Die chemische Untersuchung von Futtermitteln mit Ergänzungen von 1983, 1988, 1993, 1997, 2004 und 2006. VDLUFA-Verlag, Darmstadt
- NAUMANN, C. UND R. BASSLER (2004): 5. Ergänzungslieferung. in VDLUFA-Methodenbuch, Vol. III. Die chemische Untersuchung von Futtermitteln. VDLUFA-Verlag, Darmstadt
- NRC (1980): Arsenic. Seiten 40-51 in *Mineral Tolerance of Domestic Animals*. NRC, National Academic Press, Washington
- ODANAKA, Y.; O. MATANO UND A. GOTO (1980): Biomethylation of inorganic arsenic by the rat and some laboratory animals. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 24, 452-459
- ROGAN, W.J.; B.C. GLADEN; J.D. MCKINNEY; N. CARRERAS; P. HARDY; J. THULLEN; J. TINGELSTAD UND M. TULLY (1986): Polychlorinated biphenyls (PCBs) and dichlorodiphenyl dichloroethene (DDE) in human milk: effects of maternal factors and previous lactation. *American Journal of Public Health* 76, 172-177
- SIERRA-ALVAREZ, R.; I. CORTINAS; U. YENAL UND J.A. FIELD (2004): Methanogenic inhibition by arsenic compounds. *Applied and Environmental Microbiology* 70, 5688-5691
- SCHWARZ, T., A. BUSCH UND R. LENK (1991): Preliminary studies of the content of lead, cadmium and arsenic in feed, cattle and food of animal origin from different production regions of Saxony. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift* 98, 369-372
- THORNTON, I. UND P. ABRAHAMS (1983): Soil ingestion - a major pathway of heavy metals into livestock grazing contaminated land. *Science of The Total Environment* 28, 287-294
- VAN DER VEEN, N.G. UND K. VREMAN (1986): Transfer of cadmium, lead, mercury and arsenic from feed into various organs and tissues of fattening lambs. *Netherlands Journal of Agricultural Science* 34, 145-153
- VREMAN, K.; N.G. VAN DER VEEN; E.J. VAN DER MOLEN UND W.G. DE RUIG (1986): Transfer of cadmium, lead, mercury and arsenic from feed into milk and various tissues of dairy cows; chemical and pathological data. *Netherlands Journal of Agricultural Science* 34, 129-144
- WEGNER, R. (2002): Vergiftungen durch Schwermetalle und Arsen. *Internist* 43, 818-827
- WILLHITE C.C. UND V.H. FERM (1984): Prenatal and developmental toxicology of arsenicals. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 177: 205-228

Anhang

Tabelle A 1: Menge, analysierte Rohnährstoffe und As-Konzentrationen der Futterreste aus dem Verdaulichkeitsversuch mit Hammeln beim Zusatz von kontaminierter Erde

Futter	Tier	Futterrest g/Tier/Tag	Organische Substanz	g/kg T			Arsen mg/kg T
				Rohprotein	Rohfett	Rohfaser	
Grassilage, ohne Erde	1	11,0	829	139	18,4	345	1,11
	2	25,0	844	131	14,7	313	0,83
	3	29,4	888	126	11,0	417	0,32
	4	10,5	865	122	9,4	405	1,09
Grassilage, mit Erde	5	214,7	370	77	7,7	124	91,8
	7	198,8	358	77	7,2	113	86,2
	8	100,2	361	73	8,2	107	92,1
Grünfutter, ohne Erde	1	0,0	-	-	-	-	-
	2	0,0	-	-	-	-	-
	3	238,7	748	91	12,6	313	2,01
	4	23,2	679	71	9,5	312	3,28
	5	165,5	694	73	7,8	284	24,1
Grünfutter, mit Erde	6	25,8	246	37	1,0	94	122,1
	7	139,0	404	50	3,6	160	73,2
	8	86,3	210	35	2,1	70	125,2
Heu, ohne Erde	1	0,0	-	-	-	-	-
	2	0,0	-	-	-	-	-
	3	119,8	816	135	14,5	240	1,21
	4	1,9	752	169	18,4	223	7,70
	5	90,9	393	75	5,3	103	92,8
Heu, mit Erde	6	11,4	192	51	0,0	59	103,7
	7	36,7	243	45	0,0	69	117,0
	8	30,4	234	41	1,0	57	103,3

Tabelle A 2: Menge, chemische Zusammensetzung und As-Konzentrationen der Hammelkote aus dem Verdaulichkeitsversuch beim Zusatz von kontaminierter Erde

Futter	Tier	Kotmenge	Organische Substanz	Rohprotein	Rohfett	Rohfaser	Arsen
Grassilage, ohne Erde	1	939	838	110	20	340	0,39
	2	909	838	106	18	344	0,45
	3	830	835	109	22	356	0,44
Grassilage, mit Erde	4	1013	837	108	24	356	0,39
	5	756	805	104	21	342	4,79
	7	795	813	97	20	347	4,23
Grünfutter, ohne Erde	8	874	806	105	20	343	5,37
	1	521	701	111	19	250	0,92
	2	529	725	97	20	255	0,79
Grünfutter, mit Erde	3	466	730	102	26	262	0,61
	4	559	707	101	30	243	0,84
	5	509	580	93	29	177	18,1
Heu, ohne Erde	6	519	628	93	28	211	16,3
	7	625	659	96	25	229	11,3
	8	562	622	92	26	211	13,9
Heu, mit Erde	1	664	834	124	29	259	0,78
	2	642	837	128	30	253	0,64
	3	565	837	122	32	273	0,59
	4	627	836	124	34	248	0,65
	5	602	768	126	32	222	13,3
	6	682	678	102	24	213	24,0
	7	657	731	107	27	234	19,2
	8	666	692	110	29	205	21,9

Tabelle A 3: Menge und As-Konzentrationen der Harnproben aus dem Verdaulichkeitsversuch mit Hammeln beim Zusatz von kontaminierter Erde

Futter	Tier	Harnmenge ml/Tier/Tag	Arsen µg/l
Grassilage, ohne Erde	1	1513	44,3
	2	1140	64,1
	3	1263	66,3
	4	1160	65,3
	5	1870	710
Grassilage, mit Erde	7	1047	1168
	8	1462	938
	1	1653	26,9
Grünfutter, ohne Erde	2	1398	27,2
	3	1183	26,0
	4	1343	26,8
	5	1928	786
	6	1183	954
Grünfutter, mit Erde	7	1518	666
	8	1595	516
	1	1000	111
Heu, ohne Erde	2	510	180
	3	773	140
	4	857	131
	5	697	3140
	6	498	12250
Heu, mit Erde	7	710	6092
	8	1137	4234

Tabelle A 4: Mengen, chemische Zusammensetzung der Futterreste aus dem Verdaulichkeitsversuch mit Hammeln beim Zusatz von di-Arsentrioxid

Ration	Tier	Futterrest	Organische Substanz	Rohprotein	Rohfett	Rohfaser
		g/Tier/Tag	g/kg T			
ohne As	1	2,6	913	71	4,7	415
	2	4,6	875	103	9,4	371
	3	1,7	706	144	12,2	238
	4	0,0	-	-	-	-
mit As	5	19,4	905	91	13,2	383
	6	2,5	840	152	24,1	327
	7	34,4	879	99	15,3	366
	8	1,5	845	189	33,2	290

Tabelle A 5: Mengen, chemische Zusammensetzung und As-Konzentrationen der Hammelkote aus dem Verdaulichkeitsversuch beim Zusatz von di-Arsentrioxid

Ration	Tier	Kot	Organische Substanz	Rohprotein	Rohfett	Rohfaser	Arsen ¹
		g/Tier/Tag	g/kg T				mg/kg
ohne As	1	567	824	124	25,9	313	0,45
	2	546	810	109	23,3	300	0,40
	3	545	822	114	22,2	295	0,47
	4	572	833	116	20,7	303	0,65
mit As	5	525	827	112	21,2	295	33,1
	6	569	823	129	23,9	290	33,3
	7	588	834	130	22,0	316	28,5
	8	509	817	119	22,7	293	41,8

¹ Basis bei 65 °C über 24 h getrocknete Kote

Tabelle A 6: Mengen und As-Konzentrationen der Harnproben aus dem Verdaulichkeitsversuch mit Hammeln beim Zusatz von di-Arsentrioxid

Ration	Tier	Harn	Arsen
		ml/Tier/Tag	µg/l
ohne As	1	887	51
	2	875	47
	3	1164	30
	4	486	73
mit As	5	676	3767
	6	489	4665
	7	413	5757
	8	1705	1170

Impressum

- Herausgeber:** Sächsisches Landesamt für Umwelt, Landwirtschaft und Geologie
Pillnitzer Platz 3, 01326 Dresden
Internet: www.smul.sachsen.de/fulg
- Autoren:** Dr. Jeannette Boguhn, Ricarda Krüger, Prof. Dr. Markus Rodehutschord
Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
Institut für Agrar- und Ernährungswissenschaften
Professur für Tierernährung
Emil-Abderhalden-Str. 26
06108 Halle
Telefon: 0345 5522700
Telefax: 0345 5527124
E-Mail: te-halle@landw.uni-halle.de
- Dr. Olaf Steinhöfel
Sächsisches Landesamt für Umwelt, Landwirtschaft und Geologie
Abteilung Tierische Erzeugung
Am Park 3
04886 Köllitsch
Telefon: 034222 46-172
Telefax: 034222 46-109
E-Mail: olaf.steinhoefel@smul.sachsen.de
- Redaktion:** Dr. Olaf Steinhöfel
- Endredaktion:** Öffentlichkeitsarbeit
Präsidialabteilung
- ISSN:** 1867-2868
- Redaktionsschluss:** März 2009

Für alle angegebenen E-Mail-Adressen gilt:

Kein Zugang für elektronisch signierte sowie für verschlüsselte elektronische Dokumente

Verteilerhinweis

Diese Informationsschrift wird von der Sächsischen Staatsregierung im Rahmen der Öffentlichkeitsarbeit herausgegeben. Sie darf weder von Parteien noch von Wahlhelfern zum Zwecke der Wahlwerbung verwendet werden. Dies gilt für alle Wahlen.