
Institut für Tierernährung
des Bundesforschungsinstitutes für Tiergesundheit
des Friedrich-Loeffler-Institutes
&
Institut für Agrar- und Ernährungswissenschaften
der Naturwissenschaftlichen Fakultät III
der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

**Einfluss von Seltenen Erden auf Gesundheit und Leistung von Wiederkäuern
und Carry over Seltener Erden in essbare Gewebe und Knochen**

DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades der
Ernährungswissenschaften (Dr. troph.)

vorgelegt von
Diplom-Ökotrophologin (FH) **Annett Brandl-Schwabe (geb. Schwabe)**
geboren am 26.11.1978 in Halle/Saale

Gutachter : Prof. Dr. Gabriele Stangl
Prof. Dr. Dr. Sven Dänicke
Prof. Dr. Martin Wähner

Verteidigung am: 13.07.2015

Halle/Saale 2015

*Für Christian, meine Eltern
und meine Oma Lucie*

INHALTSVERZEICHNIS

EINLEITUNG	1
LITERATURÜBERSICHT	3
1 Einordnung Seltener Erden im Periodensystem, ihre Klassifizierung und Vorkommen	3
2 Chemische und physikalische Eigenschaften der Seltenen Erden	4
3 Einsatz in Industrie und Medizin	5
4 Toxikokinetik	6
4.1 Absorption	6
4.2 Akkumulation	7
4.3 Elimination	11
5 Toxizität von Seltenen Erden	11
5.1 Akute orale Toxizität	11
5.2 Chronische orale Toxizität	12
5.3 Mutagene, kanzerogene und teratogene Toxizität	14
5.4 Toxizität bei parenteraler Applikation	15
6 Einsatz von Seltenen Erden in der chinesischen und westeuropäischen Tierproduktion	16
7 Erklärungsansätze zur Wirkungsweise der SE als Leistungsförderer	22
ZIELSTELLUNG	27
PAPER I	29
Effect of graded levels of rare earth elements in diets of fattening bulls on growing and slaughtering performance, and on nutrient digestibility of wethers	
Archives of Animal Nutrition (2011) 65: 55-73	
PAPER II	51
Effect of rare earth elements (REE) supplementation to diets on the carry-over into different organs and tissues of fattening bulls	
Livestock Science (2012) 143: 5-14	
PAPER III	70
Effects of rare earth elements (REE) supplementation to diets on the health and performance of male and female pre-ruminant calves and growing female calves	
Landbauforschung Applied Agriculture and Forestry Research (2012) 62: 129-136	
ÜBERGREIFENDE DISKUSSION	85
1 Einfluss von SE auf die Tiergesundheit	86
2 Einfluss von SE auf die zootechnischen Leistungsparameter	88
3 Schlachtleistung und Carry over Seltener Erden	92
4 Risikoabschätzung für die menschliche Gesundheit	94
SCHLUSSFOLGERUNGEN	97
ZUSAMMENFASSUNG	99
SUMMARY	102
LITERATURVERZEICHNIS	105
(zitiert in Einleitung, Literaturübersicht und der übergreifenden Diskussion)	

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

Einleitung, Literaturübersicht und übergreifende Diskussion

ADF	Säure Detergenzien Faser
ADI	Acceptable daily intake
ALT	Alanin-Aminotransferase
AP	Alkalische Phosphatase
AST	Aspartat-Aminotransferase
ATP	Adenosintriphosphat
ATPase	Adenosintriphosphatase
Ca	Calcium
Ce	Cer
Ce ³⁺	Cerion
Cl	Chlorid
Dy	Dysprosium
EFSA	Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit
EG	Europäische Gemeinschaft
Er	Erbium
EU	Europäische Union
Eu	Europium
FAO	Ernährungs- und Landwirtschaftsorganisation der Vereinten Nationen
FLI	Friedrich-Loeffler-Institut
Gd	Gadolinium
GLDH	Glutamatdehydrogenase
γ-GT	Gamma-Glutamyl-Transferase
Ho	Holmium
IgM	Immunglobulin M
KZ	Koordinationszahl
La	Lanthan
La ³⁺	Lanthanion
La(NO ₃) ₃	Lanthannitrat
LD ₅₀	Mittlere letale Dosis
LM	Lebendmasse
LMZ	Lebendmassezunahme
Lu	Lutetium
MAT	Milchaustauscher
MRT	Magnetresonanztomographie
MW	Mittelwert
Nd	Neodym
NDF	Neutrale Detergenzien Faser
NOAEL	No observed adverse effect level
NVS II	Nationale Verzehrsstudie II
OECD	Organisation für wirtschaftliche Zusammenarbeit und Entwicklung
OZ	Ordnungszahl
pm	Pikometer

Pm	Promethium
ppm	Parts per million
Pr	Praseodym
Sc	Scandium
SD	Standardabweichung
SE	Seltene Erden
Sm	Samarium
t	Tonnen
T	Trockenmasse
T ₃	Triiodthyronin
T ₄	Thyroxin
Tb	Terbium
Tm	Thulium
USA	United States of America
WH	Wachstumshormon
Y	Yttrium

Paper I, II, III

ADF	Acid detergent fibre
AG	Stock company
ANOVA	Analysis of variance
°C	Degree Celsius
Ca ²⁺	Calciumion
CeCl ₃	Cerchloride
Con	Control
d	Day
DLG	Deutsche Landwirtschafts-Gesellschaft
DM	Dry matter
EBW	Empty body weight,
EC	European Community
Fig.	Figure
FLI	Friedrich-Loeffler-Institute
FM	Frischmasse
GfE	Society of Nutrition Physiology
h	Hour
H ₂ O ₂	Hydrogen peroxide
HNO ₃	Nitric acid
ICP-MS	Inductively coupled plasma-mass spectrometry
LaCl ₃	Lanthanumchloride
LAVES	Lower Saxony State Office for Consumer Protection and Food Safety
LW	Live weight
LSmeans	Least square means
M.	Musculus
ME	Metabolisable energy
N	Nitrogen
n	Number of animals

NDF	Neutral detergent fibre
PSEM	Pool standard error of means
REE	Rare earth elements
VDLUFA	Verband Deutscher Landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten
vs.	Versus

TABELLENVERZEICHNIS

LITERATURÜBERSICHT

Tabelle 1:	Gehalte an Seltenen Erden in Organen und Geweben von Schweinen und Geflügel	9
Tabelle 2:	Einfluss von Seltenen Erden in chinesischen Fütterungsversuchen bei Schweinen und Geflügel	17
Tabelle 3:	Einfluss von Seltenen Erden auf zootechnische Leistungsparameter bei Schweinen, Ergebnisse aus europäischen Fütterungsstudien	20

PAPER I

Table 1:	Composition of the concentrates [g/kg] used in the growing and fattening periods	32
Table 2:	Nutrient composition and energy content of concentrates, grass silage and grass hay as well as the contents of rare earth elements (REE) in the growing period.	33
Table 3:	Nutrient composition and energy content of concentrates and maize silage as well as the contents of rare earth elements (REE) in the fattening period	33
Table 4:	Effects of rare earth elements (REE) supplemented feed for bulls on feed intake, crude protein intake, ME intake, live weight gain, feed-to-gain ratio and ME-to-gain ratio during the growing period from 119 kg to 180 kg live weight	37
Table 5:	Effects of rare earth elements (REE) supplemented feed for bulls on the daily intake of feed, crude protein and ME during different experimental periods in the fattening period from 180–556 kg live weight	39
Table 6	Effect of rare earth elements (REE) supplemented feed for bulls on live weight gain, feed-to-gain ratio and ME-to-gain ratio during different experimental periods in the fattening period from 180–556 kg live weight	41
Table 7:	Effects of rare earth elements (REE) on nutrient digestibility [%] of a straw/concentrate ration (60:40 on a DM-basis) as measured with wethers (n = 4)	42
Table 8:	Effects of rare earth element (REE)-supplemented feed for bulls on carcass composition and organ weights	43

PAPER II

Table 1:	Composition of the concentrates, grass and maize silages and grass hay as well as the REE contents used in the growing (GP) and fattening period (FP)	55
Table 2:	REE concentration [$\mu\text{g}/\text{kg DM}$] of total feed and REE intake [$\mu\text{g}/\text{kg LW}/\text{day}$] of bulls in the fattening period	58
Table 3:	Effects of REE supplemented feed for bulls on feed intake, live weight gain, feed-to-gain ratio and metabolisable energy-to-gain ratio during the growing and fattening period	59
Table 4:	Concentrations of REE [$\mu\text{g}/\text{kg DM}$] in liver and kidneys of bulls fed diets containing increasing amounts of REE over the entire fattening period (119-556 kg live weight)	60
Table 5	Concentrations of REE [$\mu\text{g}/\text{kg DM}$] in rib bone and <i>Musculus longissimus</i> of bulls fed diets containing increasing amounts of REE over the entire fattening period (119-556 kg live weight)	61

PAPER III

Table 1:	Composition of the milk replacer [g/kg] used in the milk feeding period	74
Table 2:	Composition of the concentrates [g/kg] used in the milk feeding period (MFP) and growing period (GP)	74
Table 3:	Dry matter, nutrient composition and energy concentration of the milk replacer, concentrates and grass hay as well as the rare earth element (REE) contents in the milk feeding period	77
Table 4:	Dry matter, nutrient composition and energy concentration of the concentrates, grass silage and grass hay as well as the rare earth element (REE) contents in the growing period	77
Table 5:	Effects of rare earth elements (REE) supplemented feed for calves on feed intake, live weight as well as live weight gain, feed-to-gain ratio and ME-to-gain ratio during the milk feeding period (Experiment 1)	79
Table 6:	Effects of rare earth elements (REE) supplemented feed for female calves on feed intake, crude protein intake, ME intake, live weight gain, feed-to-gain ratio and ME-to-gain ratio during the growing period from 108 kg to 182 kg body weight. (Experiment 2)	80

ÜBERGREIFENDE DISKUSSION

Tabelle 4:	Carry over-Faktor (als Quotient der ermittelten SE-Konzentration im untersuchten Tiergewebe und der Konzentration der SE im aufgenommenen Futtermittel) von Lanthan, Cer und Praseodym in Leber, Niere, Knochen und Muskel bei Mastbullen (MW \pm SD)	94
Tabelle 5	Seltene Erden Exposition zur Risikoabschätzung für den Verbraucher auf Basis der höchsten analysierten SE Konzentrationen [Summe aller einzelnen Elemente] in Leber, Niere und Muskelfleisch und dem täglich angenommenen Verzehr dieser Lebensmittel nach Daten der NVS II; 95. Perzentil	95

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

PAPER I

PAPER II

- Figure 1: Concentration of lanthanum, cerium and praseodymium in liver, kidney, rib bone and *Musculus longissimus* in relation to the daily dietary intake per kg live weight ($\mu\text{g}/\text{kg}$ LW per day) of bulls fed the control or REE supplemented diets 62

PAPER III

ÜBERGREIFENDE DISUSSION

- Abbildung 1: Relative Veränderung von Futteraufnahme (FA) und Lebendmassezunahme (LMZ) der SE-Supplementationsgruppen 88
- Abbildung 2: Aufnahme an Grasheu und Maissilage (means \pm SD; n= 11 bzw. 12 Tiere) in Abhängigkeit von der SE-Konzentration des Kraftfutters während der Aufzucht (A) bzw. Mastperiode (B) des Dosis-Wirkungsversuches (Paper I) 89
- Abbildung 3: Einfluss der SE auf die Verdaulichkeit von Trockenmasse, organischer Masse, Rohprotein, Rohfaser, stickstofffreie Extraktstoffe, Säure Detergenzien Faser und Neutral Detergenzien Faser in dem durchgeführten Hammelversuch in Relation zur Kontrolle 92

EINLEITUNG

Sowohl in der Human- als auch in der Veterinärmedizin werden antimikrobiell wirksame Substanzen in großem Umfang eingesetzt. Bei landwirtschaftlichen Nutztieren werden Antibiotika einerseits als Therapeutika eingesetzt, andererseits fanden sie als Futterzusatzstoffe Anwendung. Neben ihrem therapeutischen Einsatz zur Behandlung bakterieller Infektionserkrankungen dienen Antibiotika auch zur Prophylaxe und Metaphylaxe, während Fütterungsantibiotika mit dem Ziel der Mastleistungssteigerung in Kälber-, Geflügel-, und Ferkelmastbeständen eingesetzt wurden. Als Leistungsförderer wurden sie dem Futter in geringen Dosen beigefügt, wobei die eingesetzten Mengen etwa einem Hundertstel der therapeutischen Dosis entsprachen. Die nutritive Wirkung der Antibiotika beruhte dabei unter anderem auf einer Verbesserung der Futtermittelverwertung, die eine Wachstumssteigerung zur Folge hatte (Weiß et al. 2005). Diesen positiven Effekten der Leistungsförderer stand eine zunehmende Ausbreitung von Antibiotikaresistenzen bei human- und tierpathogenen Bakterien gegenüber, was die Diskussion über die Risiken jeglichen Einsatzes antibiotischer Wirkstoffe neu entfachte (Kamphues 1999). Diese Tatsache führte in der gesamten EU zu einer schrittweisen Einstellung der antibiotischen Leistungsförderer (Dibner und Richards 2005) und endete schließlich in einem generellen Verbot am 01.01.2006 (Jouany und Morgavi 2007). Mit diesem Verbot stand eine wichtige Gruppe wirksamer und günstiger Futterzusatzstoffe nicht mehr zur Verfügung. Zudem wird der weltweite Fleischkonsum in den kommenden Jahren bedingt durch die stetig zunehmende Weltbevölkerung und der wirtschaftlichen Entwicklung kontinuierlich weiter ansteigen. Laut OECD und FAO soll die Weltfleischproduktion von 300 Millionen Tonnen im Jahr 2012 auf 350 Millionen Tonnen bis zum Jahr 2021 ansteigen (Deutscher Bauernverband 2013). Um diese wachsende Nachfrage nach hochwertigen Nahrungsmittelgütern decken zu können, wurden Berechnungen angestellt, die ergaben, dass die Herstellung von tierischen Nahrungsmitteln weltweit um mindestens 2 % jährlich ansteigen müsste, um eine ausreichende Lebensmittelversorgung gewährleisten zu können. Daher werden neue, sichere, kostengünstige alternative Ersatzstoffe mit ähnlich verlässlichen Wirkungen benötigt, um das Leistungsniveau der Nutztiere aufrechtzuerhalten bzw. dieses nachhaltig zu verbessern (Redling 2006). Darüber hinaus besitzen verbesserte biologische Leistungen auch in ökologischer und ökonomischer Hinsicht einen hohen Stellenwert, denn je höher die Lebendmassezunahmen und je geringer der Futteraufwand ist, umso weniger Ressourcen müssen für die Produktion von Fleisch aufgewendet werden und umso weniger Gülle wird

produziert. Als mögliche Alternativen zu den antibiotischen Leistungsförderern stehen zum jetzigen Zeitpunkt in der Tierernährung Probiotika, Prebiotika, organische Säuren, Enzyme, Spurenelemente, Kräuter und deren Extrakte zur Verfügung (Finkenzeller 2011). Allerdings sind die Wirkungen dieser oftmals als „alternative Leistungsförderer“ bezeichneten Zusatzstoffe in Beziehung auf die zootechnischen Leistungsparameter der Nutztiere meist geringer als die antibiotischen Leistungsförderer und häufig nicht reproduzierbar. Seit gut einem Jahrzehnt werden in Europa Seltene Erden (SE), die in China bereits seit mehreren Jahrzehnten erfolgreich zur Leistungssteigerung in der Tier- und Pflanzenproduktion eingesetzt werden, als eine weitere mögliche Alternative zu den Fütterungsantibiotika in der Tierernährung getestet. Bei den SE handelt es sich um eine Gruppe von 17 Übergangsmetallen, zu denen die Elemente Scandium, Yttrium, Lanthan und die 14 auf das Lanthan folgenden Elemente, die sogenannten Lanthanoide zählen. Die vielversprechenden Berichte aus China von den leistungsfördernden Wirkungen waren Anlass, verschiedene Substanzen und Dosierungen vorwiegend bei Schweinen, später jedoch auch bei Geflügel und anderen Tierarten unter europäischen Bedingungen zu prüfen (Redling 2006). Erste sehr interessante Ergebnisse wurden in einem Versuch mit Kälbern von Meyer et al. (2006) erzielt. Durch eine Zulage von 200 mg/kg SE-Citrat zum Milchaustauscher während einer sechswöchigen Tränkeperiode konnte eine Steigerung der Lebendmassezunahme um 14,6 % und eine Verbesserung des Futteraufwandes um 19,6 % gegenüber der Kontrollgruppe ermittelt werden. In der Schweiz sind SE als Leistungsförderer bereits seit 2003 zugelassen, in der Europäischen Union werden sie bisher jedoch noch nicht eingesetzt. Ein Zulassungsantrag bei der Europäischen Kommission für Ferkel- und Mastschweine wurde aber bereits eingereicht. Die rechtlichen Bestimmungen für das Inverkehrbringen sowie die Verwendung von Zusatzstoffen in Futtermitteln zur Anwendung in der Tierernährung sind EU-weit einheitlich durch die Verordnung (EG) Nr. 1831/2003 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 22. September 2003 festgelegt. Für eine mögliche Zulassung von SE als neuen Futtermittelzusatzstoff muss neben der Wirksamkeit aber auch der Nachweis erbracht werden, dass ihr Einsatz keine schädlichen Auswirkungen auf die Zieltiere, die menschliche Gesundheit und die Umwelt mit sich bringt.

LITERATURÜBERSICHT

1 Einordnung Seltener Erden im Periodensystem, ihre Klassifizierung und Vorkommen

Zu den Seltenen Erden zählen 17 Übergangsmetalle die in der 3. Nebengruppe des Periodensystems stehen. Hierbei handelt es sich um die Elemente Scandium (Sc), Yttrium (Y) und Lanthan (La) sowie um die 14 auf das Lanthan folgenden Elemente Cer (Ce), Praseodym (Pr), Neodym (Nd), Promethium (Pm), Samarium (Sm), Europium (Eu), Gadolinium (Gd), Terbium (Tb), Dysprosium (Dy), Holmium (Ho), Erbium (Er), Thulium (Tm), Ytterbium (Yb) und Lutetium (Lu), wobei die Elemente Lanthan bis Lutetium auch als Elemente der Lanthanreihe oder als Lanthanoide bezeichnet werden. Obwohl die Elemente Scandium und Yttrium nicht zu den Lanthanoiden zählen, werden sie aufgrund ihrer ähnlichen chemischen Eigenschaften und aufgrund der Tatsache, dass Yttrium häufig zusammen mit den Lanthanoiden in natürlichen Mineralien vorkommt, mit zu der Gruppe der SE gezählt. In Anbetracht ihres gemeinsamen Vorkommens in der Natur sowie ihres chemischen und physikalischen Verhaltens erfolgt mitunter eine weitere Unterteilung der SE in zwei Gruppen, in die Leichten (Ceriterden) und Schweren Seltenen Erden (Yttererden). Zur Gruppe der Ceriterden zählen die Elemente Lanthan bis Europium während die Gruppe der Yttererden die Elemente Gadolinium bis Lutetium (einschließlich Yttrium) umfassen. Scandium wird in keine dieser Gruppen eingeordnet (Geschneidner 1978).

SE kommen entgegen ihrer Namensgebung mit Ausnahme von dem instabilen, radioaktiven Promethium in relativ hohen Anteilen in der Erdkruste vor. Der Anteil an den Elementen in der Erdkruste macht 0,01 bis 0,02 Gewichtsprozent aus (Loell et al. 2011). So kommt beispielsweise Cer als häufigster Vertreter der SE mit einem Massenanteil von $4,3 \cdot 10^{-3} \%$ an 28. Stelle der Häufigkeit der Elemente in der Erdkruste vor. Im Meerwasser beträgt die Konzentration an Cer(III)-Ionen etwa $1,8 \mu\text{g}/\text{m}^3$. Lanthan steht mit einem Anteil von $1,7 \cdot 10^{-3} \%$ an 36. Stelle. Im Meerwasser sind Lanthan(III)-Ionen zu $2,8 \mu\text{g}/\text{m}^3$ enthalten (Binder 1999; Schöne 2009). Verglichen mit dem Vorkommen anderer Metalle in der Erdkruste sind beispielsweise Arsen, Cadmium, (Hirano und Suzuki 1996, Glasbasnia-Kreppold 2008) Zinn, Quecksilber und Kobalt seltener als Cer und Blei seltener als Lanthan, Neodym und Yttrium. Selbst im Vergleich zu Jod oder den Edelmetallen Gold, Silber und Platin kommt Thulium, das nach Promethium seltenste Lanthanoid, welches eine Konzentration von $0,5 \text{ mg}/\text{kg}$ aufweist, noch erheblich häufiger vor. Auch bei den SE bestätigt sich die Gültigkeit der Harkinschen Regel, die besagt, dass Elemente mit einer geraden Kernladungszahl häufiger auftreten als die benachbarten Elemente mit ungerader

Kernladungszahl (Bulman 2003a, Zohravi 2007). In der Natur sind SE niemals in Reinform zu finden. Sie kommen in mehr als 200 verschiedenen Mineralien natürlich vor. Dort sind die SE in Form von ionischen Verbindungen als Fluoride, Oxide, Hydroxide, Carbonate, Phosphate und Silicate an die Mineralien gebunden (Zhang et al. 1995; Tyler 2004; Kanazawa und Kamitani 2006). Die SE sind in praktisch allen Regionen und Böden auf der Erde zu finden. Nur der SE-Gehalt und die individuelle Zusammensetzung der Mineralien und Elemente sind je nach Gebiet sehr unterschiedlich. Monazit, Bastnäsit, Cerit und Allanit sind wichtige Lanthanoidmineralien, die überwiegend Ceriterden enthalten. In Thalenit, Thortveitit und Xenotim sind vorrangig Yttererden vertreten. Betafit, Euxenit und Samarskit sind Beispiele für Mineralien in denen Ceriterden und Yttererden zu gleichen Teilen vorkommen (Henderson 1984). Für den gewerbsmäßigen Abbau der SE eignen sich aufgrund der technisch sehr aufwendigen und kostenintensiven Separierung der SE-Metalle aus den natürlichen Verbindungen nur wenige Mineralien (Riedel 2007). Die hierfür weltweit industriell bedeutendsten Gesteinsformen sind Monazit, ein Lanthanoid-Thorium-Phosphat und Bastnäsit, ein Lanthanoid-Fluorocarbonat (Kanazawa und Kamitani 2006). Größere Vorkommen an diesen SE reichen Mineralien befinden sich neben Regionen in Russland, Indien, den USA und Australien vor allem in China. China ist mit einer Förderung von jährlich 120.000 t SE-Oxiden der Weltmarktführer für Lanthanoide.

2 Chemische und physikalische Eigenschaften der Seltenen Erden

Bei den SE handelt es sich um silberfarbene, an der Luft leicht oxidierbare und relativ weiche Metalle. Sie sind sehr elektropositiv und reaktionsfähig, haben eine geringe Leitfähigkeit und liegen meist in der hexagonal dichtesten Kugelpackung vor. Die Elemente der SE zeigen sehr ähnliche physikalische und chemische Eigenschaften. Aus diesem Grund war es in der Vergangenheit auch sehr schwierig die einzelnen Seltenerdmetalle zu isolieren. Die große Ähnlichkeit ihrer Eigenschaften ist in der Elektronenkonfiguration zu suchen. Mit steigender Ordnungszahl wird kontinuierlich das 4f-Orbital aufgefüllt. Da die äußeren Orbitale den größten Einfluss auf die chemische Reaktivität haben, das 4f-Orbital aber relativ zur Größe der Atome eher in der Mitte ist, hat die Zunahme an Elektronen nur einen geringen Einfluss auf die Eigenschaften. Die Größe sinkt vielmehr durch die Zunahme an Protonen und Neutronen mit zunehmender Ordnungszahl ab. Diese als Lanthanoidenkontraktion bezeichnete Eigenschaft hat seine Ursache in der immer stärker werdenden Kernladung, die die Elektronenwolke stärker anzieht. SE bilden überwiegend ionische Bindungen und die dafür charakteristische dreidimensionale Gitterstruktur

(Greenwood 1988). Hierbei können einige der SE-Elemente auch die Oxidationszahl (OZ) II^+ (Sm, Eu, Er, Tm, und Yb) oder IV^+ (Ce, Pr, Nd, Tb, Dy, und Ho) annehmen. Die aufgrund eines stabilisierenden Effektes jedoch bevorzugte OZ der SE ist III^+ (Evans 1990). In diesem Zustand bleiben die 6s- und 5d- Orbitale unbesetzt und die Elektronen auf den 4f-Orbitalen werden stark eingebettet. Daher sind SE-Verbindungen sehr stabil und nur schwer löslich. Alle diese spezifischen physikalischen Merkmale tragen zur Reaktivität und charakteristischen Komplexbildung der SE bei (Kobayashi 1999). SE haben mit den Erdalkalimetallen, vor allem aber mit Calcium (Ca), viele chemische und physikalische Gemeinsamkeiten: Ca und Lanthanoiden ist gemeinsam, dass sie ionische Bindung bevorzugen und hierin fast ausschließlich positiv geladen sind. Der Ionenradius in der dritten OZ der meisten SE Elemente (z.B: La, 103,2 pm; Ce, 102 pm; Pr, 99 pm; Nd, 98,3 pm) ist dem Ionenradius des Calciums in OZ II (99 pm) sehr ähnlich (Greenwood 1988). Die Koordinationsgeometrie der Lanthanoide ist sehr flexibel, bevorzugte Koordinationszahl (KZ) ist 8 oder 9, aber eine KZ von 6 - 12 ist möglich, ähnlich wie bei Ca (bevorzugte KZ 6 oder 7). Aus diesem Grund ist auch eine individuelle Anpassung an Bindungsstellen möglich (Evans, 1990).

3 Einsatz in Industrie und Medizin

Aufgrund ihrer vielfältigen Eigenschaften werden die SE heutzutage in den verschiedensten Bereichen der Industrie und Technik eingesetzt (Palasz und Czekaj 2000). Es konnte gezeigt werden, dass der Zusatz von SE einen positiven Einfluss auf Eigenschaften von Materialien und Werkstoffen haben kann. Aus diesem Grund erleben die SE in den letzten Jahren einen enormen Nachfrageboom im industriellen Bereich. Eingesetzt werden sie derzeit vor allem in der Glas- und Keramikindustrie (30 %), in der Erdölraffinerie als Katalysatoren (28 %), in der Metallurgie als Zusatzstoffe und in Legierungen (19 %), in Kraftfahrzeugen als Abgaskatalysatoren (14 %), bei der Herstellung von Permanentmagneten (3 %) sowie für Beleuchtung, Fernsehgeräte, Computermonitore und Radar (3 %) und weitere 3 % verbleiben in der Kategorie Sonstiges (Castor und Hedrick 2006).

Darüber hinaus finden die SE Anwendung im medizinischen Bereich. So dienen sie in der radiologischen Diagnostik als Leuchtstoffe in Verstärkerfolien (Evans 1990). In der Magnetresonanztomografie (MRT) werden gadoliniumhaltige Verbindungen als Kontrastmittel verwendet (Reimer und Vosshenrich 2004). Im therapeutischen Sektor findet die cernitrathaltige Silbersulfadiazin-Salbe unter dem Handelsnamen „Flammacerium®“ für die topische antiseptische Behandlung von Hautverbrennungen Anwendung. Neben dem

direkten antiseptischen Effekt trägt Cer auch zur Vorbeugung von septischen und entzündlichen Reaktionen durch die Fixation von Toxinen in der Brandwunde bei. Das Eindringen und die Kolonisation von Bakterien als auch die Penetration von Lipid-Protein-Komplexen in die Blutzirkulation wird durch die Bildung eines grünlich-gelben lederartigen, undurchlässigen Wundschorfs verhindert (Lansdown et al. 2003; Garner und Heppell 2005; Jakupec et al. 2005; Fricker 2006). In Deutschland wurde Ende des Jahres 2006 das Medikament „Fosrenol®“ (Shire US Inc., USA) mit dem Wirkstoff Lanthanarbonat zugelassen und wird seither mit gutem Erfolg zur Senkung der Hyperphosphatämie und zur Vorbeugung renaler Osteodystrophie bei terminaler Niereninsuffizienz eingesetzt. Dieses Medikament soll die aluminium- bzw. calciumhaltigen Phosphatbinder ersetzen, die zahlreiche Nebenwirkungen aufweisen (Fricker 2006). Im veterinärmedizinischen Bereich ist seit dem Jahr 2008 Lanthanarbonat-Oktahydrat unter der Handelsbezeichnung „Lantharenol®“ als zootechnischer Zusatzstoff zur Herabsetzung der Phosphorabsorption bei Katzen zugelassen um so eine chronische Niereninsuffizienz zu verhindern bzw. abzuschwächen (Verordnung (EG) Nr. 163/2008).

4 Toxikokinetik

Im Hinblick auf eine mögliche Zulassung der SE in der Europäischen Union als einen neuen Futtermittelzusatzstoff zur Leistungssteigerung bei Nutztieren, sind Kenntnisse über Absorption, Akkumulation, Elimination und Toxizität erforderlich, um Aussagen zur Risikobewertung für Mensch, Tier und Umwelt treffen zu können.

4.1 Absorption

Der Absorptionsgrad wird durch vielfältige Faktoren, wie beispielsweise Alter, Ernährungszustand der Tiere und chemische Bindungsform der Elemente, beeinflusst (Hirano und Suzuki 1996; Redling 2006). Nach Kostial et al. (1989) findet die gastrointestinale Absorption der SE im unteren Dünndarmabschnitt vor allem im Ileum statt, wobei sie nur zu einem sehr geringen Anteil absorbiert werden. In einer älteren Untersuchung konnten Durbin et al. (1956) nach oraler Applikation bei ausgewachsenen Ratten eine Absorptionsrate von 0,1 % ermitteln. Arvela (1977) gab in seiner Übersichtsarbeit für SE eine allgemeine orale Absorptionsrate von 0,05 % an. Auch Albaaj und Hutchison (2005) berichteten bei Hunden von einer minimalen intestinalen Absorption von 0,00005 % nach oraler Aufnahme von Lanthanarbonat. Eine orale Bioverfügbarkeit von 0,00089 % (Behets et al. 2004) konnte beim Menschen für Lanthanarbonat beobachtet werden.

Ausnahmen in der Absorption zeigten sich allerdings in Untersuchungsergebnissen bei neugeborenen und sehr jungen Tieren. Inaba und Lengemann (1972) führten diese Tatsache auf eine in diesem Alter sehr starke unspezifische Phagozytoseaktivität der Epithelzellen der intestinalen Mucosa zurück, da diese in der Lage sind, durch Pinocytose Metallionen aufzunehmen. So ermittelten Mraz und Eisele (1977) bei Saugferkeln nach oraler Verabreichung von $^{144}\text{Ce}^{3+}$ -chlorid am ersten Tag nach der Geburt eine Absorptionsrate von 8 %. Bei Verabreichung von $^{144}\text{Ce}^{3+}$ -chlorid am vierten Tag nach der Geburt lag diese nur noch bei 2,5 %. Sullivan et al. (1984) konnten sogar eine 4 bis 100-fach höhere Absorptionsrate von ^{147}Pm bei neugeborenen Ratten im Vergleich zu ausgewachsenen Ratten beobachten. Darüber hinaus zeigte sich auch bei erwachsenen Tieren durch Fasten (Sullivan et al. 1986; Hirano und Suzuki 1996) sowie bei einem Mangel an Calcium, Phosphor und Vitamin A (Venugopal et al. 1978) eine verstärkte Aufnahme von SE aus dem Verdauungstrakt. Eine ähnliche Beobachtung konnte auch nach einer Verfütterung einer Cer-haltigen Ration bei gleichzeitig vermindertem Magnesiumgehalt gemacht werden (Eapen et al. 1996). Als Ursache hierfür vermuten die Autoren eine Erhöhung der Membranpermeabilität aufgrund des Magnesiumdefizits.

4.2 Akkumulation

Trotz der sehr geringen oralen Absorptionsrate findet man bei einer längerfristigen Aufnahme eine begrenzte Speicherung in den Organen. Nach Nakamura et al. (1991) erfolgt die Akkumulation von SE in absteigender Reihenfolge in Leber, Knochen, Milz, Niere, Herz und Lunge. Darüber hinaus beschrieben die Autoren in einer späteren Untersuchung, dass die SE-Ionen im Blut bei Ratten maximal einen Tag zirkulieren, während sie in den Organen über einen längeren Zeitraum nachzuweisen sind. So erreichte beispielsweise der Gehalt an intravenös appliziertem Yttrium, Europium, Dysprosium und Ytterbium in der Leber sein Maximum nach 8 bis 48 Stunden, anschließend war ein allmählicher Rückgang zu beobachten. Weiterhin zeigten sie, dass nach intravenöser Gabe von verschiedenen SE-Chloriden mehr als 78 % von der Dosis in Leber, Milz und Knochen akkumulierten (Nakamura et al. 1997). Dabei reichern sich die leichten SE insbesondere in der Leber an während die schwereren SE vor allem im Knochen akkumulieren (Evans 1990; Qiu et al. 2005). Im Hinblick auf die Risikobewertung von Lebensmitteln sind die SE-Gehalte in der Leber, als Hauptakkumulationsort, und im Muskelgewebe, als bedeutendes Lebensmittel, von besonderem Interesse. In der europäischen Literatur liegen jedoch vor allem Informationen zum Carry over der SE in Organen und Geweben bei den

landwirtschaftlichen Nutztieren Schwein und Geflügel vor, wie auszugsweise aus der Tabelle 1 entnommen werden kann, wohingegen bei Wiederkäuern kaum Angaben verfügbar sind. In einem Fütterungsversuch über 32 Wochen, bei denen Mastrindern 200 mg SE-Citrat/kg T verabreicht wurden, konnten signifikant höhere Konzentrationen an Lanthan, Cer und Praseodym in den Geweben Leber, Niere, Milz und Knochen nachgewiesen werden. Im Vergleich zur Kontrollgruppe lagen beispielsweise die Lanthankonzentrationen von Leber, Niere, Milz und Knochen um den Faktor 13,9; 14,6; 12,3 beziehungsweise 7,5 höher. Keine signifikanten Unterschiede konnten hingegen im Muskel (*M. longissimus*) festgestellt werden (Schwabe et al. 2008).

Tabelle 1: Gehalte an Seltenen Erden in Organen und Geweben von Schweinen und Geflügel

Tierart und - kategorie	Dosis [mg/kg Futter]	SE-Substanz	Dauer	Organ/ Gewebe	Lanthan	Cer	Praseodym Neodym Samarium			Literatur
							[µg/kg Trockenmasse]			
Ferkel‡ Poolproben 12 Tiere pro Gruppe	0	Kontrolle	5 Wochen	Leber	1,1	<17	-	-	-	He und Rambeck (2000)
	75	La-Chlorid			6,2	<27	-	-	-	
	150	La-Chlorid			12,0	<20	-	-	-	
	75	SE-Chlorid		2,1	<17	-	-	-		
	150	SE-Chlorid		5,5	<28	-	-	-		
	0	Kontrolle		Niere	<2,2	<12	-	-	-	
	75	La-Chlorid			<1,7	<20	-	-	-	
	150	La-Chlorid			<2,3	<13	-	-	-	
	75	SE-Chlorid		<1,0	<12	-	-	-		
	150	SE-Chlorid		<1,8	<21	-	-	-		
	0	Kontrolle		Muskel*	7,7	<27	-	-	-	
	75	La-Chlorid			4,6	<21	-	-	-	
	150	La-Chlorid			8,3	<25	-	-	-	
	75	SE-Chlorid			7,8	<25	-	-	-	
	150	SE-Chlorid			5,3	<21	-	-	-	
0	Kontrolle	2,8	<52		-	-	-			
Mastschweine‡ Poolproben 7 Tiere pro Gruppe	0	Kontrolle	3 Monate	Leber	2,8	<52	-	-	He und Rambeck (2001)	
	300	SE-Chlorid			53,4	<47	-	-		
	0	Kontrolle		Niere	<3	<34	-	-		
	300	SE-Chlorid			22,3	<36	-	-		
	0	Kontrolle		Muskel^	3,0	<33	-	-		
300	SE-Chlorid	19,0	<36		-	-				
Mastschweine †	0	Kontrolle		Leber	<20	<20	-	-	Böhme et al. (2002)	
	100	keine Angabe			<20	<20	-	-		
	0	Kontrolle		Niere	<20	<20	-	-		
	100	keine Angabe			<20	<20	-	-		
	0	Kontrolle		Muskel*	<20	<20	-	-		
	100	keine Angabe			<20	<20	-	-		
	0	Kontrolle		Fett (Flomen)	<30	<30	-	-		
	100	keine Angabe			<30	<30	-	-		
Mastschweine† Poolproben 12 Tiere pro Gruppe	0	Kontrolle	3 Monate	Leber	25,3	15,8	1,0	2,2	<BG*	Eisele (2003)
	300	SE-Chlorid			101,0	105,0	5,2	1,2	<BG	
	100+200	La-Chlorid+Ce-Chlorid		90,6	84,7	0,4	1,1	<BG		
	200+100	La-Chlorid+Ce-Chlorid		89,3	39,7	<BG	0,9	<BG		
	0	Kontrolle		Muskel^	11,6	3,9	0,3	1,4	<BG	
	300	SE-Chlorid			6,7	5,4	0,5	1,8	<BG	
	100+200	La-Chlorid+Ce-Chlorid			3,7	1,9	<BG	0,7	<BG	
	200+100	La-Chlorid+Ce-Chlorid			5,3	4,4	<BG	1,1	<BG	
Broiler† Poolproben 12 Tiere pro Gruppe	0	Kontrolle	6 Wochen	Leber	5,1	<43	-	-	Schuller et al. (2002)	
	150	La-Chlorid			29,0	<63	-	-		
	300	La-Chlorid			40,0	<52	-	-		
	150	SE-Chlorid		12,0	<58	-	-			
	300	SE-Chlorid		14,0	<61	-	-			
	0	Kontrolle		Muskel*	7,5	<44	-	-		
	150	La-Chlorid			9,4	<58	-	-		
	300	La-Chlorid			11,0	<49	-	-		
	150	SE-Chlorid			8,9	<52	-	-		
	300	SE-Chlorid			10,0	<85	-	-		
	0	Kontrolle			Knochen	26	<540	-		-
	150	La-Chlorid		-		-	-	-		
	300	La-Chlorid		-		-	-	-		
	150	SE-Chlorid		-		-	-	-		
	300	SE-Chlorid		-		-	-	-		
300	SE-Chlorid	250	<490	-		-				

Tabelle 1: Fortsetzung

Tierart und - kategorie	Dosis [mg/kg Futter]	SE-Substanz	Dauer	Organ/ Gewebe	Lanthan		Cer		Praseodym		Neodym		Samarium	Literatur
					V1 [§]	V2 [#]	V1	V2	V1	V2	V1	V2		
Broiler †	0	Kontrolle	5 Wochen	Leber	7,9	19	19	25	3,0	3,9	7,7	9,2	3,1	Fleckenstein et al. (2004)
	100	SE-Ascorbat			32	26	42	36	6,6	4,8	12	15	2,8	
	100	SE-Citrat			32	40	42	62	6,6	7,9	12	12	3,0	
	100	SE-Nitrat			47	-	55	-	8,1	-	20	-	-	
	100	La-Chlorid			147	56	15	12	4,0	2,2	11	4,4	1,8	
	0	Kontrolle			-	9,6	-	10,7	-	-	-	4,5	1,9	
	100	SE-Ascorbat		-	97	-	167	-	-	-	58	3,6		
	100	SE-Citrat		-	108	-	194	-	23	-	18	3,0		
	100	SE-Nitrat		-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	100	La-Chlorid		-	136	-	24	-	3,6	-	8,4	2,0		
	0	Kontrolle		-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	100	SE-Ascorbat		5	15	7	21	2,7	3,2	12	10	1,8		
	100	SE-Citrat		14	27	25	43	4,3	5,3	17	14	1,6		
	100	SE-Nitrat		14	20	28	36	4,6	4,5	19	8,8	1,7		
	100	SE-Nitrat		19	-	33	-	5,7	-	14	-	-		
	100	La-Chlorid		45	28	13	19	3,8	2,8	9	8,7	1,9		
	0	Kontrolle		14	-	20	-	4,1	-	14	-	-		
	100	SE-Ascorbat		188	-	322	-	33	-	101	-	-		
	100	SE-Citrat		147	-	248	-	29	-	41	-	-		
	100	SE-Nitrat		103	-	141	-	18	-	32	-	-		
	100	La-Chlorid		1650	-	155	-	16	-	31	-	-		
	0	Kontrolle		7	-	10	-	3,3	-	12	-	-		
	100	SE-Ascorbat		15	-	24	-	4,3	-	12	-	-		
	100	SE-Citrat		21	-	38	-	6,5	-	14	-	-		
100	SE-Nitrat	25	-	38	-	7,0	-	12	-	-				
100	La-Chlorid	107	-	25	-	5,1	-	15	-	-				
0	Kontrolle	-	15	-	17	-	2,6	-	10	2,2				
100	SE-Ascorbat	-	13	-	15	-	2,7	-	6,0	1,7				
100	SE-Citrat	-	24	-	39	-	5,3	-	6,8	1,5				
100	SE-Nitrat	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
100	La-Chlorid	-	16	-	13	-	2,2	-	3,7	1,5				
[µg/kg Frischmasse]														
Broiler†	0	Kontrolle	5 Wochen	Leber	20	-	20	-	-	-	-	-	-	He et al. (2010)
Poolproben	40	SE-Chlorid			30	-	30	-	-	-	-	-		
6 bzw. 12 Tiere pro Gruppe	70	SE-Chlorid			40	-	40	-	-	-	-	-		
	70	SE-Citrat			10	-	20	-	-	-	-	-		
	100	SE-Citrat			10	-	20	-	-	-	-	-		
	0	Kontrolle		Muskel [■]	40	-	20	-	-	-	-	-		
	40	SE-Chlorid			80	-	110	-	-	-	-	-		
	70	SE-Chlorid			130	-	170	-	-	-	-	-		
	70	SE-Citrat			20	-	20	-	-	-	-	-		
	100	SE-Citrat			80	-	20	-	-	-	-	-		

Analyseverfahren: ‡Neutronenaktivierungsanalyse; †Induktiv gekoppelte Plasma Massenspektrometrie
Muskelproben entnommen von [•]Musculus longissimus; [▲]Musculus gluteus maximus; [■]Musculus pectoralis; [■]keine Angabe

*Bestimmungsgrenze

[§]V1=Versuch 1; [#]V2=Versuch 2

4.3 Elimination

Die Ausscheidung der SE erfolgt vornehmlich über die Galle sowie die Wand des Gastrointestinaltraktes und nur zu einem geringen Anteil über den Urin (Durbin et al. 1956; Magnusson 1963; Nakamura et al. 1997). Diese Beobachtung steht auch im Einklang mit neueren Studien. So ermittelten Damment und Pennick (2007), dass nach einer einmaligen intravenösen Dosis von 0,3 mg Lanthancarbonat/kg nach 42 Versuchstagen 96,6 % über den Kot und 1,94 % über den Urin ausgeschieden wurden. Darüber hinaus untersuchten sie die Ausscheidung von Lanthancarbonat nach einer einmaligen oralen Dosis von 1500 mg/kg Futter. Hierbei wurden nach 7 Tagen 99,4 % über den Kot und 0,0035 % über den Urin wieder ausgeschieden. De Broe und D'Haese (2004) beschrieben nach oraler Exposition eine Elimination von Lanthan zu 80 % über die Gallenflüssigkeit und zu etwa 13 % direkt über die Darmwand. Weiterhin berichteten die Autoren, dass nach einer oralen Aufnahme von 3 g Lanthancarbonat bei gesunden Personen nur 0,6 bis 1,0 µg/Tag (entspricht 0,00003 %) über den Urin ausgeschieden wurden. Im Gegensatz dazu werden SE-Chelate innerhalb weniger Stunden vorwiegend über die Nieren ausgeschieden (Hirano und Suzuki 1996).

5 Toxizität von Seltenen Erden

5.1 Akute orale Toxizität

Als Maß für die akute Toxizität, welche in tierexperimentellen Untersuchungen ermittelt wird, gilt der LD₅₀-Wert. Dieser gibt an, bei welcher einmaligen Dosis 50 % der Versuchstiere sterben. Die Toxizität der SE wird für Säugetiere im Allgemeinen als sehr gering eingestuft (Arvela 1977), wobei diese von der Art der Verbindung, dem Applikationsweg, der Tierspezies und zum Teil auch vom Geschlecht der Versuchstiere abhängig ist (Bulman 2003b). Auf oralem Wege aufgenommene SE besitzen eine vergleichbare Toxizität wie Kochsalz (Wald 1990; Rambeck und Wehr 2005). Diese geringe Toxizität nach oraler Aufnahme wird darauf zurückgeführt, dass die Salze der SE nur zu einem geringen Anteil aus dem Gastrointestinaltrakt absorbiert werden, wie bereits im Kapitel 4.1 beschrieben wurde (Ji et al. 1985; Evans 1990; Redling 2006). Laut Evans (1990) liegen die oralen LD₅₀-Werte für verschiedene Lanthanoidverbindungen in einem Bereich von mehreren Gramm pro kg Lebendmasse (LM). In einem älteren Übersichtsartikel von Haley (1965) wurden beispielsweise für verschiedene oral verabreichte Salze bei Ratten akute letale Dosen von 10,0 g für Lanthanacetat, 4,5 g für Lanthannitrat, 4,2 g für Cernitrat, 3,5 g für Praseodymnitrat und 2,75 g für Neodymnitrat angegeben. Ji et al. (1985) konnten in ihrer Studie nach oraler Aufnahme von SE in Nitratform bei Mäusen, Ratten und Meerschweinchen

LD₅₀-Werte von 1397 bis 1875 mg/kg LM ermitteln. Weitere Angaben zur Bewertung der Toxizität von SE wurden von der Firma Rodia (2005) veröffentlicht (zitiert aus der Übersichtsarbeit von Redling 2006). Sie geben für Ratten orale LD₅₀-Werte von 2110 mg CeCl₃/kg LM an, während für CeO₂ mehr als 5 g/kg LM ermittelt wurden. Für SE-Oxide wie Pr₆O₁₁, Nd₂O₃, Sm₂O₃, Eu₂O₃, Tb₄O₇, Dy₂O₃ und Lu₂O₃ wurde ein allgemeiner Wert größer als 1 g/kg LM angegeben. Allerdings sollte berücksichtigt werden, dass die orale Toxizität mit der chemischen Form der SE-Verbindungen variieren kann (Evans 1990). So konnte in einer Untersuchung von Cochran et al. (1950) ein LD₅₀ Wert größer 10 g La₂O₃/kg LM ermittelt werden, während die LD₅₀-Werte für LaCl₃ und LaNH₄(NO₃)₄ nur noch bei 4,2 g/kg LM und 3,4 g/kg LM lagen. Darüber hinaus wurde in der Literatur beschrieben, dass Ratten und Meerschweinchen empfindlicher als Mäuse reagieren und weibliche Tiere empfindlicher sind als männliche Tiere (Bulman 2003b).

5.2 Chronische orale Toxizität

Im Rahmen von verschiedenen subchronischen oralen Toxizitätsstudien konnten über einen Zeitraum von sechs bis sieben Monaten bei Verabreichung von SE-Nitrat Dosen bis 200 mg/kg an Ratten keine negativen Auswirkungen auf die untersuchten Parameter Gesundheit, Wachstum, hämatologische und klinisch-chemische Blutparameter beobachtet werden. Auch die Ergebnisse der pathologisch-anatomischen und histologischen Untersuchung der Tierkörper waren unauffällig. Anhand dieser Befunde wurde unter Anwendung eines Sicherheitsfaktors von 100 für den Menschen eine akzeptable tägliche Aufnahmemenge (acceptable daily intake - ADI) von 0,1 bis 1,0 mg/kg Körpergewicht für SE-Oxide bzw. 0,2 bis 2,0 mg/kg Körpergewicht für SE-Nitrate angegeben (Ji et al. 1985; Ji 1990). Zu einem ähnlichen Resultat kamen auch Song et al. (2005), während Tian et al. (1992) etwas höhere zulässige Aufnahmemengen von 2,5 mg SE-Chlorid/kg Körpergewicht beschrieben. In einer weiteren subchronischen Toxizitätsstudie von Feng et al. (2002) erhielten Ratten täglich orale Dosen von 0; 0,1; 0,2; 2,0; 10 und 20 mg La(NO₃)₃/kg LM über einen Zeitraum von drei bis sechs Monaten. Hierbei konnten die Autoren La³⁺-induzierte Leber- und Nierenschäden beobachten, die durch einen konzentrationsabhängigen Anstieg von Ketonkörpern, Aminosäuren, Laktat, Ethanol, Succinate, Trimethylaminoxid, Dimethylamine und Taurin sowie durch einen Abfall von Citrat, Glukose, Urea und Allantoin im Serum gekennzeichnet waren. Angesichts dieser Beobachtung wurde die Höhe der sicheren Dosis (NOAEL) in einem Bereich von 0,1 und 0,2 mg/kg LM festgelegt. In den zahlreichen Fütterungsversuchen, die in letzten Jahren unter westeuropäischen

Versuchsbedingungen bei verschiedenen Tierarten durchgeführt worden sind, konnten keine Beeinträchtigungen der Gesundheit durch den Zusatz von SE beobachtet werden (He und Rambeck 2000; Adu et al. 2006; Miller 2006; Förster et al. 2008; He et al. 2010). Auch Glabasnia-Kreppold (2008) berichtete von keinen negativen Auswirkungen in einem Toleranzversuch an Absatzferkeln, deren Futter mit einer 5-fachen (1250 mg SE-Citrat/kg Futter) bzw. 10-fachen (2500 mg SE-Citrat/kg Futter) Überdosierung, bezogen auf die empfohlene Dosierung von 250 mg SE-Citrat/kg Futter, versetzt war. Es soll aber nicht unerwähnt bleiben, dass Mitte der neunziger Jahre in epidemiologischen Studien nachteilige Effekte auf das zentrale Nervensystem bei Personen, die in SE-reichen Gebieten lebten, beobachtet wurden. So testeten Zhu et al. (1996) unter Zuhilfenahme des Hiskey-Nebraska Test die Lernfähigkeit bei Kindern im Alter von 6 bis 9 Jahren. Sie fanden, dass das geistige Alter und der Intelligenzquotient bei den Kindern aus SE reichen Gebieten geringer war, als im Vergleich zu den Kindern, die aus Gebieten ohne besondere SE-Vorkommen kamen. Auch Fan et al. (2004) ermittelten anhand des Mann-Weiten-Test einen signifikant niedrigeren Intelligenzquotienten bei 7- bis 10-jährigen Kindern, die in Regionen mit hohen SE-Vorkommen lebten. Darüber hinaus wurde beschrieben, dass sich eine langfristige Einnahme von Lanthanoiden negativ auf die neuronale Signaltransduktion auswirkt (Zhu et al. 1997a). Vor diesem Hintergrund, und im Hinblick auf den immer größer werdenden Einsatz von Lanthanoiden in Bereichen der Industrie und Medizin, wurden in den letzten Jahren eine Reihe von tierexperimentellen Untersuchungen zu neurotoxikologischen Konsequenzen infolge einer SE-Exposition durchgeführt (Briner et al. 2000; Feng et al. 2006a,b; Feng et al. 2007a,b; He et al. 2008; Yang et al. 2009a; Cheng et al. 2011). Xiao et al. (2005a,b) konnten in ihren Untersuchungen nachweisen, dass Lanthanoide die Blut-Hirnschranke passieren und sich im Gehirn anreichern. In einer Langzeitstudie an Ratten, die tägliche Dosen von 0; 0,1; 2 und 40 mg LaCl₃/kg LM über einen Zeitraum von 6 Monaten erhielten, zeigte sich bei der Höchstdosierung eine signifikante Akkumulation von Lanthan im zerebralen Kortex, Hippocampus und Cerebellum. Weiterhin wurden signifikante Veränderungen der Verteilung von Calcium, Eisen und Zink sowie ein Abfall von Calcium, eine Hemmung der Ca²⁺-ATPase und ein Abfall von Neurotransmittern im Gehirn beobachtet, so dass hohe Dosierungen von SE mit einer Beeinträchtigung der Lern- und Gedächtnisleistung verbunden sein könnten (Feng et al. 2006b). In einer ähnlichen Untersuchung von He et al. (2008) zeigten sich bei den hochsupplementierten Tieren (40 mg LaCl₃/kg) eine Veränderung der Homöostase von [Ca²⁺]_i/Ca²⁺-ATP, eine Hemmung der Aktivität von antioxidativen Enzymen und anschließende Zellschäden. Zudem wurde an

Ratten das Morrische Wasserlabyrinth als ein kognitiver Test zur Bewertung der räumlichen Lern- und Gedächtnisleistung angewandt. Dabei wiesen die mit 2 bzw. 40 mg LaCl₃/kg behandelten Ratten Beeinträchtigungen in der räumlichen Lern- und Gedächtnisleistung auf, was bereits schon in früheren Studien nachgewiesen werden konnte (Feng et al. 2006a,b). Des Weiteren wurden bei epidemiologischen Untersuchungen aus diesen Regionen höhere Cholesterin- und IgM-Werte sowie ein verstärktes Auftreten von Arteriosklerose im Augenhintergrund beobachtet (Zhu et al. 1997b). Zhang et al. (2000c) untersuchten die Folgen einer chronischen Aufnahme von SE über die Lebensmittelkette bei Landwirten, die aus unterschiedlichen Regionen stammten. Bei diesen Regionen handelte es sich um Abbaugelände mit leichten bzw. schweren SE-Vorkommen sowie um eine Region ohne besondere SE-Vorkommen. Die täglichen Aufnahmemengen wurden mit 6,67; 5,98 und 3,33 mg/Person angegeben. Die Autoren fanden im Blutserum der Landwirte, die in den SE-reichen Regionen lebten, erniedrigte Werte für Gesamtprotein, Albumin, β -Globulin, Glutamat-Pyruvat-Transaminase, Triglyceride und Immunglobuline sowie eine erhöhte Cholesterinkonzentration. Die Abweichungen korrelierten mit der Höhe der SE-Konzentration und waren bei Frauen stärker ausgeprägt.

5.3 Mutagene, kanzerogene und teratogene Toxizität

Ji (1990) untersuchte nach einer oralen Verabreichung von SE in Nitratform die teratogene Wirkung und fanden bei einer Dosierung von 16 bis 2000 mg/kg keine Fehlbildungen beim Embryo und Fötus, mit Ausnahme einer leichten Abnahme der Überlebensrate der Rattennachkommen, bei Dosierungen zwischen 80 und 400 mg/kg. Dieser Befund wurde hingegen bei der höchsten Dosierung nicht beobachtet. Die darüber hinaus durchgeführten Mutagenitätstests verliefen in dieser Studie alle negativ. Toritsuka et al. (1999) konnten ebenfalls anhand des Mikronukleus-Tests an Knochenmarkzellen nach einer intraperitonealen Injektion einer hohen Dosis Gadolinium (Gadopentetat-Dimeglumin) bei Ratten kein mutagenes Potential feststellen. In Bezug auf den möglichen und sicheren Einsatz des Medikamentes Lanthancarboxylat im humanmedizinischen Bereich wurden *in vitro* wie auch *in vivo* Untersuchungen zur mutagenen Wirkung durchgeführt. Damment et al. (2005) testeten an Eizellen von Hamstern sowie im Ames Test an verschiedenen Bakterienstämmen *Salmonella typhimurium* TA1535, TA1537, TA1538, TA98, TA100, TA102 und *Escherichia coli* WP2uvrA und WP2uvrA (pkm101) bis zu einer Höchstkonzentration von 5000 μ g/Platte die mutagene Wirkung von Lanthancarboxylat. Sie konnten weder in diesen *in vitro* noch in den darauffolgenden *in vivo* Studien an Mäusen und Ratten eine genotoxische Wirkung

feststellen. In diesen *in vivo* Studien lag die Lanthanplasmakonzentration über das dreitausendfache höher als die Plasmahöchstkonzentration, die bei Dialysepatienten mit verabreichter therapeutischer Dosis gemessen wurde. Eine kanzerogene Wirkung von SE konnte in Tierversuchen auch nicht nachgewiesen werden (Hirano und Suzuki 1996). Jedoch beobachteten Feng et al. (2006a) nach einer subchronischen oralen Aufnahme von Lanthanchlorid an Ratten eine signifikant verminderte DNA-Konzentration sowie ein leicht erhöhtes Protein-DNA-Verhältnis im Gehirn im Vergleich zur unbehandelten Kontrollgruppe, was auf ein teratogenes Potential von Lanthan hindeuten könnte.

5.4 Toxizität bei parenteraler Applikation

Werden SE subkutan, intramuskulär, intraperitoneal, inhalativ oder intravenös verabreicht, führt dies zu einer Erhöhung der Toxizität im Vergleich zur oralen Exposition. Somit liegen die letalen Dosen für Mäuse beispielsweise bei subkutaner Injektion zwischen 500 und 3500 mg/kg LM und bei intraperitonealer Injektion zwischen 121 und 372 mg/kg LM für Lanthanchlorid. Nach intravenöser Applikation liegt die Verfügbarkeit bei ca. 100 % und die letale Dosis für Ratten und Mäuse liegt in einem Bereich zwischen 3 bis 100 mg/kg LM (Evans 1990). Die Symptome einer Intoxikation durch SE werden in der Literatur mit Sedation, Ataxie, angestrenzter Respiration sowie Zehenspitzenengang mit gekrümmtem Rücken beschrieben (Arvela 1977). Darüber hinaus wurden Hypotonie, Hypoglykämie, Calcifikation (Evans 1990), erhöhte Blutgerinnungszeit (Evans 1990; Funakoshi et al. 1992; Kawagoe et al. 2008), Leber- und Milzdegenerationen sowie diverse Blutbildveränderungen beobachtet (Haley 1979; Hirano und Suzuki 1996; Nakamura et al. 1997; Liu et al. 2010; Fei et al. 2011). Erstmals berichtenden Kyker und Cress (1957) und Kyker et al. (1957) von der Bildung einer Fettleber bei Ratten nach intravenöser Applikation leichter SE-Verbindungen. Dieser Effekt wurde auch in anderen Studien und bei weiteren Tierarten (Mäusen, Hamstern und Kaninchen) nachgewiesen (Snyder et al. 1960; Sarkander und Brade 1976; Grajewski et al. 1977; Renaud et al. 1980; Evans 1990). Dabei scheinen weibliche Tiere für diese pathologische Erscheinung anfälliger zu sein als männliche Individuen (Snyder et al. 1959; Magnusson 1963). Die Ausbildung einer Fettleber ist verbunden mit einer Akkumulation von Triglyceriden in der Leber bei gleichzeitigem Anstieg der Konzentration an freien Fettsäuren im Plasma sowie einem simultanen Rückgang der Konzentration an Cholesterin und Phospholipiden. Allerdings sind die genauen Mechanismen der Entstehung einer Fettleber durch SE noch nicht vollständig geklärt, es wird aber vermutet, dass die gesteigerte Sequestration der Fettsäuren in die Leber, eine verringerte Oxidation der Lipide durch

Mitochondrien sowie einen Abfall der Syntheseleistung und Sekretionsrate von Lipoproteinen an diesem Prozess beteiligt sind (Evans 1990).

6 Einsatz von Seltenen Erden in der chinesischen und westeuropäischen Tierproduktion

In Chinas Landwirtschaft werden SE-Verbindungen bereits seit mehr als 40 Jahren mit guten Erfolgen zur Ertrags- bzw. Leistungssteigerung im Pflanzenbau und in der Nutztierhaltung eingesetzt. In der Tierproduktion werden die SE an organische oder anorganische Reste gebunden (z. B. an Citrat, Ascorbat, Chlorid, Nitrat, Oxid) und entweder als Futterzusatz oder mit der Tränke verabreicht. Dabei dienen sie vor allem zur Steigerung der Mastleistung bei zahlreichen Nutztierarten wie Schwein, Geflügel, Rind, Schaf und Kaninchen aber auch zur Steigerung der Milch- und Eiproduktion (Brown et al. 1990; He und Rambeck 2000; Wang und Xu 2003; Knebel 2004; Rambeck und Wehr 2005). Am gebräuchlichsten ist aber der Einsatz in der Schweine- und Geflügelmast, um das Wachstum zu beschleunigen und die Futtermittelverwertung zu verbessern. In der umfangreichen chinesischen Literatur sind zahlreiche Publikationen erschienen, die auf positive Resultate bei der Anwendung von SE schließen lassen, wie die Tabelle 2 für einige Versuche mit Schweine und Geflügel zeigt. Allerdings zeigen die Veröffentlichungen häufig unvollständige Versuchsbeschreibungen und die eingesetzten SE-Zusätze variieren stark in ihrer Zusammensetzung, ihrem Reinheitsgrad, der Art der Verbindungen und Dosis, so dass ein direkter Vergleich der einzelnen Ergebnisse der unterschiedlichen Untersuchungen nur bedingt möglich ist (He und Rambeck 2000; Knebel 2004; Rambeck und Wehr 2005).

LITERATURÜBERSICHT

Tabelle 2: Einfluss von Seltenen Erden in chinesischen Fütterungsversuchen bei Schweinen und Geflügel

Tierart	Dosis [mg/kg]	SE-Substanz	Dauer	Veränderungen in % zur unsupplementierten Kontrollgruppe			Literatur
				Futtermittel- aufnahme	Lebendmasse- zunahme	Futtermittel- aufwand	
Mastschweine	100	Lanthan	30 Tage	+5,4	+13,3	-8,5	Xu et al. (1999)
Ferkel	75	SE-Gemisch	15 Tage	-	+22,9	-7,9	He und Xia (1998)
Mastschweine	75	SE-Gemisch	30 Tage	-	+13,0	-6,1	
Mastschweine	75	SE-Gemisch	24 Tage	-	+20,3	-8,2	
Mastschweine	75	SE-Gemisch	24 Tage	-	+18,1	-4,8	
Mastschweine	100	Lanthan	30 Tage	+5,4	+13,0	-6,8	Wang und Xu (2003)
Broiler	65	SE-Gemisch	63 Tage	-	+6,3	-10,3	Xie und Wang (1998)
	130	SE-Gemisch	63 Tage	-	+10,7	-15,1	
	195	SE-Gemisch	63 Tage	-	-0,1	-0,7	
Broiler	500	SE-Fumarsäure	-	-	+12,3	-13,1	Yang et al. (2005)

Diese interessanten und vielversprechenden Resultate über die leistungssteigernden Wirkungen der SE in den Studien sind aber nicht ohne Weiteres auf die Verhältnisse der westeuropäischen Tierproduktion übertragbar, da die hiesigen Produktionsbedingungen mit optimierten Fütterungs-, Haltungs- und Hygienebedingungen stark von den chinesischen Produktionsbedingungen differieren. In der Literatur wird berichtet, dass Leistungsförderer ihre Wirkung besonders entfalten (d.h. deutliche leistungssteigernde Effekte erzielt werden), wenn die Tiere unter suboptimalen Klima- und Managementbedingungen gehalten wurden (Wenk 2005). Darüber hinaus liegen die verwendeten Rassen aus China in Bezug auf ihre Mastleistung weit unter den modernen westlichen Hochleistungsrassen (Knebel 2004; Rambeck und Wehr 2005). Dennoch waren die positiven Ergebnisse über die Wirkung der SE aus China Anlass, vor allem für die Arbeitsgruppe um Rambeck vom Lehrstuhl für Tierernährung und Diätetik der tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München, verschiedene Substanzen und Dosierungen hauptsächlich bei Schweinen später auch bei Geflügel und anderen Tierarten zu testen. Der erste Fütterungsversuch mit SE in Deutschland erfolgte im Jahre 1999. Für diesen Versuch wurden 72 Absatzferkel über einen Zeitraum von fünf Wochen entweder mit reinem Lanthanchlorid (99,7 %) oder mit einem Gemisch aus Lanthanchlorid (38,0 %), Cerchlorid (52,1 %) und Praseodymchlorid (3,0 %) in Dosierungen von jeweils 75 mg/kg bzw. 150 mg/kg Futter gefüttert. Dabei konnten eine höhere Lebendmassezunahme zwischen 2 % und 5 % ($p > 0,05$) und eine Verbesserung der Futtermittelverwertung um 3 % bis 7 % ($p > 0,05$) im Vergleich zur Kontrolle erreicht werden (Rambeck et al. 1999; He und Rambeck 2000). In einem nachfolgenden Fütterungsversuch an Mastschweinen bestätigten sich die im ersten Versuch erzielten Effekte. Die Supplementierung des Futters mit 300 mg SE-Chlorid/kg zeigte in den ersten zwei Monaten

der Aufzucht eine verbesserte tägliche Lebendmassezunahme von 19 % ($p < 0,05$), im dritten Aufzuchtsmonat wurde eine Verbesserung der Lebendmassezunahme von 12 % ($p > 0,05$) gegenüber der ungesupplementierten Kontrolle festgestellt. Gleichzeitig verringerte sich in dieser Gruppe der Futteraufwand in der frühen Mastperiode um 11 % ($p < 0,01$), während in der späten Mastperiode der Futteraufwand nur noch um 3 % geringer war ($p > 0,05$) (He et al. 2001). Diese positiven Befunde waren Ausgangspunkt für weitere zahlreiche Untersuchungen die in den darauffolgenden Jahren vom Schwein auch auf andere Tierarten wie Kälber, Ratten, Broiler, Wachteln und Fische ausgeweitet wurden (Schuller 2001; Renard 2005; Miller 2006; Redling 2006; Franzke 2007; Zohravi 2007; van Gemmeren 2008). Tabelle 3 gibt einen Überblick über die bisherigen Fütterungsversuche mit SE bei Ferkeln und Mastschweinen. In der Schweiz wurde ein SE-Präparat im Jahre 2003 für Ferkel- und Mastschweine unter dem Handelsnamen „Lancer® 500“ zugelassen (Redling 2006). Hierbei handelt es sich um aus China importierte SE in Citratform, welche im Verhältnis 50:50 mit dem Trägerstoff Weizenstärke gemischt werden. Im Bezug auf die Wirksamkeit der SE in der Geflügelernährung konnte Schuller (2001) nach Zusatz zwischen 75 mg und 300 mg SE-Chlorid/kg Futter keinen Einfluss auf die Leistung bei Japanischen Wachteln und Broilern ermitteln, während Halle et al. (2003) in zwei Broilerversuchen nach Zugabe von jeweils 100 mg verschiedener SE-Verbindungen (Ascorbat, Citrat, Chlorid, Nitrat) Wachstumssteigerungen im einem Bereich zwischen 2 % und 7 % bei signifikant verbesserter Futtermittelverwertung feststellten. Dabei erwiesen sich Ascorbat- und Citratverbindungen wirksamer als Nitrate und Chloride. Auch Zohravi (2007) beobachtete in einer Reihe von Untersuchungen mit Japanischen Wachteln leistungssteigernde Effekte durch den Einsatz verschiedener SE-Dosierungen und Verbindungen. Ebenso positive Ergebnisse erzielte Franzke (2007) in einem Broilerversuch in dem das Futter mit SE-Citrat in Konzentrationen von 70 bzw. 100 mg/kg Futter ergänzt wurde. Während der ersten drei Versuchswochen lagen die Lebendmassezunahmen der supplementierten Tiere um bis zu 13,2 % ($p < 0,05$) über denen der Kontrolltiere, die Futteraufnahme erhöhte sich um bis zu 10,1 % ($p < 0,05$) und die Futtermittelverwertung verbesserte sich um bis zu 3,3 % ($p < 0,05$). Zum Versuchsende nach fünf Wochen waren die Lebendmassezunahmen noch um bis zu 5,8 % ($p > 0,05$) höher und die Futtermittelverwertung um bis zu 3,7 % ($p < 0,01$) besser im Vergleich zu den Kontrolltieren. In einem zweiten Versuch konnte allerdings über die gesamte Versuchsdauer keine positive Beeinflussung der Mastleistungsparameter beobachtet werden. Neuere Untersuchungen in einer Studie an Broilern zeigten erneut positive Resultate (He et al. 2010). In einem ersten Versuch wurde das Futter über ein Zeitraum von fünf Wochen entweder mit 40 mg SE-

Chlorid/kg Futter oder mit 70 mg SE-Citrat/kg Futter versetzt. Dabei lag die Lebendmassezunahme in der SE-Chlorid supplementierten Gruppe um 3,6 % ($p>0,05$) und in der SE-Citrat supplementierten Gruppe um 5 % ($p<0,05$) höher als in der Kontrollgruppe bei gleichzeitig erhöhter Futteraufnahme. Die Auswertung der Futtermittelverwertung ergab keine Unterschiede zwischen den Gruppen. In dem anschließenden Versuch konnten nach fünf Wochen Verbesserungen in der Lebendmassezunahme und Futtermittelverwertung durch Zugabe von SE-Citrat in Konzentrationen von 70 und 100 mg/kg Futter bzw. durch Zugabe von 70 mg SE-Chlorid/kg Futter beobachtet werden.

Im Bereich der Wiederkäuerernährung liegen dagegen bisher bei hiesigen Produktionsbedingungen nur wenige Untersuchungen vor, die in ihren Aussagen auch nicht eindeutig sind. So beobachteten Meyer et al. (2006) einen leistungssteigernden Effekt bei präruminanten weiblichen Holstein Kälbern nach 6 Wochen durch den Zusatz von 200 mg SE-Citrat/kg Milchaustauscher (MAT), wobei die Lebendmassezunahme um 14,6 % erhöht und der Futteraufwand um 19,6 % verringert wurde, bei gleichzeitigem Rückgang der Futteraufnahme um 7,8 % ($p>0,05$). Im Gegensatz dazu konnte Miller (2006) in einem Feldversuch über einen Zeitraum von 10 Wochen bei männlichen Fleckviehkälbern (Anfangslebensmasse 83 kg) keine positive Beeinflussung der Mastleistung bei gleicher Dosierung beobachten.

Tabelle 3: Einfluss von Seltenen Erden auf zootechnische Leistungsparameter bei Schweinen, Ergebnisse aus europäischen Fütterungsstudien

Tierart und- kategorie	Start- masse [kg]	End- masse [kg]	Dauer	Dosis [mg/kg Futter]	SE-Substanz	Veränderungen in % zur unsupplementierten Kontrollgruppe			Literatur
						Futter- aufnahme	Lebendmasse- zunahme	Futter- aufwand	
Absatzferkel	7,3	17,8	5 Wochen	75	La-Chlorid	-2	+2	-5	He und Rambeck (2000)
				150	La-Chlorid	-3	±0	-3	
				75	SE-Chlorid	-1	+2	-4	
				150	SE-Chlorid	-2	+5	-7	
Absatzferkel	17,4	59,6	8 Wochen	300	SE-Chlorid	+7	+19*	-11*	Borger (2003)
Mastschweine	59,6	86,0	4 Wochen	300	SE-Chlorid	+11	+12	-3	Eisele (2003)
Absatzferkel	10,6	19,0	16 Tage	200	SE-Chlorid	-7,5	+2,1	-9,3	
Absatzferkel	8,7	20,6	30 Tage	200	SE-Chlorid	+7,6	+10,2	-2,5	
Mastschweine	18,1	66,3	11 Wochen	300	SE-Chlorid	-3,2	-4,6	+1,3	
Mastschweine	15,4	76,2	12 Wochen	100 + 200	La-Chlorid+Ce-Chlorid	±0	+0,5	±0	Böhme et al. (2002)
				200+100	Ce-Chlorid+La-Chlorid	-1,9	-2,5	0,4	
				300	SE-Chlorid	+3,5	+4,0	-0,5	
				100 + 200	La-Chlorid+Ce-Chlorid	+3,3	+5,1	-1,9	
Mastschweine	42,0	90,0	-	200+100	Ce-Chlorid+La-Chlorid	+2,6	+4,0	-1,9	Böhme et al. (2002)
				100	SE-Chlorid	±0	-3,6	+3,8	
				100	SE-Nitrat	±0	-3,6	+3,8	
				100	SE-Citrat	±0	-3,3	+3,4	
Mastschweine	25,0	104,0	-	100	SE-Ascorbat	±0	-1,1	+1,1	Kessler (2004)
				200	SE-Citrat	-3,5	+8,8*	-3,6*	
				200	SE-Citrat	+3,0	+1,0	+2,2	
				200	SE-Citrat	-4,2	-3,5	-0,7	
Absatzferkel	5,2	22,2	6 Wochen	200	SE-Citrat	+3,0	+1,0	+2,2	Kraatz et al. (2006)
Absatzferkel	8,3	28,2	6 Wochen	200	SE-Citrat	-4,2	-3,5	-0,7	Knebel (2004)
Absatzferkel	9,0	27,9	6 Wochen	50	SE-Citrat	-1,6	+0,4	-1,8	
				100	SE-Citrat	+4,9	+8,6	-5,5	
				200	SE-Citrat	+17,2*	+22,6*	-5,5	

Tabelle 3: Fortsetzung

Tierart und- kategorie	Start- masse [kg]	End- masse [kg]	Dauer	Dosis [mg/kg Futter]	SE-Substanz	(Veränderungen in % zur unsupplementierten Kontrollgruppe)			Literatur	
						Futter- aufnahme	Lebendmassezunahme	Futteraufwand		
Absatzferkel	8,3	40	10 Wochen	300	La-Chlorid	-9,3	+2,5	-4,3	Recht (2005)	
				300	SE-Chlorid	+4,6	+5,6	-2,6		
				100 + 200	La-Chlorid+Ce-Chlorid	+3,7	-2,1	+4,3		
Absatzferkel	8,8	38,3	6 Wochen	300	SE-Citrat	+9,6	+19,2	-4,4		
				300	SE-Chlorid	-2,2	-3,2	-3,4		
Absatzferkel	8,8	21,4	7 Wochen	200	SE-Citrat	-1,7	+2,8	-7,0		
				8,5	5 Wochen	150	SE-Citrat	-4,2		-3,6
Absatzferkel	8,4	29,3	7 Wochen	300	SE-Citrat	-7,8	-4,4	-4,1		
				300	SE-Citrat	+3,7	+4,8	-1,8		Stalljohann et al. (2006)
Absatzferkel	10,2	55,2	10 Wochen	150	SE-Citrat	-7,5	-0,6	-7,1*	Prause (2006)	
				300	SE-Citrat	-3,2	-1,3	-2,2		
				300	SE-Citrat	-3,2	-1,3	-2,2		
Absatzferkel	9,7	33,3	6 Wochen	250	SE-Citrat	+2,3	+8,3	-5,2	Glabasnia-Kreppold (2008)	
				1250	SE-Citrat	-0,1	+5,3	-4,7		
				2500	SE-Citrat	+7,4	+10,8	-2,9		
				100	SE-Citrat	+5,8	+6,4	-1,8		Förster et al. (2008)
200	SE-Citrat	-1,3	-14,1*	+15,6*						
400	SE-Citrat	-4,3	-8,8	+4,2						
Absatzferkel	8,5	28,3	7 Wochen	800	SE-Citrat	-7,3	-6,4	-1,8		
				250	SE-Citrat	+1	+1,8	-0,6		Schöne (2009)
Mastschweine	38,6	104,2	12 Wochen	250	SE-Citrat	-3,5	±0	-3,8	Finkenzeller (2011)	
Absatzferkel	8,7	30,1	6 Wochen	250	SE-Citrat	+0,8	+4,2*	-3,0	Weber et al. (2010)	
Mastschweine	11,6	107,9	20 Wochen	300	SE-Citrat	-	männlich weiblich		-	
							Aufzucht	+11		+3,1
							Mast 1	-5,2*		-4,4
							Mast 2	+7,6	±0	

signifikante Resultate (p<0,05)

7 Erklärungsansätze zur Wirkungsweise der SE als Leistungsförderer

Über die genaue Wirkungsweise für die in vielen Studien ermittelte Leistungssteigerung durch Supplementation mit SE herrscht bislang noch immer Unklarheit. In der Literatur werden im Wesentlichen zwei Theorien diskutiert. Zum einem, dass SE eine lokale Wirkung im Gastrointestinaltrakt ausüben könnten und zum anderen, eine mögliche Beeinflussung des Intermediärstoffwechsels. Für eine lokale Wirkung im Verdauungstrakt spricht die von verschiedenen Autoren beschriebene niedrige intestinale Absorptionsrate der SE, die zu einer Anreicherung im Chymus führt (Arvela 1977; Ji et al. 1985; Evans 1990; Fleckenstein et al. 2004; Albaaj und Hutchison 2005). Bei einer älteren *in vitro* Untersuchung konnte beobachtet werden, dass SE in niedrigen Konzentrationen (10^{-5} mol/L) das Wachstum von Mikroorganismen stimulieren, während sie sich bei höheren Konzentrationen (10^{-4} bis 10^{-2} mol/L) hemmend auf das Mikroorganismenwachstum auswirken. Weiterhin wurde festgestellt, dass gramnegative Bakterien stärker durch die SE in ihrer Vermehrung beeinflusst werden als grampositive Bakterien (Muroma 1958). Basierend auf dieser wachstumshemmenden Eigenschaft und der hohen SE-Konzentration im Darmlumen wäre eine Beeinflussung der gastrointestinalen Darmflora denkbar. In einer Studie von Zhang et al. (2000a) wurde die Wirkung von Cer-Huminsäure und Cer-Citrat bei verschiedenen Bakterienstämmen untersucht. Sie ermittelten eine bakteriostatische Wirkung von Cer-Huminsäure auf *Escherichia coli*, *Bacillus pyocyaneus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus faecalis* und *Staphylococcus aureus* bei Konzentrationen von 10^{-3} bis 10^{-2} mol/L, in Abhängigkeit von der Bakterienspezies. Im Gegensatz dazu zeigte Cer-Citrat in diesen Konzentrationen einen stimulierenden Effekt auf das Wachstum der untersuchten Bakterienpopulationen. Als möglichen Grund für diese divergierenden Resultate wurden die verschiedenen Verbindungen und damit verbundenen unterschiedlichen chemischen Eigenschaften der Komplexe diskutiert. Laut dieser Autoren ist die antibakterielle Aktivität umso größer, je niedriger die Stabilität der Salze der SE ist. Auch Ruming et al. (2002) beobachteten eine Wachstumshemmung von *Escherichia coli* ab einer Cer-Konzentration von 400 µg/mL. In *in vivo* Studien wurden vor allem die bakteriostatischen Eigenschaften von Ce-Verbindungen zur Behandlung von Brandwunden untersucht. Hierbei zeigten sich, wie auch schon von Muroma (1958) beschrieben, besonders gute bakteriostatische Effekte der Ce-Verbindungen auf gramnegative Bakterienspezies (Jakupec et al. 2005). Seltene Erden sind in der Lage sich an die Zellmembranoberfläche von Bakterien zu heften, wodurch es zu einer Änderung der Oberflächenladung und -struktur der Membran kommt (Sobek und Talburt 1968; Evans 1990; Chen et al. 2010). So beobachteten Peng et al. (2004) unter Anwesenheit von

Lanthanionen bei *Escherichia coli* Bakterien eine Aufrauung der Membranoberfläche und eine Zerstörung der Lipopolysaccharid-Struktur. Dies wiederum führte zu einer Erhöhung der Permeabilität und die Zellen konnten infolge dessen leichter durch Lysozyme angegriffen werden. Weiterhin wurde im Überstand der behandelten Zellen ein höherer Gehalt an Calcium- und Magnesiumionen gemessen. Darüber hinaus beschrieben Bentz et al. (1988) eine Aggregation der Zellen sowie Fusion der Membranen wenn die SE in höheren Konzentrationen zugesetzt wurden. Diese Beobachtungen werden in der Literatur als ein möglicher Grund für die antibakteriellen Eigenschaften diskutiert. Jedoch konnte bislang in europäischen Fütterungsstudien kein Einfluss der Supplementation von SE-Verbindungen speziell auf die Mikroflora des Gastrointestinaltraktes von Tieren nachgewiesen werden. Sowohl der Vergleich der Darmflora auf anaerobe Gesamtkeimzahl, Milchsäurebakterien, Enterokokken und Enterobakterien aus dem Jejunum, Ileum und Caecum von Broilern mittels selektiver Kulturmedien (Schuller et al. 2002), als auch die molekularbiologische Untersuchung der vorherrschenden Bakterienflora im Kot von Ferkeln mittels Polymerase-Kettenreaktion und Denaturierende-Gradienten-Gelelektrophorese (Kraatz et al. 2006), ließen auf keine signifikant veränderte mikrobiotische Flora infolge unterschiedlicher SE-Gehalte im Futter schließen. Ebenso konnte bei einer *in vitro* Untersuchung an einem künstlichen Pansensimulationssystem (RUSITEC) keine Beeinflussung der ruminalen Fermentation hinsichtlich pH-Wert, Ammoniakgehalt, Fettsäuremuster und der gebildeten Gasmenge durch den Einsatz von SE-Citrat festgestellt werden (Knebel 2004). Diese Beobachtung deckt sich nicht mit den Ergebnissen der *in vivo* Studie von Liu et al. (2008). Sie ermittelten einen Anstieg der Gesamtkonzentration an flüchtigen Fettsäuren im Pansensaft mit steigender Lanthankonzentration. Außerdem wurde mit steigender Lanthankonzentration eine molare Verschiebung der flüchtigen Fettsäuren zugunsten des Propionats registriert, was sich in einer Einengung im Acetat-Propionat-Verhältnis widerspiegelte. Der ruminale Ammoniak-N-Gehalt sank mit zunehmender Lanthankonzentration. Auch Yang et al. (2009b) untersuchten den Einfluss von SE auf die Pansenfermentation, die mikrobielle Proteinsynthese und Nährstoffverdauung unter Verwendung einer „Batch-Kultur“ und einer „kontinuierlichen Kultur“. In der „Batch-Kultur“ zeigte sich mit zunehmender SE-Konzentration (0, 400 und 800 mg $\text{SECl}_3/\text{kg T}$) ein signifikant linearer Anstieg der produzierten Gasmenge sowie eine Erhöhung der Gesamtkonzentration an flüchtigen Fettsäuren nach 24 Stunden Inkubationszeit. Zudem beobachteten die Autoren bei hoher SE-Konzentration (800 mg $\text{SECl}_3/\text{kg T}$) einen Anstieg der Buttersäurekonzentration, was mit einem Rückgang der Propionsäurekonzentration verbunden war. Mit Ausnahme einer numerischen Erhöhung des Buttersäure-Niveaus bei hoher

SE-Konzentration konnte in der „kontinuierlichen Kultur“ kein signifikanter Einfluss der SE auf die Pansenfermentationsparameter beobachtet werden.

Ein weiterer Punkt, der auf eine lokale Darmwirkung hindeutet, ist die von chinesischen Autoren beschriebene Verbesserung der Verdaulichkeit sowie Verfügbarkeit von Nährstoffen bei Schweinen und Geflügel, die zu einer Leistungssteigerung führen kann (Ming et al. 1995; Lu und Yang 1996; Xu et al. 1998; Xie und Wang 1998). Auch Liu et al. (2008) untersuchten neben den oben beschriebenen Pansenfermentationsparametern bei Ochsen die Nährstoffverdaulichkeit im Gesamtrakt sowie in einer *in situ* Studie die ruminale Abbaubarkeit von Sojamehl und der Mais-Restpflanze (Maisstroh). Die Gesamtverdaulichkeit von Trockenmasse, organischer Masse, Rohprotein, Neutral Detergenzien Faser (NDF) und Säure Detergenzien Faser (ADF) war nach Zulage von 450 bzw. 900 mg LaCl_3 pro Tier und Tag signifikant linear und quadratisch ansteigend, während nach Zulage von 1800 mg LaCl_3 pro Tier und Tag ein Rückgang zu beobachten war. In der *in situ* Untersuchung war die effektive Abbaubarkeit von Trockenmasse und NDF der Mais-Restpflanze nach Zulage von 450 bzw. 900 mg LaCl_3 pro Tier und Tag linear ansteigend wohingegen nach Zulage von 1800 mg LaCl_3 pro Tier und Tag ein Abfall zu verzeichnen war. Im Unterschied dazu zeigte sich bei Sojamehl hinsichtlich der effektiven Abbaubarkeit von Trockenmasse und Rohprotein ein linearer Rückgang mit zunehmender SE-Konzentration. Yang et al. (2009b) ermittelten ebenfalls in ihrer „kontinuierlichen Kultur“ eine Verbesserung in der wahren Verdaulichkeit von Trockenmasse, organischer Masse nach Zusatz von 400 und 800 mg SE/kg T. Die verbesserte Verdaulichkeit der organischen Masse war vor allem auf eine bessere Verdaulichkeit von NDF und ADF sowie auf eine höhere Proteinabbaubarkeit zurückzuführen.

Um die These der höheren Verdaulichkeit infolge der SE-Aufnahme zu verifizieren untersuchten Böhme et al. (2002) anhand von Bilanzversuchen bei Mastschweinen den Einfluss verschiedener SE-Verbindungen (100 mg/kg Futter) auf die Rohnährstoffverdaulichkeit in praxisüblichen Futtermischungen. Sie fanden außer einer leicht höheren Rohfaserverdaulichkeit ($p > 0,05$) durch den Zusatz von SE-Ascorbat keine weiteren positiven Effekte. Prause (2006) untersuchte mit Hilfe von Respirationskammern bei wachsenden Ferkeln den Einfluss von SE auf die Energie-, Kohlenstoff-, und Stickstoffbilanz sowie die Verdaulichkeit dieser Nährstoffe. Die Autorin ermittelte in der ersten Respirationsphase nach Zulage von 150 mg SE/kg Futter eine signifikant verbesserte Verdaulichkeit der Bruttoenergie und des aufgenommenen Kohlenstoffes sowie eine Tendenz zu einer besseren Stickstoffverdaulichkeit im Vergleich zur Kontrollgruppe, wohingegen bei Zulage von 300 mg SE/kg Futter kein Effekt beobachtet werden konnte. Auf Energie-, Kohlenstoff-, und Stickstoffbilanz konnte während der beiden Respirationsphasen kein

signifikanter Einfluss festgestellt werden. Allerdings zeigten sich in der zweiten Respirationphase nach Zulage von 150 mg SE/kg Futter ein tendenziell erhöhter Proteinansatz (17 %) sowie eine bessere Stickstoffausnutzung (14 %) im Vergleich zur Kontrollgruppe. Laut der Autorin wäre es denkbar, dass SE die intestinale Permeabilität des Dünndarms für die verschiedenen Nährstoffe beeinflussen und es somit zu einer erhöhten Absorption der Nährstoffe kommen könnte (Prause et al. 2004). Andere Wissenschaftler vermuten als Ursache für die Verbesserung der Verdaulichkeit eine erhöhte Sekretion von Verdauungssäften (Ou et al. 2000), wie beispielsweise des Gastrins (Xu et al. 2004).

Ein weiterer möglicher Erklärungsansatz könnte die direkte oder über das vegetative Nervensystem vermittelte Beeinflussung der gastrointestinalen Motilität sein. Da SE sowohl durch Calcium-Inhibition die Weiterleitung von nervalen Reizen (Kalix 1971) als auch die Kontraktilität und den Tonus des Darmes beeinflussen (Weiss und Goodman 1969; Weiss 1974; Triggler und Triggler 1976; Evans 1990), wäre zu vermuten, dass auf diesem Wege die Verdauung beeinflusst werden könnte.

Die andere Haupttheorie zur Wirkungsweise der SE ist die Beeinflussung des Intermediärstoffwechsels, da immer wieder Veränderungen von Hormonspiegeln und Enzymaktivitäten bei Versuchen unter dem Einfluss von SE beobachtet wurden. So fanden He et al. (2003) bei Ratten nach Supplementation von 75 bzw. 150 mg LaCl_3 oder SECl_3 /kg Futter eine erhöhte Aktivität von Alanin-Amino-Transferase (ALT) ($p < 0,05$), Aspartat-Amino-Transferase (AST) ($p > 0,05$) und Alkalischer Phosphatase (AP) ($p < 0,05$) im Serum. Ähnliche Beobachtungen konnten auch Kawagoe et al. (2005) bei Mäusen ($p > 0,05$) und He et al. (2001) bei Mastschweinen ($p > 0,05$) nach oraler bzw. Nakamura et al. (1997) bei Ratten ($p < 0,05$) nach intravenöser Applikation von SE auf die ALT und AST machen. Im Unterschied zu der beschriebenen Studie von He et al. (2003) ermittelten He et al. (2001), Knebel (2004) und Glabasnia-Kreppold (2008) bei Schweinen, die SE erhielten, eine geringere Aktivität der AP ($p > 0,05$). Neben der Beeinflussung der Enzymaktivitäten durch die SE kommt es aber auch wie schon erwähnt, zu Veränderungen in den Hormonspiegeln wie beispielsweise bei den Schilddrüsenhormonen Trijodthyronin (T_3) und Thyroxin (T_4) und dem Wachstumshormon (WH). Im Rahmen der multifaktoriellen Regulation des Stoffwechsels beeinflussen unter anderem diese Hormone die Verteilung, Mobilisierung und Nutzung von Nährstoffen und weisen somit eine zentrale Bedeutung für die Regulation des Wachstums auf. Allerdings stellen sich die publizierten Befunde nicht immer einheitlich dar. Xu et al. (1999) zeigten durch den Zusatz von Lanthan (100 mg/kg Futter) für 30 Tage bei Mastschweinen eine signifikante Erhöhung des T_3 - und T_4 -Spiegels sowie des Wachstumshormons im Serum im Vergleich zur Kontrollgruppe

einhergehend mit einer Verbesserung der Lebendmassezunahme (13,3 %) und einer verbesserten Futtermittelverwertung (8,5 %). Auch Wang und Xu (2003) beobachteten einen Anstieg des WH nach Zulage von 100 mg LaCl_3/kg Futter bei Schweinen sowie Xie und Wang (1998) nach Zulage von 65, 130 und 195 mg SE/kg Futter bei Broilern. Dagegen wurde in zwei Rattenfütterungsversuchen bei verschiedenen SE-Verbindungen und Dosierungen kein gerichteter Einfluss auf den Wachstumshormonspiegel festgestellt (Franzke 2007; van Gemmeren 2008).

Ähnlich wie bei der Untersuchung von Xu et al. (1999) fanden auch Förster et al. (2008) bei Ferkeln nach der Supplementation von 100 bis 800 mg SE-Citrat/kg Futter für 35 Tage einen numerischen Anstieg der T_3 - und T_4 -Spiegel. Demgegenüber ermittelten He et al. (2001) bei Mastschweinen nach zwei bzw. drei Monaten durch Zulage von 300 mg SE-Chlorid/kg Futter einen signifikant erniedrigten T_3 -Spiegel. Der T_4 -Spiegel lag in der Versuchsgruppe geringfügig über dem der Kontrollgruppe. Diese Beobachtung steht auch im Einklang mit der Fütterungsstudie von Borger (2003). Auch Eisele (2003) ermittelte nach einem zwölfwöchigen Versuch bei den SE-supplementierten Schweinen 6 bis 9 % niedrigere T_3 -Spiegel. Im Unterschied zu den oben genannten Studien fand die Autorin eine signifikante Erniedrigung der T_4 -Spiegel der supplementierten Tiere.

ZIELSTELLUNG

Wie aus der Literaturübersicht über den aktuellen Wissensstand zu SE als neuem möglichen Futtermittelzusatzstoff zur Leistungssteigerung hervorgeht, fanden Wiederkäuer im Gegensatz zu Schweinen und Geflügel bisher kaum Beachtung. Die wenigen existierenden Studien führten zu inkonsistenten Ergebnissen, wobei Alter und Geschlecht der in den Untersuchungen verwendeten Tiere möglicherweise eine Rolle spielen könnten. Darüber hinaus sind nur wenige Informationen verfügbar, inwieweit sich die mit dem Futter aufgenommenen SE im Gewebe anreichern (Carry over) und somit ein potentiell gesundheitliches Risiko für den Verbraucher beim Verzehr dieser tierischen Produkte darstellen.

Daher war es Ziel der vorliegenden Arbeit, einen Beitrag zur Erweiterung des Kenntnisstandes über den Einsatz von SE in der Wiederkäuerernährung zu leisten. Folgende Fragen sollten dafür im Einzelnen bearbeitet werden:

1. Wie wirken sich SE auf die Tiergesundheit aus?
2. Welchen Einfluss haben SE auf die zootechnischen Leistungsparameter (Futteraufnahme, Lebendmasseentwicklung, Aufwandsdaten) beim präruminanten Kalb sowie beim Aufzucht- und Mastrind und gibt es alters- bzw. geschlechtsspezifische Unterschiede?
3. Welchen Einfluss haben SE auf die Schlachtleistung von Mastrindern?
4. Kommt es nach SE-Zulagen zu einer Akkumulation in ausgewählten Organen und Geweben von Wiederkäuern?
5. Wie wirken sich SE-Zulagen auf die Nährstoffverdaulichkeiten bei Schafen aus?

Zur Beantwortung der oben aufgeführten Fragen wurden insgesamt drei Fütterungsversuche mit Rindern unterschiedlichen Alters und Geschlechts sowie Verdauungsversuche mit Schafen durchgeführt.

In der ersten Studie wurden männliche Mastrinder für die Dosis-Wirkungsstudie mit abschließender Schlachtung in vier Versuchsgruppen eingeteilt. SE-Dosierungen von 0, 100,

200, 300 mg SE-Citrat/kg T-Aufnahme wurden angestrebt. Hiermit wurden die Effekte einer langfristigen Verabreichung von SE auf die Futtermittelaufnahme, die Wachstums- und Schlachtleistung, die Gesundheit (tägliche Tierkontrolle, grobmakroskopische Schlachtkörper- und Organuntersuchung (**PAPER I**)) sowie die Akkumulation von SE in Leber, Niere, Muskel und Knochen über den gesamten Mastabschnitt von 119- 556 kg LM geprüft (**PAPER II**).

Ob die Nährstoffverdaulichkeiten durch die SE im Futter verändert waren, was neben der Futtermittelaufnahme Auswirkungen auf die Wachstumsleistung haben kann, wurde in Verdauungsversuchen unter standardisierten Bedingungen an jeweils vier Hammeln untersucht (**PAPER I**).

In der zweiten Studie wurde die Wirkung von SE für einen Zeitraum von 44 Tagen bei einer Dosierung von 200 mg SE-Citrat/kg Milchaustauscher auf die Gesundheit, Futtermittelaufnahme und das Wachstum von präruminanten Kälbern untersucht. Hierfür wurden die Tiere im Anschluss an die Kolostralmilchperiode in eine Kontroll- und Versuchsgruppe eingeteilt. Die tägliche Futtermittelaufnahme, die Lebendmasse (LM) am Versuchsanfang und Versuchsende sowie gesundheitliche Auffälligkeiten bei der täglichen Kontrolle der Tiere wurden erfasst. Zudem wurde untersucht, ob es geschlechtsspezifische Unterschiede gibt (**PAPER III**).

Die dritte Studie an weiblichen Aufzuchtrindern, die zum Teil parallel zur ersten Studie verlief, war ebenfalls ein Dosis-Wirkungsversuch mit gleichen Dosen für einen Zeitraum von ca. 11 Wochen. Die zu untersuchenden Parameter waren Gesundheit, Futtermittelaufnahme und Wachstum (**PAPER III**).

Paper I

Effect of graded levels of rare earth elements in diets of fattening bulls on growing and slaughtering performance, and on nutrient digestibility of wethers

Annett Schwabe, Ulrich, Meyer, Gerhard Flachowsky and Sven Dänicke

Institute of Animal Nutrition, Friedrich-Loeffler-Institute (FLI), Federal Research Institute for Animal Health, Bundesallee 50, D-38116 Braunschweig, Germany

Archives of Animal Nutrition (2011) 65:55-73

Abstract

The aim of the present dose response study was to examine the long-term effects of increasing the amounts of rare earth elements (REE) in the diet on growth and slaughtering performance of fattening bulls. A total of 48 bulls of German Holstein with an average initial live weight (LW) of 119 ± 13 kg were divided into four dietary treatment groups ($n = 12$): a control group and three REE-treated groups, which were fed a supplement of 100, 200 and 300 mg REE-citrate per kg dry matter (DM) containing mainly cerium (57.9%), lanthanum (34.0%) and praseodymium (6.5%). The feeding trial was divided into a growing period for 8 weeks and a fattening period for 39 weeks. The growing diet consisted of concentrate, grass silage and grass hay, while the fattening diet consisted of concentrate and maize silage. The animals were slaughtered at approximately 556 kg LW. The intake of grass hay and maize silage (0.55–0.31 kg/d and 6.09–5.44 kg/d, respectively) decreased linearly ($p < 0.05$) with increasing REE-citrate supplementation, while LW gain showed only a numerical decrease during the growing (2–4%) and the fattening period (4–5%). The feed-to-gain ratio and metabolisable energy (ME)-to-gain ratio were not significantly affected by REE treatment during the whole feeding trial. The most striking effect of REE on carcass characteristics was a significantly higher dressing percentage in Group C (200 mg REE citrate kg/DM) compared to the other groups, while no effects were found on liver, kidneys, heart, thymus, pancreas, spleen and thyroid gland weights. The digestibility trials with wethers indicate that a supplementation of 300 mg REE-citrate per kg DM to a ration consisting of concentrate and straw does not enhance the digestibility of nutrients. These results suggest that, under the conditions of the present study, the supplementation of fattening bull diets with REE cannot be recommended.

Keywords: bull fattening; carcass yield; digestibility; performance; rare earth elements

1 Introduction

Since January 2006 the use of feed antibiotics has been banned across the entire European Union. Reasons for this ban are the potential development of antibiotic-resistant bacteria and the risk of residues in food. Therefore, scientists have recently developed an increasing interest in the development of alternative methods and substances which may promote growth and also enhance the feed efficiency. For this reason the rare earth elements (REE) have come into the focus of animal nutrition research. The group of rare earth elements consists of 17 transition elements of the III subgroup of the periodic system, with many similarities in most of their physical and chemical properties. They include the elements scandium (atomic

number 21), yttrium (atomic number 39), lanthanum (atomic number 57), and the 14 chemical elements following lanthanum (atomic number 58–71) called lanthanoides. In China, salts of REE have been successfully used as fertilisers in plant production and as feed additives in animal production to promote growth for many decades. Numerous Chinese studies reported growth-performance enhancing effects for many species of farm animals due to dietary supplementation of REE at low concentrations (Redling 2006). Moreover, it was shown that REE were able to increase milk production of dairy cattle and egg production of laying hens (Shen et al. 1991; Lei and Xueying 1997). In many cases, improvements in the feed-conversion-ratio were also observed (Wang and Xu 2003; Liu 2005). Since 1999, a number of feeding studies on the performance enhancing effects of REE on pigs, chickens, quails, calves and fishes have been conducted in Western countries, predominantly in Germany and Switzerland. These studies also verify that supplementation of REE improved the growth performance of pigs, poultry and calves under Western conditions in most cases (He et al. 2001, 2009a; Meyer et al. 2006). On the other hand, some studies also demonstrated that dietary application of REE did not influence the health of animals, meat quality or the safety of the products (He and Rambeck 2000; He et al. 2001; Miller 2006). These results correspond to those reported in the Chinese literature (Ji et al. 1985a, 1985b; Ming et al. 1995). The mechanisms of how REE improves animal performance are not yet completely understood, but several proposals have been made. A number of feeding trials described improved digestibility and utilisation of nutrients due to dietary REE supplementation, which could explain the observed positive effects on animal performance. Recently, Liu et al. (2008) observed that the total digestibility of diet was linearly increased with increasing amounts of LaCl_3 from 0 to 450 to 900 mg, and then declined with supplementation of 1800 mg LaCl_3 per steer and day. Yang et al. (2009) investigated the influence of a mixture of REE on ruminal fermentation, microbial protein synthesis and nutrient digestibility using an in vitro batch culture and a dual-flow continuous culture technique. They found an improved ruminal digestibility of organic matter due to REE supplementation. This was attributed to the increase in digestibility of fibre and degradability of protein. For these reasons, REE might be of interest as a new, safe and inexpensive alternative for growth promotion. However, there is little information about the effects of dietary supplementation of REE on growing fattening bulls under Western conditions. Therefore, the aim of the present study was to investigate the long-term effects of feeding various amounts of REE on health, fattening and slaughtering performance of beef cattle, as well as on nutrient digestibility in wethers.

2 Material and methods

2.1 Source and Composition of REE-citrate

The product Lancer®500 used in this study consisted of 50% wheat starch and 50% lanthanoide, whereby the lanthanoide (REE-citrate) itself consisted of 25.3% (growing period) and 38.7% (fattening period) rare earth elements and 74.7% and 61.3% citrate, respectively. The REE-citrate was a mixture containing organic citrate compounds of 57.9% cerium, 34.0% lanthanum, 6.5% praseodymium and 1.6% of other rare earth elements (Lancer®500, Zehentmayer AG Berg, Switzerland). In Switzerland, this product is permitted as a “lanthanoide” feed additive in compound feed of piglets and fattening pigs.

2.2 Treatments, experimental design and animals

The study was carried out at the experimental station of the Institute of Animal Nutrition, Friedrich-Loeffler-Institute (FLI), Federal Research Institute for Animal Health, Braunschweig, Germany. A total of 48 growing bulls (initial live weight [LW] 119 ± 13 kg) of the German Holstein breed from the FLI-breeding herd were randomly assigned to four feeding groups (n = 12), designated groups A, B, C and D, with an intended REE-citrate supplementation of 0, 100, 200 and 300 mg/kg dry matter (DM) in the diet during the whole experiment. The different amounts of Lancer® 500 in the concentrates of the same treatment group depended on the differences in DM intake and the concentrate to roughage ratio between growing and fattening periods (Table 1).

Table 1: Composition of the concentrates [g/kg] used in the growing and fattening periods.

Group	Growing period				Fattening period			
	A	B	C	D	A	B	C	D
REE-citrate [mg/kg DM]	0	100	200	300	0	100	200	300
Rapeseed meal			-			381		
Distillers dried grains with solubles			-			381		
Dried sugar beet pulp			-			90		
Soy bean meal		300				-		
Oats		305				-		
Barley		180				-		
Soybean oil		15				5		
Calcium carbonate		10				17		
Premix*		20				36		
Wheat	170.0	169.7	169.4	169.1	90.0	89.3	88.6	87.9
Lancer®500†	0	0.3	0.6	0.9	0	0.7	1.4	2.1

Notes: *Provided per kg premix (values in brackets refer to the fattening period): 160 (250) g Ca; 100 (85) g Na; 80 (40) g P; 30 (35) g Mg; 1 (-) g Fe; 0.8 (0.5) g Cu; 4 (2) g Mn; 6 (4) g Zn; 50 (30) mg I; 50 (20) mg Se; 30 (10) mg Co; 800,000 (500,000) IU vitamin A; 80,000 (80,000) IU vitamin D₃; 100 (500) mg vitamin E. †Lancer®500 consists of 50% wheat starch and 50% lanthanoide (REE-citrate).

The rations used were formulated to meet all nutritional requirements for growing and fattening bulls as recommended by the Society of Nutrition Physiology (GfE 1995), and were divided into growing and fattening diets. For the first eight weeks of the experiment the

PAPER I

growing diets (average LW ranged between 119 and 180 kg), continued by the fattening diets for the following 39 weeks (average LW ranged between 180 and 556 kg). The growing diet consisted of concentrate, grass silage and grass hay (Table 2), and the fattening diet contained concentrate and maize silage (Table 3).

Table 2: Nutrient composition and energy content of concentrates, grass silage and grass hay as well as the contents of rare earth elements (REE) in the growing period.

	Concentrates REE-citrate Supplementation [mg/kg DM]				Grass silage	Grass hay	REE- citrate
	0	100	200	300			
Dry matter [g/kg]	889	894	890	889	342	870	
Crude ash [g/kg DM]	64	64	65	62	100	64	
Crude protein [g/kg DM]	223	216	210	213	150	95	
Crude fat [g/kg DM]	43	43	42	42	36	17	
Crude fibre [g/kg DM]	69	71	69	70	281	306	
ADF [g/kg DM]	88	89	87	89	308	323	
NDF [g/kg DM]	207	216	213	212	520	609	
ME [MJ/kg DM]	12.6	12.6	12.6	12.6	9.5	9.0	
Pure REE [mg/kg DM]							
Lanthanum	5	13	29	41	0.5	0.2	42,243
Cerium	9	23	51	71	0.9	0.4	73,395
Praseodymium	1	3	6	9	0.1	0.1	8,641
Neodymium	1	2	2	1	0.2	0.1	23
Remaining REE*	1	2	2	2	0.2	0.1	1,977
Total REE	17	43	90	124	1.9	0.9	126,279

Note: *Without the element scandium.

Table 3: Nutrient composition and energy content of concentrates and maize silage as well as the contents of rare earth elements (REE) in the fattening period.

	Concentrates [#] REE-citrate supplementation [mg/kg DM]				Maize silage	REE- citrate
	0	100	200	300		
Dry matter [g/kg]	908	908	909	909	318	
Crude ash [g/kg DM]	111	111	113	115	46	
Crude protein [g/kg DM]	303	304	302	302	85	
Crude fat [g/kg DM]	49	50	49	49	30	
Crude fibre [g/kg DM]	98	97	98	97	200	
ADF [g/kg DM]	162	162	163	161	225	
NDF [g/kg DM]	379	376	378	376	436	
ME [MJ/kg DM]	11.3	11.3	11.3	11.1	10.6	
Pure REE [mg/kg DM]						
Lanthanum	4	39	92	126	0.2	67,174
Cerium	8	67	155	213	0.3	111,535
Praseodymium	1	7	14	19	0.03	11,858
Neodymium	2	2	2	2	0.08	122
Remaining REE*	4	6	8	9	2	2,836
Total rare earth elements	19	121	271	369	2.6	193,525

Notes: [#]Concentrates consisted of a mineral mixture with REE-citrate as well as rapeseed meal and distillers dried grains with solubles; *With the element scandium.

The composition of the concentrates is shown in Table 1. The daily concentrate allowance was restricted to 2.0 kg (growing period) and 2.1 kg (fattening period), respectively, and was

offered by a self feeding station (Type AWS HF 2ST, manufacturer: Insentec, Marknesse, The Netherlands). The concentrates used in the fattening period consisted of a mineral mixture with REE-citrate (0.5 kg/d) as well as rapeseed meal and distillers dried grains with solubles (each 0.8 kg/d) (Table 3). The LW of the animals was measured with cattle scales each time they entered the concentrate feeding station. Grass silage, grass hay and maize silage were offered for *ad libitum* consumption through a transponder self feeding station (Type RIC, Insentec, BV, Marknesse, The Netherlands) while water was available at all times. The animals were recognised by ear transponders to continuously record the individual concentrate and roughage intake of each animal with an electronic registration system. The growing bulls were housed in an unheated and uninsulated stable and were kept in group boxes (12 calves per box) with the dimensions 5.20 x 7.40 m. Each box was divided into an area with straw bedding and an area close to the feeding equipment fitted with a slatted floor. When they reached an average initial LW of 180 kg, the animals were moved to a thermally non-isolated stable for fattening bulls and kept in groups of six bulls per pen according to their feeding group. The group pens had dimensions of 4.85 x 8.00 m and were equipped with slatted floors, of which two thirds of the floor was covered with perforated rubber mats. Performance parameters were evaluated for particular fattening periods. These periods were during the growing period from the beginning (119 kg) to 180 kg LW, and during the fattening period from 180–250 kg LW, from 250–350 kg LW, from 350–450 kg LW and from 450 kg LW to slaughtering.

2.3 Slaughtering

At approximately 556 kg LW the animals were slaughtered after a preceding feed withdrawal of 7 h in the abattoir at the experimental station of the FLI in Braunschweig. The animals were stunned with a captive bolt stunner, exsanguinated and opened afterwards. During the slaughtering process, the weight of various organs and slaughtering products were recorded. At the end of slaughtering, carcasses were dissected into two halves through the median plane and both weights were recorded. After 24 h chilling at 4°C, the carcasses were weighed again to record the cold carcass weight. Dressing percentage was calculated by dividing the hot carcass weight by the slaughtering weight, which was recorded just before slaughtering.

2.4 Digestibility trial

A digestibility trial was carried out according to the standard procedures described by the German Society of Nutrition Physiology (GfE 1991) to investigate the effects of REE on the nutrient digestibility in a dose of 300 mg REE-citrate/kg DM, as well as to calculate

metabolisable energy (ME). Each concentrate used in the fattening period was tested on four adult wethers. After an adaptation period of 14 days, the wethers were adjusted to the balance cages, which allowed a quantitative collection of faeces during an 8-day collection period. At the beginning of the digestibility trial the wethers had a mean LW of 96.2 ± 10.4 kg. The respective concentrate was fed together with straw at a rate of 40–60% on a DM-basis. Total daily DM intake was restricted to 860 g per animal in each balance period. The daily feed amount was given in two equal portions at 07:00 and 14:00 h after collecting the faeces. The total faeces of each animal were collected and pooled to one sample per animal. Furthermore, feed samples were taken every day and pooled over the period of 8 days. For further analysis, feed and faeces samples were thoroughly homogenized and dried at 60°C for 72 h, then ground to pass through a 1 mm screen. Additionally, the digestibilities of grass and maize silage used in the experiments were also evaluated by digestibility trials.

2.5 Analysis

Representative samples of the maize and grass silage were collected twice weekly, pooled over four weeks and then dried at 60°C for 72 h. Concentrates and grass hay were taken once a week and pooled over four weeks. For proximate analyses, all feed samples were ground to pass through a sieve with 1 mm pore size. Feedstuff samples were analysed for the content of crude nutrients according to the methods of the VDLUFA (Verband Deutscher landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten; Naumann and Bassler 1993) in the laboratory of the Institute of Animal Nutrition, Braunschweig. The acid and neutral detergent fibre (ADF, NDF) were determined following the method proposed by Goering and van Soest (1970). Additionally, the feed samples and the REE-citrate mixture (Lancer® 500) were analysed for their concentrations of rare earth elements by Food GmbH Analytics and Consulting in Jena, Germany, using an intra-coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS) method.

2.6 Calculations and statistics

In order to calculate the energy intake of the growing bulls, the ME of the used feedstuffs was estimated using the formulas of the GfE (2001) based on the analysed nutrient composition and table values (DLG 1997). For the calculation, the energy intake of the fattening bulls, the ME of the used feedstuffs as well as grass silage was calculated according to the regression equations as given by the GfE Guidelines (GfE 2001) by using the nutrient digestibilities from the digestibility trials with the wethers. All statistics were carried out by using the Statistica for Windows™ operating system (StatSoft Inc., 2007).

Performance and slaughtering data were evaluated according to a one-way factorial design of analysis of variance (ANOVA) corrected for initial LW using the following model:

$$y_{ij} = \mu + a_i + \beta_{y \cdot x} (x_{ij} - \bar{X}_{..}) + e_{ij}$$

where y_{ij} = tested parameter of the bull “j” fed diet type “i”; μ = overall mean; a_i = effect of dietary inclusion of REE (0, 100, 200 and 300 mg REE-citrate/kg diet); $\beta_{y \cdot x}$ = regression coefficient of y on x; x_{ij} = co-variable; \bar{X} = mean value for x; and e_{ij} = error term. The probabilities for the fixed effect of the group (REE) and for the orthogonal effects (linear, quadratic) are presented in the results tables, along with the least square means (LSmeans) and the pooled standard error of means (PSEM). Significant mean value differences were evaluated by the Tukey test. Effects were considered to be significant at $p < 0.05$, and a p value between 0.05 and 0.1 was considered a trend.

3 Results

3.1 Chemical composition and REE concentrations of feedstuffs

The analysed nutrient compositions and REE (pure elements) concentrations of feedstuffs as well as the Lancer® 500 used in the current study are presented in Tables 2 and 3. With regard to nutrient and energy content, supplemented diets in the growing and fattening period differed only slightly from the respective control diet (Tables 2 and 3). The REE lanthanum, cerium, praseodymium and neodymium were found in all feed samples. The average total REE concentration was 0.9 mg/kg DM in grass hay, 1.9 mg/kg DM in grass silage and 2.6 mg/kg DM in maize silage. The concentration of the analysed REE in concentrates of the growing and fattening periods increased from A–D, as intended by formulation (Tables 2 and 3).

3.2 Animal health

The health status of the animals was regularly monitored. Unrelated to the treatment, two bulls were excluded before the trial ended. One bull (Group C) was euthanised due to chronic bloat, while the other was excluded from the study due to retarded growth. Therefore, 46 bulls were used for evaluation. In addition, during the fattening period three animals of Group B suffered from panaritium, phlegmone and arthritis and were treated with antibiotics and analgaesics. In Group C, two bulls were treated for panaritium, phlegmone and distortion, and two bulls of Group D required treatment for panaritium. The occurrence of these diseases was not related to the experimental factors.

3.3 Performance parameters

3.3.1 Growing period

The results of the performance parameters over the growing period are presented in Table 4. The average actual intake of REE-citrate/kg DM amounted to $0, 72 \pm 6, 155 \pm 11$ and 231 ± 15 mg for the Group A, B, C and D, respectively, and differed distinctly from the intended intake.

Table 4: Effects of rare earth elements (REE) supplemented feed for bulls on feed intake, crude protein intake, ME intake, live weight gain, feed-to-gain ratio and ME-to-gain ratio during the growing period from 119 kg to 180 kg live weight.*

Group	A	B	C	D	PSEM [†]	ANOVA (probabilities)		
						REE	Linear	Quadratic
REE-citrate [mg/kg DM]	0	100	200	300				
Number of bulls	11	12	11	12				
<i>Feed intake [kg DM/d]</i>								
Grass silage	1.83	1.85	1.77	1.85	0.10	0.944	0.997	0.769
Grass hay	0.55	0.46	0.36	0.31	0.08	0.183	0.030	0.823
Concentrate	1.73	1.80	1.81	1.78	0.02	0.084	0.183	0.025
Total feed intake	4.11	4.11	3.95	3.94	0.07	0.178	0.042	0.948
<i>Nutrient intake</i>								
Crude protein intake [g/d]	707	691	685	690	17	0.828	0.416	0.555
Metabolisable intake [MJ/d]	44.1	44.4	42.9	42.7	0.7	0.239	0.069	0.757
Live weight gain [g/d]	1127	1092	1085	1101	22	0.557	0.388	0.248
Feed-to-gain ratio [kg/kg]	3.66	3.78	3.66	3.61	0.1	0.671	0.538	0.389
ME-to-gain ratio [MJ/kg]	39.3	40.8	39.8	39.1	1.0	0.666	0.737	0.305
REE-citrate [mg/kg DM]	0 ^d	72 ^c	155 ^b	231 ^a	3.0	<0.001	<0.001	0.440
Pure REE [mg/kg DM]	8.2 ^d	19.6 ^c	43.6 ^b	58.7 ^a	0.8	<0.001	<0.001	0.024
Pure REE intake [mg/kg LW/d]	0.2 ^d	0.5 ^c	1.2 ^b	1.5 ^a	0.0	<0.001	<0.001	0.037

Notes: *Values are given as least square means (LSmeans); [†]PSEM, Pooled standard error of means.

The number of days necessary to reach a weight of 180 ± 8.8 kg did not differ across treatments and averaged 58 d. The grass silage intake was unaffected by the treatments and was similar in all experimental groups. However, the grass hay intake decreased with increasing REE supplementation in a significantly linear manner ($p = 0.030$). In contrast, concentrate intake was positively stimulated due to REE supplementation ($p = 0.084$) and showed a significant quadratic effect ($p = 0.025$). Furthermore, the total feed intake showed a linear decrease ($p = 0.042$) and the ME intake was tendentially decreased ($p = 0.069$). These effects can be explained by the reduced grass hay intake. The LW gain as well as the feed-to-gain ratio and the ME-to-gain ratio were not significantly influenced by the dietary treatments (Table 4).

3.3.2 *Fattening period*

The effects of REE supplementation on growth performance of the bulls over the whole course of the fattening period are presented in Tables 5 and 6. The average intake of REE-citrate/kg DM achieved the intended intake with 0, 97 ± 6 , 192 ± 10 and 303 ± 16 mg for Groups A, B, C and D, respectively. The maize silage intake was declined linearly with increasing REE supplementation. The maize silage intake of animals in Group D was significantly lower than those of Group A, but did not show significant differences to other treatments. The effect of the reduced maize silage intake occurred over the whole course of the experiment, except from Periods 1 and 2, where only tendencies were found. As a result of reduced concentrate (Periods 1 and 2) and maize silage intake, the total feed intake as well as the ME- and crude protein intake were influenced in a similar manner. For the concentrate intake, significant differences between the groups could be shown, but these differences are rather inconsistent. Cumulatively, the feed consumption of the control (Group A) amounted to 7.96 kg and was the highest followed by Group C with 7.69 kg, Group B with 7.62 kg and Group D with 7.29 kg daily DM intake. A significant difference in the DM intake was only found between Group D and the control group. These differences in feed intake were reflected by the weight gain of the bulls of 1427, 1371, 1349 and 1355 g/d for the groups fed with 0, 100, 200 and 300 mg REE-citrate/kg DM, respectively, but the differences did not reach a significant level. The animals fed with 300 mg REE-citrate/kg DM (Group D) showed the lowest feed-to-gain ratio as well as the lowest ME-to-gain ratio, followed by the groups fed with 0 mg and 100 mg REE-citrate/kg DM (Groups A and B). Group C had the highest feed-to-gain ratio and ME-to-gain ratio. However, these differences did not reach a significant level. As a consequence of declined LW gains, the REE-treated animals achieved their targeted slaughtering weight of approximately 556 kg within 277, 281 and 279 days, respectively, whereas the animals in Group A (the control) needed 262 days. Hence, the fattening period was extended by up to 7% due to REE feeding.

Table 5: Effects of rare earth elements (REE) supplemented feed for bulls on the daily intake of feed, crude protein and ME during different experimental periods in the fattening period from 180–556 kg live weight.*

Group	A	B	C	D	PSEM [†]	ANOVA (probabilities)		
						REE	Linear	Quadratic
REE-citrate [mg/kg DM]	0	100	200	300				
Number of bulls	11	12	11	12				
<i>Period 1 (180-250 kg LW)</i>								
Maize silage [kg DM/d]	4.02	3.88	3.80	3.54	0.15	0.146	0.027	0.656
Concentrate [kg DM/d]	1.90 ^a	1.89 ^a	1.89 ^a	1.81 ^b	0.02	0.002	0.001	0.045
Total feed intake [kg DM/d]	5.92 ^a	5.78 ^{ab}	5.68 ^{ab}	5.35 ^b	0.15	0.053	0.009	0.501
Crude protein intake [g/d]	953 ^a	931 ^a	915 ^{ab}	871 ^b	15	0.002	<0.001	0.468
ME intake [MJ/d]	64.1 ^a	62.4 ^{ab}	61.5 ^{ab}	57.5 ^b	1.5	0.027	0.004	0.456
<i>Period 2 (251-350 kg LW)</i>								
Maize silage [kg DM/d]	5.65	5.27	5.16	5.09	0.15	0.060	0.012	0.326
Concentrate [kg DM/d]	1.89	1.86	1.83	1.82	0.02	0.077	0.012	0.539
Total feed intake [kg DM/d]	7.54 ^a	7.13 ^{ab}	6.99 ^{ab}	6.91 ^b	0.15	0.030	0.005	0.288
Crude protein intake [g/d]	1092 ^a	1027 ^{ab}	1015 ^{ab}	1003 ^b	21	0.025	0.005	0.225
ME intake [MJ/d]	81.2 ^a	76.8 ^{ab}	75.3 ^{ab}	74.2 ^b	1.6	0.021	0.003	0.306
<i>Period 3 (351-450 kg LW)</i>								
Maize silage [kg DM/d]	6.54 ^a	6.06 ^{ab}	6.27 ^{ab}	5.80 ^b	0.15	0.013	0.006	0.967
Concentrate [kg DM/d]	1.82	1.82	1.85	1.87	0.02	0.430	0.124	0.721
Total feed intake [kg DM/d]	8.36 ^a	7.88 ^{ab}	8.12 ^{ab}	7.67 ^b	0.16	0.024	0.015	0.925
Crude protein intake [g/d]	1102 ^a	1054 ^{ab}	1066 ^{ab}	1023 ^b	19	0.046	0.012	0.904
ME intake [MJ/d]	89.9 ^a	84.7 ^{ab}	87.4 ^{ab}	82.3 ^b	1.7	0.017	0.011	0.975
<i>Period 4 (451-556 kg LW)</i>								
Maize silage [kg DM/d]	7.42 ^a	7.29 ^{ab}	7.30 ^{ab}	6.80 ^b	0.16	0.044	0.015	0.253
Concentrate [kg DM/d]	1.89 ^b	1.89 ^b	1.97 ^a	1.91 ^{ab}	0.02	0.002	0.037	0.117
Total feed intake [kg DM/d]	9.31 ^a	9.18 ^{ab}	9.28 ^{ab}	8.72 ^b	0.16	0.042	0.026	0.221
Crude protein intake [g/d]	1128	1093	1120	1073	17	0.093	0.074	0.728
ME intake [MJ/d]	100.0 ^a	98.1 ^{ab}	99.6 ^a	93.3 ^b	1.7	0.027	0.019	0.206

continued

Table 5: (Continued).

Group	A	B	C	D	PSEM [†]	ANOVA (probabilities)		
						REE	Linear	Quadratic
REE-citrate [mg/kg DM]	0	100	200	300				
<i>Whole fattening period (180-556 kg LW)</i>								
Maize silage [kg DM/d]	6.09 ^a	5.76 ^{ab}	5.81 ^{ab}	5.44 ^b	0.11	0.002	0.001	0.827
Concentrate [kg DM/d]	1.87 ^{ab}	1.86 ^{ab}	1.89 ^b	1.85 ^a	0.01	0.034	0.514	0.287
Total feed intake [kg DM/d]	7.96 ^a	7.62 ^{ab}	7.69 ^{ab}	7.29 ^b	0.11	0.002	<0.001	0.798
Crude protein intake [g/d]	1076 ^a	1033 ^{ab}	1038 ^{ab}	999 ^b	13	0.001	<0.001	0.876
ME intake [MJ/d]	85.7 ^a	81.9 ^{ab}	82.8 ^{ab}	78.2 ^b	1.2	0.001	<0.001	0.739
REE-citrate [mg/kg DM]	0 ^d	97 ^c	192 ^b	303 ^a	3.0	<0.001	<0.001	0.019
Pure REE [mg/kg DM]	7.2 ^d	34.2 ^c	74.4 ^b	102.8 ^a	1.1	<0.001	<0.001	0.517
Pure REE intake [mg/kg LW/d]	0.2 ^d	0.7 ^c	1.6 ^b	2.1 ^a	0.0	<0.001	<0.001	0.007

Notes: *Values are given as least square means (LSmeans); [†]PSEM; Pooled standard error of means. Values with different superscripts within a row are significantly different (p < 0.05).

Table 6: Effect of rare earth elements (REE) supplemented feed for bulls on live weight gain, feed-to-gain ratio and ME-to-gain ratio during different experimental periods in the fattening period from 180–556 kg live weight.*

Group	A	B	C	D	PSEM [†]	ANOVA (probabilities)		
						REE	Linear	Quadratic
REE-citrate [mg/kg DM]	0	100	200	300				
Number of bulls	11	12	11	12				
<i>Period 1 (180-250 kg LW)</i>								
Live weight gain [g/d]	1434	1369	1324	1258	59	0.206	0.035	0.995
Feed-to-gain ratio [kg/kg]	4.22	4.35	4.37	4.28	0.22	0.962	0.823	0.621
ME-to-gain ratio [MJ/kg]	45.7	47.0	47.3	46.1	2.4	0.960	0.886	0.597
<i>Period 2 (251-350 kg LW)</i>								
Live weight gain [g/d]	1551	1383	1439	1432	57	0.222	0.243	0.171
Feed-to-gain ratio [kg/kg]	4.91	5.31	4.87	4.87	0.18	0.283	0.508	0.291
ME-to-gain ratio [MJ/kg]	52.9	57.1	52.5	52.3	2.0	0.275	0.465	0.275
<i>Period 3 (351-450 kg LW)</i>								
Live weight gain [g/d]	1424	1405	1324	1353	65	0.692	0.317	0.714
Feed-to-gain ratio [kg/kg]	6.00	5.77	6.32	5.70	0.29	0.452	0.785	0.522
ME-to-gain ratio [MJ/kg]	64.6	62.0	67.9	61.1	3.1	0.434	0.753	0.506
<i>Period 4 (451-556 kg LW)</i>								
Live weight gain [g/d]	1372	1395	1324	1377	54	0.819	0.815	0.788
Feed-to-gain ratio [kg/kg]	6.85	6.61	7.14	6.43	0.23	0.172	0.489	0.317
ME-to-gain ratio [MJ/kg]	73.6	70.9	76.7	68.8	2.5	0.149	0.450	0.308
<i>Whole fattening period (180-556 kg LW)</i>								
Live weight gain [g/d]	1427	1371	1349	1355	36	0.437	0.150	0.396
Feed-to-gain ratio [kg/kg]	5.60	5.61	5.74	5.40	0.15	0.432	0.477	0.233
ME-to-gain ratio [MJ/kg]	60.3	60.3	61.7	57.9	1.6	0.374	0.419	0.215

Notes* Values are given as least square means (LSmeans); PSEM[†], Pooled standard error of means

3.4 Digestibility trial

The nutrient digestibility of the ration consisting of concentrate and straw is presented in Table 7. The digestibility of organic matter, crude protein, N-free extract, crude fibre, acid detergent fibre and neutral detergent fibre was not significantly affected by the highest REE-citrate supplementation.

Table 7: Effects of rare earth elements (REE) on nutrient digestibility [%] of a straw/concentrate ration (60:40 on a DM-basis) as measured with wethers (n=4)*

	Group		Probability	PSEM [†]
	Control	REE 300		
Organic matter	67.3	65.3	0.514	2.0
Crude protein	41.5	47.3	0.259	3.3
N-free extractives	72.8	69.5	0.187	1.6
Crude fibre	63.5	64.7	0.768	2.6
Acid detergent fibre	59.7	59.3	0.899	2.6
Neutral detergent fibre	63.8	64.4	0.867	2.3

Notes: *Values are given as means; [†]PSEM, Pooled standard error of means.

3.5 Slaughtering results and gross pathological findings

On the day of slaughtering, LW ranged between 544 and 569 kg. The carcass characteristics and relative organ weights are presented in Table 8. Bulls of Group C (200 mg REE-citrate kg/DM) showed a significantly higher carcass dressing percentage ($p = 0.031$) in comparison to the other groups, and a significant linear effect ($p = 0.025$) was observed. Related to the empty body weight, the weights of liver, kidneys, spleen, thymus, pancreas, thyroid gland or abdominal fat were not affected by the dietary treatment and varied slightly between groups. The empty body weight tended to be influenced by REE supplementation in a linear manner ($p = 0.064$). The macroscopic examination of the carcass and organs for conspicuous diversifications showed no differences between the treatment groups. Diffuse sclerosis of the left kidney was detected for one animal of Group B, and one bull of Group C showed an abscess in the liver.

Table 8: Effects of rare earth element (REE)-supplemented feed for bulls on carcass composition and organ weights.*

Group	A	B	C	D	PSEM [§]	ANOVA (probability)		
						REE	Linear	Quadratic
REE-citrate [mg/kg DM]	0	100	200	300				
Bulls (n)	11	12	11	12				
Live weight [§] [kg]	544	555	556	556	2	0.539	0.151	0.769
EBW [#] [kg]	490	489	494	495	2	0.208	0.064	0.777
Dressing [†] [%]	52.3 ^b	52.3 ^b	53.7 ^a	53.1 ^b	0.4	0.031	0.025	0.437
Abdominal fat [*] [kg/100 kg EBW]	8.21	7.71	7.79	7.94	0.32	0.700	0.599	0.306
Organ weights [g/100 kg EBW]								
Liver	1528	1537	1483	1509	34	0.740	0.508	0.843
Kidneys	239	240	230	228	8	0.651	0.258	0.818
Heart	440	464	455	435	13	0.362	0.616	0.106
Thymus	100	104	94	105	6	0.654	0.855	0.688
Pancreas	113	124	116	113	4	0.188	0.629	0.105
Spleen	236	226	229	219	8	0.506	0.206	0.942
Thyroid gland	6.9	7.2	7.2	7.0	0.4	0.939	0.828	0.549

Notes: *Values are given as least square means (LSmeans); [§]PSEM, Pooled standard error of means; [§]At least after 7 h fasting; [#]EBW, Empty body weight (difference between live weight and the weights of the contents of the gastro-intestinal tract, the gallbladder and the urinary bladder); [†]Weights of the warm carcass as a percent of the live weight; ^{*} Sum of the fat of the kidney cavity and the fat covering the gastro-intestinal tract. Values with different superscripts within a row are significantly different ($p < 0.05$).

4 Discussion

4.1 *Chemical composition and REE of the feedstuffs*

The analysed nutrient composition and energy contents of the concentrates were balanced among different treatments. Control feed contained low doses of REE, although REE were not supplemented in this diet (Tables 2 and 3). The analyses of the roughage used (grass hay, grass- and maize silage) revealed low concentrations of REE in all these samples, which was expected, as REE are naturally present in the environment and thus they are found ubiquitously. Some of them, mainly La and Ce, are fairly abundant in nature. Their average deposits in the Earth's crust range from 66 µg/g for Ce to 0.5 µg/g for Tm and the concentration of the extremely rare Pm is distinctly below 0.1 µg/g. The concentrations and compounds of REE in surface soils vary according to parent material properties, history, weathering state of the soil, contents of organic matter and clay minerals (Tyler 2004). Plants are able to assimilate and incorporate these elements in all parts of the plant including the seed (Wytttenbach et al. 1998; Ding et al. 2005). For this reason traces of REE can be found in almost all types of herbal diets.

4.2 *Animal health*

The health of the animals was not adversely affected by the REE supplementation. During the growing period none of the animals showed any signs of sickness. However, during the fattening period seven animals were treated for panaritium, phlegmones, arthritis and distortion. The occurrence of these diseases was not related to the experimental diet. This is in accordance with results from previously published studies with pigs, broilers, calves and sheep (Adu et al. 2006; Miller 2006; Förster et al. 2008; He et al. 2009a), where no negative influence of REE on animal health could be observed. Furthermore, Glabasnia-Kreppold (2008) conducted a tolerance study adding up to 2500 mg REE-citrate per kg to the diet of piglets and did not find any adverse effects on animal health.

4.3 *Performance and nutrient digestibility*

Experiments with REE and beef cattle under European production conditions concerning the effects on performance parameters are very few in number in the literature. Therefore, the chosen REE concentrations were estimated by investigations on pigs as there were no recommendations for possible concentrations available in the literature. In this study, the most remarkable difference during the growing period was a reduced grass hay intake by up to 44% in the group with the highest REE supplementation compared to the control animals, whereas the concentrate intake was slightly stimulated due to REE supplementation. This observation

is in accordance with Meyer et al. (2006), who observed a significant decrease in the hay intake by 44% when supplementing a milk replacer with 200 mg/kg REE-citrate in pre-ruminant female Holstein calves during the 2nd to 7th postnatal week. However, in contrast to the current study, these animals showed a higher average daily LW gain of 14.6% ($p > 0.05$) in spite of a decreased total feed intake of 7.8%. One reason for the described differences might be the different age of animals used and therefore possibly different influences on the microbial population and activity in the rumen. In a field trial with fattening calves (83 kg initial LW, an average age of 44 d), Miller (2006) investigated the influence of 200 mg REE-citrate per kg diet on the daily weight gain over a period of 10 weeks. Similar to our results, the REE-citrate treated calves showed a numerically lower LW gain than the unsupplemented calves. However, no comparison can be made regarding the feed intake, since the animals used by Miller (2006) were fed restrictively. In the fattening period of the present trial the addition of REE led to a significantly reduced cumulative feed consumption by up to 8.7% (Group D, Table 5) compared to the control (Group A), mainly due to a decreased maize silage intake. The lack of a significant effect of REE on DM intake during the growing period in the current study may be due to the lower REE intake during this time. REE resemble the element calcium not only in size and bonding but also in coordination geometry and donor atom preference, which allows them to replace Ca^{2+} in various physiological processes (Evans 1990; Redling 2006). As Ca^{2+} belongs to the signaling system, REE may also affect the signal transduction pathway and this could in turn affect the motility of the smooth muscles. So the effect of REE on feed intake might possibly be induced by influencing the gastrointestinal motility by smooth muscle activity, which may decrease the passage rate (Weiss 1974; Triggle C and Triggle D 1976; Redling 2006). Additionally, it was stated that REE may be able to influence the nervous system, although their transport to nervous tissues seems to be very low (Weiss 1974; Evans 1990; Qiu et al. 2005). As feed intake and gastrointestinal motility are controlled via the vegetative nervous system, the gastrointestinal motility could also be influenced by lanthanoides via this pathway. It is also known that the aroma and flavour of the diets may influence the feed intake. However, as REE are tasteless, this aspect is not likely to play a role in the current study. Furthermore, REE supplementation was mixed within the concentrate and no consistent effect on concentrate intake could be observed. However, data regarding REE effects on feed intake are conflicting. Schwabe et al. (2009) did not observe an effect on the feed intake of 28 fattening bulls when REE-citrate was fed at a concentration of 200 mg/kg DM in a LW range of 245–558 kg. However, the supplementation of REE led to a significant decrease in LW gain by 7% and an increase in feed-to-gain ratio

and ME-to-gain ratio by 10% over the whole experimental period. In a feeding study lasting 12 weeks, 100, 200, 300 mg of lanthanum oxide per kg feed were fed to 40 growing West African dwarf sheep (n = 10 per group) with 9.0 kg LW (Adu et al. 2006). A dose-dependent response in the form of improved LW gain (40 up to 88 g/d) and feed-to-gain ratio (5.13 up to 2.83 kg/kg) was observed, whereas the feed intake did not differ between the groups (Adu et al. 2006). No explanation can be given for these differences between various authors in relation to feed intake. Therefore, further studies on the relationship between orally administered REE and feed intake are of interest. In the current study, the feed-to-gain ratio and the ME-to-gain ratio were not affected by the treatment. However, the group receiving 200 mg REE-citrate/kg concentrate showed an increased feed-to-gain ratio and ME-to-gain ratio, while the group fed with the highest amounts of REE showed a slight improvement when the feed-to-gain ratio and the ME-to-gain ratio were compared to the control, Group A (Table 6). In some studies the authors suggest that the improvement could be explained with an enhanced digestibility of nutrients and/or an intermediary impact due to a more efficient utilisation of available energy. A recent study by Liu et al. (2008) investigated the influence of lanthanum chloride (LaCl_3) on rumen fermentation, urinary excretion of purine derivatives and feed digestibility in the whole digestive tract of beef cattle. The authors reported an improved rumen fermentation and feed digestion when the diet was supplemented with LaCl_3 . The controlled feeding regime (90% of *ad libitum* intake) used in this examination may be a reason for these positive effects. Also, Yang et al. (2009) reported a linear improved ruminal true digestibility of organic matter, acid detergent fibre and crude protein with increasing REE supplementation using dual-flow continuous culture fermentors. However, no effect on ruminal total volatile fatty acids concentration and molar proportion of acetate or propionate were observed. But the molar proportion of butyrate tended to be higher with the high dosage of REE (800 mg/kg, $p = 0.08$) than with the low dosage of REE (400 mg/kg) or the control. Similarly, Knebel (2004) did not observe any influence on ruminal fermentation supplementing 150, 750 or 3759 mg rare earth citrates per kg using the rumen stimulation technique. The present digestibility trial with wethers indicates no significant changes concerning the digestibility of the nutrients (Table 7), so other unknown factors could be responsible for the slight improvement of feed-to-gain ratio and ME-to-gain ratio in the highest REE supplementation group.

4.4 Slaughtering results and gross pathological findings

In the current experiment, the organ weights related to the empty body weight were not significantly influenced by the dietary treatment (Table 8). This is in accordance with results reported by Schwabe et al. (2009), who did not observe any effect on the weights of liver, kidney and thymus when fattening bulls (245–558 kg) were fed with 200 mg REE-citrate/kg DM. However, the authors found a significant reduction of the spleen weight when REE was supplemented. As shown in an *in vitro* trial with immunocompetent cells, REE are able to suppress the cell proliferation (Yamage and Evans 1989). In an *in vivo* experiment He et al. (2009b) observed a sizeable but not significant increase in proliferation activity in splenocytes from REE-fed rats. Our findings are further supported by the results reported by He et al. (2003) who did not find any effects on the relative weights of the lymphoid organs thymus and spleen of rats after a dietary supplementation with pure La-chloride or a mixture of REE. Additionally, Borger (2003) did not observe any influence on the organ weights of liver, kidney and heart in pigs after a supplementation of 150 mg/kg REE chloride. In a study with broilers, He et al. (2009a) reported no differences in several slaughter indexes, including carcass weight, chill weight, heart, liver, drumstick, legs, wings and breast meat by the supplementation of REE to the diets. However, the weights of the fat pad and thigh were slightly increased. The authors assumed that the increase of fat pad could have been a result of the stimulation of the proliferation of preadipocytes, as observed in *in vitro* tests by He et al. (2006). However, there was no increase in abdominal fat in the current study (Table 8). Additional parameters such as pH values, meat brightness, electrical conductivity or meat-fat ratio were examined at the end of several feeding trials with pigs in order to assess meat quality (Borger 2003; Miller 2006), but no differences could be revealed between REE-supplemented animals and control animals. In the present study, the increased carcass dressing percentage of Group C might be explained by allometric growth, as the animals of this group were older at slaughter.

The gross macroscopical examination of carcass and organs included the liver, kidneys, heart, thymus, pancreas, spleen and thyroid gland and showed no conspicuous diversifications for any of the groups in the present study. This is in accordance with results presented by Ji et al. (1985a, 1985b), Ming et al. (1995) and Glabasnia-Kreppold (2008), who observed no pathological alterations of liver, kidney, heart, spleen and lung due to the intake of REE. In addition, these studies also included histopathological examinations of the heart, liver and kidneys and other tissues of pigs and rats and no abnormalities were observed. Kehe et al. (1992) also observed no pathological changes in broilers fed with rare earth nitrate at 20 and

200 mg/kg. However, supplementation of 2000 mg REE nitrate per kg feed resulted in pathological changes in liver, heart, kidneys and thyroid of broilers. The authors reported the occurrence of fatty livers and found signs indicating pericarditis and myocarditis. In the kidneys, necrosis of epithelium cells on the nephric tubule was detected and the thyroid cells were necrotic or dissolved. These pathological changes could be explained by the very high concentration of REE fed and by the different physiological responses of different species used.

5. Conclusions

Under the conditions of the present study it was concluded that REE had no positive effects on the performance of fattening bulls. The supplementation of REE resulted in a decrease in feed intake and therefore a lower live weight gain. Conversely, results in the literature suggested that a restricted feed intake possibly entailed an improvement in the digestibility of nutrients. Therefore, further research is necessary to examine the mode of action of REE in the digestive tract of ruminants.

Acknowledgements

The assistance of the co-workers of the Institute of Animal Nutrition and the Experimental Station of the Friedrich-Loeffler-Institute in Braunschweig (Germany) in performing the experiment and analyses as well as the support of this study by the H. Wilhelm Schaumann Foundation in Hamburg (Germany) is gratefully acknowledged. Furthermore, we would like to thank Prof. Dr. habil. M. Grün of Food GmbH Analytics and Consulting in Jena (Germany) for the analysis of REE concentration in feedstuffs.

References

- Adu OA, Adeseye SA, Adebisi OA, Olumide MD, Igbasan FA, Alokun JA. 2006. Performance of West African dwarf sheep fed diets supplemented with rare earth elements (REE). *J Agric Forest Social Sci.* 4:166–174.
- Borger C. 2003. *Alternative Methoden in der Schweinemast. Untersuchungen zum leistungssteigernden Potential Seltener Erden und zur Jodanreicherung im Gewebe durch die Verfütterung von Meeresalgen [dissertation].* [München (Germany)]: Ludwig-Maximilians-Universität München.
- Ding S, Liang T, Zang C, Yan J, Zang Z. 2005. Accumulation and fractionation of rare earth elements (REEs) in wheat: Controlled by phosphate precipitation, cell wall absorption and solution complexation. *J Exp Bot.* 56:2765–2775.
- DLG. 1997. *Futterwerttabellen Wiederkäuer.* 7 ed. DLG-Verlags GmbH, Frankfurt am Main.
- Evans CH. 1990. *Biochemistry of the lanthanides.* New York and London: Plenum Press.

- Förster D, Berk A, Hoppen HO, Rambeck WA, Flachowsky G. 2008. A note on the effect of rare earth elements on the performance and thyroid hormone status of rearing piglets. *J Anim Feed Sci.* 17:70–74.
- GfE (Gesellschaft für Ernährungsphysiologie). 1991. Leitlinien für die Bestimmung der Verdaulichkeit von Rohnährstoffen an Wiederkäuern. *J Anim Physiol Anim. Nutr.* 65:229–234.
- GfE (Gesellschaft für Ernährungsphysiologie). 1995. Energie- und Nährstoffbedarf landwirtschaftlicher Nutztiere. Nr. 6, Empfehlungen zur Energie- und Nährstoffversorgung der Mastrinder. DLG-Verlags GmbH. Frankfurt am Main.
- GfE (Gesellschaft für Ernährungsphysiologie). 2001. Empfehlungen zur Energie- und Nährstoffversorgung der Milchkühe und Aufzuchtrinder. Nr. 8, Ausschuss für Bedarfsnormen der Gesellschaft für Ernährungsphysiologie, DLG-Verlags GmbH. Frankfurt am Main.
- Glabasnia-Kreppold K. 2008. Untersuchungen zur Verträglichkeit Seltener Erden beim Ferkel [dissertation]. [München (Germany)]: Ludwig-Maximilians-Universität München.
- Goering HJ, Van Soest PJ. 1970. Agricultural handbook No. 379. Forage fiber analyses (Apparatus, reagents, procedure and some applications). Washington DC: Agricultural Research Service.
- He ML, Rambeck WA. 2000. Rare earth elements – a new generation of growth promoters for pigs. *Arch Anim Nutr.* 53:323–334.
- He ML, Ranz D, Rambeck WA. 2001. Study on the performance enhancing effect of rare earth elements in growing and fattening pigs. *J Anim Physiol Anim Nutr.* 85:263–270.
- He ML, Wang YZ, Xu ZR, Chen ML, Rambeck WA. 2003. Effect of dietary rare earth elements on growth performance and blood parameters of rats. *J Anim Physiol Anim Nutr.* 87:229–235.
- He ML, Wehr U, Rambeck WA. 2009a. Effect of low doses of dietary rare earth elements on growth performance of broilers. *J Anim Physiol Anim Nutr.* 94:86–92.
- He ML, Yang WZ, Hidari H, Rambeck WA. 2006. Effect of rare earth elements on proliferation and fatty acids accumulation of 3T3-L1 cells. *Asian Australas J Anim Sci.* 19:119–125.
- He ML, Yang WZ, Mir PS, McAllister TA. 2009b. Effect of rare earth elements on mitogeninduced proliferation of splenocytes of Wistar rats. *Can J Anim Sci.* 89(Suppl. 1):172. (Abstract).
- Ji Y, Cui M, Dong X, Zhu S. 1985a. Subchronic toxicity of rare earth nitrates in rats. Proceedings of the International Conference on Rare Earth Development and Applications; 10–14 September 1985, Beijing, China. P. 697–699.
- Ji Y, Cui M, Wang Y, Zang X. 1985b. Toxicological study on safety evaluation of rare earth elements used in agriculture. Proceedings of the International Conference on Rare Earth Development and Applications; 10–14 September 1985, Beijing, China, . p. 700–704.
- Kehe X, Tingxian X, Jiangwi Z, Shilin D. 1992. Effects of rare earth nitrate on internal organs and mineral elements in the serum of broiler chickens. *Asian Australas J Anim Sci.* 5:63–67.
- Knebel C. 2004. Untersuchungen zum Einfluss Seltener Erd-Citrate auf Leistungsparameter beim Schwein und die ruminale Fermentation im künstlichen Pansen (RUSITEC) [dissertation]. [München (Germany)]: Ludwig-Maximilians-Universität München.
- Lei S, Xueying L. 1997. Rare earths as a feed additive for poultry. *World Poult Sci J.* 53:369–379.
- Liu MJ. 2005. Application of lanthanum chloride to pigs. *Jianxi Feed.* 3:11–13.
- Liu Q, Wang C, Huang Y, Dong KH, Yang WZ, Wang H. 2008. Effects of lanthanum on rumen fermentation, urinary excretion of purine derivatives and digestibility in steers. *Anim Feed Sci Technol.* 142:121–132.

- Naumann C, Bassler R. 1993. Die chemische Untersuchung von Futtermitteln. Methodenbuch Bd. 3 mit Ergänzungslieferungen 1983, 1988, 1993, 1997, 2004 und 2006. VDLUFA. Darmstadt, Germany.
- Meyer U, Spolders M, Rambeck W, Flachowsky G. 2006. Effect of dietary rare earth elements on growth performance of preruminant female Holstein calves. *Proc Soc Nutr Physiol.* 15:67.
- Miller T. 2006. Einfluss Seltener Erden in der Schweine- und Kälbermast [dissertation]. [München (Germany)]: Ludwig-Maximilians-Universität München.
- Ming YH, Xiu ZH, Ming HX, Yuan LS. 1995. Production and physiological effect of rare earth complex added to growing pig diet. *Proceedings of the 3rd International Conference on Rare Earth Development and Applications*, Baotou, China. P. 452–455.
- Qiu G, Li W, Li X, Zhou W. 2005. Biological intelligence of rare earth elements in animal cells. *J Rare Earths.* 23:554–573.
- Redling K. 2006. Rare earth elements in agriculture with emphasis on animal husbandry [dissertation]. [München (Germany)]: Ludwig-Maximilians-Universität München.
- Schwabe A, Meyer U, Flachowsky G. 2009. Effect of dietary rare earth elements (REE) on growth performance of fattening bulls. *Proc Soc Nutr Physiol.* 18:45.
- Shen Q, Zang J, Wang C. 1991. Application of rare earth elements on animal production. *Feed Industry.* 12:21–22.
- StatSoft Inc. 2007. Statistica for Windows™ operating system. Tulsa, OK, USA.
- Triggle CR, Triggle DJ. 1976. An analysis of the action of cations of the lanthanide series on the mechanical responses of guinea-pig ileal longitudinal muscle. *J Physiol.* 254:39–54.
- Tyler G. 2004. Rare earth elements in soil and plant systems – a review. *Plant Soil.* 267:191–206.
- Wang MQ, Xu ZR. 2003. Effect of supplemental lanthanum on the growth performance of pigs. *Asian Australas J Anim Sci.* 16:1360–1363.
- Weiss GB. 1974. Cellular pharmacology of lanthanum. *Ann Rev Pharmacol.* 14:343–354.
- Wytenbach A, Furrer V, Schleppe P, Tobler L. 1998. Rare earth elements in soil and in soil grown plants. *Plant Soil.* 199:267–273.
- Yamaga M, Evans CH. 1989. Suppression of mitogen-induced and antigen-induced lymphocyte-proliferation by lanthanides. *Experientia.* 45:1129–1131.
- Yang WZ, Laarman A, He ML, Liu Q. 2009. Effect of rare earth elements on *in vitro* rumen microbial fermentation and feed digestion. *Anim Feed Sci Technol.* 148:227–240.

PAPER II

Effect of rare earth elements (REE) supplementation to diets on the carry-over into different organs and tissues of fattening bulls

Annett Schwabe^a, Ulrich, Meyer^a, Manfred Grün^b, Klaus-Dieter Voigt^b, Gerhard Flachowsky^a
and Sven Dänicke^a

^aInstitute of Animal Nutrition, Friedrich-Loeffler-Institute (FLI), Federal Research Institute for Animal Health, Bundesallee 50, D-38116 Braunschweig, Germany

^bFood GmbH Jena Analytik-Consulting, Orlaweg 2, D-07743 Jena, Germany

Abstract

A dose response study was carried out to assess the influence of different levels of REE supplementation on the REE transfer into different organs and tissues of fattening bulls. For this purpose, 48 male German Holstein calves with an average initial live weight of 119 ± 13 kg were divided into four treatment groups ($n = 12$): one control group and three REE-treated groups fed a supplement of 100, 200 and 300 mg REE-citrate/kg dry matter (DM) containing mainly cerium (57.9%), lanthanum (34.0%) and praseodymium (6.5%). The feeding trial was divided into a growing period (8 ± 3 weeks) and a fattening period (39 ± 4 weeks). The growing diet consisted of concentrate, grass silage and grass hay, and the fattening diet consisted of concentrate and maize silage. After slaughtering of the bulls (556 ± 4 kg mean live weight), the concentrations of REE were measured in the liver, kidneys, *Musculus longissimus* and rib bone by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). The concentrations of REE (lanthanum (La), cerium (Ce) and praseodymium (Pr)) in the liver, kidneys and rib bone showed a significant linear increase with increasing dietary REE-citrate supplementation, while the REE concentration in muscle tissue remained unaffected. The highest REE concentration was measured in the liver followed by the kidneys and rib bone. In the liver, the concentration amounted to 22–482 $\mu\text{g}/\text{kg DM}$ for La, 37–719 $\mu\text{g}/\text{kg DM}$ for Ce and 4–73 $\mu\text{g}/\text{kg DM}$ for Pr. The muscle tissue, playing an important role to evaluate food safety, showed the lowest La, Ce and Pr concentrations with 3–5 $\mu\text{g}/\text{kg DM}$, 5–7 $\mu\text{g}/\text{kg DM}$ and 0.5–0.7 $\mu\text{g}/\text{kg DM}$, respectively. The results demonstrate that the health risk to humans consuming edible tissues of REE supplemented animals is very low.

Keywords Carry-over – rare earth elements – fattening bulls – edible tissues

1 Introduction

The rare earth elements (REE) consist of 17 transition metals of the III subgroup of the periodic system which include the lanthanides lanthanum (La), cerium (Ce), praseodymium (Pr), neodymium (Nd), promethium (Pm), samarium (Sm), europium (Eu), gadolinium (Gd), terbium (Tb), dysprosium (Dy), holmium (Ho), erbium (Er), thulium (Tm), ytterbium (Yb), lutetium (Lu) and the elements yttrium (Y) and scandium (Sc). REE are frequently divided into two subgroups: the light or cerium group and the heavy or yttrium group. The distinction is based on their physical and chemical separability as well as on their ion radius (Pang et al., 2002). The group of light REE consists of the elements La, Ce, Pr, Nd, Pm, Sm and Eu, whereas the group of heavy REE comprises the elements Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Tm,

Yb, Lu and Y. However, Scandium cannot be classified into neither of these 2 groups. Promethium, as one of the light REE, is unstable and has only been found in very small amounts in uranium ore deposits. Therefore, it is not well characterized (Evans, 1990; Redling, 2006). REE are naturally present in the environment. Some of these elements, mainly La and Ce, are fairly abundant in nature despite of their name, but they occur only in trace amounts in biological systems (d'Aquino et al., 2009). The largest REE reserves in the world (80%) are found in China. Therefore, this country is a major supplier of REE for the world market, delivering mineral concentrates, alloys and oxides. Today, due to their superior physical and chemical properties, REE are widely used in various fields such as metallurgy, chemical industry, electronics and medicine (Rambeck and Wehr, 2005; Richter, 1996). In addition, they are successfully used in Chinese agriculture as fertilizer in plant production and as performance-enhancers in animal nutrition for many years (Redling, 2006). Since 2006 the use of antibiotics as performance-enhancers is prohibited in Europe. As a result of the ban within the European Union, various alternatives were examined as a potential replacement. Hence, experiments with REE were performed under feeding conditions in Europe. These experiments have shown positive effects on animal growth and feed conversion, especially in pigs and poultry (He et al., 2001; He et al., 2010; He and Rambeck, 2000). In Europe, placing feed additives on the market as well as their use in animal nutrition is governed by Regulation (EC) No. 1831/2003. According to this regulation, feed additives can only be marketed if they have been proven to have no harmful effects on human and animal health or on the environment (European Commission, 2003). With regard to the possible application of REE as a potential performance enhancer in animal husbandry, it is crucial to acquire relevant data on the carry-over of REE to assess the risk of a possible exposure of consumers via animal-derived food. Up to now, data considering the effect of dietary REE supplementation on residues in tissues of ruminants, including muscle, are rare. Therefore, the aim of this dose-response-study was to evaluate the effect of increasing amounts of REE in the diet of beef cattle over an entire fattening period on the carry-over of REE into different tissues.

2 Materials and methods

2.1 Source and composition of REE-citrate

The product Lancer® 500, used in this study, consists of 50% wheat starch and 50% REE-citrate, whereby the lanthanoide (REE-citrate) itself consists of 25.3% (growing period) and 38.7% (fattening period) rare earth elements and 74.7% and 61.3% citrate, respectively. The REE-citrate was a mixture containing organic citrate compounds of 57.9% Ce, 34.0% La, 6.5% Pr and 1.6% of other rare earth elements (Lancer® 500 Zehentmayer AG Berg,

Switzerland). In Switzerland, this product is licensed as “lanthanoide” feed additive in complete diets of piglets and fattening pigs.

2.2 Animals, experimental design and treatments

The results presented here are a part of study described in more detail by Schwabe et al. (2011). The experiment was carried out at the Experimental Station of the Institute of Animal Nutrition, Friedrich-Loeffler-Institute (FLI), Federal Research Institute for Animal Health in Braunschweig, Germany. In brief, 48 male German Holstein calves (initial live weight 119 ± 13 kg) from the FLI-breeding herd were randomly separated into four feeding groups (12 bulls per group) designated as groups A, B, C and D with an intended REE-citrate supplementation of 0, 100, 200 and 300 mg/kg dry matter (DM) in the diet during the whole experiment. The average age of calves at the beginning of the trial was 14 ± 0.4 weeks. The trial was divided into a growing and fattening period. During the first 8 ± 3.0 weeks (growing period) the animals (average live weight range between 119 kg and 180 kg) received concentrate, grass silage and grass hay. During the next 39 ± 4 weeks (fattening period) the bulls (average live weight range between 180 kg and 556 kg) received concentrate and maize silage. The rations were formulated to meet the nutritional requirements for growing and fattening bulls as recommended by the German Society of Nutrition Physiology (GfE, 1995). The composition of the concentrates is shown in Table 1. The daily concentrate intake was restricted to 2.0 kg and 2.1 kg for growing and fattening period, respectively. The concentrates used in the fattening period (FP) consisted of a mineral mixture (0.5 kg per day) containing REE-citrate as well as rapeseed meal and distillers dried grains with solubles (each 0.8 kg per day). The different amount of Lancer® 500 in the concentrates of the same treatment group depends on the differences in DM intake and concentrate to roughage ratio between growing and fattening period (Table 1). Roughage and water were provided *ad libitum*. The daily individual feed intake of concentrate and roughage of each animal was recorded continuously by self-feeding stations (Type RIC, Insentec, B.V., Marknesse, The Netherlands) and ear transponders. The individual live weight was measured automatically every time an animal entered the concentrate feeding station. During both periods the animals were housed in group pens according to their feeding group. The group pens were equipped with a slatted floor and partly covered with straw bedding (growing period) or with perforated rubber mats (fattening period). The experiment was conducted in accordance with the German Guidelines concerning the protection of experimental animals and was approved by the Lower Saxony State Office for Consumer Protection and Food Safety (LAVES), Oldenburg, Germany (File Number 33.42502-A-021-06).

Table 1: Composition of the concentrates, grass and maize silages and grass hay as well as the REE contents used in the growing (GP) and fattening period (FP).

Components [g/kg]	Growing period						Fattening period				
	Concentrates				Grass silage	Grass hay	Concentrates				Maize silage
	Control	REE 100	REE 200	REE 300			Control	REE 100	REE 200	REE 300	
Rapeseed meal			-						381		
Distillers dried grains with solubles			-						381		
Dried sugar beet pulp			-						90		
Soybean meal			300						-		
Oats			305						-		
Barley			180						-		
Soybean oil			15						5		
Calcium carbonate			10						17		
Mineral and vitamin premix ^{a,b}			20						36		
Wheat	170	169.7	169.4	169.1			90	89.3	88.6	87.9	
Lancer [®] 500 ^c	0	0.3	0.6	0.9			0	0.7	1.4	2.1	
<i>Analyzed composition</i>											
Dry matter [g/kg]	889	894	890	889	342	870	908	908	909	909	318
Crude nutrients [g/kg DM]											
Crude ash	64	64	65	62	100	64	111	111	113	115	46
Crude protein	223	216	210	213	150	95	303	304	302	302	85
Crude fat	43	43	42	42	36	17	49	50	49	49	30
Crude fibre	69	71	69	70	281	306	98	97	98	97	200
Acid detergent fibre	88	89	87	89	308	323	162	162	163	161	225
Neutral detergent fibre	207	216	213	212	520	609	379	376	378	376	436
Metabolisable energy [MJ/kg DM]	12.6 ^d	12.6 ^d	12.6 ^d	12.6 ^d	9.5 ^e	9.0 ^d	11.3 ^e	11.3 ^e	11.3 ^e	11.1 ^e	10.6 ^e
<i>Pure rare earth elements [mg/kg DM]</i>											
Lanthanum	5	13	29	41	0.5	0.2	4	39	92	126	0.2
Cerium	9	23	51	71	0.9	0.4	8	67	155	213	0.3
Prasedymium	1	3	6	9	0.1	0.1	1	7	14	19	0.03
Neodymium	1	2	2	1	0.2	0.1	2	2	2	2	0.08
Remaining REE	1	2	2	2	0.2	0.1	4	6	8	9	2
Total rare earth elements	17	43	90	124	1.9	0.9	19	121	271	369	2.6

^a GP: per kg mineral and vitamin premix: 160 g Ca; 100 g Na; 80 g P; 30 g Mg; 1000 mg Fe; 800 mg Cu; 4000 mg; Mn; 6000 mg Zn; 50 mg I; 50 mg Se; 30 mg Co; 800 000 IU vitamin A; 80 000 IU vitamin D₃; 100 mg vitamin E.

^b FP: per kg mineral and vitamin premix: 250 g Ca; 85 g Na; 40 g P; 35 g Mg; 500 mg Cu; 2000 mg Mn; 4000 mg Zn; 30 mg I; 20 mg Se; 10 mg Co; 500 000 IU vitamin A; 80 000 IU vitamin D₃; 500 mg vitamin E.

^c Lancer[®]500 consists of 50% wheat starch and 50% lanthanoides (REE-citrate).

^d Calculation based on the analysed nutrient composition and table values (DLG, 1997).

^e Calculation based on nutrient digestibilities measured with wethers (GfE, 1991).

2.3 *Sample collection and preparation*

The animals were slaughtered with a live weight of approximately 556 ± 4 kg in the slaughterhouse at the Experimental Station of the FLI in Braunschweig after being fasted for 7 h. During the slaughtering process, samples from the liver and the kidney were taken. The carcass was dissected into two halves through the median plane and a sample from *M. longissimus* was excised between the 12th and 13th rib of the left half of the carcass. 24 h after slaughtering, the 8th rib of the left half of the carcass was dissected. All samples were immediately vacuum packaged and deep frozen at -20 °C for subsequent REE analysis. Maize and grass silage samples were collected twice weekly, pooled over four weeks and then dried at 60 °C for 72 h. Once weekly concentrates and grass hay were sampled and pooled over a four week period. For further analysis of the crude nutrients and REE, all feed samples were ground to pass through a 1-mm screen.

2.4 *Analysis*

The crude nutrients in feed samples were determined according to the methods of the Verband Deutscher Landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten (Naumann and Bassler, 1976). Acid detergent fibre (ADF) and neutral detergent fibre (NDF) were determined according to Goering and Van Soest (1970). The REE analysis in all specimens was performed by inductively coupled plasma-mass-spectrometry (Thermo ICP-MS X Series) according to the international standard DIN EN ISO 17294-2:2005-02. For the digestion, 100 g of each tissue sample was homogenized for 30 s using a Grindomix GM 200 knife mill (Retsch GmbH, Haan, Germany). Afterwards, the homogenate samples were digested in a microwave oven using the following procedure: approximately 0.3 g of the feed sample, 0.7 g of the bone sample or 1 g of liver, kidney and muscle sample were weighed into a Teflon pressure vessel and 4 mL of HNO_3 (65%) and 1 mL of H_2O_2 (30%) were added. After sealing, the vessels were introduced into the microwave digestion rotor and the oven was adjusted with the following settings: Step 1: 2 min at 100 °C; Step 2: 5 min at 130 °C; Step 3: 15 min at 180 °C. After cooling, the digested samples were transferred into 15-mL measuring tube (Sarstedt Nümbrecht, Germany). The inner wall of the Teflon pressure vessel was washed with distilled deionized water and the rinse water was transferred into the tube. These tubes were filled up with distilled deionized water to a final volume of 15 mL. For the analysis of REE in liver, kidney and muscle tissue a portion of 1000 μl from this digest was diluted with 3950 μl distilled deionized water (1:5). For feed and bone sample 500 μl of the digest and 4450 μl distilled deionized water were taken (1:10). Rhodium was used as internal standard.

The samples were analysed by ICP-MS. The limit of determination of REE ranged between 4.4 µg/kg and 0.01 µg/kg DM, depending on the investigated element.

2.5 *Statistical analysis*

The statistical analysis was performed with the Statistica for Windows™ operating system (StatSoft Inc., 2007). Normal distribution was tested by the Kolmogorov–Smirnov test. The differences in the rare earth elements accumulation in organs and tissues were evaluated according to a one-way factorial design of analysis of variance (ANOVA) with the following model:

$$y_{ij} = \mu + a_i + e_{ij}$$

where y_{ij} = tested parameter of the bull “j” fed diet type “i”; μ = overall mean; a_i = effect of dietary inclusion of REE (0, 100, 200 and 300 mg REE-citrate/kg diet); e_{ij} = error term. The probabilities for the fixed effect of the group (REE) and for the orthogonal effects (linear, quadratic) are presented in the result tables along with the means and the pooled standard error of means (PSEM). The Tukey-test was used for the multiple comparisons of the means of the experimental groups. Differences were considered as significant at $p < 0.05$.

3 Results

3.1 Intake of REE

The mean intake of the REE was calculated on the basis of the live weight data of the fattening period and the dietary concentration (Table 2). The La, Ce and Pr intake increased from 28 to 705 for La, 51 to 1188 for Ce and 6 to 106 for Pr $\mu\text{g}/\text{kg}$ live weight per day in bulls fed diets containing 1255/2295/274, 10506/18037/1898, 24583/41655/3703, 34573/58237/5212 μg La/Ce/Pr per kg DM.

Table 2: REE concentration [$\mu\text{g}/\text{kg}$ DM] of total feed and REE intake [$\mu\text{g}/\text{kg}$ LW/day] of bulls in the fattening period.

Group	A		B		C		D	
	REE ¹ $\mu\text{g}/\text{kg}$ DM	REE intake $\mu\text{g}/\text{kg}$ LW/day	REE $\mu\text{g}/\text{kg}$ DM	REE intake $\mu\text{g}/\text{kg}$ LW/day	REE $\mu\text{g}/\text{kg}$ DM	REE intake $\mu\text{g}/\text{kg}$ LW/day	REE $\mu\text{g}/\text{kg}$ DM	REE intake $\mu\text{g}/\text{kg}$ LW/day
Lanthanum	1255 ^D	28 ^d	10506 ^C	225 ^c	24583 ^B	526 ^b	34573 ^A	705 ^a
Cerium	2295 ^D	51 ^d	18037 ^C	387 ^c	41655 ^B	891 ^b	58237 ^A	1188 ^a
Praseodymium	274 ^D	6 ^d	1898 ^C	41 ^c	3703 ^B	79 ^b	5212 ^A	106 ^a
Neodymium	606 ^B	14 ^b	574 ^B	12 ^c	651 ^A	14 ^a	639 ^A	13 ^b
Samarium	98 ^A	2 ^a	93 ^B	2 ^b	103 ^A	2 ^a	99 ^A	2 ^b
Europium	26 ^B	0.6 ^a	24 ^C	0.5 ^b	27 ^A	0.6 ^a	26 ^{AB}	0.5 ^b
Gadolinium	143 ^D	3 ^d	598 ^C	13 ^c	1147 ^B	25 ^b	1574 ^A	32 ^a
Terbium	11 ^D	0.3 ^d	15 ^C	0.3 ^c	20 ^B	0.4 ^b	24 ^A	0.5 ^a
Dysprosium	44 ^A	1 ^a	40 ^B	0.9 ^b	45 ^A	1 ^a	44 ^A	0.9 ^b
Holmium	8 ^A	0.2 ^a	7 ^B	0.2 ^b	8 ^A	0.2 ^a	8 ^A	0.2 ^b
Erbium	21 ^{AB}	0.5 ^a	19 ^C	0.4 ^b	21 ^A	0.5 ^a	20 ^B	0.4 ^b
Thulium	2 ^B	0.1 ^a	2 ^C	0.0 ^c	2 ^{AB}	0.1 ^a	2 ^B	0.1 ^b
Ytterbium	14 ^B	0.3 ^a	14 ^B	0.3 ^c	15 ^A	0.3 ^b	16 ^A	0.3 ^{ab}
Lutetium	2 ^B	0.1 ^b	2 ^B	0.0 ^b	2 ^A	0.1 ^a	3 ^A	0.1 ^a
Yttrium	226 ^A	5 ^a	196 ^C	4 ^c	220 ^{AB}	5 ^b	211 ^B	4 ^c
Scandium	2186 ^A	49 ^a	2158 ^B	47 ^{ab}	2154 ^{BC}	47 ^{ab}	2143 ^C	45 ^b
Total rare earth elements	7211 ^D	161 ^d	34182 ^C	734 ^c	74356 ^B	1592 ^b	102831 ^A	2098 ^a

¹ Calculation based on analysed concentrations in concentrates and maize silage.

^{a-d}; ^{A-D} Means with different superscript within a row are significantly different ($p < 0.05$).

3.2 Effect of REE on performance parameters

A detailed description of the REE effects on performance parameters is published by Schwabe et al. (2011). In this paper only the major results of the performance are summarised (see Table 3). The grass silage intake remained unaffected by the REE treatments, whereas the grass hay intake linearly decreased with increasing REE supplementation in the growing period ($p=0.030$). The concentrate intake was slightly stimulated due to REE supplementation ($p=0.084$) and showing a significant quadratic effect ($p=0.025$). The total feed intake linearly declined ($p=0.042$) in the growing period which can be explained with the reduced grass hay intake. In the fattening period the maize silage intake was significantly reduced by 10.7% in Group D compared to the control group and showed a significant linear decrease ($p=0.001$).

In addition, the bulls of Group D had a significantly lower concentrate intake ($p=0.034$) in comparison to Group C. As a consequence of declined maize silage and concentrate intake, the total feed intake of Group D was significantly lower than those of Group A (Table 3). However, over the whole feeding trial neither live weight gain nor the feed-to-gain ratio and the metabolisable energy-to-gain ratio were significantly influenced by the REE treatment (Table 3).

Table 3: Effects of REE supplemented feed for bulls on feed intake, live weight gain, feed-to-gain ratio and metabolisable energy-to-gain ratio during the growing and fattening period

Group	A	B	C	D	ANOVA (probabilities)			
	0	100	200	300	REE	Linear	Quadratic	PSEM ¹
Bulls (n)	11	12	11	12				
Growing period [119-180 kg live weight]								
Feed intake [kg DM/d]								
Grass silage	1.83	1.85	1.77	1.85	0.944	0.997	0.769	0.10
Grass hay	0.55	0.46	0.36	0.31	0.183	0.030	0.823	0.08
Concentrate	1.73	1.81	1.81	1.78	0.084	0.183	0.025	0.02
Total feed intake	4.11	4.11	3.95	3.94	0.178	0.042	0.948	0.07
Live weight gain [g/d]	1127	1092	1085	1101	0.557	0.388	0.248	22
Feed-to-gain ratio [kg/kg]	3.66	3.78	3.66	3.61	0.671	0.538	0.389	0.10
Metabolisable energy-to-gain ratio	39.3	40.8	39.8	39.1	0.666	0.737	0.305	1.0
Fattening period [180-556 kg live weight]								
Feed intake [kg/DM/d]								
Maize silage	6.09 ^a	5.76 ^{ab}	5.81 ^{ab}	5.44 ^b	0.002	0.001	0.827	0.11
Concentrates	1.87 ^{ab}	1.86 ^{ab}	1.89 ^b	1.85 ^a	0.034	0.514	0.287	0.01
Total feed intake	7.96 ^a	7.62 ^{ab}	7.69 ^{ab}	7.29 ^b	0.002	<0.001	0.798	0.11
Live weight gain [g/d]	1427	1371	1349	1355	0.437	0.150	0.396	36
Feed-to-gain ratio [kg/kg]	5.60	5.61	5.74	5.40	0.432	0.477	0.233	0.15
Metabolisable energy-to-gain ratio	60.3	60.3	61.7	57.9	0.374	0.419	0.215	1.6

¹PSEM = pooled standard error of means

Least square means values with different superscripts within a row are significantly different ($p < 0.05$).

3.3 Concentrations of REE in the liver, kidneys, rib bone and *Musculus longissimus*

The concentrations of REE in the liver, kidneys, rib bone and *M. longissimus* of the fattening bulls after the application of increasing amounts of REE to the diet are listed in Tables 4 and 5. REE were detected in all examined tissues samples. Comparing the investigated tissue samples, the highest concentrations of REE (La, Ce, Pr, Nd and Gd) were found in the liver, independent of the inclusion rate. Moreover, the liver concentrations of La, Ce, Pr, Gd and Tb were significantly and dose-dependently increased from 0 to 200 mg REE-citrate/kg DM, but remained unaffected from 200 to 300 mg REE-citrate/kg DM (Table 4).

PAPER II

Table 4: Concentrations of REE [$\mu\text{g}/\text{kg DM}$] in liver and kidneys of bulls fed diets containing increasing amounts of REE over the entire fattening period (119-556 kg live weight).

Group	REE-citrate [$\text{mg}/\text{kg DM}$]				ANOVA (probabilities)			
	A	B	C	D	REE	Linear	Quadratic	PSEM ¹
REE-citrate [$\text{mg}/\text{kg DM}$]	0	100	200	300				
Bulls (n)	11	12	11	12				
<i>REE concentration [$\mu\text{g}/\text{kg DM}$] in the liver</i>								
Lanthanum	22 ^c	179 ^b	411 ^a	482 ^a	<0.001	<0.001	0.045	21
Cerium	37 ^c	275 ^b	620 ^a	719 ^a	<0.001	<0.001	0.034	32
Praseodymium	4 ^c	29 ^b	64 ^a	73 ^a	<0.001	<0.001	0.021	3
Neodymium	8.7 ^b	9.9 ^{ab}	11.6 ^a	9.6 ^{ab}	0.028	0.137	0.017	0.7
Samarium	0.96	1.08	1.21	1.00	0.275	0.561	0.083	0.09
Europium	0.23	0.19	0.24	0.23	0.708	0.737	0.622	0.03
Gadolinium	1.6 ^c	9.5 ^b	21.0 ^a	23.8 ^a	<0.001	<0.001	0.019	1.0
Terbium	0.07 ^c	0.16 ^b	0.26 ^a	0.25 ^a	0.001	<0.001	0.004	0.02
Dysprosium	0.23	0.21	0.25	0.17	0.208	0.206	0.295	0.03
Holmium	0.03	0.04	0.04	0.05	0.364	0.173	0.475	0.01
Erbium	0.15	0.18	0.16	0.16	0.836	0.881	0.537	0.02
Thulium	0.00	0.01	0.00	0.00	0.091	0.248	0.086	0.00
Ytterbium	0.05	0.07	0.07	0.08	0.643	0.321	0.721	0.01
Lutetium	0.00	0.02	0.02	0.02	0.225	0.078	0.248	0.01
Yttrium	4.0	3.9	4.0	3.7	0.772	0.802	0.664	0.3
Scandium	292	308	290	291	0.863	0.422	0.654	17
<i>REE concentration [$\mu\text{g}/\text{kg DM}$] in the kidney</i>								
Lanthanum	12 ^d	56 ^c	102 ^b	167 ^a	<0.001	<0.001	0.300	10
Cerium	22 ^d	102 ^c	185 ^b	291 ^a	<0.001	<0.001	0.413	16
Praseodymium	3 ^d	12 ^c	22 ^b	35 ^a	<0.001	<0.001	0.523	2
Neodymium	5.6	5.8	6.4	6.8	0.239	0.048	0.718	0.5
Samarium	1.1	1.1	1.0	1.2	0.755	0.458	0.615	0.1
Europium	0.48	0.38	0.49	0.47	0.697	0.873	0.587	0.07
Gadolinium	1.6 ^d	4.3 ^c	7.6 ^b	11.4 ^a	<0.001	<0.001	0.374	0.7
Terbium	0.13 ^b	0.14 ^b	0.14 ^b	0.21 ^a	0.001	0.001	0.029	0.01
Dysprosium	0.35	0.40	0.40	0.46	0.488	0.137	0.914	0.05
Holmium	0.07	0.09	0.09	0.09	0.548	0.284	0.311	0.01
Erbium	0.22 ^{ab}	0.16 ^b	0.19 ^{ab}	0.26 ^a	0.039	0.183	0.014	0.03
Thulium	0.01	0.02	0.02	0.01	0.861	0.868	0.552	0.01
Ytterbium	0.08	0.11	0.10	0.11	0.705	0.340	0.746	0.02
Lutetium	0.02	0.04	0.01	0.01	0.128	0.162	0.256	0.01
Yttrium	8.7	6.5	7.1	7.5	0.224	0.405	0.087	0.8
Scandium	390	467	436	415	0.209	0.701	0.067	26

^{a-d} Means with different superscript within a row are significantly different (P<0.05).

¹ PSEM = pooled standard error of means

PAPER II

Table 5: Concentrations of REE [$\mu\text{g}/\text{kg DM}$] in rib bone and *Musculus longissimus* of bulls fed diets containing increasing amounts of REE over the entire fattening period (119-556 kg live weight).

Group	A	B	C	D	ANOVA (probabilities)			
	0	100	200	300	REE	Linear	Quadratic	PSEM ¹
REE-citrate [$\text{mg}/\text{kg DM}$]	0	100	200	300				
Bulls (n)	11	12	11	12				
<i>REE concentration [$\mu\text{g}/\text{kg DM}$] in the rib bone</i>								
Lanthanum	13 ^c	51 ^b	118 ^a	132 ^a	<0.001	<0.001	0.109	7
Cerium	20 ^c	81 ^b	186 ^a	202 ^a	<0.001	<0.001	0.074	12
Praseodymium	2 ^c	11 ^b	25 ^a	27 ^a	<0.001	<0.001	0.041	1.7
Neodymium	6.4	7.3	6.8	5.3	0.568	0.42	0.263	1.0
Samarium	1.2	1.3	1.3	1.1	0.762	0.67	0.335	0.2
Europium	5.4	4.8	5.1	4.4	0.339	0.15	0.912	0.4
Gadolinium	1.6 ^b	3.6 ^b	7.4 ^a	7.9 ^a	<0.001	<0.001	0.151	0.5
Terbium	0.24	0.31	0.37	0.29	0.095	0.205	0.039	0.03
Dysprosium	0.64	0.71	0.74	0.64	0.743	0.868	0.284	0.08
Holmium	0.12	0.13	0.14	0.12	0.754	0.751	0.296	0.02
Erbium	0.30	0.32	0.37	0.29	0.407	0.942	0.152	0.03
Thulium	0.05	0.04	0.05	0.03	0.261	0.211	0.641	0.01
Ytterbium	0.26	0.24	0.24	0.21	0.880	0.462	0.911	0.04
Lutetium	0.13	0.13	0.13	0.11	0.833	0.508	0.558	0.02
Yttrium	12.2	10.1	13.1	10.6	0.170	0.507	0.561	0.9
Scandium	431	370	436	378	0.181	0.429	0.955	26
<i>REE concentration [$\mu\text{g}/\text{kg DM}$] in the Musculus longissimus</i>								
Lanthanum	4.6	2.8	3.8	3.7	0.668	0.584	0.510	1.0
Cerium	6.2	5.0	6.9	5.1	0.438	0.720	0.739	0.9
Praseodymium	0.56	0.52	0.66	0.62	0.597	0.364	0.994	0.08
Neodymium	1.4	1.1	1.4	1.0	0.589	0.546	0.884	0.3
Samarium	0.27	0.25	0.27	0.23	0.940	0.651	0.843	0.05
Europium	0.09 ^{ab}	0.07 ^b	0.16 ^a	0.09 ^b	0.007	0.446	0.167	0.02
Gadolinium	0.35	0.31	0.40	0.28	0.585	0.697	0.535	0.06
Terbium	0.02	0.03	0.02	0.03	0.738	0.694	0.912	0.01
Dysprosium	0.16	0.21	0.22	0.16	0.484	0.990	0.122	0.04
Holmium	0.03	0.03	0.03	0.02	0.733	0.798	0.384	0.01
Erbium	0.09	0.08	0.11	0.07	0.579	0.763	0.442	0.02
Thulium	0.00	0.01	0.00	0.00	0.723	0.686	0.947	0.01
Ytterbium	0.12	0.06	0.09	0.08	0.270	0.333	0.240	0.02
Lutetium	0.00	0.01	0.00	0.02	0.519	0.333	0.627	0.01
Yttrium	2.2	2.0	2.2	2.1	0.942	0.968	0.910	0.2
Scandium	318	327	347	409	0.182	0.046	0.413	32

^{a-c} Means with different superscript within a row are significantly different ($p < 0.05$).

¹ PSEM = pooled standard error of means

The highest REE application caused an up to 21.9-fold higher REE concentration in the liver compared to the control group. In addition, bulls in Group C had a significantly higher Nd concentration in the liver compared to the control group but did not differ significantly from other treatment groups. The concentrations of other REE (Sm, Eu, Dy, Ho, Er, Tm, Yb, Lu, Y and Sc) were at the same level as found in the liver of control bulls.

A different situation was observed for REE concentrations in the kidneys. Increasing REE supplementation significantly enhanced REE (La, Ce, Pr and Gd) concentrations in all groups (Table 4) in this organ. Furthermore, the concentration of Tb in Group D was significantly higher compared to the other groups and the bulls in Group D had a significantly higher Er concentration compared to Group B, but did not differ significantly from other groups. The concentrations of Nd, Sm, Eu, Dy Ho, Tm, Yb, Lu, Y and Sc were on a similar level in all treatment groups.

Similarly to the results in the liver, the concentrations of La, Ce, Pr and Gd in the rib bone were also significantly increased from 0 to 200 mg REE-citrate/kg DM, but at the highest supplementation, no significant increase was observed anymore (Table 5). The concentrations of the heavy rare earths (Tb to Lu and Y), with the exception of Gd, were higher in rib bone compared to the other investigated samples.

As shown in Fig. 1, the concentrations of La, Ce and Pr in the liver, kidney and rib bone were significantly linearly correlated with the daily La, Ce and Pr intake per kg live weight.

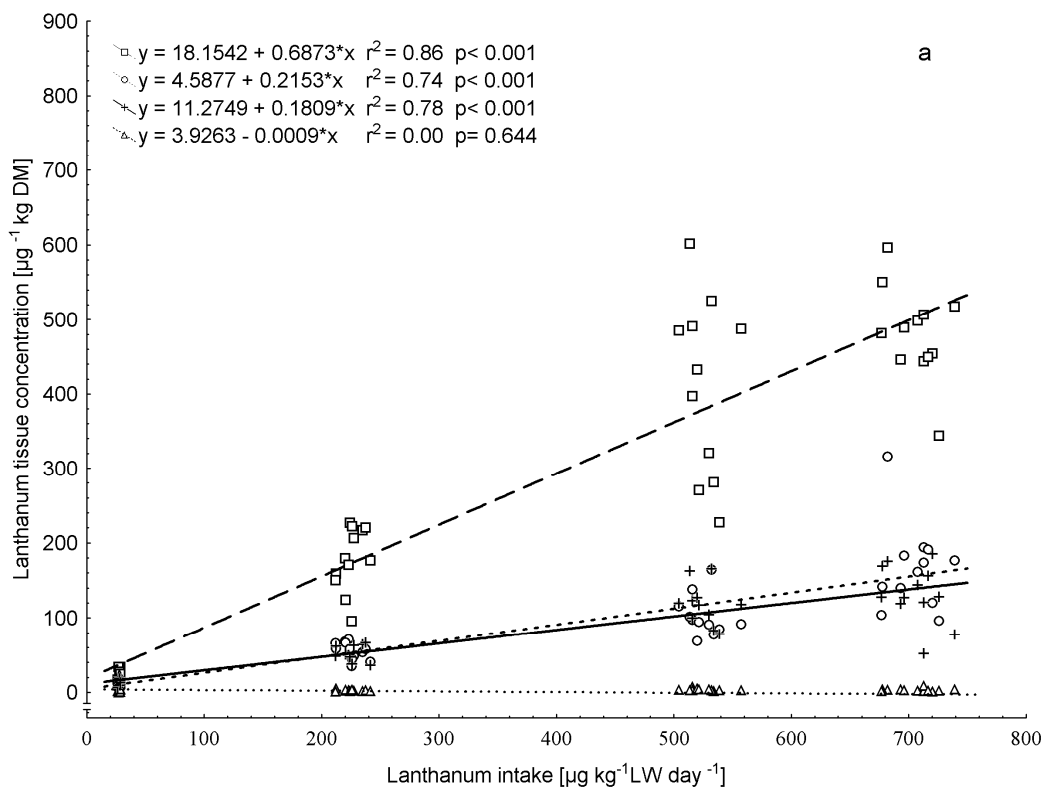


Fig. 1. Concentration of lanthanum (a), cerium (b) and praseodymium (c) in (□) liver, (○) kidney, (+) rib bone and (Δ) *Musculus longissimus* in relation to the daily dietary intake per kg live weight ($\mu\text{g}/\text{kg LW}$ per day) of bulls fed the control or REE supplemented diets.

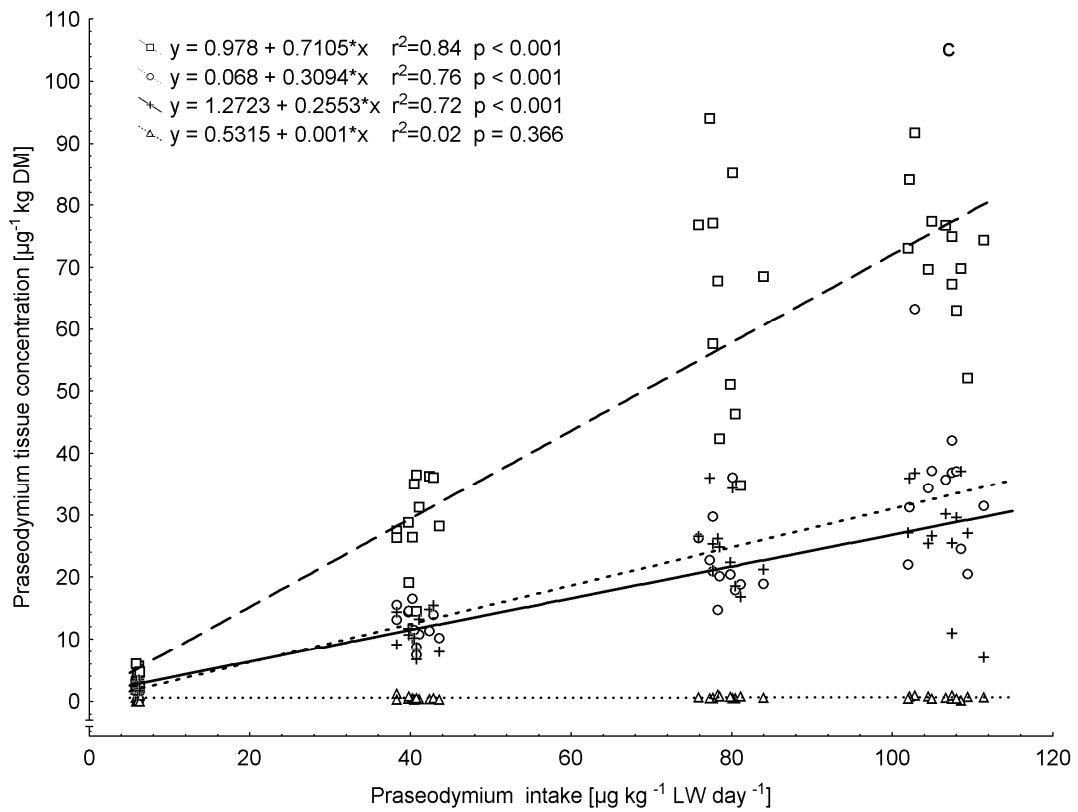
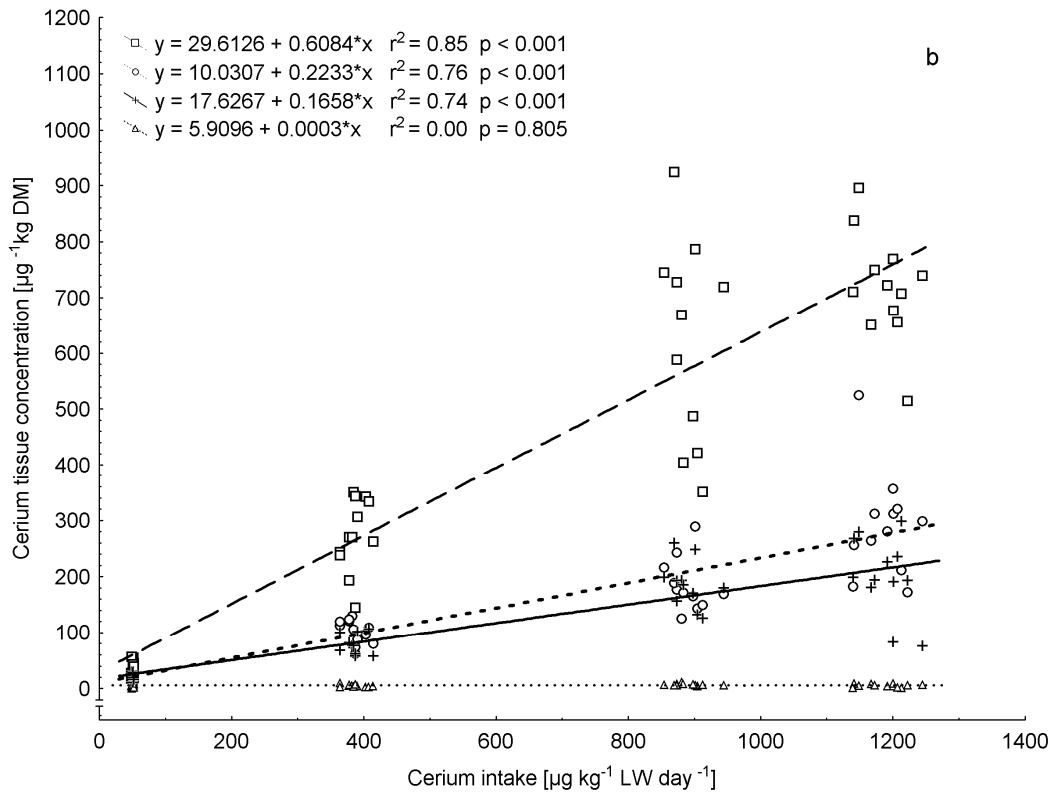


Fig.1 (continued).

The *M. longissimus* contained the lowest detected REE concentrations of the tissues examined. The concentrations in this muscle were comparable over all groups, except from the concentration of Eu, which was significantly higher in Group C compared to the Groups B and D (Table 5). In contrast to the other tissues mentioned (liver, kidney and rib bone), the concentrations of La, Ce and Pr in *M. longissimus* did not significantly linearly correlate with their daily respective intake per kg live weight (Fig. 1).

4 Discussion

The focus of the discussion is mainly on the elements La, Ce and Pr, since these light rare earths constitute the main part of REE presented in the experimental diets. Moreover, these elements were also considered in most reported feeding studies. From the literature it is known that the metabolism and toxicity of REE highly depends on the route of administration as well as on the chemical form administered. In general, the systemic absorption of lanthanides administered as soluble salts increases in the order per-oral << subcutaneous < intramuscular < intraperitoneally < inhalation << intravenously (Evans, 1990). In regards to the possible use of REE as a new feed additive in order to enhance performance in animal husbandry, oral application is of great relevance. Several studies reported that only very small amounts of orally applied REE are absorbed in the gastrointestinal tract (Damment and Pennick, 2007; Fricker, 2006; Magnusson, 1963). Absorption of ionic REE takes place the small intestine, predominantly in the ileum (Kostial et al., 1989). Arvela (1979) reported that in general only 0.05% of an orally administered dose are absorbed from the gastrointestinal tract. Similar results were obtained in human absorption study by Pennick et al. (2006). They reported that only $0.00127\% \pm 0.00080\%$ (range 0.00015% - 0.00224%) of orally applied lanthanum carbonate was absorbed from the human gastrointestinal tract. In a feeding trial with broilers the absorption of REE was 1000- to 10000-fold lower than the intake of supplemented REE (Fleckenstein et al., 2004). Up to now there is only sparse information on the concentration of REE in edible tissues of ruminants after supplementation in the literature. In the present study, the concentrations of the light REE (La, Ce and Pr) decreased from liver>kidney>rib bone>muscle. This ranking order is in general agreement with findings of a preliminary study by Schwabe et al. (2008) analysing REE (La, Ce, Pr and Nd) residues in bulls fed diets containing 200 mg REE-citrate/kg DM after an average supplementation period of 32 weeks (average live weight range between 245 kg and 550 kg). However, the authors found lower concentrations of REE (La, Ce and Pr) in the liver, kidneys and rib bone compared to the bulls from the present study with the same supplementation of 200 mg REE-

citrate/kg DM. In contrast the bulls in the current study received REE over a longer period with an average of 48 weeks. Slatopolsky et al. (2005) reported that after oral exposure of lanthanum carbonate in rats, the La concentration in the liver, kidneys and femur increased during the course of the experiment. Therefore, a possible explanation for this observed difference could be the considerably longer REE supplementation period in the present study. In accordance with REE feeding trials by Eisele (2003), Fleckenstein et al. (2004), Schwabe et al. (2008) and He et al. (2010), low concentrations of REE were determined in the analysed tissues of control animals receiving a standard diet without any actual REE supplementation. These residues can be explained by the continuous consumption of small amounts of REE resulting from the background contamination of concentrates and roughages. Bulls from the control group consumed approximately 1.3 mg La, 2.3 mg Ce, 0.3 mg Pr and 0.6 mg Nd per kg DM. Slightly lower La (0.3 mg/kg DM) and Ce concentrations (0.5 mg/kg DM) were detected in standard pig feed (Eisele, 2003; He et al., 2001), and similar values were also reported in broiler feed by Fleckenstein et al. (2004).

The liver and skeleton are known to play a key role in the REE metabolism and are widely accepted as deposit sites. In the current study, the highest concentration of REE (La, Ce, Pr and Nd) in the liver may be explained by the fact that the main excretion route for absorbed REE in humans and animals is via the liver into the bile (Damment et al., 2009; Damment and Pennick, 2007; Nakamura et al., 1997). Moreover, La, Ce and Pr concentrations were significantly linearly correlated with the intake of these elements (Fig. 1). With increasing the REE dosage, the accumulation of La, Ce and Pr in the liver increased by a factor of up to 21.9 for La, 19.4 for Ce and 18.3 for Pr in comparison to the control group. The increased REE concentration in the liver tissue as a result of the REE supplementation is in agreement with others studies (Eisele, 2003; He et al., 2001; He and Rambeck, 2000; Schuller et al., 2002). However, the reached maximum values are quite different. For example, Eisele (2003) determined La concentrations between 89.3 and 101.0 $\mu\text{g/kg DM}$ and Ce concentrations between 39.7 and 105.0 $\mu\text{g/kg DM}$ when pigs received a mixture of 300 mg REE-chloride/kg DM or pure La-chloride and Ce chloride in a concentration of 100 mg LaCl_3 and 200 mg $\text{CeCl}_3/\text{kg DM}$ or 200 mg LaCl_3 and 100 mg $\text{CeCl}_3/\text{kg DM}$ for 3 months. Even lower La and Ce concentrations of 53.8 and 47 $\mu\text{g/kg DM}$ were detected after feeding pigs diets supplemented with 300 mg REE-chlorides for 12 weeks (He et al., 2001). However, in evaluating the results regarding the height of measured values, it has to be considered that not only different species were examined but also pooled samples were used. Furthermore, the duration of exposure in the mentioned trials was considerably different. Therefore, a direct

comparison of the results of different studies seems to be difficult. Moreover, the applied REE additives varied in their composition and chemical form (inorganic or organic) which could affect the REE bioavailability (He et al., 2010) and thereby influence the concentrations of residues in animal tissue. Furthermore, slightly better performance enhancing effects were reported in pigs (Knebel, 2004) and broilers (He et al., 2010) after the application of organic instead of inorganic REE compounds.

Similarly to the observed effects in the liver, the REE accumulated in the kidneys and rib bone in a dose-dependent manner. This finding is in accordance with Ogawa (1992), who also found increased lanthanum concentration in the kidneys and bone of rats exposed to LaCl_3 by oral gavage using doses of 40, 200 or 1000 mg/kg/day for 28 days. Additionally, He et al. (2001) and Fleckenstein et al. (2004) reported an increase of the REE concentration in the kidneys of supplemented pigs and broilers. In contrast to these findings, He and Rambeck (2000) and Böhme et al. (2002) did not detect any accumulation of La and Ce in the kidneys of pigs after REE supplementation.

Concerning the REE accumulation in bones, it was shown in a previous experiment feeding broilers a high dosage of REE-chloride (300 mg/kg DM) over a 6-week period, that the La concentration in the bone of REE treated broilers was increased. While the La concentration of unsupplemented broilers was 26 $\mu\text{g}/\text{kg}$ DM, the bones of REE treated broilers had a La concentration of 250 $\mu\text{g}/\text{kg}$ DM (increase by the factor 9.6) (Schuller et al., 2002). In a clinical bone biopsy-based study in which dialysis patients were treated with La carbonate (median dose 1250 mg/day), the mean bone La concentration was increased from 0.048 ± 0.02 at baseline to 2.3 ± 1.6 $\mu\text{g}/\text{g}$ wet weight after 1-year of treatment (Spasovski et al., 2006). In the current study, it is noticeable that the concentrations of heavy REE (Tb-Y) in the bone, with the exception of Gd, were higher compared to other examined tissues samples (Table 5). This observation supports the hypothesis that the lighter lanthanides tend to accumulate predominantly in the liver, while the heavier lanthanides and yttrium tend to accumulate in bone (Evans, 1990). Furthermore, in the present investigation, the accumulation of REE in the kidneys from bulls was in the same dimension as those in the bone and even higher in the kidneys of the highest supplemented group (Table 4). These results are not concordant with most studies (Damment et al., 2009; Nakamura et al., 1997; Slatopolsky et al., 2005), since usually higher concentrations were found in the bone. A possible explanation for this observation could be that the type of bone analysed for its REE concentration varied from the bone type examined in other studies (femur vs. rib bone).

The muscle tissue, which is of particular importance for estimating food safety, showed the lowest REE concentrations of the investigated samples. In addition, the detected muscle REE concentrations remained unaffected by the REE treatment. This is in line with results previously presented by Schwabe et al. (2008). The concentrations of La, Ce, Pr and Nd in *M. longissimus* of the bulls fed with 200 mg REE-citrate/kg DM ranged from 1 µg/kg DM to 5 µg/kg DM and were similar to the muscle REE concentrations of unsupplemented bulls (Schwabe et al., 2008). Similar levels of REE (La, Ce, Pr and Nd) concentrations were found in the present study. These findings are also supported by other studies, investigating the influence of REE supplementation on the muscle REE concentration of other livestock. They concluded that the accumulation was rather minor or not influenced by the REE supplementation (Eisele, 2003; He and Rambeck, 2000; Schuller et al., 2002). On the other hand, He et al. (2001) observed a slight increase of the REE concentration in the *Gluteus maximus* muscle of pigs supplemented with 300 mg/kg REE-chloride for 3 months. Besides, He et al. (2010) showed a weak dose related increase in the concentration of La and Ce in muscle of broilers. To illustrate the significance of REE exposure of the consumer originating from ruminants-derived foodstuffs, the amounts of foodstuff necessary in order to reach or exceed the acceptable daily intake were calculated using the highest measured amount (total REE; data not shown) in tissues from the animals fed with REE. Ji et al. (1985) suggested an acceptable daily intake of 0.1–1.0 mg/kg live weight for rare earth oxides for the average consumer. According to this assumption, it is unlikely to reach toxic REE levels from the consumption of liver, kidney or muscle of supplemented animals, as a 70-kg human would have to eat more than 11.3, 20.4 or 31.9 kg of liver, kidney or muscle respectively, to reach the even the lowest level of the acceptable daily intake.

5 Conclusion

It can be concluded from this experiment that after the oral intake of REE-citrate, the REE accumulated in the liver, kidney and rib bone in a dose-dependent manner, while the concentration in *M. longissimus* was not influenced. The liver was the main deposit for REE followed by the kidneys and rib bone. However, only very small amounts were found in muscle tissue. Based on the results of this feeding trial, the risk to humans from consuming of edible tissue of REE supplemented animals can be regarded as negligible.

Acknowledgements

The assistance of the co-workers of the Institute of Animal Nutrition and the Experimental Station of the Friedrich-Loeffler-Institute in Braunschweig (Germany) in performing the

experiment and analyses as well as the support of this study by the H. Wilhelm Schaumann Foundation in Hamburg (Germany) is gratefully acknowledged. Furthermore, we would like to thank Prof. Dr. habil. M. Grün of the Food GmbH Analytik-Consulting in Jena (Germany) for the analyses of REE concentrations in feedstuffs and tissues.

References

- Arvela, P., 1979. Toxicity of rare-earths. *Prog. Pharmacol.* 69–113.
- Böhme, H., Fleckenstein, J., Hu, Z.Y., Schnug, E., 2002. Bilanzversuche zum Einsatz von Seltenen Erden in der Schweinemast. VDLUFA Kongress Ressourcenschutz und Produktsicherheit – Qualitätssicherung in der Landwirtschaft 16.-20.09.2002, Leipzig, Germany, 114, pp. 255–260.
- d'Aquino, L., Morgana, M., Carboni, M.A., Staiano, M., Antisari, M.V., Re, M., Lorito, M., Vinale, F., Abadi, K.M., Woo, S.L., 2009. Effect of some rare earth elements on the growth and lanthanide accumulation in different *Trichoderma* strains. *Soil Biol. Biochem.* 41, 2406–2413.
- Damment, S.J.P., Cox, A.G., Secker, R., 2009. Dietary administration in rodent studies distorts the tissue deposition profile of lanthanum carbonate; brain deposition is a contamination artefact? *Toxicol. Lett.* 188, 223–229.
- Damment, S.J.P., Pennick, M., 2007. Systemic lanthanum is excreted in the bile of rats. *Toxicol. Lett.* 171, 69–77.
- DLG, 1997. Futterwerttabellen Wiederkäuer, 7 ed. DLG-Verlags GmbH, Frankfurt am Main.
- Eisele, N., 2003. Untersuchungen zum Einsatz Seltener Erden als Leistungsförderer beim Schwein. Ludwig-Maximilians-Universität München, Dissertation.
- European Commission, 2003. Regulation (EC) No.1831/2003 of the European Parliament and of the Council of 22. September 2003 on additives for use in animal nutrition Off. J. Eur. Union L268/29-43, 18.10.2003.
- Evans, C.H., 1990. *Biochemistry of the lanthanides*. Plenum Press, New York and London.
- Fleckenstein, J., Halle, I., Hu, Z.Y., Flachowsky, G., Schnug, E., 2004. Analyse von Lanthaniden mittels ICP-MS in Futter- und Organproben im Broilermastversuch. Arbeitstagung Mengen und Spurenelemente 24– 25.09.2004, Jena, Germany, 22, pp. 981–986.
- Fricker, S.P., 2006. The therapeutic application of lanthanides. *Chem. Soc. Rev.* 35, 524–533.
- GfE, 1991. Leitlinien für die Bestimmung der Verdaulichkeiten von Rohnährstoffen an Wiederkäuern. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 65, 229–234.
- GfE, 1995. Energie- und Nährstoffbedarf landwirtschaftlicher Nutztiere Nr. 6. Empfehlungen zur Energie- und Nährstoffversorgung der Mastrinder. DLG-Verlags GmbH, Frankfurt am Main.
- Goering, H., Van Soest, P., 1970. Forage fibre analysis (apparatus, reagents, procedure and some applications), *Agric Handbook No 379*, ARS-USDA. Washington D.C.
- He, M.L., Rambeck, W.A., 2000. Rare earth elements – a new generation of growth promoters for pigs? *Arch. Anim. Nutr.* 53, 323–334.
- He, M.L., Ranz, D., Rambeck, W.A., 2001. Study on the performance enhancing effect of rare earth elements in growing and fattening pigs. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 85, 263–270.
- He, M.L., Wehr, U., Rambeck, W.A., 2010. Effect of low doses of dietary rare earth elements on growth performance of broilers. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 94, 86–92.

- Ji, Y., Cui, M., Wang, Y., Zhang, X., 1985. Toxicological study on safety evaluation of rare earth elements used in agriculture. In: Xu, G., Xiao, J. (Eds.), *New frontiers in rare earth science and applications, Proceedings of the international conference on rare earth development and applications*. 10–14. 09.1985, Beijing, China, pp. 700–704.
- Knebel, C., 2004. *Untersuchungen zum Einfluss Seltener Erd-Citrate auf Leistungsparameter beim Schwein und die ruminale Fermentation im künstlichen Pansen (Rusitec)*. Ludwig-Maximilians-Universität München, Dissertation.
- Kostial, K., Kargacin, B., Landeka, M., 1989. Gut retention of metals in rats. *Biol. Trace Elem. Res.* 21, 213–218.
- Magnusson, G., 1963. The behavior of certain lanthanons in rats. *Acta Pharmacol. Toxicol.* 20, 1–95.
- Nakamura, Y., Tsumura, Y., Tonogai, Y., Shibata, T., Ito, Y., 1997. Differences in behaviour among the chlorides of seven rare earth elements administered intravenously to rats. *Fundam. Appl. Toxicol.* 37, 106–116.
- Naumann, C., Bassler, R., 1976. *Die chemische Untersuchung von Futtermitteln. Methodenbuch Bd. 3 mit Ergänzungslieferungen 1983, 1988, 1993, 1997, 2004 und 2006*. VDLUFA, Darmstadt, Germany.
- Ogawa, Y., 1992. Studies on the biological effects of lanthanum-Effects of repeated oral administration tests in rats. *Jpn. J. Toxicol. Environ. Health* 38, 545–553.
- Pang, X., Li, D., Peng, A., 2002. Application of rare-earth elements in the agriculture of China and its environmental behaviour in soil. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 9, 143–148.
- Pennick, M., Dennis, K., Damment, S.J.P., 2006. Absolute bioavailability and disposition of lanthanum in healthy human subjects administered lanthanum carbonate. *J. Clin. Pharmacol.* 46, 738–746.
- Rambeck, W., Wehr, U., 2005. Use of rare earth elements as feed additives in pig production. *Pig News Inf.* 26, 41N–47N.
- Redling K., 2006. *Rare earth elements in agriculture with emphasis on animal husbandry*. Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität München.
- Richter, H., 1996. Die industrielle Produktion von Seltenen Erden in China. *Erzmetall* 49, 134–141.
- Schuller, S., Borger, C., He, M.L., Henkelmann, R., Jadamus, A., Simon, O., Rambeck, W.A., 2002. Studies on the effect of rare earth elements as a possible alternative growth promoter for pigs and poultry. *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.* 115, 16–23.
- Schwabe, A., Meyer, U., Flachowsky, G., Daenicke, S., 2011. Effect of graded levels of rare earth elements in diets of fattening bulls on growing and slaughtering performance, and on nutrient digestibility of wethers. *Arch. Anim. Nutr.* 65, 55–73.
- Schwabe, A., Meyer, U., Grün, M., Flachowsky, G., 2008. Effect of rare earth elements (REE) supplementation on the REE content of tissues and organs in fattening bulls. *Proceedings of the Society of Nutrition Physiology*, vol. 17. Göttingen, Germany, p. 79.
- Slatopolsky, E., Liapis, H., Finch, J., 2005. Progressive accumulation of lanthanum in the liver of normal and uremic rats. *Kidney Int.* 68, 2809–2813.
- Spasovski, G.B., Sikole, A., Gelev, S., Masin-Spasovska, J., Freemont, T., Webster, I., Gill, M., Jones, C., De Broe, M.E., D'Haese, P.C., 2006. Evolution of bone and plasma concentration of lanthanum in dialysis patients before, during 1 year of treatment with lanthanum carbonate and after 2 years of followup. *Nephrol. Dial. Transplant.* 21, 2217–2224.
- StatSoft Inc., 2007. *Statistica for Windows™ operating system*. Tulsa, Ok (USA).

PAPER III

Effects of rare earth elements (REE) supplementation to diets on the health and performance of male and female pre-ruminant calves and growing female calves

Annett Schwabe, Ulrich, Meyer, Gerhard Flachowsky and Sven Dänicke

Institute of Animal Nutrition, Friedrich-Loeffler-Institute (FLI), Federal Research Institute for Animal Health, Bundesallee 50, D-38116 Braunschweig, Germany

Landbauforschung Applied Agriculture and Forestry Research (2012) 62: 129-136

Abstract

Two feeding trials with pre-ruminant and growing Holstein calves were carried out in order to investigate the effect of rare earth elements (REE) on feed intake and performance parameter. In the first experiment, applying a complete two by two factorial design, 87 calves (45 female and 42 male) with a mean age of 9.6 ± 1.8 days were randomly assigned to one of two treatments (Con or REE). The animals received milk replacer either with or without 200 mg/kg REE-citrate containing mainly cerium (57.9%), lanthanum (34.0%) and praseodymium (6.5%) as well as concentrate and grass hay over a period of 44 days. The feed intake and performance parameter were not significantly and interactively affected by sex and REE supplementation. However, the supplemented animals consumed numerically less concentrate (13.5%) and grass hay (26.3%) compared to control animals which led to a slightly reduced live weight gain (496 g/day in REE group vs. 525 g/day in control group). In the second experiment, a total of 47 growing female calves (average initial live weight of 108 ± 9 kg) were divided into four treatment groups (n = 11 or 12 per group): one control group and three REE-treated groups fed a supplement of 100, 200 and 300 mg REE-citrate per kg dry matter (DM). The calves were offered grass silage, grass hay and concentrate. The experiment was terminated when the calves reached a live weight of approximately 182 kg. The feed intake, live weight gain, feed-to-gain ratio and ME-to-gain ratio were not significantly influenced by increasing REE-citrate supplementation. Also, a numerically tendency towards reduced feed intake and live weight gain could be observed for the group fed with the highest amounts of REE. Thus, it can be concluded that REE-citrate are not suited to improve the performance of calves.

Keywords: pre-ruminant, female calves, rare earth elements, growth performance

Zusammenfassung**Einfluss des Einsatzes von Seltenen Erden in der Fütterung von männlichen und weiblichen Kälbern und Jungrindern auf Gesundheits- und Leistungsparameter**

Zur Bestimmung des Einflusses Seltener Erden (REE) in der Ernährung von Kälbern und Jungrindern auf deren Futteraufnahme und verschiedene Gesundheits- und Leistungsparameter wurden zwei Versuche durchgeführt. Im ersten Experiment erhielten 87 Kälber (45 weiblich und 42 männlich) über einen Zeitraum von 44 Tagen beginnend mit einem mittleren Alter von $9,6 \pm 1,8$ Tagen Milchaustauscher mit oder ohne Zulage von 200 mg/kg REE-Zitrat, Kraftfutter und Heu. Das REE-Zitrat enthielt hauptsächlich Cer (57,9 %), Lanthan (34,0 %) und Praseodym (6,5 %). Die REE-Supplementierung führte

zu keiner signifikanten Beeinflussung der Futteraufnahme und der Leistungsparameter. Dennoch nahmen die mit REE supplementierten Tiere 13,5 % weniger Kraftfutter und 26,3 % weniger Heu auf, was zu einer geringfügig reduzierten Lebendmassezunahme von 496 g/Tag in der REE-Gruppe gegenüber 525 g/Tag in Kontrollgruppe führte. Im zweiten Experiment wurden 47 Jungrinder mit einer mittleren Lebendmasse von 108 ± 9 kg in vier Gruppen mit 11 oder 12 Tieren aufgeteilt. Neben einer nicht supplementierten Kontrollgruppe wurden drei Versuchsgruppen mit 100, 200 und 300 mg REE-Zitrat je kg Trockenmasse supplementiert. Die Tiere erhielten bis zum Versuchsende mit einer Lebendmasse etwa 182 kg Grassilage, Heu und Kraftfutter. Die Futteraufnahme, die Lebendmassezunahme und die Futterverwertung wurden nicht durch die REE-Supplementation beeinflusst, wobei ein Trend zu einer geringeren Futteraufnahme und einer verminderten Lebendmassezunahme in der am höchsten supplementierten Gruppe beobachtet wurde. Unter den in den Versuchen vorliegenden Bedingungen führte die Zulage von Seltenen Erden nicht zu einer verbesserten Leistung der Tiere.

Schlüsselwörter: nicht ruminierend, weibliche Kälber, Seltene Erden, Wachstumsleistung

1 Introduction

In China, it was discovered that rare earth elements (REE) could stimulate the growth of agricultural products and food producing animals, hence they have been used successfully for decades in farms as fertilizer and as feed additive, mainly containing lanthanum, cerium, praseodymium and neodymium (Redling, 2006). Based upon this information, trials were performed under European production conditions with the aim to find new substances in order to replace antibiotics as growth promoters. Also, in several Western feeding studies it could be shown that dietary supplementation of REE had positive effect on both weight gain and feed conversion rate of pigs and poultry (He and Rambeck, 2000; He et al., 2001; He et al., 2010). In a Swiss study, Kessler (2004) showed, that supplementation of 200 mg REE-citrate in diet of pigs significantly improved daily live weight gain by 8.8% and significantly decreased feed-to-gain ratio by 3.6%. In this study, it was particularly interesting and has not been described before that the effect in female pigs was roughly twice as high as in castrated pigs. Up to now, only a limited number of investigations on ruminants at different genders and periods of growth, including rearing, growing and fattening are available in the literature and the obtained results of REE are controversial. Schwabe et al. (2009) observed after a supplementation of REE to diet for 32 weeks adverse effects on live weight gain, feed-to-gain ratio and metabolisable energy-to-gain ratio of fattening bulls (initial live weight 245 kg),

while Miller (2006) found no effect on live weight gain after an application of REE on growing male calves (initial live weight 83 kg, average age 44 days) for 10 weeks. In contrast to that, positive effects on performance due to REE supplementation were observed by Meyer et al. (2006) on pre-ruminant female Holstein calves. Based upon these findings, it might be possible that age and gender play a role regarding efficiency of REE. Therefore, the objective of these two feeding studies was to investigate the effect of REE on feed intake and growth performance focused on pre-ruminant female and male calves as well as on growing female Holstein calves

2 Material and methods

2.1 Treatments, experimental design and animals

Two feeding experiments were conducted at the Experimental Station of the Institute of Animal Nutrition, Friedrich-Loeffler-Institute (FLI) in Braunschweig, Germany.

In feeding experiment 1, a total of 87 calves (42 male and 45 female) of the “German Holstein breed” from the milk cattle herd FLI-Braunschweig were used. They were born between October 2006 and March 2007 and separated from their dams one day after birth, and moved into individual straw-bedded calf hutches (87 x 175 cm) in an adjacent thermally non-regulated stable. In the first seven days of life, each calf received six litres of colostrum per day and then milk replacer (manufacturer, Norlac GmbH, Zeven), divided into two equally-sized portions, in the morning and afternoon from teat buckets. After 9.6 ± 1.8 days, the calves were randomly assigned to one of two treatments (Con or REE) for 44 days and kept separately in two identical pens with straw bedding in the same building. Each calf started individually with the trial depending on its day of birth. After transfer to the group pens, the calves were fed 600 g milk replacer at a concentration of 100 g/L water per animal and day up to day 43 and 200 g per calf on day 44 supplemented either with or without 200 mg REE-citrate/kg milk replacer via a computer-controlled milk feeder. The supplement (Lancer® 500, Zehentmayer AG Berg, Switzerland) consists of 50% wheat starch and 50% lanthanoide, whereby the lanthanoide (REE-citrate) itself consisted of 25.3% rare earth elements and 74.7% citrate, respectively. The REE-citrate was a mixture containing organic citrate compounds of 57.9% cerium, 34.0% lanthanum, 6.5% praseodymium and 1.6% of other rare earth elements. In addition to milk replacer, the calves had free access to grass hay and concentrate up to 1 kg per calf and day by using concentrate feeder from the beginning of the trial. Water was continuously provided by bowl drinkers. The composition of the milk replacer and the concentrate is presented in Table 1 and 2. Each calf was equipped with an ear

transponder recording continuously the daily individual feed intake of milk replacer and concentrate, however, the hay intake was measured daily per group. The live weight [LW] of calves was measured at the start and end of the study with cattle scales.

Table 1: Composition of the milk replacer [g/kg] used in the milk feeding period.

Group	Control	REE 200
Components		
Skim milk powder	505	505
Whey powder	289	289
Palm-coconut-soya oil	173	173
Wheat starch	30	29.6
Mineral and vitamin premix*	3	3
Lancer®500†	-	0.4

Notes: * per kg mineral and vitamin premix: 8 g Ca; 7.5 g P; 100 mg Fe; 8 mg Cu; 100 mg Zn; 50 000 IU vitamin A; 3.300 IU vitamin D₃; 80 mg vitamin E; 150 mg vitamin C; 8 mg vitamin B₁; 7 mg vitamin B₂; 4 mg vitamin B₆; 50 mcg vitamin B₁₂; 8 mg vitamin K₃; 150 mcg Biotin; †Lancer®500 consists of 50% wheat starch and 50% lanthanoide.

Table 2: Composition of the concentrates [g/kg] used in the milk feeding period (MFP) and growing period (GP).

Group	A		B		C		D	
	Con/REE	Control	REE 100	REE 200	REE 200	REE 300		
Period	MFP	GP	GP	GP	GP	GP		
Components								
Soy bean meal	300	300	300	300	300	300		
Oats	305	305	305	305	305	305		
Barley	180	180	180	180	180	180		
Wheat	170	170	169.7	169.4	169.1	169.1		
Soybean oil	15	15	15	15	15	15		
Calcium carbonate	10	10	10	10	10	10		
Mineral and vitamin premix*	20	20	20	20	20	20		
Lancer®500†	0	0	0.3	0.6	0.9	0.9		

Notes: * per kg mineral and vitamin premix: 160 g Ca; 100 g Na; 80 g P; 30 g Mg; 1000 mg Fe; 800 mg Cu; 4000 mg Mn; 6000 mg Zn; 50 mg I; 50 mg Se; 30 mg Co; 800 000 IU vitamin A; 80 000 IU vitamin D₃; 100 mg vitamin E; †Lancer®500 consists of 50% wheat starch and 50% lanthanoide.

The feeding experiment 2 was carried out with 47 female German Holstein calves and started with a stepwise inclusion of animals according to the calving of the FLI-milk cattle herd. At the beginning of the trial the calves had an average initial LW of 108 ± 9 kg and an average age of 14 ± 0.4 weeks. They were randomly assigned to one of four treatment groups with 11 or 12 animals each designated as groups A, B, C and D with an intended REE-citrate supplementation of 0, 100, 200 and 300 mg/kg dry matter in the diet, respectively, over the complete trial period. During this time, the calves were housed in an unheated and non-insulated stable and were kept in group boxes according to their feeding group. The group pens with the dimensions 5.20 x 7.40 m were equipped with a slatted floor and partly covered with straw bedding. Grass silage and grass hay were available for *ad libitum* intake via computer controlled troughs (Type RIC, manufacturer: Insentec B.V., Marknesse, The

Netherlands) and water via bowl drinkers. Additionally, each calf had access to 2.0 kg of concentrate per day from the concentrate station (Type AWS HF, manufacturer: Insentec B.V., Marknesse, The Netherlands), which was supplemented with or without REE. The precise composition of the concentrates is summarised in Table 2. The ration was formulated to meet the nutritional requirements for growing calves as recommended by the German Society of Nutrition Physiology (GfE, 2001). The daily intake of concentrate and roughage was recorded continuously by using an automated feeding system (Insentec B.V., Marknesse, The Netherlands) and ear transponder for each calf. The individual LW was measured automatically when calves entered the concentrate feeding station. The experiment was terminated when the individual calves reached a LW of approximately 182 kg.

2.2 Sample collection, preparation and analysis

Representative samples of the milk replacer, concentrate and grass hay were collected once, while grass silage samples were taken twice a week and pooled over approximately four weeks. During the collection period, the grass silage samples were stored at -19 °C and then dried at 60 °C for 72 h. For proximate analyses, all samples were ground to pass through a sieve with 1 mm pore size and homogenized. The composition of the feedstuffs (dry matter (DM), crude ash, crude protein, crude fat, crude fibre, acid detergent fibre and neutral detergent fibre) was determined according to the methods of the Association of German Agricultural Analysis and Research Centres (Seibold & Barth, 1976 to 1997) in the laboratory of the Institute of Animal Nutrition, Braunschweig. Additionally, the REE concentrations in feedstuffs and REE-citrate mixture (Lancer® 500) were determined by inductively coupled plasma-mass-spectrometry (Thermo ICP-MS X Series) according to the international standard DIN EN ISO 17294-2: 2005-02 in the laboratory of the Food GmbH Analytik–Consulting in Jena, Germany.

2.3 Calculations and Statistics

The metabolisable energy (ME) concentration of the diets was calculated by using the equation number 1.1.2 of the Society of Nutrition Physiology (GfE, 2001). The digestibilities of feedstuffs (milk replacer, concentrate and grass hay) were taken from the tabular values for each ingredient (DLG, 1997), whereas the ME concentration of grass silage was estimated by using the nutrient digestibilities from the standardised digestibility trial with four adult wethers according to the procedures as described by (GfE, 1991). The daily LW gain for both trials was calculated as the difference between the recorded live weight at the start and the end of the two experiments, divided by the number of days.

The performance parameters of experiment 1 were analyzed by a complete two by two factorial design of analysis of variance (ANOVA) according to the following model:

$$Y_{ijk} = \mu + a_i + b_j + a \cdot b_{(ij)} + e_{ijk} \quad (1)$$

where

Y_{ijk}	k^{th} observation related to the REE concentration i and sex j
μ	overall mean
a_i	effect of dietary inclusion of REE (0; 200 mg REE-citrate/kg diet)
b_j	effect of the sex
$a \cdot b_{(ij)}$	interactions between REE concentration and sex
e_{ijk}	error term.

The performance parameters of experiment 2 were analyzed according to a one-way factorial design of analysis of variance (ANOVA) corrected for initial LW using the following model:

$$Y_{ij} = \mu + a_i + \beta_{y \cdot x} (x_{ij} - \bar{x} \dots) + e_{ji} \quad (2)$$

where

Y_{ij}	tested parameter of the calf ‘ j ’ fed diet type ‘ i ’
μ	overall mean
a_i	effect of dietary inclusion of REE (0, 100, 200 and 300 mg REE-citrate/kg diet)
$\beta_{y \cdot x}$	regression coefficient of y on x
x_{ij}	co-variable
\bar{x}	mean value for x
e_{ij}	error term

Results of ANOVA are presented in the tables either as arithmetic means (Experiment 1) or as least square means (LSmeans; Experiment 2) and the pooled standard error of means (PSEM). In case of significant treatment effects the Tukey-Test for multiple comparisons was used to identify significant mean value differences ($p < 0.05$). The Statistica for Windows™ operating system (StatSoft Inc. 2007, Version 10.0) was used for all statistical evaluations.

3 Results

3.1 Composition and REE concentrations of feedstuffs used in experiment 1 and 2

The contents of crude nutrients and the REE (pure elements) concentrations of the analyzed feedstuffs milk replacer, concentrate and roughage as well as the Lancer 500® are

summarised in Tables 3 and 4. The nutrient composition of the two milk replacers was almost equal and only very small differences in crude nutrients could be detected between control and supplemented concentrates (Tables 3 and 4). Negligible amounts of REE were detected in the unsupplemented milk replacer, whereas 9.5 and 17.0 mg total REE/kg DM were measured in the concentrate of experiment 1 and in the unsupplemented control concentrate of experiment 2. In the supplemented concentrates, total REE concentrations of 43, 90, 124 mg/kg DM were detected and were increased as intended by formulation. Also grass hay and grass silage, which were used as roughage contained low levels of REE (Tables 3 and 4).

Table 3: Dry matter, nutrient composition and energy concentration of the milk replacer, concentrates and grass hay as well as the rare earth element (REE) contents in the milk feeding period.

REE-citrate supplementation [mg/kg DM]	Milk replacer		Concentrate	Grass hay	REE-Citrate
	0	200			
Dry matter [g/kg]	961	961	883	863	
Crude nutrients [g/kg DM]					
Crude ash	78	77	64	62	
Crude protein	212	216	234	85	
Crude fat	141	142	42	15	
Crude fibre	-	-	67	303	
Acid detergent fibre	-	-	84	318	
Neutral detergent fibre	-	-	200	604	
Metabolisable energy [MJ/kg DM]	15.9	15.9	12.6	9.0	
Pure rare earth elements [mg/kg DM]					
Lanthanum	0.1	24	2	0.3	42 243
Cerium	0.1	41	4	0.6	73 395
Praseodymium	0.0	5	0.5	0.1	8 641
Neodymium	0.0	0.02	1.7	0.1	23
Remaining REE*	0.0	1	1.3	0.1	1 977
Total rare earth elements	0.2	71.02	9.5	1.2	126 279

Notes:* Without the element Scandium

Table 4: Dry matter, nutrient composition and energy concentration of the concentrates, grass silage and grass hay as well as the rare earth element (REE) contents in the growing period.

REE-citrate supplementation [mg/kg DM]	Concentrates				Grass silage	Grass hay	REE-citrate
	0	100	200	300			
Dry matter [g/kg]	889	894	890	889	342	870	
Crude nutrients [g/kg DM]							
Crude ash	64	64	65	62	100	64	
Crude protein	223	216	210	213	150	95	
Crude fat	43	43	42	42	36	17	
Crude fibre	69	71	69	70	281	306	
Acid detergent fibre	88	89	87	89	308	323	
Neutral detergent fibre	207	216	213	212	520	609	
Metabolisable energy [MJ/kg DM]	12.6	12.6	12.6	12.6	9.5	9.0	
Pure rare earth elements [mg/kg DM]							
Lanthanum	5	13	29	41	0.5	0.2	42 243
Cerium	9	23	51	71	0.9	0.4	73 395
Praseodymium	1	3	6	9	0.1	0.1	8 641
Neodymium	1	2	2	1	0.2	0.1	23
Remaining REE*	1	2	2	2	0.2	0.1	1 977
Total rare earth elements	17	43	90	124	1.9	0.9	126 279

Notes:* Without the element Scandium

3.2 *Performance parameters*

3.2.1 *Experiment 1*

In the REE group, one male calf died on the 4th day of trial for unknown reasons and was not included in the statistical analysis. Furthermore, in both groups some calves were treated due to digestive and respiratory problems. The performance parameters of the pre-ruminant calves over the milk feeding period are shown in Table 5. The mean daily REE-citrate intake of the REE group was 111 mg/d or 123 mg/kg total DM. The initial and final weight was similar between the control and REE group and no interaction was observed between group and sex. However, a significant sex effect was observed at the start and the end of the experiment, as the female calves showed lower live weights than the male calves (Table 5). The mean intake of milk replacer and concentrate was not significantly affected by the REE supplementation, although numerically differences could be determined in the concentrate intake. The supplemented animals consumed 42 g/d (13.5%) less concentrate than the control animals. With regard to the single group means it becomes obvious that this fact mainly result from the supplemented male calves (Table 5). Furthermore, the REE group showed a lower grass hay intake (26.3%) compared to the control group, but no statistical analysis could be performed because the feed consumption was recorded daily per group. This depression in feed intake was reflected in the daily weight gain of the calves (496 g/day in REE group vs. 525 g/day in control group). As a consequence of the lower feed intake the ME- and crude protein intake was influenced in a similar manner. The feed-to-gain ratio and ME-to-gain ratio was similar between the two groups (Table 5).

Table 5: Effects of rare earth elements (REE) supplemented feed for calves on feed intake, live weight as well as live weight gain, feed-to-gain ratio and ME-to-gain ratio during the milk feeding period (Experiment 1).*

Group	Sex	Number of calves/group	Feed intake [g DM/day]				Nutrient		Energy		Pure REE		Initial weight [kg]	Final weight [kg]	Live weight gain [g/d]	Feed-to-gain ratio [kg/kg]	Metabolisable energy-to-gain ratio [MJ/kg]
			Milk replacer	Concentrates	Grass hay	Total feed intake	Crude protein [g/d]	Metabolisable energy [MJ/d]	[mg/kg DM]	[mg/kg LW/d]							
Control	43	558	311	137	1006	204	14.0	3.1	0.05	43.4	66.5	525	2.00	27.9		
REE	44	557	269	101	927	193	13.2	45.9	0.8	43.7	65.5	496	1.94	27.6		
.....	female	45	558	295							41.1	63.3	504				
.....	male	42	556	283							46.1	68.9	518				
Control	female	22	560	300							40.8	62.9	502				
Control	male	21	555	321							46.2	70.4	549				
REE	female	23	557	291							41.4	63.7	506				
REE	male	21	557	245							46.1	67.5	486				
AVOVA (probabilities)																	
Group			0.838	0.172	‡	-	-	-	-	-	0.807	0.570	0.270	-	-		
Sex			0.362	0.688	-	-	-	-	-	-	<0.001	0.003	0.621	-	-		
Group x Sex			0.383	0.291	-	-	-	-	-	-	0.756	0.380	0.212	-	-		
PSEM			2	22	-	-	-	-	-	-	0.9	1.3	19	-	-		

..... denotes that these effects were pooled

*Values are given as means and pooled standard error of means (PSEM)

‡ No statistical analysis was carried out because the grass hay intake was measured daily per group and the probability of difference could not be calculated

3.2.2 Experiment 2

The growth experiment 2 comprised the LW range between 108 ± 9 kg and 182 ± 14 kg and lasted approximately 11 weeks in total. During this time, no calf died and no health problems were observed. The average actual intake of REE-citrate/kg DM amounted to 0; 74 ± 7 ; 149 ± 13 and 225 ± 15 mg for the Group A, B, C, and D, respectively, and differed distinctly from the planned intake. The grass silage, grass hay and concentrate intake was not different among treatments. Although not statistically significant, the calves of Group D (300 mg REE-citrate/kg DM) consumed less grass silage (2.9%) and grass hay (12.1%) than the calves of the control group (Table 6). Hence, the total feed intake was the lowest for Group D with 4.02 kg DM/d followed by the Group C with 4.06 kg and Group B with 4.10 kg daily DM intake. The control group (A) showed the highest total feed intake but these observed differences were not significant (Table 6). Similar results were observed for the crude protein and metabolisable energy intake. The averaged daily weight gain over all treatment groups amounted to 988 ± 77 g and was in normal ranges for female calves of this age. However, due to reduced feed intake the calves of Group D showed a slightly but not significantly lower daily weight gain than the other groups. The calculated feed-to-gain ratio and ME-to-gain ratio also remained unaffected by the dietary treatments.

Table 6: Effects of rare earth elements (REE) supplemented feed for female calves on feed intake, crude protein intake, ME intake, live weight gain, feed-to-gain ratio and ME-to-gain ratio during the growing period from 108 kg to 182 kg body weight. (Experiment 2).*

Group	A	B	C	D	ANOVA (probabilities)			
					PSEM	REE	Linear	Quadratic
REE-citrate [mg/kg DM]	0	100	200	300				
Female calves/group	12	11	12	12				
<i>Feed intake [kg DM/d]</i>								
Grass silage	1.74	1.80	1.72	1.69	0.10	0.906	0.596	0.670
Grass hay	0.66	0.58	0.56	0.58	0.07	0.733	0.408	0.482
Concentrate	1.72	1.72	1.78	1.75	0.03	0.342	0.214	0.559
Total feed intake	4.12	4.10	4.06	4.02	0.10	0.857	0.387	0.938
Crude protein intake [g/d]	688	681	685	669	13	0.720	0.364	0.699
ME [#] intake [MJ/d]	44.2	44.0	43.7	43.3	0.9	0.901	0.458	0.883
Live weight gain [g/d]	994	997	991	972	17	0.739	0.352	0.525
Feed-to-gain ratio [kg/kg]	4.18	4.13	4.11	4.15	0.10	0.966	0.818	0.666
ME-to-gain ratio [MJ/kg]	44.8	44.3	44.3	44.7	1.0	0.981	0.970	0.678
REE-citrate [mg/kg DM]	0 ^d	74 ^c	149 ^b	225 ^a	3.0	<0.001	<0.001	0.715
Pure REE [mg/kg DM]	8.0 ^d	18.5 ^c	40.5 ^b	55.3 ^a	0.8	<0.001	<0.001	0.016
Pure REE intake [mg/kg LW/d]	0.2 ^d	0.5 ^c	1.1 ^b	1.6 ^a	0.0	<0.001	<0.001	0.004

Notes: *Values are given as least square means (LSmeans) and pooled standard error of means (PSEM)

[#]Metabolisable energy

Values with different superscripts within a row are significantly different (p<0.05)

4 Discussion

These two experiments were conducted to test whether age and gender play a role regarding efficiency of REE on feed intake and performance parameter. The nutrient composition and energy content of the milk replacer and concentrates, as shown in Tables 3 and 4, were comparable between dietary treatments. As already extensively discussed by Schwabe et al. (2011), REE are occurring ubiquitously, therefore they were also detected in roughage and concentrate used in experiment 1 and 2 of the control group.

The health state of calves was not impaired by the REE application as reported by different research groups in feeding experiments with broilers (He et al., 2010) pigs (Förster et al., 2008), calves (Miller, 2006) and fattening bulls (Schwabe et al., 2011), before. In experiment 1, diarrhoea and respiratory diseases were diagnosed and treated, but a relation to REE supplementation was not observed. These diseases are the two most common diseases that occur in young calves.

The birth weight of male calves was higher than that of female calves (data not shown). This result is similar to reports of various authors (Kertz et al., 1997; Junge et al., 2003), who also found verifiable differences of similar magnitude among different gender. For this reason, the male calves were 10.5% and 8.1% heavier at the beginning and the end of the first trial (Table 5). With regard to the age of the piglets, some of the preliminary studies suggested, that the effect of performance enhancement of REE is better feasible in newly weaned than in older animals under the optimized conditions of European piglet production (He and Rambeck, 2000; Knebel, 2004; Kraatz et al., 2006). To our knowledge, Meyer et al. (2006) are the sole authors, whom up to now studying the influence of dietary REE supplementation (200 mg REE-citrate/kg milk replacer) on feed intake and performance of female pre-ruminant calves for a period of 6 weeks. Following this study, we used in the experiment 1, the same feed, dose and additives, however with both gender and a higher number of animals. We observed, that the REE treated calves consumed numerically lower concentrate (42 g/d), which mainly resulted from the male calves, however, no interaction between group and sex was observed ($p = 0.291$; Table 5). Furthermore, the supplementation of REE reduced grass hay intake, resulting in lower total DMI in REE group (-7.9%) versus control group. However, the individual grass hay intake could not be recorded for technical reasons. This finding is supported by the results of the above mentioned authors (Meyer et al., 2006), who also found a decreased total DMI of -7.8 % as a result of reduced hay intake (-44%), while no differences were observed either in the milk replacer intake (553 g/d in the control group versus 560 g/d) nor in the concentrate intake (156 g/d in the control group versus 161 g/d). In a more recent

long-term study with growing bulls Schwabe et al. (2011) reported a significant linear decrease in the grass hay intake from 0.55 to 0.31 kg/d during the growing period (119 to 180 kg LW) as well as in the maize silage intake from 6.09 to 5.44 kg/d during the fattening period (180 to 556 kg LW) after the supplementation of 0, 100, 200 and 300 mg REE-citrate/kg diet. In the present experiment, the increasing REE-citrate supplementation to the diet of growing female calves had no significant effect on the feed intake but a numerally reduction in the feed intake was also detectable (Table 6). The reason for the often observed reduction in the feed intake of cattle, as described above, induced by REE supplementation with the exception of the investigation of Schwabe et al. (2009) is unclear. However, it is well known that REE have many similarities to the element calcium in size, bonding as well as in coordination geometry and donor atom preference which enables them to compete with the calcium ions (Evans, 1990; Redling, 2006). On this basis, it was described that REE can replace calcium ions at superficial membranes sites and prevented calcium ions uptake to less accessible calcium ions sites in smooth muscles and the muscle contraction is thereby inhibited (Weiss and Goodman, 1969; Weiss, 1974; Triggle and Triggle, 1976; Redling, 2006). This in turn can alter the gastrointestinal motility which may decrease the passage rate and therefore affect the feed intake. A second explanation may be an effect on nervous system as feed intake and gastrointestinal motility are controlled via the vegetative nervous system. Since previous studies have demonstrated that lanthanoide showed a variety of actions on nerve cells and most of them are related to the interaction with Ca^{2+} involved transport processes such as inhibition of calcium binding to synaptosomal membranes (Basu et al., 1982) and inhibition of calcium-dependent neurotransmitter release (Przywara et al., 1992). It was also observed that lanthanum can influence the neural release of serotonin (Stefano et al., 1980). The slightly decrease in feed intake of the REE treated calves was reflected in the live weight gain in both experiments. In experiment 1 the LW gain was 5.5% and in experiment 2 up to 2.2% lower compared to the control groups. In contrast, Meyer et al. (2006) observed in spite of a decreased total feed intake a higher average daily LW gain of 14.6% ($p > 0.05$) in supplemented female pre-ruminant calves. However, our findings are in agreement with Miller (2006), who also found a numerical decrease in LW gain when fattening bulls (83 kg initial LW, an average age of 44 d) were fed with 200 mg REE-citrate/kg over a period of 10 weeks. A recent study by Schwabe et al. (2011) showed similar results, while Schwabe et al. (2009) could even determine a significant decrease in live weight gain of 7% and an increase in feed-to-gain ratio and ME-to-gain ratio of 10% when REE-citrate was fed at a concentration of 200 mg/kg DM to fattening bulls in a LW range of 245 to 558 kg. In both

experiments of the present study, the feed-to-gain ratio and ME-to-gain ratio were not affected by dietary treatments which indicated that the observed decrease in the weight gain of REE calves could primarily be attributed to reduced voluntary feed intake.

5 Conclusion

In the present feeding trials the use of REE-citrate as feed additive in rations for pre-ruminant and growing calves caused a numerically reduced feed intake, which resulted in a decreased live weight gain. Based on this inefficiency of REE-citrate under the current experimental conditions it may be concluded that its use as growth promoters in calf diets cannot be recommended.

Acknowledgements

The assistance of the co-workers of the Institute of Animal Nutrition and the Experimental Station of the Friedrich-Loeffler-Institute in Braunschweig, Germany in performing the experiments and analyses as well as the support of this study by the H. Wilhelm Schaumann Foundation in Hamburg, Germany is gratefully acknowledged. Furthermore, we would like to thank Prof. Dr. habil. M. Grün of Food GmbH Jena Analytik-Consulting, for analysing the REE in feedstuffs.

References

- Basu A, Chakrabarty K, Chatterjee GC (1982) Neurotoxicity of lanthanum chloride in newborn chicks. *Toxicol Lett* 14:21-25
- DLG-Deutsche Landwirtschafts-Gesellschaft (1997) DLG-Futterwerttabellen Wiederkäuer. Frankfurt a M : DLG-Verl, 212 p
- Evans CH (1990) Biochemistry of the lanthanides. New York: Plenum Pr, 444 p, Biochemistry of the elements 8
- Förster D, Berk A, Hoppen HO, Rambeck WA, Flachowsky G (2008) A note on the effect of rare earth elements on the performance and thyroid hormone status of rearing piglets. *J Anim Feed Sci* 17:70-74
- GfE-Gesellschaft für Ernährungsphysiologie (1991) Leitlinien für die Bestimmung der Verdaulichkeiten von Roh Nährstoffen an Wiederkäuern. *J Anim Physiol Anim Nutr* 65:229-234
- GfE-Gesellschaft für Ernährungsphysiologie (2001) Empfehlungen zur Energie- und Nährstoffversorgung der Milchkühe und Aufzuchttrinder 2001. Frankfurt a M : DLG-Verl, 136 p, Energie- und Nährstoffbedarf landwirtschaftlicher Nutztiere 8
- He ML, Rambeck WA (2000) Rare earth elements : a new generation of growth promoters for pigs? *Arch Anim Nutr* 53:323-334
- He ML, Ranz D, Rambeck WA (2001) Study on the performance enhancing effect of rare earth elements in growing and fattening pigs. *J Anim Physiol Anim Nutr* 85:263-270
- He ML, Wehr U, Rambeck WA (2010) Effect of low doses of dietary rare earth elements on growth performance of broilers. *J Anim Physiol Anim Nutr* 94:86-92

- Junge W v, Stamer E, Reinsch N, Kalm E (2003) Züchterische Möglichkeiten zur Senkung von Kälberverlusten. *Züchtungskunde* 75:479-488
- Kertz AF, Reutzel LF, Barton BA, Ely RL (1997) Body weight, body condition score, and wither height of prepartum Holstein cows and birth weight and sex of calves by parity : a database and summary. *J Dairy Sci* 80:525-529
- Kessler J (2004) Lanthanoide - Wachstumsförderer mit Zukunft [online]. To be found at <http://www.db-alp.admin.ch/de/publikationen/docs/vortrag_2004_06_22_13.pdf> [quoted 24.07.2012]
- Knebel C (2004) Untersuchungen zum Einfluss Seltener Erd-Citrate auf Leistungsparameter beim Schwein und die ruminale Fermentation im künstlichen Pansen (Rusitec). München : Univ, 147 p
- Kraatz M, Taras D, Manner K, Simon O (2006) Weaning pig performance and faecal microbiota with and without in-feed addition of rare earth elements. *J Anim Physiol Anim Nutr* 90:361-368
- Meyer U, Spolders M, Rambeck W, Flachowsky G (2006) Effect of dietary rare earth elements on growth performance of preruminant female Holstein calves. *Proc Soc Nutr Physiol* 15:67
- Miller T (2006) Einfluss Seltener Erden in der Schweine- und Kälbermast. München : Univ, 134 p
- Przywara D, Bhave S, Bhave A, Chowdhury P, Wakade T, Wakade A (1992) Activation of K⁺ channels by lanthanum contributes to the block of transmitter release in chick and rat sympathetic neurons. *J Membr Biol* 125:155-162
- Redling K (2006) Rare earth elements in agriculture with emphasis on animal husbandry. München : Univ, 326 p
- Schwabe A, Meyer U, Flachowsky G (2009) Effect of dietary rare earth elements (REE) on growth performance of fattening bulls. *Proc Soc Nutr Physiol* 18:45
- Schwabe A, Meyer U, Flachowsky G, Daenicke S (2011) Effect of graded levels of rare earth elements in diets of fattening bulls on growing and slaughtering performance, and on nutrient digestibility of wethers. *Arch Anim Nutr* 65:55-73
- Seibold R, Barth C (1976-1997) Die chemische Untersuchung von Futtermitteln. Melsungen : Neumann-Neudamm, Loseblattsammlung, VDLUFA-Methodenbuch 3
- StatSoft Inc (2007) Statistics for Windows™ operating system. Tulsa, OK, USA
- Stefano GB, Brogan JJ, Aiello E, Hiripi L (1980) Lanthanum blockade of serotonin release from the branchial nerve of the mussel *Mytilus edulis*. *J Exp Zool* 214:21-26
- Triggle CR, Triggle DJ (1976) An analysis of the action of cations of the lanthanide series on the mechanical responses of guinea-pig ileal longitudinal muscle. *J Physiol* 254:39-54
- Weiss GB (1974) Cellular pharmacology of lanthanum. *Annu Rev Pharmacol* 14:343-354
- Weiss GB, Goodman FR (1969) Effects of lanthanum on contraction, calcium distribution and Ca⁴⁵ movements in intestinal smooth muscle. *J Pharmacol Exp Ther* 169:46-55

ÜBERGREIFENDE DISKUSSION

Seit 1999 werden SE als ein neuer, möglicher Futtermittelzusatzstoff zur Leistungssteigerung in der hiesigen Tierernährung getestet. Wenn auch im Gegensatz zu den chinesischen Berichten nicht in allen Untersuchungen bei Schweinen und Geflügel signifikant verbesserte Leistungen erzielt werden konnten, lässt doch die Mehrheit der Studien auf einen überwiegend vorteilhaften Einfluss der SE auf die Mastleistung schließen. Jedoch ist in Bezug auf die Wirksamkeit bei Wiederkäuern wenig bekannt und die bisherigen Befunde in der zur Verfügung stehenden Literatur sind uneinheitlich. Während Meyer et al. (2006) von positiven Effekten einer SE-Zulage auf die Lebendmassezunahme von weiblich präruminanten Kälbern berichteten, zeigte sich dies in Untersuchungen an Mastkälbern von Miller (2006) nicht. Von negativen Auswirkungen bei Mastbullen berichteten Schwabe et al. (2009). Beim Vergleich dieser Ergebnisse ist aber zu berücksichtigen, dass es sich um Tiere unterschiedlichen Geschlechtes und vor allem Alters („monogastrisches Saugkalb“ gegenüber Mastkalb) handelte und dies zur Variation der Befunde beigetragen haben könnte und somit Aussagen zur Wirksamkeit nicht ableitbar sind. Daher bestand das Ziel dieser Arbeit anhand eines Fütterungsversuches mit präruminanten Kälbern (**Paper III**) sowie an zwei Dosis-Wirkungsstudien mit Aufzuchttrindern (**Paper I und III**) den Einfluss von SE auf die Gesundheit, Futtermittelaufnahme und Leistung zu untersuchen. Zudem wurde der Einfluss von SE auf die Nährstoffverdaulichkeiten bei Schafen getestet, um mit diesen Ergebnissen eine Einschätzung zur möglichen Verwendung der SE als neuen Futtermittelzusatzstoff vornehmen zu können. Ein weiteres Ziel der Arbeit war es zu prüfen, inwieweit sich die mit dem Futter aufgenommenen SE über eine gesamte Mastperiode in Leber, Niere, Muskel und Knochen bei Mastbullen anreichern und ob beim Verzehr dieser tierischen Produkte ein gesundheitliches Risiko für den Verbraucher besteht (**Paper II**). Ein Vergleich der erzielten Ergebnisse in den verschiedenen Fütterungsversuchen an Schweinen und Geflügel hat bezüglich der verwendeten Mischungen, Konzentrationen und chemischen Verbindungen Seltener Erden ergeben, dass diese Parameter das Ausmaß der leistungsfördernden Effekte beeinflussen können. So wurden zum einen bessere Effekte erreicht, wenn eine Mischung Seltener Erden verwendet wurde anstelle eines reinen Lanthans (He und Rambeck 2000). Zum anderen haben organische Seltenerdverbindungen vermutlich einen größeren Einfluss auf die Leistung der Tiere als anorganische Seltenerdverbindungen (Knebel 2004; He et al. 2010). Aus diesem Grund wurde das Präparat Lancer 500® gewählt, welches eine Futtermittelvormischung darstellt, die aus China importierte SE in Citratform enthält und im Verhältnis 50:50 mit dem Trägerstoff Weizenstärke vermischt ist.

1 Einfluss von SE auf die Tiergesundheit

Gemäß der Verordnung (EG) Nr. 1831/2003 dürfen Futtermittelzusatzstoffe erst in den Verkehr gebracht, verwendet oder verarbeitet werden, wenn eine entsprechende Prüfung auf Wirksamkeit und Unbedenklichkeit im Bezug auf die tierische und menschliche Gesundheit sowie Umwelt erfolgt ist. Aufgrund dessen wurde in den vorliegenden Untersuchungen der Gesundheitszustand der Tiere regelmäßig kontrolliert und dokumentiert. Während des Kälber- bzw. Mastbullenversuches mussten ein bzw. zwei Tiere vorzeitig aus dem Versuch ausgeschlossen werden (**Paper I und Paper III**). Ein männliches Versuchskalb verstarb wenige Tage nach dem Versuchsbeginn ohne zuvor Krankheitsanzeichen gezeigt zu haben. Im Mastbullenversuch wurde ein Bulle aus der Versuchsgruppe C (200 mg SE-Citrat/kg T) zunächst wegen des Verdachts einer Labmagenverlagerung medikamentös behandelt. Er musste jedoch kurze Zeit später aufgrund seines immer schlechter werdenden Allgemeinzustandes euthanasiert werden. Ein sichtbarer Zusammenhang mit der SE-Supplementierung des Futters konnte aber nicht beobachtet werden. Bei dem zweiten Bullen handelte es sich um ein Kontrolltier, das infolge einer Wachstumsverzögerung aus dem Versuch genommen wurde. Exakte Angaben über die Krankheitsursachen dieser drei Tiere können allerdings nicht gemacht werden, da sie keiner pathologischen Untersuchung unterzogen wurden. Darüber hinaus bedurfte es im Verlauf der Tränke- bzw. der Mastperiode für Kälber und Mastbullen, aufgrund von auftretenden Verdauungs- und Atemwegsproblemen (**Paper III**) bzw. Klauen- und Gliedmaßenkrankungen (**Paper I**), einer therapeutischen Behandlung durch den betreuenden Tierarzt. Ein möglicher negativer Einfluss durch die SE konnte aber auch hier nicht festgestellt werden, da es sich zumal um typische und häufig vorkommende Erkrankungen in der Kälberaufzucht (Rademacher 2000; Pithua et al. 2009) bzw. Rinderhaltung (Somers et al. 2003; Bahrs 2005; Thio et al. 2005) handelte. Diese Beobachtung steht im Einklang mit zahlreichen Fütterungsversuchen, bei denen ebenfalls keine negativen Auswirkungen auf die Gesundheit der Versuchstiere durch SE feststellbar waren (Adu et al. 2006; Miller 2006; Finkenzeller 2011). Auch Glabasnia-Kreppold (2008) fand in einem Toleranzversuch über sechs Wochen an Absatzferkeln, deren Futter mit einer 5-fachen (1250 mg SE-Citrat/kg Futter) bzw. 10-fachen (2500 mg SE-Citrat/kg Futter) Überdosierung, bezogen auf die empfohlene Dosierung von 250 mg SE-Citrat/kg Futter, versetzt war, keine Beeinträchtigung der Gesundheit. Dieser Befund stützte sich auf eine tägliche Gesundheitskontrolle, auf hämatologische und klinisch-chemische Blutparameter sowie auf eine pathologisch-anatomische und histologische Untersuchung der Tierkörper am Versuchsende. In der eigenen Untersuchung konnten bei der grobmakroskopischen Begutachtung der Tierkörper und der Organe bis auf eine diffuse Nierensklerose und einen Leberabszess keine weiteren

Veränderungen beobachtet werden (**Paper I**). Diese pathologischen Veränderungen sind bei der Fleischuntersuchung von Rindern nicht ungewöhnlich (Krause 2005). Darüber hinaus unterschieden sich die relativen Organgewichte nicht signifikant zwischen den Gruppen (**Paper I**). Diese Beobachtung deckt sich allerdings nur teilweise mit den Befunden von Schwabe et al. (2009), die ein signifikant reduziertes Milzgewicht feststellen konnten, während die Leber-, Nieren- und Thymusgewichte ebenfalls unbeeinflusst blieben, wenn die Mastbullen im Mittel über 32 Wochen 200 mg SE-Citrat/kg T erhielten. Das geringere Milzgewicht konnte jedoch in der eigenen Untersuchung bei einer höheren und länger andauernden Supplementation sowie in der oben genannten Studie von Glabasnia-Kreppold (2008) als auch in der Untersuchung von He et al. (2003) bei Ratten nicht beobachtet werden. Dies lässt vermuten, dass dieser Effekt möglicherweise nicht mit den SE im direkten Zusammenhang steht. In einer späteren Untersuchung an Ratten von He et al. (2009) wurde eine Steigerung der Proliferation von Milzzellen beobachtet, die allerdings nicht signifikant war.

In Bezug auf eine weitere Fragestellung zur Selten Erden-Thematik wurde im Rahmen einer Diplomarbeit an unserem Institut von einem Teil dieser Bullen bei einer durchschnittlichen LM von 338 kg, 329 kg, 333 kg und 322 kg für die Gruppen A, B, C und D Blut aus der *Vena jugularis externa* entnommen und hinsichtlich der klinisch-chemischen Blutparameter Gesamtprotein, Albumin, Gesamtbilirubin sowie auf die spezifischen Leberenzyme Glutamat-Dehydrogenase (GLDH), Gamma-Glutamyl-Transferase (γ -GT) und Aspartat-Aminotransferase (AST) untersucht. Seltene Erden akkumulieren hauptsächlich in der Leber, so dass eine Beeinflussung der Leberfunktion durchaus möglich wäre. Alle erfassten Parameter lagen jedoch innerhalb der von Kraft und Dürr (2005) angegebenen Referenzbereiche und es konnten bis auf einen signifikanten linearen Anstieg des Gesamtproteins mit zunehmender SE-Supplementierung keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen festgestellt werden (Renner et al. 2011). Aufgrund dieser und der eigenen Ergebnisse kann bei den verwendeten SE-Mengen keine erkennbare Leberschädigung geschlussfolgert werden. Zur eindeutigen Interpretation wären zusätzliche histologische Untersuchungen jedoch vorteilhaft.

Unerwartet führte die SE-Supplementation von 300 mg SE-Citrat/kg T (= 102,8 mg reine SE/kg T bzw. 2,1 mg/kg LM pro Tag) bei den Mastbullen zu einer signifikant verminderten Futterraufnahme und zu einer numerisch verminderten LMZ von 5 % im Vergleich zur Kontrollgruppe. Demnach würde das no-observed-effect-level für die Futterraufnahme bei 74,4 mg reine SE/kg T bzw. 1,6 mg/kg LM pro Tag liegen. Zur genauen Beurteilung des Gesundheitszustandes der Tiere wären vertiefende Untersuchungen notwendig, da die Futterraufnahme ein wichtiges klinisches Merkmal darstellt.

2 Einfluss von SE auf die zootechnischen Leistungsparameter

Kessler (2004) untersuchte und beschrieb erstmals in einem Schweinemastversuch (25-104 kg LM) neben einer positiven Entwicklung der Lebendmasse und Futtermittelverwertung auch einen geschlechtsspezifischen Unterschied. Demnach konnte SE-Citrat das Wachstum und die Futtermittelverwertung bei weiblichen Tieren effektiver steigern als bei kastrierten, männlichen Schweinen. In einer ersten Untersuchung an Wiederkäuern fanden auch Meyer et al. (2006) bei weiblichen präruminanten Kälbern eine Steigerung der Lebendmassezunahme um 14,6 % und eine Verringerung des Futteraufwandes um 19,6 % bei gleichzeitigem Rückgang der Futteraufnahme um 7,8 %, wenn deren Milchaustauscher mit 200 mg SE-Citrat/kg T über sechs Wochen supplementiert wurde. Entgegen den Erwartungen konnte jedoch wie in den Untersuchungen von Miller (2006) und Schwabe et al. (2009) in keinem der vorliegenden Fütterungsversuche eine signifikante Leistungssteigerung durch die SE beobachtet werden (**Paper I und III**). Wie aus den zusammengefassten Ergebnissen der durchgeführten Fütterungsversuche in Abbildung 1 hervorgeht, lagen die mittleren Futteraufnahmen der supplementierten Tiere unter denen der Kontrolltiere.

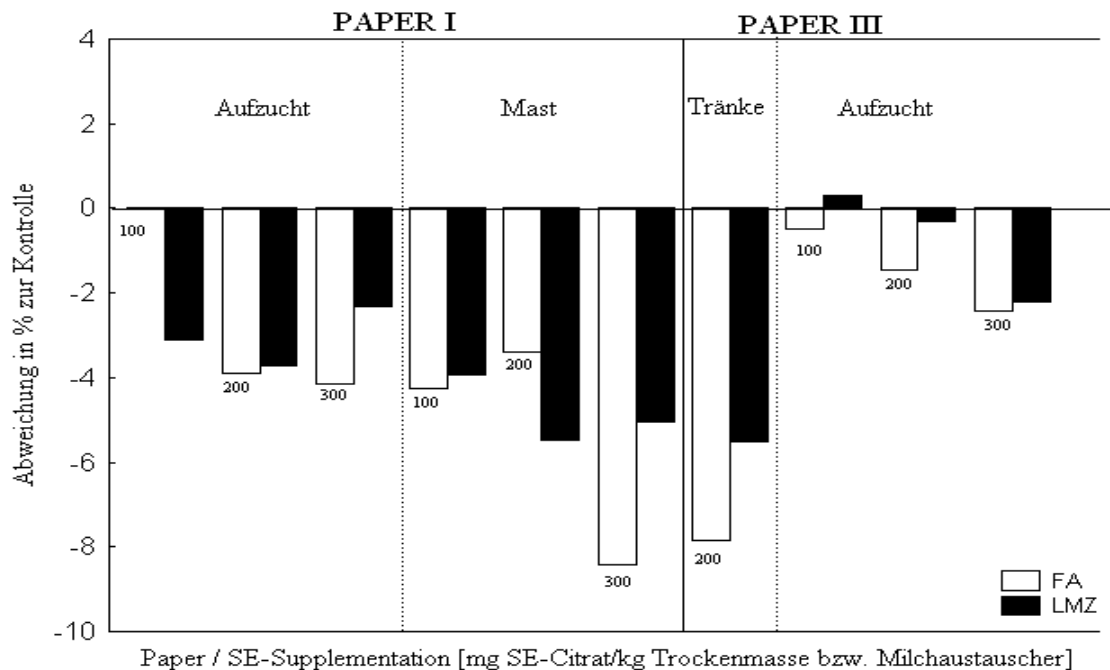


Abbildung 1: Relative Veränderung von Futteraufnahme (FA) und Lebendmassezunahme (LMZ) der SE-Supplementationsgruppen [Paper I (Mastbullenversuch, Aufzucht- und Mastperiode; Paper III (Tränkeperiode ♂ + ♀ Tiere und Aufzuchtperiode ♀ Tiere, Zahlen unter den Balken kennzeichnen Dosierung)

Im Mastbullenversuch konnte bei der regressionsanalytischen Auswertung ein signifikant negativer linearer Zusammenhang zwischen der SE-Konzentration im Kraftfutter und der Aufnahme von Grasheu und Maissilage während der Aufzucht bzw. Mastperiode festgestellt werden (Abbildung 2). Allerdings sollte beachtet werden, nicht jedes Tier reagiert gleichermaßen auf die SE mit einem Rückgang in der Futtermittelaufnahme, wie sich anhand der hohen individuellen Variation ableiten lässt.

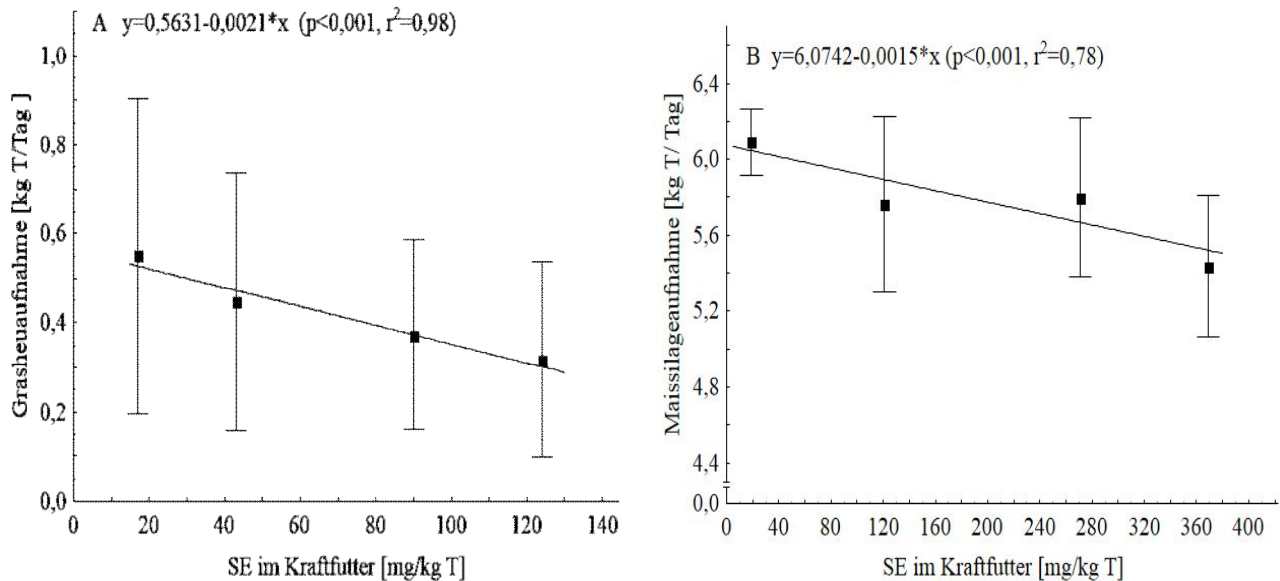


Abbildung 2: Aufnahme an Grasheu und Maissilage (means±SD; n= 11 bzw. 12 Tiere) in Abhängigkeit von der SE-Konzentration des Kraftfutters während der Aufzucht (A) bzw. Mastperiode (B) des Dosis-Wirkungsversuches (Paper I)

Im Kälbersversuch ließ sich während der Tränkeperiode ebenfalls eine signifikante Linearität zwischen der Aufnahme von Grasheu und der SE-Konzentration im Milchaustauscher nachweisen. Diese beobachtete verminderte Aufnahme von Grasheu (26,3%) aber auch von Kraftfutter (13,5%) in der SE-Gruppe (Tabelle 5, **Paper III**) im Vergleich zur Kontrollgruppe ist durchaus kritisch zu bewerten. Denn zum einen bildet eine optimale Entwicklung der Kälber in dieser Phase den Grundstein für eine hohe Produktivität der Tiere als Milchkühe oder Mastbullen und zum anderen ist es aus physiologischer und wirtschaftlicher Sicht besonders wichtig, dass sich das anfangs monogastrisch verdauende Kalb möglichst früh zum Wiederkäuer entwickelt. Dies wird in erheblichem Maße durch die Art und Menge des aufgenommenen Grund- und Kraftfutters beeinflusst, weil die aus dem bakteriellen Abbau der leicht verdaulichen Kohlenhydrate frei gewordenen flüchtigen Fettsäuren das Pansenzottenwachstum anregen und Heu durch seine mechanische Reizung der Pansenwand wesentlich zur Aktivierung der

Pansenmotilität beiträgt und das Einsetzen der Rumination begünstigt. In der Aufzuchtperiode des zweiten Dosis- Wirkungsversuches konnte bei den weiblichen Rindern jedoch kein linearer Zusammenhang festgestellt werden. Die Futteraufnahme wird über sehr komplexe Regelmechanismen wie z.B. zentralnervös, metabolisch oder hormonell gesteuert, die Hunger- und Sättigungszustände verursachen und so die Nahrungsaufnahme regulieren. Negative Auswirkungen durch die SE auf den Geruch und Geschmack des Futters können aber ausgeschlossen werden. Wie sich anhand der erfassten Daten zu den täglich tierindividuellen aufgenommenen Futtermengen ableiten ließ, lagen die Verzehrdepressionen nicht in der Aufnahme des mit SE-supplementierten Milchaustauschers bzw. Kraftfutters sondern in der Heu bzw. Maissilageaufnahme (Tabellen 4 und 5, **Paper I**; Tabellen 5 und 6, **Paper III**). SE sind in der Lage, Calciumionen in biologischen Strukturen isomorph zu substituieren, da sie ähnliche chemische Eigenschaften und Ionenradien besitzen (Evans 1990). Im Hinblick auf die mögliche Beteiligung von SE an zahlreichen intra- und extrazellulären Funktionen sind die Ursachen für den beobachteten Rückgang in der Futteraufnahme durch die SE nicht einfach und eindeutig erklärbar. Ein möglicher Erklärungsansatz könnte die direkte, oder über das vegetative Nervensystem vermittelte Beeinflussung der gastrointestinalen Motilität sein. Da SE durch Calcium-Inhibition die Weiterleitung von nervalen Reizen (Kalix 1971) als auch die Kontraktilität und den Tonus der glatten Muskulatur beeinflussen (Weiss und Goodman 1969; Weiss 1974; Triggle und Triggle 1976; Evans 1990). Somit könnte eine verminderte gastrointestinale Motilität die Passagerate senken und dies sich in einer verringerten Futteraufnahme ausgewirkt haben.

Eine weitere denkbare Erklärung für die verminderte Futteraufnahme könnte die Studie von Liu et al. (2008) liefern, die erstmals *in vivo* den Einfluss von SE auf die Pansenfermentation untersuchten. Sie beobachteten, dass eine zunehmende Supplementation von Lanthanchlorid zu einer Ration aus 60 % Maisstroh und 40 % Kraftfutter auf T-Basis an Ochsen, die Produktion an flüchtigen Fettsäuren signifikant steigerte. Das Verhältnis von Acetat zu Propionat verringerte sich von 3,28 auf 1,79, infolge einer Erhöhung der Propionat-Produktion um bis zu 52 %. Propionat wird eine Sättigungswirkung zugeschrieben, da in verschiedenen Studien nach einer intraportalen Propionatinfusion eine Verzehrminderung beobachtet werden konnte (Allen 2000; Oba und Allen 2003; Allen und Bradford 2005; Allen et al. 2009).

Diese geringeren Futteraufnahmen spiegelten sich auch in der Wachstumsleistung der Tiere wider (**PAPER I und III**). So lagen die mittleren Lebendmassezunahmen der SE-Gruppen wenn auch nicht signifikant, überwiegend unter denen der Kontrolltiere (Abbildung 1). Zudem konnte im Kälbersversuch (**Paper III**) keine signifikante Wechselwirkung zwischen den SE und

Geschlecht beobachtet werden, obwohl ähnlich wie in der Untersuchung von Meyer et al. (2006), die weiblichen Kälber der SE-Gruppe eine leicht höhere LMZ bei gleichzeitig geringerer Futteraufnahme aufwiesen als die weiblichen Kontrolltiere (Tabelle 5 **Paper III**). Darüber hinaus fraßen innerhalb der SE-Gruppe die männlichen Tiere 15,8 % weniger Kraftfutter und zeigten eine 4 % geringere LMZ im Vergleich zu den weiblichen Tieren. Über die Heuaufnahme kann keine Aussage getroffen werden, da sie aus technischen Gründen nicht tierindividuell erfasst wurde. Allerdings lagen bei der vergleichenden Betrachtung der beiden Dosis-Wirkungsversuche (Abbildung 1) die Wachstumsleistungen der weiblichen Aufzuchtrinder mit Ausnahme einer minimal höheren LMZ bei der geringsten Zulagestufe ebenso wie bei den männlichen Mastrindern unterhalb der Kontrollgruppe. Die Hypothese, dass Alter und Geschlecht der Tiere einen möglichen Einfluss auf die Wirkung von SE haben könnte, wurde nicht bestätigt.

Des Weiteren wurden in den vorliegenden Untersuchungen neben dem Futterverzehr und der LMZ als wichtige Einflussgrößen zur Leistungsbeurteilung der Futter- und Energieaufwand je kg Zuwachs ermittelt. Eine verbesserte Futtereffizienz stellt heutzutage aus ökologischer und ökonomischer Sicht durch die zunehmende Ressourcenknappheit, Treibhausgasemission und sehr stark schwankenden Futtermittelpreisen eine immer größere Herausforderung dar. Durch SE konnten in verschiedenen Studien an Schweinen und Geflügel eine Verbesserung in der Futterverwertung festgestellt werden, die die Autoren sowohl auf eine verbesserte Verdaulichkeit und Nährstoffverfügbarkeit als auch auf eine erhöhte Ausnutzung der verfügbaren Energie zurückführen. Liu et al. (2008) untersuchten neben den oben beschriebenen Pansenfermentationsparametern die Nährstoffverdaulichkeit im Gesamttrakt sowie in einer *in situ* Studie die ruminale Abbaubarkeit von Sojamehl und der Mais-Restpflanze (Maisstroh). Sie ermittelten eine verbesserte effektive ruminale Abbaubarkeit der Trockenmasse und Neutral Detergenzien Faser der Mais-Restpflanze nach Zulage von 450 bzw. 900 mg Lanthanchlorid pro Tier und Tag gegenüber der Kontrollgruppe. Nach Zulage von 1800 mg Lanthanchlorid war ein Abfall zu verzeichnen. Bei Sojamehl zeigte sich hinsichtlich der effektiven Abbaubarkeit von Trockenmasse und Rohprotein ein linearer Rückgang mit zunehmender SE-Konzentration. Darüber hinaus beobachteten sie eine signifikant verbesserte Gesamtverdaulichkeit von Trockenmasse, organischer Masse, Rohprotein, NDF und ADF nach Zulage von 450 bzw. 900 mg Lanthanchlorid pro Tier und Tag, während bei 1800 mg Lanthanchlorid ein Rückgang in der Nährstoffverdaulichkeit zu beobachten war. Im Unterschied dazu ergaben die eigenen Verdaulichkeitsversuche an Hammeln, mit Ausnahme einer leicht verbesserten Rohproteinverdaulichkeit ($p=0,097$) in der geringsten Zulagestufe, keine signifikanten

Unterschiede (Abbildung 3; Tabelle 7, **Paper I**). Zudem verdeutlicht die Abbildung 3, dass zwischen den einzelnen Individuen innerhalb der Behandlungsgruppen eine große Variation in der Verdaulichkeit der Nährstoffe auftrat.

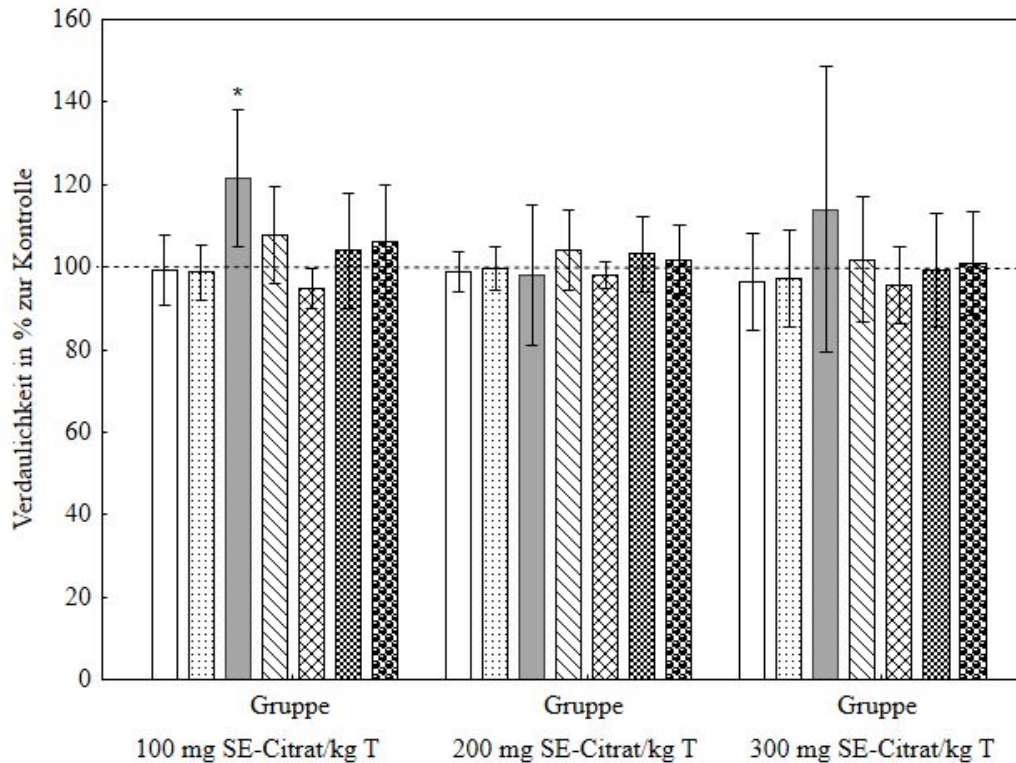


Abbildung 3: Einfluss der SE auf die Verdaulichkeit von Trockenmasse (□), organischer Masse (▤), Rohprotein (■), Rohfaser (▨), stickstofffreie Extraktstoffe (▩), Säure Detergenzien Faser (▧) und Neutral Detergenzien Faser (▣) in dem durchgeführten Hammelversuch in Relation zur Kontrolle, (* ein Trend im Vergleich zur Versuchsgruppe 200 mg SE-Citrat /kg T, p=0,097; MW ± SD)

In den Fütterungsversuchen konnten keine signifikanten positiven Veränderungen des Futter- und Energieaufwandes bei SE-Zulagen bestimmt werden (Tabellen 4 und 6, **Paper I**; Tabellen 5 und 6, **Paper III**), was durch die Resultate der Hammelversuche untermauert wurde. Schwabe et al. (2009) ermittelten sogar einen signifikant erhöhten Futter- und Energieaufwand im Vergleich zur unsupplementierten Kontrollgruppe.

3 Schlachtleistung und Carry over Seltener Erden

Im Mastbullenversuch zeigten sich in Bezug auf die Schlachtleistung bei SE-Konzentrationen bis 102 mg/kg T (2,1 mg/kg LM pro Tag) mit Ausnahme einer höheren Schlachtausbeute bei Versuchsgruppe C, keine weiteren Unterschiede zwischen den Gruppen (**Paper I**). Dieser

beobachtete Effekt ist wahrscheinlich dem höheren Alter der Tiere bei der Schlachtung zuzuschreiben. Die beiden Schlachtkörpermerkmale Schlachtausbeute und Bauchhöhlenfett (Summe von Beckenhöhlen-, Nieren-, Magen- und Darmfett) als Kriterium für den Verfettungsgrad der Tiere bzw. der Schlachtkörper lagen bei diesem Schlachtgewicht mit durchschnittlich 52,8 % und 38,9 kg in einem ähnlichen Bereich, wie schon in anderen Studien bei derselben Rasse beschrieben wurde (Schumann et al. 2007; Meyer et al. 2008; Meyer et al. 2010). Des Weiteren wurden sowohl in den relativen (**Paper I**) als auch in den absoluten Organgewichten (Daten nicht gezeigt) keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen festgestellt. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, wie schon zuvor in Untersuchungen an Schweinen (Borger 2003; Eisele 2003; Miller 2006) und Geflügel (Halle et al. 2002; He et al. 2010) gezeigt, dass die Schlachtkörper nicht negativ durch die SE-Supplementierung beeinflusst werden.

Ein weiterer Schwerpunkt in dieser Arbeit lag auf dem Carry over, da wenig über das Verhalten von SE im Körper nach Aufnahme aus dem Gastrointestinaltrakt bei Wiederkäuern bekannt ist. Wie bereits erläutert, kommen SE ubiquitär im Boden und Pflanzen vor. Daher ließen sich auch bei den quasi "SE-frei" gefütterten Kontrolltieren positive SE-Befunde in Leber, Niere, Knochen und Muskel nachweisen. Von den untersuchten Matrices wies die Leber die höchsten Konzentrationen auf gefolgt von Nieren- und Knochengewebe. In Übereinstimmung mit der Literatur gilt die Leber als primäres Speicherorgan für leichte SE (Evans 1990). Die geringsten SE-Konzentrationen wurden im Muskelgewebe nachgewiesen. Zudem bewirkten die ansteigenden SE-Zulagen außer im Falle des Muskelgewebes einen dosisabhängigen Anstieg der SE-Konzentrationen (Tabellen 4 und 5, **Paper II**). Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit einer früheren Untersuchung von Schwabe et al. (2008), bei der nach Zulage von 200 mg SE-Citrat/kg T für einen Versuchszeitraum von 32 Wochen eine Erhöhung der SE-Konzentrationen in Leber, Niere und Knochen nachgewiesen wurde. Die ermittelten SE-Konzentrationen lagen allerdings auf einem niedrigeren Niveau im Vergleich zur Versuchsgruppe C (200 mg SE-Citrat/kg T) der eigenen Untersuchung. Eine mögliche Ursache für diese Unterschiede könnte zum einen die geringere Versuchsdauer (32 gegenüber 47 Wochen) und zum anderen die geringere Aufnahme an SE sein.

Das Übergangsverhalten der SE aus dem Futter in das untersuchte Nutztiergewebe bzw. -organ lässt sich anschaulich mit der Größe des „Carry over-Faktors“ beschreiben. Der Carry over-Faktor ist definiert als Quotient der ermittelten SE-Konzentration im untersuchten Tiergewebe und der Konzentration der SE im aufgenommenen Futtermittel. Die Carry over-Faktoren für die

ÜBERGREIFENDE DISKUSSION

drei wichtigsten Seltenen Erden Elemente Lanthan, Cer und Praseodym in Leber, Niere, Knochen und Muskel sind in Tabelle 4 zusammengefasst.

Tabelle 4: Carry over-Faktor (als Quotient der ermittelten SE-Konzentration im untersuchten Tiergewebe und der Konzentration der SE im aufgenommenen Futtermittel) von Lanthan, Cer und Praseodym in Leber, Niere, Knochen und Muskel bei Mastbullen (MW \pm SD)

Gruppe	A	B	C	D	ANOVA (probabilities)			
					PSEM	SE	Linear	Quadratisch
SE-Citrate [mg/kg T]	0	100	200	300				
Bullen (n)	11	12	11	12				
Carry over-Faktor in die Leber								
Lanthan	0,0178	0,0172	0,0168	0,0139	0,0014	0,229	0,067	0,422
Cer	0,0162	0,0154	0,0150	0,0124	0,0013	0,167	0,040	0,476
Praseodym	0,0143	0,0153	0,0174	0,0140	0,0013	0,261	0,863	0,094
Carry over-Faktor in die Niere								
Lanthan	0,0096 ^a	0,0054 ^b	0,0042 ^b	0,0048 ^b	0,0007	<0,001	<0,001	0,001
Cer	0,0098 ^a	0,0057 ^b	0,0045 ^b	0,0050 ^b	0,0006	<0,001	<0,001	0,001
Praseodym	0,0094 ^a	0,0066 ^b	0,0061 ^b	0,0067 ^b	0,0007	0,008	0,008	0,019
Carry over-Faktor in den Knochen								
Lanthan	0,0105 ^a	0,0049 ^b	0,0048 ^b	0,0038 ^b	0,0006	<0,001	<0,001	0,000
Cer	0,0086 ^a	0,0045 ^b	0,0045 ^b	0,0035 ^b	0,0005	<0,001	<0,001	0,005
Praseodym	0,0077 ^a	0,0059 ^{ab}	0,0068 ^{ab}	0,0051 ^b	0,0006	0,026	0,015	0,838
Carry over-Faktor in den Musculus longissimus								
Lanthan	0,0036 ^a	0,0003 ^b	0,0002 ^b	0,0001 ^b	0,0006	0,005	0,003	0,035
Cer	0,0027 ^a	0,0003 ^b	0,0002 ^b	0,0001 ^b	0,0005	<0,001	<0,001	0,001
Praseodym	0,0020 ^a	0,0003 ^b	0,0002 ^b	0,0001 ^b	0,0006	<0,001	<0,001	<0,001

^{ab} Mittelwerte mit unterschiedlichen hochgestellten Buchstaben unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$)

Die Carry over-Faktoren lagen bei den unsupplementierten Tieren mit Ausnahme der Leber und dem Element Praseodym der Versuchsgruppen B und C beim Knochen signifikant höher im Vergleich zu den supplementierten Tieren. Darüber hinaus konnte bei allen untersuchten Matrices außer in der Leber bei dem Element Praseodym ein linearer Rückgang der Carry over-Faktoren mit zunehmender SE-Supplementation beobachtet werden. Die errechneten Carry over-Faktoren aus der Studie von Schwabe et al. (2008) in Niere, Knochen, Muskel aber auch die der Leber lagen in der Kontrollgruppe ebenfalls signifikant höher als in der Versuchsgruppe mit 200 mg SE-Citrat/kg T. Im Vergleich zu der eigenen Untersuchung lagen die Carry over-Faktoren der Versuchsgruppe für Niere: La: 0,0046, Ce: 0,0047, Pr: 0,0056 und Muskel: La: 0,0003, Ce: 0,0002 Pr: 0,0002 auf einem ähnlichen Niveau wie aus der Tabelle 4 zu erkennen ist, während sie für Knochen: La: 0,0037, Ce: 0,0034, Pr: 0,0040 und Leber: La: 0,0121, Ce: 0,0106, Pr: 0,0131 auf einem etwas niedrigeren Niveau lagen.

4 Risikoabschätzung für die menschliche Gesundheit

Wie unter dem Punkt 1 der übergreifenden Diskussion bereits erwähnt dürfen Futtermittelzusatzstoffe erst in Verkehr gebracht werden, wenn neben der

Unbedenklichkeitsprüfung für die tierische Gesundheit auch keine Hinweise dafür vorliegen, dass die Anwendung und der Verzehr von Produkten supplementierter Nutztiere nachteilige Auswirkungen auf die menschliche Gesundheit zur Folge haben. In der zugänglichen Literatur existieren soweit bekannt keine Angaben für zulässige Aufnahmemengen für SE-Citrate beim Menschen. Ji et al. (1985) und Ji (1990) leiteten für den Menschen unter Anwendung eines Sicherheitsfaktors von 100 aus Toxizitätstests, Langzeitstudien sowie der verfügbaren Literatur eine maximal akzeptable tägliche Aufnahmemenge von 0,1 bis 1,0 mg/kg Körpergewicht für SE-Oxide bzw. 0,2 bis 2,0 mg/kg Körpergewicht für SE-Nitrate ab. Zu einem ähnlichen Resultat kamen auch Song et al. (2005), die für SE-Nitrate eine zulässige Aufnahmemenge von 12 bis 120 mg/Person/Tag festlegten. Im Vergleich dazu legten Ji und Cui (1988) nur eine tolerierbare Aufnahmemenge von 0,6 mg SE-Nitrat/kg Körpergewicht fest.

Wie bereits beschrieben konnten in allen untersuchten Geweben SE-Rückstände nachgewiesen werden (**Paper II**). Die Schätzung der SE-Exposition zur Bewertung des gesundheitlichen Risikos für den Verbraucher erfolgte auf Grundlage der höchsten analysierten SE-Konzentrationen in Leber, Niere und Muskel und dem Verzehr dieser Lebensmittel aus den gewonnenen Daten der Nationalen Verzehrstudie II (NVS II) des Max Rubner-Institutes (MRI). Bei der NVS II handelt es sich um die zurzeit aktuellste repräsentative Studie zum Lebensmittelverzehr der deutschen Bevölkerung im Alter zwischen 14 und 80 Jahren (MRI 2008). Der Verzehr von Leber, Niere und Rindfleisch beträgt nach Daten der NVS II für das 95. Perzentil aller Verzehrer für die Langzeitaufnahme 0,092 g Leber/kg Körpergewicht und Tag, 0,078 g Niere/kg Körpergewicht und Tag und 0,767 g Rindfleisch/kg Körpergewicht und Tag (Tabelle 5).

Tabelle 5: Seltene Erden Exposition zur Risikoabschätzung für den Verbraucher auf Basis der höchsten analysierten SE Konzentrationen [Summe aller einzelnen Elemente] in Leber, Niere und Muskelfleisch und dem täglich angenommenen Verzehr dieser Lebensmittel nach Daten der NVS II; 95. Perzentil

SE im Futter [Summe der einzelnen Elemente] [mg/kg T]	Gewebe	SE [$\mu\text{g}/\text{kg}$ Frischmasse]	täglicher Verzehr [g/kg Körpergewicht]	tägliche SE Aufnahme [$\mu\text{g}/\text{kg}$ Körpergewicht]	Ausschöpfung des ADI von 0,1 mg/kg Körpergewicht und Tag [%]
74,4	Leber	610,1	0,092	0,056	0,056
102,8	Niere	339,8	0,078	0,027	0,027
7,2	Muskel	217,3	0,767	0,167	0,167

Somit würde selbst ein Vielverzehrer mit den höchsten gemessenen Konzentrationen insgesamt 0,25 μg SE/kg Körpergewicht und Tag aus Leber, Niere und Rindfleisch aufnehmen. Dies entspricht einer ADI-Ausschöpfung von nur 0,25 % bezogen auf den ADI-Wert von 0,1 mg/kg

Körpergewicht und Tag (untere Grenze; Ji et al. 1985). Wie eingangs erläutert wurden in epidemiologischen Studien mit Kindern aus SE-reichen Gebieten mit einer durchschnittlichen Aufnahmemenge von 5,89 bis 6,67 mg SE/Tag (Zhang et al. 2000b; Zhu et al. 2005) nachteilige Effekte auf das zentrale Nervensystem nachgewiesen (Zhu et al. 1996; Fan et al. 2004). Im Kontrollgebiet ohne erhöhte SE-Vorkommen wurden mittlere Aufnahmemengen von 3,33 mg pro Tag angegeben. Aus diesem Grund sind Kinder im Hinblick auf die SE-Exposition als besonders empfindliche Personengruppe zu betrachten und die Bewertung des gesundheitlichen Risikos sollte für sie getrennt erfolgen. Als Datengrundlage hierfür wurden die Verzehrdaten für Kleinkinder unter 5 Jahren aus der VELS-Studie (Verzehrsstudie zur Ermittlung der Lebensmittelaufnahme von Säuglingen und Kleinkindern für die Abschätzung eines akuten Toxizitätsrisikos durch Rückstände von Pflanzenschutzmitteln) herangezogen. Die mittleren Langzeitverzehrsmengen für Kleinkinder im Alter von 2 bis unter 5 Jahren liegen für Rindfleisch bei 4,7 g pro Tag und für Innereien bei 0,1 g pro Tag (BfR, Bundesinstitut für Risikobewertung) (2005). Für die Aufnahmeberechnung wurde das von VELS mittlere Standardkörpergewicht von 16,15 kg zugrunde gelegt (Heseker et al. 2003). Demnach würden Kleinkinder durch den Verzehr von Rindfleisch, Leber und Niere täglich $0,0632 \mu\text{g SE/kg}$ Körpergewicht, $3,78 \cdot 10^{-3} \mu\text{g SE/kg}$ Körpergewicht bzw. $2,10 \cdot 10^{-3} \mu\text{g SE/kg}$ Körpergewicht aufnehmen. Diese SE-Exposition aus Leber, Niere und Rindfleisch liegt damit um ein Vielfaches unter den oben genannten Werten, bei denen nachteilige Effekte auf das zentrale Nervensystem beobachtet werden konnten. Basierend auf diesen Ergebnissen zeigt sich, dass selbst im Worst Case Fall das Risiko einer gesundheitlichen Beeinträchtigung für Erwachsene wie auch für Kinder als empfindliche Verbrauchergruppe als sehr gering einzuschätzen ist.

SCHLUSSFOLGERUNGEN

Schlussfolgernd kann festgehalten werden, dass sich im Gegensatz zu Untersuchungen an Schweinen und Geflügel, die SE beim Wiederkäuer nicht positiv auf die untersuchten zootechnischen Leistungsparameter (Futteraufnahme, Lebendmasseentwicklung, Futter- und Energieaufwand) auswirkten. Die Tiere reagierten im Gegenteil durch die SE-Supplementierung des Futters mit einem Rückgang in der Futteraufnahme. Infolgedessen wiesen die Tiere, wenn auch nicht signifikant, geringere Wachstumsleistungen auf. Darüber hinaus zeigten sich entgegen unserer Vermutung beim Vergleich der Fütterungsversuche anhand der beobachteten Leistungsdaten auch keine alters- beziehungsweise geschlechtsspezifischen positiven Wirkungen durch die SE-Aufnahme. Aus diesem Grund erweisen sich SE als Futtermittelzusatzstoff zur Leistungssteigerung in der Ernährung von Kälbern und Mastrindern unter den getesteten Bedingungen als ungeeignet.

Im Hinblick auf die Tiergesundheit wurde mit Ausnahme einer Beeinträchtigung der Futteraufnahme, bei den täglichen Gesundheitskontrollen sowie bei der Blutuntersuchung (Renner et al. 2011) und der grobmakroskopischen Begutachtung der Tierkörper und Organe im Mastbullenversuch kein negativer Einfluss durch die SE ermittelt. Da die Futteraufnahme jedoch ein wichtiges klinisches Merkmal darstellt und die Ursachen für den Rückgang nicht eindeutig geklärt sind, wären vertiefende Untersuchungen erforderlich, um eindeutige Rückschlüsse auf den Gesundheitszustand der Tiere treffen zu können. Angesichts der bisherigen Befunde ist allerdings mit einem Einsatz von SE beim Wiederkäuer nicht zu rechnen und somit wird vermutlich wenig Interesse bestehen, weitere Studien zu dieser Thematik durchzuführen.

Im Mastbullenversuch wurden außer einer höheren Schlachtausbeute, die vermutlich auf eine längere Mastdauer zurückzuführen war, keine weiteren Beeinflussungen der erhobenen Schlachtleistungsparameter sowie der Organgewichte festgestellt.

Unabhängig von der Supplementation wurden in Leber, Niere, Knochen und Muskel SE nachgewiesen, wobei in der Leber die höchsten und Muskelgewebe die geringsten Konzentrationen gemessen wurden. Die SE-Konzentrationen (La, Ce und Pr) in Leber, Niere und Knochen stiegen signifikant linear mit den zunehmenden SE-Konzentrationen im Futter an, während beim Muskel diese direkte Beziehung nicht bestand. Dennoch scheint eine gesundheitliche Gefahr für den Verbraucher beim Verzehr der genannten essbaren Teilstücke durch den SE-Carry over sehr gering zu sein.

Bei den Hammeln, die hier als Modell für die Bestimmung der Verdaulichkeit verwendet wurden, konnte durch die SE kein signifikanter Einfluss auf die Rohnährstoffverdaulichkeiten beobachtet werden, wie dies in der Literatur als eine mögliche Ursache für die Leistungssteigerung diskutiert wird.

ZUSAMMENFASSUNG

Einfluss von Seltenen Erden auf Gesundheit und Leistung von Wiederkäuern und Carry over Seltener Erden in essbare Gewebe und Knochen

Angesichts der stetig zunehmenden Erdbevölkerung wird von der weltweiten Tierproduktion einerseits die Sicherstellung der Ernährung, andererseits aber zugleich auch eine Schonung der verfügbaren Ressourcen gefordert. Dieses Ziel kann jedoch langfristig nur über eine Effizienzsteigerung in der Tierproduktion erreicht werden. Im Zuge der öffentlichen Diskussion über einen Zusammenhang zwischen dem Einsatz antibiotischer Leistungsförderer als Futterzusatzstoff und der Ausbreitung multiresistenter human- und tierpathogener Bakterien kam es jedoch Anfang Januar 2006, im Sinne eines vorbeugenden Verbraucherschutzes, zum Verbot dieser Stoffgruppe. Infolgedessen bemühen sich seit vielen Jahren zahlreiche Forschungsgruppen neue effektive, sichere und kostengünstige Zusatzstoffe in der Tierernährung zu etablieren, die in der Lage sein sollen, das Leistungsniveau der Nutztiere aufrechtzuerhalten bzw. die Umwandlung der Futtermittel in Lebensmittel tierischer Herkunft nachhaltig zu verbessern wie die in den vorangegangenen Jahrzehnten mit Erfolg eingesetzten „Fütterungsantibiotika“. In diesem Zusammenhang sind auch Seltene Erden (SE) in den Blickpunkt des Interesses gerückt. Diese werden bereits seit Jahrzehnten in der chinesischen Landwirtschaft als Leistungsförderer in der Tier- und der Pflanzenproduktion angewandt. Auch unter mitteleuropäischen Bedingungen konnten in einer Reihe von Studien an Schweinen und Geflügel Leistungssteigerungen nachgewiesen werden. Bisher existieren aber nur wenige Untersuchungen mit Wiederkäuern, und ein möglicher Einfluss von Alter und Geschlecht wurde bislang nicht untersucht. Ziel dieser Arbeit war es daher, den Einfluss von SE in verschiedenen Dosierungen bei Rindern unterschiedlichen Alters und Geschlechts auf Gesundheit, Futteraufnahme und Leistung sowie den Carry over in essbare Gewebe und Knochen zu untersuchen. Zudem wurde der Einfluss von SE auf die Nährstoffverdaulichkeiten bei Schafen getestet.

Hierfür wurde zunächst ein zweifaktorieller Fütterungsversuch mit 87 prärumierenden Kälbern (45 weibliche und 42 männliche Tiere) der Rasse Deutsche Holstein durchgeführt, die im Alter von $9,6 \pm 1,8$ Tagen unter Berücksichtigung von Geschlecht und Lebendmasse auf zwei Gruppen (Kontrolle, SE) sowie für die Untersuchung des Geschlechts in zwei Untergruppen (weiblich, männlich) verteilt wurden. Die Tiere erhielten täglich über einen Versuchszeitraum von 44 Tagen Milchaustauscher (MAT) entweder mit oder ohne Zulage von 200 mg/kg SE-Citrat. Darüber hinaus wurde Heu zur freien Aufnahme und pelletiertes

Kraftfutter bis maximal 1,0 kg je Tier und Tag angeboten. Die Futteraufnahme wurde über die gesamte Tränkeperiode betrachtet durch die SE-Supplementierung im MAT nicht signifikant beeinflusst. Es trat aber eine SE-bedingte Abnahme der Kraftfutter- (13,5 %) und Heuaufnahme (26,3 %) auf. Infolgedessen lag die tägliche Lebendmassezunahme der Versuchsgruppe mit 496 g geringfügig unterhalb der Kontrollgruppe mit 525 g. Futter- sowie Energieaufwand lagen auf einem ähnlichen Niveau. Darüber hinaus zeigte die SE-Supplementierung bezüglich Futteraufnahme und Wachstum keine positiven Auswirkungen hinsichtlich des Geschlechts, wie durch die fehlenden Interaktionen zwischen den Versuchsfaktoren gezeigt werden konnte.

In einer anschließenden Dosis-Wirkungsstudie wurden 48 schwarzbunte Mastbullen derselben Rasse (119 ± 13 kg Lebendmasse) in vier Versuchsgruppen mit verschiedenen SE-Dosierungen (0, 100, 200, 300 mg/kg Trockenmasse, T) unterteilt. Der Versuch erstreckte sich im Mittel über einen Zeitraum von insgesamt 47 Wochen, wovon die ersten 8 Wochen auf die Aufzucht und die restlichen 39 Wochen auf die Mastperiode entfielen. Die Mastperiode folgte direkt auf die Aufzuchtperiode. Die Tiere erhielten während der Aufzuchtperiode Grassilage sowie Grasheu und während der Mastperiode Maissilage. Diese Futtermittel standen *ad libitum* zur Verfügung. Zusätzlich erhielten sie in beiden Versuchsperioden rationierte Mengen einer mit SE-Citrat supplementierten Kraftfuttermischung mit dem Ziel, im Mittel eine Zulage von 0, 100, 200 und 300 mg/kg T SE-Citrat in der Gesamtration zu gewährleisten. Mit Erreichen der angestrebten Mastendmasse wurden die Bullen mit einer Lebendmasse von 556 kg geschlachtet und die Masse des Schlachtkörpers, der Organe, des Bauchhöhlenfetts sowie die Schlachtausbeute ermittelt und analytisch die Gehalte an SE in Leber, Niere, Muskel und Knochen bestimmt. Mit zunehmender SE-Supplementation zum Kraftfutter konnte sowohl in der Aufzuchtperiode ein signifikant linearer Rückgang der Grasheuaufnahme als auch in der Mastperiode der Maissilageaufnahme beobachtet werden. Zudem verzehrten die Bullen in der höchsten Zulagegruppe signifikant weniger Maissilage im Vergleich zur Kontrollgruppe. Die Kraftfutteraufnahmen zeigten innerhalb der verschiedenen Versuchsperioden zwischen den Gruppen Differenzen, die aber unabhängig von der SE-Supplementation waren. Für die Lebendmassezunahme sowie den Futter- und Energieaufwand konnten in beiden Versuchsperioden keine Unterschiede zwischen den Gruppen festgestellt werden. Infolge der verminderten Futteraufnahme lag die Lebendmassezunahme der SE-supplementierten Tiere in der Aufzuchtperiode numerisch um 2 bis 4 % und in der Mastperiode um 4 bis 5 % unter der Kontrollgruppe. Bezüglich der untersuchten Schlachtparameter konnten mit Ausnahme der

Schlachtausbeute keine weiteren Unterschiede zwischen den Gruppen festgestellt werden. Die Schlachtausbeute der Versuchstiere mit Zulage von 200 mg SE-Citrat/kg T war signifikant höher im Vergleich zu den anderen Versuchsgruppen, was vermutlich auf die längere Mastdauer dieser Gruppe zurückzuführen ist. Unabhängig von der SE-Supplementation konnte in allen untersuchten Matrices SE nachgewiesen werden. Die höchsten Konzentrationen fanden sich in der Leber, die geringsten im Muskelgewebe. Mit steigender SE-Supplementation von Lanthan, Cer und Praseodym kam es in Leber, Niere und Knochen zu einem signifikant linearen Anstieg der SE-Konzentrationen, während im Muskelgewebe die Konzentrationen unbeeinflusst blieben. Die Carry over-Faktoren (als Quotient der ermittelten SE-Konzentration im untersuchten Gewebe und der Konzentration der SE im aufgenommenen Futter) lagen bei den un-supplementierten Tieren höher als bei den supplementierten Tieren und zeigten einen linearen Rückgang mit zunehmender SE-Supplementation. In den Verdaulichkeitsversuchen mit Hammeln wurde infolge der SE-Zulage kein Einfluss auf die Rohnährstoff-verdaulichkeiten beobachtet.

Parallel zur Aufzuchtperiode des Mastversuches wurde eine weitere Studie mit 47 weiblichen Aufzuchtkälbern für einen Zeitraum von ca. 11 Wochen (108 - 182 kg Lebendmasse) durchgeführt. Die Tiere wurden in 4 Versuchsgruppen zu je 11 oder 12 Tieren eingeteilt und erhielten ebenfalls Grassilage und Grasheu zur freien Aufnahme sowie eine rationierte Menge mit SE-Citrat supplementierten Kraftfuttermischungen mit dem Ziel, im Mittel eine Zulage von 0, 100, 200 und 300 mg/kg T SE-Citrat in der Gesamtration zu gewährleisten. Die Futterraufnahme, die Lebendmassezunahme sowie der Futter- und Energieaufwand wurden nicht durch die SE-Supplementation beeinflusst, wobei es auch in diesem Versuch in der am höchsten supplementierten Gruppe zu einer numerisch geringeren Futterraufnahme und verminderten Lebendmassezunahme kam.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass die Gesundheit der Tiere, mit Ausnahme einer verminderten Futterraufnahme, nicht durch die SE-Supplementierung beeinflusst wurde und kein gesundheitliches Risiko für den Verbraucher durch den Verzehr von Fleisch und Organen (Leber, Niere) besteht. Weiterhin wurde kein Einfluss von Alter oder Geschlecht bei den Versuchstieren auf die Auswirkungen einer SE-Supplementation beobachtet. Es zeigte sich allerdings unter den vorliegenden Versuchsbedingungen, dass die Tiere, deren Futter mit SE ergänzt wurde, als Folge der verminderten Futterraufnahme, geringere Wachstumsleistungen aufwiesen. Basierend auf diesen Erkenntnissen sind SE als neuer Futtermittelzusatzstoff in der Ernährung von Kälbern und Mastrindern nicht zu empfehlen.

SUMMARY

Effects of rare earth elements on health and performance of ruminants and carry over of rare earth elements into edible tissue and bones

With an increasing world population the global animal production is not only expected to meet the needs of a growing population but also to protect the available resources. This can only be achieved long-term by increasing the efficiency in animal production. Since antibiotic growth promoters as feed additives have been discussed to be linked to the spread of multi-resistant human and animal pathogens, public pressure caused this substance group to be prohibited in January 2006. This ban was introduced to protect the consumer. As a result, numerous research groups have been trying to find new, safe, effective and affordable feed additives as an alternative to the so-called “feed antibiotic” which are capable of maintaining or even increasing the performance level of livestock. In this context, rare earth elements (REE) have become the focus of interest. Traditionally, REE have been used for decades as growth promoters in Chinese agriculture as well as in animal and plant production. In studies carried out on pigs and poultry under Central-European conditions an improved performance could be proven. Until now there are only a few investigations examining the effects of REE supplementation in ruminants and a possible influence of age and gender has not been investigated. Thus, it was the aim of this work to investigate the influence of different doses of REE on health, feed intake and performance of cattle of different age groups and gender as well as the carry over in edible tissue and bone. In addition, the influence of REE on nutrient digestibility was tested in sheep.

A two-factor feeding trial was carried out using 87 calves (45 female and 42 male animals) of the German Holstein breed, at the age of 9.6 ± 1.8 days. They were divided into two groups (control or REE) and each group was divided in two subgroups according to their gender to determine if possible REE effects were influenced by the gender. Over an investigation period of 44 days, the animals received either the control milk replacer or a supplemented milk replacer containing 200 mg/kg REE-citrate. In addition, hay was offered *ad libitum* and concentrate fed up to a maximum of 1.0 kg per animal and day. Over the whole experimental period, the feed intake was not significantly influenced by the REE-supplementation in the milk replacer, but there was a trend of a REE-related decrease in the concentrate (13.5%) and hay intake (26.3%). Consequently, the daily live weight gain of the treatment group was, with 496 g, less than in the control group with a daily live weight gain of 525 g. Feed- and ME

(metabolisable energy)-to-gain ratio were on a similar level. Moreover, REE supplementation did not positively influence the feed intake and growth when considering the gender as shown by the missing interactions between the experimental factors.

In a subsequent dose response study, 48 fattening bulls of the same breed (119 ± 13 kg live weight) were divided into four groups using different REE-doses (0, 100, 200, 300 mg/kg dry matter, DM). The trial lasted over an average period of 47 weeks, with the first eight weeks being the growing period and the remaining 39 weeks being the fattening period. The fattening period followed directly after the growing period. The animal received grass silage as well as grass hay during the growing period and maize silage during the fattening period. This feed was provided *ad libitum*. Additionally, they received restricted amounts of concentrate supplemented with REE-citrate during both trial periods. The aim was to ensure a supplementation of 0, 100, 200 and 300 mg REE-citrate/kg DM in the total ration. When reaching the target weight, the bulls were slaughtered with a live weight of 556 kg. The mass of the carcass, organs, abdominal fat as well as the dressing percentage were recorded and the contents of REE in the liver, kidney, muscle and bone were analytically determined. With increasing REE-supplementation a significant linear decrease in the intake of grass hay could be observed during the growing period. The intake of maize silage during the fattening period was affected in a similar matter by REE supplementation. In addition, the bulls in the highest dose group consumed significantly less maize silage compared to the control group. REE supplementation did not influence the concentrate intake. Live weight gain and the feed- and ME-to-gain ratio did not differ significantly during both trial periods. As a result of the decreased feed intake, the live weight gain of the REE-supplemented animals was lower compared to the control animals (2-4% in the growing period, 4-5% in the fattening period). Regarding the examined slaughter parameters, with exception of the dressing percentage, no other differences between the groups could be determined. The dressing percentage of the animals supplemented with 200 mg REE-citrate/kg DM was significantly higher compared to the other groups, probably due to the longer fattening duration. Independent from the REE-supplementation, REE residues were detected in all examined tissues. The highest concentrations were found in the liver and the lowest in muscle tissue. With increasing REE-supplementation, the REE-concentration in liver, kidneys and bone increased significantly in a linear manner, while the concentration in the muscle tissue remained unaffected. The carry over-factors (as ratio between the concentration in the tissue examined and the concentration in the feed) were higher in the non-supplemented animals than in the supplemented animals

and showed a linear decrease with increasing REE-supplementation. In the digestibility trials with wethers, REE supplementation failed to influence the nutrient digestibility.

Parallel to the growing period of the fattening trial for approximately 11 weeks a further study with 47 female growing calves (108 - 182 kg live weight) was conducted. The animals were divided into four trial groups of 11 or 12 animals and also received grass silage and grass hay for *ad libitum* consumption as well as a restricted amount with REE-citrate supplemented concentrate with the aim of reaching an average supplementation of 0, 100, 200 and 300 mg REE-citrate/kg DM in the total ration. The feed intake, the live weight gain as well as the feed- and ME-to-gain ratio were not influenced by the REE-supplementation. Nevertheless, in the highest group it came to a numerically decreased feed intake as well as to a reduced live weight gain.

In conclusion, the health of the animals with the exception of a reduced feed intake was not influenced by the REE-supplementation and there is no health risk when consuming meat and organs (liver, kidney) of supplemented animals. Furthermore, the age and gender of the trial animals did not influence the impact of a REE-supplementation. However, under the present experimental conditions, animals supplemented with REE showed less growth as a result of decreased feed intake. Based on these findings, REE are not recommended as new feed additive in the nutrition of calves and fattening cattle.

LITERATURVERZEICHNIS

(zitiert in Einleitung, Literaturübersicht und der übergreifenden Diskussion)

- Adu, O.A., Adeseye, S.A., Adebisi, O.A., Olumide, M.D., Igbasan, F.A. und Alokun, J.A. 2006. Performance of West African dwarf sheep fed diets supplemented with rare earth elements (REE). *Journal of Agriculture, Forestry and the Social Sciences*. 4:166-174.
- Albaaj, F. und Hutchison, A.J. 2005. Lanthanum carbonate for the treatment of hyperphosphataemia in renal failure and dialysis patients. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*. 6:319-328.
- Allen, M.S. 2000. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. *Journal of Dairy Science*. 83:1598-1624.
- Allen, M.S. und Bradford, B.J. 2005. The cow as a model to study food intake regulation. *Annual Review of Nutrition*. 25:523-547.
- Allen, M.S., Bradford, B.J. und Oba, M. 2009. Board-Invited Review: The hepatic oxidation theory of the control of feed intake and its application to ruminants. *Journal of Animal Science*. 87:3317-3334.
- Arvela, P. 1977. Toxicity of Rare-Earths. *Progress in Pharmacology*.:73-112.
- Bahrs, E. 2005. Verhalten und Gesundheitsstatus von Mastbullen auf Gummispaltenboden. Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität München.
- Behets, G.J., Verberckmoes, S.C., D'Haese, P.C. und De Broe, M.E. 2004. Lanthanum carbonate: a new phosphate binder. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension*. 13:403-409.
- Bentz, J., Alford, D., Cohen, J. und Duezguenes, N. 1988. La^{3+} -induced fusion of phosphatidylserine liposomes. Close approach, intermembrane intermediates, and the electrostatic surface potential. *Biophysical Journal*. 53:593-607.
- BfR (Bundesinstitut für Risikobewertung) 2005. BfR entwickelt neues Verzehrsmodell für Kinder, Information Nr.016/2004 des BfR vom 2. Mai 2005 http://www.bfr.bund.de/cm/218/bfr_entwickelt_neues_verzehrsmodell_fuer_kinder.pdf.
- Binder H.H. 1999. Lexikon der chemischen Elemente: Das Periodensystem in Fakten, Zahlen und Daten. S. Hirzel Verlag, Stuttgart, Leipzig.
- Böhme, H., Fleckenstein, J., Hu, Z.Y. und Schnug, E. 2002. Bilanzversuche zum Einsatz von Seltenen Erden in der Schweinemast. in 114 VDLUFA-Kongress Ressourcen und Produktsicherheit-Qualitätssicherung in der Landwirtschaft 255-260.
- Borger, C. 2003. Alternative Methoden in der Schweinemast. Untersuchungen zum leistungssteigernden Potential Seltener Erden und zur Jodanreicherung im Gewebe durch die Verfütterung von Meeresalgen. Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität München.
- Briner, W., Rycek, R.F., Moellenberndt, A. und Dannull, K. 2000. Neurodevelopmental effects of lanthanum in mice. *Neurotoxicology and Teratology*. 22:573-581.
- Brown, P.H., Rathjen, A.H., Graham, R.D. und Tribe, D.E. 1990. Rare earth elements in biological systems. in: Gschneidner, Jr. K.A., Eyring L.R., (Eds.), *Handbook on the physics and chemistry of rare earths*. Amsterdam, Oxford: Elsevier North-Holland Chapter 92, Volume 13:423-452.
- Bulman, R.A. 2003a. Mobilization of Lanthanides through the terrestrial biosphere. in: Sigel, A., Sigel, H. (Eds.), *Metal ions in biological systems: The lanthanides and their interrelations with biosystems*. Marcel Dekker, New York. Volume 40, 39-67.
- Bulman, R.A. 2003b. Metabolism and Toxicity of the Lanthanides. in: Sigel, A., Sigel, H. (Eds.), *Metal ions in biological systems: The lanthanides and their interrelations with biosystems*. Marcel Dekker, New York. Volume 40, 683-706.

- Castor, S.B. und Hedrick, J.B. 2006. Rare earth elements. in: Kogel, J.E., Trvedi, N.C., Barker, J.M., und Krukowski, S.T. (Eds.), *Industrial minerals and rocks*, 7th edition. Society for Mining, Metallurgy, and Exploration. 769-792.
- Chen, A., Shi, Q., Feng, J., Ouyang, Y., Chen, Y. und Tan, S. 2010. Dissociation of outer membrane for *Escherichia coli* cell caused by cerium nitrate. *Journal of Rare Earths*. 28:312-315.
- Cheng, Z., Li, N., Cheng, J., Hu, R., Gao, G., Cui, Y., Gong, X., Wang, L. und Hong, F. 2012. Signal pathway of hippocampal apoptosis and cognitive impairment of mice caused by cerium chloride. *Environmental Toxicology*. 27:707-718.
- Cochran, K.W., Daull, J., Mazur, M. und DuBois, K.P. 1950. Acute toxicity of zirconium, columbium, strontium, lanthanum, cesium, tantalum and yttrium. *Archives of Industrial Hygiene and Occupational Medicine*. 1:637-650.
- Damment, S.J.P., Beevers, C. und Gatehouse, D.G. 2005. Evaluation of the potential genotoxicity of the phosphate binder lanthanum carbonate. *Mutagenesis*. 20:29-37.
- Damment, S.J.P. und Pennick, M. 2007. Systemic lanthanum is excreted in the bile of rats. *Toxicology Letters*. 171:69-77.
- De Broe, M.E. und D'Haese, P.C. 2004. Improving outcomes in hyperphosphataemia. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 19:14-18.
- Deutscher Bauernverband. 2013. Situationsbericht 6. Erzeugung und Märkte 6.4. Tierische Erzeugung. <http://www.bauernverband.de/Situationsbericht-2013>.
- Dibner, J.J. und Richards, J.D. 2005. Antibiotic growth promoters in agriculture: History and Mode of Action. *Poultry Science*. 84 634-643.
- Durbin, P.W., Williams, M.H., Gee, M., Newman, R.H. und Hamilton, J.G. 1956. Metabolism of the lanthanons in the rat. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*. Society for Experimental Biology and Medicine (New York, N.Y.). 91:78-85.
- Eapen, J.T., Kartha, C.C., Rathinam, K. und Valiathan, M.S. 1996. Levels of cerium in the tissues of rats fed a magnesium-restricted and cerium-adulterated diet. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 56:178-182.
- Eisele, N. 2003. Untersuchungen zum Einsatz Seltener Erden als Leistungsförderer beim Schwein, Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität München.
- Evans C.H. 1990. *Biochemistry of the lanthanides*. Plenum, Press New York.
- Fan, G.Q., Yuan, Z.K., Zheng, H.L. und Liu, Z.J. 2004. Study on the effects of exposure to rare earth elements and health-responses in children aged 7-10 years. *Journal of Hygiene Research*. 33:23-28.
- Fei, M., Li, N., Ze, Y., Liu, J., Gong, X., Duan, Y., Zhao, X., Wang, H. und Hong, F. 2011. Oxidative stress in the liver of mice caused by intraperitoneal injection with lanthanoids. *Biological Trace Element Research*. 139:72-80.
- Feng, J., Li, X., Pei, F., Chen, X., Li, S. und Nie, Y. 2002. ¹H NMR Analysis for metabolites in serum and urine from rats administered chronically with La(NO₃)₃. *Analytical Biochemistry*. 301:1-7.
- Feng, L.X., Xiao, H.Q., He, X., Li, Z.J., Li, F.L., Liu, N.Q., Chai, Z.F., Zhao, Y.L. und Zhang, Z.Y. 2006a. Long-term effects of lanthanum intake on the neurobehavioral development of the rat. *Neurotoxicology and Teratology*. 28:119-124.
- Feng, L.X., Xiao, H.Q., Li, Z.J., Liu, N.Q., Chai, Z.F., Zhao, Y.L., Huang, Y.Y., He, W. und Zhang, Z.Y. 2007a. Element distribution in the brain of rats exposed to lanthanum measured by synchrotron radiation X-ray fluorescence. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*. 272:333-337.
- Feng, L., He, X., Xiao, H., Li, Z., Li, F., Liu, N., Chai, Z., Zhao, Y. und Zhang, Z. 2007b. Ytterbium and trace element distribution in brain and organic tissues of offspring rats after prenatal and postnatal exposure to ytterbium. *Biological Trace Element Research*. 117:89-104.

- Feng,L., Xiao,H., He,X., Li,Z., Li,F., Liu,N., Zhao,Y., Huang,Y., Zhang,Z. und Chai,Z.2006b.Neurotoxicological consequence of long-term exposure to lanthanum. *Toxicology Letters*.165:112-120.
- Finkenzeller, P.,2011.Ein Feldversuch zur Wirksamkeit Seltener Erden bei Mastscheinen. Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität München.
- Fleckenstein,J., Halle,I., Hu,Z.Y., Flachowsky,G. und Schnug,E.2004.Analyse von Lanthaniden mittels ICP-MS in Futter- und Organproben im Broilermastversuch. in: 22. Arbeitstagung Mengen und Spurenelemente.981-986.
- Förster,D., Berk,A., Hoppen,H.O., Rambeck,W.A. und Flachowsky,G.2008.A note on the effect of rare earth elements on the performance and thyroid hormone status of rearing piglets. *Journal of Animal and Feed Sciences*.17:70-74.
- Franzke, T.,2007.Untersuchungen zur leistungsfördernden Wirkung sowie zum Einfluss auf ausgewählte Stoffwechselfparameter von Seltenen Erden an Ratten und Broilern. Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität München.
- Fricker,S.P.2006.The therapeutic application of lanthanides. *Chemical Society Reviews*.35:524-533.
- Funakoshi,T., Furushima,K., Shimada,H. und Kojima,S.1992.Anticoagulant action of rare earth metals. *Biochemistry International*.28:113-119.
- Garner,J.P. und Heppell,P.S.J.2005.Cerium nitrate in the management of burns. *Burns*.31:539-547.
- Gebert,S., Caletka-Fritz,A. und Wenk,C.2005.Rare earth elements as alternative growth promoters for pigs. in: 10. Symposium Vitamine und Zusatzstoffe in der Ernährung von Mensch und Tier. 429-432.
- Geschneidner K.A.Jr. und Eyring L.R.1978.Handbook on the physics and chemistry of rare earths.North Holland Elsevier Science Publishers BV, Amsterdam, Oxford, New York, Tokyo.
- Glbasnia-Kreppold, K.,2008.Untersuchungen zur Verträglichkeit Seltener Erden beim Ferkel. Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität München.
- Grajewski,O., Lehmann,B., Arntz,H.R., Arvela,P. und Oberdisse,E.1977.Alterations of rat serum lipoproteins and lecithin-cholesterol-acyltransferase activity in praseodymium-induced liver damage. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*.301:65-73.
- Greenwood, N.N. und Earnshaw,A., 1988.Chemie der Elemente Wiley-VCH-Verlag.
- Haley,T.J.1965.Pharmacology and toxicology of the rare earth elements. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 54:663-670.
- Haley,T.J.1979.Toxicity. in: Gschneidner,Jr.K.A., Eyring L.R.,(Eds.), Handbook on the physics and chemistry of rare earths. Amsterdam, Oxford: Elsevier North-Holland Chapter 40, Volume 4: 553-585.
- Halle,I., Fleckenstein,J., Hu,Z.Y., Flachowsky,G. und Schnug,E.2002.Untersuchungen zum Einfluss von Seltenen Erden auf das Wachstum und die Schlachtleistung von Broilern. in: 114. VDLUFA-Kongress Ressourcenschutz und Produktsicherheit-Qualitätssicherung in der Landwirtschaft. 261-264.
- Halle,I., Fleckenstein,J., Hu,Z.Y., Flachowsky,G. und Schnug,E.2003.Untersuchungen zum Einfluss von Seltenen Erden auf das Wachstum und die Ganzkörperzusammensetzung von Broilern. in: 9. Symposium Vitamine und Zusatzstoffe in der Ernährung von Mensch und Tier. 376-379.
- He,M.L. und Rambeck,W.A.2000.Rare earth elements - A new generation of growth promoters for pigs? *Archives of Animal Nutrition*.53:323-334.
- He,M.L., Ranz,D. und Rambeck,W.A.2001.Study on the performance enhancing effect of rare earth elements in growing and fattening pigs. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*.85:263-270.

- He, M.L., Wang, Y.Z., Xu, Z.R., Chen, M.L. und Rambeck, W.A. 2003. Effect of dietary rare earth elements on growth performance and blood parameters of rats. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 87:229-235.
- He, M.L., Wehr, U. und Rambeck, W.A. 2010. Effect of low doses of dietary rare earth elements on growth performance of broilers. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 94:86-92.
- He, M.L., Yang, W.Z., Mir, P.S. und McAllister, T.A. 2009. Effect of rare earth elements on mitogen-induced proliferation of splenocytes of Wistar rats. *Canadian Journal of Animal Science*. 89:172.
- He, R. und Xia, Z. 1998. Effect of rare earth compound added to diet on performance of growing-finishing pigs. in: 2. International Symposium on Trace Elements and Food Chain.
- He, X., Zhang, Z., Zhang, H., Zhao, Y. und Chai, Z. 2008. Neurotoxicological evaluation of long-term lanthanum chloride exposure in rats. *Toxicological Sciences*. 103:354-361.
- Henderson P. 1984. *The rare earth element geochemistry*. Elsevier, Amsterdam, New York.
- Heseker, H., Oepping, A., Vohmann, C. 2003. Verzehrsstudie zur Ermittlung der Lebensmittelaufnahme von Säuglingen und Kleinkindern für die Abschätzung eines akuten Toxizitätsrisikos durch Rückstände von Pflanzenschutzmitteln (VELS). Forschungsbericht im Auftrag des Bundesministeriums für Verbraucherschutz, Ernährung und Landwirtschaft, Universität Paderborn.
- Hirano, S. und Suzuki, K.T. 1996. Exposure, metabolism, and toxicity of rare earths and related compounds. *Environmental Health Perspectives*. 104:85-95.
- Inaba, J. und Lengemann, F.W. 1972. Intestinal uptake and whole-body retention of ^{141}Ce by suckling rats. *Health Physics*. 22:169-175.
- Jakupec, M.A., Unfried, P. und Keppler, B.K. 2005. Pharmacological properties of cerium compounds. *Reviews of physiology, biochemistry and pharmacology*. 153:101-111.
- Ji, Y. 1990. Toxicological study on safety evaluation of rare earths used in agriculture. *Chinese Journal of Rare Earth Elements*. 1:4-10.
- Ji, Y. und Cui, M. 1988. Toxicological studies on safety of rare earth used in agriculture. *Biomedical and Environmental Sciences*. 1:270-276.
- Ji, Y., Cui, M., Wang, Y. und Zhang, X. 1985. Toxicological study on safety evaluation of rare earth elements used in agriculture. in: Xu, G. und Xiao, J. (Eds.) *New frontiers in rare earth science and applications, Proceedings of the 1. international conference on rare earth development and applications*. 700-704.
- Jouany, J.-P. und Morgavi D. P. 2007. Use of 'natural' products as alternatives to antibiotic feed additives in ruminant production. *Animal*. 1:1443-1466.
- Kalix, P. 1971. Uptake and release of calcium in rabbit vagus nerve. *Pflügers Archiv European Journal of Physiology*. 326:1-14.
- Kamphues, J. 1999. Leistungsförderer mit antibiotischer Wirkung aus der Sicht der Tierernährung. *Berliner Münchener Tierärztliche Wochenschrift*. 112:370-379.
- Kanazawa, Y. und Kamitani, M. 2006. Rare earth minerals and resources in the world. *Journal of Alloys and Compounds*. 408-412:1339-1343.
- Kawagoe, M., Hirasawa, F., Cun Wang, S., Liu, Y., Ueno, Y. und Sugiyama, T. 2005. Orally administered rare earth element cerium induces metallothionein synthesis and increases glutathione in the mouse liver. *Life Sciences*. 77:922-937.
- Kawagoe, M., Ishikawa, K., Wang, S.C., Yoshikawa, K., Arany, S., Zhou, X.P., Wang, J.S., Ueno, Y., Koizumi, Y., Kameda, T., Koyota, S. und Sugiyama, T. 2008. Acute effects on the lung and the liver of oral administration of cerium chloride on adult, neonatal and fetal mice. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 22:59-65.
- Kessler, J. 2004. Lanthanoide- Wachstumsförderer mit Zukunft? in: *Schweinehaltung*

- Knebel, C., 2004. Untersuchungen zum Einfluss Seltener Erd-Citrate auf Leistungsparameter beim Schwein und die ruminale Fermentation im künstlichen Pansen (Rusitec). Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität, München.
- Kobayashi, S., 1999. Lanthanides: Chemistry and use in organic synthesis. Verlag Springer
- Kostial, K., Kargacin, B. und Landeka, M. 1989. Gut retention of metals in rats. *Biological Trace Element Research*. 21:213-218.
- Kraatz, M., Taras, D., Manner, K. und Simon, O. 2006. Weaning pig performance and faecal microbiota with and without in-feed addition of rare earth elements. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 90:361-368.
- Kraft, W. und Dürr, U.M. 2005. *Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin*. Schattauer Verlag, Stuttgart, New York.
- Krause, M.G.F. 2005. Aktuelle Erhebung der Beanstandungsgründe bei der Fleischuntersuchung bei Rindern in Deutschland. Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität München.
- Kyker, G.C. und Cress, E.A. 1957. Acute toxicity of yttrium, lanthanum and other rare earths. *AMA Archives of Industrial Health*. 16:475-479.
- Kyker, G.C., Cress, E.A., Sivaramakrishnan, V.M., Steffee, C.H. und Stewart, M. 1957. Fatty infiltration due to rare earths. *Fed Proc*. 16:207.
- Lansdown, A.B.G., Myers, S.R., Clarke, J.A. und O'Sullivan, P. 2003. A reappraisal of the role of cerium in burn wound management. *Journal of wound care*. 12:113-118.
- Liu, J., Li, N., Ma, L., Duan, Y., Wang, J., Zhao, X., Wang, S., Wang, H. und Hong, F. 2010. Oxidative injury in the mouse spleen caused by lanthanides. *Journal of Alloys and Compounds*. 489:708-713.
- Liu, Q., Wang, C., Huang, Y., Dong, K.H., Yang, W.Z. und Wang, H. 2008. Effects of lanthanum on rumen fermentation, urinary excretion of purine derivatives and digestibility in steers. *Animal Feed Science and Technology*. 142:121-132.
- Loell, M., Reiher, W. und Felix-Henningsen, P. 2011. Contents and bioavailability of rare earth elements in agricultural soils in Hesse (Germany). *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 174:644-654.
- Lu, K.W. und Yang, W.Z. 1996. Effects of rare earth elements on availability of energy and amino acids in broilers. *Acta Agriculturae Shanghai*. 12:78-82.
- Magnusson, G. 1963. The behavior of certain lanthanons in rats. *Acta Pharmacologica et Toxicologica*. 20:1-95.
- Meyer, U., Spolders, M., Rambeck, W. und Flachowsky, G. 2006. Effect of dietary rare earth elements on growth performance of preruminant female Holstein calves. *Proceedings of the Society of Nutrition Physiology*. 15:67.
- Meyer, U., Schwabe, A., Dänicke, S. und Flachowsky, G. 2010. Effects of by-products from biofuel production on the performance of growing fattening bulls. *Animal Feed Science and Technology*. 161:132-139.
- Meyer, U., Weigel, K., Schöne, F., Leiterer, M. und Flachowsky, G. 2008. Effect of dietary iodine on growth and iodine status of growing fattening bulls. *Livestock Science*. 115:219-225.
- Miller, T., 2006. Einfluss Seltener Erden in der Schweine- und Kälbermast. Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität München.
- Ming, Y.H., Xiu, Z.H., Ming, H.X. und Yuan, L.S. 1995. Production and physiological effect of rare earth complex added to growing pig diet. *Proceedings of the 3. international conference on rare earth development and applications*:452-455.
- Mraz, F.R. und Eisele, G.R. 1977. Gastrointestinal absorption and distribution of ¹⁴⁴Ce in the suckling pig. *Health Physics*. 33:494-495.
- Max Rubner-Institut (MRI) 2008. Nationale Verzehrsstudie II (NVS II), Ergebnisbericht 1, 2. <http://www.was-esse-ich.de/>

- Muroma,A.1958.Studies on the bactericidal action of salts of certain rare earth metals. *Annales medicinae experimentalis et biologiae fenniae*.36:1-54.
- Nakamura,Y., Tsumura Hasegawa,Y., Tonogai,Y., Kanamoto,M., Tsuboi,N., Murakami,K. und Ito,Y.1991.Studies on the biological effects of rare earth elements. II. Distribution and the histological effects of dysprosium, europium, ytterbium and yttrium in the rat after intravenous administration. *Eisei Kagaku*.37:489-496.
- Nakamura,Y., Tsumura,Y., Tonogai,Y., Shibata,T. und Ito,Y.1997.Differences in behavior among the chlorides of seven rare earth elements administered intravenously to rats. *Fundamental and Applied Toxicology*.37:106-116.
- Oba,M. und Allen,M.S.2003.Intraruminal infusion of propionate alters feeding behavior and decreases energy intake of lactating dairy cows. *Journal of Nutrition* 133:1094-1099.
- Ou,X., Guo,Z. und Wang,J.2000.The effects of rare earth element additive in feed on piglets. *Livestock and Poultry Industry*.4:21-22.
- Palasz,A. und Czekaj,P.2000.Toxicological and cytophysiological aspects of lanthanides action. *Acta Biochimica Polonica*.47:1107-1114.
- Peng,L., Yi,L., Zhexue,L., Juncheng,Z., Jiabin,D., Daiwen,P., Ping,S. und Songsheng,Q.2004. Study on biological effect of La^{3+} on *Escherichia coli* by atomic force microscopy. *Journal of Inorganic Biochemistry*.98:68-72.
- Pennick,M., Dennis,K. und Damment,S.J.P.2006.Absolute bioavailability and disposition of lanthanum in healthy human subjects administered lanthanum carbonate. *Journal of Clinical Pharmacology*.46:738-746.
- Pithua,P., Wells,S.J., Godden,S.M. und Raizman,E.A.2009.Clinical trial on type of calving pen and the risk of disease in Holstein calves during the first 90 d of life. *Preventive Veterinary Medicine*.89:8-15.
- Prause, B.,2006.The impact of rare earth elements on growth, energy-, carbon- and nitrogen balance of piglets. Dissertation,Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich.
- Prause,B., Gebert,C., Wenk,C., Rambeck,W.A. und Wanner,M.2004.Seltene Erden-alternativer Leistungsförderer beim Schweim- ein Überblick und erste Ergebnisse eines Gesamtstoffwechselfersuches. in: 3.Boku-Symposium Tierernährung Fütterungsstrategien und Produktqualität: 38-44.
- Qiu,G.M., Li,W., Li,X.K., Zhou,W. und Yang,C.S.2005.Biological intelligence of rare earth elements in animal cells. *Journal of Rare Earths*.23:554-573.
- Rademacher,G.2000.Kälberkrankheiten: Ursachen und Früherkennung Neue Wege für Vorbeugung und Behandlung. Ulmer Eugen Verlag.
- Rambeck,W. und Wehr,U.2005.Use of rare earth elements as feed additives in pig production. *Pig News and Information*.26:41N-47N.
- Rambeck,W.A., He,M.L., Chang,J., Arnold,R., Henkelmann,R. und Süss,A.1999.Possible role of rare earth elements as growth promoters. in: 7. Symposium Vitamine und Zusatzstoffe in der Ernährung von Mensch und Tier 311-317.
- Recht, J.,2005.Einfluss Seltener Erden in Verbindung mit phytogenen Zusatzstoffen auf Leistungsparameter beim Ferkel. Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität München.
- Redling, K.,2006.Rare earth elements in agriculture with emphasis on animal husbandry. Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität München.
- Reimer,P. und Vosschenrich,R.2004.Kontrastmittel in der MRT. Substanzen, Wirkungen, Pharmakologie und Zulassung. *Der Radiologe*.44:273-283.
- Renard, B.,2005.Seltene Erden als Leistungsförderer in der Fischzucht Untersuchungen an Regenbogenforellen und Karpfen. Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität München.

- Renaud,G., Soler-Argilaga,C., Rey,C. und Infante,R.1980.Free fatty acid mobilization in the development of cerium-induced fatty liver. *Biochemical and Biophysical Research Communications*.92:374-380.
- Renner,L., Schwabe,A., Döll,S., Höltershinken,M. und Dänicke,S.2011.Effect of rare earth elements on beef cattle growth performance, blood clinical chemical parameters and mitogen stimulated proliferation of bovine peripheral blood mononuclear cells in vitro and ex vivo. *Toxicology Letters*.201:277-284.
- Riedel,E. und Janiak,C.2007.*Anorganische Chemie*.Walter de Gruyter GmbH & Co. KG,Berlin.
- Ruming,Z., Yi,L., Zhixiong,X., Ping,S. und Sonsheng,Q.2002.Microcalorimetric study of the action of Ce (III) ions on the growth of E.coli. *Biological Trace Element Research*.86:167-175.
- Sarkander,H.I. und Brade,W.P.1976.On the mechanism of lanthanide-induced liver toxicity. *Archives of Toxicology*.36:1-17.
- Schöne, I.,2009.Untersuchungen zur Wirksamkeit von Seltenen Erden beim Ferkel und Darstellung der gesetzlichen Grundlagen hinsichtlich der Zulassung von Futtermittelzusatzstoffen. Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität München.
- Schuller, S.,2001.Seltene Erden als Leistungsförderer beim Geflügel. Untersuchungen an Broilern und Japanischen Wachteln. Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität München.
- Schuller,S., Borger,C., He,M.L., Henkelmann,R., Jadamus,A., Simon,O. und Rambeck,W.A.2002.Studies on the effect of rare earth elements as a possible alternative growth promoter for pigs and poultry. *Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift*.115:16-23.
- Schumann,B., Dänicke,S., Meyer,U., Ueberschär,K.H. und Breves,G.2007.Effects of different levels of ergot in concentrates on the growing and slaughtering performance of bulls and on carry-over into edible tissue. *Archives of Animal Nutrition*.61:357-370.
- Schwabe,A., Meyer,U. und Flachowsky,G.2009.Effect of dietary rare earth elements (REE) on growth performance of fattening bulls. *Proceedings of the Society of Nutrition Physiology*.18:45.
- Schwabe,A., Meyer,U., Grün,M. und Flachowsky,G.2008.Effect of rare earth elements (REE) supplementation on the REE content of tissues and organs in fattening bulls. *Proceedings of the Society of Nutrition Physiology*.17:79.
- Snyder,F., Cress,E.A. und Kyker,G.C.1960.Rare-Earth Fatty Liver. *Nature*.185:480-481.
- Snyder,F., Cress,E.A. und Kyker,G.C.1959.Liver lipid response to intravenous rare earths in rats. *Journal of Lipid Research*.1:125-131.
- Sobek,J.M. und Talburt,D.E.1968.Effects of the rare earth cerium on escherichia coli. *Journal of Bacteriology*.95:47-51.
- Somers,J.G.C.J., Frankena,K., Noordhuizen-Stassen,E.N. und Metz,J.H.M.2003.Prevalence of claw disorders in dutch dairy cows exposed to several floor systems. *Journal of Dairy Science*.86:2082-2093.
- Song,Z., Zhao,G., Zhang,X. und Li,S.2005.The mechanism of the rare earths and safety of their application as feed additive. *China Feed*.10:24-25.
- Stalljohann,G., Patzelt,S., Rambeck,W. und Wehr,U.2006.Rare earths (REE) tested in piglet rearing. in: 9. Tagung Schweine- und Geflügelernährung, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg:161-162.
- Sullivan,M.F., Miller,B.M. und Goebel,J.C.1984.Gastrointestinal absorption of metals (⁵¹Cr, ⁶⁵Zn, ^{95m}Tc, ¹⁰⁹Cd, ¹¹³Sn, ¹⁴⁷Pm, and ²³⁸Pu) by rats and swine. *Environmental Research*.35:439-453.

- Sullivan,M.F., Ruemmler P.S., Ryan J.L. und Buschbom R.L.1986.Influence of oxidizing or reducing agents on gastrointestinal absorption of U, Pu, Am, Cm and Pm by rats. *Health Physics*.50:223-232.
- Thio,T., Gygax,L., Friedli,K., Mayer,C. und Ossent,P.2005.Einfluss von gummimodifizierten Spaltenböden auf die Klauengesundheit von Mastbullen. *Tierärztliche Praxis*.33:77-84.
- Tian,Q., Bai,C., Li,G. und Wang,Y.1992.The study on toxicity of active rare earth chloride in rats. *Journal of Health Toxicology*.6:32-34.
- Toritsuka,N., Daimon,H., Sawada,S., Sagami,F., Tirone,P., Morisetti,A., Bussi,S. und Fassio,F.1999.Mutagenicity study of gadobenate dimeglumine formulation (E7155) (3)-Micronucleus test in rat bone marrow cells. *The Journal of Toxicological Sciences*.24:103-106.
- Triggle,C.R. und Triggle,D.J.1976.An analysis of the action of cations of the lanthanide series on the mechanical responses of guinea-pig ileal longitudinal muscle. *The Journal of Physiology*.254:39-54.
- Tyler,G.2004.Rare earth elements in soil and plant systems - A review. *Plant and Soil*.267:191-206.
- van Gemmeren H.,2008.Untersuchungen zum Effekt Seltener Erden auf Gewichtsentwicklung sowie Organ- und Serumparameter bei wachsenden Ratten. Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität, München.
- Venugopal B. und Luckey, T.D.1978.Metal toxicity in mammals.Plenum Press,New York.
- Verordnung (EG) Nr. 1831/2003 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 22. September 2003 über Zusatzstoffe zur Verwendung in der Tierernährung ABI. L 268 vom 18.10.2003: 29-43.
- Verordnung (EG) Nr.163/2008 der Kommission vom 22. Februar 2008 zur Zulassung der Zubereitung von Lanthanarbonat-Octahydrat (Lantharenol) als Futtermittelzusatzstoff ABI L50 vom 23.02.2008: 3-5.
- Wald,P.H.1990.A review of the literature on the toxicity of rare earth metals as it pertains to the engineering demonstration system surrogate testing. Lawrence Livermore National Laboratory, VCID.:1-27.
- Wang,M.Q. und Xu,Z.R.2003.Effect of supplemental lanthanum on the growth performance of pigs. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*.16:1360-1363.
- Weber,M., Stenzel,P., Rambeck,W.A. und von Rosenberg,S.2010.Einsatz von Seltenen Erden in der Ferkelfütterung. in: 11. Tagung Schweine- und Geflügelernährung, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg: 148-150.
- Weiss,G.B.1974.Cellular pharmacology of lanthanum. *Annual Review of Pharmacology*.14:343-354.
- Weiss,G.B. und Goodman,F.R.1969.Effects of lanthanum on contraction, calcium distribution and Ca⁴⁵ movements in intestinal smooth muscle. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*.169:46-55.
- Weiß J., Pabst, W., Strack, K.E., und Granz, S.2005.Tierproduktion.Georg Thieme Verlag.
- Wenk,C.2005.Einsatz von Kräutern und deren Extrakten in der Tierernährung:Erwartungen und Möglichkeiten. in: 4. Boku-Symposium Tierernährung Tierernährung ohne antibiotische Leistungsförderer: 17-27.
- Xiao,H.Q., Li,F.L., Zhang,Z.Y., Feng,L.X., Li,Z.J., Yang,J.H. und Chai,Z.F.2005a. Distribution of ytterbium-169 in rat brain after intravenous injection. *Toxicology Letters*.155:247-252.
- Xiao,H., Zhang,Z., Li,F., Feng,L., Li,Z., Yang,J. und Chai,Z.2005b.Accumulation and distribution of samarium-153 in rat brain after intraperitoneal injection. *Biological Trace Element Research*.104:33-40.

- Xie,J. und Wang,Z.1998.The effect of organic rare-earth compounds on production performance of chicken. in 2nd International Symposium on Trace Elements and Food Chain,:74.
- Xu,X., Xia,H., Rui,G., Hu,C. und Yuan,F.2004.Effect of lanthanum on secretion of gastric acid in stomach of isolated mice. *Journal of Rare Earths*.22:427.
- Xu,Z., Chen,L. und Wang,M.1998.Effect of lanthanum on growth, digestion and carcass composition of growing pigs. *Journal of Zhejiang Agricultural University*.24:395-397.
- Xu,Z., Wang,M. und Chen,L.1999.Growth response of pigs fed supplemental lanthanum and approach of mechanism. *Journal of the Chinese Rare Earth Society*.17:53-59.
- Yang,H., Zhang,W., Cheng,H., Zhang,H. und Zhu,Y.2005.Effect of supplementing rare-earth complex compound with fumaric in ration on liveweight gain of yellow hybrid broiler. *Chinese Qinghai Journal of Animal and Veterinary Sciences*.35:7-8.
- Yang,J., Liu,Q., Zhang,L., Wu,S., Qi,M., Lu,S., Xi,Q. und Cai,Y.2009a.Lanthanum chloride impairs memory, decreases pCaMK IV, pMAPK and pCREB expression of hippocampus in rats. *Toxicology Letters*.190:208-214.
- Yang,W.Z., Laarman,A., He,M.L. und Liu,Q.2009b.Effect of rare earth elements on in vitro rumen microbial fermentation and feed digestion. *Animal Feed Science and Technology*.148:227-240.
- Zhang,H., Feng,J., Zhu,W., Liu,C. und Gu,J.2000a.Bacteriostatic effects of cerium-humic acid complex. An experimental study. *Biological Trace Element Research*.73:29-36.
- Zhang,H., Feng,J., Zhu,W., Liu,C., Wu,D., Yang,W. und Gu,J.2000b.Rare-earth element distribution characteristics of biological chains in rare-earth element-high background regions and their implications. *Biological Trace Element Research*.73:19-27.
- Zhang,H., Feng,J., Zhu,W., Liu,C., Xu,S., Shao,P., Wu,D., Yang,W. und Gu,J.2000c.Chronic toxicity of rare-earth elements on human beings. *Biological Trace Element Research*.73:1-17.
- Zhang P., Yang, Z., Tao, K., und Yang, X.1995.Mineralogy and geology of rare earths in China.Science Press,Beijing, China.
- Zhu,W., Xu,S., Shao, P., Zhang,H., Wu,D., Yang,W. und Feng,J.1997a.Bioelectrical activity of the central nervous system among populations in a rare earth element area. *Biological Trace Element Research*.57:71-77.
- Zhu,W.F., Xu,S.Q., Zhang,H., Shao,P.P., Wu,D.S. und Yang,W.J.1996.Investigation of children intelligence quotient in REE mining area-I. Bio-effect study of REE mining area in South Jiangxi. *Chinese Science Bulletin*.41:914-916.
- Zhu,W., Xu,S., Shao,P., Zhang,H., Wu,D., Yang,W., Feng,J. und Feng,L.2005.Investigation on liver function among population in high background of rare earth area in South China. *Biological Trace Element Research*.104:1-7.
- Zhu,W., Xu,S., Wu,D., Shao,P., Yang,W., Zhang,H. und Feng,J.1997b.Investigation on arteriosclerosis among population in a rare earth area in South China. *Biological Trace Element Research*.59:93-98.
- Zohravi, M.,2007.The effect of rare earth elements on growth performance, tibia mineralization and blood serum of Japanese quails. Dissertation, Ludwig-Maximilian-Universität München.

LEBENS LAUF

Annett Brandl-Schwabe
geb. Schwabe
geboren am 26.11.1978
in Halle/Saale, Deutschland

September 1991 - Juli 1998	Gymnasium im Bildungszentrum Halle/Neustadt Deutschland Abschluss: Abitur
August 1998 - Juni 2000	Berufsausbildung zur Arzthelferin Halle/Saale Deutschland Abschluss: staatlich geprüfte Arzthelferin
Oktober 2000 - August 2006	Studium der Ökotrophologie, Hochschule Anhalt (FH) Bernburg, Deutschland Abschluss: Dipl.-oec.troph.(FH)
Dezember 2006 - Juni 2012	Gastwissenschaftler im Institut für Tierernährung, Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit, Friedrich-Loeffler-Institut, Braunschweig, Deutschland

EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG

Ich erkläre an Eides statt, dass ich die Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst, keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt und die den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Halle/Saale, den 27.10.2014

Annett Brandl-Schwabe

DANKSAGUNG

An dieser Stelle möchte ich mich bei all denen bedanken, die mich im Laufe meiner Promotionszeit begleitet und mir sowohl bei der Durchführung als auch bei der Erarbeitung meiner Dissertation hilfreich zur Seite standen und ohne deren Hilfe die Anfertigung der Arbeit in dieser Form nicht möglich gewesen wäre.

Ein ganz besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Dr. S. Dänicke für die vielen wertvollen wissenschaftlichen Anregungen, die maßgeblich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben. Weiterhin danke ich ihm für seine stets freundliche und verständnisvolle Betreuung während der Anfertigung dieser Dissertation und seiner Geduld während der letzten Jahre bis zur Fertigstellung dieser Arbeit.

Ebenso ganz herzlich danke ich Herrn Dr. Ulrich Meyer für seine Betreuung, die angenehme und wissenschaftliche Begleitung sowie das entgegengebrachte Vertrauen. Außerdem möchte ich mich an dieser Stelle auch für seine Offenheit, seinen Zuspruch und die aufmunternden Gespräche bedanken.

Bei Herrn Prof. Dr. G. Flachowsky bedanke ich mich für die Überlassung des Themas und die Möglichkeit diese Arbeit am Institut für Tierernährung in Braunschweig durchführen zu können sowie für die kritische Durchsicht meiner Manuskripte.

Frau Prof. Dr. G. Stangl und Herrn Prof. Dr. M. Wähler danke ich für die Erstellung des Erst- bzw. Drittgutachtens.

Gedankt sei auch der H.W. Schaumann-Stiftung und der Gesellschaft der Freunde des vTI für die finanzielle Unterstützung dieser Arbeit.

Weiterhin möchte ich mich bei den gesamten Mitarbeitern des Instituts für Tierernährung in Braunschweig für die tatkräftige Unterstützung und die Hilfe bedanken, ob im Stall, im Schlachthaus oder im Labor. Ein großes Dankeschön geht dabei vor allem an Katrin Kuhrmeier, Matthias Klein, Andreas Thies und Heino, welche mir stets eine große Hilfe in dieser Zeit waren.

Allen Doktoranden und Diplomanden der Tierernährung danke ich für jegliche Unterstützung während der Versuchsdurchführung, für die bereichernden Diskussionen, die moralische Unterstützung in Notlagen aber auch für die zahlreichen Aktivitäten und intensiven Feiern, die mir diese Zeit am Institut besonders wertvoll erscheinen lassen. Ein besonderes Dankeschön geht dabei an meine Mitdoktorandin und neu dazu gewonnene Freundin Julia für ihre Unterstützung und Hilfe in allen Lebenslagen. Ein großes Danke geht auch an Christina für die Englisch-Korrekturen.

Schließlich von ganzem Herzen möchte ich meinen Eltern und meiner Oma danken, die mich während der ganzen Zeit unterstützen und an mich glaubten und mir so die nötige Zuversicht und Kraft gaben. Meinem Schwager Thomas danke ich für seine Hilfe in den letzten Phasen meiner Promotion. Meinem Mann Christian gilt ein ganz besonders lieber Dank für seine stete Geduld, Motivation und uneingeschränkten Rückhalt.