

Institut für Ernährungs- und Lebensmittelwissenschaften

**Untersuchung über die Art und Höhe des Seleneintrages
in Milch- und Getreideprodukte durch
Selen-Flüssig-Blattapplikation**

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung des Grades

Doktor-Ingenieur (Dr.-Ing.)

der

Hohen Landwirtschaftlichen Fakultät

der

Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität

zu Bonn

vorgelegt am 26.04.2005

von

Lothar Schloske

aus

Pulheim

Angefertigt mit Genehmigung der Landwirtschaftlichen Fakultät
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

1. Referent : PD Dr. Friedhelm Marx
 2. Referent : Prof. Dr. Johannes Krämer
- Tag der mündlichen Prüfung: 26.10.2005

Diese Dissertation ist auf dem Hochschulschriftenserver der ULB Bonn
http://hss.ulb.uni-bonn.de/diss_online elektronisch publiziert.

Erscheinungsjahr: 2005

Abstract

Am Anfang dieser Arbeit stand die Entwicklung eines Verfahrens der Hydrid-Atomabsorptionsspektrometrie (HG-AAS), um auf ihren Selengehalt zu untersuchende Proben schnell und zuverlässig analysieren zu können. Dazu wurde eine Methode entwickelt, die es erstmalig erlaubt, sämtliche vorbereitenden Arbeitsschritte komplett und geschlossen in einer Mikrowelle auszuführen. Mittels dieser Selenanalytik wurde nun untersucht, wie sich mit Hilfe der Flüssig-Blattapplikation das essentielle Spurenelement Selen schon zu Anfang der Nahrungskette einfach und gut dosierbar in diese einbringen lässt und somit von Beginn an die positiven Effekte des Selens in allen Stufen zum Tragen kommen.

So gelang es auch in einem vom Selenmangel besonders betroffenen Gebiet durch die Applikation von Natrium- oder Calciumselenat während der Wachstumsphase von Weidegras den Selengehalt des Pflanzenaufwuchses auf ein tierernährungsphysiologisch bedeutsames Niveau anzuheben. Die Fütterung von Milchkühen mit derart selenangereicherter Silage führte zu einer deutlichen Erhöhung des Selengehaltes der Milch. Er stieg innerhalb von einigen Wochen um den Faktor > 5 an und folgte dabei binnen 24–48 Stunden der sinkenden bzw. steigenden Selenkonzentration im Grundfutter. Eine Zufütterung von anorganischem Selen ergab dagegen keinen Einfluss auf den Selengehalt der Milch. Es zeigte sich, dass das in der Milch enthaltene Selen überwiegend in proteingebundener Form vorliegt: Zu etwa gleichen Teilen im Kasein und den Molkenproteinen bei herkömmlicher Milch, bei den selenangereicherten Proben dagegen enthielten die Molkenproteine einen größeren Selenanteil als die Kaseine. Der Erhöhung des Selengehaltes der Milch sind allerdings aus tiergesundheitlicher Sicht Grenzen gesetzt. Legt man aber eine für Milchkühe noch gesundheitlich positiv wirkende Aufnahmemenge zugrunde, bedeutet dies eine Verdreifachung gegenüber dem gegenwärtigen Versorgungsniveau beim Menschen.

Als noch effizienter erweist sich eine direkte Selenanreicherung pflanzlicher Nahrungsmittel. Ebenfalls durch Flüssig-Blattapplikation gelang es, den Selengehalt von Weizen auf ein ernährungsphysiologisch bedeutsames Niveau anzuheben. Mahlversuche legten zudem dar, dass sich eine solche Selenanreicherung auf alle Mahlerzeugnisse verteilt, ähnlich wie bei Weizen von selenreichen Böden. Bei einem Selengehalt von 220 $\mu\text{g}/\text{kg}$ Weizen und einem durchschnittlichen täglichen Verzehr von 250 g des daraus gebackenen Brots ließe sich die Aufnahmemenge an Selen auf die von der EU empfohlene Menge von 56 μg Se/Tag erhöhen (momentanes durchschnittliches Aufnahmeniveau: 35,5 μg Se/Tag), unabhängig davon, ob das Brot aus Vollkorn- oder Auszugsmehlen gebacken wurde.

The starting point of this work was the development of a hydride atomic absorption spectrometry (HG-AAS) method for fast and reliable measurements of trace selenium contents in samples. A sample preparation method was developed which permits disintegration and pre-reduction of the samples in a completely closed microwave oven system. Thereby, it is possible to examine how the leaf liquid application of selenium affects its introduction at the beginning of the food chain.

By leaf liquid application of sodium- or calcium-selenate during the growth phase of pasture grass its selenium content could be raised significantly. Feeding of selenium-enriched silage to milk cows (in an area particularly concerned by the lack of selenium) led to a measurable increase in the selenium content of their milk. The content rose distinctly within a few weeks, from less than 5 to more than 25 $\mu\text{g L}^{-1}$ following the sinking and/or rising selenium concentration in the basic fodder within 24–48 hours. Feedings with inorganic selenium did not result in an influence on the selenium content of the milk. Selenium incorporated into the milk was shown to be present predominantly in protein-bound form; in equal amounts in casein and whey proteins in un-enriched milk. The selenium-enriched samples exhibited a greater proportion of whey proteins than caseins. To preserve animal health, limits are set on the selenium content of milk. However, an intake of 6 mg Se through the fodder has a positive effect on the milk cow and creates a trebled diet-related selenium intake for humans through milk.

An even more efficient way to produce selenium enhancement would be through the direct selenium enrichment of vegetable foods. Through leaf liquid application, the selenium content of wheat was successfully raised to a nutritionally important level. Meal trials also suggested that such selenium enrichment distributes selenium to all meal products, similar to the enrichment of wheat from selenium-rich soils. With a selenium content of 220 $\mu\text{g kg}^{-1}$ realized in wheat and an average daily consumption of 250 g of bread baked from this wheat, the selenium intake could achieve the EU recommendation of 56 $\mu\text{g Se/day}$ (actual status: 35,5 $\mu\text{g Se/day}$), independent of whether bread was baked from full grain or superfine flours.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Bedeutung des Spurenelementes Selen im Überblick	1
2	Zielsetzung	6
2.1	Hintergrund	6
2.2	Aufgabenstellung	7
3	Grundlagen	10
3.1	Abiotische Rolle des Selens	10
3.1.1	Industrielle Bedeutung	10
3.1.2	Selen in der Umwelt	11
3.2	Biotische Rolle des Selens	14
3.2.1	Pflanzen und Selen	14
3.2.2	Selen als Spurenelement	17
3.2.3	Selen in der Tierernährung	18
3.2.4	Selenausscheidung beim Tier	19
3.2.5	Selenmangelkrankheiten beim Tier	20
3.3	Biochemische Funktionen des Selens	22
3.3.1	Verteilung im menschlichen Körper	22
3.3.2	Physiologische Eigenschaften des Selens	22
3.3.3	Essentielle Selenoproteine	24
3.3.3.1	Glutathion-Peroxidasen (GSH-Px)	24
3.3.3.2	Dejodasen	26
3.3.3.3	Selenoprotein P (SeP)	27
3.3.3.4	Thioredoxin-Reduktase (TxR)	27
3.3.3.5	Selenoprotein W (SeW)	28
3.3.4	Detoxikation von Schwermetallen durch Selen	28
3.3.5	Toxizität	29
3.4	Selenmangel-Krankheiten beim Menschen	30
3.4.1	Keshan-Krankheit	30
3.4.2	Kaschin-Beck-Syndrom	31
3.4.3	Selen bei rheumatisch-arthritischen Erkrankungen	31
3.4.4	Selen und kardiovaskuläre Erkrankungen	32
3.4.5	Selen und Krebs	33
3.4.5.1	Epidemiologische Untersuchungen	33

3.4.5.2	Qidong-Studie	33
3.4.5.3	Linxian-Studie	34
3.4.5.4	Clark-Studie	34
3.4.6	Selen zur Prävention vor degenerativen Erkrankungen	35
3.5	Versorgungslage beim Menschen	35
3.5.1	Methoden zur Ermittlung des Selenstatus	35
3.5.2	Zufuhrempfehlungen	37
3.5.3	Humaner Versorgungsstatus mit Selen	39
3.5.4	Vulnerable Bevölkerungsgruppen	40
3.6	Lebensmittel als Selenquellen	42
3.7	Bioverfügbarkeit von Selen	46
3.7.1	Definition der Bioverfügbarkeit	46
3.7.2	Einflussfaktoren auf die Bioverfügbarkeit	47
3.7.3	Resorption von Selen	47
3.7.4	Methoden zur Bestimmung der Bioverfügbarkeit von Selen	49
3.7.4.1	<i>In-vivo</i> -Studien	49
3.7.4.2	<i>In-vitro</i> -Methoden	50
3.7.5	Selenmetabolismus	51
3.7.6	Selenausscheidung beim Menschen	53
3.8	Selenanalytik	53
3.8.1	Methoden der Selenanalytik	53
3.8.2	Atomabsorptionsspektrometrie (AAS)	54
3.8.2.1	Hydridverfahren in der Atomabsorptionsspektrometrie (HG-AAS)	55
3.8.2.2	Fließinjektions-HG-AAS (FI-HG-AAS)	56
3.8.2.3	Probenvorbereitung für FI-HG-AAS	57
3.8.3	ICP-MS als elementspezifisches Detektionsverfahren	58
3.8.4	Selenbestimmung mit ICP-MS	60
3.8.5	Vergleich von ICP-MS und FI-HG-AAS	62
4	Material und Methoden	63
4.1	Chemikalien	63
4.1.1	Chemikalien für Probenaufschluss und Selenanalytik (FI-HG-AAS)	63
4.1.2	Chemikalien für Probenaufschluss und Selenanalytik (ICP-MS)	63
4.1.3	Referenzmaterial (CRM)	64
4.1.4	Chemikalien für Milchanalytik	64
4.1.5	Chemikalien für Eiweißbestimmung nach Kjeldahl	64
4.1.6	Joghurtfermentation	65

4.1.7	Chemikalien für Digestionsversuche	65
4.1.8	Enzyme für Digestionsversuche	65
4.1.9	Chemikalien für Getreideanalytik	65
4.2	Selenanreicherung der Pflanzen durch Flüssig-Blattapplikation	65
4.3	Geräte und Hilfsmittel	66
4.3.1	Stickstoff-, Kohlenstoff- und Eiweißbestimmung	66
4.3.2	Mikrowellenunterstützte Probenvorbereitung	66
4.3.2.1	Probenaufschluss (für alle Materialien), Vorreduktion, Denitrifikation .	66
4.3.2.2	Probenaufschluss für pflanzliches Material (mit geringem Fett- und Proteingehalt)	66
4.3.2.3	Probenaufschluss für ICP-MS	66
4.3.3	FI-HG-AAS	67
4.3.4	ICP-MS	67
4.3.5	Eiweißbestimmung nach Kjeldahl	68
4.3.6	Weizenvermahlung	68
4.3.7	Sonstige Geräte	69
4.3.8	Sonstiges Material	69
4.4	Arbeitsvorschriften	70
4.4.1	Bestimmung des Feuchtigkeitsgehaltes	70
4.4.2	Probenvorbereitung für die Selenanalytik	70
4.4.3	Stickstoff- und Kohlenstoffbestimmung	70
4.4.4	Mikrowellenunterstützter Probenaufschluss (FI-HG-AAS)	71
4.4.5	Mikrowellenunterstützte Vorreduktion und Denitrifikation (FI-HG-AAS) .	71
4.4.6	Selenanalytik (FI-HG-AAS)	72
4.4.7	Mikrowellenunterstützter Probenaufschluss (ICP-MS)	73
4.4.8	Selenanalytik (ICP-MS)	73
4.4.9	Gewinnung der Milchproteinfraktionen	75
4.4.10	Eiweißbestimmung nach Kjeldahl	75
4.4.11	Joghurtherstellung	77
4.4.12	Verdauungssimulation	77
4.4.12.1	Gastrale Phase	77
4.4.12.2	Graduelle pH-Verschiebung	78
4.4.12.3	Intestinale Phase	78
4.4.13	Gefriertrocknung	79
4.4.14	Aschebestimmung	79
4.4.15	Backversuch	79

4.5	Selenanreicherung der Pflanzen durch Flüssig-Blattapplikation	80
4.6	Nachweis- und Bestimmungsgrenzen	82
5	Ergebnisse und Diskussion	86
5.1	Methodenentwicklung Selenanalytik (FI-HG-AAS)	86
5.1.1	Optimierung der Signalempfindlichkeit	86
5.1.2	Probenaufschluss	92
5.1.3	Vorreduktion und `Denitrifikation´	94
5.1.4	Ergebnisse der Methodenentwicklung Selenanalytik (FI-HG-AAS)	96
5.2	Düngungsversuche	97
5.2.1	Selenanreicherung von Grassilage durch Flüssig-Blattapplikation	97
5.3	Fütterungsversuche	100
5.3.1	Selenanreicherung in Milch nach Fütterung selenangereicherter Grassilage	100
5.3.2	Untersuchung der Bioverfügbarkeit des Selens in Milch und Milch-Fermentationsprodukten	106
5.3.3	Beitrag der Selenanreicherung in Milch zur Verbesserung der humanen Selenversorgung	107
5.4	Selenanreicherung von Getreide durch Flüssig-Blattapplikation	109
5.4.1	Einfluss der Selen-Blattapplikation auf die Selengehalte in Getreidekörnern	109
5.4.2	Weizenmahlversuche	111
5.4.3	Backversuche	116
5.4.4	Beitrag der Selenanreicherung in Weizen zur Verbesserung der humanen Selenversorgung	117
5.5	Wege zur Verbesserung der humanen Selenversorgung	118
5.6	Ausblick	120
6	Anhang	121
7	Zusammenfassung	133
8	Literaturverzeichnis	137

Abbildungsverzeichnis

- Abb. 1: Lebensfähigkeit eines Organismus als Funktion der Konzentration eines essentiellen Elementes (Dosis-Wirkungs-Beziehung)
(nach FRIEDEN, 1985; PFANNHAUSER, 1988)
- Abb. 2: Tägliche Selenaufnahme aus Nahrungsmitteln in % der Gesamtselenaufnahme in Deutschland (nach OSTER et al., 1988)
- Abb. 3: Einfluss der Natriumborhydrid-Konzentration auf die Extinktion in Abhängigkeit der Selenkonzentration
- Abb. 4: Einfluss der Lagerdauer einer NaBH₄-Lösung auf die Extinktionshöhe
- Abb. 5: Einfluss der HCl-Konzentration auf die Extinktion
- Abb. 6: Einfluss der Durchflussmenge an Luft beim Acetylenbrenner auf die Extinktion (Durchflussmenge Acetylen: 1,50 L min⁻¹)
Probenlösungen: 10 µg Se(IV) L⁻¹ und LCS (*Laboratory Control Standard*)
- Abb. 7: Einfluss der Küvettemperatur auf die Signalempfindlichkeit (Extinktion)
- Abb. 8: Vergleich der Extinktion zwischen □ Flammen- und Δ elektrisch beheizter Quarzküvette
- Abb. 9: Einfluss von Aufschlusszeit und Temperatur auf die Wiederfindungsrate von Selen in den Referenzmaterialien NIST 1570a *spinach leaves* (□, o) und NIST 8435 *whole milk powder* (▲, ●, ◆)
- Abb. 10: Einfluss der Vorreduktionszeit und Temperatur auf die Wiederfindungsrate von Selen in NIST 1570a *spinach leaves* (Se: 117 ± 9 ng g⁻¹) ohne (□, ▲) sowie nach einer Aufstockung mit 2µg Se(VI) L⁻¹ (□, o)
- Abb. 11: Selengehalte in Grassilage nach einer einmaligen Gabe von 5 g Se ha⁻¹ [Gehalte im 1. und 2. Schnitt, Vergleich der beiden Düngungssysteme ROSAL[®] (Suspensionsdünger) und AHL (Flüssigdünger) im Jahr 1998]
- Abb. 12: Selengehalte in Grassilage nach einer einmaligen Gabe von 5 g Se ha⁻¹ (Gehalte im 1. und 2. Schnitt, Vergleich der beiden Salze Natriumselenat und Calciumselenat im Jahr 1999)
- Abb. 13: Selengehalt der Milch (Vollmilch) in Abhängigkeit vom Selengehalt der Grassilage
- Abb. 14: Verlauf des Milchselengehaltes in Abhängigkeit vom Selengehalt der Silage
- Abb. 15: Selengehalte der Milchproben und ihren Proteinfractionen
- Abb. 16: Selengehalte in Getreideproben verschiedener Herkunft, teilweise infolge Flüssig-Blattapplikation mit Selen angereichert
- Abb. 17: Proteingehalte der untersuchten Mahlfractionen [Nullprobe (Eifel, ungedüngt); Eifel-Weizen, selengedüngt; nordamerikanischer Weizen]
- Abb. 18: Selengehalte der einzelnen Mahlfractionen [Nullprobe (Eifel, ungedüngt); Eifel-Weizen, selengedüngt; nordamerikanischer Weizen]

- Abb. 19: Aschekurve sowie die in analoger Weise berechneten Selen- und Proteinkurven der Mahlfractionen der Nullprobe (Eifel-Weizen, ohne Selenapplikation)
- Abb. 20: Aschekurve sowie die in analoger Weise berechneten Selen- und Proteinkurven der Mahlfractionen der selengedüngten Eifel-Weizenprobe
- Abb. 21: Aschekurve sowie die in analoger Weise berechneten Selen- und Proteinkurven der Mahlfractionen des nordamerikanischen Weizens
- Abb. 22: Einfluss von Aufschlusszeit und Temperatur auf die Wiederfindungsrate von Selen in BCR 189 *wholemeal flour* (Se: $132 \pm 10 \text{ ng g}^{-1}$)
- Abb. 23: Einfluss von Aufschlusszeit und Temperatur auf die Wiederfindungsrate von Selen in GBW 07601 *human hair* (Se: $600 \pm 10 \text{ ng g}^{-1}$)
- Abb. 24: Einfluss von Aufschlusszeit und Temperatur auf die Wiederfindungsrate von Selen in GBW 07604 *poplar leaves* (Se: $140 \pm 10 \text{ ng g}^{-1}$)
- Abb. 25: Einfluss von Aufschlusszeit und Temperatur auf die Wiederfindungsrate von Selen in NIST 1570a *spinach leaves* (Se: $117 \pm 9 \text{ ng g}^{-1}$)
- Abb. 26: Einfluss von Aufschlusszeit und Temperatur auf die Wiederfindungsrate von Selen in NIST 8435 *whole milk powder* (Se: $131 \pm 14 \text{ ng g}^{-1}$)
- Abb. 27: Vergleich der gefundenen Selengehalte in NIST 1570a *spinach leaves* (Se: $117 \pm 9 \text{ ng g}^{-1}$) und NIST 8435 *whole milk powder* (Se: $131 \pm 14 \text{ ng g}^{-1}$) in einem offenen Wasserbad und in einem geschlossenen Mikrowellensystem

Tabellenverzeichnis

- Tab. 1: Wichtige Selenverbindungen und deren Verwendung (nach LANGNER, 1993)
- Tab. 2: Selenabhängige Erkrankungen beim Tier (nach VAN VLEET, 1980)
- Tab. 3: Selenkonzentrationen in verschiedenen Ländern und einzelnen Organen (nach OSTER et al., 1988)
- Tab. 4: Selenstatuswerte (nach SILL-STEFFENS et al., 2001)
- Tab. 5: Durchschnittliche tägliche Selenaufnahme mit der Nahrung (MATEK et al., 2000)
- Tab. 6: Bevölkerungsgruppen mit erhöhtem Risiko eines Selenmangels
- Tab. 7: Mittlerer Selengehalt verschiedener in Deutschland verzehrter Lebensmittel (nach BACH et al., 1990; SOUCI et al., 2000)
- Tab. 8: Dosierungsangaben für die Probenvorbereitung
- Tab. 9: Temperaturprogramm des Mikrowellenaufschlusses
- Tab. 10: Mögliche spektrale Interferenzen auf den Selenisotopen (nach THOMAS, 1999)
- Tab. 11: Anmischung der *AHL* und *NP*-Lösungen
- Tab. 12: Selendosierung bei Grünlandaufwüchsen
- Tab. 13: Effizienzvergleich der beiden Selendüngungsvarianten mit *AHL* und *ROSAL*[®]
- Tab. 14: Literaturwerte zu Selengehalten in der Milch und ihren Proteinfractionen

-
- Tab. 15: Selengehalte in Getreideproben verschiedener Herkunft, teilweise infolge Flüssig-Blattapplikation mit Selen angereichert
- Tab. 16: Selengehalte in Eifel-Weizen und daraus gebackenen Vollkornbrot
- Tab. 17: Einfluss der Lagerdauer einer NaBH₄-Lösung auf die Extinktionshöhe
- Tab. 18: Nachweis- und Bestimmungsgrenzen gemäß DIN 32645 für die FI-HG-AAS
- Tab. 19: Vergleich der Selengehalte in der Silage ausgewählter Landwirte im Rahmen des Pilotversuchs 1997 und des Großversuchs 1998
- Tab. 20: Selengehalte in der Silage ausgewählter Landwirte die nicht am Selendüngungs-Großversuch teilgenommen haben
- Tab. 21: Selengehalte in der Silage ausgewählter Landwirte, die 1998 im Rahmen des Großversuchs 5 mg Se ha⁻¹ in Kombination mit *AHL* ausbrachten
- Tab. 22: Selengehalte in der Silage ausgewählter Landwirte, die 1998 im Rahmen des Großversuchs 5 mg Se ha⁻¹ in Kombination mit *ROSAL*[®] ausbrachten
- Tab. 23: Selengehalte in Milchsammelproben (Jan./Feb. 1999, Ormont und Umgebung)
- Tab. 24: Versuch der Quantifizierung von Selenomethionin in nativer und selenangereicherter Milch sowie daraus hergestellter Fermentationsprodukte
- Tab. 25: Passagenkontrolle der Eifel-Weizenprobe (Nullprobe) zur Berechnung der Aschekurve sowie der in analoger Weise berechneten Selen- und Proteinkurven der Mahlfractionen
- Tab. 26: Passagenkontrolle der selengedüngten Eifel-Weizenprobe zur Berechnung der Aschekurve sowie der in analoger Weise berechneten Selen- und Proteinkurven der Mahlfractionen
- Tab. 27: Passagenkontrolle der US-Weizenprobe zur Berechnung der Aschekurve sowie der in analoger Weise berechneten Selen- und Proteinkurven der Mahlfractionen
- Tab. 28: Vergleich der mit verschiedenen Analysemethoden (Kjeldahl und *Elementar*) gemessenen Proteinwerte der Mahlfractionen

Abkürzungsverzeichnis

AAS	Atomabsorptionsspektrometrie
ACV	<i>Advanced Composite Vessel</i> „Mitteldruckbehälter“
AES	Atomemissions-Spektrometrie (siehe OES)
AFS	Atom Fluoreszenz-Spektrometrie
AGF	Arbeitsgemeinschaft Getreideforschung
AHL	Ammoniumnitrat-Harnstoff-Flüssigdünger
AID	Auswertungs- und Informationsdienst für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten
AIDS	<i>Acquired Immune Deficiency Syndrome</i>

ARDS	<i>Acute Respiratory Distress Syndrome</i> (akutes Lungenversagen)
ATP	Adenosintriphosphat
BAG	Schweizerisches Bundesamt für Gesundheit
BCR	<i>Community Bureau of Reference</i>
cGSH-Px	cytosolische Glutathion-Peroxidase
CRM	<i>Certified Reference Material</i> (zertifiziertes Referenzmaterial)
D-A-CH	Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr: DGE, ÖGE, SGE, SVE
DFG	Deutsche Forschungsgemeinschaft
DGE	Deutsche Gesellschaft für Ernährung
DGH	Deutsche Gesundheitshilfe
DIN	Deutsche Industrie Norm
DM	<i>Dry Matter</i> (Trockenmasse)
DMS _e	Dimethylselenid: CH ₃ -Se-CH ₃
DNA (DNS)	Desoxyribonukleinsäure
DP	Duplikatuntersuchung
EC	<i>Enzyme Commission</i>
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
ETA-AAS	Atomabsorptionsspektrometrie mit elektrothermaler Atomisierung
eV	Elektronenvolt (1 eV = 1,6022 x 10 ⁻¹⁹ J)
FES	Flammen-Emissions-Spektrometrie
FI	Fließinjektion
FIA	Fließinjektionsanalyse
FI-HG-AAS	<i>Flow-Injection Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry</i>
FM	Frischmasse
FNB	<i>Food and Nutrition Board</i>
FS	Frischsubstanz
GBW	<i>National Research Centre for CRM (China)</i>
GF-AAS	Graphitrohrofen-AAS
GI-GSH-Px	gastrointestinale Glutathion-Peroxidase
GSH	reduziertes Glutathion
GSSG	oxidiertes Glutathion
GSR	Glutathion-Reduktase
GSH-Px	Glutathion-Peroxidase
HDL	<i>High-Density Lipoprotein</i>
HG-AAS	<i>Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry</i>
HG-AFS	<i>Hydride Generation Atomic Fluorescence Spectrometry</i>

HIV	<i>Human Immunodeficiency Virus</i>
HKL	Hohlkathodenlampe
HPLC	Hochleistungsflüssigchromatographie
HTR	Hochtemperaturrotorsystem
ICC	Internationalen Gesellschaft für Getreidewissenschaft und -Technologie
ICP-HEX-MS	ICP-MS mit Hexapol
ICP-MS	<i>Inductively-Coupled-Plasma Mass-Spectrometry</i>
ICP-OES	<i>Inductively-Coupled-Plasma Optical Emission Spectrometry</i>
I.D.	Innerer Durchmesser
ID-I	Typ I 5'-Jodthyronin-Dejodase
ID-II	Typ II 5'-Dejodase
ID-III	Typ III 5-Dejodase
INAA	Instrumentelle Neutronenaktivierungsanalyse
kd	Kilodalton (1 Dalton \approx Masse eines H-Atoms)
LCS	<i>Laboratory Control Standard</i>
LDL	<i>Low-Density Lipoprotein</i>
LDPE	<i>Low-Density Polyethylene</i>
LMBG	Lebensmittel- und Bedarfsgegenständegesetz
LOD	<i>Limit of Detection</i> (Nachweisgrenze)
M	Molarität (der Lösung), mol L ⁻¹
MAFF	<i>Ministry of Agriculture, Fisheries and Food</i> (UK)
mRNA	messenger-Ribonukleinsäure
NADP	Nicotinamid-Adenindinucleotid-Phosphat (oxidierte Form)
NADPH + H ⁺	Nicotinamid-Adenindinucleotid-Phosphat (reduzierte Form)
NF- κ B	<i>Nuclear Factor κB</i>
NIST	<i>National Institute of Standards and Technology</i>
NOAEL	<i>No Observable Adverse Effect Level</i>
NRC	<i>National Research Council</i>
OES	<i>Optical Emission Spectrometry</i> (Optische Atomemissions-Spektrometrie)
ÖGE	Österreichische Gesellschaft für Ernährung
PFA	Perfluoralkoxy
pGSH-Px	Plasma-Glutathion-Peroxidase
PH-GSH-Px	Phospholipid-Hydroperoxid-Glutathion-Peroxidase
PRI	<i>Population Reference Intake</i>
PTFE	Polytetrafluorethylen
RFA	Röntgenfluoreszenz-Spektrometrieanalyse

RDA	<i>Recommended Daily Allowance</i>
RNA (RNS)	Ribonukleinsäure
RNAA	Radiochemische Neutronenaktivierungsanalyse
RNI	<i>Reference Nutrient Intake</i>
RSD	<i>Relative Standard Deviation</i>
rT ₃	reverses Trijodthyronin
SCF	<i>Scientific Committee on Food</i>
Se-EMP	<i>Selenite-Exchangeable Metabolic Pool</i>
SeH	Selenol-Gruppe
SeP	Selenoprotein P
Se-Met	Selenomethionin
SeW	Selenoprotein W
SGE	Schweizerische Gesellschaft für Ernährung
SLMB	Schweizerisches Lebensmittelbuch
SVE	Schweizerische Vereinigung für Ernährung
T ₃	Trijodthyronin
T ₄	Thyroxin
TBAA	Tribromessigsäure
TH4	T(4)-Helferzellen
TM	Trockenmasse
TMSe	Trimethylselenonium-Ion: (CH ₃) ₃ Se ⁺
TxR	Thioredoxin-Reduktase
UF	<i>Uncertainty factor</i>
UGA-Codon	Uracil-Guanin-Adenin-Codon
UL	<i>Tolerable Upper Intake Level</i>
VERA	Verbundstudie Ernährungserhebung Risikofaktoren Analytik
WLD	Wärmeleitfähigkeitsdetektor
XRF	<i>X-Ray Fluorescence Spectrometry</i> (Röntgen Fluoreszenz-Spektrometrie)
ZNS	Zentralnervensystem

1 Einleitung

1.1 Bedeutung des Spurenelementes Selen im Überblick

Das Element Selen wurde 1817 von dem schwedischen Chemiker Berzelius entdeckt und von ihm nach der griechischen Mondgöttin *Selene* benannt – in Anlehnung an die nahe Verwandtschaft mit dem nach der Erde (gr. *Tellus*) benannten Element Tellur (HOLLEMANN, 1995).

Bis Mitte des 20. Jahrhunderts noch ausschließlich als ein gefährliches Umweltgift und Kanzerogen eingestuft, erlebte die Selenforschung einen tief greifenden Wandel seit der Entdeckung der Essentialität des Selens: 1957 zeigten SCHWARZ und FOLTZ, dass durch Selenzugabe eine Lebernekrose bei Ratten verhindert werden kann; 1970 erbrachten THOMPSON und SCOTT den experimentellen Nachweis, dass Selen für zahlreiche Tierarten essentiell ist. Drei Jahre später wiesen FLOHÉ et al. sowie ROTRUCK et al. Selen bei diesen Tierarten als integralen Bestandteil der Glutathion-Peroxidase nach.

1975 schließlich entdeckten AWASTHI et al. Selen auch in der Glutathion-Peroxidase des Menschen, womit die Essentialität von Selen auch für den Menschen nachgewiesen war. Inzwischen ist allgemein anerkannt, dass organische Selenverbindungen antioxidative, antiinflammatorische sowie antikanzerogene Wirkungen besitzen und sie für eine Reihe lebenswichtiger Stoffwechselfvorgänge im Körper unersetzlich sind.

Besondere Aufmerksamkeit erfuhr dieses Spurenelement in den sechziger und siebziger Jahren des 20. Jahrhunderts, als sich herausstellte, dass zwei schwere endemische Erkrankungen in China, die *Keshan-Krankheit* und das *Kaschin-Beck-Syndrom*, auf einen alimentären Selenmangel zurückzuführen waren. Bei der *Keshan-Krankheit*¹⁾ handelt es sich um eine tödlich verlaufende Kardiomyopathie, bei der nach einer 2 – 6-monatigen Induktionsperiode die akute Verlaufsform unbehandelt zu Herzmuskelnekrosen führt; die Erkrankten versterben innerhalb von 24 – 48 Stunden nach dem Auftreten der ersten Symptome an akutem Herzversagen und Lungenödem (FORCHHAMMER und BÖCK, 1991; WOLFFRAM, 1992; SCHRAUZER, 1998).

Das *Kaschin-Beck-Syndrom* oder „Big Joint Disease“ hingegen ist eine Erkrankung, die mit äußerst schmerzhaften, entzündlich-degenerativen Gelenksdeformationen einhergeht; betroffen waren vor allem die kargen Gebirgsregionen Chinas (SOKOLOFF, 1985; 1988; PENG et al., 1992; REILLY, 1996a).

Obwohl z.B. die Keshan-Krankheit schon seit 1907 beobachtet und seit 1935 unter diesem Namen beschrieben wurde, kam es zu einer Zuspitzung vor allem infolge Maos rigoroser Besiedlungspolitik, als während der chinesischen Kulturrevolution Hunderttausende von Menschen in vormals wenig bevölkerte Gebiete Chinas umgesiedelt wurden. Auf der Suche nach möglichen Ursachen der Endemien stellte sich erst Jahre später heraus, dass das Erdreich und die dort kultivierten Pflanzen extrem wenig Selen enthielten.

Daraufhin bekamen in den sechziger Jahren zuerst 36.600 Kinder (versuchsweise über 4 Jahre hinweg), anschließend über 1,5 Mio. Personen dieses Spurenelement in Form von Natriumselenit verabreicht. Als dadurch beide Erkrankungsarten deutlich zurückgingen, setzte eine großangelegte Selenforschung ein (GE et al., 1983; GU, 1983; LITOV, 1991; ANDERSEN und NIELSON, 1993; REILLY, 1996a; SCHRAUZER, 1998). Es zeigte sich sehr bald, dass Selen den zentralen, essentiellen Funktionsbestandteil in einer Reihe lebenswichtiger Proteine bildet (BEHNE et al., 1996; 2000).

Bei einer ungenügenden Zufuhr über die Nahrung kommt es zur Aktivitätsbeeinträchtigung dieser Selenoproteine, speziell der Selenoenzyme und dies auch schon in einer milden Selenunterversorgung, wie sie in zahlreichen europäischen Ländern vorherrscht (GASNIER, 2002). Können diese Enzyme infolge eines Selenmangels nicht in ausreichendem Maße synthetisiert werden oder ihre volle Aktivität entwickeln, wirkt sich dies auf die verschiedensten Organsysteme aus und führt zu vielfältigen Funktionsstörungen und Erkrankungen.

Man geht heute davon aus, dass neben den oben beschriebenen Endemien auch allergische, rheumatische und autoimmune Ereignisse mit einem Selenmangel in einen ätiologischen²⁾ Zusammenhang gebracht werden können. Anscheinend zählen darunter nahezu alle Krankheiten, die mit Stoffwechselstörungen im weitesten Sinne im Zusammenhang stehen; von psychiatrischen und neurologischen Beschwerden angefangen, über bakterielle und virale Infektionskrankheiten bis hin zu manifesten kardiovaskulären³⁾ Erkrankungen (VIRTAMO

¹ Benannt nach dem Landkreis Keshan in der Provinz Heilongjiang.

² Ätiologie: Lehre von den Ursachen der Krankheiten.

³ Das Herz-Kreislauf-System betreffend; aktuell in den Fokus des Interesses gerückt ist ein Zusammenhang zwischen kardiotoxisch wirkenden Viren (z.B. Coxsackie B4) und der Inzidenz an Herzinfarkten.

et al., 1985; SUADICANI et al., 1992; NÉVE, 1996; URSINI et al., 1998; RAYMAN, 2000a, b; BROOME et al., 2004). Zahlreichen Studien zufolge führt ein Selenmangel bei Mensch und Tier außerdem sowohl zu fetalen Anomalien als auch zu Infertilität (MAIORINO et al., 1998).

Wie sich dieses weitreichende therapeutische Spektrum der durch einen Selenmangel ausgelösten Erkrankungen erklärt, ist letztlich nicht bis in alle Details bekannt, wird aber aktuell in zahlreichen Studien weltweit untersucht. So gilt es aber als gesichert, dass bestimmte Selenoenzyme eine Schlüsselstellung bei der Replikation der DNS einnehmen, d.h., dass sie essentiell an der Zellteilung sowie an der Aktivierung von Transkriptionsfaktoren beteiligt sind (ALLAN et al., 1999). Ebenfalls belegt werden konnte, dass bestimmte Selenoenzyme bei der Faltung und Stabilisierung der Tertiärstruktur von Proteinen eine Rolle spielen und sie in den Prostaglandin-Metabolismus eingreifen, in dem auch die etablierten entzündungshemmenden Medikamente wie Acetylsalicylsäure (MITCHELL, 1997) und Glucocortikoide (BARNES, 1998) ansetzen.

Epidemiologische Human-Studien geben zudem Hinweise darauf, dass die Selenaufnahme, präziser ausgedrückt, der Versorgungsstatus mit Selenoproteinen mit chronisch-degenerativen Erkrankungen des Herz-Kreislaufsystems sowie Krebs assoziiert ist (z.B. *Clark-Studie*) (IP und GANTHER, 1992; CLARK et al., 1996; FLEET und MAYER, 1997; REILLY, 1998; RAYMAN, 2000a; WHANGER, 2002; REID et al., 2002). Andere Studien gehen von einer direkten antikarzinogenen bzw. protektiven Wirkung des Selens aus (BEHNE und KYRIAKOPOULOS, 1997; MUKHOPADHYAY-SARDAR et al., 2000); in Langzeit-Doppelblindstudien wurde supplementiertes Selen mit einer signifikanten Reduktion bei Lungen-, Colorektal-, Leber-, Haut- und Prostatakrebs assoziiert (LEVANDER, 1987; IP und GANTHER, 1992; REDDY, 1996). Immunmodulatorische Effekte von Selen und Selenoproteinen werden ebenfalls proklamiert (MCKENZIE et al., 1998; COMBS, 2000).

Selen entfaltet seine antioxidativen Wirkungen *in-vivo* ausschließlich in organischer Form, genauer gesagt, eingebunden in die verschiedenen Selenoenzyme. Anorganisch, wie z.B. als (lösliches) Selenit oder Selenat kann es dagegen durchaus als starkes Oxidationsmittel im Stoffwechsel in Erscheinung treten (CADENAS, 1997; SEKO und IMURA, 1997). Daher wurde z.B. in Japan der Einsatz anorganischer Selenpräparate für alle Tierarten komplett verboten (HERRMANN, 2001)¹.

¹ REILLY (1998) berichtet davon, dass unter bestimmten Voraussetzungen, Tieren zugefüttertes Natriumselenit bei diesen mutagen wirken kann.

Klassische Antioxidantien wie die Vitamine A, C und E, Flavonoide/Polyphenole etc. und die Selenoproteine besitzen zwar synergistische Wirkungen untereinander (DIPLOCK, 1978; LEVANDER, 1987; BIESALSKI et al., 1997), können sich jedoch gegenseitig nicht vollständig substituieren (CHENG et al., 1999a). Es ist diesbezüglich tierexperimentell nachgewiesen worden, dass der oxidative Schutz, den Selenoenzyme gewährleisten, z.B. nicht durch Vitamin E ersetzbar ist¹⁾. So bekamen Mäuse, die mit Paraquat²⁾ geimpft worden waren, in einer Gruppe Glutathion-Peroxidase, in der anderen α -Tocopherol verabreicht. Selbst in hohen Dosen konnte α -Tocopherol die Versuchstiere nicht vor dem durch das Herbizid hervorgerufenen oxidativen Stress schützen, im Gegensatz zur selenhaltigen Glutathion-Peroxidase (CHENG et al., 1999 a, b).

Dass Selen seine vielfältigen Aufgaben im Organismus nicht als einfaches Antioxidans, sondern vor allen Dingen als essentieller Bestandteil komplexer Enzymsysteme in Form von Selenocystein erfüllt, hatte SCHWARZ (1976) schon lange vermutet und postuliert. Seine Ansicht konnte jedoch erst mit dem über 10 Jahre später erbrachten Nachweis des stöchiometrischen Selengehaltes des gereinigten Selenoenzyms Glutathion-Peroxidase und dessen Strukturaufklärung stichhaltig bestätigt werden. Anhand dieses Enzyms wurde die katalytische Rolle des Selens 1992 erstmals belegt (ROCHER, 1992). Zusammenfassend liegt die vorrangige Stellung der Selenoenzyme darin begründet, dass sie ihre komplexen Aufgaben nicht nur lokal in den Zellmembranen verrichten (wie beispielsweise Vitamin E), sondern dass sie sie in ubiquitären Vernetzungen auch in Plasma, Zytosol und sämtlichen Zellkompartimenten, einschließlich Mitochondrien und Zellkernen, entfalten.

Eine ausreichende bis optimale Versorgung mit diesem essentiellen Spurenelement sollte daher von großem Interesse für die Volksgesundheit sein. Für die europäische Union empfiehlt das *Scientific Committee on Food* (SCF) einen PRI-Wert (*Population Reference Intake*) von 56 $\mu\text{g}/\text{Tag}$ (EU, 1993). Dieser Wert deckt sich gut mit der neueren amerikanischen *Recommended Dietary Allowance* (RDA) der *National Academy of Sciences* von 55 $\mu\text{g}/\text{Tag}$ (Institute of Medicine, 2000) und liegt im Bereich der DGE Schätzwerte von 30 – 70 $\mu\text{g}/\text{Tag}$ (D-A-CH, 2000). Andere Autoren (ZIMMERLI et al., 1995; SCHRAUZER, 1998; BROOME et al., 2004) sehen eine optimale Selenversorgung – im Hinblick auf eine Prävention – sogar erst ab einer Aufnahme von 200 bis 400 $\mu\text{g}/\text{Tag}$ als gegeben an.

¹ Obgleich dennoch ein hoher Synergismus besteht.

² Ein Bipyridinium-Derivat, das als Herbizid Anwendung findet.

Den genannten Empfehlungen steht in Deutschland eine tägliche Zufuhr von 41 µg bei Männern und 30 µg bei Frauen gegenüber (ANKE und SCHÜMANN, 1999), im Gebiet der neuen Bundesländer sogar nur 20 – 25 µg/Tag¹⁾ (SILL-STEFFENS et al., 2001). Im Vergleich zu den oben genannten Empfehlungen sind dies zu niedrige Werte, wobei die Selenaufnahme der mitteleuropäischen Bevölkerung sogar noch abnimmt (SCHRAUZER, 1998).

Die Gründe sind zum einen die geringen Bodenselengehalte in der Bundesrepublik Deutschland sowie in weiten Teilen Nordeuropas, zum anderen ein zum Teil als kritisch anzusehender niedriger Boden-pH-Wert²⁾ und eine dadurch bedingte Festlegung des wenigen Selens im Boden³⁾. Dies führt in einigen Regionen Deutschlands, z.B. der Eifel, zu vergleichbar geringen Selengehalten im pflanzlichen Aufwuchs wie in der Keshan-Region Chinas.

Ein weiterer Grund ist der starke Rückgang des Imports nordamerikanischen Getreides, das wegen seines vergleichsweise hohen Selengehaltes⁴⁾ direkt oder indirekt (Futtergetreide) einen großen Anteil an der Selenversorgung hatte (MACPHERSON et al., 1993; 1997; SCHRAUZER, 1998). So lag der Selengehalt des in Deutschland verbackenen Brotgetreides 1968 noch zwischen 100 – 300 µg kg⁻¹, was bei einem durchschnittlichen Brotverzehr von 250 g/Tag einer Selenzufuhr von 25 – 75 µg/Tag entsprach. 1988 führte der Verzehr der gleichen Brotmenge (11 – 25 µg Se kg⁻¹ Brotgetreide) zu einer Selenaufnahme von 5 µg/Tag (BRÜGGEMANN und OCKER, 1990; 1992; BOSSELMANN et al., 1991), was weniger als 10% der empfohlenen Tagesration entspricht.

Die dadurch bedingte Verschlechterung der Selenversorgung der Bevölkerung innerhalb der letzten Jahrzehnte in Deutschland wie auch in anderen Teilen Europas ist durchaus dramatisch und wird auch dort mit Sorge betrachtet (RAYMAN, 1997).

¹⁾ Geschlecht nicht näher unterschieden.

²⁾ Trotz heute wesentlich geringerer Säure- und Schwefeleinträge wirken die jahrzehntelangen Belastungen erheblich nach. Zudem blieben die Stickstoffeinträge mit dem Niederschlag seit Mitte der 80er Jahre auf nahezu unverändert hohem Niveau. Fazit: Die aktuelle Säurebelastung überschreitet die nachhaltige Pufferkraft der Böden noch immer (insbesondere in mittelgebirgsbetonten Weichwassergebieten), z.T. wird dem aber durch Kalken entgegengewirkt (Europäische Umweltagentur, 2004).

³⁾ Besonders betroffen sind moorige und anmoorige Standorte sowie Marschen (KEMIRA, 2004).

⁴⁾ mit bis zu 1,5 mg Se kg⁻¹ TM (REILLY, 1996).

2 Zielsetzung

2.1 Hintergrund

In einigen Ländern mit geringen Bodenselengehalten wie z.B. Finnland und Neuseeland wurde staatlicherseits Mitte der 1980er Jahre der Zusatz von Selen zu mineralischen Düngemitteln für Getreide verordnet (REILLY, 1996b; 1998; KEMIRA, 2004). Durch den Zusatz von max. 16 mg Se kg⁻¹ sollte eine Steigerung von ~10 µg Se kg⁻¹ TM auf 100 µg Se kg⁻¹ TM im Brotgetreide erzielt werden. Aufgrund einer unkontrollierten Anreicherung im Boden wurden in den folgenden Jahren jedoch schwankende und zum Teil zu hohe Selengehalte festgestellt¹⁾ (VENÄLÄINEN et al., 1997), ein methodischer Nachteil, den es zu verbessern galt.

Eine Alternative dazu stellt die Flüssigapplikation dar: Wasserlösliche Selensalze werden den Pflanzen direkt aufgesprüht, wodurch diese das Selen durch die Blätter resorbieren können (HANDRECK, 1995; DJUJIC et al., 2000). Dadurch ergibt sich eine weitgehende Umgehung des Systems Boden²⁾, ein Faktor, der einen großen Vorteil gegenüber der konventionellen Feststoff-„Düngung“³⁾ mit Selen darstellt.

Eines der in Deutschland vom Selenmangel besonders betroffenen Gebiete ist die Hocheifel. Landwirtschaft spielt in dieser strukturschwachen Region eine wichtige Rolle. Der Selenstatus dort ist allerdings so schlecht, dass - ohne Gegenmaßnahmen zu ergreifen - bereits für einen Selenmangel typische, pathogene Veränderungen an Weidetieren zu beobachten waren. Eine Möglichkeit, die Selenversorgung zu verbessern, ist die Grünlanddüngung mit Selen. Das Einbringen dieses Spurenelementes schon am Anfang der Nahrungskette erscheint sinnvoll, da es das pflanzliche Keimungsverhalten bzw. Wachstum positiv beeinflussen kann (BEN-HAYYIM et al., 1993; HOLLAND et al., 1993; 1994; NAQVI et al., 1995; HAJ-BAKRI, 1996).

Des Weiteren bestünde ein großer Vorteil darin, dass sich mit Hilfe der Pflanzenernährung die Selenversorgung der gesamten Nahrungskette bei Bedarf gezielt auf das gewünschte Niveau einstellen ließe. So könnten alle Tiere eines Bestandes, selbst bei extensiver Wirtschaftsweise, über das Grundfutter adäquat versorgt werden, auch die ansonsten regelmäßig unterversorgten Kälber, das Jungvieh bzw. alle Weidetiere⁴⁾.

¹⁾ Nach Verfütterung rund 700 µg Se kg⁻¹ FM in Schweineleber. 1990 wurde daraufhin eine Begrenzung der Selenzugabe in Mehrstoffdüngern auf 6 mg Se kg⁻¹ festgelegt.

²⁾ Da dieser aufgrund von Faktoren wie mineralischer Beschaffenheit, pH-Wert und Schwermetallbelastung das Selen u.a. über Ionenaustausch zu binden vermag, hat die Flüssig-Blattdüngung große Vorteile gegenüber der Feststoffdüngung.

³⁾ Im Zusammenhang mit der Selenausbringung soll von „Düngung“ gesprochen werden, obwohl die Rolle des Selens als Pflanzennährstoff und somit als Düngungskomponente im eigentlichen Sinne weiterhin umstritten ist.

⁴⁾ Im Gegensatz zur ansonsten angewandten Selensupplementierung einzig über Kraft- und/oder Mineralfutter.

Gemäß der deutschen Pflanzenschutz-Anwendungs-VO vom 27.07.1988 und dem deutschen Düngemittelrecht (KLUGE und EMBERT, 1996) bestand allerdings damals (bis 2001)¹⁾ ein Anwendungsverbot für Selenverbindungen im Pflanzenbau. Jedoch konnte aufgrund einer Ausnahmegenehmigung der Bezirksregierungen Trier und Koblenz (nach Auswertung eines Pilotversuchs 1997 auf einer Grasfläche von 60 ha) ab 1998 ein Großversuch auf 1.700 ha Weideland durchgeführt werden.

Zur Anwendung kam hierbei eine Applikation des Selens in Form von (Natrium-)Selenat, der Bindungsform, die von Pflanzen am effektivsten aufgenommen wird (GUPTA und WINTER, 1989; CHEN et al., 2002; HÖSCH, 2002). Es wird in flüssiger Form in Kombination mit handelsüblichen Stickstoffdüngern den Pflanzen aufgesprüht, wodurch im Rahmen einer routinemäßigen Flüssigdüngung kaum Mehrkosten anfallen.

2.2 Aufgabenstellung

Zu Überprüfen war nun hierbei, in welcher Applikationsform, in welcher Dosierung und in welchen Zeiträumen die Düngung erfolgen sollte. Erwartet wurde nicht nur eine Erhöhung des Selengehaltes im Grasaufwuchs und eine Verbesserung des Selenstatus der Tierpopulationen, sondern auch eine Erhöhung des Selengehaltes in der Milch der Weidetiere, womit gleichzeitig ein Beitrag zur Verbesserung der Selenversorgung der Bevölkerung geleistet werden könnte.

Über das zu erwartende Ausmaß der Erhöhung und damit über deren mögliche ernährungsphysiologische Relevanz für den Menschen ließen sich bisher keine Aussagen machen. Allerdings lagen Berichte über jahreszeitliche Schwankungen des Selengehaltes in der Milch vor; als Ursache vermutete man neben biochemischen Prozessen im Tier auch saisonal bedingte Unterschiede im Selengehalt des Futters (DESCHUYTERE et al., 1987; KOOPS et al., 1989).

¹⁾ Seit 2001 ist in Deutschland eine Selenmenge von 10 mg kg⁻¹ Mehrstoffdünger zugelassen, sofern das Selen aus den natürlichen Selengehalten der eingesetzten Rohstoffe stammt – allerdings wird dieser Wert bei keinem der aktuell auf dem Markt befindlichen Düngern erreicht.

Es galt daher zu überprüfen, wie sich das über die Düngung zugefügte Selen über die einzelnen Milchfraktionen verteilt bzw. ob sich (Protein-)Fraktionen mit ausreichend hohem Selengehalt und so hoher Bioverfügbarkeit isolieren lassen, dass sie sich zur Selensupplementierung von Lebensmitteln eignen.

Frühere Untersuchungen zeigen, dass das Selen in der Milch hauptsächlich in proteingebundener Form vorliegt (DEBSKI et al., 1987; MILNER, 1990; VAN DAEL, 1992; SHEN et al. 1996), allerdings variieren die Angaben über die Verteilung in den beiden Hauptfraktionen Kasein und Molkenproteine¹⁾ (DEBSKI et al., 1987; DESCHUYTERE et al., 1987; VAN DAEL et al., 1991; RODRIGUEZ et al., 1997).

Würde sich das zusätzliche Selen beispielsweise in einem hohen Maße in der Fraktion der Molkenproteine wiederfinden lassen, stellte dies eine Wertsteigerung der in beträchtlicher Menge anfallenden Molke dar (Molke fiel 1997 z.B. in einer Höhe von ca. 11,4 Mio t als ein Reststoff bei der Käse- und Kaseinherstellung in den deutschen Molkereien an (GÖBEL, 1999)). Diese Erhöhung der Attraktivität des Reststoffes Molke wäre ein Argument dafür, die darin enthaltenen Molkenproteine als wertgebende Komponente anderen Lebensmitteln zuzufügen.

Des Weiteren sollten verschiedene Getreidearten, die entweder als tierisches Kraftfutter dienen oder direkt für die menschliche Ernährung gedacht sind, ebenfalls mittels Selenflüssigdüngung behandelt werden. Untersucht werden sollte, ob und wenn ja, mit welchen Applikationsgaben ernährungsphysiologisch bedeutsame Niveaus erreicht werden können. Hintergrund waren Untersuchungen, die darauf hinweisen, dass die Verschlechterung der gesamteuropäischen Situation direkt mit der starken Reduzierung der nordamerikanischen (besonders selenreichen) Getreideimporte zusammenhängt (MACPHERSON et al., 1993; 1997; SCHRAUZER, 1998; RAYMAN, 2000a; 2002).

Neben quantitativen Aussagen über den Selengehalt in den Milch- und Getreideproben war es darüber hinaus auch von Interesse, Aussagen über deren Bioverfügbarkeit treffen zu können. Denn um die Selenversorgung des Menschen beurteilen oder gar Ernährungsempfehlungen geben zu können, reicht es nicht aus, die Selenaufnahme anhand der Selengehalte der verzehrten Lebensmittel abzuschätzen.

¹ Gruppe der Milchproteine, die nach dem isoelektrischen Fällen der Kaseine bei pH 4,6 oder nach der Labgerinnung der Milch bei der Käseherstellung in der Molke verbleiben. Es handelt sich hierbei hauptsächlich um β -Lactoglobulin, α -Lactalbumin, bovines Serumalbumin, Immunglobuline sowie die Proteose-Peptide (EIGEL et al., 1984).

Zur Erreichung dieser Ziele war es aber zu Beginn der Arbeit erst einmal notwendig, eine Analysenmethode zu entwickeln, die es erlauben sollte, Spuren von Selen in den verschiedensten biologischen Materialien schnell und trotzdem präzise bestimmen zu können.

Besonderes Augenmerk lag dabei auf einer optimierten Probenvorbereitung, dem geschwindigkeitsbestimmenden Schritt bei der FI-HG-AAS wie sie im Labor der Fa. *RSW* (Ormont, Eifel) zum Einsatz kam. Angestrebt wurde, alle der eigentlichen Analytik vorgeschalteten Schritte wie die Veraschung, die Vorreduktion und die Eliminierung interferierender Stickstoffverbindungen in möglichst wenigen Schritten geschlossen in einem Mikrowellensystem durchführen zu können und dabei Selenverluste und mögliche Kontaminationen auf ein Minimum zu reduzieren.

3 Grundlagen

3.1 Abiotische Rolle des Selens

3.1.1 Industrielle Bedeutung

Selen (chem. Symbol: Se) ist ein Element der 6. Hauptgruppe des Periodensystems und steht mit der Ordnungszahl 34 unterhalb des Schwefels und über dem Tellur. Sein relatives Atomgewicht beträgt 78,96 und es existieren sechs natürliche, nichtradioaktive Isotope. Durch Elementumwandlung¹⁾ lassen sich jedoch auch Radioisotope herstellen; so hat z.B. ⁷⁵Se als weicher Gammastrahler mit einer Halbwertszeit von 120,4 Tagen seit 1962 in der Nuklearmedizin eine breite Anwendung gefunden²⁾ (SCHRAUZER, 1998; KYRIAKOPOULOS und BEHNE, 2004).

Die Weltproduktion dieses Halbmetalls liegt bei 1.500 – 2.000 t (REILLY, 1993; BEDWAL et al., 1993; UNI TERRA, 1999), wovon das meiste bei der Aufarbeitung sulfidischer Kupfererze gewonnen wird. Zunehmende Bedeutung erlangt aber auch das Auslaugen selenhaltiger Flugstäube aus Kohleverbrennungsanlagen sowie das Recycling von Elektronikschrott. Ein Drittel des insgesamt produzierten Selens wird in hochreiner Form aufgrund seiner besonderen photoelektrischen Eigenschaften in der Reproduktionstechnik (Xerographie) sowie in geringerem Maße zur Herstellung von Photozellen und elektrischen Gleichrichtern eingesetzt. Die größten Abnehmer aber sind die Glas- und die Keramikindustrie, hier wird das Selen z.B. in Form von Cadmiumsulfoselenid als rotes Pigment verwendet.

Weitere Anwendungsgebiete sind der Gebrauch von Selenverbindungen in Schmiermitteln, in der Fotografie und als Legierungsbestandteil bei der Herstellung von Automatenstählen und Kupferlegierungen. Zudem werden Selensalze zur Schädlingsbekämpfung und im Pflanzenschutz sowie in Selenmangelgebieten zur Supplementierung in Futter- und Düngemitteln eingesetzt. Als Katalysator wird es in der chemischen Industrie bei der Oxidation organischer Verbindungen genutzt (SCHMIDT und BAYER, 1988; LANGNER, 1993; SAGER, 1994; HOLLMANN, 1995; SCHRAUZER, 1998).

¹⁾ Von den insgesamt 17 bekannten Radionukliden zerfällt Se-79 mit einer Halbwertszeit von mehr als 65.000 Jahren am langsamsten und Se-91 zerfällt mit 0,27 Sekunden am schnellsten.

²⁾ Durch Weiterentwicklung der Methoden, insbesondere durch die Verwendung eines ⁷⁴Se-Tracers sehr hoher spezifischer Aktivität, der durch Langzeitbestrahlung von hochangereichertem ⁷⁴Se mit thermischen Reaktorneutronen hergestellt wurde, lässt sich die Selektivität noch weiter erhöhen.

Tabelle 1: Wichtige Selenverbindungen und deren Verwendung (nach LANGNER, 1993)

Selenverbindung	Verwendung
Selendioxid	organische Chemie, Zusatz in Schmierstoffen
selenige Säure	Herstellung von Seleniten: Zink- und Bariumselenit als Additive in der Glasherstellung, Natriumselenit als Zusatz in Futtermitteln
Selensäure	starkes Oxidationsmittel zur Herstellung von z.B. Natriumselenat zur Flachglas- und Keramikherstellung
Selenwasserstoff	zur Herstellung von chemischen Verbindungen für Infrarot-Optiken, Solarzellen
Selendisulfid	pharmazeutische Verwendung in Antischuppen-shampoos
organische Selenverbindungen	Aminosäuren, Enzyme, Proteine (Selenomethionin, Selenocystein, Se-methyl-selenocystein) zur Verwendung in der pharmazeutischen Industrie

3.1.2 Selen in der Umwelt

In der Häufigkeitsliste der in der Erdkruste vorkommenden Elemente steht Selen an 60. Stelle mit einem Durchschnittsgehalt von $0,05 \text{ mg kg}^{-1}$ (4 Größenordnungen weniger als der chemisch verwandte Schwefel) und ist somit ähnlich selten wie Gold. Da Selen jedoch ubiquitär verbreitet ist, kommt es in Spuren in fast allen Gesteinen, Böden und Gewässern vor (HOLLEMANN, 1995; REILLY, 1996a).

Der Selengehalt in der Umwelt unterliegt jedoch starken regionalen Schwankungen: Er beträgt in der Atmosphäre ländlicher Gebiete $0,05 \mu\text{g m}^{-3}$ Luft und stieg¹⁾ in Industriegebieten bis auf $1,0 \mu\text{g m}^{-3}$ Luft an (ELMADFA, 1986). Die deutlich höheren Werte in der Nähe von Industriezonen waren primär auf die Selenemissionen von Stein- und Braunkohlekraftwerken zurückzuführen (GISSEL-NIELSEN et al., 1984; HARTFIEL und BAHNERS, 1987); sie führten obendrein zu höheren Selengehalten im Boden sowie in der darauf wachsenden Pflanzensubstanz (WIESNER et al., 1982; HARTFIEL und SCHULTE, 1988; SCHOLZ, 1988). So fand BAHNERS 1987 in Bodenpro-

¹⁾ Vor der flächendeckenden Einführung von Gaswäschern und Schadstofffiltern in Kraftwerken und Industriebetrieben.

ben aus Schleswig-Holstein¹⁾, dem Ruhrgebiet und dem Raum Salzgitter-Braunschweig deutlich höhere Selengehalte als in angrenzenden Gebieten. Bis in die 1980er Jahre war der Netto-Seleneintrag in die Böden industrienaher Standorte höher als deren Entzug über geerntetes Pflanzenmaterial, Auswaschung oder Biomethylierung (HAYGARTH et al., 1991).

In erster Linie aber stammt das Selen im Boden aus der Verwitterung des Ursprungsgesteins und ist somit stark abhängig von dessen Ausgangskonzentration (SCHULTE, 1988; ZIMMERLI und HALDIMANN, 1997): Vulkangestein enthält nur niedrige Selenkonzentrationen ($\sim 0,09 \text{ mg kg}^{-1}$), Sedimentgestein, wie z.B. Schiefer kann mehrere mg Se kg^{-1} aufweisen, metamorphische Gesteine nehmen eine Mittelstellung ein – der durchschnittliche Selengehalt mitteleuropäischer Gesteinsarten liegt zwischen $0,004 - 0,80 \text{ mg kg}^{-1}$ (WILBER, 1980; HAYGARTH, 1994).

Der unterschiedliche Selengehalt des Erdreichs ist darüber hinaus abhängig vom Typ des Bodens und vom Niederschlag. Die gute Wasserlöslichkeit vieler Selensalze hat zur Folge, dass Selen, genauso wie Jod, in regenreichen Ländern leicht aus dem Erdreich ausgewaschen wird (LANNEK und LINDBERG, 1975; MATHIS, 1982; SCHRAUZER, 1998), so dass in weiten Teilen Europas bei Mensch und Tier ein Jod- und Selenmangel gleichzeitig auftritt²⁾. Besonders selenarm sind Gebiete, die während der Eiszeiten von Gletschern bedeckt waren, also insbesondere Skandinavien, aber auch Mitteleuropa. Deutschland weist eine von Norden nach Süden abfallende Bodenselenkonzentration auf; alle deutschen Böden (abgesehen von Löss und Keuper) sind vergleichsweise selenarm (MATHIS et al., 1982; VOLAND et al., 1987; HARTFIEL und BAHNERS, 1987; ANKE et al., 1998).

Weltweit gesehen befindet sich ein extrem niedriger Selengehalt ($0,09 - 0,17 \text{ mg kg}^{-1}$) insbesondere in China in einem von Südwesten nach Osten verlaufenden Areal, das sich bis in die angrenzenden Gebiete Russlands erstreckt. Auch in Neuseeland, in großen Teilen Australiens, im Osten der USA und Kanadas sowie in den skandinavischen Ländern sind die Böden sehr arm an Selen. Demgegenüber enthält das Erdreich in den südwestlich gelegenen Staaten der USA, im Nordwesten Chinas, in Israel und Venezuela teilweise soviel Selen ($> 1,7 \text{ mg kg}^{-1}$), dass die darauf wachsenden Pflanzen für Nutztiere toxisch wirken und eine Selenose hervorrufen können (MAYER, 1998; GASNIER, 2002).

¹ Die hohen Gehalte der schleswig-holsteinischen Bodenproben wurden auf windverschleppte Emissionen aus Großbritannien zurückgeführt (HARTFIEL und SCHULTE, 1988).

² Ein kombinierter schwerer Jod- und Selenmangel scheint die Ursache von myxödematösem Kretinismus zu sein, während alleiniger Jodmangel zu neurologischem Kretinismus führt (CONTEMPRE et al., 1991a, b). Eine genügende Jodversorgung sollte immer die Voraussetzung für eine Selensupplementierung sein (KÖHRLE, 1994a, b; OSTER, 1996).

Innerhalb des Bodens nehmen die Selengehalte im Mittel vom Oberboden zum Unterboden hin ab und von Ackerböden zu Grünlandböden hin zu¹⁾ (HARTFIEL und BAHNERS, 1987; MATZKA, 1997). Bei den Selenspezies im Erdreich handelt es sich um eine variierende Mischung aus unlöslichen Seleniden, elementarem Selen, unlöslichen Pyrit-Selenit-Komplexen, löslichen Selensalzen (Selenite, Selenate) und organischen Selenverbindungen (Humate und Fulvate sowie Selenoaminosäuren). Durch Verwitterung der meist sulfidischen Selenminerale werden i.d.R. Selenide zu löslichen Seleniten oxidiert. Die organischen Selenverbindungen entstehen bei der Humifizierung pflanzlicher Rückstände bzw. durch mikrobielle Prozesse und werden von den Pflanzen, mit Ausnahme der Selenoaminosäuren, nicht direkt aufgenommen (MATHIS et al., 1982; WOLFFRAM, 1991; SCHRAUZER, 1998).

Entscheidend für die Selenumsetzung sind die chemisch-physikalischen Bodenbedingungen: pH-Wert, Bindungskapazität (korreliert mit der Masse der im Boden enthaltenen organischen Substanz), Klima, Bodenfeuchte, Redox-Bedingungen, Belüftungszustand und Tongehalt. Daher ist der Gesamtselengehalt eines Bodens kein alleiniger Indikator für die Selenversorgung der darauf wachsenden Pflanzen (YLÄRANTA, 1983).

Tonhaltige Böden (besonders Kaolinite) sind zwar oft selenreicher als Sandböden, die Selenaufnahme durch die Pflanzen ist wegen der geringeren Festlegungsrate auf sandigem Grund jedoch höher (GISSEL-NIELSEN, 1993). Bei der Verwitterung von in tonhaltigen Böden enthaltenen Eisensulfiden bilden sich $\text{Fe}(\text{OH})_3$ und Sulfate; das in ihnen enthaltene Selen wird zunächst nur zur selenigen Säure oxidiert. In sauren Böden (pH 4,5 – 6,5) verbindet sich diese mit dem $\text{Fe}(\text{OH})_3$ unter Bildung von schwerlöslichen Komplexen – in diesen kolloidalen Verbindungen ist das Selen so fest gebunden, dass es weder für Pflanzen verfügbar ist noch vom Regen ausgewaschen wird (REILLY, 1996a).

Dieser Effekt war auch in China in der Region Keshan festgestellt worden, wo zusätzlich zum geringen Bodenselengehalt eine Hyperazidität vorherrscht, die in Verbindung mit einem hohen Eisenvorkommen die Verfügbarkeit des Selens für Pflanzen extrem vermindert (SCHRAUZER, 1998).

In alkalischen Böden sind diese Komplexe dagegen nicht existenzfähig. Die entstehende selenige Säure (bzw. deren Anion) bleiben frei und können von der Pflanze direkt aufgenommen werden. Durch weitere Oxidation können jedoch auch Selenate entstehen, weshalb

¹⁾ Die Gründe für die niedrigeren Gehalte im Ackerboden liegen wahrscheinlich in einem stärkeren Entzug durch die angebauten Feldfrüchte sowie in einer ständigen „Verdünnung“ mit Unterboden beim regelmäßigen Pflügen.

gut belüftete, alkalische Böden das Selen vielfach als von Pflanzen leicht assimilierbares Selenat¹⁾ enthalten (VON DORST und PETERSON, 1984; GISSEL-NIELSEN, 1993; BRUSS et al., 1997).

Stauwasser und saure Böden dagegen weisen eine Reihe von ungünstigen Faktoren auf: Sie reduzieren die Selenate zu (dann festgelegten) Seleniten, diese können durch Mikroorganismen methyliert und damit via gasförmiger Verbindungen dem Boden entweichen. Andererseits kann mikrobiell das Selenit wieder zum Selenat oxidiert und anschließend ausgewaschen werden, wobei bei nassen Böden die Auswaschungsrate grundsätzlich höher ist (GEERING et al., 1968; GISSEL-NIELSEN, 1976; BRÜGGEMANN und OCKER, 1992; PFANNHAUSER, 1992b; SCHRAUZER, 1998).

Dabei kann Selenat ins Grundwasser bzw. in durchfließende Gewässer gelangen (SCHMIDT und BAYER, 1988). Natürliches Frischwasser hat einen Selengehalt von etwa $0,1 - 2 \mu\text{g L}^{-1}$ (EINBRODT und MICHELS, 1984), der Grenzwert für Trinkwasser²⁾ beträgt $10 \mu\text{g Se L}^{-1}$ (BÄRWALD et al., 1994).

3.2 Biotische Rolle des Selen

3.2.1 Pflanzen und Selen

Bei der geographischen Einteilung in Selenmangelgebiete und in Regionen mit ausreichender Selenversorgung werden nicht die Bodengehalte, sondern die Selenkonzentrationen der darauf wachsenden Pflanzen herangezogen. Der Gehalt der Pflanzen variiert entsprechend der Selenverteilung und der Verfügbarkeit im Boden, der Pflanzenart und des Wachstumsstadiums (SELENIUM, 1987). Beeinflussender Faktor ist der pH-Wert, so wird Selen aus alkalischen Böden im allgemeinen besser aufgenommen als aus sauren Böden (KESSLER, 1987; EDELBAUER, 1994; KOUTNIK und INGR, 1998).

An vielen Anbaustandorten ist in den letzten Jahrzehnten die Selenaufnahme durch die Pflanzen zurück gegangen. Die Gründe liegen zum einen in einer zunehmenden Versauerung der Böden (falls durch Kalken dem nicht entgegen gewirkt wird), zum anderen darin, dass bei intensiver Bewirtschaftung der Entzug aus dem Boden höher liegt als der Seleneintrag (TERRY et al., 2000; CARVALHO et al., 2003). Negative Einflussgrößen sind zudem der Schwermetallgehalt des Bodens (Pb, Cd, Hg, Zn, Sn) sowie der Einsatz sulfathaltiger Düngemittel, die die Selenaufnahme der Pflanzen kompetitiv hemmen (NRC, 1989a; RICHTER und BERGMANN, 1994; MURPHY und QUIRKE, 1997; ANKE et al., 1998).

¹⁾ In trockenen Böden wird es nicht so schnell ausgewaschen.

²⁾ Laut Trinkwasser-VO vom 22.05.1986. Dies entspricht auch dem Grenzwert des WHO-Standards.

Als Fazit ergibt sich daraus in den meisten Fällen, dass es (bei ausreichenden Selengehalten) kaum eine Korrelation zwischen dem Gesamtselengehalt des Bodens und der darauf wachsenden Pflanzen gibt. Allerdings, wo die Böden sowieso schon selenarm sind, ist es i.d.R. auch der Pflanzenaufwuchs (DOWNES et al., 1979; COMBS und COMBS, 1986; WOLFFRAM, 1991; EDELBAUER, 1994; WILPINGER et al., 1998). Ob Selen auch für Pflanzen essentiell ist, wird seit über 50 Jahren diskutiert, konnte aber bislang nicht bewiesen werden (LÄUCHLI, 1993; ELLIS und SALT, 2003). Es ließ sich jedoch nachweisen, dass Selen das Keimungsverhalten bzw. Wachstum positiv beeinflussen kann sowie die negativen Auswirkungen biotischer und abiotischer Stressfaktoren mindert (BEN-HAYYIM et al., 1993; HOLLAND et al., 1993; 1994; NAQVI et al., 1995; HAJ-BAKRI, 1996).

Selen kann von Pflanzen entweder als Selenat, Selenit oder in Form von Selenoaminosäuren aufgenommen werden (WOLFFRAM, 1991; KOUTNIK und INGR, 1998). Besonders effektiv wird Selenat über einen aktiven Schwefel-Carrier durch die Membranen der Wurzelzellen transportiert. Selenoaminosäuren wie Se-Met können von der Pflanze entsprechend der *Michaelis-Menten-Kinetik* aufgenommen werden. In der Pflanze selbst wird Selenat einfacher und schneller zum apikalen Teil transportiert als Selenit oder Selenoaminosäuren, was seine Ursache wahrscheinlich darin hat, dass diese Verbindungen direkt in der Wurzel dem Proteinmetabolismus zugeführt werden (TERRY et al., 2000).

Nach ROSENFELD und BEATH (1964) lassen sich drei Pflanzengruppen bezüglich ihrer Selenspeicherfähigkeit und Verwertung unterscheiden:

1. Pflanzen, die Selen in sehr hohem Ausmaß akkumulieren und Selengehalte von bis zu $20 - 30 \text{ mg kg}^{-1} \text{ TM}$ aufweisen können (sogenannte „Indikatorpflanzen“).
2. Pflanzen, die Selen mäßig akkumulieren ($30 - 100 \text{ mg kg}^{-1} \text{ TM}$ bei entsprechend hohen Selenkonzentrationen im Boden; sogenannte „sekundäre Indikatorpflanzen“ oder „Absorbierer“).
3. Pflanzen, die Selen normalerweise nicht akkumulieren ($< 30 \text{ mg kg}^{-1} \text{ TM}$)

(MARYLAND et al., 1989; BANUELOS und MEEK, 1990; BELL et al., 1992; GUO und WU, 1998).

Gruppe 1 umfasst Spezies der Gattungen *Astragalus* (Tragant), *Haplopappus*, *Machaeranthera*, *Neptunia*, *Oonopsis*, *Stanleya* und *Xylorrhiza*. Die Selentoleranz dieser Hyperakkumulatoren kommt durch den unspezifischen Einbau des aufgenommenen Selens in ihre Proteine sowie durch die anschließende Umwandlung der Selenoaminosäuren in physiologisch wenig aktive Derivate wie Se-Methyl-selenocystein oder Selenocystathion zustande (ALLAWAY, 1973; BROWN und SHRIFT, 1982; GISSEL-NIELSEN et al., 1984; STÜNZI, 1989; SCHMÖGER, 2000).

Wird eine gewisse Selenkonzentration in der Pflanze überschritten, erfolgt eine Ausschleusung in Form elementaren Selens, ihre Blätter können dadurch eine rote Färbung annehmen. Es handelt sich hierbei um einen Abbaumechanismus, da elementares Selen auf Pflanzen nur eine geringe Giftwirkung ausübt¹⁾. Ein weiterer Entgiftungsmechanismus ist die Methylierung, wobei flüchtiges Dimethylselenid entsteht (SCHRAUZER, 1998; TAGMOUNT et al., 2002; ELLIS und SALT, 2003).

Das Vorkommen dieser spezialisierten Pflanzen beschränkt sich natürlicherweise auf Regionen mit stark selenhaltigen Böden²⁾; die Aufnahme solcher Pflanzen durch Weidetiere kann zu akuten oder chronischen Selenvergiftungen führen, die Krankheitsbilder sind als *Blind Stagers*, *Hoof-Drop* und *Alkali Disease* bekannt (SHRIFT, 1973; COMBS und COMBS, 1986; REILLY, 1998).

Pflanzen aus der 2. Gruppe, zu der u.a. Spezies der Gattungen *Aster*, *Atriplex*, *Castilleja* und *Grindelia* gehören und deren Aufnahme ebenfalls zu Selenvergiftungen führen kann, unterscheiden sich von denjenigen der ersten Gruppe (abgesehen von einem geringeren Selengehalt) dadurch, dass ein größerer Anteil des enthaltenen Selens in Form von Selenaten vorliegt (STADTMAN, 1974; WILBER, 1980; COMBS und COMBS, 1986).

Die größte Bedeutung für die menschliche und tierische Ernährung haben allerdings Pflanzen, die Selen nicht akkumulieren (Gruppe 3). Diese Gruppe, die den weitaus größten Anteil aller Pflanzenarten repräsentiert, umfasst auch die meisten Nahrungs- und Futterpflanzen (NEUMANN-MUMME und BRONSCH, 1991). In ihnen liegt das Selen überwiegend in organischer, proteingebundener Form vor, wobei Selenomethionin als häufigste Selenoaminosäure dominiert (ULLREY, 1981; COMBS und COMBS, 1986; STADLOBER et al., 2001).

Das Selen folgt hier dem Schwefel-Assimilationsweg, es wird von den Wurzeln durch das Xylem in die Blätter transportiert, wo es dann in den Chloroplasten von den schwefelassimilierenden Enzymen metabolisiert wird (PILON-SMITS et al., 1999; TERRY et al., 2000). In dieser Gruppe werden selten Gehalte von $50 \text{ mg Se kg}^{-1} \text{ TM}$ überschritten, ohne dass sich das Selen negativ auf das Pflanzenwachstum auswirkt (ULLREY, 1974). Allerdings lässt sich durch Selektion eine steigende Selentoleranz bzgl. des Wachstumseinflusses erzielen (WANG et al., 1999).

¹ Im Gegensatz zu vielen anderen Selenverbindungen, vor allem anorganischen, übt elementares Selen auf Organismen i.d.R. die geringste toxische Wirkung aus, jedoch wirkt auch elementares Selen in hohen Konzentrationen wachstumshemmend.

² Sie zeigen als „Indikatorpflanzen“ das Vorhandensein besonders hoher Selenkonzentrationen im Boden an.

3.2.2 Selen als Spurenelement

Die Gesamtheit der tierischen und pflanzlichen Organismen besteht zu 96% aus den Makroelementen C, O, N, H; weitere 3,6% entfallen auf die Mengenelemente P, Ca, K, Mg, Na, S, Cl. Alle übrigen Elemente, die am Aufbau der Biosphäre mit einem Massenanteil von insgesamt nur 0,4% beteiligt sind, werden entsprechend ihres Gehaltes unter dem Begriff Spurenelement ($\leq 50 \text{ mg kg}^{-1}$ Körpergewicht¹) zusammengefasst. Die lebensnotwendigen unter ihnen können als „essentielle Spurenelemente“ auf die physiologischen Vorgänge im Organismus einen wesentlichen Einfluss ausüben (KIEFFER, 1984; FRIEDEN, 1985; BEHNE und IYENGAR, 1989).

Als essentiell werden im menschlichen und tierischen Organismus die Spurenelemente Fe, I, F, Zn, Cu, Mn, Cr, Mo, Co, Ni und Se bezeichnet, deren Abwesenheit oder Mangel zu Veränderungen im Stoffwechsel und im Extremfall zu klinischen Symptomen führt. Alle übrigen Elemente, welche sich in Konzentrationen von $\leq 50 \text{ mg kg}^{-1}$ Körpergewicht im Organismus auffinden lassen, ohne dass eine biologische Funktion bekannt ist, bezeichnet man als akzidentielle Spurenelemente oder Ultraspurenelemente (KIRCHGEßNER, 1989).

Selen ist das einzige Spurenelement, dessen Stoffwechsel und Gewebsverteilung direkt genetisch kontrolliert wird² (BEHNE und KYRIAKOPOULOS, 1997; DREHER et al., 1997; WEISS et al., 1997). Die Selenkonzentration im gesunden, erwachsenen Menschen beträgt dabei zwischen 0,14 – 0,29 mg kg^{-1} Körpergewicht (HESEKER, 2001; GASNIER, 2002).

Die Bereiche einer mangelnden, suboptimalen, optimalen, subtoxischen und toxischen Versorgung (Abb.1) sind für jedes essentielle Element verschieden. Die Bioverfügbarkeit der einzelnen Mengen- und Spurenelemente wird von ihrem Gehalt im Organismus beeinflusst; die biologische Wirkung dieser Elemente ist darüber hinaus von den jeweilig vorliegenden Element-Spezies abhängig.

¹ Ausnahme: Eisen ist im Körper zu 50 - 60 mg kg^{-1} Körpergewicht enthalten.

² Nach der Entdeckung eines die Inkorporation von Selen in Form von Selenocystein in spezifische Proteine steuernden Codons.

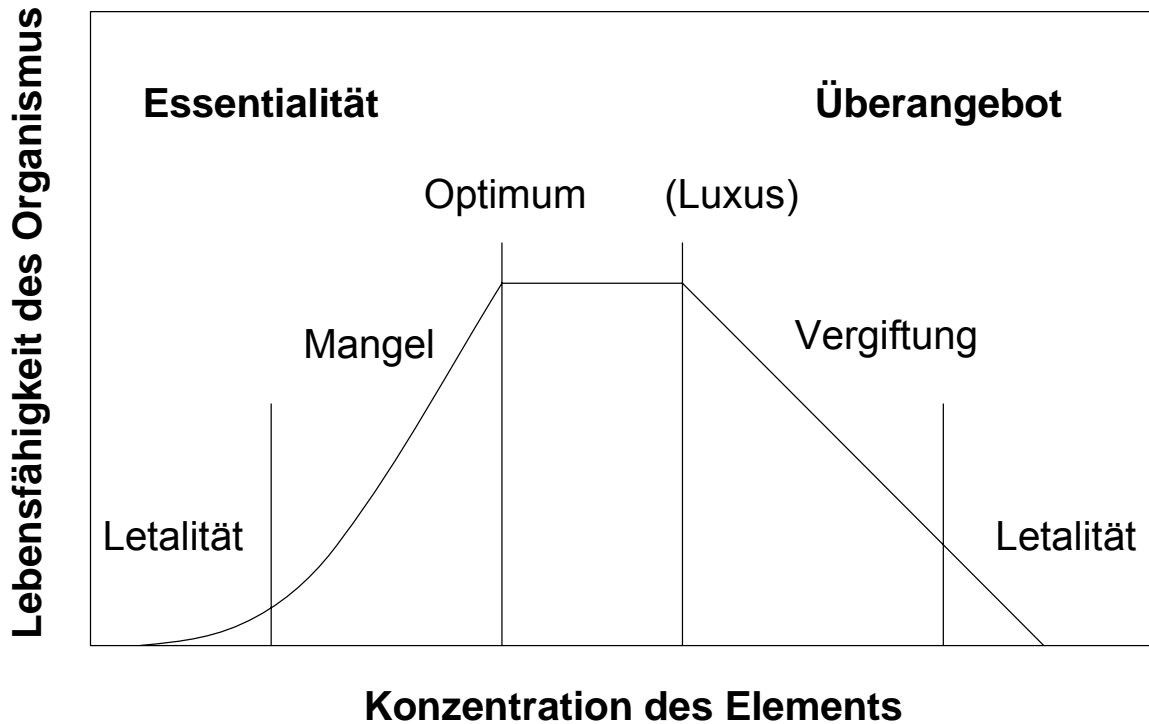


Abb. 1: Lebensfähigkeit eines Organismus als Funktion der Konzentration eines essentiellen Elementes (Dosis-Wirkungs-Beziehung)
(nach FRIEDEN, 1985; PFANNHAUSER, 1988)

3.2.3 Selen in der Tierernährung

Selen¹⁾ wird vom tierischen (und menschlichen) Organismus besser als andere Spurenelemente wie z.B. Zn, Cu, Mn oder Fe aufgenommen (DANIELS, 1996; SCHRAUZER, 1998). Die Resorption und die Verteilung in den verschiedenen Organen hängen von der Spezies²⁾ des zugeführten Selens sowie einer Reihe weiterer Faktoren (Antagonisten/Synergisten in der Nahrung, Versorgungsniveau, Aufnahmezeitraum, physiologische Disposition des Organismus und Tierart) ab (COMBS und COMBS, 1984; 1986; WÜRMLI, 1989).

¹ Sowohl aus pflanzlichen Quellen, als auch aus Supplementen bzw. isolierten Formen in Form von Selenomethionin oder Natriumselenit.

² (von lat.: species = Anblick, Gestalt, Begriff): In der Chemie eine Atom- oder Molekülart, besonders dann, wenn die Konstitutionen noch nicht bekannt sind (FALBE und REGITZ, 1995).

Tracer-Studien ergaben, dass Selen¹⁾ hauptsächlich im Dünndarm und Zwölffingerdarm absorbiert wird (WHANGER et al., 1976; FORTH et al., 2001). Zudem findet in den Vormägen von Wiederkäuern praktisch keine Absorption statt (WRIGHT und BELL, 1966). Monogastrier haben eine deutlich höhere intestinale Resorptionsrate als Wiederkäuer, bei denen anorganische Selenverbindungen in den Vormägen zu schwer- bzw. unlöslichen Metallseleniden reduziert werden können – in einem Ausmaß von bis zu 70% (OLDFIELD, 1985; WOLFFRAM und SCHARRER, 1986; COMBS und COMBS, 1986; WOLFFRAM, 1991).

Nach der Resorption gelangt das Selen an Plasmaproteine gebunden zu allen Geweben, wo es dann an unterschiedlichsten biochemischen Reaktionen beteiligt sein kann. Im Allgemeinen besteht eine positive Korrelation zwischen der Höhe der Selenaufnahme und dem Gehalt im tierischen Organismus (SHAMBERGER, 1983; COMBS und COMBS, 1986; HINTZE et al., 2001). Die Rangfolge der Selenkonzentration in verschiedenen Organen ist bei allen Tierarten bemerkenswert ähnlich. Auf die TM bezogen fällt sie in dieser Reihenfolge ab:

- Spermien, Niere²⁾, Schilddrüse, Hypophyse³⁾, Leber, Pankreas, Herz, Skelettmuskulatur (GRAMM et al., 1992).

Dies lässt auf eine dem Verteilungsmuster entsprechende Bedeutung dieses Spurenelementes in den einzelnen Organen schließen. Bei einem Mangel wird Selen vor allem in Hoden, Schilddrüse und Hypophyse³⁾ konserviert; bilanzmäßig betrachtet⁴⁾, enthalten die Muskeln 40%, die Leber etwa 30% und die anderen Organe jeweils 10% des Gesamtkörperselens (COMBS und COMBS, 1986; OSTER et al., 1988; SILL-STEFFENS et al., 2001).

3.2.4 Selenausscheidung beim Tier

Selen kann über Harn, Kot, Atemluft und Milch ausgeschieden werden (WIESNER et al., 1974). Beim Monogastrier erfolgt die Exkretion hauptsächlich renal als Trimethylselenonium-Ion ($((\text{CH}_3)_3\text{Se}^+)$) (LEVANDER und BAUMANN, 1966; NAHAPETIAN et al., 1983; BARCELOUX, 1999; PATCHING und GARDINER, 1999). Über den Kot (überwiegend bei Wiederkäuern) wird intestinal nicht resorbiertes Selen wieder ausgeschieden. Es wird jedoch auch eine enterohepatische Reabsorption des Selens zum Bilanzausgleich, ähnlich der des Kupfers, vermutet (OSTER und SIEVERS, 1995). Bei steigender Selenaufnahme wird zunehmend mehr Selen wieder entfernt. Dies geschieht zunächst nur renal (SCHÖNTHALER, 1998). Nur bei extremer Überversorgung bzw. im Zuge der Detoxikation entstehen im Körper methylierte Organoselenverbindungen, die leicht ausge-

¹ Sowohl organische als auch anorganische Verbindungen.

² Aufgrund ihrer Funktion als Hauptausscheidungsorgan, siehe Kapitel 3.2.4.

³ Hirnanhangsdrüse

⁴ Diese ungefähre Verteilung ist bei allen Tierarten bemerkenswert ähnlich (BEHNE und WOLTERS, 1983).

schieden werden können: Die beiden Dimethylderivate Dimethylselenid ($\text{CH}_3\text{-Se-CH}_3$) und Dimethyldiselenid ($\text{CH}_3\text{-Se-Se-CH}_3$) werden entweder exhaliiert oder durch die Haut abgegeben (BURK et al., 1972; COMBS und COMBS, 1986).

3.2.5 Selenmangelkrankheiten beim Tier

Verallgemeinert lässt sich sagen, dass bei Jungtieren die Krankheitsbilder einen schwereren Verlauf zeigen als bei adulten Tieren. Selenmangel-Erkrankungen haben vor allem bei Nutztieren eine praktische Bedeutung (WOLFFRAM, 1992). Die besondere Empfindlichkeit von Wiederkäuern für einen Selenmangel ist zumindest teilweise darauf zurückzuführen, dass durch die Bildung schwer- bzw. unlöslicher Selenide durch die reduzierenden Bedingungen in den Vormägen die Bioverfügbarkeit des mit der Nahrung aufgenommenen Selens wesentlich verschlechtert wird (siehe Abschnitt 3.2.3).

Bei Nutztieren verursacht ein Selenmangel neben Infertilität (SELENIUM, 1987; CAPAUL et al., 1989; JASKOWSKI, 1993; KLAWONN et al., 1996; MAIORINO et al., 1998) vorrangig die so genannte Weißmuskelerkrankung, die vor dem Erkennen der kausalen Faktoren zum Teil erhebliche wirtschaftliche Verluste bedingte (WOLFFRAM, 1992). Sie trat in vielen Ländern mit einer intensiven Viehzucht auf und äußert sich in Form von Lähmungserscheinungen der Extremitäten und der Atemmuskulatur sowie in einer Muskeldegeneration mit Weißfärbung infolge von Kalziumablagerungen. Die Tiere verenden oft schon wenige Stunden nach dem Auftreten der ersten Symptome.

Vor der Einführung einer systematischen Zufütterung von Selen verloren die Landwirte in selenarmen Gegenden, wie z.B. im US-Bundesstaat Oregon, bis zu 50% ihrer Lämmer¹⁾. Besonders gehäuft trat die Weißmuskelerkrankung nach einer Überdüngung von Weideland mit sulfathaltigen²⁾ Düngern wie z.B. Ammoniumsulfat auf. Grundsätzlich kann es bei allen Tierarten bei einem Selenmangel zu einer Schädigung der quergestreiften, bei Geflügel auch der glatten Muskulatur kommen. Des Weiteren ist auch mehr oder weniger häufig die Herzmuskulatur betroffen. Beim Geflügel, vor allem bei Küken, führt dieser Mangel zur Entstehung der so genannten exsudativen Diathese³⁾, die unter anderem durch eine erhöhte Permeabilität der Kapillaren charakterisiert ist.

¹ In Estland, Neuseeland und der Türkei wurden bei bis zu 20 – 30% der Lämmer diese Krankheitssymptome beobachtet.

² Antagonismus Selen-Schwefel siehe Kapitel 3.2.1.

³ Spezifische Krankheitsbereitschaft, auf unterschiedliche Reize immer in der gleichen Art und Weise, namentlich mit übermäßigen Exsudationen (Austreten von Flüssigkeiten) an Haut und Schleimhäuten, zu reagieren.

Eine weitere Erkrankung bei jungen Küken ist die ernährungsbedingte Pankreasatrophie¹⁾, die vor allem durch einen Selenmangel hervorgerufen wird, obwohl bei dieser Krankheit auch hohe Dosen von Vitamin E die Entstehung verhindern können (COMBS und COMBS, 1986). Dieser Mechanismus einer Tocopherolsupplementierung hilft auch bei anderen Erkrankungen, z.B. der enzootischen Muskeldystrophie²⁾ bei Kälbern (SCHRAUZER, 1998).

Tabelle 2: Selenabhängige Erkrankungen beim Tier (nach VAN VLEET, 1980)

Spezies	Klinisches Bild
Rind (adult)	paralytische Myoglobinurie (Störungen der Muskelfunktion) Retentio secundinarum (Nachgeburtverhaltung) Kümmern Mastitis (Brustentzündung)
Kalb	Weißmuskelkrankheit Kümmern
Schaf (adult)	Unfruchtbarkeit Kümmern
Lamm	Weißmuskelkrankheit Kümmern
Pferd	Skelettmuskeldegeneration schlechte Rennkondition
Fohlen	Weißmuskelkrankheit Steatitis (yellow fat disease)
Schwein	Hepatositis diabetica (toxische Leberschädigung) Ulcus oesophagogastricum (Magengeschwür) Maulbeerherz-Krankheit
Geflügel	exsudative Diathese (s.o.) Pankreasnekrose Enzephalomalazie (Gehirnerweichung) Muskeldegeneration (glatte und quergestreifte)
Hund	Skelettmuskeldegeneration
Katze	Steatitis (yellow fat disease)

¹ Störung der Bauchspeicheldrüse

² Infektiöse, nichtneurogene Muskelschwunderkrankung. Führt bei 13% aller deutschen Kälber zum Tod (KEMIRA, 2004).

3.3 Biochemische Funktionen des Selens

3.3.1 Verteilung im menschlichen Körper

Selen kommt in allen Körperzellen und -flüssigkeiten des Menschen vor. Die höchsten Konzentrationen finden sich (in absteigender Reihenfolge) in Schilddrüse, Niere, Leber, Hoden, Milz, Herz, Prostata, Lunge, Skelettmuskulatur, Gehirn, Vollblut, Plasma, Galle.

Von den insgesamt nur 3 – 20 mg Selen¹⁾ im menschlichen Körper befinden sich 40 – 50% im Muskelgewebe, gefolgt von Knochen, Haut und Darm mit insgesamt ~27%, der Leber mit 8%, dem Blut mit ebenfalls 8% und der Niere mit 4% (DANIELS, 1996; SILL-STEFFENS et al., 2001).

Tabelle 3: Selenkonzentrationen in verschiedenen Ländern und einzelnen Organen
(nach OSTER et al., 1988)

	Leber	Niere	Muskeln	Herz
Deutschland	0,291 $\mu\text{g g}^{-1}$	0,771 $\mu\text{g g}^{-1}$	0,111 $\mu\text{g g}^{-1}$	0,170 $\mu\text{g g}^{-1}$
Neuseeland	0,209 $\mu\text{g g}^{-1}$	0,750 $\mu\text{g g}^{-1}$	0,061 $\mu\text{g g}^{-1}$	0,190 $\mu\text{g g}^{-1}$
USA	0,540 $\mu\text{g g}^{-1}$	1,090 $\mu\text{g g}^{-1}$	0,240 $\mu\text{g g}^{-1}$	0,280 $\mu\text{g g}^{-1}$
Japan	2,300 $\mu\text{g g}^{-1}$	1,500 $\mu\text{g g}^{-1}$	1,700 $\mu\text{g g}^{-1}$	1,900 $\mu\text{g g}^{-1}$

Bei Selenmangelperioden weicht das Verteilungsmuster von dem in den ausreichend versorgten Zeiten ab: Eine bevorzugte Selenversorgung ist dann dem Gehirn, dem Endokrium²⁾ und den Keimdrüsen vorbehalten. Die Selen-Pools im Muskel und der Leber werden zugunsten dieser Organe relativ schnell mobilisiert (SCHEID, 1989; OSTER, 2003).

3.3.2 Physiologische Eigenschaften des Selens

Im menschlichen und tierischen Organismus wird Selen hauptsächlich in Form der Aminosäure Selenocystein vorgefunden. In dieser kovalenten Bindungsform übt Selen seine wichtigsten biologischen Funktionen aus. Selenocystein wird spezifisch in das aktive Zentrum verschiedener Enzyme eingefügt, die enzymatische Aktivität dieser Proteine ist dadurch stark selenabhängig (PATCHING und GARDINER, 1999; ARTHUR, 2000). Da der spezifische Einbau des Selenocysteins vom UGA-Codon³⁾ in der mRNA codiert wird, wird sie auch als die 21.

¹ 3-6 mg in Selenmangelgebieten wie Neuseeland bis 13-20 mg in gut versorgten Gebieten (DANIELS, 1996).

² Die Gesamtheit der hormonproduzierenden Drüsen mit innerer Sekretion.

³ Da Selenocystein kein eigenes Codon im genetischen Code besitzt, muss es sich dieses mit dem Signal für das Ende der Translation (Stop-Codon) teilen.

proteinogene Aminosäure bezeichnet (LOW und BERRY, 1996 ; REILLY, 1996a; GLADYSHEV und KRYUKOV, 1999; RAYMAN, 2000a).

In physiologischen Mengen aufgenommenes Selen wird über einen intermediären Selen-Pool in eine Reihe von Proteinen eingebaut. Diese Selenoproteine lassen sich grob in drei Gruppen einteilen:

1. Selenbindende Proteine, die vermutlich über Transport- und Speicherfunktionen verfügen.
2. Nicht-spezifische Selenoproteine, bei denen das Selen unspezifisch als Schwefelanalogon eingebaut wird (überwiegend als Selenomethionin, seltener als Selenocystein).
3. Spezifische Selenoproteine, die in ihrem aktiven Zentrum Selen enthalten (Selenocystein), das für die biologische Aktivität verantwortlich ist. Diese spezifischen Proteine sind im eigentlichen Sinne die Selenoproteine (REILLY, 1996a; BEHNE und KYRIAKOPOULOS, 1997).

Alle Selenoproteine sind dadurch gekennzeichnet, dass die Selenol-Gruppe des Selenocysteins bei physiologischem pH-Wert ionisiert vorliegt. Dadurch ist sie chemisch reaktiver als die nichtionisierte Thiolgruppe des Cysteins – dies ist jedoch auch gleichzeitig der Grund für die Toxizität des organisch gebundenen Selens (SCHRAUZER, 1998).

Die molekularen Grundlagen der Funktionen des Selens im Zellstoffwechsel sind in den letzten Jahren zunehmend aufgeklärt worden. Bisher wurden 35 Selenoproteine beim Menschen entdeckt, wobei die jeweilige Aufgabe noch nicht bei allen bekannt ist (GIVENS et al., 2004). Man geht davon aus, dass es noch weitere (insgesamt ca. 50 – 60) solcher spezifischen Selenoproteine in unserem Körper gibt, deren genaue Struktur und Funktion bislang noch nicht erforscht sind (SILL-STEFFENS et al., 2001). Sicher identifiziert und in ihrer spezifischen Rolle beschrieben wurden bis jetzt zwölf funktionelle Selenoproteine bei Säugetieren und sieben weitere bei Bakterien (ANKE und SCHÜMANN, 1999).

Eine Reihe von ihnen weist antioxidative Eigenschaften auf. Beim Schutz von Lipiden vor einer Oxidation zeigt sich zudem eine synergistische Beziehung zwischen Selen und Vitamin E (LEVANDER, 1987; ELMADFA und LEITZMANN, 1990; BIESALSKI et al., 1997). Im Falle einer Mangelversorgung mit Selen stellt eine homöorhetische Regulation sicher, dass die Selenoproteine, die die lebenswichtigsten Funktionen erfüllen, bevorzugt mit Selen versorgt werden (KIRCHGEßNER, 1989; PATCHING und GARDINER, 1999). Die bisher am besten verstandenen Selenoproteine sind im Folgenden aufgeführt:

3.3.3 Essentielle Selenoproteine

3.3.3.1 Glutathion-Peroxidasen (GSH-Px)

Die wichtigste biochemische Rolle kommt dem Selen als Bestandteil der Wirkungsgruppe in der Glutathion-Peroxidase (GSH-Px)¹⁾ zu, deren wesentliche Rolle der Schutz vor intra- und extrazellulären Sauerstoffradikalen und Hydroperoxiden ist (FLOHÉ et al., 1989; 1997; 1998; 2000). Die Glutathion-Peroxidase kann in allen Geweben nachgewiesen werden in denen oxidative Prozesse ablaufen (REILLY, 1998). Nach der Umwandlung der primär in den Mitochondrien laufend entstehenden Sauerstoffradikale zu H_2O_2 und O_2 durch die zink- und kupferabhängigen Superoxid-Dismutasen, übernimmt die GSH-Px deren weiteren Abbau. Sie sorgt für die Reduktion von H_2O_2 zu Wasser und von Lipid- oder Cholesterol-Hydroperoxiden zu entsprechenden Alkoholen (SCHRAUZER, 1998; ARTHUR, 2000).

Dadurch wirkt dieses Enzym protektiv gegen Folgeprodukte reaktiver Sauerstoffverbindungen und ist somit am Schutz der Lipide und Biomembranen des Organismus vor Oxidation maßgeblich beteiligt (URSINI und BINDOLI, 1987; FLOHÉ et al., 1997). Im ersten Schritt dieser katalytischen Reaktion werden die Hydroperoxide mit der Selenolatform der GSH-Px zu Alkoholen reduziert, wobei die Selenolatrete zur Selenylsäure reagieren. Das nun eingreifende Glutathion bildet mit ihr ein Selensulfidaddukt. Ein zweites beteiligtes Glutathionmolekül dient als Reduktionsäquivalent, dabei regeneriert es die GSH-Px (STRYER, 1991; URSINI et al., 1985; 1995; FLOHÉ et al., 1989; 1997). Die Regeneration des oxidierten Glutathions (GSSG) wiederum erfolgt mit Hilfe der $NADPH+H^+$ -abhängigen Glutathion-Reduktase, wobei Glucose-6-phosphat als Energiequelle dient (SCHRAUZER, 1998).

Besonders gefährdet sind die mehrfach ungesättigten Fettsäuren in den Zellmembranen. Werden sie von Radikalen angegriffen, kommt es zur Lipidperoxidation sowie zur Auslösung einer Kettenreaktion. Somit erklären sich die daraus resultierenden Membranveränderungen der Zelle mit Permeabilitätsstörungen bei einem mäßigen Radikalaufkommen sowie der Zelluntergang bei einer hohen Belastung (URSINI und BINDOLI, 1987; THOMAS et al., 1990). Die permanente Bildung von freien Radikalen bei der Energiegewinnung in den Mitochondrien stellt demnach eine ständige Bedrohung für das Überleben der Zellen aller Organe dar²⁾.

¹ 1957 erstmals von MILLS et al. in der Erythrozytenmembran entdeckt. Es besteht aus vier homologen Untereinheiten, die jeweils ein Molekül Selenocystein enthalten; wird das Selenocystein durch das schwefelhaltige Cystein ersetzt, bewirkt dies einen rapiden Rückgang der Enzymaktivität (PATCHING und GARDINER, 1999).

² Daraus wird deutlich, dass der Sauerstoff einen ebenso lebensnotwendigen, wie tödlichen Effekt auf die Zellen ausübt: Auf der einen Seite ist er zur Energiegewinnung unabdingbar, auf der anderen Seite bedroht er dabei ihr Überleben durch die laufende Bildung dieser zelltoxischen Sauerstoffradikale.

Zur Lösung dieses Problems entwickelte der Organismus die antioxidative Abwehr. Die essentielle Aufgabe der hierfür eingebundenen GSH-Px ist die Erhaltung eines geregelten Gleichgewichtes zwischen Bildung und Neutralisierung der Sauerstoffradikale. Verschiebt sich diese fein geregelte Balance, das Redox-Gleichgewicht, zugunsten einer verstärkten Radikalbildung, entsteht der oxidative Stress (SIES et al., 1985; 1998).

Identifiziert sind vier verschiedene Glutathion-Peroxidasen:

- Cytosolische, erythrozytäre oder klassische GSH-Px (cGSH-Px)
- Plasma-GSH-Px (pGSH-Px)
- Phospholipid-Hydroperoxid-GSH-Px (PH-GSH-Px)
- Gastrointestinale GSH-Px (GI-GSH-Px)

Am besten untersucht ist die cGSH-Px (GPX-1; EC 1.11.1.9). In allen Geweben von Säugtieren, in denen verstärkt oxidative Prozesse ablaufen, konnte sie in hoher Konzentration nachgewiesen werden (BEHNE et al., 2000). Eine besonders starke Anreicherung findet sich deshalb in Schilddrüse, Erythrozyten, Thrombozyten, Phagozyten, Leberzellen und den Augen (BAYER, 1996); die Aktivität der cGSH-Px¹⁾ kann bei suboptimaler Selenversorgung als Maß zur Abschätzung des Selenstatus und der Selenzufuhr herangezogen werden (PFANNHAUSER, 1992b; ÅKESSON et al., 1997; MAYER, 1998). Durch eine spezifische Reaktion mit reduziertem Glutathion als Wasserstoffdonator verhindert sie oxidative Abbauvorgänge in der Zelle. So schützt die cGSH-Px z.B. Hämoglobin und die Erythrozytenmembran vor der oxidativen Zerstörung durch Hydroperoxide, Hydroxylradikale oder naszierenden Sauerstoff aus dem Fettsäureabbau (ZIMMERLI et al. 1995; REILLY, 1996a; SCHRAUZER, 1998).

Die Synthese der pGSH-Px erfolgt in den Nieren²⁾, hier erfüllt sie wahrscheinlich auch ihre antioxidative Funktion und schützt Membranen vor der oxidativen Zerstörung (REILLY, 1996a). Die genaue Funktion der pGSH-Px ist zwar noch unbekannt, dies spielt aber keine Rolle, wenn es um die Beurteilung des Selenstatus geht, da hierbei nur ihre Aktivität gemessen wird (BIESALSKI et al., 1997).

¹ Ein Mangel führt zu einer verringerten Herstellung der vasodilatatorisch wirkenden Prostacycline sowie zu einer verstärkten Bildung der aggregatorisch wirksamen Thromboxane (RAYMAN, 2000a). Zudem übt sie (zusammen mit der pGSH-Px) einen dämpfenden Effekt auf den Prostaglandin-Leukotrien-Stoffwechsel aus, woraus ihre antiinflammatorische Wirkung bei akuten sowie chronischen Entzündungsprozessen resultiert (NÉVE, 1995; 1996).

² Geringere Mengen auch im Herzen, in der Plazenta, in gastrointestinalen Zellen sowie in Lunge und Schilddrüse, jedoch nicht in der Leber.

Die PH-GSH-Px wird vor allem in endokrinen Geweben und Reproduktionsorganen exprimiert, kann aber auch Cholesterol-Hydroperoxide bzw. Hydroperoxid-Gruppen in peroxidierten Phosphatiden in allen Membranen reduzieren – eine Erklärung für den Synergismus mit Vitamin E (MAIORINO et al., 1992; URSINI et al., 1995; DIPLOCK, 1994). Sie reduziert wasserunlösliche Substrate wie Hydroperoxide von Phospholipiden in Zellmembranen sowie Cholesterinhydroperoxide (während die cGSH-Px nur hydrophile Peroxide reduziert). Eine besondere Bedeutung nimmt die PH-GSH-Px beim Prozess der Spermatozoidentwicklung ein und steht somit mit der männlichen Fruchtbarkeit in Verbindung¹⁾.

Die Bedeutung der GI-GSH-Px ist bislang über weite Strecken noch ungeklärt. Sie kommt als gewebsspezifisches Enzym vor allem im Darm, der Leber und pathologisch auch in Mammakarzinomzellen vor (ZIMMERLI et al., 1995; CHU et al., 1999). In Zeiten eines Selenmangels bleibt die Aktivität der GI-GSH-Px noch lange erhalten (WINGLER et al., 1999a-c; BRIGELIUS-FLOHÉ et al., 2001).

3.3.3.2 Dejodasen

Selen ist nicht nur als Antioxidans bedeutend, sondern auch für den Schilddrüsenstoffwechsel (FORCHHAMMER und BÖCK, 1991), was auch dadurch verdeutlicht wird, dass die Schilddrüse die höchste Selenkonzentration aller menschlichen Organe aufweist (SILL-STEFFENS et al., 2001). Die Dejodasen²⁾ regulieren den Schilddrüsenstoffwechsel sowohl in der Schilddrüse selbst, aber ebenso in allen peripheren Organen (St.GERMAIN und GALTON, 1997; BIANCO et al., 2002). Für die Dejodierung von Schilddrüsenhormonen stehen drei verschiedene Dejodasen zur Verfügung, sie alle benötigen Selen in ihrem aktiven Zentrum (St.GERMAIN und GALTON, 1997).

Das Selenoenzym Typ I 5'-Jodthyronin-Dejodase (ID-I) gehört zu den unmittelbar lebensnotwendigen Enzymen. Es katalysiert als wichtigstes Enzym in Schilddrüse, Leber, Niere, Hypophyse sowie im ZNS die Umwandlung von Thyroxin (T_4) in die physiologisch aktive Form Trijodthyronin (T_3) und den Abbau von rT_3 zu $3,3'$ - T_2 . Damit ist dieses Enzym maßgeblich am Metabolismus des Schilddrüsenhormons Thyroxin beteiligt (BEHNE et al., 1988; 1990; BAYER, 1996; ANKE et al., 1998). Wegen seiner Essentialität wird es vorrangig mit Selen versorgt (D-A-CH, 2000).

¹ Die während der Spermatogenese sich an der Basis des Flagellums akkumulierenden Mitochondrien bilden an ihrer Außenmembran eine verdichtete keratinartige Kapsel, die zu über 50% aus dem *mitochondrial capsule selenoprotein* besteht, das als PH-GSH-Px identifiziert wurde (ARTHUR, 2000).

² Die Aktivität der Dejodasen wird reguliert über die Wirkung von TSH, durch Schilddrüsenhormone, Kälte, ein erhöhtes Kohlenhydratangebot sowie Selen. Ihre Enzymaktivität nimmt ab durch die Wirkung einiger Zytokine, beim Fasten und bei schweren Allgemeinerkrankheiten (Nieder-T3-Syndrom). Allerdings kommt es nur im ausgeprägten Selenmangel infolge einer verringerten Dejodaseaktivität zu einer verminderten Konversion von T_4 zu T_3 – jedoch führt ein gleichzeitig bestehender Jodmangel in diesem Fall zur Entstehung einer Hypothyreose (GASNIER, 2002).

Die Typ II 5'-Dejodase (ID-II) katalysiert ebenfalls die Dejodierung von T_4 zum aktiven T_3 sowie die 5'-Monodejodierung (SCHRAUZER, 1998) und wird vor allem bei der Hypothyreose¹⁾ im ZNS, in der Hypophyse sowie in der Plazenta expremiert.

Die Typ III 5-Dejodase (ID-III) katalysiert die Inaktivierung von T_4 zum inaktiven rT_3 und den Abbau von T_3 , vor allem zum $3,3'$ - T_2 . Sie wird fast überall im Körper expremiert.

3.3.3.3 Selenoprotein P (SeP)

Das Selenoprotein P ist das Enzym mit dem höchsten Selengehalt. Es findet sich im Blutplasma und macht etwa 60 – 80% der Plasmaselenkonzentration aus (WILSON und TAPPEL, 1993; ZIMMERLI et al., 1995). Es wird in der Leber gebildet, in das Plasma abgegeben und bindet sich an Heparin²⁾ und Zellmembranen. Immunbiologische Untersuchungen haben gezeigt, dass die SeP-Konzentration³⁾ im Plasma stark mit der Selenaufnahme variiert, jedoch auch von anderen Faktoren wie z.B. Rauchen und der geographischen Lage beeinflusst wird (THOMSON et al., 1985; SWANSON, 1990).

Seine hohe Priorität bei der Sättigung mit Selen weist auch auf eine wichtige Funktion im Körper hin (D-A-CH, 2000). Selenoprotein P wird ähnlich wie die cGSH-Px als guter Indikator für den Selenstatus angesehen, gegenwärtig gibt es dafür aber noch keine breit eingeführte Bestimmungsmethode (GARSMANN, 2000).

3.3.3.4 Thioredoxin-Reduktase (TxR)

Die erst vor einiger Zeit entdeckte Thioredoxin-Reduktase sorgt für die Aufrechterhaltung der intrazellulären und intranukleären Redoxsysteme, insbesondere in den immunkompetenten Zellen (MARCOCCI et al., 1997). Dabei katalysiert dieses Enzym die NADPH-abhängige Reduktion

¹ Herabgesetzte Tätigkeit der Schilddrüse.

² In Mastzellen gebildet (und darin mit Histamin vorkommender), die Blutgerinnung hemmender, die Fibrinolyse und Fettklärung fördernder Wirkstoff.

³ EKMEKCIOGLU (2000) erwähnt eine eventuelle antioxidative Wirkung im Plasma und im Extrazellulärraum aufgrund seiner reduzierenden Wirkung gegenüber Phospholipidhydroperoxiden. Im Organismus ist SeP assoziiert mit Endothelzellen und wird in allen Geweben, bevorzugt im Gehirn, eingelagert. Es handelt sich um ein Enzym, welches das Gefäßendothel vor oxidativem Stress schützen kann, indem es die Peroxidation der ungesättigten Fettsäuren in Lipiden hemmt (ARTEEL et al., 1999; BROWN und ARTHUR, 2001). Die Endothelzellen stellen eine konstante Quelle von Stickstoffmonoxid (NO) dar, das mit Superoxid-Radikal-Anionen (O_2^-) Peroxonitrit (ONOO⁻) bildet. Das Selenoprotein P vermag diese entzündungsfördernde und DNA-Bruch verursachende Substanz zu reduzieren und hat somit eine große Bedeutung beim Plasmaschutz (PERSOSON MOSCHOS, 2000). In jüngster Zeit ist das Selenoprotein P im Blut als der Vermittler des Selens aus der Nahrung in die Gewebe identifiziert worden. Auch eine mögliche Rolle als Marker im Rahmen der Krebsfrüherkennung wird diskutiert (SCHOMBURG et al., 2003), ebenso wie bei der Detoxikation von Metallen (PATCHING und GARDINER, 1999).

des Redoxproteins Thioredoxin und erfüllt damit eine wichtige Aufgabe im Gesamtkomplex der Zellatmung (PATCHING und GARDINER, 1999).

Alle biologischen Funktionen der TxR bleiben bei einem milden Selenmangel unbeeinflusst, erst bei starkem Selenmangel kommt es zu deren Funktionsbeeinträchtigung. Der Grund liegt in einer Umverteilung zu Ungunsten anderer, untergeordneter Enzymsysteme, wobei die TxR¹⁾ anscheinend prioritär mit an der Spitze der selenabhängigen Enzyme zu stehen scheint (GASNIER, 2002).

3.3.3.5 Selenoprotein W (SeW)

Selenoprotein W ist ein kleines, intrazelluläres Protein mit nur einem Selenocysteinrest; lokalisiert wurde es im Skelettmuskel, dem größten Selenspeicher. Es bindet Glutathion und hat vermutlich auch eine antioxidative Funktion (BURK und HILL, 1999). Ein Einfluss auf den Muskelstoffwechsel wird diskutiert (EKMEKCIOGLU, 2000).

3.3.4 Detoxikation von Schwermetallen durch Selen

Alle Elemente mit einer hohen chemischen Affinität zu Schwefel (u.a. As, Hg, Cd, Cu, Sn, Zn, Pb, Ni, Co, Sb, Bi, Ag, Tl, Mo, V) verbinden sich mit Selen unter Bildung von Metallsele-nid-Eiweißkomplexen, die i.d.R. mit dem Urin ausgeschieden werden. Diese Wechselwirkung stellt einen natürlichen Entgiftungsmechanismus für solche Metalle dar (WHANGER, 1982; LEITZMANN und HAHN, 1996).

Nach einer Reaktion mit diesen Selenantagonisten ist das Selen dann für den Organismus nicht mehr verfügbar. Deshalb kann eine hohe Belastung mit derartigen Elementen den physiologischen Selenbedarf beträchtlich erhöhen (SCHRAUZER, 1998; SILL-STEFFENS et al., 2001). OSTER (2003) empfiehlt eine ausreichende Selenversorgung besonders auch bei Amalgam-plombenträgern.

¹ Sie ist an der Synthese von Desoxyribonukleotiden beteiligt (EKMEKCIOGLU, 2000) und gehört zu einem Enzymsystem, das bei der Replikation die Bausteine der DNS-Synthese, die Desoxyribonukleotide, zur Verfügung stellt. Es reduziert die Ribose in Nukleosid-Diphosphaten zu Desoxy-Ribose. Dieses Enzymsystem besteht aus der Ribonukleotid-Reduktase, dem Thioredoxin und der TxR (FOLLMANN und HABERLEIN, 1996; ASLUND und BECKWITH, 1999). Es ließen sich bislang jedoch bei Weitem noch nicht alle ihrer komplexen Aufgaben klären (FLOHÉ, 1997), selbst im gut geklärten *E.coli*-Metabolismus sind ihre eigentlichen Aufgaben noch unklar (ASLUND und BECKWITH, 1999). Für Säugetiere besitzen sie eine vitale Bedeutung, beispielsweise führt die Abwesenheit des TxR-Gens bei Knock-out-Mäusen zu fetaler Letalität (MATSUI et al., 1996).

3.3.5 Toxizität

Selen ist einer der Mikronährstoffe mit der geringsten therapeutischen Breite¹⁾ (Bundesgesundheitsblatt 2002; SCHLATTER, 2003). Neben Essentialität und präventiver Wirkung darf die Gefahr der Selenintoxikation bei chronisch erhöhter Selenaufnahme nicht außer Acht gelassen werden; bis zur Entschlüsselung seiner positiven biologischen Wirkungen in der zweiten Hälfte des 20. Jahrhunderts war ausschließlich die Giftigkeit dieses Elementes bekannt. Die chronische Aufnahme von mehr als 800 µg Selen pro Tag²⁾ wird als ein Überschreiten des *Marginal Daily Safe Selenium Intake* angesehen (SCHRAUZER, 1998) bzw. es gilt ein NOAEL (*No Observable Adverse Effect Level*) von 850 µg Se/Tag (SCF, 2000). Die *National Academy of Sciences* ermittelte für Selen einen *Tolerable Upper Intake Level* (UL) in Höhe von 400 µg/Tag³⁾ für Erwachsene.

Aus dem Aktivitätsverlauf des Selenoenzyms 5'-Jodthyronin-Dejodase schließen BRÄTTER und NEGRETTI DE BRÄTTER (1996) auf eine sichere Obergrenze der Selenaufnahme im Bereich von 350 – 450 µg/Tag. Sie postulieren, dass eine länger andauernde Aufnahme von maximal 5 µg Selen/Tag pro kg Körpergewicht zu keinerlei gesundheitlichen Störungen führt. Andere Studien nennen 724 oder 853 µg/Tag als NOAEL (ANKE und SCHÜMANN, 1999). Diese oberen Grenzwerte können mit einer normalen Ernährung nicht erreicht werden (SCHRAUZER, 1998).

Mengen von mehr als 3.000 µg pro Tag über längere Zeit eingenommen, können zu toxischen und neurologischen Symptomen führen (EKMEKCIOGLU, 2000). Akute Selenvergiftungen treten nach ANKE und SCHÜMANN (1999) bei einer Aufnahme von 3.200 bis 6.700 µg/Tag auf. Die durch Selen hervorgerufene Toxizität ist in ihrem Ausmaß von der beteiligten Selenspezies abhängig. So sind anorganische Selenverbindungen i.d.R. giftiger als organische (SPALLHOLZ und RAFFERTY, 1987; WELZ und SPERLING, 1997) und dabei Selenit toxischer als Selenat (PATCHING und GARDINER, 1999; WELZ und SPERLING, 1997).

Die Giftwirkungen des Selens werden erklärt durch Verdrängung des Schwefels aus Sulfhydrylverbindungen, Hemmung von Enzymsystemen, Störungen des Porphyrin- und Kreatinstoffwechsels sowie Methylierungsvorgängen. Nach lokalem Kontakt an Haut- und Schleimhäuten werden durch Selen und seine Verbindungen in hohen Dosen Verätzungen bis Nekrosen und Kontaktdermatitis hervorgerufen. Nach oraler Aufnahme können akut

¹ Sicherheitsfaktor 10

² Bei Erwachsenen.

³ Dieser Wert resultiert aus der Division des NOAEL von 800 µg/Tag durch einen *Uncertainty factor* (UF), der mit zwei angegeben wird.

starke gastrointestinale Symptome sowie chronisch gastrointestinale Erscheinungen wie Diarrhö oder Obstipation¹⁾, daneben ZNS-Reizerscheinungen, Leber-, Nieren- und Myokardschäden beobachtet werden (FALBE und REGITZ, 1995; HAHN et al., 2002).

Eine Selenvergiftung macht sich durch folgende Symptome bemerkbar (ANKE und SCHÜMANN, 1999):

- Irritation der Schleimhäute der oberen Luftwege
- *Foetor ex ore* (Mundgeruch) nach Knoblauch
- Kopfschmerzen und Schwindel, Heiserkeit
- Müdigkeit und Erschöpfung
- Gewichtsabnahme
- Störungen des Haar- und Fingernagelwachstums, Haarausfall, Onycholysis²⁾
- Hautekzeme
- gastrointestinale Beschwerden und Erbrechen
- periphere Neuropathien mit Parästhesien³⁾
- Selenrhinitis⁴⁾

Als Ursachen für Selenvergiftungen kommen Selenstäube bei der industriellen Kupferschmelze, Unfälle, Suizidversuche und Fehldosierungen in Betracht (REILLY, 1998; SCHRAUZER, 1998).

3.4 Selenmangel-Krankheiten beim Menschen

Grundsätzlich muss zwischen einem mit dem Leben nicht vereinbaren extremen und einem milden Selenmangel unterschieden werden.

3.4.1 Keshan-Krankheit

Die bekannteste Krankheit, die ohne Zweifel mit einem Selenmangel in Verbindung steht, ist die Keshan-Krankheit (benannt nach dem Landkreis Keshan in der Provinz Heilongjiang), eine tödlich verlaufende Kardiomyopathie, die früher in den typischen Selenmangelgebieten Chinas auftrat (YANG et al., 1984; FORCHHAMMER und BÖCK, 1991; WOLFFRAM, 1992). Diese Kardiomyopathie entwickelt sich, wenn der Selengehalt der Nahrung unter $40 \mu\text{g kg}^{-1}$ TM liegt oder die

¹ Stuhlverstopfung

² weiche Nägel

³ degeneratives Nervenleiden mit Fehlempfindungen des Tastsinns

⁴ Nasenschleimhautentzündung

Selenaufnahme weniger als 20 µg/Tag beträgt (SCHMIDT und BAYER, 1988). In den Endemie-Regionen wurden teilweise nur 10 – 15 µg Se/Tag aufgenommen und die durchschnittlichen Blutselenwerte lagen unterhalb von 10 µg L⁻¹ (BAYER, 1996), (eine Übersicht über die Selenstatuswerte zeigt Tab. 4 auf). Die Keshan-Erkrankung¹⁾ kann heutzutage durch die wöchentliche Verabreichung von 0,5 – 1 mg Natriumselenit an die betroffene Bevölkerung verhindert werden (LITOV und COMBS, 1991; BRÜGGEMANN und OCKER, 1992). Durch diese gezielte Supplementierungsmaßnahme konnte die Keshan-Erkrankung so weit zurückgedrängt werden, dass heutzutage mit weniger als 1 Todesfall/100.000 Einwohnern gerechnet wird (GU, 1983).

3.4.2 Kaschin-Beck-Syndrom

In bestimmten Gebirgsregionen Chinas, Nordkoreas und Ostsibiriens tritt eine entzündlich-degenerative Gelenkerkrankung²⁾ auf, das Kaschin-Beck-Syndrom (HOU et al., 1984; ANDERSEN und NIELSON, 1993; BAYER, 1996; MAYER, 1998). Die Krankheit bewirkt schwere Störungen des Wachstums bei Kindern. Es wird vermutet, dass die befallenen Gelenke durch Sauerstoffradikale zerstört werden. Als Ursache wird in den jeweiligen Gebieten eine unzureichende Selenversorgung mit der Nahrung von nur 20 µg kg⁻¹ TM gesehen. Das Kaschin-Beck-Syndrom kann, sofern die Krankheit noch nicht zu weit fortgeschritten ist, durch eine Selen-supplementierung positiv beeinflusst werden (FORCHHAMMER und BÖCK, 1991; SCHRAUZER, 1998).

3.4.3 Selen bei rheumatisch-arthritischen Erkrankungen

Bei rheumatisch-arthritischen Erkrankungen sind, ähnlich wie beim Kaschin-Beck-Syndrom, toxische Sauerstoffradikale für die auftretenden Gelenkschäden verantwortlich. Norwegische Studien zeigten bei rheumatisch erkrankten Patienten erniedrigte Selenspiegel, die durch die Entgleisung des Peroxidstoffwechsels erklärt werden können³⁾.

¹ In den selenarmen Keshan-Krankheitsgebieten haben Kinder meist ein pastöses Aussehen, weshalb sie eigentlich gesund und kräftig erscheinen. Bei erkrankten Erwachsenen sind die Zähne durch vermehrte Kalkeinlagerung und Störungen der Dentinbildung oft sehr groß und kalkweiß, trotz dieser markanten äußeren Erscheinungen lässt sich ein Selenmangel nur durch eine entsprechende Blutuntersuchung feststellen (SCHRAUZER, 1998).

² Dystrophische Osteoarthrose und Spondyloarthrose.

³ Selen ist in den befallenen Gelenken besonders angereichert und fungiert über die GSH-Px als Modulator bei allen entzündlichen Prozessen; es steigert die Prostaglandin-Biosynthese und regt wahrscheinlich auch die Bildung von Leukotrienen an. Supplemente zeigen in manchen Rheumafällen eine günstige therapeutische Wirkung. Es kann allerdings nicht in jedem Fall mit einer Besserung gerechnet werden, da es auch vom Stadium der Erkrankung abhängt, ob eine Reversibilität besteht. Die Wirkung hängt entscheidend von der Dosierung ab; allerdings kann die GSH-Px-Aktivität durch Selengaben nicht unbegrenzt gesteigert werden: Selen kann nur dann antioxidativ wirken, wenn genügend Glutathion zur Verfügung steht bzw. wenn der Glutathion-Reduktasemechanismus voll funktionsfähig ist. Es werden aber auch Einzelfälle beschrieben, bei denen nach mehrjähriger Krankheitsdauer hochdosierte Selengaben (1 mg Selenit/Tag) eine Dauerheilung mit kompletter Beschwerdefreiheit brachten. Zur Unterdrückung von peroxidativen Zellschädigungen empfiehlt die *British Arthritis Association* deshalb eine Selensupplementierung und eine Gabe der Vitamine A, C und E bei Rheumapatienten (SCHMIDT und BAYER, 1988).

3.4.4 Selen und kardiovaskuläre Erkrankungen

In Europa liegt keine endemisch vorkommende klinische Symptomatik vor, die einem Defizit von Selen in der Nahrung zuzuordnen ist. Allerdings wird in Regionen mit einem Selenmangel das gehäufte Auftreten von kardiovaskulären Erkrankungen wie Apoplex¹⁾, koronarer Herzerkrankung und Herzinfarkt²⁾ in Zusammenhang gebracht. In der Diskussion steht dabei auch die Frage, inwieweit diesen Erkrankungen mit einer Selensupplementierung vorgebeugt werden kann (VIRTAMO et al., 1985; LOCKITCH et al., 1990; SALONEN et al., 1982; 1987; KUKLINSKI et al., 1990; OSTER, 1992; SUADICANI et al., 1992; NÉVE, 1996; URSINI et al., 1998; RAYMAN, 2000a; b; KÖHRLE et al., 2000).

Die Auswirkungen eines Selenmangels auf kardiovaskuläre Erkrankungen belegen zahlreiche in- und ausländische Studien:

- Eine amerikanische Untersuchung ergab, dass die Sterberate an Herz-Kreislauf-Erkrankungen in Gebieten mit guter Selenversorgung erheblich niedriger lag als in Selenmangelgebieten (SHAMBERGER, 1976)
- Eine darauf folgende Studie aus Finnland zeigte einen präventiven Effekt von Selen auf Myokardinfarktinzidenz und kardiovaskulären Tod mit zunehmendem Blut-Selenpiegel; in einer späteren prospektiven Studie fand die gleiche Forschergruppe eine 2 – 3-fach höhere Morbiditäts- und Mortalitätsrate im Vergleich zur Kontrollgruppe bei Personen mit einer Serumselenkonzentration unter $45 \mu\text{g L}^{-1}$ (SALONEN et al., 1982)
- In weiteren Studien wurde vermutet, dass ein Schwellenwert von $60 \mu\text{g Se L}^{-1}$ im Plasma als unterste Grenze gilt und von daher eine präventive Wirkung erst ab $> 60 \mu\text{g L}^{-1}$ anzusetzen ist (SCHMIDT und BAYER, 1988). Diese Annahme ist insofern berechtigt, da die Entstehung einer Herz-Kreislauf-Erkrankung nicht nur durch Fehlernährung begünstigt wird, sondern auch durch eine unzureichende Selenzufuhr (SCHRAUZER, 1998). Beispielsweise wurde in der *10-Center-EURAMIC*-Studie eine signifikant inverse Beziehung zwischen dem Selengehalt in den Nägeln der Probanden und einem Myokardinfarktisiko deutlich. Dies traf insbesondere für Deutschland zu, dem Zentrum mit den niedrigsten Bodenseelenwerten in Europa (KARDINAAL et al., 1997).

Derzeit wird davon ausgegangen, dass bestimmte Selenoenzyme der Entstehung von Thromben und Thrombembolien entgegen wirken können. Mit ihrer Hilfe soll es zu einer

¹ Schlaganfall

² Häufigste Todesursache in der westlichen Welt.

verringerten Ansammlung von oxidiertem LDL in der Arterienwand kommen, ebenso wie zu einer adäquaten Vasodilatation¹⁾ und zu einer verminderten Thromboxanbildung²⁾.

3.4.5 Selen und Krebs

In ähnlicher Weise wurde auch eine Assoziation zwischen Selenmangel und der Inzidenz von Karzinomen in einer Vielzahl von epidemiologischen und retrospektiven Studien nachgewiesen. Die bekanntesten Interventionsstudien sind die Qidong-, die Linxian- und die Clark-Studie (REILLY, 1996a; SCHRAUZER, 1998).

3.4.5.1 Epidemiologische Untersuchungen

Die Ergebnisse epidemiologischer Studien sind meist nicht ausreichend genug, um daraus gesicherte Schlussfolgerungen ziehen zu können. Allerdings deuten viele Studien³⁾ darauf hin, dass ein niedriger Selenstatus mit einem erhöhten Krebsrisiko korreliert; nur in einigen wenigen Studien konnten keine statistischen Zusammenhänge zwischen den Selenparametern und der Krebsentstehung beobachtet werden (ALAEJOS und DÍAZ ROMERO, 1995; ZIMMERLI et al., 1995; FOSTER und SUMAR, 1997).

3.4.5.2 Qidong-Studie

Die Qidong-Studie (1984-1990) lieferte den ersten Nachweis, dass sich bestimmte Krebsarten beim Menschen durch Erhöhung der Selenzufuhr verhindern lassen. Die Untersuchungen wurden in China in einem Gebiet nördlich von Shanghai durchgeführt, einer Region mit einer hohen Erkrankungsrate an primärem Leberkrebs. Daran beteiligt waren mehr als

¹ Weiterstellung von Blutgefäßen.

² Dies geschieht anscheinend folgendermaßen: Der protektive Effekt von Selen auf das Gefäßsystem hängt maßgeblich von der Aktivität der Glutathion-Peroxidasen ab. Ist ihre Aktivität bei einem Selenmangel verringert, fallen zunehmend mehr Hydroperoxide bzw. freie Radikale aus Phospholipiden und Lipoproteinen an. Diese schädigen zum einen direkt das Gefäßendothel durch Oxidation von Membranlipiden, wodurch über eine Akkumulation von oxidiertem LDL in der Arterienwand die Entstehung von Arteriosklerose begünstigt wird (SALONEN et al., 1988; SATTLER et al., 1994; NÉVE, 1996; VITOUX et al., 1996; ARTEEL et al., 1999). Zum anderen wird eine adäquate Vasodilatation dadurch verhindert, dass diese Hydroperoxide außerdem die Prostaglandinsynthese des Endothels hemmen, mit der Folge einer verringerten Synthese von Prostacyclinen, die normalerweise für eine Gefäßerweiterung sorgen. Obendrein sollen diese bei Selenmangel im Überschuss vorhandenen Radikale über einen stimulierenden Effekt auf die Thromboxanproduktion auch eine gesteigerte Plättchenaggregation zur Folge haben, mit der Folge einer erhöhten Thrombemboliegefahr (NÉVE, 1996; RAYMAN, 2000a).

³ Es wurden auch Studien durchgeführt, in denen die Selenwerte vor Ausbruch einer Krebserkrankung mit denen von nicht an Krebs Erkrankten verglichen wurden. Aus einer Studie, die in den USA von WILLETT et al. (1983) durchgeführt wurde, ergab sich, dass Krebspatienten bereits 1 – 5 Jahre vor dem Ausbruch oder der Diagnose der Krebserkrankung niedrigere Serumseleknkonzentrationen aufwiesen als nicht erkrankte Personen.

130.000 Menschen aus fünf verschiedenen Städten. Die Einwohner einer Stadt wurden fünf Jahre lang mit Natriumselenit angereichertem Speisesalz (anstelle des normalerweise verwendeten) versorgt. Daraufhin begann die Leberkrebshäufigkeit nach 1,5 Jahren deutlich abzusinken, während sie in den anderen vier Städten (Kontrollgruppe) gleich blieb. Die Schlussfolgerung war, dass eine Selenanreicherung von Salz eine einfache und effektive Methode darstellt, um das (Leber-)Krebsrisiko in Risikogebieten zu senken (REILLY, 1996a; SCHRAUZER, 1998).

3.4.5.3 Linxian-Studie

Die Einwohner des Landkreises Linxian/China weisen eine hohe Erkrankungsrate an Speiseröhrenkrebs auf. In der Interventionsstudie erhielten jeweils 3.700 Teilnehmer Supplemente, die entweder Selen + β -Carotin + Vitamin E (Gruppe A), Retinol + Zink (Gruppe B), Riboflavin + Niacin (Gruppe C) oder Vitamin C + Molybdän (Gruppe D) enthielten. Als Ergebnis zeigte sich, dass in Gruppe A die wenigsten Todesfälle auftraten, allerdings ist dabei die Aussagekraft bezüglich der Wirkung des Selens nur gering (REILLY, 1996a; SCHRAUZER, 1998).

3.4.5.4 Clark-Studie

In ihrer ersten Interventionsstudie zeigten 1996 CLARK et al. erstmals einen inversen Zusammenhang zwischen Krebsrisiko und Serumselenspiegel, indem sie bei 1.312 randomisierten Patienten mit Basaliom¹⁾ den Effekt von 200 μ g Se/Tag versus Placebo auf die Basaliom-Rezidivrate untersuchten²⁾. Zwar kam die Studie in diesem Zusammenhang zu keinem positiven Ergebnis, es zeigte sich aber eine um 56% erniedrigte Krebsmortalität insgesamt sowie eine um 37% niedrigere Krebsinzidenz³⁾ (63% weniger Prostatakrebs, 58% weniger Kolonkarzinome und ein um 47% geringeres Auftreten von Lungenkarzinomen) (FLEET und MAYER, 1997).

¹ Basalzellkarzinom. Häufigster bösartiger Tumor der Haut. Basaliome führen zu typischen Hautveränderungen im Bereich der Augenlider.

² Die Studie erstreckte sich von 1983-1996.

³ Anscheinend resultiert eine antiproliferative Wirkung aus einem verbesserten GSSG:GSH-Verhältnis sowie einer Beeinflussung der Synthesestadien durch Selen. Zusätzlich zeigten biochemische Analysen von TH4-Zellen, dass eine Selengabe insgesamt die antioxidative Aktivität verstärkt. Die Behandlung mit Selen bewirkte vermehrt eine dosisabhängige Reduktion von oxidiertem Glutathion, d.h. eine Verbesserung des GSSG:GSH-Verhältnisses. Darüber hinaus waren die Glutathionaktivität sowie das Verhältnis von oxidiertem NADP gegenüber reduziertem NADPH signifikant unter Selentherapie erhöht (LEBOEUF et al., 1985). In einer anderen Arbeit wurde belegt, dass Selen signifikant die Angiogenese und damit die Progression von Mammakarzinom hemmte (JIANG et al., 1999).

3.4.6 Selen zur Prävention vor degenerativen Erkrankungen

Hervorzuheben ist die Bedeutung von Selen als Antioxidanz für die Prävention degenerativer chronischer Erkrankungen. Entstehung und Verlauf von Arteriosklerose, seniler Makuladegeneration der Netzhaut des Auges, Augenlinsentrübung, entzündlichen Gelenkerkrankungen, Fotoalterung der Haut und einige weitere Erkrankungen sind demnach auf reaktive Sauerstoffspezies zurückzuführen. Der antioxidativen Kapazität des menschlichen Organismus wird bei diesen Krankheiten eine wichtige Rolle zugesprochen.

Eine Reihe von epidemiologischen Studien zeigt einen Zusammenhang auf zwischen Selenmangel und einer steigenden Anfälligkeit für verschiedene Gefäßerkrankungen, erhöhter Blutplättchenaggregation, Anämie und erhöhtem Blutdruck. Weitere Krankheiten, die mit einem niedrigen Selenstatus in Verbindung gebracht werden, sind Multiple Sklerose, Muskeldystrophie¹⁾, zystische Fibrose²⁾, Erkrankungen der Atmungsorgane, HIV / AIDS, Hauterscheinungen wie Psoriasis³⁾ und Störungen im Immunsystem⁴⁾. Bei der totalen parenteralen Ernährung und der künstlichen Ernährung spielt die Selensubstitution eine nicht zu unterschätzende Rolle (OSTER et al., 1983; 1986; 1989; 1990; PETRIE et al., 1989; ROY et al., 1990, RAYMAN, 1997; MCKENZIE et al., 1998; PATCHING und GARDINER, 1999; SCHOMBURG et al., 2003).

3.5 Versorgungslage beim Menschen

3.5.1 Methoden zur Ermittlung des Selenstatus

Ein ausgeprägter Selenmangel deutet sich oftmals schon anhand klinischer Symptome wie Skelettmuskelschmerzen, Myopathien, Pseudoalbinismus, gestreifter Fingernägel oder schuppiger Haut an. Allerdings kann ein Selenmangel im allgemeinen erst mit Hilfe spezifischer Blutuntersuchungen diagnostiziert werden. Für eine eindeutige Definition des Selenbedarfs gibt es bis dato noch keine abgesicherten Erkenntnisse, allerdings wird nach derzeitigem Stand die maximale Aktivität der Glutathion-Peroxidase (GSH-Px) als Berechnungsgrundlage für die tägliche Selenzufuhr herangezogen.

¹ Nicht-neurogene Muskelschwundkrankung

² Mukoviszidose (Zystische Fibrose) ist eine erbliche, nicht heilbare Erkrankung.

³ Schuppenflechte

⁴ Darüber hinaus nennen REILLY (1996) und SCHRAUZER (1998) noch Morbus Crohn, plötzlichen Kindstod, Diabetes mellitus, Kropfbildung, Apoplexie und Colitis ulcerosa als Gesundheitsstörungen beim Menschen, die mit einem Selenmangel assoziiert sind.

Die Selenkonzentration in Serum, Plasma, Vollblut und Erythrozyten korreliert sehr eng mit der Selenaufnahme, sowohl bei niedriger als auch hoher Zufuhr. Sobald sich die Selenaufnahme erhöht, steigt auch die Konzentration der jeweiligen Parameter. Dabei muss zwischen Erythrozyten-, Serum- bzw. Plasmaparametern unterschieden werden (BAYER, 1996; MAYER, 1998).

Auch die physiologische Disposition des Individuums und die spezifische Kinetik des betrachteten Enzyms dürfen dabei nicht außer Acht gelassen werden (MARKTL, 2001). Der Selengehalt der Erythrozyten kann als Langzeitparameter angesehen werden, da diese im Vergleich zu anderen Körperzellen eine lange Lebenszeit¹⁾ aufweisen (OLIVIERI et al., 1994).

Dagegen spiegeln die Selenwerte im Plasma oder Serum kurzfristige Veränderungen in der Selenversorgung wider (BAYER, 1996). Eine lineare Korrelation liegt zwischen dem Selengehalt des Blutes und der Erythrozyten-GSH-Px-Aktivität vor. Diese Beziehung besteht maximal bis zu Selenwerten von etwa $160 \mu\text{g L}^{-1}$, d.h. $110 \mu\text{g}$ Selen wären mit der Nahrung zuzuführen, um die Aktivität der GSH-Px auf ihrem Maximum zu halten; bei Werten $< 32 \mu\text{g L}^{-1}$ muss mit Mangelsymptomen gerechnet werden (VAN DEN BRANDT et al., 1993).

Stellvertretend für die Selenversorgung des Körpers kann der Selengehalt im Blutserum, im Vollblut oder im Urin gemessen werden; am aussagekräftigsten jedoch ist die Bestimmung aus dem Vollblut. Nach dieser Messmethode lässt sich vom Gehalt der Blutzellen auf den der Körperzellen rückschließen (SILL-STEFFENS et al., 2001).

Tabelle 4: Selenstatuswerte (nach SILL-STEFFENS et al., 2001)

	erniedrigt	optimal	erhöht
Vollblut ²⁾ ($\mu\text{g Se L}^{-1}$)	< 85	120-160	> 230
Blutserum ($\mu\text{g Se L}^{-1}$)	< 65	100-135	> 190

¹ 120 Tage

² Die Werte liegen wegen des höheren Gehaltes in den Erythrozyten etwa 1,3-fach höher.

Weitere Beurteilungsparameter sind die Konzentration an Selenoprotein P, das T4:T3-Verhältnis sowie der Selengehalt in den Haaren und Nägeln. Dabei handelt es sich neben Langzeit- und Kurzzeitparametern auch um Bioverfügbarkeitsindikatoren. Während Selen im Gewebe akkumuliert wird, ist die Versorgung der Selenoproteine und der damit verbundenen Enzymaktivitäten homöostatisch reguliert (LOMBECK, 1990; LONGNECKER et al., 1993; EKMEKCIOGLU, 2000; ALAEJOS et al., 2000).

Die verschiedenen Parameter werden vom Ernährungsstatus des Organismus und der aus dem Verdauungstrakt aufgenommenen Selenspezies beeinflusst. WANG und LOVELL (1997), die Selen in verschiedenen Bindungsformen an Fische verfütterten, mussten feststellen, dass der ermittelte Selenstatus sowohl von der Selenquelle abhängt als auch zwischen den verschiedenen Vergleichskriterien variiert. So kann z.B. infolge einer unspezifischen Selenomethionin-Inkorporierung bei hohem Angebot die Selengewebekonzentration hoch sein, bei gleichzeitig niedriger Aktivität der von Selenocystein abhängigen Selenoproteine (PATCHING und GARDINER, 1999; JOCHUM, 1999).

Konsequenterweise erfordert die exakte Bestimmung des Selenstatus eine simultane Messung verschiedener Parameter. Die Selenverteilung zwischen den Parametern und die aus dem Verdauungstrakt aufgenommene Selenspezies sollten dazu bekannt sein (PATCHING und GARDINER, 1999; FINLEY, 1999).

3.5.2 Zufuhrempfehlungen

Bei der Beurteilung der Selenversorgung werden immer nur die Zufuhrwerte (d.h. die Selengehalte der Nahrung) betrachtet, da es über die genaue Bioverfügbarkeit von Selen nur wenige wissenschaftlich gesicherte und eindeutige Erkenntnisse gibt. Es ist zur Zeit noch nicht eindeutig geklärt, welche Selenmenge mit der Nahrung zugeführt werden muss, um die GSH-Px maximal zu aktivieren. Laut US-amerikanischen Empfehlungen (RDA) der *National Academy of Sciences* ist dazu eine tägliche Zufuhr von $0,87 \mu\text{g Se kg}^{-1}$ Körpergewicht/Tag erforderlich. Dies entspricht einer Menge von $60,9 \mu\text{g Se/Tag}$ bei einem 70 kg schweren Erwachsenen (NRC, 1989b).

Neuere offizielle US-Empfehlungen geben 55 µg Se/Tag an (Institute of Medicine, 2000). Diese Zahl deckt sich gut mit den PRI-Werten (*Population Reference Intake*) des *Scientific Committee on Food* (SCF) von 56 µg/Tag für die europäische Union (EU, 1993) und liegt im Bereich der DGE Schätzwerte von 30 – 70 µg/Tag (D-A-CH, 2000).

Die neueren RDA-Werte, die im April 2000 von *The National Academy of Sciences (Food and Nutrition Board FNB und US National Research Council)* herausgegeben wurden, liegen mit ihrer Empfehlung von 55 µg/Tag für Männer und Frauen unter ihren Empfehlungen von 1989. Für Schwangere wird eine zusätzliche Aufnahme von 10 µg/Tag empfohlen, für Stillende von 20 µg/Tag¹⁾. Die Ermittlung dieser RDA-Werte beruht auf der Sättigung der klassischen GSH-Px unter Einbeziehung einer Neuseelandstudie von 1999, die das *Institute of Medicine* konservativ interpretierte.

RAYMAN (2000a) stützt sich bei ihrer Bedarfsermittlung für die tägliche Selenaufnahme ebenfalls auf die Neuseelandstudie von 1999. Dabei schließt sie sich der Interpretation der Autoren der Studie an. Unter Anwendung der gleichen Rechenmethoden, die auch von der *National Academy of Sciences* herangezogen wurden, ermittelte sie jedoch einen beachtlich höheren Bedarfswert von 73 µg/Tag. Ähnlich hoch liegen die Empfehlungen des *Department of Health* (UK) mit Reference Nutrient Intakes (RNIs) von 75 µg/Tag für Männer und 60µg/Tag für Frauen (REILLY, 1998).

Einen noch höheren Bedarf ermittelten BROOME et al. (2004) in einer Doppelblindstudie. Gegenstand der Untersuchung war die Reaktion des Immunsystems auf die orale Gabe eines Polio-Virus Vakzins und die Mutationsrate sich im Faeces befindlicher Zellen. Sie stellten fest, dass zwar das Immunsystem um so stärker aktiviert war, je höher der Grad der Selensupplementierung lag, aber dieses selbst in der höchste Stufe von 100 µg Se/Tag²⁾ noch nicht optimal agierte³⁾. Des Weiteren fanden sie heraus, dass das zusätzlich verabreichte Selen (zu den durchschnittlich in Großbritannien aufgenommenen 34 µg Se/Tag) zu einem großen Teil erst mal die defizitären Selen-Pools im Körper auffüllte.

¹ Um den Verlust durch die Muttermilch auszugleichen.

² Gestaffelt waren die Gaben in Nullprobe, + 50 µg Se, + 100 µg Se.

³ Die Immunantwort wurde gemessen anhand der Produktion von γ-Interferon und anderen Zytokinen, der T-Zellen Proliferation und der Anzahl an T-Helferzellen.

Als vorläufiges Resultat liegt ihre Zufuhrempfehlung einerseits bei über 150 µg Se/Tag andererseits aber auch bei deutlich unter 450 µg Se/Tag (der von britischen Gesundheitsexperten als unbedenklich angesehenen Obergrenze). Der Grund für diese Vorsicht beruht auf einer amerikanischen Studie von DUFFIELD-LILLICO et al. (2003), die einen Anstieg an Hautkrebsinzidenzen bei dafür anfälligen und zuvor daran erkrankten Personen im Rahmen einer Supplementierung mit täglich 200 µg Selenhefe diagnostizierten (Selenausgangstatus sowie sonstige Selenaufnahmemengen leider unbekannt).

3.5.3 Humaner Versorgungsstatus mit Selen

Eine dramatische Entwicklung in der Selenversorgung beklagen REILLY (1998) und RAYMAN (1997; 2000a; 2002) für Großbritannien. Die tägliche Selenaufnahme reduzierte sich dort von durchschnittlich 60 µg im Jahre 1978 auf 29 bis 39 µg im Jahre 1995. Als Hauptgrund wird der auf EU-Vereinbarungen beruhende Ersatz des selenreichen amerikanischen Weizens durch selenarmes, lokal angebautes Brotgetreide angeführt. Diese Einfuhrrestriktion hat natürlich auch die Selenversorgung in den übrigen EU-Ländern verschlechtert.

Zur Bestimmung der diätetischen Selenzufuhr in Deutschland wurden 1996 in Jena Duplikatuntersuchungen (n=168) vorgenommen. Hiernach nahmen Frauen durchschnittlich 30 µg und Männer 41 µg Selen pro Tag auf (ANKE und SCHÜMANN, 1999). Andere Verzehrdaten sowie die Daten der VERA-Studie aus den Jahren 1987/88 ergaben gerade bei jungen Menschen eine noch mal um 8 – 10 µg geringere Aufnahme von Selen (REUTER, 1996; D-A-CH, 2000).

Diese Werte liegen somit an der unteren Grenze des DGE-Schätzwertes bzw. darunter und unterhalb der übrigen Zufuhrempfehlungen (z.B. RDA 55 µg/Tag und SCF 56 µg/Tag). Die Selenzufuhrmenge ist im Vergleich zu anderen Industrienationen sehr niedrig und führt zu keiner Sättigung der GSH-Px-Aktivität im Serum. Daher muss die Selenversorgung in Deutschland als marginal bis defizitär betrachtet werden, insbesondere im Hinblick auf die präventiven Selenwirkungen (ANKE und SCHÜMANN, 1999; OSTER, 2003).

Zum Vergleich enthält Tabelle 5 eine Aufstellung über die Selenversorgung in ausgewählten europäischen Ländern (MATEK et al., 2000).

Tabelle 5: Durchschnittliche tägliche Selenaufnahme mit der Nahrung (MATEK et al., 2000)

Land	Durchschnittliche Aufnahme in µg/Tag	Ermittlungsmethode
Deutschland	35,5	DP (ANKE und SCHÜMANN, 1999)
Österreich	34,5	DP (PFANNHAUSER, 1992b)
Schweiz ¹⁾	69	DP (ZIMMERLI et al., 1995)
Belgien	47,1 ± 13,2	DP, Brüssel
	28,4 ± 11,4	DP, Lüttich
	45,3 ± 17,2	DP, Antwerpen (ROBBERECHT et al., 1994)
Frankreich	49 ± 25	DP, Krankenhauskost (ROBBERECHT et al., 1994)
Spanien	92-98	DP, Galicien (BENEMARIYA et al., 1993)
Türkei	23 ± 11	DP, ländliche Bevölkerung (EL-HALLAQ et al., 1992)
	81 ± 41	DP, städt. Bevölkerung (ROBBERECHT et al., 1994)
Finnland	25	Verzehrdaten 1984
	95 ²⁾	Verzehrdaten 1986 (VARO et al., 1988)
Slowakei	32,2 ± 4,8	DP, Krankenhausrestaurant (KADRABOVA et al., 1998)
Kroatien	33,17 ± 8,82	DP, erwachsene Frauen (MATEK et al., 2000)

DP = Duplikatuntersuchung

3.5.4 Vulnerable Bevölkerungsgruppen

Abgesehen von der in Deutschland ohnehin ungünstigen Selenversorgung gibt es Bevölkerungsgruppen mit erhöhtem Risiko eines Selenmangels (siehe Tab. 6). Dieser kann nutritiv bedingt sein oder auf erhöhte enterale, renale oder hämorrhagische Verluste zurückgeführt werden (GARMANN, 1996).

¹⁾ Die Schweiz importiert selenreiches Brotgetreide aus Amerika.

²⁾ Ab 1983/84 wurde in Finnland eine Selendüngung der Böden zur Anreicherung des Getreides eingeführt.

Tabelle 6: Bevölkerungsgruppen mit erhöhtem Risiko eines Selenmangels

A. nutritiv bedingter Mangel
Veganer extrem einseitig Ernährte (z.B. Alkoholiker) mittels Sonde Ernährte (z.B. PKU ¹ -Nahrung) parenteral Ernährte Dialysepatienten Hungernde Personen mit Anorexia nervosa Personen mit Bulimie
B. durch vermehrte Selenverluste bedingter Mangel
1. enterale Verluste bei schweren Diarrhöen über längere Zeit Maldigestion Malabsorption Laxantienabusus
2. renale Verluste bei negativer Stickstoffbilanz Diuretikatherapie nephrotischem Syndrom glomulärem und tubulärem Nierenschaden mit Proteinurie Diabetes insipidus
3. hämorrhagische Verluste bei Hypermenorrhoe starken hämorrhoidalen Blutungen

¹ Phenylketonurie: eine autosomal-rezessiv vererbte (1:10.000) Stoffwechselerkrankung.

Auch nicht gestillte Säuglinge und hier insbesondere Frühgeborene mit geringen pränatal angelegten Selenspeichern gehören zu den vulnerablen Bevölkerungsgruppen (LOMBECK, 1990).

3.6 Lebensmittel als Selenquellen

In pflanzlichen und tierischen Lebensmitteln kommt Selen hauptsächlich an Proteine gebunden vor. Dabei ist der Selengehalt in pflanzlichen Lebensmitteln vom jeweiligen Anbaugebiet abhängig, bei tierischen Lebensmitteln beeinflussen die Haltung und der Einsatz von Selenzusätzen im Tierfutter die Höhe des Selengehaltes (COMBS, 1988; OSTER, 2003). Dort, wo die Böden selenreich sind (z.B. Kanada, Mittlerer Westen der USA, Venezuela), spielen proteinreiche tierische Lebensmittel in der Selenaufnahmebilanz keine so große Rolle; hier stellen Getreideprodukte die Hauptselenquelle dar (SCHRAUZER, 1998; HINTZE et al., 2001).

Die tägliche Selenaufnahme aus Lebensmitteln in % der Gesamtselenaufnahme in Westdeutschland gemäß Abb.2 (OSTER et al., 1988) zeigt, dass den tierischen Nahrungsmitteln in Deutschland die größere Bedeutung in der Selenversorgung zukommt¹, dabei stellt Selenocystein die Hauptselenquelle dar.

FOSTER und SUMAR (1997) zeigten anhand von Untersuchungen in Großbritannien, dass sich aber in der Zeit zwischen 1978 und 1995 die Bedeutung verschiedener Lebensmittel für die Selenversorgung signifikant gewandelt hat. Während 1978 noch 50% der Selenversorgung aus dem Verzehr von Getreide resultierten, trugen Zerealien 1995 nur noch zu 18% zur Selenversorgung bei.

Im Gegenzug erhöhte sich dadurch der Anteil der Selenaufnahme aus Fleisch von 28% (1978) auf 40% (1995); die Aufnahme aus Gemüse stieg von 3% auf 11% (diese letztgenannten prozentualen Werte drücken aber nur eine Verschiebung der Relationen in Bezug auf die gesunkene Gesamtselenaufnahme dar, ihre absoluten Werte stiegen nicht an). Diese Studie lässt vermuten, dass Vegetarier und Veganer in Europa nicht ausreichend mit Selen versorgt sind (FOSTER und SUMAR, 1997).

¹ Jedoch wäre die tägliche Selenaufnahme um 10 – 13 µg geringer, wenn eine Supplementierung zum Tierfutter nicht stattfinden würde (OSTER, 2003).

Die schlechtere Versorgung von Vegetariern wird von SCHUBERT und LEUPOLD (2001) bestätigt, während ALAEJOS et al. (2000) gegenteiliger Ansicht sind. Einschränkend gilt es aber zu berücksichtigen, dass die Autoren ihre Aussagen jeweils auf der Grundlage der unterschiedlichen Versorgungssituation ihrer Heimatländer¹⁾ (siehe auch Tab. 5) tätigten. Ein starkes Unterversorgungsrisiko besteht allerdings bei strengen Vegetariern²⁾ und Veganern (GIBSON, 1994; LEITZMANN und HAHN, 1996).

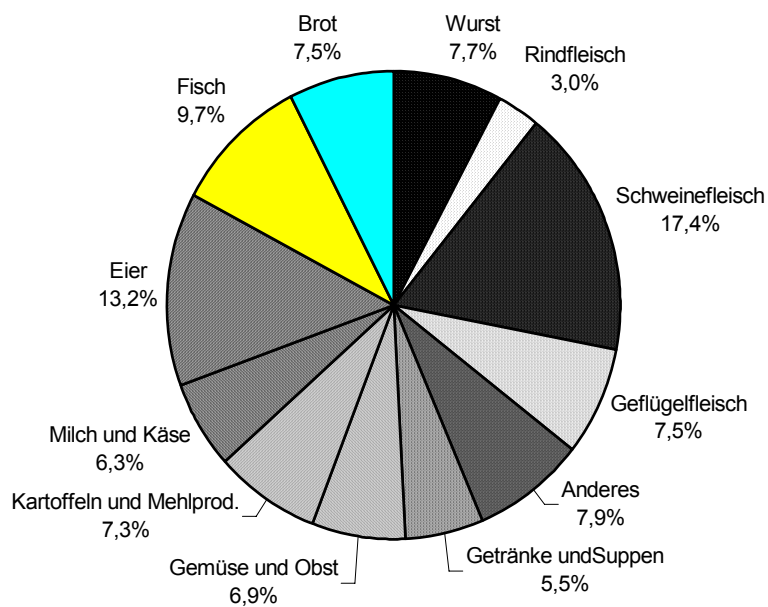


Abb. 2: Tägliche Selenaufnahme aus Nahrungsmitteln in % der Gesamtselenaufnahme in Deutschland (nach OSTER et al., 1988)

¹ UK: FOSTER und SUMAR (1997), D: SCHUBERT und LEUPOLD (2001), Spanien: ALAEJOS et al. (2000).

² Die nur selten Eier und Milchprodukte konsumieren.

Tabelle 7: Mittlerer Selengehalt verschiedener in Deutschland verzehrter Lebensmittel (nach BACH et al., 1990; SOUCI et al., 2000)

Nahrungsmittel	Selengehalt ($\mu\text{g}/100\text{ g}$ verzehrbarem Anteil)
<u>Getränke:</u>	
Fruchtsaftgetränk	0,05 *
Kakao 3,5% Fett	1,04 *
Vollmilch	1,4 ^ (Variation 1,3-13)
<u>Fleisch und Fleischerzeugnisse:</u>	
Bockwurst	7,69 *
Salami	9,47 * / 6,9 ^
Kochschinken	14,89 *
Kalbsleberwurst	24,22 *
Kaiserbraten	33,96 *
<u>Fisch und Fischerzeugnisse:</u>	
Fischstäbchen	36,87 *
Brathering	48,48 *
<u>Geflügel:</u>	
Putenrollbraten	22,70 *
Hähnchenschlegel	31,56 * / 7,3 ^ (Variation 6,0-14)
<u>Teigwaren und Eier:</u>	
Nudeln (ohne Ei)	2,39 *
Vollkornnudeln	2,81 *
Eiernudeln	20,0 ^ (Variation 13-66)
Hühnerei	10,0 ^
<u>Brot und Backwaren:</u>	
Roggenbrötchen	1,31 * / 3,0 ^ (Variation 3,0-3,9)
Knäckebrot	2,21 *
Hefezopf	4,13 *
Leinsamenbrot	6,78 *

Nahrungsmittel	Selengehalt ($\mu\text{g}/100\text{ g}$ verzehrbarem Anteil)
<u>Milchprodukte und Käse:</u>	
Fruchtjoghurt 3,5% Fett	0,99 *
Quark	2,52 * / 5,0 ^ (Variation 1,0-9,0)
körniger Frischkäse	3,46 *
Emmentaler	7,18 * / 11,0 ^
Camembert 30 - 60% Fett i. Tr.	7,66 * / 2,6 ^ (Variation 1,5-6,0)
Cheddarkäse	11,0 ^
Butter	0,27 * / 1,2 ^ (Variation 0,3-1,8)
<u>Kartoffeln und Kartoffelprodukte:</u>	
Knödel, halb & halb	0,33 *
Pommes frites	0,39 *
Salzkartoffeln	0,41 *
Kartoffelsalat	1,30 *
<u>Obst:</u>	
Birnen	< 0,02 * / 0,589 ^ (Variation 0,4-8,0)
Bananen	0,03 * / 1,4 ^ (Variation 1,0-17)
Mandarinen	0,08 * / 2,4 ^ (Variation 0,8-21)
Kirschen	1,2 ^ (Variation 1,0-1,3)
<u>Sonstiges:</u>	
Nutella	1,16 *
Ketchup	0,17 *
Remouladensoße	1,98 *
Cornflakes	3,74 * / 2,6 ^ (Variation 2,4-2,8)

* = Angaben laut BACH et al., 1990

^ = Angaben laut SOUCI et al., 2000

Tabelle 7 zeigt exemplarisch Selengehalte in $\mu\text{g}/100\text{ g}$ verzehrfertigem Anteil in häufig verzehrten deutschen Lebensmitteln. Dabei ist zu beachten, dass diese Werte wegen der unterschiedlichen Anbauggebiete bzw. Fütterungsbedingungen nur Momentaufnahmen darstellen. Selengehalte sind in gängigen Nährwert-Tabellen nur für einige Nahrungsmittel angegeben, meist mit dem Hinweis auf eine große Variationsbreite (SOUCI et al., 2000).

3.7 Bioverfügbarkeit von Selen

Vom Selengehalt der verzehrten Lebensmittel allein lässt sich nicht unbedingt auf den Versorgungszustand des Konsumenten schließen. Die Bioverfügbarkeit von Selen ist abhängig von der Lebensmittelmatrix, den anderen Bestandteilen der Nahrung und dem Gesundheits- und Ernährungsstatus des Organismus (LEVANDER, 1983; GIBSON, 1994; PATCHING und GARDINER, 1999).

Ein großer Unterschied hinsichtlich der Bioverfügbarkeit von Selen aus verschiedenen Lebensmitteln ist z.B. bei Pilzen (=niedrig) und Paranüssen (=hoch) dokumentiert (CHANSLER et al. 1986). Zudem scheint sie durch die Art der Nahrungszubereitung, wie z.B. Kochen oder Backen (ORTUÑO et al., 1996; FINLEY, 1999) sowie bei Milchprodukten durch Fermentation positiv beeinflussbar zu sein (ALM, 1983).

3.7.1 Definition der Bioverfügbarkeit

Eine allgemeingültige Definition zur Bioverfügbarkeit existiert nicht. FAIRWEATHER-TAIT (1992) definiert sie als den Anteil eines Inhaltsstoffes im Lebensmittel, der für die normalen Körperfunktionen nutzbar ist. Eine detailliertere Definition bezeichnet Bioverfügbarkeit als das Ergebnis einer Reihe von metabolischen Prozessen, wie Verdaulichkeit, Löslichkeit, Absorption, Aufnahme und Abgabe durch Organe, enzymatische Transformation, Sekretion und Exkretion. Daher kann die Bioverfügbarkeit als Maß der Verwertung eines Nährstoffes zur Erhaltung der „normalen“ Strukturen und der physiologischen Prozesse eines Organismus unter festgelegten Bedingungen definiert werden (WOLFFRAM, 1991; FAIRWEATHER-TAIT, 1999; ROIG, 1999).

Sie hängt von der Spezies¹⁾ des Elementes, dem Vorhandensein anderer Nahrungskomponenten sowie dem physiologischen Status des einzelnen Organismus ab (SNOOK et al., 1983; SHI und SPALLHOLZ, 1994; FOSTER und SUMAR, 1997; WEN et al., 1997). Kontrovers diskutiert wird, inwieweit die Speicherung im Körper zur Bioverfügbarkeit zu zählen ist (REILLY, 1996a).

¹ (von lat.: species = Anblick, Gestalt, Begriff): In der Chemie eine Atom- oder Molekülart, besonders dann, wenn die Konstitutionen noch nicht bekannt sind (FALBE und REGITZ, 1995).

3.7.2 Einflussfaktoren auf die Bioverfügbarkeit

Grundsätzlich wird die Bioverfügbarkeit eines Spurenelements von anderen Bestandteilen der Nahrung wie Proteinen bzw. Aminosäuren, Kohlenhydraten, anderen Metallionen, Ballaststoffen, Fettsäuren, Vitaminen und Phytaten beeinflusst¹⁾ (ORTUÑO et al., 1996). Die Faktoren, die zu einer höheren Bioverfügbarkeit führen, sind molekulare Verbindungen, die Bindungen mit dem Mineral eingehen. Im Gegensatz dazu bilden die hemmenden Faktoren entweder unlösliche Komplexe oder die Mineral-Inhibitor-Verbindung kann nicht intakt absorbiert werden (HOUSE, 1999).

Das Wissen über diese Interaktionen ist hauptsächlich qualitativ; der Mangel an quantitativen Ergebnissen lässt noch keine Abschätzung zu, inwieweit sie ernährungsphysiologisch signifikant sind (MILLS, 1985). Untersuchungen zur Bioverfügbarkeit liegen hauptsächlich für Calcium, Eisen, Zink, Kupfer, Jod, Mangan, Magnesium und Phosphor vor (HOUSE, 1999). Da das chemische Verhalten von Selen im Vergleich zu anderen Spurenelemente recht kompliziert ist, lassen sich die bei anderen Elementen gewonnenen Erkenntnisse nicht einfach auf Selen übertragen.

Während die meisten anderen Spurenelemente als Kationen elektrostatische Komplexe mit Liganden wie Proteinen und Aminosäuren bilden, ist Selen kovalent an Kohlenstoff, Schwefel, Sauerstoff und Wasserstoff gebunden. In vielen Eigenschaften ähnelt Selen dem Schwefel. So hat auch Selen eine Affinität zu Schwermetallen wie Cadmium, Silber und Quecksilber (LÖNNERDAL, 1985). Einen fördernden Einfluss auf die intestinale Verfügbarkeit von Selen wird Aminosäuren (insbesondere Methionin), Vitamin E und hohen Konzentrationen an Vitamin A und anderen Antioxidantien zugesprochen, wohingegen Schwermetalle und Schwefelverbindungen einen hemmenden Effekt auf die Absorption haben (LOMBECK, 1990; EKMEKCIOGLU, 2000).

3.7.3 Resorption von Selen

Bioverfügbarkeit setzt immer erst die Absorption voraus. Hauptresorptionsort für Selen ist der Dünndarm²⁾. Dabei unterliegen die verschiedenen Selenspezies einem jeweils spezifischen Absorptionsmechanismus:

¹⁾ Phosphorverbindungen haben keinen Einfluss auf den Selenmetabolismus.

²⁾ Neben Blind- und Dickdarm; Hauptaufnahmeort ist das Duodenum.

- Selenomethionin, die häufigste Selenaufnahmeform in der Nahrung sowie Selenocystein werden über den gleichen Na^+ -abhängigen Aminosäuren-Transportmechanismus aktiv absorbiert wie die analogen Thioaminosäuren (LÖNNERDAL et al., 1992; SCHRAUZER, 1998; FORTH et al., 2001)
- Die Resorption von Selenit erfolgt Na^+ -unabhängig (passiver Transport) und kann auf zwei Wegen erfolgen: Entweder nach der Bildung von Selenodicystein mittels Aminosäuren-Carrier im Dünndarmepithel oder durch Glutathion über γ -Glutamyl-Transferase (ALAEJOS und DÍAZ ROMERO, 1995; TYRALA et al., 1996; ORTUÑO et al., 1996)
- Die Aufnahme von Selenat erfolgt aktiv sowohl durch einen Na^+ /Selenat-Co-Transport-Mechanismus als auch durch einen OH^- -Austauschmechanismus¹⁾ (WÜRMLI et al., 1989; WOLFFRAM, 1991; VENDELAND et al., 1992; FORTH et al., 2001).

Selenomethionin, Selenocystein und Selenat werden aufgrund ihres aktiven Resorptionsmechanismus in einem größeren Ausmaß absorbiert als Selenit (ALAEJOS und DÍAZ ROMERO, 1995; TYRALA et al., 1996), wobei aber bei steigender Selenaufnahme die Resorptionsraten grundsätzlich sinken (LEVANDER et al., 1983; SHEN et al., 1997; FAIRWEATHER-TAIT, 1997; 1999).

Im einzelnen werden in der Literatur zu den verschiedenen Spezies folgende Absorptionsraten angegeben:

Selenomethionin:

- In isolierter Form 95-98% (DREOSTI, 1986; DANIELS, 1996), 96-97% (PFANNHAUSER, 1992a), bis 98% (ANKE und SCHÜMANN, 1999), bis 100% (BIESALSKI und GRIMM, 2002)
- Aus realer Nahrung 50-80% (FORBES und ERDMAN, 1983; ROBINSON und THOMSON, 1983; MUTANEN, 1986; DIPLOCK, 1987; DANIELS, 1996), 50-90% (BIESALSKI und GRIMM, 2002; OSTER, 2003)

Selenocystein:

- Aus gemischter Kost 50-90% (BIESALSKI und GRIMM, 2002; OSTER, 2003)

Selenat:

- 94% (ORTUÑO et al., 1996), 95% (THOMSON und ROBINSON, 1986), 95-98% (DREOSTI, 1986; DANIELS, 1996), 97% (VAN DAEL et al., 2002)

Selenit:

- 48-89%²⁾ (SCHMIDT und BAYER, 1988), 62% (THOMSON und ROBINSON, 1986; ORTUÑO et al., 1996), 68% (EHRENKRANZ et al., 1991), 73% (VAN DAEL et al., 2002), 84% (ANKE und SCHÜMANN, 1999).

¹ In der Bürstensaummembran der mittleren und distalen Dünndarmabschnitte; eine Reihe zweiwertiger Ionen (z.B. Sulfat, Thiosulfat, Molybdat, Chromat, Oxalat, Oxalacetat) können die Aufnahme des Selenats kompetitiv hemmen.

² $89 \pm 5\%$ bei der Verabreichung von Tabletten, die $50 \mu\text{g}$ Selen in Form von markiertem Natriumselenit (Radiotracer) enthielten. Nach 14-tägiger Gabe sank diese auf $48 \pm 6\%$.

Die Gründe für diese zum Teil stark variierenden Angaben der Absorptionsraten sind:

- Die untersuchten Personen weisen in den einzelnen Studien oftmals einen unterschiedlichen (Ausgangs-)Zustand auf (Alter, Geschlecht, Gesundheits- und Ernährungsstatus)
- Es gibt Unterschiede bzgl. der Aufnahmebedingungen (Selenspezies isoliert oder als Nahrungsbestandteil zugeführt)
- Die Bestimmungsmethoden variieren (von kurzfristigen Untersuchungen mittels Radiotracer bis hin zu längerfristig angelegten Isotopen-Bilanzstudien) (DANIELS, 1996; FAIR-WEATHER-TAIT, 1997).

Als Fazit ergibt sich aber bzgl. der Absorptionsraten folgende abfallende Reihenfolge:

Selenomethionin > Selenat (> Selenocystein) > Selenit (ZIMMERLI et al., 1995; DANIELS, 1996; VAN DAEL et al., 2002).

Ein *In-vitro*-Versuch, bei dem die vier verschiedenen Selenspezies Selenat, Selenit, Selenomethionin und Selenocystin einer simulierten gastrointestinalen Digestion unterzogen wurden, konnte die oben beschriebenen Absorptionsverhältnisse anhand der ermittelten Diffusibilität bestätigen. Dabei zeigte er auch den Einfluss der Randbedingungen auf:

Die verschiedenen Selenspezies wurden je einmal mit Milch und einmal mit Wasser einer simulierten Digestion unterzogen. Dabei zeigte sich, dass die Unterschiede in der Diffusibilität nicht nur auf Beeinflussungen durch andere Milchbestandteile beruhen, sondern im Wesentlichen auch auf Interaktionen mit den Verdauungssäften, die große Mengen an Enzymproteinen enthalten (SHEN et al., 1997).

3.7.4 Methoden zur Bestimmung der Bioverfügbarkeit von Selen

3.7.4.1 *In-vivo*-Studien

Strenggenommen sollten Untersuchungen zur Bioverfügbarkeit auf *In-vivo*-Studien beruhen. *In-vivo*-Studien am Menschen sind aber abgesehen von ethischen Bedenken sehr zeitraubend, teuer und schwierig durchzuführen. Manchmal liefern sie auch recht unterschiedliche Ergebnisse, weil sie von der jeweiligen physiologischen Disposition des Organismus beeinflusst werden (SCHRICKER et al., 1981).

In-vivo-Studien an Labortieren sind nicht so teuer, haben aber den Nachteil der nicht auszu-schließenden Unterschiede in der Verdauung und der Absorptionskapazität zwischen Tier und Mensch. Ihre Aussagekraft ist daher wegen der Unsicherheit der Übertragbarkeit der

Ergebnisse vom Tier auf den Menschen begrenzt (LARSSON et al., 1997; ELMADFA und LEITZMANN, 1998).

Herauskristallisiert haben sich bei der *In-vivo*-Bestimmung der Bioverfügbarkeit von Selen drei verschiedene Herangehensweisen, wobei die erste und zweite Variante am häufigsten zur Anwendung kommen:

1. Die Absorption und Retention von Selen in bestimmten Organen oder Geweben wird mittels markierter Selenisotope gemessen.
2. Die Aktivität der GSH-Px in verschiedenen Geweben oder die Plasmaselenkonzentration wird herangezogen.
3. Die Prävention vor Mangelkrankheiten, d.h. der Einfluss einer Selensupplementierung auf die Häufigkeit oder den Schweregrad bestimmter Selenmangelkrankheiten (z.B. Keshan-Krankheit oder Lebernekrose bei Ratten) wird beurteilt. Der Nachteil hierbei ist, dass bestimmte Selenmangelsymptome vorausgesetzt werden (WOLFFRAM, 1991; FAIRWEATHER-TAIT, 1997).

Da die Messgrößen für den Selenstatus noch nicht endgültig geklärt sind, sollte die Bestimmung der Bioverfügbarkeit von Selen auch die Bestimmung der GSH-Px-Aktivität beinhalten. Beim Vergleich der mit verschiedenen Modellen ermittelten Werte für die Bioverfügbarkeit von Selen aus verschiedenen Selenquellen können nur mäßige Übereinstimmungen zwischen den Modellen aufgezeigt werden. Deswegen ist es schwierig, die Bioverfügbarkeitsrate für ein bestimmtes Lebensmittel auf einen bestimmten Wert festzulegen (WOLFFRAM, 1991).

3.7.4.2 *In-vitro*-Methoden

Alternativ zu Human- und Tier-*In-vivo*-Studien wurden verschiedene *In-vitro*-Verfahren entwickelt. Auch wenn es nicht möglich ist, „im Erlenmeyerkolben“ alle physiologischen Verdauungsbedingungen zu simulieren, so erlauben *In-vitro*-Studien doch eine gute Abschätzung der Bioverfügbarkeit von Spurenelementen (SHEN et al., 1993; ORTUÑO et al., 1996).

In-vitro-Methoden zur Untersuchung der Bioverfügbarkeit können grob in drei Typen klassifiziert werden, gemäß: Methoden, die auf der Bestimmung

- I. löslicher Komponenten unter simulierten Verdauungsbedingungen fußen;
- II. dialysierbarer Komponenten unter simulierten Verdauungsbedingungen basieren;
- III. des molaren Verhältnisses zwischen komplexbildenden Faktoren und dem Mineralgehalt in der Nahrung beruhen.

Die von MILLER et al. (1981) gemäß dem Typus II entwickelte¹⁾, von SHEN et al. (1993) erstmals auf Selen in Milch angewandte und von BUTH (2001) validierte²⁾ *In-vitro*-Methode zur Bestimmung der Dialysierbarkeit des Selens wurde im Rahmen dieser Arbeit angewandt. Ihr großer Vorteil liegt in der Reproduzierbarkeit und Vergleichbarkeit mit Human-*In-vivo*-Studien³⁾ (LUTEN et al., 1996).

3.7.5 Selenmetabolismus

Die vorherrschende Form in der Nahrung ist das Selenomethionin. Die wichtigsten anorganischen Vorkommen in der Nahrung bzw. im Trinkwasser sind Selenat (SeO_4^{2-}) und Selenit (SeO_3^{2-}), die allerdings vor ihrem direkten Einbau in Selenoproteine (als Selenocystein) erst zu Selenid (Se^{2-}) reduziert werden müssen. Sowohl organisches als auch anorganisches Selen kann vom Körper verwertet werden, allerdings sind durch Schwermetallbelastung entstandene stabile Metallselenide sowie elementares Selen nicht metabolisierbar (REILLY, 1996a; BARCELOUX, 1999).

Die Aufnahme des Selens (durch die Mucosa) hängt dabei von drei Faktoren ab:

1. Chemisch-physikalische Verfügbarkeit im Verdauungstrakt, d.h. der Anteil, der auf die Resorption vorbereitet ist (= bioverfügbarer Anteil).
2. Absorptionsprozess im Umfang der Aufnahme des Elementes von der Mucosazelle, sein Transport durch die Zelle und der Transfer in den Blutstrom.
3. Transformation des Selens in die biologisch aktive Form (SHEN et al., 1996).

Selen in Gestalt von Selenit wird von den Erythrozyten selektiv und schnell aufgenommen und in diesen zu Selenid reduziert. Dieses wird, an Albumin gebunden, zu den Geweben transportiert, in denen anschließend der Einbau in die Selenoproteine erfolgt (PATCHING und GARDINER, 1999).

¹ Sie wurde von MILLER et al. (1981) zur Untersuchung der Bioverfügbarkeit von Eisen aus komplexen Mahlzeiten entwickelt. SCHRICKER et al. (1981) verglichen die Ergebnisse, die dabei gewonnen wurden, mit Ergebnissen aus Human- und Tierstudien (Ratte) und kamen zu dem Schluss, dass eine statistisch signifikante Übereinstimmung zwischen Human-*In-vivo*-Studie und *In-vitro*-Studie besteht. Auch auf dieser Methode basierende *In-vitro*-Untersuchungen auf Zink-, Eisen- und Calciumbioverfügbarkeit zeigen eine gute Übereinstimmung mit *In-vivo*-Studien (ZEMEL, 1984).

² Aufgrund der Evaluierung der Wiederfindungsrate und der Bestimmung des jeweiligen Vertrauensbereiches.

³ In einem *Interlaboratory Trial* wurde diese leicht modifizierte und in einigen Details spezifizierte Methode von MILLER et al. (1981) auf eine Reproduzierbarkeit und Vergleichbarkeit mit Human-*In-vivo*-Studien untersucht. Dabei wird die Reproduzierbarkeit als akzeptabel im Vergleich mit Bio-Essay-Methoden beurteilt. Eine gewisse Übereinstimmung der *In-vitro*-Methode mit den Absorptionswerten von Nüchthämeisen aus *In-vivo*-Untersuchungen wurde festgestellt.

Anorganische Selenalze sind aber nicht so effizient, den Blut-Selenstatus aufrechtzuerhalten wie Selen aus Weizen oder Hefe¹⁾ (DANIELS, 1996; FAIRWEATHER-TAIT, 1997), wobei Selenit und Selenat in Lebensmitteln natürlicherweise nur in geringen Mengen enthalten sind²⁾ (ZIMMERLI et al., 1995). Resorbiertes Selenomethionin hingegen wird unspezifisch ins Plasmaalbumin und in das Hämoglobin der Erythrozyten eingebaut (WASCHULEWSKI und SUNDE, 1988) und so durch den Körper transportiert. Bei Selenüberschuss kann Selenomethionin auch willkürlich in andere Proteine eingebaut werden, in denen es dann Methionin ersetzt, was vom Körper toleriert wird (SCHRAUZER, 2000). Die Einbaurate hängt vom Proteinhaushalt und vom jeweiligen Methioningehalt der Nahrung ab (LOMBECK, 1990). Selenomethionin erfüllt keine mit Selen zusammenhängende Redoxfunktion in den Proteinen, so wie sie von Selenocystein bekannt ist (PATCHING und GARDINER, 1999).

Da es jedoch genau wie Methionin vom Menschen nicht selbst synthetisiert werden kann, stellt sich die Frage, ob Selenomethionin spezifisch essentielle oder vorteilhafte Funktionen im Organismus ausübt (SCHRAUZER, 2000). Auf jeden Fall stellt es einen gewissen Selen-Pool dar (BIESALSKI und GRIMM, 2002), der im Rahmen des normalen Protein-Turnovers dem Organismus zur Verfügung steht.

Dazu haben JANGHORBANI et al. (1990) das *Two Compartment Model* (Zwei Speicher Modell) aufgestellt. Sie unterscheiden zwischen folgenden Selen-Pools:

- Pool 1 beinhaltet vom Selenit-Metabolismus stammende Endprodukte wie Selenoprotein P, GSH-Px, DMSe, TMSe sowie intermediäre Formen aus dem Glutathionzyklus. Er wird auch *Selenite-Exchangeable Metabolic Pool* (Se-EMP) genannt.
- Pool 2 besteht aus unspezifisch eingebautem Selenomethionin, das als Speicher dient und Selen an Pool 1 abgeben kann.

Pool 1 enthält damit das metabolisch austauschbare Selen und ist für die Konzentration der GSH-Px verantwortlich. Ist diese (und möglicherweise auch andere Selenoenzyme) mit Selen gesättigt, wird wahrscheinlich der Überschuss an Selen aus dem Se-EMP in der Leber gespeichert oder ausgeschieden. Der Se-EMP könnte auch als Maß für den Selenstatus des Menschen herangezogen werden (MELTZER et al., 1992; PFANNHAUSER, 1994; DANIELS, 1996).

¹⁾ Daraus resultiert, dass die Selenkonzentration im Blutplasma bei Selenzufuhr als Selenit (oder auch Selenat) nicht so stark ansteigt wie bei der Gabe von Selenomethionin. Dies impliziert aber auch, dass eine chronische Überdosierung von Selenomethionin toxischer wirkt, als anorganisches Selen, da Se-Met stärker akkumuliert wird (LÖNNERDAL et al., 1992; DANIELS, 1996).

²⁾ Hauptsächlich stammen aufgenommene Selenite und Selenate aus dem Trinkwasser.

3.7.6 Selenausscheidung beim Menschen

Nur ein Teil des mit der Nahrung aufgenommenen Selens wird in biologisch aktive Formen überführt. Verluste entstehen durch nichtresorbiertes Selen, das wieder ausgeschieden wird. Von dem tatsächlich absorbierten Anteil ist jedoch auch nicht alles von physiologischer Bedeutung, da ein variabler Teil ohne Nutzung für spezifische Prozesse sofort über Lunge und Niere ausgeleitet werden kann (PATCHING und GARDINER, 1999).

Die Gesamtmenge an Selen im menschlichen Körper beträgt zwischen 3 – 20 mg¹⁾. Die tägliche Ausscheidung ist abhängig von der Zufuhr und beträgt im Mittel $52 \pm 23 \mu\text{g Se/Tag}$, dies entspricht etwa 0,4% der Menge des Gesamtkörperselens (GASNIER, 2002).

Die Abgabe des Selens erfolgt über Harn, Faeces und Atemluft²⁾, wobei der Harn³⁾ der primäre Ausscheidungsweg für Selen (in Form des Trimethylselenonium-Ions $(\text{CH}_3)_3\text{Se}^+$) ist (SCHMIDT und BAYER, 1988; FOSTER und SUMAR, 1997). Dagegen ist die Ausscheidung über den Stuhl von geringer Bedeutung, es sei denn, die Zufuhr mit der Nahrung ist sehr hoch⁴⁾.

3.8 Selenanalytik

3.8.1 Methoden der Selenanalytik

Zur Selenanalyse können je nach Aufgabenstellung, zu erwartenden Selengehalten und natürlich Laborausstattung die verschiedensten Techniken eingesetzt werden:

I. Atomspektrometrische Methoden, untergliedert in:

1. Emissions-Spektrometrie

- Plasma-Emissions-Spektrometrie (ICP-OES/ICP-AES): Nur für hohe Selenkonzentrationen geeignet, da die Selenemissionslinie im spektrometrisch schwer erfassbaren UV-Bereich liegt⁵⁾. Nachweisgrenze: $50 \mu\text{g L}^{-1}$ (SLAVIN, 1992; TYLER, 1995; KLÄNTSCHI et al., 1996)

¹ 3-6 mg in Selenmangelgebieten wie Neuseeland bis 13-20 mg in gut versorgten Gebieten (DANIELS, 1996).

² Bei extremer Selenübersorgung bzw. im Zuge der Selendetoxikation entstehen im menschlichen Körper methylierte Organoselenverbindungen. Die entstehenden Dimethylderivate werden entweder exhaliiert oder durch die Haut abgegeben (BARCELOUX, 1999; PATCHING und GARDINER, 1999).

³ Die Normalwerte für die Abgabe im Harn liegen bei $< 0,1 \text{ mg L}^{-1}$, Werte ab $0,2 \text{ mg L}^{-1}$ sind Indikatoren für eine Selenintoxikation (JANGHORBANI et al., 1984; ELMADFA und LEITZMANN, 1998).

⁴ Nur bei oraler Gabe von 1 mg Selenit oder Selenat wurden nennenswerte Mengen (38% bzw. 6%) exkretiert.

⁵ Zusätzlich können spektrale Interferenzen durch Matrixelemente derart dominant sein, dass sie sich nicht korrigieren lassen und daher auf eine weniger empfindliche Emissionslinie ausgewichen werden muss.

- Noch ungeeigneter ist aus den oben genannten Gründen die Flammen-Emissions-Spektrometrie (FES): Nachweisgrenze: $1.000 \mu\text{g L}^{-1}$ (TYLER, 1995).
- 2. Absorptions-Spektrometrie
 - Flammen-AAS: Nur für hohe Selenkonzentrationen geeignet, da die Eigenabsorption der Flamme unterhalb 210 nm sehr ausgeprägt ist¹.
Nachweisgrenze: $100 \mu\text{g L}^{-1}$ (SLAVIN, 1992; WELZ und SPERLING, 1997)
 - Graphitrohrföfen-AAS (GF-AAS/ETA-AAS): Gut geeignet für Proben mit unkomplizierter Matrix, z.B. Wasserproben. Nachweisgrenze: $0,5 - 2 \mu\text{g L}^{-1}$ (KLÄNTSCHI et al., 1996; WELZ und SPERLING, 1997)
 - Hydrid-Atomabsorptionsspektrometrie (HG-AAS): siehe Kap. 3.8.2ff
- 3. Fluoreszenz-Spektrometrie
 - Röntgen Fluoreszenz-Spektrometrie (XRF): Nur für hohe Selenkonzentrationen geeignet. Nachweisgrenze: $1.000 \mu\text{g L}^{-1}$
 - Atom Fluoreszenz-Spektrometrie (AFS):
 - HG-AFS: Probenvorbereitung wie bei der HG-AAS (siehe Kap. 3.8.2.3), hoher Probendurchsatz. Nachweisgrenze: $2 - 5 \text{ ng L}^{-1}$ (PSA, 1999; CAVA-MONTESINOS et al., 2003)
 - Laserangeregte AFS: Nachweisgrenze: $1,5 \text{ ng L}^{-1}$ (HEITMANN, 2001).
- II. Massenspektrometrische Methoden, davon am besten etabliert bzgl. der Selenanalytik:
 - ICP-MS (siehe Kap. 3.8.3ff)
- III. Neutronenaktivierung
 - Radiochemische Neutronenaktivierungsanalyse (RNAA): Nachteile: Standortgebundenheit an einen Forschungsreaktor, hohe Investitionskosten. Vorteile: Hohe Selektivität, geringer Probenbedarf. Nachweisgrenze: $< 1 \mu\text{g L}^{-1}$
 - Instrumentelle Neutronenaktivierungsanalyse (INAA): Nachteile: Standortgebundenheit an einen Forschungsreaktor, hohe Investitionskosten. Vorteile: Hohe Selektivität, geringer Probenbedarf, einfache Probenvorbereitung. Nachweisgrenze: $< 1 \mu\text{g L}^{-1}$ (HAJ-BAKRI, 1996).

3.8.2 Atomabsorptionsspektrometrie (AAS)

Grundlage der Atomabsorptionsspektrometrie (AAS) ist die Absorption von elektromagnetischer Strahlung in Gasen im Bereich des optischen Spektrums² (OTTO, 1995). Eine Hohlkathode

¹ Empfindlichste Absorptionslinie des Selens: 196,0 nm

² Wird ein polychromatischer Lichtstrahl durch ein Gas im atomaren Zustand geschickt, so wird davon Strahlung ganz bestimmter Wellenlängen absorbiert.

denlampe (HKL) mit dem zu analysierenden Element als Kathode erzeugt aufgrund einer elektrischen Glimmentladung das Emissionsspektrum des betreffenden Elements. Im Strahlengang befindet sich im Atomizer (der Atomisierungseinheit) die zu analysierende Probe im Gaszustand, deren Atome im Bereich der Resonanzlinie absorbieren¹⁾. Mit Hilfe eines Monochromators²⁾ wird nur der Bereich dieser Resonanzlinie betrachtet und deren Schwächung von einem Detektor registriert³⁾ (SCHWEDT, 1995; KLÄNTSCHI et al., 1996).

3.8.2.1 Hydridverfahren in der Atomabsorptionsspektrometrie (HG-AAS)

Die Eigenschaften der schwereren Elemente der IV., V. und VI. Hauptgruppe des Periodensystems, aus wässrigen Lösungen mit geeigneten Reduktionsmitteln gasförmige, kovalente Hydride zu bilden, wird schon seit langem, z.B. in der *Marshschen*⁴⁾ oder der *Gutzeitschen*⁵⁾ Probe genutzt (DITTRICH und MANDRY, 1986). HOLAK setzte erstmals 1969 die Hydridtechnik in Kombination mit der AAS ein⁶⁾. Diese Technik ist bei allen Elementen anwendbar, die in leicht flüchtige und leicht zersetzbare Hydride überführt werden können⁷⁾, dazu zählen Germanium, Zinn, Blei, Arsen, Antimon, Bismut, Tellur und Selen (HILL et al., 1995).

Die von HOLAK eingeführte Matrixabtrennung für flüchtige Elementhydride in Verbindung mit der AAS bringt eine Reihe von Vorteilen, die sich in einer Steigerung des Nachweisvermögens ausdrücken:

- Abtrennung des Analyten von der Probenmatrix und dadurch Anreicherung des Analyten
- Ausbleiben möglicher Interelementstörungen bei der Atomisierung
- Beseitigung eventueller spektraler Interferenzen (BARTH et al., 1992).

¹ Die Intensität des Primärlichtes wird dabei geschwächt. Spektrallinien, die nicht in Absorption treten, werden nicht geschwächt.

² Für die Detektion wird ein Monochromator mit einem photoelektrischen Empfänger verwendet. Im Monochromator wird die elektromagnetische Strahlung an einem optischen Gitter wellenlängenabhängig aufgetrennt, die interessierende Spektrallinie selektiv auf den Empfänger abgebildet und die Strahlungsleistung gemessen.

³ Die Intensität der Resonanzlinie steht in unmittelbarem Zusammenhang zur Zahl der absorbierenden Teilchen N – entsprechend dem *Lambert-Beerschen* Gesetz: $E = \epsilon \cdot c \cdot d = \log(I_0 / I)$ (KUNZE, 1990). Die Intensität I_0 des Primärlichtes wird auf folgende Weise geschwächt: $I = \exp(-k \cdot c \cdot l)$.

⁴ Historische Methode zum Arsennachweis bei Vergiftungsfällen: Generiertes AsH_3 zerfällt zu einem charakteristischen Arsenspiegel.

⁵ wie 1), jedoch Arsennachweis mittels Abscheidung von metallischem Silber aus Silbernitrat.

⁶ Indem er das aus einer salzsauren Probenlösung durch Zink generiertes AsH_3 mit einem Inertgasstrom austrieb und der AAS zuführte.

⁷ Die erste Eigenschaft ist wichtig für das eigentliche Trennverfahren, die zweite für den Bestimmungsschritt (Atomisierung).

3.8.2.2 Fließinjktions-HG-AAS (FI-HG-AAS)

Die Fließinjktionsanalyse (FIA) wurde erstmals 1975 von RUZICKA und HANSEN beschrieben. Die dabei angewandte Technik der Fließinjktion (FI) eignet sich als *Online*-Kopplungskomponente und als Ergänzung zu anderen Analysenverfahren, wie beispielsweise in Verbindung mit der AAS. Das Fließinjktionssystem fungiert dabei als *Interface* zwischen den Proben und dem Analysengerät, indem es den Analyten auf seine Detektion im Analysengerät vorbereitet (SCHRADER et al., 1989; BURGUERA und BURGUERA, 1995).

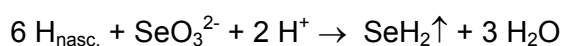
Bei der FI-Technik wird ein vorgegebenes, genau definiertes Volumen (diskretes Volumen) einer flüssigen Probe in einen kontinuierlich fließenden, nicht durch Gasblasen segmentierten Flüssigkeits- bzw. Trägerstrom injiziert¹⁾ (RUZICKA und HANSEN, 1988; SCHRADER et al., 1989). Als das eigentliche Trennverfahren und darauf folgenden Bestimmungsschritt (Atomisierung) fungiert das Hydridverfahren in der Atomabsorptionsspektrometrie (HG-AAS) (DAMKRÖGER, 1995). Die Bildung des Monoselans erfolgt aus salzsaurer Lösung durch Reduktion von SeO_3^{2-} mit Natriumborhydrid (NaBH_4).

Dies geschieht nach folgendem Mechanismus:

- Bildung des naszierenden Wasserstoffs ($\text{H}_{\text{nasc.}}$) als Reduktionsmittel



- Reduktion des Se(IV) zum Selenwasserstoff



- Wasserstoffentwicklung²⁾



Ein Inertgasstrom (Argon) dient dazu, den entstandenen Selenwasserstoff in eine beheizte Quarzküvette zu leiten, wo er dann atomisiert und im Strahlengang eines monochromatischen Linienstrahlers detektiert wird (BYE und LUND, 1988; WELZ und SPERLING, 1997).

¹⁾ Die injizierte Probe bildet im Trägerstrom eine Zone; dabei können die Betriebsparameter so gewählt werden, dass es zu einer zeitlich konstanten, minimalen Vermischung zwischen Probe und Trägerstrom kommt, die zu jedem beliebigen Zeitpunkt reproduzierbar ist. Das Analytsignal erreicht dadurch unabhängig von der Analytkonzentration immer zum selben Zeitpunkt nach dem Start der Analytbestimmung sein Maximum und kehrt zum selben Zeitpunkt zur Basislinie zurück (WELZ und GUO, 1992). RUZICKA und HANSEN (1988) nennen diesen Prozess „kontrollierte Dispersion“.

²⁾ Der Wasserstoff dient dazu, den Selenwasserstoff auszutreiben, wobei dann beide durch einen Inertgasstrom (Argon) in eine beheizte Quarzküvette geleitet werden. Dort entstehen aus dem Hydrid unter Beteiligung von Wasserstoff-Radikalen und Sauerstoff freie Atome (Atomisierung). Die Wasserstoff-Radikale entstehen durch Reaktion des Wasserstoffs mit Sauerstoff, der in gelöster Form in der Reaktionslösung und in Spuren im Inertgasstrom vorliegt.

Die FI-Technik bietet aufgrund ihrer Miniaturisierung im Vergleich zu üblichen *Batch*-Systemen¹⁾ zahlreiche Vorteile (CAMMANN, 2001). Hierzu gehören der um eine bis zwei Größenordnungen geringere Verbrauch an Probe und Reagenzien sowie eine um den Faktor 50 höhere Empfindlichkeit. Weitere Vorteile sind die leichte Automatisierbarkeit und die hohe Probenfrequenz; das Kontaminationsrisiko ist im Spurenbereich durch Arbeiten im geschlossenen System und durch die geringeren Reagenzmengen deutlich minimiert (WELZ und SCHUBERT-JACOBS, 1989; BURGUERA und BURGUERA, 1995).

3.8.2.3 Probenvorbereitung für die FI-HG-AAS

Die FI-HG-AAS²⁾ ist eine der gebräuchlichsten Methoden in der Selenanalytik und die Methode der Wahl für die Bestimmung von Selen im Spurenbereich aufgrund ihrer vergleichsweise geringen Kosten, der niedrigen Nachweisgrenze, ihrer hohen Präzision und Richtigkeit verbunden mit einem hohen Probendurchsatz (MAYER et al., 1992; JIMÉNEZ DE BLAS et al., 1996).

Eine Besonderheit der AAS-Technik ist aber die extreme Abhängigkeit des Messsignals von der Wertigkeitsstufe des untersuchten Elements (GUO et al., 1989; CERVERA und MONTORO, 1994). Daher ist eine der Voraussetzungen für die Anwendung der Hydrid-AAS-Technik sowie deren Kopplung mit einem FI-System (FIA-AAS), dass die zu bestimmenden Elemente in ionogener, anorganischer Bindungsform sowie in wässriger Lösung vorliegen. Biologische Proben müssen demzufolge zuerst komplett mineralisiert werden, d.h. dass die (organische) Matrix in einem der Bestimmung vorgeschalteten Schritt von dem gesuchten Spurenelement abgetrennt werden muss.

Der zu diesem Zweck durchzuführende Aufschluss übernimmt dabei mehrere Aufgaben:

- Mineralisierung der organischen Probenmatrix
- Umwandlung der Spurenelement-Spezies in eine wasserlösliche Form
- Homogenisierung der Spurenelemente in der Probe
- Überführung, wenn möglich, in die gewünschte Wertigkeitsstufe
- Abtrennung von störenden Matrixbestandteilen (JACKWERTH und GOMISCEK, 1984).

¹ Vor der Entwicklung der FI-Technik stellten sogenannte *Batch*-Methoden den Übergang von Probe und Analysengerät dar. Bei dieser Technik werden die Probe und das Reagenz im satzweisen Betrieb zur Reaktion gebracht; der entstandene Analyt kann dann detektiert werden (KARLBERG und PACEY, 1989).

² Zum ersten Mal koppelte ÅSTRÖM 1982 die FI-Technik mit dem Hydrid-AAS-Verfahren bei der Bestimmung von Bismut.

Als Methode für die Veraschung geologischer und biologischer Proben hat sich seit etwa 1988 die Mikrowellenaufschlusstechnik¹⁾ immer weiter etabliert (DUNEMANN, 1994). Die Gründe liegen auch hier im hohen Probendurchsatz sowie in der Möglichkeit, (im Gegensatz zu vielen anderen Aufschlussverfahren) Reaktionsparameter, wie z.B. Druck und Temperatur, kontinuierlich messen zu können (TAYLOR et al., 2001). Eine nur geringe Menge an Aufschlussreagenzien (und somit niedrige Blindwerte für niedrige Nachweisgrenzen) sowie der Schutz vor dem Verlust leicht flüchtiger Elementspezies (wie beim Selen) stellen weitere Vorteile dieser Technik dar (RHOADES, 1996).

Ein kritischer Punkt in der Probenvorbereitung ist die Eliminierung störender Matrixbestandteile der Probe selbst oder zugefügter Aufschlussreagenzien. So kann die Selenbestimmung mittels Hydridtechnik durch NO_2^- stark verfälscht werden. Nitrite sind entweder ein natürlicher Probenbestandteil, oder sie entstehen durch Reduktion während eines oxidativen Aufschlusses mit Salpetersäure. Durch saure Disproportionierung des Nitrits resultieren als die eigentlichen Störsubstanzen flüchtige Stickoxide (NO , NO_2 , N_2O_3 , N_2O_4) oder Nitrosylchlorid²⁾ (BROWN et al., 1981; CUTTER, 1983; SINEMUS et al., 1986; WELZ und SPERLING, 1997).

Diese nitrosen Intermediate sind die Ursache von Signaldepressionen durch die Oxidation des entstandenen Selenwasserstoffs bzw. sind Verursacher spektraler Störungen – eine Schwachstelle in den bisher bestehenden Methoden. Es bestand daher zu Beginn der hier vorgestellten Arbeit ein großer Bedarf bzgl. der sicheren Ausschaltung dieser Fehlerquellen (SCHLOSKE et al., 2002).

3.8.3 ICP-MS als elementspezifisches Detektionsverfahren

Das Prinzip der ICP-MS beruht auf der Ionisierung des zu analysierenden Materials in einem Plasma bei etwa 5.000°C . Zur Erzeugung des Plasmas wird ein hochfrequenter Strom in ionisiertem Argon induziert³⁾. Nach dem Fokussieren in der sogenannten Ionenoptik wird der Ionenstrahl im eigentlichen Massenspektrometer in Ionen unterschiedlicher Masse getrennt.

¹⁾ Dabei sind jedoch die Mikrowellen ($\nu = 2,45 \text{ GHz}$) aufgrund ihrer niedrigen Energie selbst nicht in der Lage, Molekülbindungen direkt aufzubrechen. Sie können lediglich die Rotationsanregung von Dipolen und die Molekularbewegung durch Wanderung von Ionen (Primärerhitzung) bewirken (NADKARNI, 1984). Es wird daher die Bezeichnung Mikrowellen-*unterstützter* Aufschluss gewählt. Die Durchdringung von MW-transparenten Materialien (Glas, PTFE) ist unendlich groß, die von MW-reflektierenden Materialien (Metalle) ist hingegen Null. Die Absorptionsrate ($\tan \delta$) hat in MW-absorbierenden Materialien (H_2O und andere dipolige Substanzen) einen endlichen Wert.

²⁾ Durch Reaktion mit HCl .

³⁾ Aus diesem Plasma werden die Ionen durch zwei Blenden, die als Sampler und Skimmer bezeichnet werden, in das Vakuum des Massenspektrometers überführt.

Weil jedes Element mindestens ein Isotop aufweist, dessen Masse bei keinem natürlichen Isotop eines anderen Elements auftritt, ist die Masse eine charakteristische Eigenschaft der Elemente und eignet sich somit zum qualitativen Nachweis. Mit der ICP-MS als eine der nachweisstärksten Methoden in der Elementspurenanalytik, können für viele Elemente in wässrigen Lösungen Nachweisgrenzen von $0,1 - 0,01 \mu\text{g L}^{-1}$ erreicht werden.

Zum Spektrum der Anwendungen der ICP-MS gehören Proben aus dem medizinischen, biologischen und dem geologischen Bereich ebenso wie umweltrelevante und industrielle Proben (MCLAREN, 1992).

Die hierbei praktisch erreichbaren Nachweisgrenzen sind zum einen von den Ionisierungsgraden der Elemente im Plasma abhängig¹⁾ (JARVIS et al., 1992). Zum anderen sind in der analytischen Praxis die Nachweisgrenzen häufig durch Interferenzen oder Blindwerte limitiert, die, wenn sie nicht erkannt werden, auch die Richtigkeit der Analysenergebnisse beeinträchtigen können²⁾ (DATE et al. 1987; GRAY und WILLIAMS, 1987).

So kommt es etwa durch Rekombinationsprozesse im Plasma wie auch im *Interface*-Bereich häufig zur Oxidbildung. Durch die Vielfalt der beteiligten Spezies ergeben sich so komplexe, von vielen Faktoren beeinflusste Untergrundspektren, die nur in sehr begrenztem Umfang vorhergesagt werden können³⁾ (TAN und HORLICK, 1987; KAWAGUCHI et al., 1987; JARVIS et al., 1992).

In modernen Geräten werden insbesondere zwei Prinzipien der Massentrennung eingesetzt, die sich hinsichtlich Empfindlichkeit und Auflösungsvermögen unterscheiden. Bei den häufig angewendeten Quadrupolfiltern (Bahnstabilitätsspektrometern von vergleichsweise niedriger Auflösung (AULINGER, 1968)) werden nur Ionen voneinander getrennt, die sich mindestens um eine Masseneinheit voneinander unterscheiden (Einheitsauflösung). Solche Geräte sind sehr kompakt und relativ einfach aufgebaut.

¹ Im ICP beträgt der Ionisierungsgrad von Elementen mit einer Ionisierungsenergie $< 9 \text{ eV}$ mehr als 90%, dies trifft für die meisten Elemente zu.

² Spektrale Interferenzen sind auf den Zusammenfall isobarer Atom- oder Molekülionen mit dem zu bestimmenden Isotop eines Elementes in einer Linie des Massenspektrums zurückzuführen. Molekülionen können durch die Reaktionen des Arbeitsgases (Ar) mit den Atomen der verwendeten Lösungsmittel, der Umgebungsluft oder der Proben entstehen. Die Bildungswahrscheinlichkeit wird im wesentlichen von den Plasmabedingungen bestimmt.

³ Es wurden zahlreiche Verfahren zur Reduzierung oder Vermeidung spektraler Interferenzen entwickelt; grundsätzlich ist aber die Verwendung einer hohen Massenauflösung das effektivste Mittel zur Vermeidung spektraler Interferenzen. Das massenspektrometrische Auflösungsvermögen ist allgemein definiert als $R = m/\Delta m_{\text{min}}$, wobei m die Massenzahl ist, bei der R bestimmt wird, Δm_{min} ist der kleinste Massenabstand, bei dem zwei im Spektrum benachbarte Ionensorten gleicher Intensität noch getrennt erscheinen.

Das beschränkte Auflösungsvermögen führt aber in vielen Fällen dazu, dass spektrale Interferenzen die Bestimmung der zu analysierenden Ionen stören¹⁾ (HIEFTJE, 1992; EVANS und GIGLIO, 1993). Eine weitere Möglichkeit, spektralen Interferenzen zu begegnen, ist der Einsatz einer Kollisionszelle. Ihr Vorteil gegenüber hochauflösenden Geräten besteht darin, dass es nicht zu einer Reduzierung der Empfindlichkeit durch sinkende Transmission kommt. Die Kollisionszelle bewirkt die Beseitigung der Argoninterferenzen durch Gasphasenreaktionen mit einem Stoßgas²⁾ (FELDMANN et al., 1999).

3.8.4 Selenbestimmung mit ICP-MS

Für das Element Selen mit einer ersten Ionisierungsenergie von 9,75 eV liegt der Ionisierungsgrad deutlich niedriger als bei den meisten anderen Elementen, so dass es bei der Bestimmung mit der ICP-MS im Vergleich zu den meisten anderen Elementen weniger empfindlich ist. Natürlich vorkommendes Selen besteht aus den Isotopen ⁷⁴Se (0,9%), ⁷⁶Se (9,0%), ⁷⁷Se (7,6%), ⁷⁸Se (23,5%), ⁸⁰Se (49,8%) und ⁸²Se (9,2%). Für eine Bestimmung mittels ICP-MS bedeutet dies, dass sich die Empfindlichkeit auf diese sechs Isotope entsprechend ihren Häufigkeiten verteilt. Die Auswahl eines Isotops für die analytische Bestimmung kann aber nicht nur unter den Gesichtspunkten der Häufigkeit erfolgen, es müssen zudem die Möglichkeiten von nichtspektralen und spektralen Interferenzen bedacht werden.

Gerade bei der Bestimmung von Selen bietet sich der Einsatz der Kollisionszelle an, weil hierdurch erst eine Bestimmung auf den Hauptisotopen möglich wird (FELDMANN et al., 1999). Für nichtspektrale Interferenzen gilt nach allgemeiner Erfahrung, dass schwerere Elemente mit niedrigen Ionisationspotentialen die größeren Matrixeffekte erzeugen, wobei leichtere Elemente mit höheren Ionisierungspotentialen stärker beeinflusst werden (OLIVARES und HOUK, 1986; EVANS und CARUSO, 1992; JARVIS et al., 1992).

¹⁾ Auch die Anwesenheit von Elementen in hohen Konzentrationen kann die Empfindlichkeit für die Bestimmung anderer Elemente erheblich beeinflussen (Matrixeffekte, nichtspektrale Interferenzen). Eine höhere Massenauflösung kann unter Verwendung eines magnetischen Sektorfeldanalysators realisiert werden. In entsprechenden Geräten wendet man dabei meist eine Doppelfokussierung an, in der die Ionen in einem elektrostatischen Analysator hinsichtlich ihrer Energie und in einem magnetischen Sektorfeldanalysator entsprechend ihrer Masse fokussiert werden, wobei die resultierende Auflösung durch die Breite der Ein- und Austrittsspalte bestimmt wird. Solche doppelfokussierenden Sektorfeldgeräte zeichnen sich durch eine erhöhte Ionenstrahltransmission und einen extrem niedrigen Untergrund aus, so dass sie im Vergleich zu Quadrupolgeräten eine deutlich höhere Empfindlichkeit erreichen, die aber von der Auflösung abhängig ist und bei einer Steigerung dieser von 300 auf 3.000 etwa um eine Größenordnung abnimmt. Werden solche Geräte mit relativ geringer Auflösung betrieben, kann man mit ihnen in deutlich niedrigere Konzentrationsbereiche als mit Quadrupolgeräten vordringen, wobei dann aber häufig Blindwerte zum limitierenden Faktor für die Nachweisgrenzen werden. Die heute kommerziell erhältlichen hochauflösenden ICP-Massenspektrometer lassen eine Massenauflösung von bis zu 12.000 zu, mit der alle üblichen Interferenzen, bis auf wenige Ausnahmen, getrennt werden können.

²⁾ meist H₂

Bei der Analyse biologischer Proben können zusätzlich weitere Effekte zum Tragen kommen, wenn es infolge eines hohen organischen Anteils in der Probenlösung zu Ablagerungen an *Sampler* und *Skimmer* oder zu Änderungen der Plasmabedingungen und in der Folge zu Signaldriften kommt. Im Falle des Selen ist für die Frage einer geeigneten Isotopenauswahl zunächst einmal festzustellen, dass alle Isotope bis auf ^{77}Se durch isobare Interferenzen gestört werden. Das Isotop ^{74}Se ist zudem aufgrund seiner zu geringen Häufigkeit (0,9%) von vornherein für eine Bestimmung ungeeignet.

Die Isotope ^{74}Se und ^{76}Se sind durch ^{74}Ge und ^{76}Ge überlagert, wobei in beiden Fällen Auflösungen von über 30.000 zu einer Trennung notwendig wären. Die Isotope ^{78}Se , ^{80}Se und ^{82}Se sind durch die Kryptonisotope der entsprechenden Masse überlagert. Auch hier wären Massenaufösungen von weit über 20.000 notwendig, um eine interferenzfreie Bestimmung möglich zu machen. Drastische Störungen betreffen vor allem das Hauptisotop ^{80}Se ¹⁾. Ebenso ist je nach Probenmaterial eine Überlagerung der Isotope ^{80}Se und ^{82}Se durch $^{64}\text{Zn}^{16}\text{O}^+$ bzw. $^{66}\text{Zn}^{16}\text{O}^+$ in Betracht zu ziehen.

Da die meisten der hier zu untersuchenden Proben durch die Zugabe von Salzsäure Chlorid enthalten, kann die Bestimmung des Isotops ^{77}Se durch $^{40}\text{Ar}^{37}\text{Cl}^+$ gestört sein. Am ehesten geeignet für eine Bestimmung mit der ICP-MS erscheinen somit die Isotope ^{77}Se und ^{82}Se , obwohl wie bereits erwähnt das Isotop ^{77}Se durch vorhandenes Chlorid gestört werden könnte.

Das ebenfalls für Interferenzen in Frage kommende Krypton liegt normalerweise im Arbeitsgas nur in sehr geringen Mengen vor, so dass eine Untergrundkorrektur ausreicht, die Bestimmung insbesondere mit dem Isotop ^{82}Se durchzuführen. Für die Isotope ^{77}Se und ^{82}Se reicht normalerweise eine Massenauflösung von bis zu 10.000 zur Abtrennung signifikanter spektraler Interferenzen aus. Hier ist Einsatz der ICP-HEX-MS (Hexapol) die Methode der Wahl, da alle bisher beschriebenen Argoninterferenzen sich durch den Einsatz von Wasserstoff in der Kollisionszelle beseitigen lassen.

¹⁾ Durch die Ionen $^{40}\text{Ar}^{40}\text{Ar}^+$ und $^{40}\text{Ar}^{40}\text{Ca}^+$, entsprechendes gilt auch für ^{78}Se und ^{76}Se , welche durch die Ionen $^{38}\text{Ar}^{40}\text{Ar}^+$ bzw. $^{38}\text{Ar}^{38}\text{Ar}^+$ überlagert sind. Weil aber bei den zur Untersuchung vorliegenden biologischen Proben $^{40}\text{Ca}^{40}\text{Ca}$ - und $^{39}\text{K}^{41}\text{K}$ -Interferenzen nicht auszuschließen sind, ist mit einer möglichen Störung des Hauptisotops ^{80}Se zu rechnen. Für die quantitative Selenbestimmung steht das Isotop ^{78}Se zu Verfügung, das zu 23,5% im natürlichen Selen vorkommt.

3.8.5 Vergleich von ICP-MS und FI-HG-AAS

Beide im Rahmen dieser Arbeit angewandten Analysenmethoden haben ihre spezifischen Vor- und Nachteile in Bezug auf die durchgeführten Selenanalysen.

Vorteile der FI-HG-AAS:

- Relativ geringe Anschaffungs- und Unterhaltskosten
- Hoher Probendurchsatz
- Robuste Technik

Vorteile der ICP-MS:

- Nachweisstark (~ 1 Größenordnung empfindlicher als FI-HG-AAS)
- Hohe Präzision und Richtigkeit
- Möglichkeit zur Messung verschiedener Isotope eines Elementes
- Eignung zur *Online*-Kopplung mit chromatographischen Methoden (z.B. HPLC, CE)¹⁾
- Multielementfähigkeit (MICHALKE und SCHRAMMEL, 1998).

Als Fazit ergibt sich daraus, dass für Routinemessungen im Spurenbereich ($\geq 0.25 \text{ ng Se mL}^{-1}$) die FI-HG-AAS die effizientere Methode ist, für empfindlichere Messungen bzw. bei spezifischen Anwendungen aber die Vorteile der ICP-MS zum Tragen kommen.

¹⁾ Die HPLC-ICP-MS-Kopplung kann bereits als Standardmethode der Elementspeziesanalytik angesehen werden. Zunehmend gewinnt auch die CE-ICP-MS-Kopplung an Bedeutung. Die Vorteile der CE sind kurze Analysenzeiten, hohe Trennleistung und geringe Betriebskosten. Der größte Vorteil der CE ist die Möglichkeit, verschiedene Analysenmodi wie Kapillarzonen-*elektrophorese*, *Isotachophorese*, *Kapillarzonen-Isoelektrische-Fokussierung* und *Mizellare elektrokinetische Kapillarchromatographie* zu verwenden (MICHALKE, 2000).

4 Material und Methoden

4.1 Chemikalien

4.1.1 Chemikalien für Probenaufschluss und Selenanalytik (FI-HG-AAS)

Amidoschwefelsäure (HSO_3NH_2), pro analysi, $M = 97,09 \text{ g mol}^{-1}$ [Sulfamidsäure, Sulfamsäure, Amidosulfonsäure], *Merck*, Art.Nr. 1.00103.0250

Flusssäure 40% (HF), Suprapur[®], $M = 20,01 \text{ g mol}^{-1}$, $\sigma = 1,13 \text{ kg L}^{-1}$ [Fluorwasserstoffsäure], *Merck*, Art.Nr. 1.00456.2500

Natriumborhydrid (NaBH_4), pro analysi (> 96%), $M = 37,83 \text{ g mol}^{-1}$ [Natriumborant, Natriumtetrahydroborat], *Merck*, Art.Nr. 1.06371.0100

Natriumhydroxid (NaOH), pro analysi, $M = 40,0 \text{ g mol}^{-1}$, *Merck*, Art.Nr. 1.06498.0500

Natriumselenat (Na_2SeO_4), purum p.a., $M = 188,94 \text{ g mol}^{-1}$, *Fluka*, Art.Nr. 71948

Salpetersäure 65% (HNO_3), pro analysi, $M = 63,01 \text{ g mol}^{-1}$, $\sigma = 1,40 \text{ kg L}^{-1}$
Merck, Art.Nr. 1.00456.2500

Salzsäure, rauchend 37% (HCl), zur Analyse, $\sigma = 1,19 \text{ kg L}^{-1}$, *Merck*, Art.Nr. 1.13386.2500

Selen-Standardlösung ($1000 \pm 5 \text{ mg L}^{-1} \text{ SeO}_2$ in Salpetersäure $0,5 \text{ mol L}^{-1}$),
Merck, Art.Nr. 1.19796.0500

Sulfanilamid ($\text{C}_6\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$), zur Analyse, $M = 172,21 \text{ g mol}^{-1}$, *Merck*, Art.Nr. 111799

Wasser, reinst (spezifischer Widerstand: $20 \text{ M}\Omega\text{cm}$) als Reagenz, *Merck*, Art.Nr. 100473

Wasser, deionisiert (spezifischer Widerstand: $\geq 0,4 \text{ M}\Omega\text{cm}$) als Reinigungsmedium
(Ionenaustauscher, *ELGA Labwater*)

Wasserstoffperoxid 30% (H_2O_2), Suprapur[®], $M = 34,01 \text{ g mol}^{-1}$, $\sigma = 1,12 \text{ kg L}^{-1}$
[Wasserstoffsperoxid], *Merck*, Art.Nr. 107298

4.1.2 Chemikalien für Probenaufschluss und Selenanalytik (ICP-MS)

Ammoniumformiat, MicroSelect, $M = 63,06 \text{ g mol}^{-1}$, *Fluka*, Art.Nr. 09735

Methanol (MeOH), gradient grade, LiChrosolv[®], *Merck*, Art.Nr. 106007

Salpetersäure 65% (HNO_3), pro analysi, $M = 63,01 \text{ g mol}^{-1}$, $\sigma = 1,40 \text{ kg L}^{-1}$
Merck, Art.Nr. 1.00456.2500

Tribromessigsäure (TBAA), purum, $M = 296,76 \text{ g mol}^{-1}$, *Fluka*, Art.Nr. 90720

Wasser, reinst (spezifischer Widerstand: $20 \text{ M}\Omega\text{cm}$) als Reagenz, *Merck*, Art.Nr. 100473

Wasser, deionisiert (spezifischer Widerstand: $\geq 0,4 \text{ M}\Omega\text{cm}$) als Reinigungsmedium
(Ionenaustauscher, *ELGA Labwater*)

4.1.3 Referenzmaterial (CRM)

BCR 189 *wholemeal flour* (Se: $132 \pm 10 \text{ ng g}^{-1}$)

GBW 07601 *human hair* (Se: $600 \pm 10 \text{ ng g}^{-1}$)

GBW 07604 *poplar leaves* (Se: $140 \pm 10 \text{ ng g}^{-1}$)

NIST 1570a *spinach leaves* (Se: $117 \pm 9 \text{ ng g}^{-1}$)

NIST 8435 *whole milk powder* (Se: $131 \pm 14 \text{ ng g}^{-1}$)

4.1.4 Chemikalien für Milchanalytik

Dichlormethan (CH_2Cl_2) [Methylenchlorid], zur Analyse, *Merck*, Art.Nr. 106050

Essigsäure 96%, zur Analyse (verdünnt auf 0,1 N), *Merck*, Art.Nr. 100062

Natriumhydroxid (NaOH), pro analysi, $M = 40,0 \text{ g mol}^{-1}$, *Merck*, Art.Nr. 1.06498.0500 (gelöst in Wasser, reinst zu 0,1 N – Natronlauge)

Wasser, reinst (spezifischer Widerstand: $20 \text{ M}\Omega\text{cm}$) als Reagenz, *Merck*, Art.Nr. 100473

Wasser, deionisiert (spezifischer Widerstand: $\geq 0.4 \text{ M}\Omega\text{cm}$) als Reinigungsmedium (Ionenaustauscher, *ELGA Labwater*)

4.1.5 Chemikalien für Eiweißbestimmung nach Kjeldahl

Borsäurelösung 4% (40 g Borsäure, *Merck*, Art.Nr. 100165 in 1000 mL Wasser, reinst gelöst)

Bromthymolblau (Indikator¹), ACS), *Merck*, Art.Nr. 1.03026.0025

Kjeldahl-Tabletten (Missouri-Katalysator), *Merck*, Art.Nr. 1.16469.0250

Natriumcarbonat-Decahydrat ($\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10 \text{ H}_2\text{O}$), zur Analyse, $M = 286,14 \text{ g mol}^{-1}$, *Merck*, Art.Nr. 1.06391.1000

Natronlauge, min. 32% (zur N-Best.), *Merck*, Art.Nr. 1.05590.9025

Tashiro-Indikator (Lösung), *Fluka*, Art.Nr. 36083

Titrisol[®] Salzsäure, $c(\text{HCl}) = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$, *Merck*, Art.Nr. 1.09973

L-Tryptophan, *Merck*, Art.Nr. 1.08374.0100

Schwefelsäure 95-97% p.A., *Merck*, Art.Nr. 1.00732.2500

¹ 0,1 g in 100 mL Ethanol (20%), Umschlagsbereich pH 5,8 – 7,6.

4.1.6 Joghurtfermentation

Joghurt-Kultur: klassisch (*Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*), Fa. *Bionic* (Niebüll)

„Joghurt“⁽¹⁾-Kultur: L+ (*Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifido*), Fa. *Bionic* (Niebüll)

D-Glucose Monohydrat, reinst, $M = 198,17 \text{ g mol}^{-1}$, *Fluka*, Art.Nr. 16301

4.1.7 Chemikalien für Digestionsversuche

EDTA (Ethyldiamintetraessigsäure) Titriplex[®] III-Lösung, *Merck*, Art.Nr. 109992

Natriumhydrogencarbonat (NaHCO_3), zur Analyse, $M = 84,01 \text{ g mol}^{-1}$, *Merck*, Art.Nr. 106329

Natriumhydroxid (NaOH), pro analysi, $M = 40,0 \text{ g mol}^{-1}$, *Merck*, Art.Nr. 1.06498.0500

Natriumselenat (Na_2SeO_4), purum p.a., $M = 188,94 \text{ g mol}^{-1}$, *Fluka*, Art.Nr. 71948

Salzsäure 30% (HCl), Suprapur[®], $\sigma = 1,16 \text{ kg L}^{-1}$, *Merck*, Art.Nr. 100318

Wasser, reinst (*Millipore* Wasserreinigungssystem mit *Organex* Patrone)

Wasser, deionisiert, als Reinigungsmedium

4.1.8 Enzyme für Digestionsversuche

Pepsin (vom Schwein), *SIGMA*, Art.Nr. P 7000 (EC 4.4.243)

Pankreatin (vom Schwein), *SIGMA*, Art.Nr. P 1750

Gallen-Extrakt (vom Schwein), *SIGMA*, Art.Nr. B 8631

4.1.9 Chemikalien für Getreideanalytik

Ethanol 96%, *Merck*, Art.Nr. 159010

Wasser, reinst (*Millipore* Wasserreinigungssystem mit *Organex* Patrone)

Wasser, deionisiert, als Reinigungsmedium

4.2 Selenanreicherung der Pflanzen durch Flüssig-Blattapplikation

Calciumselenat, technisch, $M = 183,04 \text{ g mol}^{-1}$, Fa. *Degussa*

Natriumselenat, technisch, $M = 188,94 \text{ g mol}^{-1}$, Fa. *Degussa*

Salpetersäure 64-66% (HNO_3), reinst, $M = 63,01 \text{ g mol}^{-1}$, *Fluka*, Art.Nr. 07006,
verdünnt auf 5 – 10%

¹ Joghurt ist ein Sauermilcherzeugnis, das ausschließlich aus den Bakterienstämmen *Streptococcus thermophilus* und *Lactobacillus bulgaricus* hergestellt werden darf. Joghurtähnliche Sauermilcherzeugnisse, die nicht mit diesen Bakterienkulturen hergestellt werden, dürfen nicht als Joghurt bezeichnet werden (z.B. Bioghurt, Biogarde, Sanoghurt).

4.3 Geräte und Hilfsmittel

4.3.1 Stickstoff-, Kohlenstoff- und Eiweißbestimmung

Hauptgerät:	Vario EL, Fa. <i>Elementar</i> (Hanau, Deutschland) mit Wärmeleitfähigkeitsdetektor (WLD)
Aufschlusstemperatur:	950 – 1.800°C
Software:	V 1.3
Drucker:	Fa. <i>Hewlett-Packard</i> , HP 690C

4.3.2 Mikrowellenunterstützte Probenvorbereitung

4.3.2.1 Probenaufschluss (für alle Materialien), Vorreduktion, Denitrifikation

Mikrowellenaufschlussgerät:	Fa. <i>MLS</i> (Leutkirch, D), ETHOS+plus 1000/HT6 (900W) mit HTR-300/6 S Hochtemperaturrotorsystem
Aufschlussbehälter:	6 HTV-CE Hochdruckbehälter (PFA [®]) 100 mL mit 30 mL Quarz-Einsätzen QS 50 (Fa. <i>MLS</i>)
Software:	Easy WAVE
Drucker:	Fa. <i>Hewlett-Packard</i> , HP 690C

4.3.2.2 Probenaufschluss für pflanzliches Material (mit geringem Fett- und Proteingehalt)

Mikrowellenaufschlussgerät:	Fa. <i>CEM</i> (Matthews, USA), Modell MDS-2000 (650W)
Aufschlussbehälter:	12 Teflon PFA [®] Mitteldruckbehälter ACV (Fa. <i>CEM</i>) mit 30 mL Quarz-Einsätzen QS 50 (Fa. <i>MLS</i>)
Software:	PrepLink [™] (P/N 920145)
Drucker:	Fa. <i>Hewlett-Packard</i> , HP Thinkjet

4.3.2.3 Probenaufschluss für ICP-MS

Mikrowellenaufschlussgerät:	Fa. <i>MLS</i> (Leutkirch, Deutschland), Mega 240 ST (500W)
Aufschlussbehälter:	6 PTFE-Mikroeinsätze 50 mL

4.3.3 FI-HG-AAS

Hauptgerät:	<i>Varian SpectrAA 220 Fast Sequential</i>
Probengeber:	SPS-5 Probenautomat
FI-System:	VGA-77, Fa. <i>Varian</i> (Mulgrave, Australien) mit Gas-Flüssigkeitsseparator
Flussrate HCl-Trägerlösung:	1 mL min ⁻¹ (<i>Tygon</i> -Schlauch)
Flussrate NaBH ₄ -Lösung:	1 mL min ⁻¹ (<i>Tygon</i> -Schlauch)
Flussrate Probenlösung:	5,5 mL min ⁻¹ (<i>Tygon</i> -Schlauch)
Atomisierungseinheit:	<i>T-tube atomizer</i> aus Quarz ¹⁾ Länge: 170 mm, I.D.: 4 mm innen / 13 mm außen
Heizquelle:	a) Luft/Acetylenbrenner Mark VI b) elektrische Küvettenheizung in Keramikröhre (geschlitztes Mehrlochrohr (Thermo-Kelis KER 520, Fa. <i>Metoxit</i>)
Temperatureinstellung:	Über stufenlos regulierbaren Niederspannungstransformator gekoppelt mit Ni-CrNi-Temperatursensor (AD 595, <i>type K</i>)
Strahlungsquelle:	<i>Varian UltrAA-Hohlkathodenlampe</i> (15 mA) Wellenlänge: 196,0 nm D ₂ -Untergrundkompensation
Monochromator-Spaltbreite:	1,0 nm
Software:	Version 2.10 FS (Multitasking)
Drucker:	Fa. <i>Hewlett-Packard</i> , HP 690C

4.3.4 ICP-MS

Hauptgerät:	Plattform ICP-MS Analysegerät, Fa. <i>Micromass</i> mit Kollisionszellen-Technik
Probeneintragsystem:	Micromist-Zerstäuber mit Cinnebar-Sprühkammer, wassergekühlt (4°C), Fa. <i>GlassExpansion</i> (Australien)
HPLC-Pumpe	Fa. <i>Waters</i> , 626
Software:	MassLynx™
Drucker:	Fa. <i>Fujitsu</i> , DX 2400

¹ Zur Stabilisierung der optimalen Reaktionstemperatur und zur Selbstreinigung muss die Küvette schon mindestens eine halbe Stunde vor den Messungen vom Brenner erhitzt werden. Der sich im Laufe der Zeit in der Küvette bildende weiße Belag sollte von Zeit zu Zeit durch das Einlegen in 40%-ige Flußsäure entfernt werden.

Reversed Phase:

Säule	<i>Eurospher 100Å</i> , C18, 5 µm, 250 *4,0 mm
mobile Phase	30 mM Ammoniumformiat pH 3,0 MeOH/H ₂ O 5:95 (v/v)
Aufnahmerate	750 µL min ⁻¹
Probenvolumen	50 µL min ⁻¹

Ionen-Paar:

Säule	<i>Nucleosil 120Å</i> , C18, 5 µm, 250 *4,0 mm
mobile Phase	30 mM Ammoniumformiat pH 3,0; 10 mM TBAA pH 5,0 MeOH/H ₂ O 5:95 (v/v)
Aufnahmerate	750 µL min ⁻¹
Probenvolumen	50 µL min ⁻¹

4.3.5**Eiweißbestimmung nach Kjeldahl**

Analysenwaage	AB 204-5, Fa. <i>Mettler-Toledo GmbH</i> (Schweiz)
Aufschlussgerät	Turbotherm TT 125, Fa. <i>Gerhardt</i> (Bonn)
Destillationseinheit	Vapodest 20, Fa. <i>Gerhardt</i> (Bonn)
Digital-Bürette	TITREX 2000, Fa. <i>Witeg</i>
Dispenser	LABMAX, Fa. <i>Witeg</i>
Gaswäscher	Fa. <i>Gerhardt</i> (Bonn)
Heiz/Magnetrührer	MR 3001, Fa. <i>Heidolph</i>
pH-Meter	pH 320, Fa. <i>WTW</i>
Wägebapier	Pergamentpapier (N-frei), Fa. <i>Schleicher & Schuell</i>

4.3.6**Weizenvermahlung**

Labormühle	Fa. <i>Brabender</i> Quadrumat Senior mit Kleieschleuder (250 µm)
Nachmehlsieb	Maschenweite 224 µm

4.3.7**Sonstige Geräte**

Analysenwaage	Typ AT 200, Fa. <i>Mettler-Toledo GmbH</i> (Schweiz)
Heizplatte	Fa. <i>Gerhardt</i> (Bonn)
Infrarottrockner	LJ16 Moisture Analyzer, Fa. <i>Mettler-Toledo GmbH</i> (Schweiz)
Joghurtbereiter	Typ 3516, Fa. <i>Severin</i>
Kühlschrank	Typ LS 3701V, Fa. <i>Linde</i>
Kugelmühle	MM 2000, Fa. <i>Retsch</i> (Haan)
Laborwaage	Typ PM 2000, Fa. <i>Mettler-Toledo GmbH</i> (Schweiz)
Magnetrührer	Typ Combimag RET, Fa. <i>IKA Labortechnik</i> (stufenlos verstellbar: 0-1100 min ⁻¹ , beheizbar: 20-300°C)
pH-Meter (digital)	Typ 647, Fa. <i>Knick</i> (Berlin)
Probenmühle	P 20, Fa. <i>Nemera</i> (Italien)
Schüttelwasserbad	Typ 1083, Fa. <i>Gesellsch. f. Labortechnik</i> (Burgwedel)
Thermometer (digital)	Typ Ikatron ETS D3, Fa. <i>IKA Labortechnik</i>
Trockenschrank:	Typ B 6200, Fa. <i>Heraeus</i> (Osterode/Harz)
Ultraschallbad:	Sonorex RK 510 H, Fa. <i>Bandelin</i> (Berlin)
Wasserbad:	W 13, Fa. <i>Haake</i> (Karlsruhe)
Zentrifuge	Universal Junior II, Fa. <i>Heraeus</i> (Osterode/Harz)

4.3.8**Sonstiges Material**

Dialyse-Schlauch:	Spectra/Por Standard regenerated Cellulose (RC) Dialysis Membrane Spectra/Por Membrane MWCO: 6 – 8.000; Semi-permeable Membrane, <i>Flat width</i> 31 ± 2 mm; i.D.: 20,4 mm
Kimwipe®	Präzisionswischtücher Kimwipe Lite, Fa. <i>Kimberley-Clark</i>
Moulinette®	Fa. <i>Moulinex</i>
Parafilm M®	Fa. <i>American Can Company</i> (Greenwich, USA)
Porzellanschalen	Fa. <i>Haldenwanger</i>
Verschlussklammern	Toppits®
Wägegläschen	Fa. <i>Merck</i>

4.4 Arbeitsvorschriften

4.4.1 Bestimmung des Feuchtigkeitsgehaltes

1. Zu untersuchende Probe mit je 3 – 5 g in Wägegläschen einwiegen.
2. Untersuchungsmaterial für 2 h in den Trockenschrank stellen (bei 105°C oder 130°C)¹⁾.
3. Nach der Trocknung Wägegläschen mit Inhalt erneut auswiegen.
4. Berechnung des Feuchtigkeitsgehaltes ω pro 100 g Probe gemäß § 35 LMBG, L 16.01-1 bzw. ICC-Standard Nr. 110/1 (AGF, 1994)²⁾:

$$\omega = \frac{a \cdot 100}{m}$$

a = durch die Trocknung erfolgte Massenabnahme in g

m = Probeneinwaage in g

4.4.2 Probenvorbereitung für die Selenanalytik

1. Auf Selen zu untersuchendes (Pflanzen-)Material bei Temperaturen < 70°C trocknen³⁾
2. Untersuchungsmaterial mit Hilfe einer Probenmühle zerkleinern und homogenisieren (je kleiner die Probenmenge, die für die Analyse verwendet wird, desto homogener muss das zu untersuchende Material sein)⁴⁾.
3. Da die Spurenelementangaben sich i.d.R. auf die Trockensubstanz beziehen, muss von einem Teil des getrockneten Untersuchungsgutes eine Feuchtigkeitsbestimmung durchgeführt werden, um dessen Wert das spätere Analyseergebnis korrigiert wird (siehe 4.4.1 Bestimmung des Feuchtigkeitsgehaltes).

4.4.3 Stickstoff- und Kohlenstoffbestimmung

Da die Zugabemenge der Aufschlussreagenzien beim mikrowellenunterstützten Probenaufschluss für die HG-AAS primär vom Kohlenstoffgehalt (untergeordnet auch vom Stickstoffgehalt) der zu untersuchenden Proben abhängt, wurden diese Gehalte zuvor analytisch bestimmt.

1. Das zu analysierende, feingemahlene Material in Zinnhülsen abwägen (50 – 100 mg)

¹⁾ Die Trocknungstemperatur wird als Index angegeben.

²⁾ Oder mit einem Infrarottrockner.

³⁾ Da Selen in einer Vielzahl leicht flüchtiger Verbindungen vorliegen kann, bzw. diese während der Probenvorbereitung zu bilden vermag, musste während der offenen Verfahrensschritte mit relativ niedrigen Temperaturen gearbeitet werden, da oberhalb dieser Temperatur leicht flüchtiges Dimethylselenid (DMSe) aus der Probe entweichen kann (ASHER et al., 1967).

⁴⁾ Inhomogenitäten können durch Mehrfachbestimmungen erkannt werden.

2. Diese einem Vario EL, Fa. *Elementar*, mit Wärmeleitfähigkeitsdetektor zuführen¹⁾. Eine rauscharme Wärmeleitfähigkeitszelle dient als Detektor für alle Elemente im gesamten dynamischen Nachweisbereich (WINKLER et al., 2001).

4.4.4 Mikrowellenunterstützter Probenaufschluss (FI-HG-AAS)

1. Die feingemahlene, homogenisierten Proben werden in die Quarzeinsätze eingewogen²⁾, dabei richtete sich die Einwaage nach ihrem Kohlenstoffgehalt (1,4–2,8 mg C/mL Behältervolumen, siehe Tabelle 8); sie sollte aber immer mindestens 200 mg betragen³⁾.
2. Anschließend Salpetersäure (1,2 mL/100 mg C) und das selbe Volumen an Wasserstoffperoxid hinzufügen.
3. Die Quarzeinsätze in die PFA-Behälter stellen und diese zusätzlich mit je 5 mL H₂O (zur Absorption der exothermen Wärmemenge) und 5 mL H₂O₂ (zur Oxidation der entweichenden Stickoxide) befüllen⁴⁾.
4. *Fett- oder proteinreiche Proben (z.B. Milchprodukte) wurden im MLS-Mikrowellengerät aufgeschlossen (20 min bei 200°C), während Pflanzenproben im CEM-Instrument (30 min bei 140°C) behandelt wurden.*
5. Die Behälter werden geöffnet, nachdem sie auf mindestens 80°C abgekühlt sind
6. Anschließend die Quarzeinsätze vorsichtig herausnehmen und die PFA-*Inliner* mit deionisiertem Wasser ausspülen.

4.4.5 Mikrowellenunterstützte Vorreduktion und Denitrifikation (FI-HG-AAS)

1. Den Inhalt der Quarzeinsätze in die gereinigten PFA-Behälter überspülen.
2. Dazu 15 mL Salzsäure sowie eine definierte Menge an Amidoschwefelsäure (1,4 g mL⁻¹ HNO₃) geben.
3. Anschließend die Behälter im *MLS*-Mikrowellengerät (ETHOS+plus) 10 min bei 150°C thermostatisieren.
4. Nach dem Abkühlen erfolgt die Überführung der Lösung in Messkolben.
5. Diese 5 min im Ultraschallbad entgasen.
6. Mit Reinstwasser auf 50 mL auffüllen.

¹ Arbeitsprinzip ist die *Jet-Injection* des Sauerstoffs direkt am Ort der Probe. Ofentemperaturen bis 1.800°C sorgen für vollständige Verbrennung auch schwieriger Substanzen. Die Gaskomponententrennung nach dem *purge-and-trap* Prinzip sichert einen großen dynamischen Bereich für Elementgehalte und Konzentrationsverhältnisse bei gleichzeitig hoher Nachweisstärke.

² Dadurch keine Probleme mit statischen Aufladungen – im Gegensatz zu Teflonbehältern.

³ Um mögliche Inhomogenitäten der (feingemahlene) Probe auszugleichen.

⁴ Messungen zeigten, dass im Absorptionsmedium keinerlei Selen gefunden werden konnte bzw. der Selengehalt unterhalb der Nachweisgrenze von 0,099 ng mL⁻¹ lag.

Tabelle 8: Dosierungsangaben für die Probenvorbereitung

	Einwaage		(TM 105°C)			Aufschluss-	Reagenzien	(in g)	(in mL)
entspricht	Spinat /	Grassilage	Rohmilch	Haare	Vollblut	HNO ₃	H ₂ O ₂	Amido-	HCl
mg C /100mL	Soja 40%C	42-46%C	48-53%C	45%C	49%C	(65%ig)	(35%ig)	schwefels.	(37%ig)
150	375	335	300	335	300	1,7	1,7	2,38	15
160	400	355	320	355	320	1,85	1,85	2,59	15
170	425	380	340	380	340	2	2	2,8	15
180	450	400	360	400	360	2,1	2,1	2,94	15
190	475	425	380	425	380	2,2	2,2	3,08	15
200	500	445	400	445	400	2,3	2,3	3,22	15
210	525	470	420	470	420	2,4	2,4	3,36	15
220	550	490	440	490	440	2,5	2,5	3,5	15
230	575	510	460	510	460	2,65	2,65	3,71	15
240	600	535	480	535	480	2,75	2,75	3,85	15
250	625	555	500	555	500	2,9	2,9	4,06	15
260	650	580	520	580	520	3	3	4,2	15
270	675	600	540	600	540	3,1	3,1	4,34	15
280	700	625	560	625	560	3,2	3,2	4,48	15
290	725	645	580	645	580	3,35	3,35	4,69	15
300	750	670	600	670	600	3,45	3,45	4,83	15

4.4.6 Selenanalytik (FI-HG-AAS)

1. Von den 50 mL Probenaufschluss (im Messkolben) Aliquote à 10 mL für das Standardadditionsverfahren (*Nachweisgrenze: 0,10 ng mL⁻¹*) entnehmen¹).
2. Zur Aufstockung kommt eine Standard-Stammlösung (1 mg Se(IV) L⁻¹) zum Einsatz²), wöchentlich angesetzt aus einer Selen-Standardlösung (1000 ± 5 mg L⁻¹ SeO₂ in Salpetersäure 0,5 mol L⁻¹).
3. Eine NaBH₄-Lösung mit der Konzentration 3 g L⁻¹ ansetzen, stabilisiert mit 0,1 - 0,5% NaOH (Flussrate 1 mL min⁻¹).
4. Eine Trägerlösung mit einer HCl-Konzentration³) von 7 mol L⁻¹ anmischen (Flussrate 1 mL min⁻¹).
5. Die Temperatureinstellung der elektrischen Küvettenheizung mit Hilfe des stufenlos regulierbaren Niederspannungstransformator auf 800°C einstellen.

¹ Eine direkte Messung gegen eine Eichkurve hätte vorausgesetzt, dass Probe und Eichlösung die gleiche Matrix besitzen. Ist dies nicht gegeben, bestehen aufgrund unterschiedlicher physikalischer (Viskosität, Oberflächenspannung etc.) sowie chemischer Eigenschaften der Lösungen (unerwünschte chemische Reaktionen, Stör-Ionen) Gefahren einer Fehlmessung. Bei unbekanntem oder stark wechselnden Probenzusammensetzungen muss daher stets das Standardadditionsverfahren eingesetzt werden. Hierbei wird mit Bezugslösungen kalibriert, welche durch Zugabe zunehmender Volumina der (Selen-) Standardlösung zu gleichen Volumina der Probenlösung erstellt werden. Trägt man die für die einzelnen Bezugslösungen erhaltenen Extinktionswerte gegen die zugesetzten Konzentrationen auf, so erhält man eine Bezugskurve, welche die Extinktionsachse in einem Punkt > 0 schneidet. Die Steigung der Bezugskurve ist spezifisch für das zu analysierende Selen in der unbekanntem Probenlösung, seine Konzentration wird durch Extrapolieren der Bezugskurve bis zur Extinktion Null ermittelt.

² 0,5 mL Se-Standardlösung (1 g Se L⁻¹) in 500 mL Messkolben geben, mit Aqua dest. bis zur Marke auffüllen und schütteln.

³ Die gleiche Säure, die auch zur Vorreduktion verwendet wird.

6. Zur Qualitätssicherung wird in jeder Aufschlussreihe (= 6 Proben) mindestens eine Probe mit zertifiziertem Referenzmaterial (*BCR 189* und *NIST 1570a*) mitgeführt.

4.4.7 Mikrowellenunterstützter Probenaufschluss (ICP-MS)

1. Die zu analysierenden, gefriergetrockneten Proben zu einem möglichst homogenen Pulver mischen.
2. Ungefähr 0,3 g dieses Pulvers in die Teflonbehälter einwiegen.
3. Mit 0,5 mL H_2O_2 und 4,0 mL konzentrierter HNO_3 für den anschließenden Aufschluss vorbereiten¹⁾.
4. Der Aufschluss erfolgt über jeweils 24 Minuten bei einer Leistung bis maximal 500 W.

Tabelle 9: Temperaturprogramm des Mikrowellenaufschlusses

DAUER	LEISTUNG
10 min	250 W
30 s	0 W
3 min	350 W
30 s	0 W
5 min	500 W
5 min	250 W
10 min	Ventilieren

4.4.8 Selenanalytik (ICP-MS)

1. Die aufgeschlossenen Proben 1:10 mit Reinstwasser verdünnen.
2. Als internen Standard 10 ppb Rhodium zusetzen.
3. Einen Teil der so vorbereiteten Probe jeweils in den automatischen Probengeber des *Micromass Plattform ICP-MS* Analysegerätes stellen.
4. Folgende ICP-MS Parameter im Rahmen der täglichen Feinabstimmung einstellen:

Kühlgas: 13,0 – 14,0 L min⁻¹

Hilfsgas: 1,10 – 1,20 L min⁻¹

Zerstäubergas: 0,60 – 0,80 L min⁻¹

Leistung: 1.250 – 1.350 W

Kollisionsgase: He: 3,0 mL min⁻¹ und H₂ 6,0 mL min⁻¹

¹ Die Aufschlussgefäße wurden zuerst durch einen Reinigungsaufschluss mit 2,5 mL konzentrierter HNO_3 und 2,5 mL H_2O und anschließendem mehrfachen Umspülen mit Reinstwasser vorbereitet; dieser Reinigungsschritt wurde außerdem nach jedem Probenaufschlussdurchgang wiederholt.

Sämtliche Auswertearbeiten (quantitative Auswertung, Auswertung chromatographischer Signale) wurden mit der MassLynx™ Software von Micromass durchgeführt. Grundsätzlich sind alle Daten sowohl auf dem 78er als auch auf dem 80er Selenisotop ausgewertet worden. Für die hier zugrundegelegten quantitativen Ergebnisse wurde aber nur das Isotop ^{78}Se herangezogen, um evtl. Störungen durch $^{40}\text{Ca}^{40}\text{Ca}$ oder $^{39}\text{K}^{41}\text{K}$ auszuschließen.

Tabelle 10: Mögliche spektrale Interferenzen auf den Selenisotopen (nach THOMAS, 1999)

Selenisotop	Interferenz	notwendige Auflösung
^{74}Se	$^{36}\text{Ar}^{38}\text{Ar}^+$	9.475
	$^{37}\text{Cl}^{37}\text{Cl}^+$	7.922
	$^{40}\text{Ar}^{34}\text{S}^+$	9.511
	$^{74}\text{Ge}^+$	56.938
	$^{38}\text{Ar}^{38}\text{Ar}^+$	7.081
^{76}Se	$^{40}\text{Ar}^{36}\text{S}^+$	7.405
	$^{76}\text{Ge}^+$	34.571
	$^{36}\text{Ar}^{40}\text{Ca}^+$	6.947
	$^{40}\text{Ar}^{37}\text{Cl}^+$	9.182
	$^{38}\text{Ar}^{38}\text{Ar}^1\text{H}^+$	5.749
^{77}Se	$^{78}\text{Kr}^+$	25.192
	$^{40}\text{Ar}^{38}\text{Ar}^+$	9.970
^{78}Se	$^{80}\text{Kr}^+$	549.254
	$^{40}\text{Ar}^{38}\text{Ar}^+$	9.688
^{80}Se	$^{40}\text{Ar}^{40}\text{Ca}^+$	9.455
	$^{34}\text{S}^{16}\text{O}^{16}\text{O}^{14}\text{O}^+$	1.984
	$^{82}\text{Kr}^+$	25.393
^{82}Se	$^{40}\text{Ar}^{40}\text{Ar}^1\text{H}^1\text{H}^+$	3.455
	$^{34}\text{S}^{16}\text{O}^{16}\text{O}^{16}\text{O}^+$	2.283
	$^{66}\text{Zn}^{16}\text{O}^+$	19.316
	$^{81}\text{Br}^1\text{H}^+$	11.055

4.4.9 Gewinnung der Milchproteinfraktionen

1. Die zu untersuchenden Milchproben mittels einer Zentrifuge von ihrer Fettphase trennen (15 min mit 2.200 x g bei 3-4°C) gemäß SLMB, 1/1.10.3.
2. Anschließend in die Proteinfraktionen Kasein und Molkenproteine trennen.
3. Das Kasein dazu aus der verdünnten Magermilch (1:9) mit 0,1 N Essigsäure bei pH 4,6 ausfällen.
4. Mit 3.600 x g abzentrifugieren.
5. Waschen, mit 0,1 N Natronlauge bei pH 7,0 aufnehmen und wieder bei pH 4,6 ausfällen.
6. Die Molkenproteine durch Hitzeokoagulation mittels kurzem Aufkochen des 1. Filtrates ebenfalls bei pH 4,6 ausfällen und waschen (Aqua dest. + Dichlormethan) gemäß SLMB, 1/1.10.3 bzw. § 35 LMBG, L 16.01-1.

4.4.10 Eiweißbestimmung nach Kjeldahl (in Anlehnung an § 35 LMBG, L 01.00-10 sowie L 17.00-15)

Die Analyse gliedert sich in zwei getrennt zu betrachtende Prozesse, den Aufschluss (Mineralisation des organischen Materials mit konzentrierter Schwefelsäure) und die Bestimmung des entstandenen Ammoniums. Zwecks Beschleunigung der Aufschlussgeschwindigkeit (*Van't Hoff*) wird zur Siedepunktserhöhung Kaliumsulfat zugesetzt. Die Menge wird so bemessen, dass eine optimale Aufschlusstemperatur von 380-400°C gefahren werden kann; dies wird erreicht, wenn das Verhältnis H_2SO_4 (in mL) zur Salzmenge (in g) zu Beginn des Aufschlusses zwischen 1,7 und 2 liegt¹⁾.

1. Zu untersuchende Proben werden mittels einer Analysenwaage auf 0,1 mg genau in N-freiem Wägepapier eingewogen und quantitativ in die Aufschlusskolben überführt.
2. Die Höhe der Einwaage hängt primär von der Inhomogenität des Probenmaterials ab²⁾.
Folgende Einwaagen haben sich dabei bewährt:
 - bei homogenen Proben: 0,2–1,0 g
 - bei Proben mittlerer Homogenität: 1,0–2,0 g
 - bei Proben schlechter Homogenität: 1,5–3,0 g oder mehr

¹⁾ Liegt der Siedepunkt zu hoch, treten ab 410°C Stickstoffverluste auf. Zusätzlich zum Kaliumsulfat wird als Katalysator Kupfersulfat zugegeben (fertige $K_2SO_4/CuSO_4$ -Mischungen als *Missouri*-Katalysator in Tablettenform: 0,4 g $CuSO_4$ pro 100 g K_2SO_4), jedoch ist hierbei eine um 50% längere Aufschlusszeit notwendig als bei den früher verwendeten, teilweise hoch toxischen Quecksilber- und Selenkatalysatoren.

²⁾ Nach Möglichkeit wird die Einwaage aber auch so gewählt, dass der zu erwartende N-Gehalt der Probe 10 mg nicht unterschreitet.

3. Die beim Aufschluss benötigte Schwefelsäuremenge wird von drei Faktoren bestimmt:
 - H_2SO_4 , die bei der Oxidation der organischen Substanz zu CO_2 und H_2O verbraucht wird
 - H_2SO_4 , die während des Prozesses verdampft ($\leq 1,5 \text{ mL h}^{-1}$)
 - H_2SO_4 , die sich mit K_2SO_4 zu KHSO_4 umsetzt (pro g K_2SO_4 0,3 mL)

Während die beiden letzten Faktoren bei gleichen Aufschlußbedingungen konstant sind, ist die Schwefelsäuremenge, die zur Oxidation benötigt wird, von der Einwaage und der organischen Zusammensetzung abhängig (zur Oxidation von Fett und Eiweiß wird 2-3mal soviel H_2SO_4 gebraucht wie für Kohlenhydrate). Weiterhin ist zu berücksichtigen, dass zum Ende des Aufschlusses noch ein Überschuss von freier Schwefelsäure vorhanden sein muss (das Verhältnis von H_2SO_4 zur Salzmenge darf einen Wert von 0,9 nicht unterschreiten).

4. Zum besseren Lösen der Probe und im Hinblick auf eine weniger schäumende Anfangsreaktion sollte der oben beschriebene Ansatz schon ein Tag vor dem eigentlichen Aufschluss angesetzt werden.
5. Die Kolben nun in den Heizblock stellen, den Rechen aufsetzen und ein Ende des Rechen mit einem säurefesten Schlauch mit dem Gaswascher verbinden (Lösung im Gaswascher: 600 g Natriumcarbonat werden in 2,8 L Wasser gelöst und 100 mg Bromthymolblau hinzugegeben).
6. Am *Turbotherm* wird nun für die erste halbe Stunde die Leistung auf 50% eingestellt und danach auf 100% hochgefahren. Nach dem Klarwerden der Lösung bzw. einer Hellgrünfärbung wird noch 30 min weiter erhitzt.
7. Nach Abkühlung werden die Kolben mit je 100 mL Aqua dest. aufgefüllt und in den *Vapodest* eingesetzt. Mit Natronlauge wird der nun als $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ vorliegende Stickstoff einer alkalischen Hydrolyse unterzogen und der dabei entstehende Ammoniak mittels einer Wasserdampfdestillation in 50 mL einer 2 – 4%igen borsäurehaltigen Vorlage übergetrieben¹).
8. Diese Lösung wird anschließend mit einer Mineralsäure bekannten Titers titriert (i.d.R. 0,1 N HCl). Die Erfassung des Endpunktes ($\text{pH } 4,6 \pm 0,1$) erfolgt potentiometrisch (+ evtl. der Zugabe eines geeigneten Indikators/Tashiro-Indikator).
9. Vom titrierten Volumen der Maßlösung wird das ermittelte Volumen des Blindwertes abgezogen (dieser resultiert aus der Verdünnung der Vorlagenlösung sowie möglichen N-Kontaminationen).

¹ Zugabemengen vor der Destillation: pro 5 mL H_2SO_4 20 mL Aqua dest. und 20 mL Natronlauge 32%. Im Gegensatz zur Methode des Auffangens mit Schwefelsäure genau bekannten Titers, ist bei der Borsäure keine exakte Konzentration vorgeschrieben, sondern lediglich ein Überschuss.

10. Die Berechnung des Proteingehaltes¹⁾ geschieht folgendermaßen:

$$\text{Protein (g/100 g TM)} = \frac{(V-V_0) \times N \times 1,4007}{m} \times F$$

V – V₀ : Verbrauch an HCl in mL abzüglich Verbrauch für Blindwert

N : Normalität der HCl (hier 0,1)

M : Probeneinwaage in g

F : Proteinfaktor der entsprechenden Matrix (5,7 für Weizen und Weizenprodukte),
gemäß ICC-Standard Nr. 105 (AGF, 1994).

4.4.11 Joghurtherstellung

1. 1 L Milch bis nahe an den Siedepunkt erhitzen (85-90°C).
2. Abkühlen auf 42°C und Temperatur halten.
3. 1,7 g Starterkultur, 3,3 g D-Glucose in die temperierte Milch einrühren (bis sich alles gelöst hat).
4. Beimpfte Milch in die Gläser des Joghurtbereiters geben und verschließen.
5. Den Ansatz 4 – 6 h im Joghurtbereiter bei 42°C fermentieren lassen (während der Fermentation Erschütterungen des Gerätes vermeiden).
6. Nach Beendigung der Fermentation Joghurt 12 h im Kühlschrank reifen lassen.

4.4.12 Verdauungssimulation

4.4.12.1 Gastrale Phase

1. Die zu untersuchende Probe (falls erforderlich) homogenisieren / Moulinette®.
2. Probe (20 - 90 g) in 250 mL Enghals-Erlenmeyerkolben (mit Rührfisch) geben.
3. Mit Wasser auf 90 g Einwaage auffüllen und mischen (Rührfisch).
4. Mit 6 M HCl auf pH 2,0 einstellen.
5. Nach 10 min pH-Einstellung überprüfen und ggf. nachjustieren.
6. 3 mL frisch zubereitete Pepsinlösung dazugeben und mit Wasser auf 100 g auffüllen.
7. Enghals-Erlenmeyerkolben mit Parafilm M® verschließen.
8. Mischen und 2 h bei 37°C im Schüttelwasserbad inkubieren (~100 - 120 Anschläge min⁻¹, Armbewegung 2 cm).
9. Dialyse-Schlauch vorbereiten, ein Ende zuknoten.
10. Bruttogewicht nach Pepsinverdauung notieren (Kolben außen gut trocknen).

¹ Zur Überprüfung der Methode auf Richtigkeit wird der Stickstoffgehalt von 0,2 g Tryptophan nach der oben beschriebenen Methode bestimmt.

11. Vom Pepsin-Verdauungsbrei drei 20 g Aliquote entnehmen (2 in 250 ml Weithals-Erlenmeyerkolben für Digestion; eine in Bechergesäß für Titrierung).
12. Die zwei Weithals-ErlenmeyergefäÙe zwischenzeitlich in Eiswasser kühlen.

4.4.12.2 Graduelle pH-Verschiebung

Mit der 3. Probe im Becherglas die titrierbare Säure ermitteln:

1. 5 mL frisch zubereitete Pankreas-Galle-Mischung dazugeben.
2. Mit 0,5 M NaOH auf pH 7,5 einstellen.
3. Nach 10 min Wartezeit überprüfen und ggf. nachjustieren.
4. Die entsprechende Menge 0,5 M NaOH notieren.

4.4.12.3 Intestinale Phase

1. Die beiden 20 g Proben 5 min im Schüttelwasserbad (37°C) erwärmen.
12. Je ein Dialyse-Schlauch gefüllt mit Wasser und 0,5 M NaHCO₃ auf 25 mL auffüllen (Menge NaHCO₃ entspricht der titrierten Menge 0,5 M NaOH nach Punkt 4. s.o.); (Schlauchlänge von Klammer zu Klammer ca. 250 mm), das vormals offene Ende mit einer Toppits®-Klammer fest verschließen.
13. Nach 30 min im Schüttelwasserbad den pH-Wert notieren (sukzessiver pH-Anstieg im Pepsin-Digestat).
14. 5 mL Pankreatin-Galle-Mischung hinzufügen (pH-Sonde damit abspülen).
15. 2 h bei 37°C im Schüttelwasserbad inkubieren (Öffnung mit Parafilm M® verschließen).
16. Anschließend pH-Wert (Retentat) messen und notieren (pH-Sonde mit Wasser abspülen).
17. Dialyseschlauch herausnehmen, mit H₂O abspülen, vorsichtig trocknen -> Papiertuch.
18. Dialysat in LDPE-Flasche füllen und wiegen.
19. Retentat in LDPE-Flasche füllen und wiegen (mit Abspülflüssigkeiten).

Pepsin-Verdauungs-Lösung: (frisch anzusetzen)

16 g Pepsin (P-7000) in 100 mL 0,1 M HCl lösen
(3,2 g in 20 mL 0,1 M HCl reicht für 3 verschiedene Lebensmittel; 3 x 3 mL oder
2,4 g in 15 mL 0,1 M HCl)

Pankreatin-Galle-Mischung: (frisch anzusetzen)

4 g Pankreatin (P-1750) und 25 g Gallen-Extrakt (B-8631) in 1 Liter 0,1 M NaHCO₃ lösen
(0,4 g Pankreatin und 2,5 g Galle in 100 mL 0,1 M NaHCO₃ reicht für 3 LM ; 3 x 15 mL oder
0,3 g Pankreatin und 1,875 g Galle in 75 mL 0,1 M NaHCO₃)

4.4.13 Gefriertrocknung

1. Die zu trocknenden Proben (homogenes Lebensmittel, Dialysat, Retentat) für mindestens 24 h bei -26°C in ihren LDPE-Flaschen einfrieren.
2. Danach die Deckel abschrauben, die Öffnungen mit Kimwipe[®]-Papiertüchern unter Zuhilfenahme von Gummibändern abdecken und in vakuumgeeignete Glasgefäße setzen.
3. Bei einem Druck von $\sim 10^{-6}$ bar lyophilisieren (kann bei den Retentaten bis zu 7 Tage dauern).
4. Gravimetrisch die TM bestimmen.

4.4.14 Aschebestimmung (gemäß ICC-Standard Nr. 104/1 (AGF, 1994) bzw. § 35 LMBG, L 16.01-2)

1. Zu untersuchendes Mahlprodukt mit je 3-4 g einwiegen.
2. Untersuchungsmaterial mit 1-2 mL Ethanol durchfeuchten und anschließend abflammen.
3. Zur vollständigen Veraschung Probe 2 h in den 900°C heißen Muffelofen schieben.
4. Abkühlen auf Zimmertemperatur in einem Exsikkator.
5. Auswiegen des Rückstandes.
6. Berechnung des Aschegehaltes (Aschegehalt ω_A in 100 g TM) gemäß:

$$\omega_A = \frac{(m_2 - m_1)100}{m_0} \frac{100}{100 - \omega}$$

m_1 = Masse der leeren Veraschungsschale

m_2 = Masse der Veraschungsschale mit Glührückstand

m_0 = Probeneinwaage in g

ω = Feuchtegehalt in g/100 g

4.4.15 Backversuch (in Anlehnung an ICC131 (AGF, 1994), Vollkornbrot)

1. Pro Brot 250 g Vollkornmehl mit 200 mL lauwarmem Wasser versetzen.
2. 1,5 g NaCl sowie 12,5 g frische Backhefe hinzufügen und alles durchkneten.
3. Teig 2 h Gehen lassen, anschließend wieder durchkneten.
4. Teig noch mal 2 h Ruhen lassen, im Anschluss daraus Laibe formen.
5. Brot 40 min bei 200°C im Backofen backen.
6. Nach dem Auskühlen Brote in Gefrierbeutel verpacken und Tiefrieren.

4.5 Selenanreicherung der Pflanzen durch Flüssig-Blattapplikation

Die Selenapplikationen auf den pflanzlichen Aufwuchs im Rahmen der Pilot- und Großversuche erfolgten in Kombination mit einem Stickstoff-Flüssigdünger

➤ **AHL** (Ammoniumnitrat-Harnstoff-Lösung¹⁾)

Zusammensetzung	Gewichts-%	Volumen-%
Gesamt-Stickstoff	30	39
davon Ammonium	7,5	9,75
davon Nitrat	7,5	9,75
davon Harnstoff	15	19,5

oder

➤ **NP-Lösung** (10 + 34)

Zusammensetzung	Gewichts-%	Volumen-%
Gesamt-Stickstoff	10	14
davon Ammonium	10	14
wasserlösliches P ₂ O ₅	34	48

dem 3 – 10 g Selen (als Natriumselenat ha⁻¹) zugesetzt wurden (je nach Versuchsansatz). Zur Anwendung kam hierbei eine Applikation des Selens in Form von (Natrium-)Selenat, der Bindungsform, die von Pflanzen am effektivsten aufgenommen wird (GUPTA und WINTER, 1989) oder als Calciumselenat. Es wird in flüssiger Form in Kombination mit den übrigen (Düngungs-)komponenten den Pflanzen aufgesprüht, wodurch diese das Selen direkt durch die Blätter resorbieren können (HANDRECK, 1995). Die Nullproben wurden analog mit Stickstoffdüngern ohne Selenzusatz behandelt.

Alternativ zu diesen klaren Lösungen sind auch Dünger-Suspensionen wie z.B. ROSAL[®] mit variablen Anteilen an N, P, K, Mg, Ca, Na als Mischungspartner geeignet. Allerdings sinkt die Selenaufnahmerate in Kombination mit diesem Düngungssystem, ausgelöst durch Ionenantagonismen (Ca, Mg, K) und einem früheren Ausbringungszeitraum mit der damit verbundenen geringeren Blattfläche, auf 15% ab.

¹ Der Ammoniumnitrat-Anteil steht der Pflanze kurz- bis mittelfristig zur Verfügung.

Bei der Anwendung klarer Düngerlösungen werden zuerst *AHL* und *NP*-Lösung in Abstimmung auf den Bedarf von Boden und Pflanze gemischt:

Tabelle 11: Anmischung beider Lösungen gemäß:

kg P/ha →	0 kg	10 kg	20 kg	30 kg	40 kg	50 kg
kg P/ha ↓	0 L	21 L	42 L	63 L	83 L	104 L
10 kg	26 L	18 L	11 L	3 L	-	-
20 kg	51 L	44 L	36 L	29 L	21 L	14 L
30 kg	77 L	69 L	62 L	54 L	47 L	40 L
40 kg	103 L	95 L	88 L	80 L	73 L	65 L
50 kg	128 L	121 L	113 L	106 L	98 L	91 L
60 kg	154 L	146 L	139 L	131 L	124 L	116 L
70 kg	179 L	172 L	165 L	157 L	150 L	142 L
80 kg	205 L	198 L	190 L	183 L	175 L	168 L
90 kg	231 L	223 L	216 L	208 L	201 L	193 L
100 kg	256 L	249 L	241 L	234 L	226 L	219 L

Bei einem Nährstoffbedarf von beispielsweise 80 kg N und 30 kg P₂O₅ je Hektar ergibt sich eine Mischung bestehend aus 183 Liter *AHL* und 63 Liter *NP*-Lösung. Dieser Mischung wird in der Feldspritze bei laufendem Rührwerk 1 L der Selenat-Lösung zugesetzt, die folgende Selen-Dosierung enthält:

$$\text{Dosierung [mg]} = \frac{(\text{Zielwert} - \text{Istwert}) [\text{mg kg}^{-1}] \times \text{Ertragserwartung [kg]} \times 100}{\text{Ausnutzungsrate [\%]}}$$

Die errechnete Natriumselenat-Menge wird zuvor in 1 L Wasser unter Erwärmen und stetigem Rühren vollständig gelöst (bei Calciumselenat muss dieses in 1 Liter 5-10%iger Salpetersäure gelöst werden)

Tabelle 12: Selendosierung bei Grünlandaufwüchsen¹⁾

Ertragsziel pro Schnitt	Selenausbringung	entspricht: Na ₂ SeO ₄ ²⁾	entspricht: CaSeO ₄ ³⁾
30 dt ha ⁻¹	1,26 g ha ⁻¹	3,01 g ha ⁻¹	1,91 g ha ⁻¹
35 dt ha ⁻¹	1,47 g ha ⁻¹	3,51 g ha ⁻¹	2,22 g ha ⁻¹
40 dt ha ⁻¹	1,68 g ha ⁻¹	4,01 g ha ⁻¹	2,54 g ha ⁻¹
45 dt ha ⁻¹	1,89 g ha ⁻¹	4,52 g ha ⁻¹	2,86 g ha ⁻¹
50 dt ha ⁻¹	2,10 g ha ⁻¹	5,02 g ha ⁻¹	3,18 g ha ⁻¹
55 dt ha ⁻¹	2,31 g ha ⁻¹	5,52 g ha ⁻¹	3,50 g ha ⁻¹
60 dt ha ⁻¹	2,52 g ha ⁻¹	6,02 g ha ⁻¹	3,81 g ha ⁻¹

Die Ausbringung erfolgt großtropfig⁴⁾ mit einer 8-Lochdüse bei einem Druck von 1,0 bar. Das in der *AHL*-Lösung enthaltene Nitrat begünstigt die Selenaufnahme durch die Pflanze – gleichzeitig wird die Verdunstungsrate der Selenatlösung reduziert.

4.6 Nachweis- und Bestimmungsgrenzen

Die Nachweis- und Bestimmungsgrenzen wurden nach der DIN-Methode (indirekte Methode, Kalibrierkurvenmethode) (DIN 32645, 1994) unter Berücksichtigung von KOLB et al. (1993) mit Hilfe von Microsoft Excel berechnet⁵⁾. Die Nachweisgrenze⁶⁾ stellt bei vorgegebenem Fehlerisiko eine Entscheidungsgrenze für das qualitative Vorhandensein eines Bestandteiles dar; sie ist unter Einbeziehung eines Vertrauensbereiches einer analytischen Methode per Definition die kleinste gerade noch feststellbare Massenkonzentration einer Komponente in der Probe⁷⁾.

¹⁾ Die Tabelle bezieht sich auf einen Ausgangswert von 20 µg kg⁻¹ Pflanzen-TM, einen Zielwert von 150 µg kg⁻¹ Pflanzen-TM bei einer Selenaufnahmerate von 31%.

²⁾ Na₂SeO₄: M = 188,936 g mol⁻¹ ≙ 78,96 g Se mol⁻¹ Na₂SeO₄ ≙ 41,8% Se

³⁾ CaSeO₄: M = 183,04 g mol⁻¹ ≙ 78,96 g Se mol⁻¹ CaSeO₄ ≙ 43,1% Se

⁴⁾ Die großtropfige Ausbringung mit speziellen Düsen (LP-Düsen, RAINDROP-Drüsen) bei geringem Spritzdruck senkt mögliche N-Verflüchtigungen sowie mögliche Ätزشäden (ANGER, 1988).

⁵⁾ Sowohl bei den Nachweis- wie den Bestimmungsgrenzen handelt es sich um Schätzwerte. Sie sind nicht genau bekannt, weil sie ihrerseits der Streuung bei der Messung unterliegen. Sie sind jedoch sehr hilfreich für vergleichende und orientierende Betrachtungen und stellen insofern wichtige Kenngrößen dar (KLÄNTSCHI et al., 1996).

⁶⁾ Neben der Nachweisgrenze existieren verschiedene weitere Begriffe, wie Nachweisvermögen, Erfassungs- oder Bestimmungsgrenze, die nicht immer einheitlich definiert und interpretiert werden.

⁷⁾ Setzt man deren Konzentration weiter herab, wird die gemessene physikalische Größe, d.h. das analytische Signal so klein, dass es nicht mehr von der Fluktuation des Untergrundsignals oder des Blindwertes unterschieden werden kann. Bei der Selenbestimmung im Spurenbereich ist eine tiefe Nachweisgrenze der Analysenmethode bei hoher Präzision entscheidend.

Die Bestimmung der Nachweisgrenzen erfolgt nach verschiedenen Verfahren; daher sollte neben der quantitativen, zahlenmäßigen Angabe immer auch das Berechnungsmodell mit angegeben werden¹⁾. Die reale Nachweisgrenze liegt erfahrungsgemäß über dem ideellen, instrumentellen Wert, da reale Proben i.d.R. einen Aufschluss, eine Extraktion oder eine Verdünnung verlangen und Matrixkomponenten ihren Einfluss ausüben. So werden Nachweisgrenzen in vielen Fällen durch die Fluktuation der Blindwerte bestimmt und nicht nur durch die Empfindlichkeit des Analysengerätes (KLÄNTSCHI et al., 1996). Daher hat die Höhe der Blindwerte ξ_{BI} und die der Blindwertstreuungen s_{BI} einen unmittelbaren Einfluss auf den Messwert x_N an der Nachweisgrenze und auf die Nachweisgrenze c_N selbst:

$$x_N = \xi_{BI} + 3 s_{BI}$$

$$c_N = f(x)$$

Die Fluktuation der Blindwerte wird hervorgerufen u.a. durch die Lösungsmittel, die verwendeten Aufschlussreagenzien, sämtlichen Gefäßoberflächen und den Kontaminationseinfluss der Laborluft (MATTER, 1994; KLÄNTSCHI et al., 1996).

Zur quantitativen Ermittlung der Nachweisgrenze c_N kommen hauptsächlich zwei Methoden zum Einsatz, die im wesentlichen auf der linearen Regression der Kalibrierung beruhen und in der Atomspektrometrie verbreitet angewendet werden:

- Die Leerwertmethode
- Die Kalibrierkurvenmethode

Die Leerwertmethode basiert auf der direkten Messung der Streuung des Leerwertes, d.h. der Intensitätsstreuung der Probe mit der analytischen Konzentration $c_A = 0$ ²⁾. Eine verbreitete Art der statistischen Definition der Nachweisgrenze c_N spektrometrischer Verfahren beruht auf der Berechnung³⁾:

¹ Häufig wird bei der Angabe von Nachweisgrenzen in der Instrumentalanalytik nicht das gesamte Analysenverfahren mit einbezogen, sondern durch die Verwendung von reinen Standardlösungen lediglich die idealisierte Nachweisgrenze des analytischen Grundverfahrens betrachtet. Bei der Charakterisierung und dem Vergleich von Analysengeräten repräsentiert die instrumentelle Nachweisgrenze eine rein apparative Größe.

² Aus beispielsweise 10 Wiederholungsmessungen leitet sich die Standardabweichung s_U des Leerwert- bzw. Untergrundsignals ab. Der Wert des Signals $I_{\text{Untergrund}}$ wird als gleichwertig betrachtet wie der Ordinatenabschnitt a der linearen Kalibrierfunktion.

³ Der Multiplikator 3 der Standardabweichung ist auf die angenommene Normalverteilung der einzelnen Messwerte der Untergrundmessung zurückzuführen. Bei der Leerwertmethode handelt es sich um eine rein instrumentelle Nachweisgrenze. Zur Begriffserklärung: Der Blindwert resultiert aus der Messung der Kalibrierlösung ohne den Analyten, d.h. ohne das zu analysierende Element und ohne die Probenmatrix. Der Leerwert ergibt sich aus der Messung einer Lösung, die in der Zusam-

$$c_N = \frac{3 \cdot s_U}{b}$$

c_N = instrumentelle Nachweisgrenze

s_U = berechnete Standardabweichung aus der wiederholten Messung
des Leerwert- oder Untergrundsignals

b = Steigung der Kalibrierkurve (analytische Empfindlichkeit)

Die Ermittlung der Nachweisgrenze nach der Kalibrierkurvenmethode ist aufwändiger. Hierzu wird der statistisch berechenbare Vertrauensbereich der Kalibriergeraden herangezogen (meist eine 95%-ige Sicherheit der t-Verteilung nach Student) bzw. der Toleranzbereich der Kalibriergeraden (ebenfalls eine 95%-ige Sicherheit der t-Verteilung), der die Einflussgrößen des gesamten Kalibrierverfahrens zur Bestimmung der Nachweisgrenze miteinbezieht.

Eine weitere Möglichkeit, aus den Daten der Kalibriergeraden einen Wert für die Nachweisgrenze zu erhalten, benutzt die sogenannte Reststandardabweichung s_0 ¹⁾:

$$c_N = \frac{3 \cdot s_0}{b}$$

Die Angabe einer instrumentellen Nachweisgrenze ist für die vergleichende Charakterisierung analytischer Methoden gebräuchlich²⁾.

Von größerer Relevanz als die Nachweisgrenzen sind in der Praxis oftmals die Bestimmungsgrenzen (die Bestimmungsgrenze ist die kleinste Konzentration, die bei vorgegebenem Fehlerrisiko noch quantitativ bestimmt werden kann). Sie liegen durch den Einbezug eines Sicherheitsfaktors höher als die Nachweisgrenzen und stellen im Routinebetrieb das realistischere erreichbare untere Limit für die Selenbestimmung dar. Die Bestimmungsgrenze c_B ist definiert als:

$$10 \cdot s_U$$

mensetzung der Probenlösung inklusive deren Matrix entspricht, jedoch nicht das zu analysierende Element enthält, was sich in der Praxis meist nur schwer realisieren lässt.

¹ Die Streuung der y-Werte (Extinktion) um die Kalibriergerade.

² Sie lässt sich auf zwei Arten verbessern: Zum einen führt eine Erhöhung der analytischen Empfindlichkeit, z.B. durch Verwendung eines empfindlicheren Detektors oder eine verbesserte Anregung des atomisierten Selens zu niedrigeren Nachweisgrenzen. Zum anderen führt eine Senkung der Fluktuation des Untergrundsignals, z.B. durch die Optimierung der Geräteeinstellungen, ebenfalls zu einer Verbesserung der Nachweisgrenzen.

$$c_B = \frac{\quad}{b}$$

Das *DFG-Eichkurvenverfahren* (1991) legt ein Signifikanzniveau (α)¹ von 0,05 (95% statistische Sicherheit, \leq 5% Fehlerrisiko) zugrunde. Die DIN-Methode berechnet Werte wahlweise mit einem Signifikanzniveau (α) von 0,01 (99% statistische Sicherheit, \leq 1% Fehlerrisiko) und 0,05 (95% statistische Sicherheit, \leq 5% Fehlerrisiko). Bei beiden Methoden werden Kalibriergeraden mit Standards sehr niedriger (Selen-)Gehalte möglichst in unmittelbarer Nähe der Nachweisgrenze erstellt; es sind jeweils mindestens 6 Kalibrierstandards in möglichst äquidistanten Schritten notwendig, die aus voneinander unabhängigen Verdünnungen stammen müssen.

Während der Routineuntersuchungen wurde die Nachweisgrenze über verdünnte Standardlösungen überprüft. Dabei sollte die Signalhöhe dem fünffachen des Grundrauschens entsprechen (Tab. 18 im Anhang).

¹ Das Signifikanzniveau α bezieht sich auf Fehler der 1. Art.

5 Ergebnisse und Diskussion

5.1 Methodenentwicklung Selenanalytik (FI-HG-AAS)

Die im Rahmen dieser Arbeit zu untersuchenden Proben sollten im Labor der Fa. RSW (Ormont, Eifel) analysiert werden. Hauptaugenmerk lag dabei auf der Selenanalytik mittels dort vorhandener FI-HG-AAS-Ausstattung. Allerdings konnten damit zu Beginn keine zufriedenstellenden Analysenergebnisse erzielt werden – auch nicht nach Arbeitsanweisung des Herstellers oder nach Literaturvorschriften. Als Schwachpunkt entpuppte sich dabei insbesondere die Probenvorbereitung. Ein Ziel war es daher, alle der eigentlichen Analytik vorgeschalteten Stationen wie die Veraschung, die Vorreduktion und die Eliminierung interferierender Stickstoffverbindungen in möglichst wenigen Schritten geschlossen in einem Mikrowellensystem durchführen zu können und dabei Selenverluste und mögliche Kontaminationen auf ein Minimum zu reduzieren. Zur Optimierung wurde eine *Simplex Multifactor Optimisation Strategy* angewandt, berücksichtigend, dass viele Parameter miteinander verknüpft sind und nicht für sich alleine betrachtet werden können (SNEDDON, 1990).

5.1.1 Optimierung der Signalempfindlichkeit

Eine Grundvoraussetzung für die quantitative Bestimmung von Elementen im Spurenbereich mittels FI-HG-AAS-Technik ist eine hohe Empfindlichkeit¹). Die Messpräzision und Wiederholpräzision sind um so größer, je höher die Steigung der Kalibrierfunktion ist. Die Erzeugung, Sammlung und Zuführung des Monoselans (Selenhydrids) in die eigentliche Messeinheit ist dabei ein bedeutender Punkt und von einer Reihe von Faktoren abhängig.

Neben dem Selen selbst, beeinflussen zwei Hauptfaktoren die Bildung des Selenhydrids:

Punkt 1: Die Menge an Natriumborhydrid (NaBH_4)

Punkt 2: Die Menge an Hydronium-Ionen (H_3O^+) / pH-Wert

Die Flussraten (Zufuhrmengen) sind aber durch die Peristaltikpumpe der Gaserzeugungseinheit determiniert, es bleibt daher nur eine Variation durch die jeweilige Konzentration der Lösung selbst.

¹ d.h. eine große Steigung der Kalibrierfunktion (Bezugsfunktion) des Atomabsorptionsspektrometers. Bei einer geringen Steigung der Bezugfunktion wirken sich Schwankungen, die durch das Analysengerät verursacht werden, stärker aus als bei einer größeren Steigung.

Im ersten Schritt (Punkt 1) wurde die optimale NaBH_4 -Konzentration¹⁾ ermittelt. Empfehlungen aus der Literatur für ein FI-System reichen hierbei von $2 - 20 \text{ g L}^{-1}$ (WELZ und SPERLING, 1997; DAMKRÖGER et al., 1997b; BRUNORI et al., 1998; GALLIGNANI et al., 2000). Die eigenen Untersuchungen zeigten einen Intervall hoher Empfindlichkeit im Bereich von $1,5 - 13 \text{ g NaBH}_4 \text{ L}^{-1}$, mit einem flachen Maximum (bei $20 \mu\text{g Se(IV) L}^{-1}$) im Bereich von $3 - 6,5 \text{ g NaBH}_4 \text{ L}^{-1}$ (Abb. 3).

Dazu wurden, von Standardlösungen ausgehend, Selenlösungen verschiedener Konzentrationen ($2 \mu\text{g Se(IV) L}^{-1}$, $10 \mu\text{g Se(IV) L}^{-1}$ und $20 \mu\text{g Se(IV) L}^{-1}$) mit Natriumborhydridlösungen unterschiedlichen Gehaltes umgesetzt. Da möglichst geringe Borhydridkonzentrationen das Risiko von Übergangsmetall-Interferenzen verringern (VOTH-BEACH und SHRADER, 1985; WELZ und SPERLING, 1997), wurde für die weiteren Untersuchungen mit einer Konzentration von 3 g L^{-1} gearbeitet. Die NaBH_4 -Lösung muss alkalisiert sein, um eine vorzeitige Zersetzung zu verhindern. Sichergestellt wurde dies durch die Zugabe von $0,1 - 0,5\%$ NaOH ; bei höheren Konzentrationen zeigte sich ansonsten eine Verringerung der Signalempfindlichkeit.

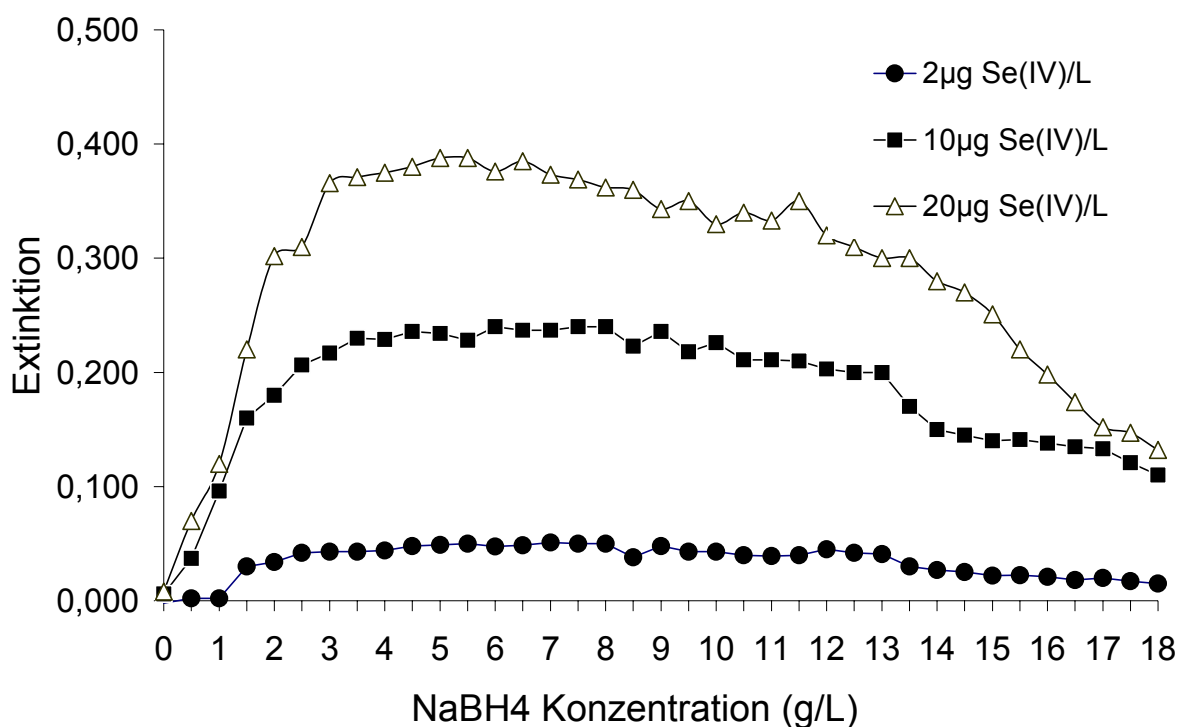


Abb. 3: Einfluss der Natriumborhydrid-Konzentration auf die Extinktion in Abhängigkeit der Selenkonzentration

¹⁾ Da die Konzentration an Natriumborhydrid im FI-System die freigesetzte Menge des Wasserstoffs und des Selenhydrids bestimmt, ist die Ermittlung der optimalen Boranat-Konzentration von großer Wichtigkeit.

Ganz im Gegensatz zu der einschlägigen Empfehlung, die Borhydrid-Lösung jeden Tag frisch zuzubereiten¹⁾, ergab eine (bei 3°C gelagerte) Lösung auch noch nach 12 Monaten die gleiche Extinktionshöhe²⁾ (Abb. 4 und Tab. 17 im Anhang).

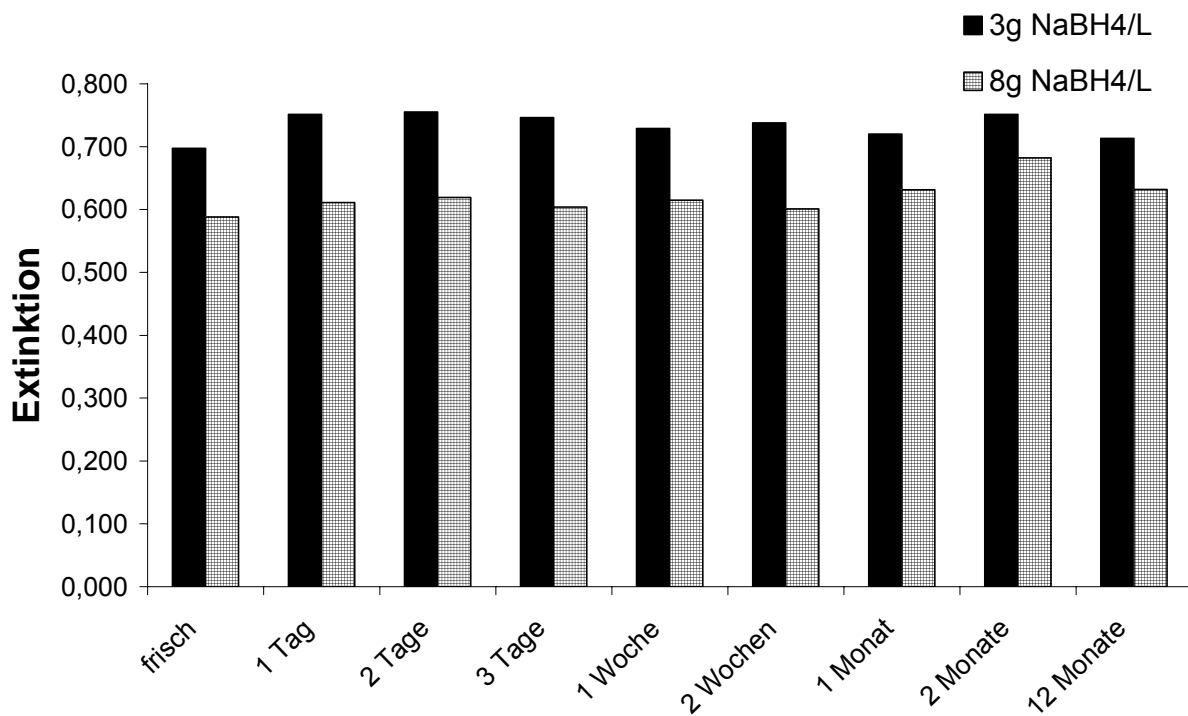


Abb. 4: Einfluss der Lagerdauer einer NaBH₄-Lösung auf die Extinktionshöhe

¹⁾ Wässrige Lösungen von Natriumborant müssen alkalisch stabilisiert werden (darum immer zuerst das Natriumhydroxid einwiegen, mit etwas Aqua dest. versetzen und anschließend das abgewogene Borant dazugeben).

²⁾ Der Grund liegt wahrscheinlich in der hohen Reinheit des heutzutage kommerziell erhältlichen Natriumborhydrids.

Zu Punkt 2: Die HCl-Konzentration¹⁾ der Trägerlösung war dagegen von einem weniger kritischen Einfluss; ein leichtes Optimum zeigte sich bei 7 mol L^{-1} (Abb. 5).

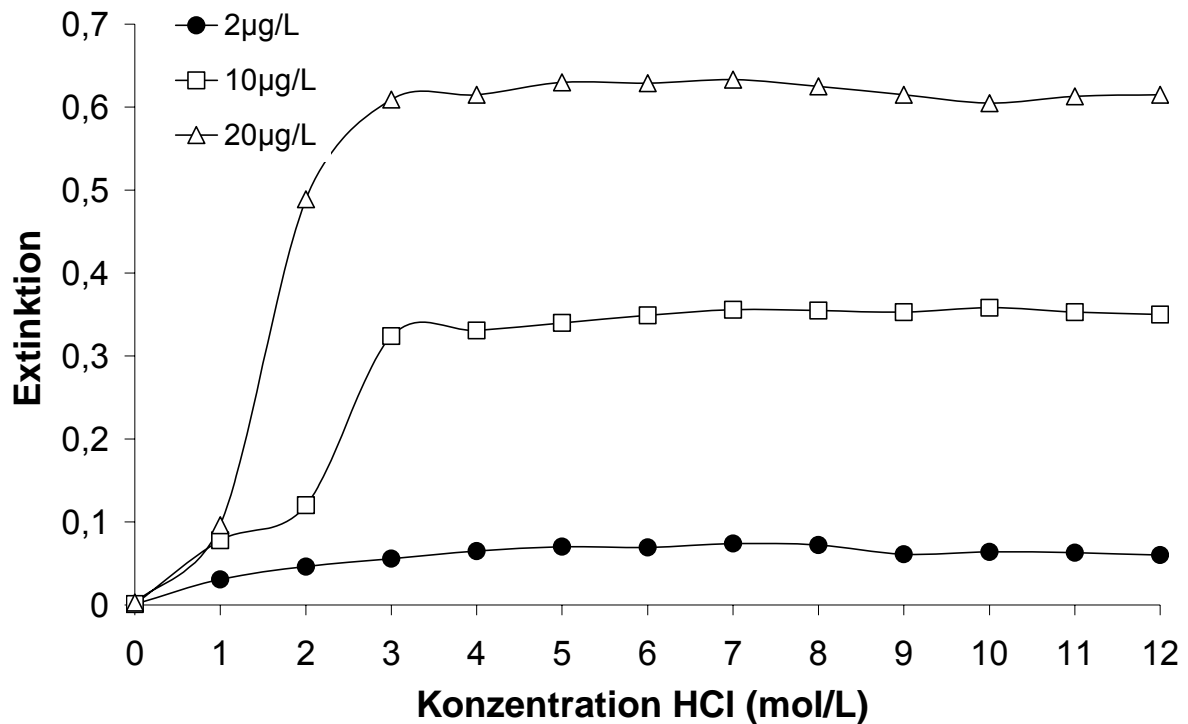


Abb. 5: Einfluss der HCl-Konzentration auf die Extinktion

Ebenfalls untersucht wurde der Einfluss der Atomisierungstemperatur auf die Signalempfindlichkeit. Anfangs wurde mit Hilfe eines Acetylenbrenners die Quarzküvette als Atomisierungseinheit beheizt²⁾, wobei zwecks Ermittlung der optimalen Atomisierungsbedingungen die dazu nötigen Gasflussmengen (Sauerstoffquelle: Raumluft) bestimmt wurden (Abb. 6).

¹ Die gleiche Säure, die auch zur Vorreduktion verwendet wird.

² Die Temperatur muss auf der einen Seite hoch genug sein, um eine möglichst komplette Atomisierung des einströmenden Selenhydrids gewährleisten zu können, auf der anderen Seite darf sie nicht zu hoch sein, um eine zu hohe Gasdiffusion und damit zu geringe Empfindlichkeit zu vermeiden.

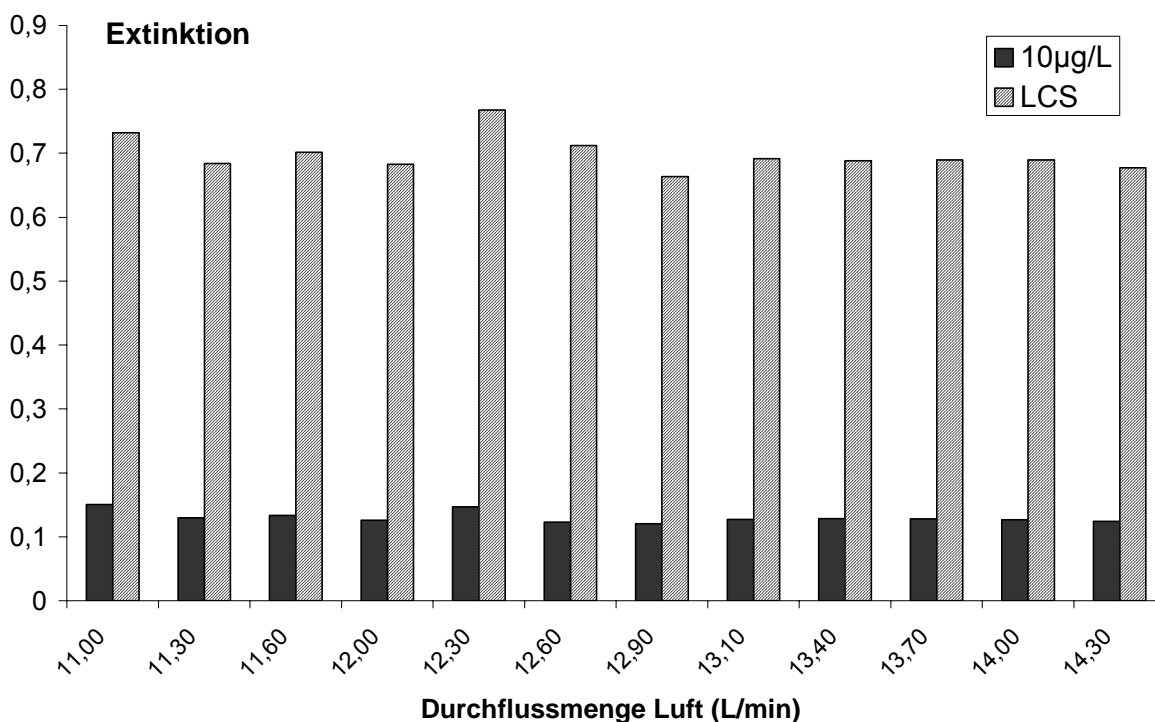


Abb. 6: Einfluss der Durchflussmenge an Luft beim Acetylenbrenner auf die Extinktion (Durchflussmenge Acetylen¹⁾: 1,50 L min⁻¹)
 Probenlösungen: 10 µg Se(IV) L⁻¹ und LCS (*Laboratory Control Standard*)

Eine Reihe von Verbesserungen brachte der Austausch des Acetylenbrenners gegen eine selbstgebaute elektrische Küvettenheizung, deren Vorteile sich folgendermaßen darstellen:

- höhere Empfindlichkeit (Faktor 2-3 gegenüber der Flammenheizung, siehe Abb. 8)
- geringere laufende Betriebskosten
- eine flammenlose und damit arbeitstechnisch sicherere Arbeitsweise
(Messserien können auch automatisiert und unbeaufsichtigt durchgeführt werden)
- und dies zu einem Bruchteil der Kosten einer kommerziell erhältlichen Lösung.

Die Temperatureinstellung erfolgte über einen stufenlos regulierbaren Niederspannungs-transformator in Verbund mit einem Ni-CrNi-Temperatursensor; auch hier wurde die höchste positive Korrelation 'Temperatur in Bezug auf die maximale Signalempfindlichkeit' ermittelt: Diese lag bei 800°C (Abb. 7).

¹ Vorgabe Fa. *Varian*. Ein Verändern dieses Parameters brachte keinerlei Vorteile.

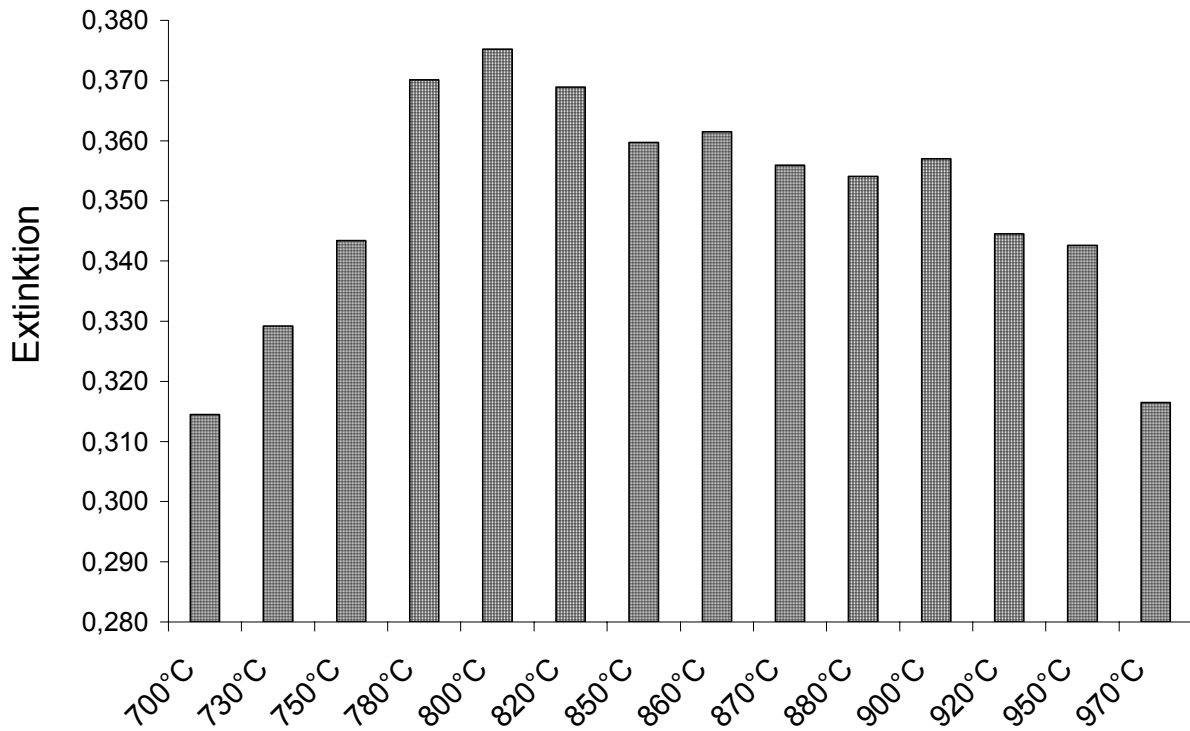


Abb. 7: Einfluss der Küvettemperatur auf die Signalempfindlichkeit (Extinktion)

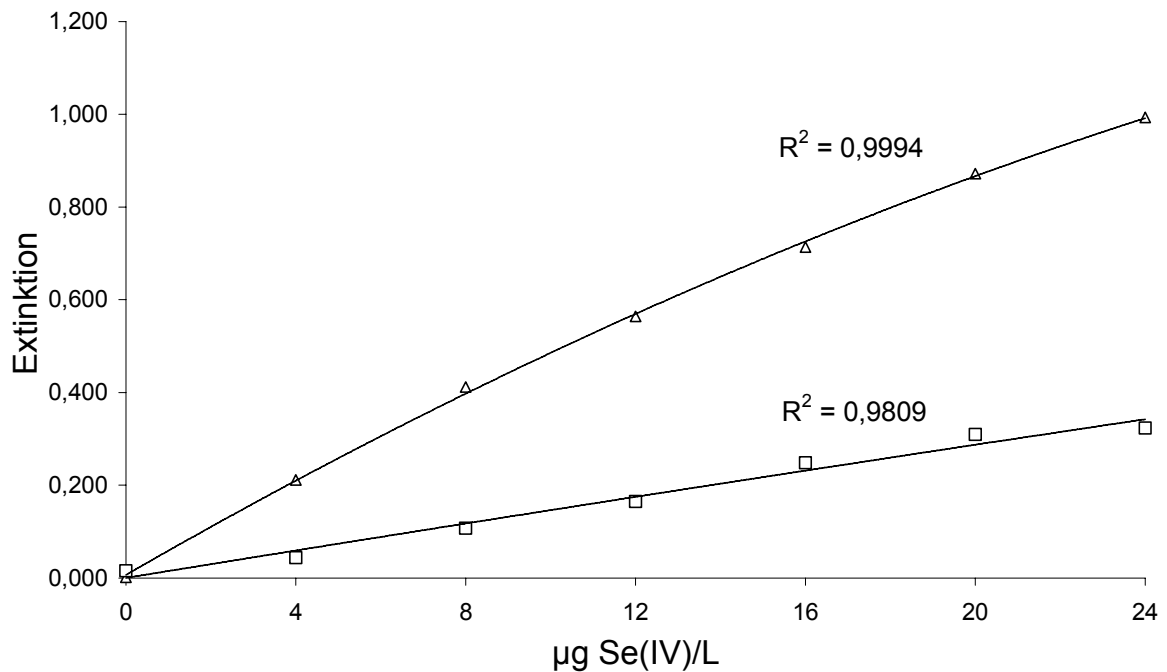


Abb. 8: Vergleich der Extinktion¹⁾ zwischen □ Flammen- und △ elektrisch beheizter Quarzküvette

¹ Nachweisgrenze (LOD): Flamme: 0.28 ng mL⁻¹, elektrisch beheizt: 0.099 ng mL⁻¹ (siehe Tab. 18 im Anhang)

5.1.2 Probenaufschluss

Um sichergehen zu können, dass die Mineralisation der zu untersuchenden Proben auch vollständig erfolgt, wurden die Aufschlussbedingungen mit Hilfe zertifizierten Referenzmaterials¹⁾ (CRM) möglichst gleicher Matrix (im Vergleich zu den zu untersuchenden Proben) optimiert. Dies waren BCR 189 *wholemeal flour*, NIST 8435 *whole milk powder*, NIST 1570a *spinach leaves* und GBW 07604 *poplar leaves*. Wichtig hierbei ist, den Kohlenstoff- und Stickstoffgehalt der zu untersuchenden Proben zu kennen, da davon die Zugabemenge der Aufschlussreagenzien abhängt (die Gehaltsbestimmung dieser beiden Elemente²⁾ erfolgte analytisch mittels Wärmeleitfähigkeitsdetektion).

Die Einwaage für einen Aufschluss sollte wenigstens 200 mg betragen, um mögliche Inhomogenitäten der (feingemahlten) Probe ausgleichen zu können, dabei aber auch im Bereich von 1,4 – 2,8 mg C mL⁻¹ Aufschlussbehältervolumen liegen (WÜRFELS et al., 1987; WÜRFELS, 1988).

Zur Mineralisation und um möglichst klare Aufschlüsse erzielen zu können, kam eine Mischung aus Salpetersäure und Wasserstoffperoxid zum Einsatz. HNO₃ alleine führt zu blau/braun gefärbten Lösungen, welche noch Stickoxide enthalten³⁾, eine der Hauptstörquellen in der Selenanalytik mittels HG-AAS. Der Zusatz von H₂O₂ bringt zudem noch weitere Vorteile:

- Verringerung einer Matrixerweiterung durch eine Mineralsäure⁴⁾
- Erhöhung des Oxidationspotenzials
- Druckerniedrigung (und damit mögliche höhere Aufschlusstemperaturen) durch eine Oxidierung von Stickoxiden zurück zum HNO₃

Die besten Aufschlussergebnisse wurden unter Einsatz von 1,2 mL HNO₃ + 1,2 mL H₂O₂ pro 100 mg C bei allen untersuchten CRMs zur Methodvalidierung erzielt. Darüber hinaus wurde der Einfluss der Aufschlusszeit sowie der Temperatur auf die Selen-Wiederfindungsrate für eine Reihe von Referenzmaterialien (Spinatblätter, Vollmilchpulver, Vollkornmehl, Pappelblätter und Menschenhaar) ermittelt (Abb. 22-26 im Anhang).

¹⁾ Die Entwicklung qualifizierter Messverfahren im Spuren- und Ultraspurenbereich erfordert den Einsatz zertifizierter Referenzmaterialien (CRMs), die in der Routineanalytik neben Ringversuchen als laufende Verfahrenskontrolle dienen, da absolute Messverfahren nicht verfügbar sind (STOEPLER und NÜRNBERG, 1984; STOEPLER, 1993).

²⁾ Einen ersten Überblick über die C-Gehalte biologischer Proben kann man sich auch in Tabellenwerken, wie denen von WÜRFELS et al. (1987), WÜRFELS (1988), JACKWERTH und WÜRFELS (1994) verschaffen.

³⁾ Ein Entgasen mit Hilfe von Ultraschall erwies sich als sehr zeitintensiv und dennoch unvollständig.

⁴⁾ Ein Teil der für einen kompletten Aufschluss erforderlichen Salpetersäure wird durch H₂O₂ ersetzt.

Dabei zeigte sich, dass sich pflanzliche Proben einfacher aufschließen lassen als tierisches Material, exemplarisch erkennbar an den beiden CRMs Spinatblätter und Vollmilchpulver (Abb. 9).

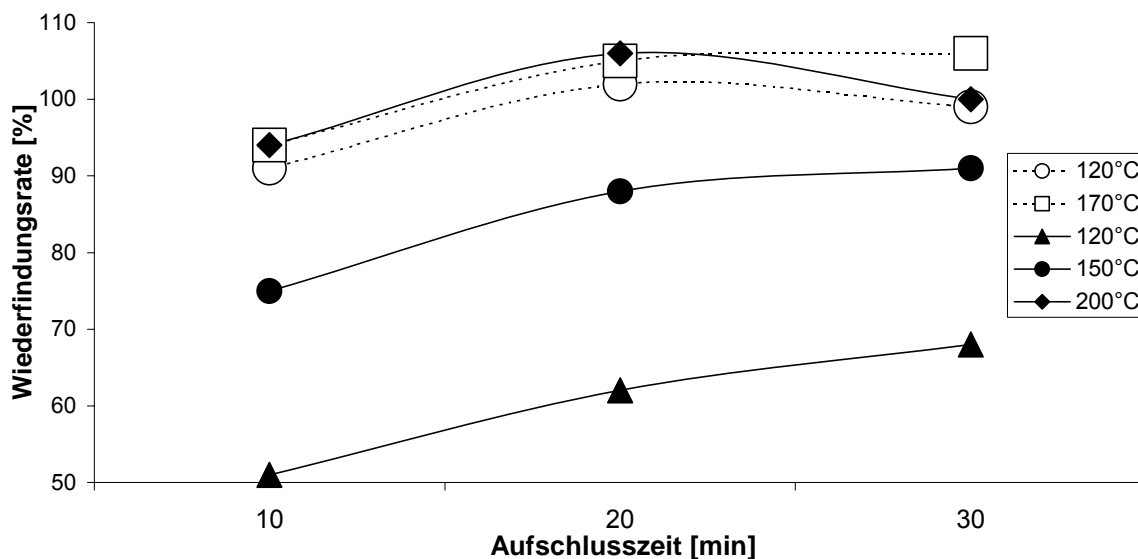


Abb. 9: Einfluss von Aufschlusszeit und Temperatur auf die Wiederfindungsrate von Selen in den Referenzmaterialien NIST 1570a *spinach leaves* (□,○) und NIST 8435 *whole milk powder* (▲,●,◆) [n = 15]

Abgesehen von der Menge und Zusammensetzung der Aufschlussäure, kristallisierte sich die Veraschungstemperatur als der determinierende Parameter heraus: Je höher die Temperatur, desto vollständiger der Aufschluss.

Die Zeitdauer zeigte einen geringeren Einfluss, speziell bei niedrigeren Temperaturen. In Übereinstimmung mit anderen Autoren (VIJAN und LEUNG, 1980; WÜRFELS, 1988) stellte sich heraus, dass proteinreiche Proben nach rabiateren Aufschlussbedingungen verlangen, um auch so stabile Verbindungen wie Selenomethionin, Selenocystein oder Trimethylselenonium aufschließen zu können (WELZ und SPERLING, 1997).

5.1.3 Vorreduktion und `Denitrifikation`

Nach Abschluss der Mineralisation liegt das Selen, abhängig von den Aufschlussbedingungen, in wechselnden Verhältnissen in den Oxidationsstufen +4 und +6 vor. Allerdings kann nur Selen in der Oxidationsstufe +4 bestimmt werden, da nur Selen(IV) durch NaBH_4 vollständig zu SeH_2 reduziert wird¹. Zur quantitativen Überführung in die Oxidationsstufe +4 dient der Arbeitsschritt der Vorreduktion, üblicherweise durchgeführt in offenen Gefäßen mit 4-7molarer HCl über einen Zeitraum von 20-60 min bei Temperaturen von 60-100°C (CUTTER, 1978; VIJAN und LEUNG, 1980; JULSHAMN et al., 1982; PETTERSSON und OLIN, 1991; OLIVAS et al., 1994; HILL et al., 1995; ALLABASHI et al., 1997; DAMKRÖGER et al., 1997b; MINDAK und DOLAN, 1999).

Diese Faktoren (Zeit, Säurekonzentration und vor allen Dingen Temperatur) stellen dabei einen kritischen Punkt bei der Vorreduktion dar (PETTERSSON und OLIN, 1991; WELZ und SPERLING, 1997; DAMKRÖGER et al., 1997b). Eine schnellere und sichere Methodik der Reduktion von Se(VI) zu Se(IV), basierend auf der Mikrowellentechnik, wurde daher von einer Reihe von Autoren vorgestellt. Die Vorteile liegen nicht nur in einer größeren Zeitersparnis, sondern auch in einer Verringerung der Kontaminationsgefahr bzw. eines möglichen Elementverlustes (COBO-FERNÁNDEZ et al., 1995; FERRI und SANGIORGIO, 1996; BRUNORI et al., 1998; GALLIGNANI et al., 2000).

Bei allen Experimenten wurde eine HCl-Konzentration von $\sim 9 \text{ mol L}^{-1}$ (15 mL HCl 37% pro ~ 5 mL Aufschlusslösung) gewählt. Diese hohe Konzentration ($\text{pH} < 0,5$) beschleunigt die Vorreduktion sowie das (spätere) Entgasen des Monoselans aus der Probenlösung (AGTERDENBOS et al., 1990). Des Weiteren werden dadurch Störungen durch Übergangsmetalle ausgeschaltet. Diese Elemente hemmen die quantitative Bildung des Monoselans; ein Erhöhen der Säurekonzentration fördert die Löslichkeit dieser zuvor reduzierten, feinst verteilten Metallpartikel² (ITOH et al., 1988; HERSHEY und KELIHER, 1989/90; WELZ und SPERLING, 1997). HCl-Konzentrationen $> 7 \text{ mol L}^{-1}$ verhindern mögliche Interferenzen durch die Bildung von Chloro-Komplexen (VIJAN und LEUNG, 1980).

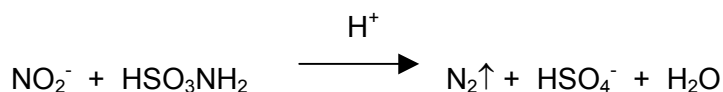
Als Ergebnis der reduzierenden Bedingungen durch die Salzsäure enthielt die vormals klare Lösung störende Stickoxide (siehe Kap. 3.8.2.3). Versuche, diese mit Hilfe von Druckluft oder Ultraschall auszutreiben, verliefen erfolglos. Selbst nach über einer Stunde und länger gab es keine zufriedenstellenden Ergebnisse. Um diese störenden Stickstoffverbindungen zu eliminieren, bietet sich die Zugabe von Sulfanilamid ($\text{C}_6\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$) (CUTTER, 1978) oder Ami-

¹ Liegt Selen ursprünglich in der Oxidationsstufe (-2) vor, liefert es nur 5-10% der Empfindlichkeit des Selenitsignals, während Selen(VI) gar nicht zum Selenwasserstoff reduziert wird und somit kein Messsignal erhalten werden kann.

² Diese entstehen vor der Hydridbildung durch Reduktion von (Übergangs-)Metallionen mit NaBH_4 . SeH_2 wird an der Metalloberfläche adsorbiert und zersetzt.

doschwefelsäure (HSO_3NH_2) (DAMKRÖGER et al., 1997a; b) zur Probenlösung an. Diese Reagenzien entfernen die unerwünschten N-Verbindungen auf chemischem Wege, indem sie sie zum elementaren Stickstoff reduzieren ('Denitrifikation')¹.

Die Verwendung von Sulfanilamid ist dabei auf den Einsatz in *Batch*-Systemen beschränkt, da sich hierbei unlösliche Reaktionsprodukte bilden, die das FI-System verstopfen würden. Als Denitrifikationsmittel kommt daher für die FI-HG-AAS nur Amidoschwefelsäure in Frage. Diese entfernt die Nitrit-Ionen, die Intermediate der störenden Stickoxide, gemäß folgender Gleichung:



Ihre Einsatzmenge richtet sich dabei nach der Menge der zugegebenen Salpetersäure beim Aufschluss. Gemäß der Stöchiometrie obiger Gleichung müssen pro mL HNO_3 (65%) 1,4 g Amidoschwefelsäure zugesetzt werden, um alle interferierenden Stickstoffverbindungen zu entfernen. Innovativ war es hierbei nun, diese zwei Arbeitsschritte (Vorreduktion und Denitrifikation) in einem Durchgang in der Mikrowelle auszuführen (SCHLOSKE et al., 2002).

Da während der Denitrifikation der Druck in den Aufschlussbehältern stark ansteigt, kann es ratsam sein, diese Stufe der Probenvorbereitung in zwei Schritten² durchzuführen, je nachdem, wie druckstabil die Einsätze sind. Abhängig vom verwendeten Mikrowellensystem ist diese Methode präziser (Abb. 27 im Anhang) sowie zwei- bis viermal so schnell wie in einem offenen System.

Zur Optimierung der Reduktionsparameter kamen Aliquote aufgeschlossenen Referenzmaterials (NIST 1570a *spinach leaves* und NIST 8435 *whole milk powder*) zum Einsatz, pur sowie aufgestockt mit einer dem Gehalt der Aufschlusslösung in etwa entsprechenden Menge an Se(VI). Die Selen-Wiederfindungsrate der aufgestockten Lösungen diente als Gradmesser der Effektivität der Selenat-Vorreduktion³, als Ergebnis zeigte sich, dass eine Reaktionszeit von 10 min bei 150°C zu einer vollständigen Vorreduktion führt (Abb. 10).

¹ Ursprünglich die Bezeichnung für den bakteriellen Abbau von Nitraten und Nitriten zu Stickstoff im Boden.

² Falls der Maximal-Druck erreicht wird: MW stoppen, Behälter abkühlen, Entlüften und ein zweites Mal hochfahren.

³ Matrixangereicherte Lösungen sind für solche Wiederfindungsuntersuchungen am besten geeignet, da sie - im Gegensatz zu einer rein wässrigen Lösung - am realistischsten die Verhältnisse bei einer Vorreduktion wiedergeben (HILL et al., 1995).

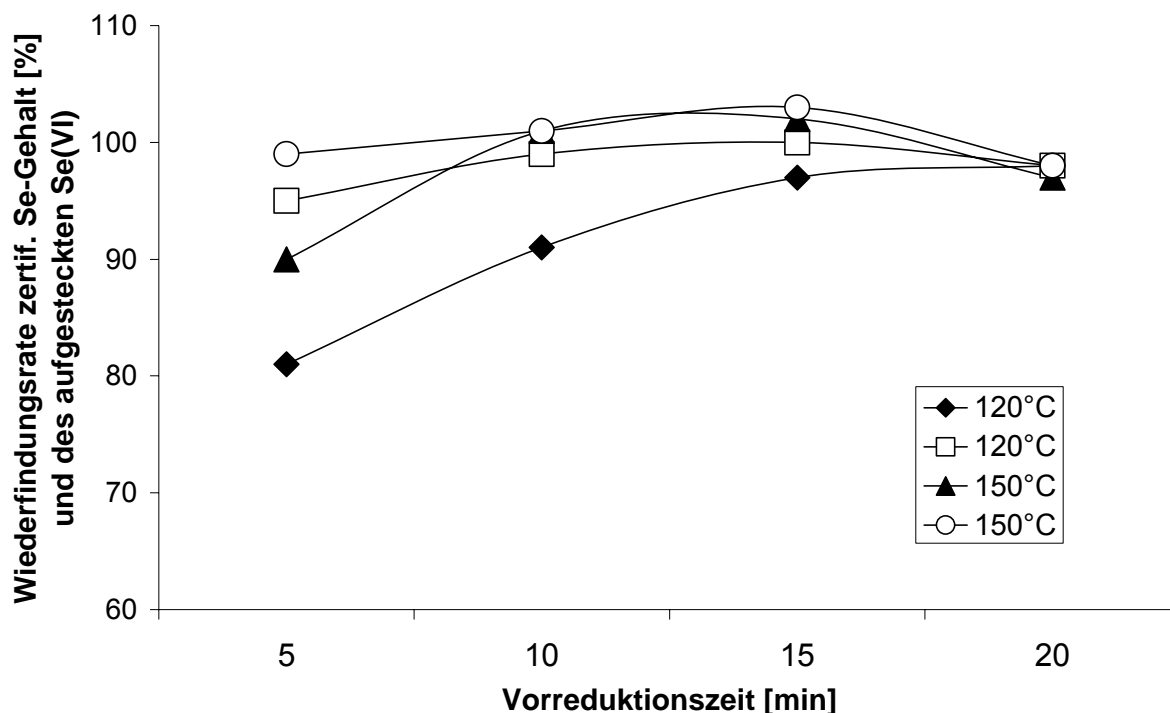


Abb. 10 Einfluss der Vorreduktionszeit und Temperatur auf die Wiederfindungsrate von Selen in NIST 1570a *spinach leaves* (Se: $117 \pm 9 \text{ ng g}^{-1}$) ohne (□, ▲) sowie nach einer Aufstockung mit $2 \mu\text{g Se(VI) L}^{-1}$ (□, ○) [n = 4]

5.1.4 Ergebnisse der Methodenentwicklung Selenanalytik (FI-HG-AAS)

Basierend auf den beschriebenen Einzelschritten zur Optimierung sowohl der Probenvorbereitung als auch der eigentlichen Selenbestimmung mittels FI-HG-AAS wurde hiermit eine Methode entwickelt, die exakt und zugleich schnell genug ist, um auch lange Reihen von Untersuchungsmaterialien sicher analysieren zu können. Gänzlich neu war nun hierbei, dass sämtliche Schritte sowohl des Probenaufschlusses als auch der nachfolgenden Vorreduktion und Denitrifikation in geschlossenen Gefäßen in einem Mikrowellengerät ausgeführt wurden. Daraus resultiert nicht nur eine enorme Zeitersparnis (gegenüber herkömmlichen, in der Literatur beschriebenen Verfahren), sondern auch ein weitest gehender Schutz vor Elementverlust und Kontaminationen. Ein weiterer Beitrag zur Automatisierung und Empfindlichkeitsverbesserung lag in der Implementierung einer selbst entwickelten, elektrisch beheizten Atomisierungseinheit in der AAS, die somit komplett unbeaufsichtigt betrieben werden kann.

5.2 Düngungsversuche

5.2.1 Selenanreicherung von Grassilage durch Flüssig-Blattapplikation

Bereits im Jahr 1987 wurden Befunde publiziert (HARTFIEL und BAHNERS, 1987), dass der Selenmangel in den Eifelböden auch zu extrem niedrigen Selengehalten im Weidegras führt. Um eine für den Selenstatus des Rindes als optimal angesehene Aufnahmemenge von 4 – 6 mg Se/Tag (EICKEN et al., 1992; KOLB und GRÜN, 1995; TRAN, 1995; WOLF et al., 1998a-c) erreichen zu können, wurde ein Selengehalt von 150 – 350 $\mu\text{g Se kg}^{-1} \text{ TM}^{1)}$ in der Silage angestrebt²⁾. Diese Selengehalte werden an dem untersuchten Standort Eifel auf Grund der niedrigen Selengehalte der Böden in der Grassilage bisher bei weitem nicht erreicht (2,4 – 57,4 $\mu\text{g Se kg}^{-1} \text{ TM}$).

Im Jahr 1997 wurden im Rahmen eines Pilotversuchs 3 g Se ha⁻¹ in Flüssigdünger *AHL* auf zur Silagegewinnung ausgewiesene Weideflächen (60 ha) appliziert. Es konnte eine Erhöhung des Selengehaltes im Grasaufwuchs von 37 $\mu\text{g Se kg}^{-1} \text{ TM}$ (Ausgangswert) auf durchschnittlich 317 $\mu\text{g Se kg}^{-1} \text{ TM}$ erzielt werden. Daraufhin wurde 1998 ein Großversuch mit 5 g Se/ha³⁾ auf einer Grasfläche von 1.700 ha Weideland durchgeführt. Zur Anwendung kam ebenfalls wieder *AHL* sowie alternativ ein Suspensionsdünger (*ROSAL*[®]); die Nullproben wurden analog mit Stickstoffdüngern ohne Selenzusatz behandelt.

Es zeigte sich, dass

- bei Verwendung des Ammoniumnitrat-Harnstoff-Flüssigdüngers (*AHL*) mit der Applikation von 5 g Se ha⁻¹ bzw. beim Suspensionsdünger (*ROSAL*[®]) mit 10 g Se ha⁻¹ die erwünschten Selenkonzentrationen im Gras erreichbar sind und somit die Zugabe der Selenate zum Flüssigdünger (*AHL*) die effektivste Düngungsvariante darstellt
- zur Erzielung der gewünschten Selengehalte der Grasaufwuchs nach jedem Ernteschnitt (2–4/Jahr) neu mit Selen gedüngt werden muss, da nur eine geringe Nachhaltigkeit gegeben ist (Abb. 11).

¹ Bei Beginn des Projektes war dies die Vorgabe von Prof. Hartfiel (Emeritus des Inst. f. Tierernährung, Landw. Fak. Univ. Bonn; beratend tätig für die Fa. RSW)

² Abhängig davon, ob z.B. selenangereichertes Kraftfutter zugefüttert wird oder zusätzlich anderes, selenreicheres Grundfutter zur Anwendung kommt.

³ Diese Erhöhung von 3 auf 5 g Se ha⁻¹ fand statt, um auch bei schlechten Wetterbedingungen einen genügend hohen Selengehalt in der Silage zu erhalten – verdünnen mit unbehandelter Silage kann man dann bei Bedarf immer noch.

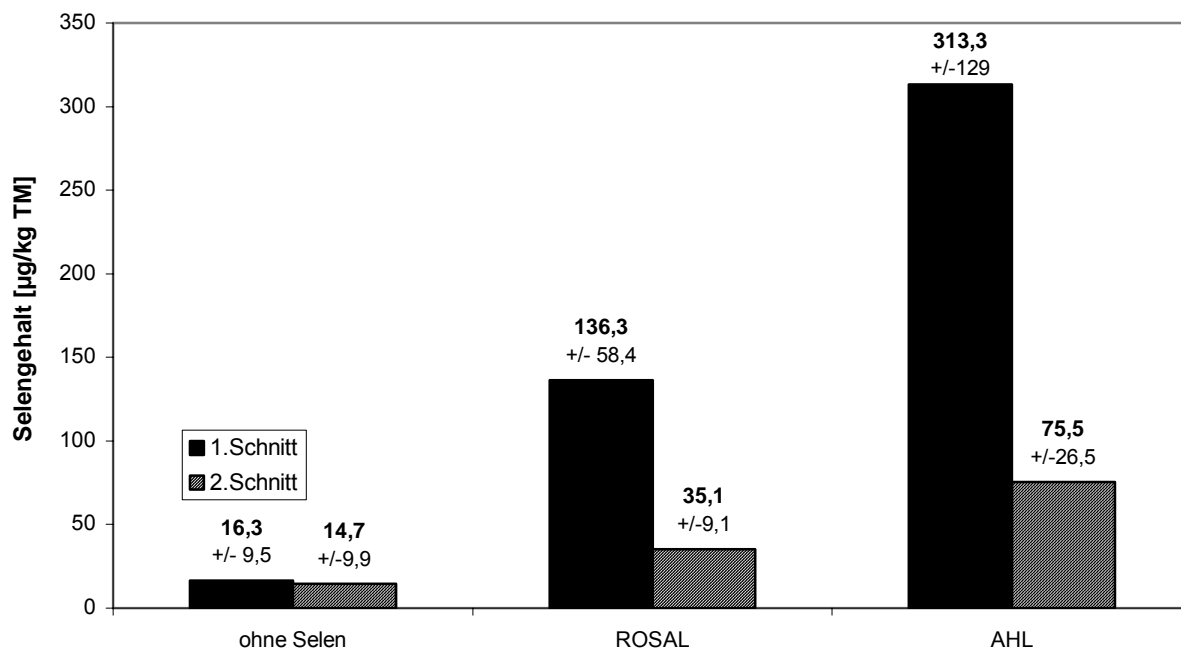


Abb. 11: Selengehalte in Grassilage nach einer einmaligen Gabe von 5 g Se ha⁻¹ [Gehalte im 1. und 2. Schnitt, Vergleich der beiden Düngungssysteme ROSAL[®] (Suspensionsdünger) und AHL (Flüssigdünger) im Jahr 1998, n = 16]

Mithin ist es auch bei diesem extrem selenarmen Standort möglich, durch Flüssig-Blattapplikation von Selen während der Wachstumsphase den Selengehalt des Pflanzenaufwuchses auf ein tierernährungsphysiologisch bedeutsames Niveau anzuheben [bei den Versuchen im Jahr 1998 z.B. von durchschnittlich 16 µg (mind.: 3,1 µg, max.: 29,5 µg) auf bis zu mehr als durchschnittlich 300 µg (mind.: 121 µg, max.: 572 µg) Se kg⁻¹ TM]¹) (Abb. 11).

Die Effizienz der Flüssig-Blattapplikation zeigt folgende Bilanz (Tab. 13), aus der hervorgeht, dass bei der AHL-Variante mehr als ein Drittel des ausgebrachten Selen von den Pflanzen direkt aufgenommen wurde. Dies stellt einen großen Vorteil gegenüber der konventionellen Feststoffdüngung mit Selen dar, wie sie z.B. in Finnland im Rahmen des staatlich verordneten Düngungsprojektes zum Einsatz kam. Hier traten aufgrund einer unkontrollierten Anreicherung des Selen im Boden stark schwankende Selengehalte im Pflanzenaufwuchs auf (VENÄLÄINEN et al., 1997).

¹ Die starken Unterschiede in den Einzelwerten lassen sich mit jeweils unterschiedlichen Witterungsbedingungen unmittelbar nach den Applikationen erklären (insbesondere Regenschauer wirken sich ungünstig auf die Selenaufnahme auf).

Tabelle 13: Effizienzvergleich der beiden Selendüngungsvarianten von Weidegras mit *AHL* und *ROSAL*[®]

Variante	Ertrag [kg TM ha ⁻¹]	Nullprobe Aufnahme [mg Se kg ⁻¹ TM]	Aufnahme [mg Se ha ⁻¹]	<i>ROSAL</i> Aufnahme [mg Se kg ⁻¹ TM]	Aufnahme [mg Se ha ⁻¹]	<i>AHL</i> Aufnahme [mg Se kg ⁻¹ TM]	Aufnahme [mg Se ha ⁻¹]
1. Schnitt	5.000	0,0163	82	0,1363	682	0,3133	1567
2. Schnitt	3.000	0,0147	44	0,0351	105	0,0755	227
Gesamtaufnahme			126		787		1793
Dosierung					5000		5000
Aufnahmerate					15,7%		35,9%

Im Jahre 1999 wurde ergänzend ein Grünland-Düngungsversuch unternommen, ob Calciumselenat¹⁾ dieselbe Wirkung zeigt wie das bisher verwendete Natriumselenat. Dazu wurde auf abgesteckten und markierten Parzellen (3 x 5 Meter) einer extensiv genutzten Dauerwiese²⁾ mit einer Handsprühpumpe auf den jeweiligen Arealen 7,5 mg Se/15 m²-Parzelle (dies entspricht 5 g Se ha⁻¹) in Form von Calciumselenat oder Natriumselenat ausgebracht³⁾.

Als Ergebnis zeigte sich, dass in Lösung gebrachtes Calciumselenat dieselbe Wirkung zeigt wie Natriumselenat (die Selengehalte sowohl im ersten als auch im zweiten Schnitt weisen keine signifikanten Unterschiede zueinander auf).

Dies bestätigten auch die Praxisversuche des Jahres 1999. Bei der *AHL*-Variante (Flüssigdünger) ergaben sich im Durchschnitt die ähnlichen bis gleichen Ergebnisse wie im Jahr zuvor, bei der Düngung mit *ROSAL*[®] (Suspensionsdünger) zeigte sich nach einer Erhöhung der Dosierung von 5 g Se ha⁻¹ auf 10 g Se ha⁻¹, dass sich die Werte denen der *AHL*-Variante (mit 5 g Se ha⁻¹) angleichen.

¹ Kommerziell liefersicherer und günstiger erhältlich.

² Mit Eifel-typischem Bewuchs: Raygras, Wiesenrispe, Wiesenschwingel, Kammgras, Wiesenkräuter.

³ Die Parzellen waren durch Abstandsparzellen voneinander getrennt; außerdem wurde eine unbehandelte Parzelle zur Kontrolle untersucht.

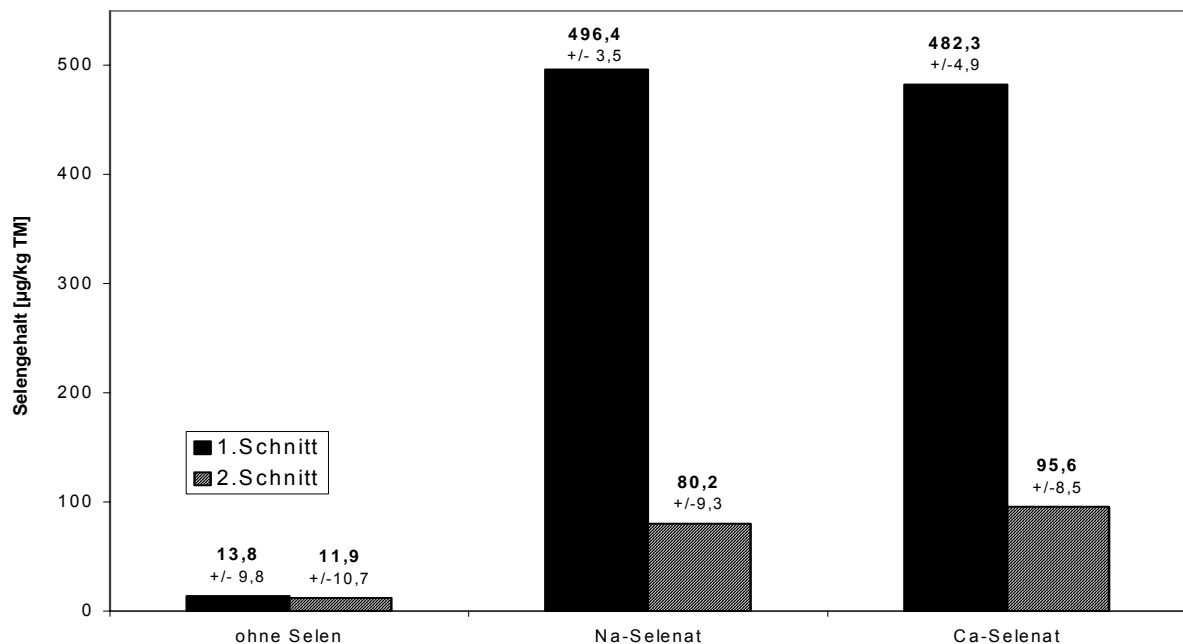


Abb. 12: Selengehalte in Grassilage nach einer einmaligen Gabe von 5 g Se ha⁻¹ (Gehalte im 1. und 2. Schnitt, Vergleich der beiden Salze Natriumselenat und Calciumselenat im Jahr 1999, n = 9)

5.3 Fütterungsversuche

5.3.1 Selenanreicherung in Milch nach Fütterung selenangereicherter Grassilage

Im Rahmen von Praxisversuchen wurden in den Jahren 2000 bzw. 2001 auf zwei Höfen (A und B) Milchkühe der Rasse *Schwarzbuntes Niederungsvieh* zunächst mit Grassilage aus nicht selengedüngten Parzellen, dann mit selenangereicherter Grassilage und in der Regel wirtschaftseigenem Kraftfutter unter Ausschluss weiterer Selenquellen gefüttert.

Die durchschnittliche tägliche Grassilage-Aufnahme lag bei 12 kg TM/Tier und 5 kg TM Kraftfutter; die durchschnittliche tägliche Milchleistung bei ca. 17,25 kg/Tier. Die zu den Untersuchungen verwendeten Milchproben entstammten den Sammelmelken der jeweiligen Herden (Hof A: 25 Tiere, Hof B: 40 Tiere).

Bei einem ersten Versuch im Jahr 1999 zeigte sich eine Steigerung von durchschnittlich 14 µg Se L⁻¹ Milch (Werte der Kontrollgruppe) auf durchschnittlich 38 µg Se L⁻¹ (siehe Tab. 23 im Anhang) nach Selen-Flüssig-Blattapplikation.

Außerdem konnte gezeigt werden, dass die Zufuhr von Selen in anorganischer Form [z.B. als Mineralfutter ($30 - 80 \text{ mg Se kg}^{-1} \text{ FM}$), als kommerzielles Krafffutter (gesetzlicher Höchstwert laut Futtermittel-VO¹): $500 \text{ } \mu\text{g Se kg}^{-1} \text{ FM}$), als selenhaltige Lecksteine, durch tierärztliche Injektionen, intraruminal applizierte Pellets oder Boli] zwar zur Verbesserung der Gesundheit der Rinder beitragen kann, aber die Selenkonzentration in der Milch nicht wesentlich erhöht wird.

Bei allen in den darauf folgenden Jahren durchgeführten Untersuchungen bestätigte sich, dass sich nach Fütterung der Kühe mit selenangereicherter Grassilage ($> 100 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1} \text{ TM}$) die Selengehalte in den Milchproben ebenfalls signifikant erhöhen.

Verdeutlicht wird dieser Befund anhand der Auswertung des in Abb. 13 skizzierten Fütterungsversuchs (Jahr 2000, Milchkühe des Hofes A): Durch Fütterung aus Silos mit Grassilagen unterschiedlicher Selengehalte wurde die Selenzufuhr durch dieses Grundfutter von $46 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1} \text{ TM}$ auf $113 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1} \text{ TM}$ und später auf $227 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1} \text{ TM}$ gesteigert.

Die Selengehalte der Milchproben stiegen analog ebenfalls stufenweise von $37,9 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1} \text{ TM}$ ($\equiv 4,6 \text{ } \mu\text{g Se L}^{-1}$)² auf zunächst ca. $100 \text{ } \mu\text{g}$ ($\approx 12,1 \text{ } \mu\text{g Se L}^{-1}$) und dann bis auf ca. $170 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1} \text{ TM}$ ($\approx 20,6 \text{ } \mu\text{g Se L}^{-1}$).

Parallel wurde Ende Oktober aus tiergesundheitlichen Gründen auch mit anorganischem Selen versetztes Mineralfutter verabreicht ($\sim 100 \text{ g/Tier}$, entspricht $\sim 10 \text{ mg SeO}_3^{2-}$). Dies zeigte jedoch in Übereinstimmung mit den bereits diskutierten Befunden aus dem Vorversuch des Jahres 1999 keine erkennbaren positiven Auswirkungen auf den Selengehalt der Milch [der mittlere Selengehalt sank sogar leicht von $107,6$ ($\equiv 13,0 \text{ } \mu\text{g Se L}^{-1}$) auf $98,8 \text{ } \mu\text{g Se kg}^{-1} \text{ TM}$ ($\equiv 11,9 \text{ } \mu\text{g Se L}^{-1}$) (Abb. 13)].

¹ EC Directive 70/524 (MAFF, 2000).

² Umrechnung ausgehend von durchschnittlich 12,1% TM in Vollmilch (siehe Tab. 23 im Anhang).

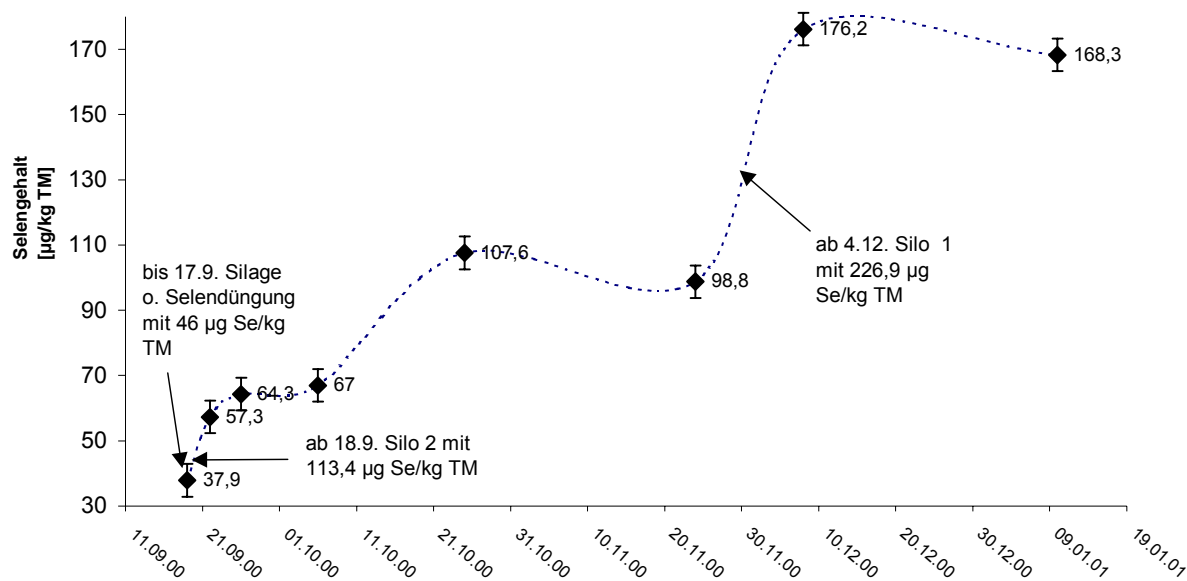


Abb. 13: Selengehalt der Milch (Vollmilch) in Abhängigkeit vom Selengehalt der Grassilage

Die allenfalls geringe Auswirkung von Gaben mit anorganischem Selen ist durch Beobachtungen von COMBS und COMBS (1986) sowie WOLFFRAM (1991) plausibel. Sie fanden, dass im Pansen von Milchkühen eine Reduktion von anorganischem Selenit und Selenat zu nicht mehr resorbierbaren Metallseleniden stattfindet, und zwar in beträchtlichem Ausmaß (bis zu 70%).

Die Beobachtung, dass der Selengehalt der Milch durch Zufuhr von Selen in anorganischer Form nicht wesentlich erhöht wird, bestätigen auch die Ergebnisse der Arbeiten von ORTMAN und PEHRSON aus den Jahren 1995-99 (PEHRSON und ORTMAN, 1995; ORTMAN und PEHRSON, 1997; 1999): Diese Autoren berichten über eine signifikante Steigerung der Selengehalte der Milch bei einer Milchvieh-Gruppe, die mit organischem Selen angereichertes Futter erhielt (3 mg Selen in Form von Selenhefe/Tag); im Gegensatz dazu konnten bei zwei Gruppen, denen Natriumselenit bzw. -selenat (3 mg Selen in Form des jeweiligen Selensalzes/Tag) verabreicht wurde, keine signifikanten Steigerungen gegenüber der Nullgruppe erzielt werden¹.

¹ Zu ähnlichen Schlussfolgerungen kommt LEIBETSEDER in seinen 2000 bzw. 2001 vorgestellten Untersuchungen. Hier ließ sich durch die Gabe von 5 mg Se/Tier und Tag sowohl in anorganischer (Natriumselenit) als auch organischer Form (selenangereicherte Hefe) eine Erhöhung des Milchselengehaltes gegenüber der Kontrollgruppe (1 mg Se/Tier und Tag) erzielen. Allerdings zeigte sich auch hier, dass die Gabe von organisch gebundenem Selen die wirksamere Supplementierungsform darstellt: Die Selengehalte der organisch-supplementierten Milchproben lagen nach 105 Tagen um den Faktor > 2,5 über denen der anorganisch-supplementierten Proben (sowie um den Faktor > 6 über der Kontrollgruppe). Die gleiche Kernaussage, nämlich dass eine signifikant starke Erhöhung des Milchselengehaltes nur mit der Verfütterung von Selenhefe erzielt werden kann wurde auch von GIVENS et al. (2004) nach vom Aufbau her ähnlichen Versuchen getroffen.

Die im Rahmen dieser Arbeit erzielten Steigerungen des Milchselengehaltes legen daher den Schluss nahe, dass flüssig auf Weidegras appliziertes Selenat von den Pflanzen zu organisch gebundenem Selen¹⁾ assimiliert wird, da nur diese Selenspezies eine solche Erhöhung der Selenkonzentration in der Milch bewirken können.

Aus dem oben dargestellten Versuch (Abb. 13) lässt sich außerdem überschlägig der Anteil der von der Kuh über die Milch abgegebenen Selenmenge in Relation zur über die Grassilage aufgenommenen Selenmenge abschätzen: Bei einer täglichen Aufnahme von 12 kg Grassilage-TM (Selengehalt: 226,9 $\mu\text{g kg}^{-1}$ TM) ergibt sich eine tägliche Selenaufnahme der Kuh von 2,723 mg. Bei einem resultierenden Selengehalt der Milch von ca. 170 $\mu\text{g Se kg}^{-1}$ Milch-TM bzw. 20,57 $\mu\text{g Se kg}^{-1}$ Vollmilch²⁾ und einer durchschnittlichen täglichen Milchleistung von 17,25 kg je Kuh ergibt sich eine durchschnittliche tägliche Ausscheidung von 355 μg Selen über die Milch. Mithin wurden am Ende des in Abb. 13 dargestellten Versuchs ca. 13%³⁾ des aufgenommenen Selens über die Milch wieder abgegeben.

Um den Zusammenhang zwischen den Selengehalten der Futter-Grassilage und der Milch noch exakter erfassen zu können, wurden im Januar 2001 bei einem ausgewählten Betrieb (Hof B) mit 3 Futtersilos (unterschiedliche Selengehalte in der Silage) alle zwei Tage die Milchselengehalte verfolgt (Abb. 14). Bis einschließlich dem 07.01. wurde über einen Zeitraum von mehreren Wochen aus Silo 1 (144,4 $\mu\text{g Se kg}^{-1}$ TM) gefüttert, was zu einem Gehalt von ca. 13 $\mu\text{g Se L}^{-1}$ Milch führte. Bereits zwei Tage nach Umstellung auf Futter aus Silo 2 (664,8 $\mu\text{g Se kg}^{-1}$ TM) war eine, wenn auch noch geringe, Erhöhung des Milchselengehalts nachweisbar. In den darauf folgenden Tagen war eine relativ gleichmäßige Steigerung des Selengehalts zu beobachten.

Am 14.01. wurde dann, zu einem kleineren Anteil, Futter mit geringerem Selengehalt aus Silo 3 zugemischt. Aufgrund der Tatsache, dass in der Folge die Milchselengehalte stärker als erwartet abnahmen, wurde geschlossen, dass die Inhalte der Silos schlecht vermischt waren, so dass die Futteraufnahme der Tiere hauptsächlich aus Beständen des frischeren Silos 3 erfolgte. Als daraufhin sorgfältiger gemischt wurde, begann zwei Tage danach erneut ein stetiger Anstieg der Milchselengehalte. Die Ergebnisse dieses Versuchs belegen deutlich, dass der Milchselengehalt sehr rasch, innerhalb von 24 – 48 Stunden, dem steigenden bzw. sinkenden Selengehalt im Grundfutter folgt.

¹⁾ Dies ist auch bei einer Aufnahme über die Wurzeln der Fall (STADLOBER et al., 2001).

²⁾ Umrechnung ausgehend von durchschnittlich 12,1% TM in Vollmilch (siehe Tab. 23 im Anhang).

³⁾ Bei GIVENS et al. (2004) ergab sich bei ihren Selenanreicherungsversuchen in der Milch eine Übertragungsrate von 10,9%.

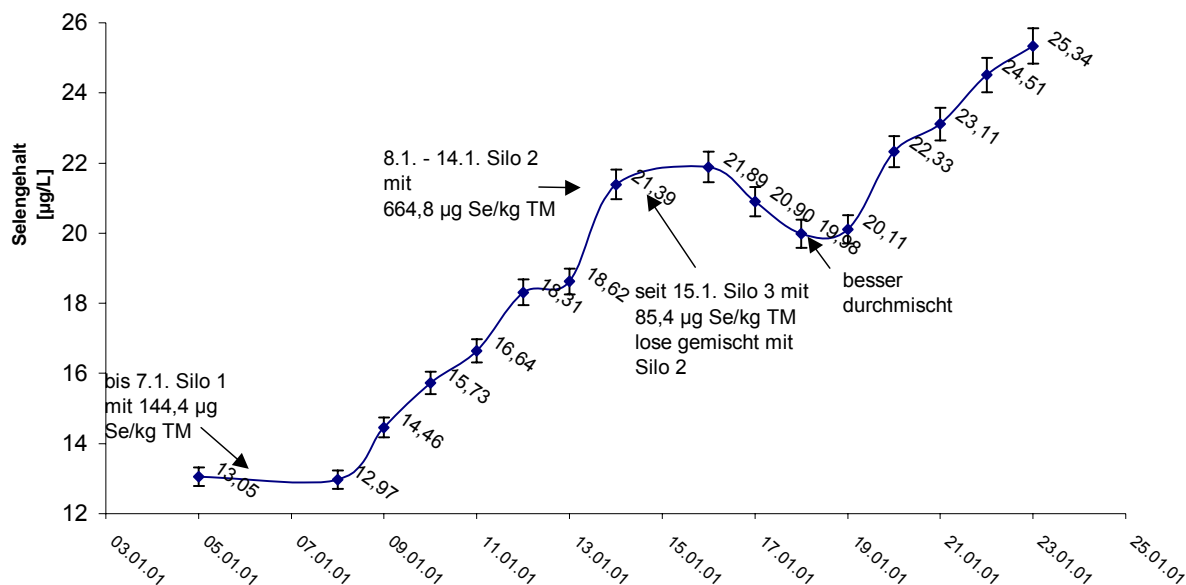


Abb. 14: Verlauf des Milchselengehaltes in Abhängigkeit vom Selengehalt der Silage (Erläuterungen siehe Text)

Um abschätzen zu können, ob die Höhe des Selengehaltes der Milch die Verteilung des Selen auf die verschiedenen Milchfraktionen beeinflusst, wurden 11 Proben (mit unterschiedlichen Selengehalten) aus verschiedenen Milch erzeugenden Betrieben der Versuchsregion fraktioniert und analysiert (Abb. 15). Dabei stammen die in Abb. 15 rechts gruppierten Proben von Tieren, die vorher mit selenangereicherter Silage gefüttert wurden.

Bei den nicht mit Selen angereicherter Silage gefütterten Tieren zeigten sich in den Milchproben etwa gleich hohe Selenkonzentrationen in den Kasein- und Molkenproteinfraktionen. Bei allen selenreicheren Proben dagegen enthielten die Molkenproteine einen größeren Selenanteil als die Kaseine (besonders deutlich bei den Proben 5, 7 und 10). Anscheinend wird in diesen Fällen das durch die Blattapplikation zusätzlich aufgenommene Selen bevorzugt in die Molkenproteine eingelagert. Dies könnte damit zusammenhängen, dass in den Molkenproteinen der Anteil an Thioaminosäuren mit 5,4% höher liegt als der in den Kaseinen (3,3%). Möglicherweise wird bei einem erhöhten Angebot an Selen der Schwefel in diesen Aminosäuren teilweise durch Selen ersetzt [aufgrund der höheren nukleophilen Reaktivität des Selen bilden sich bevorzugt C-Se-Bindungen, selbst wenn alkylierbare Schwefelverbindungen in großem Überschuss vorliegen (SCHRAUZER, 1998)].

Zur Absicherung dieser vorläufigen Schlussfolgerungen sind weitere Untersuchungen mit höheren Probenzahlen erforderlich.

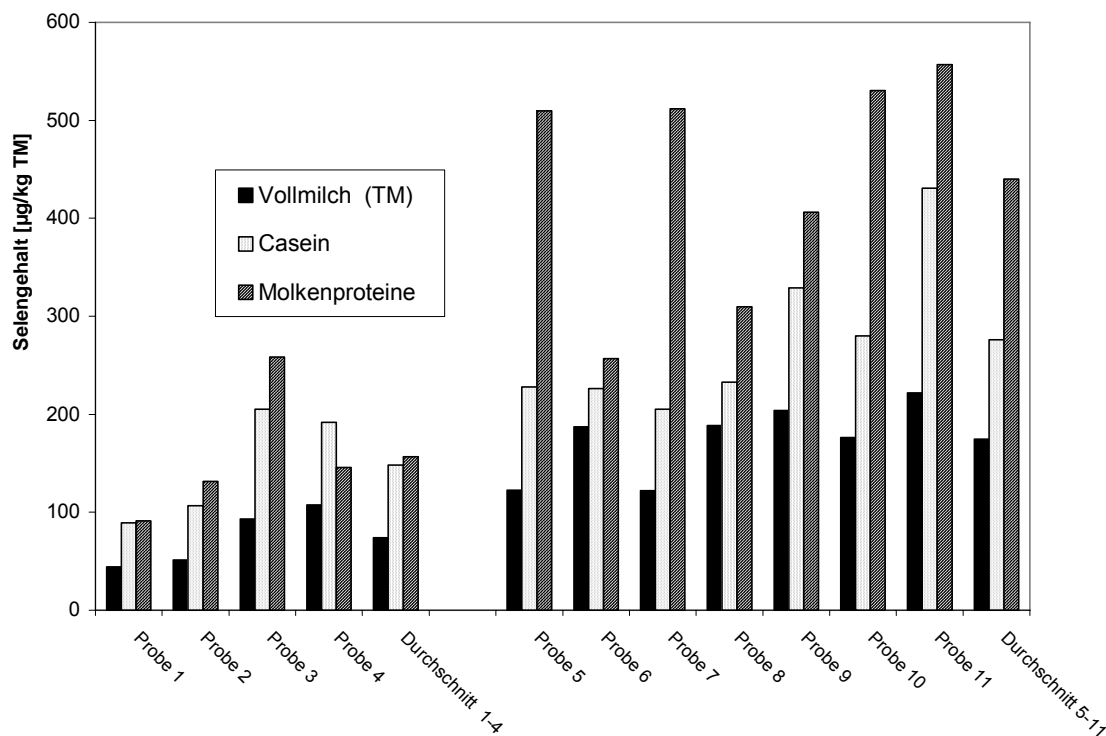


Abb. 15: Selengehalte der Milchproben und ihren Proteinfractionen (Probenzuordnung siehe Text)

Bei zusätzlicher Berücksichtigung des gemessenen Durchschnittsproteinengehalts der untersuchten Milchproben von 3,53% ($\pm 0,30\%$) und der Relation von 76-86 zu 14-24 der Gehalte von Kasein zu Molkenproteinen in diesen Proben, lässt sich abschätzen, dass das in der Milch enthaltene Selen überwiegend in den Proteinen gebunden ist: Bei den hier untersuchten Proben zu 35 – 63% in der Kaseinfraktion und zu 15 – 28% in den Molkenproteinen. Dies soll am Beispiel der Probe 10 erläutert werden: Diese Vollmilch-Probe hat eine Trockenmasse von 12,1%, einen Selengehalt von $176 \mu\text{g kg}^{-1}$ TM und einen Proteingehalt von 3,55%. Das Protein besteht zu 79% aus Kasein und zu 18% aus Molkenproteinen. Mithin entfallen 2,80 g Kasein und 0,64 g Molkenprotein auf 12,1 g Milch-TM bzw. $231 \text{ g Kasein kg}^{-1}$ Milch-TM und $53 \text{ g Molkenprotein/kg Milch-TM}$. Gemessene Selengehalte von $280,2 \mu\text{g kg}^{-1}$ Kasein bzw. $530,4 \mu\text{g Se kg}^{-1}$ Molkenprotein entsprechen $64,7 \mu\text{g Se}/231 \text{ g Kasein}$ bzw. $28,1 \mu\text{g Se}/53 \text{ g Molkenprotein}$. Somit errechnet sich für Probe 10, dass 36,8% des gesamten Selen ($176 \mu\text{g kg}^{-1}$ Milch-TM) in Kasein und 16,0% in den Molkenproteinen gebunden sind.

Die bisher publizierten Ergebnisse (MATHIAS et al., 1967; YOSHIDA et al., 1981; DEBSKI et al., 1987; DESCHUYTERE et al., 1987; VAN DAEL et al., 1991; RODRIGUEZ et al., 1997) zur Verteilung des Selens auf Molkenproteine und Kasein sind zum Teil widersprüchlich, größtenteils unvollständig (häufig fehlen Werte für die Molkenproteine) und dadurch schwer untereinander und mit den hier gefundenen Daten vergleichbar (siehe Tab. 14).

Tabelle 14: Literaturwerte zu Selengehalten in der Milch und ihren Proteinfractionen

Selengehalt der Milch	Anteil des Selens im Kasein	absoluter Wert (Kasein TM)	Anteil des Selens in Molkenproteinen	absoluter Wert (Molkenprotein TM)	Autoren
98 $\mu\text{g L}^{-1}$	60%				MATHIAS et al., 1967
64 $\mu\text{g L}^{-1}$	40%				YOSHIDA et al., 1981
10 $\mu\text{g L}^{-1}$	29%				DEBSKI et al., 1987
11-14 $\mu\text{g kg}^{-1}$ TM		140-160 $\mu\text{g kg}^{-1}$ TM		610-720 $\mu\text{g kg}^{-1}$ TM	DESCHUYTERE et al., 1987
10,6-11,2 $\mu\text{g kg}^{-1}$ TM	55-75%	153-355 $\mu\text{g kg}^{-1}$ TM	17-38%	130-270 $\mu\text{g kg}^{-1}$ TM	VAN DAEL et al., 1991
16+/-5,1 $\mu\text{g L}^{-1}$	75,1%	108+/-37 $\mu\text{g kg}^{-1}$ TM			RODRIGUEZ et al., 1997

Es fällt auf (Abb. 15), dass auch bei ähnlichen Selengehalten in der Vollmilch die Verteilung des Selens auf die beiden Hauptproteinkomponenten starken Streuungen unterliegt. Über die Ursachen können hier nur Vermutungen angestellt werden: In Frage kommen u.a. unterschiedliche genetische Dispositionen, Fütterungseinflüsse, speziell auf die Selenaufnahme antagonistisch oder synergistisch einwirkende (Spuren-)Elemente oder auch hormonelle Ursachen.

Festzuhalten bleibt, dass eine Erhöhung der Zufuhr organisch gebundenen Selens zu einer Erhöhung des Milchselengehaltes führt und die Selengehalte der beiden Proteinkomponenten Kasein und Molkenprotein deutlich angehoben werden, wobei sich beim Durchschnitt der untersuchten Proben die Selenkonzentration in den Molkenproteinen am stärksten erhöhte.

5.3.2 Untersuchung der Bioverfügbarkeit des Selens in Milch und Milch-Fermentationsprodukten

Ergänzend zu den quantitativen Aussagen über den Selengehalt in der Milch bzw. deren Proteinfractionen wurde auch der Versuch unternommen, die Bioverfügbarkeit der enthaltenen Selenspezies zu ermitteln. Dazu wurde die von MILLER et al. (1981) entwickelte¹⁾, von SHEN et al. (1993) erstmals auf Selen in Milch angewandte und von BUTH (2001) validierte *In-vitro*-Methode zur Bestimmung der Dialysierbarkeit des Selens herangezogen.

¹⁾ Zur Untersuchung der Bioverfügbarkeit von Eisen aus komplexen Mahlzeiten.

Proben nativer und selenangereicherter Milch sowie daraus hergestellter Fermentationsprodukte (Joghurt¹)-Kultur: klassisch und „Joghurt“-Kultur: L+ [probiotisch]) wurden dem *In-vitro*-Verdauungsprozess unterworfen und die erhaltenen Digestate (Dialysate und Retentate) einer Selenanalyse mittels ICP-MS zugeführt².

Der durch die Digestionsenzyme eingebrachte Selen-Blindwert lag aber so hoch, dass bei keiner der Proben eine gesicherte Quantifizierung über der Bestimmungsgrenze erzielt werden konnte³) (siehe Tab. 24 im Anhang). Daher musste die Fragestellung bezüglich der Bioverfügbarkeit sowohl des nativ vorhandenen als auch des zusätzlich eingebrachten Selens unbeantwortet bleiben.

5.3.3 Beitrag der Selenanreicherung in Milch zur Verbesserung der humanen Selenversorgung

Mit Hilfe der Flüssig-Blattapplikation auf Weidegras lässt sich das essentielle Spurenelement Selen schon zu Anfang der Nahrungskette einfach und gut dosierbar in diese einbringen, so dass von Beginn an die positiven Effekte des Selens in allen Stufen zum Tragen kommen. Der mögliche Beitrag eines dadurch erhöhten Milchselengehaltes zu einer verbesserten Selenversorgung der Bevölkerung lässt sich mit Hilfe einer Überschlagsrechnung abschätzen: Zurzeit liegt der mittlere tägliche Milchkonsum bei 229 g sowie der durchschnittliche Verzehr von Milchprodukten (vor allem Käse) bei 40 g (KIEFER et al., 2002). Berücksichtigt man einen durchschnittlichen Selengehalt (in Deutschland) in der Milch von $14,1 \mu\text{g kg}^{-1}$ (SOUCI et al., 2000)⁴) bzw. in den Milchprodukten von $10\text{--}80 \mu\text{g kg}^{-1}$ (BACH et al., 1990) ergibt sich eine durchschnittliche tägliche Selen-Aufnahme über diese Produktgruppe von etwa $3,6\text{--}6,4 \mu\text{g}$.

Steigern ließe sich diese Aufnahmemenge durch eine Erhöhung des Milchselengehaltes (wie in den obigen Versuchen durchgeführt); allerdings sind dem aus tiergesundheitlichen Gründen Grenzen gesetzt: Ab einer regelmäßigen Aufnahmemenge von mehr als $8,4 \text{ mg Se/Tag}$ bzw. $0,54 \text{ mg Se kg}^{-1} \text{ TM}$ kann es zu Leberschäden und Leistungsminderungen des Milchviehs kommen (KÖHLER et al., 1993; 1994; WOLF, 1998c).

¹ Joghurt ist ein Sauermilcherzeugnis, das ausschließlich aus den Bakterienstämmen *Streptococcus thermophilus* und *Lactobacillus bulgaricus* hergestellt werden muss. Joghurtähnliche Sauermilcherzeugnisse, die nicht mit diesen Bakterienkulturen hergestellt werden, dürfen nicht als Joghurt bezeichnet werden (z.B. Bioghurt, Biogarde, Sanoghurt).

² Die Multielementanalyse wurde durch ICP-MS mit Kollisions-Zellentechnik in Kooperation mit Dr. C. Thomas von der Firma Micromass (Dortmund) durchgeführt.

³ Weder mittels Ionen-Paar- noch *Reversed Phase*-Analytik.

⁴ Siehe auch eigene Untersuchungen: $14 \mu\text{g L}^{-1}$ (Kap. 5.3.1), publiziert in WALDNER et al., 2000.

Legt man eine für Milchkühe noch gesundheitlich positiv wirkende Aufnahmemenge von 6 mg Se/Tag zugrunde, so kann von einem Milchselengehalt von 45 $\mu\text{g/L}$ ¹⁾ und dementsprechend von einer durchschnittlichen täglichen Selenaufnahme über diese Produktgruppe von etwa 11,5–20,5 μg ²⁾ ausgegangen werden. Dies würde im Schnitt in etwa einer Verdreifachung bzw. einer Steigerung um 11 $\mu\text{g Se/Tag}$ gegenüber dem Ausgangswert bedeuten. Geht man von einem durchschnittlichen Versorgungsstatus der deutschen Bevölkerung von 35,5 $\mu\text{g Se/Tag}$ aus (siehe Tab. 5) und strebt als Mindestwert die von der EU empfohlene Aufnahmemenge von 56 $\mu\text{g Se/Tag}$ bzw. eine von vielen Autoren empfohlene höhere Dosis an, so würde dieser Wert durch selenangereicherte Milch(-Produkte) allein nicht zu erreichen sein. Diese könnten jedoch einen wichtigen Beitrag dazu leisten.

Weiter erhöhen ließe sich diese Aufnahmemenge jedoch durch einen gezielten Einsatz von selenangereicherten Molkenproteinen bei der Herstellung von Milch- sowie anderen Lebensmittelprodukten. Technologisch interessante Aspekte der Molkenproteine sind beispielsweise ihre gute Löslichkeit auch in stark saurem Milieu, was ihre Verwendung z.B. in Fruchtsäften ermöglicht. Multifunktionell einsetzen lassen sie sich in der Joghurtherstellung. Hier wirken sie aufgrund ihrer Gelbildungseigenschaften strukturgebend und stabilisierend und dienen insbesondere in probiotischen Produkten als Substrat für die eingesetzten Milchsäurekulturen. Grundsätzlich lassen sich die Molkenproteine mit ihren guten Gelbildungseigenschaften auch in vielen weiteren Lebensmittelgruppen erfolgreich verwenden³⁾.

In den durchgeführten Versuchen konnten Gehalte von $> 500 \mu\text{g Se kg}^{-1}$ Molkenprotein-TM erzielt werden (Abb. 15), womit sich diese Proteinfraction als Milchkomponente mit der höchsten Selenkonzentration herauskristallisierte.

Hauptanwendungsgebiete der auch ernährungsphysiologisch wertvollen⁴⁾ Molkenproteine sind bisher Säuglings- und Kleinkindnahrung, diätetische Lebensmittel sowie Sportlernahrung. Ein auslobbar hoher Selengehalt dieser Produkte wäre ein weiterer Zusatznutzen, der durch diese Nahrungsmittel geboten würde, die somit als *Functional Food*⁵⁾ ihren Beitrag zur Selenversorgung der Bevölkerung leisten könnten.

¹⁾ Dieser Wert ergibt sich gemäß der Extrapolation, dass bei einer Aufnahme von 2,7 mg Se/Tag ein Milchselengehalt von 20,57 $\mu\text{g kg}^{-1}$ resultiert (Kap. 5.3.1). Laut GIVENS et al. (2004) besteht eine Linearität der alimentären Selenaufnahme zum Milchselengehalt bis zu einem Gehalt von mindestens 80 $\mu\text{g L}^{-1}$.

²⁾ Rechnerisch gemäß der Erhöhung des Milchselengehaltes von 14,1 auf 45 $\mu\text{g L}^{-1}$ (Faktor 3,2).

³⁾ Zu nennen wäre die Zugabe zu fettarmem Wurstbrät, als Dickungsmittel in Soßen, als Kristallisationshemmer von Wasser in Eiskrem, in Backwaren als Retrogradationsverzögerer, in Süßwaren als Hemmer der Zuckerkristallisation.

⁴⁾ Molke wurde bisher üblicherweise größtenteils als billiges Tierfutter entsorgt bzw. in früheren Zeiten ins Abwasser geleitet oder auf Feldern versprüht. Aufgrund der immer weiter steigenden Abwasserabgabekosten und der veränderten Verarbeitungsstrukturen in den Molkereien wird daher die Entwicklung geeigneter Aufbereitungsverfahren und „Veredlungsmöglichkeiten“ immer notwendiger (BELITZ et al., 2001).

⁵⁾ Kurzbezeichnung von *Physiologically-Functional Food*. Definition: „The food must be derived from natural substances, is intended for consumption as part of the daily diet, and has a targeted physiological function when ingested“ (REGESTER et al., 1996).

5.4 Selenanreicherung von Getreide durch Flüssig-Blattapplikation

5.4.1 Einfluss der Selen-Blattapplikation auf die Selengehalte in Getreidekörnern

Die dramatische Verschlechterung des gesamteuropäischen Selenstatus in den vergangenen 25 Jahren wird in einer Reihe von Studien mit der Reduzierung der nordamerikanischen, besonders selenreichen Getreideimporte in Verbindung gebracht (MACPHERSON et al., 1993; 1997; RAYMAN, 1997; SCHRAUZER, 1998).

Nach den erfolgreich verlaufenen Versuchen bezüglich einer Selenanreicherung von Weidegras bzw. daraus gewonnener Silage wurde daran anknüpfend untersucht, ob sich auch Getreide derart in seinem Selengehalt steigern lässt.

Verglichen wurden die Selengehalte von Winterweizen, Sommer- und Wintergerste, die im Rahmen eines ersten Praxisversuchs auf ausgewählten Anbauflächen jeweils ohne bzw. mit flüssigen Selenapplikationen angebaut wurden. Die ungedüngte Weizenprobe und der mit 7 g Se ha⁻¹ (Ernte 2000) bzw. 5 g Se ha⁻¹ (Ernte 2001) gedüngte Weizen (*Triticum aestivum* L.) wurden von zwei nebeneinander liegenden Parzellen (Standort Obersteden) gewonnen. Die beiden Felder unterschieden sich 2001 allein in der Fruchtfolge des Vorjahres¹⁾. Klima/Wetter, Boden, Sorte, Aussaat- und Erntezeitpunkt sowie die Lagerungsbedingungen waren ansonsten gleich.

Die Selenapplikation erfolgte in Kombination mit einem Stickstoff-Flüssigdünger (AHL), dem 5 bzw. 7 g Selen (als Na₂SeO₄ ha⁻¹) zugesetzt wurde; die Nullprobe wurde analog mit dem Stickstoff-Flüssigdünger ohne Selenzusatz behandelt. Am selben Standort wurden in gleicher Weise die Selendüngungsversuche mit der Sommer- und Wintergerste durchgeführt.

Die Ergebnisse der Selenbestimmungen in den beim Praxisversuch gewonnenen Getreideproben sind in Tab. 15 sowie zusätzlich (zur besseren Übersicht) in Abb.16 zusammengestellt²⁾.

¹ Auf der Parzelle, auf der die Selendüngung angewandt wurde, wurden im Vorjahr zur Stickstofferrhöhung Leguminosen (Erbsen) angebaut und eingepflügt.

² Die Tatsache, dass die analysierten Se-Gehalte nicht proportional mit der Menge des ausgebrachten Selens erhöht wurden, dürfte überwiegend auf unterschiedliche Witterungseinflüsse während und unmittelbar nach der Ausbringung des Selens im Jahr 2000 (trockene Wetterlage) bzw. 2001 (Regenschauer) zurückzuführen sein.

Tabelle 15: Selengehalte in Getreideproben verschiedener Herkunft, teilweise infolge Flüssig-Blattapplikation mit Selen angereichert (jeweils n = 6)

	Herkunft	Ernte-jahr	Selengehalt $\mu\text{g kg}^{-1}$ TM	Standard- abweichung $\mu\text{g kg}^{-1}$
Winterweizen ungedüngt	Obersteden Eifel	2000	8,0	7,4
Winterweizen gedüngt (7g Se ha^{-1})	Obersteden Eifel	2000	220,6	4,5
Winterweizen ungedüngt	Obersteden Eifel	2001	9,0	6,2
Winterweizen gedüngt (5g Se ha^{-1})	Obersteden Eifel	2001	109,0	5,5
Winterweizen	Deutschland ¹⁾		20 (Variation von <10 bis 90)	
Weizen	Nordamerika (eigene Analyse)	2001	597	6,5
Weizen	Nordamerika ¹⁾		450 (Variation von 40 bis 1500)	
Sommergerste ungedüngt	Obersteden Eifel	2000	9,3	1,0
Sommergerste gedüngt (7g Se ha^{-1})	Obersteden Eifel	2000	322,8	2,9
Wintergerste ungedüngt	Obersteden Eifel	2001	29,5	0,6
Wintergerste gedüngt (5g Se ha^{-1})	Obersteden Eifel	2001	287,4	3,1

Die Ergebnisse der durchgeführten Analysen bestätigen, dass der Selenmangel in den Eifelböden auch bei Getreiden zu extrem niedrigen Selengehalten im Erntegut führt. Weiterhin kann gezeigt werden, dass es durch Flüssig-Blattapplikation von Selen während der Wachstumsphase auch bei einem extrem selenarmen Standort möglich ist, den Selengehalt des Weizens auf ein ernährungsphysiologisch bedeutsames Niveau (von < 10 μg auf bis zu mehr als 200 $\mu\text{g kg}^{-1}$ TM) anzuheben (siehe Tab. 15 und Abb.16). In Gerste wurde sogar eine noch deutlichere Steigerung des Selengehaltes in Folge der Selendüngung beobachtet.

Zwar konnten bei den durchgeführten Düngungsversuchen die in nordamerikanischem Weizen üblichen Selengehalte von durchschnittlich 450 $\mu\text{g kg}^{-1}$ TM bisher nicht erreicht werden; dies sollte jedoch durch eine entsprechende Erhöhung der pro Hektar ausgebrachten Selenmenge möglich sein.

¹⁾ Literaturwert: BOSSELMANN et al., 1991.

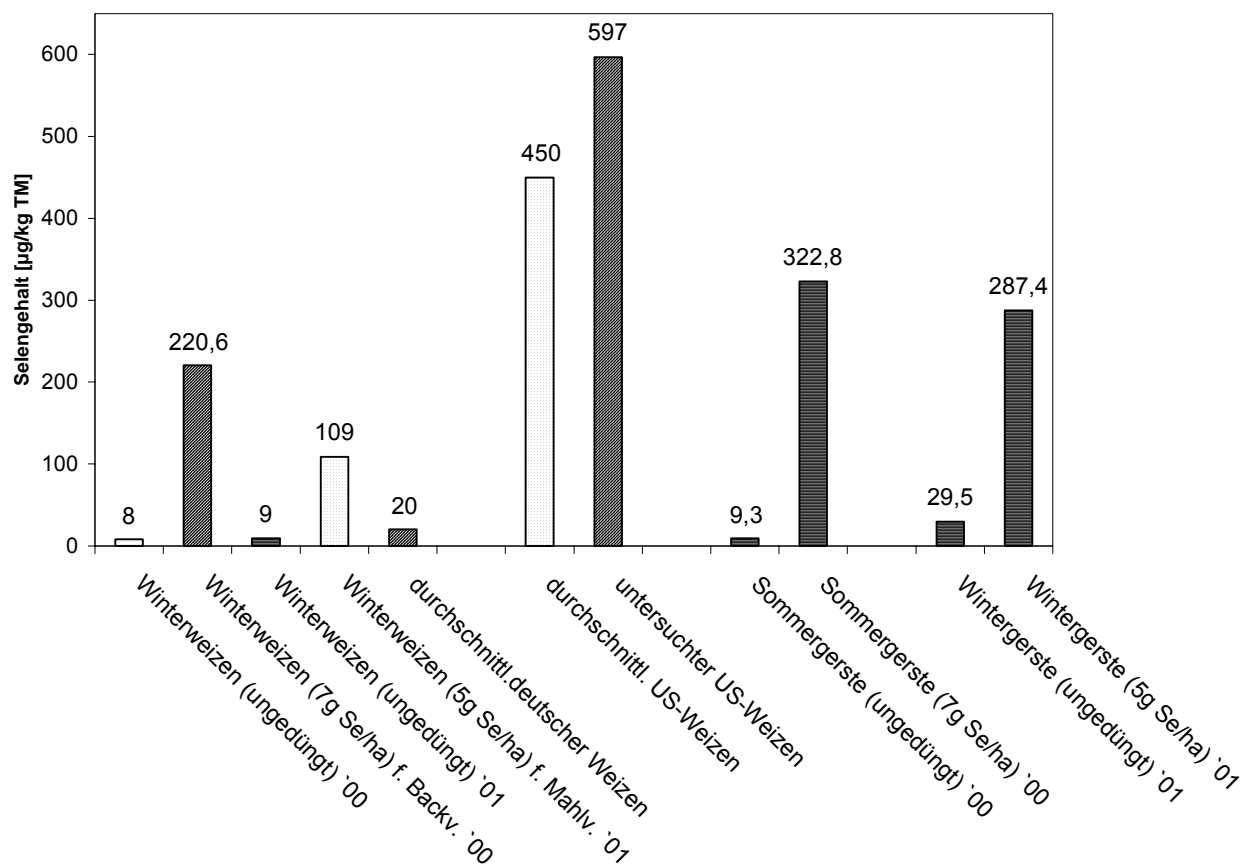


Abb. 16 Selengehalte in Getreideproben verschiedener Herkunft, teilweise infolge Flüssig-Blattapplikation mit Selen angereichert

Eine überschlägige Bilanzierung ergibt, dass bei einer Dosierung von 7 g Se ha^{-1} , einem Ertrag von ca. 9 t ha^{-1} und einem durchschnittlichen Selengehalt von $220 \text{ µg Se kg}^{-1} \text{ TM}$ (Winterweizen) bzw. $300 \text{ µg Se kg}^{-1} \text{ TM}$ (Durchschnitt von Sommer- und Wintergerste) es zu einer Aufnahme von 26 – 39% des ausgebrachten Selens kommt – Werte ganz ähnlich denen bei der Silage (siehe Kap. 5.2.1).

5.4.2 Weizenmahlversuche

Weiterhin wurden Vergleiche von Mahlversuchen mit selenedüngtem gegenüber ungedüngtem Winterweizen und Proben von nordamerikanischem Mühlenweizen angestellt. Ziel war die Überprüfung, ob zusätzlich aufgebrachtes Selen dasselbe Verteilungsmuster in den Mahlfraktionen aufweist wie nativ aus dem Boden aufgenommenes Selen (US-Weizen) so-

wie ob der Selengehalt mit dem Aschegehalt korreliert (*Mohskurve*) oder mit der Verteilung der Proteine in den Mahlfractionen.

In Anlehnung an die Standardmethode *Mahlversuch-Weizen* (AGF, 1994) wurde Backweizen (*Triticum aestivum* L.) der Ernte 2001 des Standorts Obersteden/Eifel (Nullprobe und selenangereichert, 5 g Se ha⁻¹) sowie US-Weizen (*DNS*) aus dem laufenden Mühlenbetrieb vermahlen. Nach der Netzung auf 15,5% (Inland) bzw. 16,5% (*DNS*) Feuchte erfolgte das Abstehen über Nacht. Für die Vermahlung wurde eine Labormühle mit Kleieschleuder (250 µm) eingesetzt; es folgte eine Nachmehlsiebung über 224 µm aus dem Schleudermehl.

Die so erhaltenen sechs Fraktionen (Siebzehnte Durchführungs-VO, 1982):

- Mehl 1
- Mehl 2
- Grießkleie
- Nachmehl
- Feinkleie
- Grobkleie

wurden den weiteren Untersuchungen zugeführt.

Berechnung der Aschekurve (Siebzehnte Durchführungs-VO, 1982):

Die Fraktionen wurden nach ihrem Aschegehalt aufsteigend geordnet und die Aschegehalte mit dem Mengenanteil der Fraktion gewichtet (Aschezahl). Die kumulierten Aschezahlen wurden auf die erreichte Ausbeute bezogen und somit fortschreitend die Mischungsasche der Fraktionen berechnet.

Berechnung der Selen- und Proteinkurven: Bei gleicher Anordnung der Fraktionen wurden die Gehalte an Selen bzw. Proteinen kumuliert.

Das über den Boden aufgenommene Selen wird bei allen Getreidepflanzen in Selenomethionin umgewandelt und in das Pflanzeneiweiß eingebaut (EDELBAUER und SPANISCHBERGER, 2000; STADLOBER et al., 2001). Es ergab sich die Frage, ob dies in gleichem Maße auch beim flüssig applizierten Selen der Fall ist.

Um eine erste grobe Abschätzung dieser auch ernährungsphysiologisch wichtigen Fragestellung vornehmen zu können, wurde das Korn folgender Proben nach Maßgabe der Standardmethoden vermahlen und fraktioniert (AGF, 1994):

1. Winterweizen (Standort Obersteden/Eifel), ohne Se-Düngung (Nullprobe)
2. Winterweizen (Standort Obersteden/Eifel), mit Se-Düngung (5 g ha^{-1})
3. nordamerikanischer Weizen (*DNS*) aus dem laufenden Mühlenbetrieb

Für Proben aus den so erhaltenen Mahlfractionen wurden dann die Protein- (siehe Abb. 17), Selen- (siehe Abb. 18) sowie die Aschegehalte bestimmt. Ein analoger Verlauf für die daraus berechneten kumulierten Asche-, Selen- und Proteinkurven würde auf eine von der Aufnahmeart (aus selenreichem Boden bzw. durch Flüssig-Blattapplikation) unabhängige Verstoffwechslung des Selen in der Getreidepflanze hinweisen.

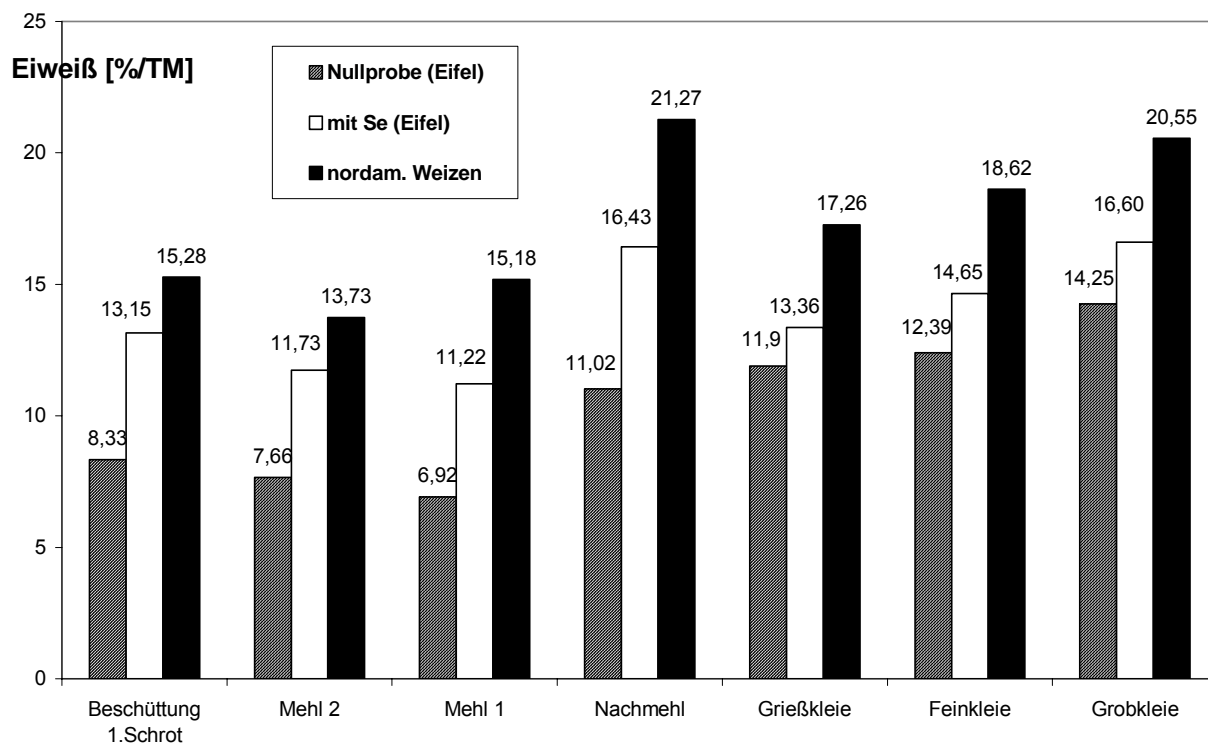


Abb. 17: Proteingehalte der untersuchten Mahlfractionen [Nullprobe (Eifel, ungedüngt); Eifel, selengedüngt (5 g Se ha^{-1}); nordamerikanischer Weizen]

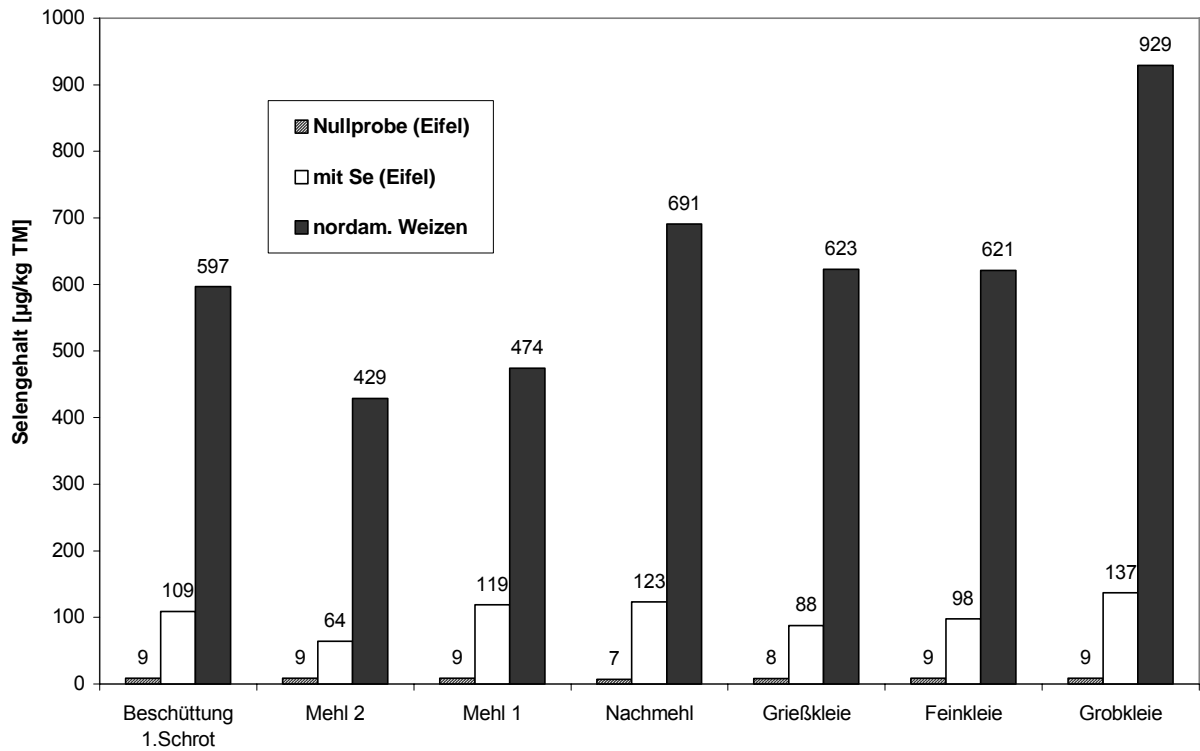


Abb. 18: Selengehalte der einzelnen Mahlfractionen [Nullprobe (Eifel, ungedüngt); Eifel-Weizen, selengedüngt (5 g Se ha⁻¹); nordamerikanischer Weizen]

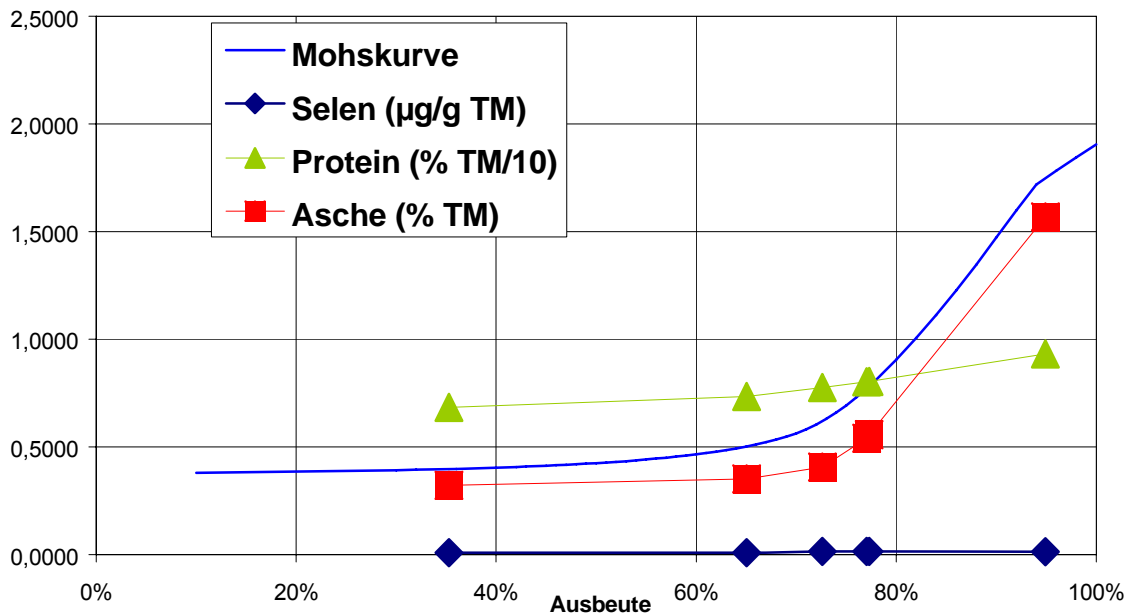


Abb. 19: Aschekurve sowie die in analoger Weise berechneten Selen- und Proteinkurven der Mahlfractionen der Nullprobe (Eifel-Weizen, ohne Selenapplikation)

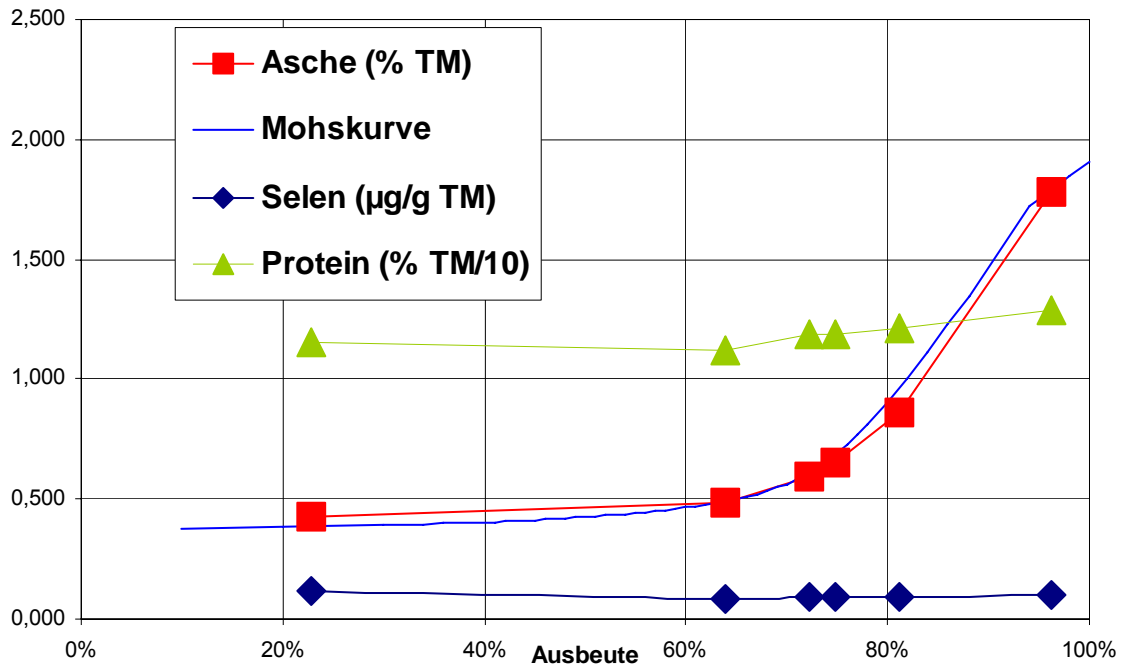


Abb. 20: Aschekurve sowie die in analoger Weise berechneten Selen- und Proteinkurven der Mahlfractionen der selengedüngten Eifel-Weizenprobe

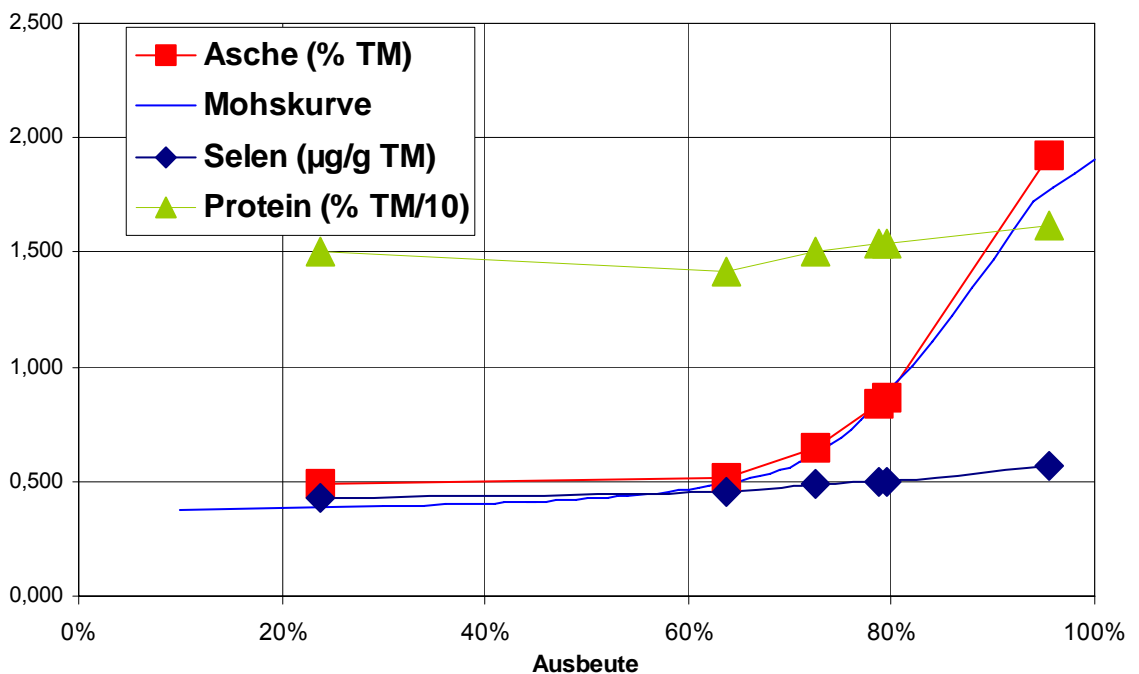


Abb. 21: Aschekurve sowie die in analoger Weise berechneten Selen- und Proteinkurven der Mahlfractionen des nordamerikanischen Weizens

Die erhaltenen Aschekurven sind der *Mohs'schen* Standardkurve gleichermaßen gut angenähert. Auch die Proteinkurven zeigten qualitativ einen sehr ähnlichen, leicht ansteigenden und offensichtlich von Standort und Selenapplikation unabhängigen Verlauf. Der erhöhte Proteingehalt in der mit Selen gedüngten Eifel-Weizenprobe gegenüber der ungedüngten dürfte im Wesentlichen auf eine unterschiedliche Fruchtfolge auf den Parzellen (Leguminosenanbau auf dem mit Selen gedüngten Areal) zurückzuführen sein.

Für die errechnete Selenkurve beim US-Weizen (Selen aus dem Boden) ergibt sich ein im Vergleich zur Proteinkurve parallelverschobener, ebenfalls leicht ansteigender, sehr ähnlicher Verlauf wie bei der Proteinkurve. Offensichtlich wird das aus dem Boden aufgenommene Selen gleichmäßig auf die in den einzelnen Mahlfraktionen enthaltenen Weizenproteine verteilt eingebaut. Die Selenkurven der Mahlfraktionen beider Weizenproben aus der Eifel verlaufen dagegen fast parallel zur Abszisse. Diese Beobachtung könnte einerseits darauf hinweisen, dass die Verstoffwechslung des Selens in der Weizenpflanze bei der Aufnahme über das Blatt anders verläuft als über den Boden. Denkbar ist auch, dass die offenbar gleichmäßige Verteilung des Selens auf die Proteinfaktionen beim nordamerikanischen Weizen auf einen Sättigungseffekt der an diesem Standort reichlich mit Selen versorgten Pflanze zurückzuführen ist.

In Anbetracht der nur geringen Abweichung der Selenkurve von der Proteinkurve beim selengedüngten Eifel-Weizen kann festgehalten werden, dass sich das nach Flüssig-Blattapplikation im Weizenkorn angereicherte Selen, möglicherweise geringfügig anders als Weizen von selenreichen Böden, aber doch immer noch relativ gleichmäßig auf die Proteine aller Mahlfraktionen verteilt. Damit ist bei Verwendung dieses selenangereicherten Weizens in sämtlichen daraus hergestellten Müllereierzeugnissen auch ein erhöhter Selengehalt zu erwarten.

5.4.3 Backversuche

Aus dem Vollkornmehl (Backweizen) der Ernte 2000 (Nullprobe und selenangereichert, 7 g Se ha^{-1}) wurden mit handelsüblicher Backhefe in einem handwerklichen Betrieb Brote und Brötchen nach Standardrezeptur gebacken und auf den Selengehalt hin analysiert. Dieser Praxisbackversuch erfolgte in Anlehnung an ICC131 (AGF, 1994). Bei diesen Backversuchen mit Vollkornmehlen aus ungedüngtem und selengedüngtem Eifel-Weizen konnten Literaturangaben (SCHULTE, 1988; CIAPELLANO et al., 1990; BRÜGGEMANN und OCKER, 1992) bestätigt werden,

wonach beim Backen kaum Selenverluste auftreten. Wie in Tab. 16 dargestellt, erhöhte sich der Selengehalt im Brot durch die Selendüngungsmaßnahme (7 g Se ha^{-1}) um etwa den Faktor 10.

Tabelle 16: Selengehalte in Eifel-Weizen und daraus gebackenen Vollkornbrot
(jeweils $n = 6$)

		Selengehalt $\mu\text{g kg}^{-1} \text{ TM}$	Standardabweichung $\mu\text{g kg}^{-1} \text{ TM}$
Winterweizen (gedüngt mit 7 g Se ha^{-1}):		220,6	4,5
daraus gebacken:	Brotkrume	235,4 ¹⁾	8,5
	Brotkruste	227,7 ¹⁾	9,6
Winterweizen (ungedüngt)		8,0	7,4
daraus gebacken:	Brot gesamt	25,0 ¹⁾	5,1

5.4.4 Beitrag der Selenanreicherung in Weizen zur Verbesserung der humanen Selenversorgung

Durch Selen-Flüssig-Blattapplikation (7 g Se ha^{-1}) ist es gelungen, den Selengehalt von Weizen bei einem extrem selenarmen Standort von ca. $10 \mu\text{g Se kg}^{-1} \text{ TM}$ auf ca. $220 \mu\text{g Se kg}^{-1} \text{ TM}$ (sowie bei Gerste von 10 bis $20 \mu\text{g Se kg}^{-1} \text{ TM}$ auf ca. $320 \mu\text{g Se kg}^{-1} \text{ TM}$) und damit auf ein ernährungsphysiologisch bedeutsames Niveau anzuheben. Mahlversuche legten zudem dar, dass sich eine solche Selenanreicherung auf alle Mahlerzeugnisse verteilt, ähnlich wie bei Weizen von selenreichen Böden. Es zeigte sich, dass der Selengehalt nicht mit dem Aschegehalt korreliert, sondern sich weitgehend analog dem Proteingehalt auf die verschiedenen Fraktionen verteilt.

Bei einem Selengehalt von $220 \mu\text{g kg}^{-1}$ Weizen und einem durchschnittlichen täglichen Verzehr von 250 g (ELMADFA und BURGER, 1998; EDELBAUER und SPANISCHBERGER, 2000) ließe sich aus

¹⁾ Die Werte sind im Vergleich zum Backweizen aufgrund des Selengehaltes der verwendeten Hefe leicht erhöht.

dem daraus gebackenen Brot die Aufnahmemenge an Selen um etwa $30 \mu\text{g}^1$ von $35,5 \mu\text{g Se/Tag}$ (ANKE und SCHÜMANN, 1999) auf $65,5 \mu\text{g Se/Tag}$ erhöhen, unabhängig davon, ob das Brot aus Vollkorn- oder Auszugsmehlen gebacken wurde.

5.5 Wege zur Verbesserung der humanen Selenversorgung

Ziel der Arbeit war es, durch das Einbringen des Spurenelementes Selen schon am Anfang der Nahrungskette den Selengehalt ausgesuchter Grundnahrungsmittel zu erhöhen und damit einen Weg aufzuzeigen, wie die marginale Selenversorgung der europäischen Bevölkerung verbessert werden kann. Dieses Ziel wurde erreicht.

So gelang es, pflanzliche Nahrungs- und Futtermittel gezielt auf zuvor anvisierte Selengehalte anzuheben. Diese dienen dann in Form von Getreide entweder direkt der menschlichen Ernährung oder bringen indirekt über das Grundfutter (Silage) bzw. Kraffutter (Getreide) den Selengehalt von Milch(-Produkten) auf für den Menschen ernährungsphysiologisch bedeutsame Höhen und verbessern dabei gleichzeitig die Tiergesundheit des Milchviehs.

Bei der Beurteilung der Selenversorgung werden immer nur die Brutto-Zufuhrwerte (d.h. die Selengehalte der Nahrung) betrachtet, da es über die genaue Bioverfügbarkeit von Selen nur wenige wissenschaftlich gesicherte und eindeutige Erkenntnisse gibt. Es ist zur Zeit noch nicht eindeutig geklärt, welche Selenmenge mit der Nahrung zugeführt werden muss, um die GSH-Px maximal zu aktivieren - die Meinungen darüber gehen zum Teil weit auseinander:

So empfiehlt das *Scientific Committee on Food* (SCF) einen PRI-Wert von $56 \mu\text{g/Tag}$ (EU, 1993) sowie die amerikanische *National Academy of Sciences* eine *Recommended Dietary Allowance* von $55 \mu\text{g/Tag}$ (Institute of Medicine, 2000). Die DGE wiederum schätzt die Bandbreite der Essentialität auf $30 - 70 \mu\text{g/Tag}$ (D-A-CH, 2000). RAYMAN (2000a) gibt einen Bedarfswert von $73 \mu\text{g/Tag}$ an. Ähnlich hoch liegen die Empfehlungen des *Department of Health* (UK) mit *Reference Nutrient Intakes* (RNIs) von $75 \mu\text{g/Tag}$ für Männer und $60 \mu\text{g/Tag}$ für Frauen (REILLY, 1998). Einen noch höheren Bedarf ermittelten BROOME et al. (2004): Sie stellten fest, dass zwar im Rahmen ihrer Untersuchungen das Immunsystem um so stärker aktiviert war, je höher der Grad der Selensupplementierung lag, aber dieses selbst bei der höchsten Dosie-

¹ Geht man von einem Selengehalt von $230 \mu\text{g kg}^{-1}$ Brot-TM aus (Tab. 11) und zieht davon die $25 \mu\text{g Se kg}^{-1}$ Brot-TM ab, die ja schon in der Grundversorgung mit einkalkuliert sind, berücksichtigt eine TM von 60%, so kommt man auf eine Aufnahmemenge von $123 \mu\text{g Se kg}^{-1}$ FM. Isst man die ermittelten durchschnittlichen 250 g , sind es etwas über $30 \mu\text{g Se/Tag}$.

rung von 100 µg Se/Tag noch nicht optimal agierte¹). Als vorläufiges Resultat liegt ihre Zufuhrempfehlung einerseits bei über 150 µg Se/Tag andererseits aber auch bei deutlich unter 450 µg Se/Tag²). Andere Autoren (ZIMMERLI et al., 1995; SCHRAUZER, 1998) sehen eine optimale Selenversorgung – im Hinblick auf eine Prävention – sogar erst ab einer Aufnahme von 200 – 400 µg/Tag als gegeben an.

Den genannten Empfehlungen steht in Deutschland eine durchschnittliche Aufnahmemenge von 35,5 µg Se/Tag gegenüber³) (ANKE und SCHÜMANN, 1999). Im Vergleich zu den oben genannten Empfehlungen sind dies zu niedrige Werte, wobei die Selenaufnahme der mitteleuropäischen Bevölkerung sogar noch abnimmt (SCHRAUZER, 1998; RAYMAN, 2000a; 2002). Berücksichtigt man, dass zu Zeiten des Imports amerikanischen Getreides bis in die 1970er Jahre die durchschnittliche Aufnahme bei 100 – 150 µg Se/Tag lag (SCHRAUZER, 1998; RAYMAN, 2000a; 2002) und stellt dem die neuesten Erkenntnisse von BROOME et al. (2004) mit ihrer Zufuhrempfehlung von über 150 µg Se/Tag (s.o.) zur Seite, so muss selbst bei einer konservativen Betrachtungsweise zumindest das Erreichen des PRI-Wertes von 55 µg Se/Tag das anzustrebende Ziel sein.

Geht man von einem Status quo von 35,5 µg Se/Tag in Deutschland aus, so könnten selenangereicherte Milch(-Produkte) die Aufnahmemenge um durchschnittlich 11 µg Se/Tag erhöhen (siehe Kap. 5.3.3). Käme es allerdings zu einer breit angelegten Selendüngung im Landbau, speziell in bezug auf die Milchwirtschaft, so würde im Zuge der Weiterverarbeitung in großen Mengen selenhaltige Molke anfallen, die wiederum stark selenhaltige Molkenproteine ($> 500 \mu\text{g Se kg}^{-1} \text{ TM}$) enthält. Diese Molkenproteine könnten dann als wertgebende Komponente anderen Lebensmitteln zugefügt werden (siehe Kap. 5.3.3) und somit je nach Höhe der Supplementation die Selenversorgung weiter verbessert werden.

Ergänzend oder je nach Ernährungsgewohnheit (Veganer, Milcheiweißallergiker) als alleinige Supplementierung bieten sich zudem selenangereicherte Getreideprodukte an. Wie in Kap. 5.4.4 dargelegt, führt bei einem Selengehalt von $220 \mu\text{g kg}^{-1}$ Weizen ein täglicher Brotverzehr von 250 g z.B. zu einer Erhöhung von etwa 30 µg. An diese Arbeit anknüpfende Selendüngungsversuche von BODE (2003) zeigten zudem auf, dass die Selengehalte des Getreides bzw. des daraus gewonnen Vollkornmehls linear der Ausbringungsmenge des Selens folgen.

¹ Zu den durchschnittlich in Großbritannien aufgenommenen 34 µg Se/Tag.

² Der Grund für diese Vorsicht beruht auf einer amerikanischen Studie von DUFFIELD-LILLICO et al. (2003), die einen Anstieg an Hautkrebsinzidenzen bei dafür anfälligen und zuvor daran erkrankten Personen im Rahmen einer Supplementierung mit täglich 200 µg Selenhefe diagnostizierten (Selenausgangsstatus sowie sonstige Selenaufnahmemengen leider unbekannt).

³ Im Gebiet der neuen Bundesländer sogar nur 20 – 25 µg/Tag (SILL-STEFFENS et al., 2001).

Mit Hilfe der Selen-Flüssig-Blattapplikation ist es also problemlos möglich, an selenarmen Standorten Futterpflanzen und Getreide gezielt auf zuvor festgelegte Gehalte anzuheben (bzw. da landwirtschaftliche Produkte stark ihren Umwelteinflüssen ausgesetzt sind, ist durch ein Mischen von Getreide unterschiedlichen Selengehaltes der Zielgehalt immer exakt einstellbar).

5.6 Ausblick

Diese Form der sicheren Erhöhung der Selenaufnahmemenge durch Düngungsmaßnahmen im Getreideanbau würde Landwirten, dem Mühlengewerbe, Backgewerbe und Handel die Möglichkeit geben, mit einem auf die Hebung der Volksgesundheit abzielenden Vermarktungskonzept neue Absatzmärkte zu erschließen. Ein Konzept der „Funktionalen Spurenelemente“, speziell mit Selen, könnte neu entstehende Marktsegmente mit Produkten aus kontrollierter, heimischer Landwirtschaft entwickeln. Eine Erweiterung des Käuferpotentials um die Bereiche *Functional Food*, Gesundheit und *Wellness* wäre damit erreichbar. Somit gelänge es, dem nicht zuletzt durch einen Importstopp amerikanischen Getreides ausgelösten Selenmangel durch eine überall in Europa einfach, billig und sicher durchführbare Selendüngungsmethode bei Getreide zu begegnen.

Um dieses Konzept des „Funktionalen Selens“ auf ein wissenschaftlich gesichertes Fundament stellen zu können, müsste geklärt werden, welche Selenmenge vom Körper aufgenommen werden muss, um die GSH-Px maximal zu aktivieren. Es reicht dabei nämlich zur Beurteilung der Selenversorgung des Menschen oder gar für Ernährungsempfehlungen nicht aus, die Selenaufnahme anhand der Selengehalte der verzehrten Lebensmittel abzuschätzen. Vielmehr müsste die Bioverfügbarkeit des in den einzelnen Lebensmitteln vorhandenen Selens, genauer gesagt deren Selenspezies eruiert werden. Damit ließe sich dann die Netto-Selenaufnahme aus den einzelnen Lebensmitteln und somit die humane Versorgungslage sehr viel genauer beurteilen. Ein geeignetes Instrumentarium dazu kann die in Kap. 5.3.2 beschriebene *In-vitro*-Methode zur Bestimmung der Dialysierbarkeit des Selens darstellen.

6 Anhang

Tabelle 17: Einfluss der Lagerdauer einer NaBH₄-Lösung auf die Extinktionshöhe (Werte für Abb. 4 in Kap. 5.1.1)

	3 g NaBH ₄ L ⁻¹ (Extinktion)	% RSD	8 g NaBH ₄ L ⁻¹ (Extinktion)	% RSD
frisch	0.697	1.3	0.588	1.1
1 Tag	0.751	0.9	0.611	1.0
2 Tage	0.755	1.2	0.619	1.9
3 Tage	0.746	2.6	0.604	2.8
1 Woche	0.729	0.5	0.615	1.2
2 Wochen	0.738	0.8	0.601	2.0
1 Monat	0.720	1.1	0.631	1.7
2 Monate	0.751	2.2	0.682	0.7
12 Monate	0.713	2.3	0.632	1.4

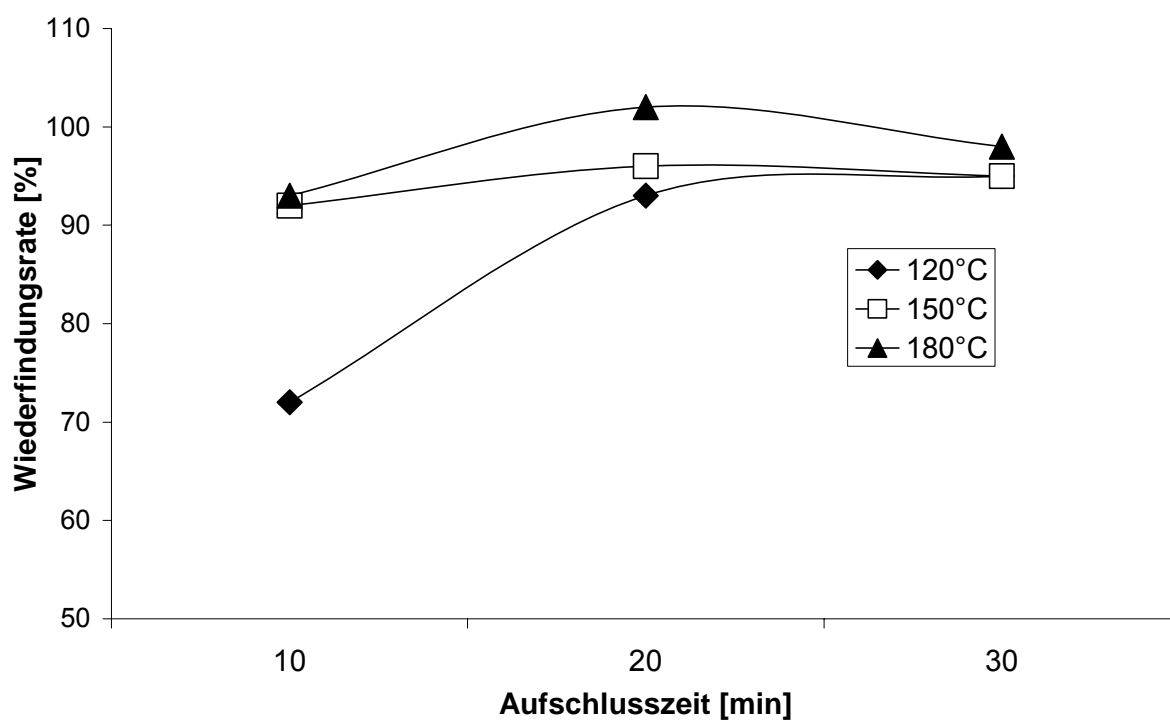


Abb. 22: Einfluss von Aufschlusszeit und Temperatur auf die Wiederfindungsrate von Selen in BCR 189 *wholemeal flour* (Se: $132 \pm 10 \text{ ng g}^{-1}$). Kap. 5.1.2

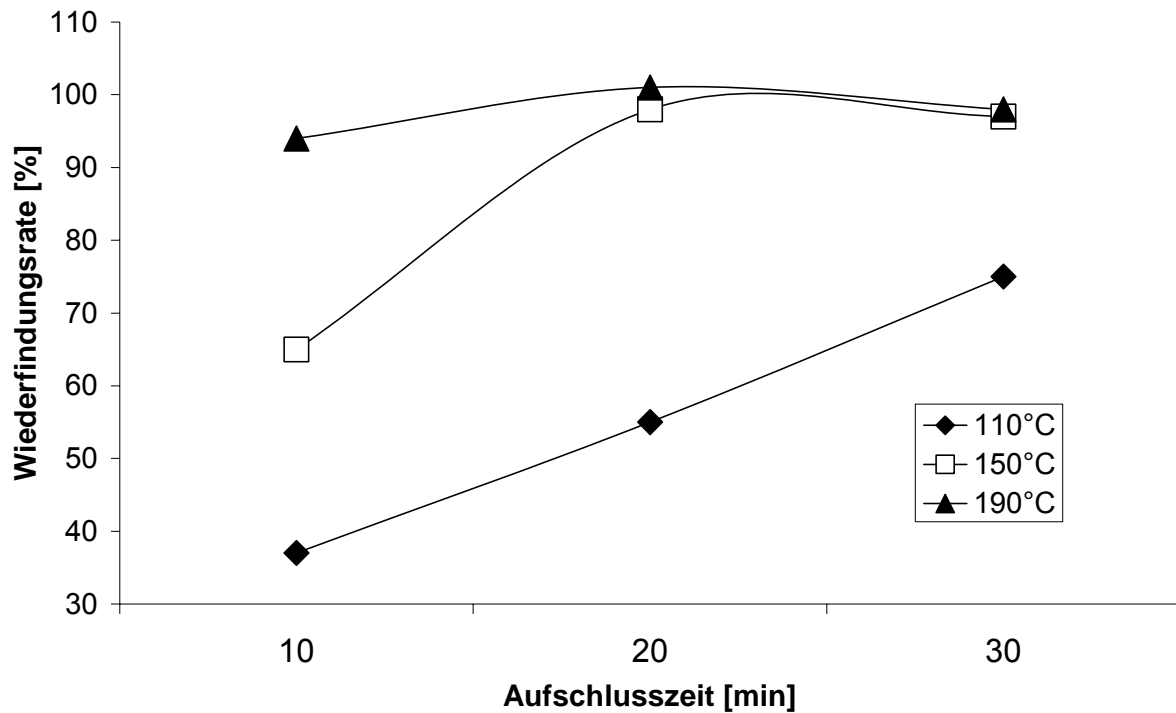


Abb. 23: Einfluss von Aufschlusszeit und Temperatur auf die Wiederfindungsrate von Selen in GBW 07601 *human hair* (Se: $600 \pm 10 \text{ ng g}^{-1}$). Kap. 5.1.2

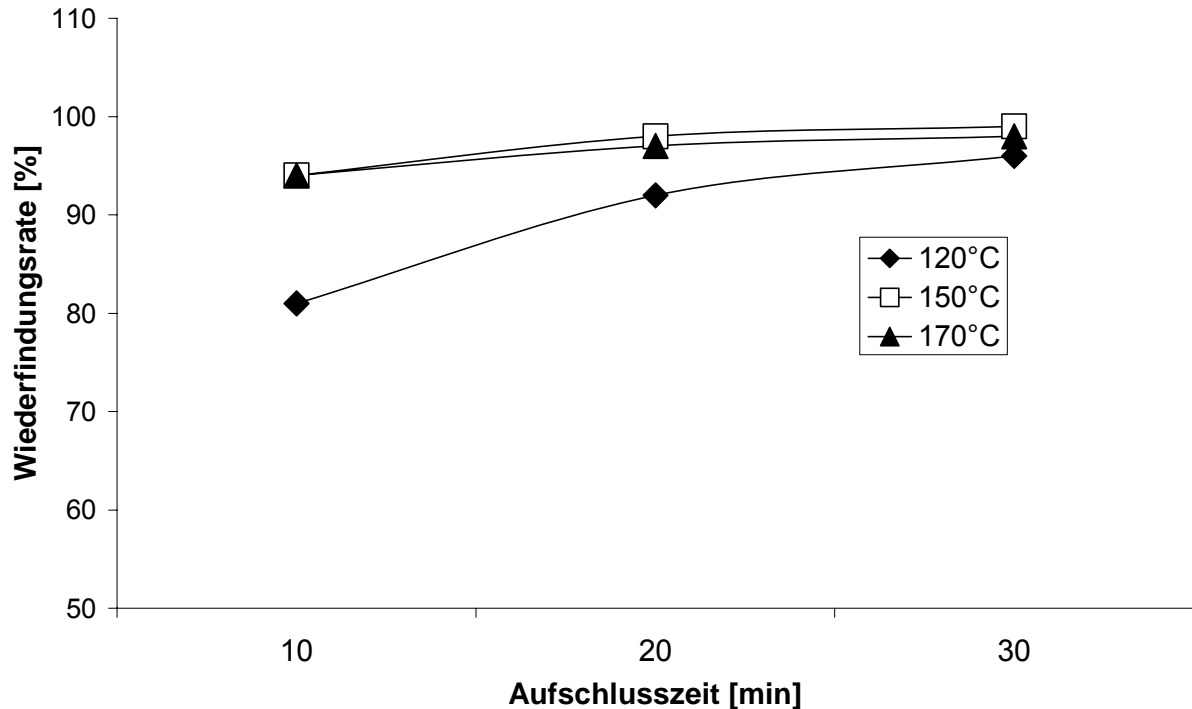


Abb. 24: Einfluss von Aufschlusszeit und Temperatur auf die Wiederfindungsrate von Selen in GBW 07604 *poplar leaves* (Se: $140 \pm 10 \text{ ng g}^{-1}$). Kap. 5.1.2

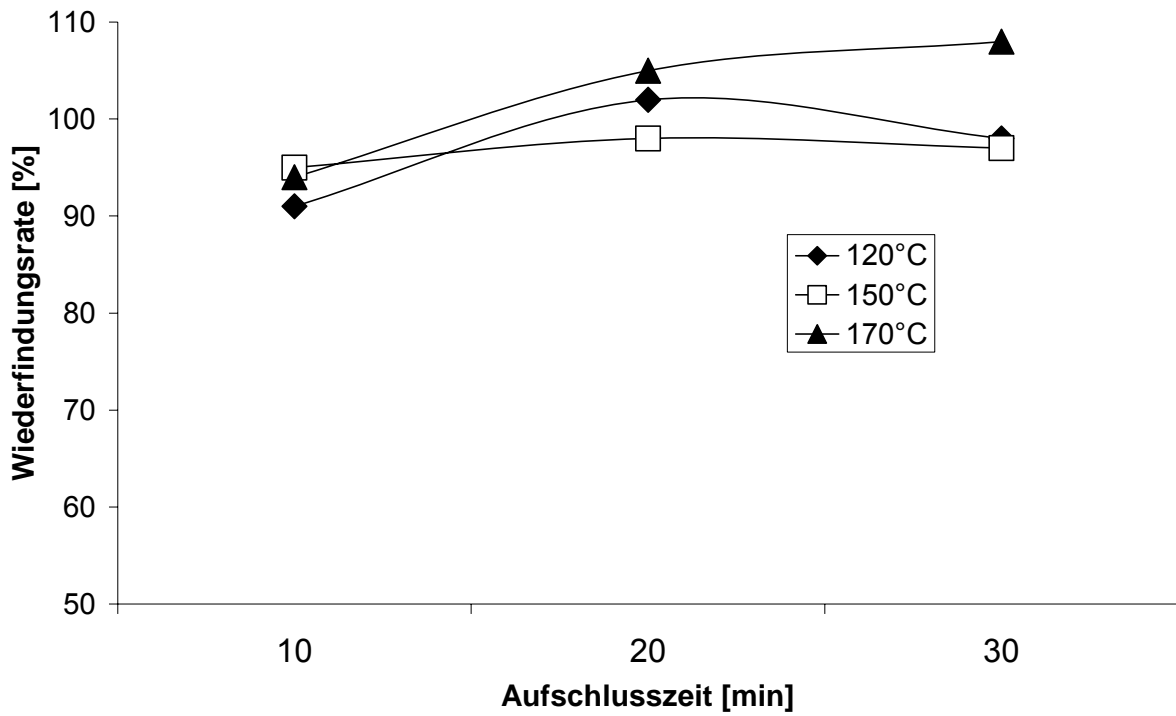


Abb. 25: Einfluss von Aufschlusszeit und Temperatur auf die Wiederfindungsrate von Selen in NIST 1570a *spinach leaves* (Se: $117 \pm 9 \text{ ng g}^{-1}$). Kap. 5.1.2

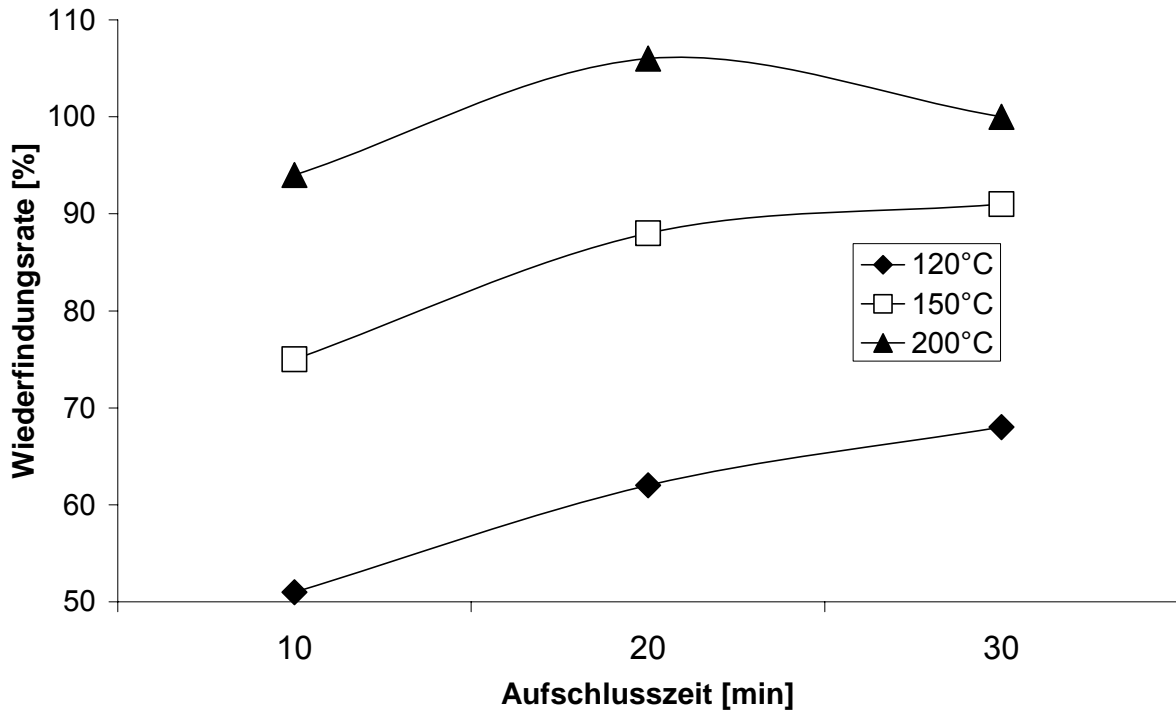


Abb. 26: Einfluss von Aufschlusszeit und Temperatur auf die Wiederfindungsrate von Selen in NIST 8435 *whole milk powder* (Se: $131 \pm 14 \text{ ng g}^{-1}$). Kap. 5.1.2

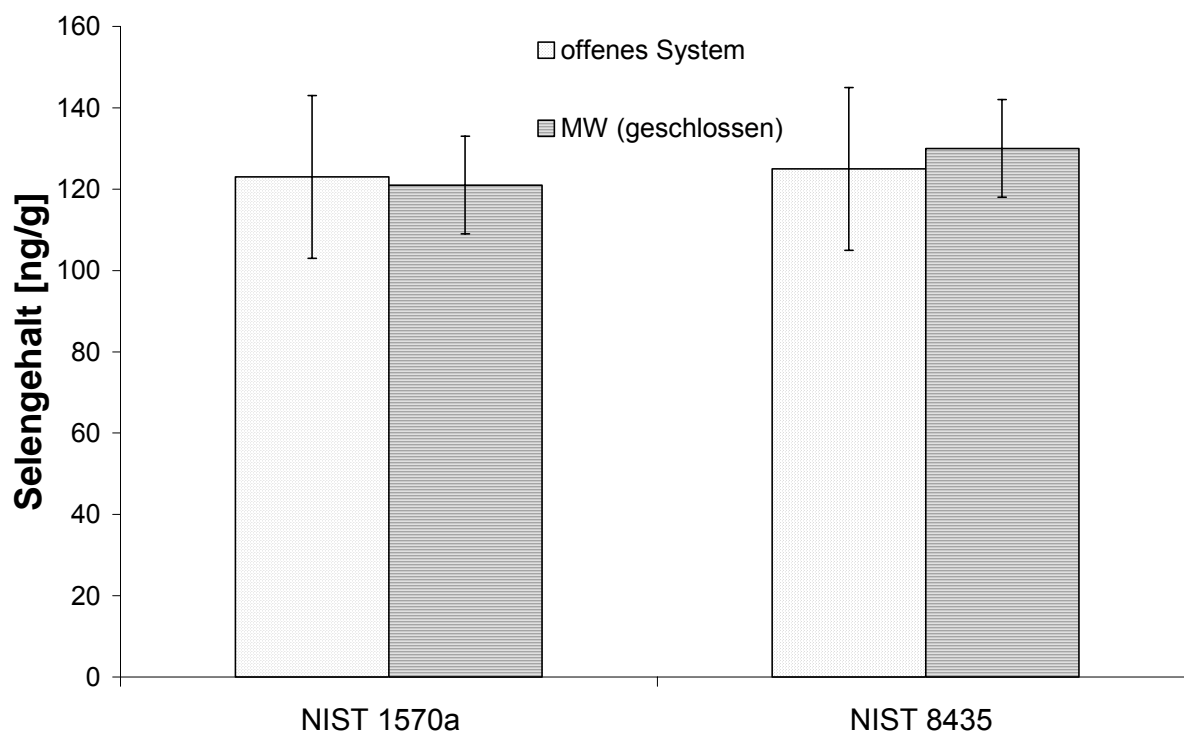


Abb. 27: Vergleich der gefundenen Selengehalte in NIST 1570a *spinach leaves* (Se: $117 \pm 9 \text{ ng g}^{-1}$) und NIST 8435 *whole milk powder* (Se: $131 \pm 14 \text{ ng g}^{-1}$) in einem offenen Wasserbad und in einem geschlossenen Mikrowellensystem [n=10]. Kap. 5.1.3

Tabelle 18: Nachweis- und Bestimmungsgrenzen gemäß DIN 32645 für die FI-HG-AAS [n=10]. Ergänzung zu Abb. 8, Kap. 5.1.1

charakteristische Konzentration β_0 ¹⁾	0.083 ng mL ⁻¹
Nachweisgrenze (LOD)	0.099 ng mL ⁻¹
Bestimmungsgrenze	0.238 ng mL ⁻¹
Präzision (%)	4.22 (für 1 ng mL ⁻¹)
	1.41 (für 4 ng mL ⁻¹)
	0.46 (für 8.5 ng mL ⁻¹)

¹⁾ Gehalt des zu bestimmenden Elementes, der mit einer Extinktion $E = 0,0044$ (1% Absorptionsgrad) gemessen wird.

Tabelle 19: Vergleich der Selengehalte in der Silage ausgewählter Landwirte im Rahmen des Pilotversuchs 1997 und des Großversuchs 1998

Vergleich Selendüngung 1997 - 1998

Se [mg kg ⁻¹]	o. Se '97	3g ha ⁻¹ '97 <i>AHL</i>	5g ha ⁻¹ '98 <i>AHL</i>
Bach, P	0,0403	0,6500	0,5200
Lux, C	0,0240	0,3200	0,2690
Quetsch-H	0,0268	0,1575	0,4789
Haas, H	0,0574	0,3420	

Tabelle 20: Selengehalte in der Silage ausgewählter Landwirte die nicht am Selendüngungs-Großversuch teilgenommen haben

Versuchsergebnisse Grundfutteranalysen ohne Selendüngung 1998

Versuchsparzelle	Se [mg kg ⁻¹]
Balter, G	0,0257
Breuer, H	0,0153
Dahmen, P	0,0295
Faas, A	0,0168
Hermes, G	0,0031
Hillen, W	0,0222
Hoffmann, P	0,0024
Kaufmann, H	0,0180
Kaufmann, R	0,0242
Leinen, H	0,0188
Welter, J	0,0031
arith. Mittel	0,0163
Median	0,0180
geom. Mittel	0,0121
Std.abweich.	0,0095

Tabelle 21: Selengehalte in der Silage ausgewählter Landwirte, die 1998 im Rahmen des Großversuchs 5 mg Se ha⁻¹ in Kombination mit *AHL* ausbrachten

Versuchsergebnisse Selendüngung mit AHL 1998

Versuchsparzelle	Se [mg kg ⁻¹]	
	1.Schnitt	2.Schnitt
Bach, P	0,5200	
Christen, M	0,4044	0,0602
Hansen, KR	0,4021	
Hoverath I	0,5720	
Hoverath II	0,2710	
Johanns, F	0,3856	0,1600
Klein, J	0,2140	
Leisen, H	0,2320	
Lux, C I	0,3490	
Lux, C II	0,1880	
Lux, H	0,5630	0,0240
Meiters, W	0,4360	
Pauly, W I	0,0163	0,1900
Pauly, W II	0,0167	
Quetsch-H	0,4789	
Schneider, P I	0,9920	0,0052
Schneider, P II	0,0034	
Seifen, J	0,4910	0,0588
Struben, HD	0,4910	0,0816
Thome	0,0409	
Vietoris, J I	0,1207	
Vietoris, J II	0,0014	
Weber, R	0,0170	0,0245
arith. Mittel	0,3133	0,0755
Median	0,3490	0,0595
geom. Mittel	0,1449	0,0477
Std.abweich.	0,2490	0,0665

Tabelle 22: Selengehalte in der Silage ausgewählter Landwirte, die 1998 im Rahmen des Großversuchs 5 mg Se ha⁻¹ in Kombination mit ROSAL[®] ausbrachten

Versuchsergebnisse Selendüngung mit ROSAL 1998

Versuchsparzelle	Se [mg kg ⁻¹]	
	1. Schnitt	2. Schnitt
Blum, J	0,1090	0,0516
Brodell, M	0,1857	0,0328
Eckertz, G I	0,2160	0,0315
Eckertz G II	0,1528	0,0391
Haas, HJ	0,0117	
Hoss, K I	0,1460	0,0286
Hoss, K II	0,1240	
Johanns, P	0,5460	
Klein, KP	0,0596	
Theis Fösges	0,0710	0,0270
van Kann, K I	0,0466	
van Kann, K II	0,0928	
Weber, P	0,0090	
arith. Mittel	0,1362	0,0351
Median	0,1090	0,0322
geom. Mittel	0,0853	0,0342
Std.abweich.	0,1384	0,0091

Tabelle 23: Selengehalte in Milchsammelproben (Jan./Feb. 1999, Ormont und Umgebung)

	Trockenmasse [%]	N	C	S	Se [mg kg ⁻¹] in TM	Protein	S
					Mittelwert, kor.	in Rohmilch	[%]
Bissels, J	12,82 (87,31W)	4,451	50,08	0,282	0,1191	3,57	0,036
Blum, J	13,47 (87,72W)	3,867	52,91	0,251	0,1413	3,26	0,034
Brodell, M	18				0,0962		
Lux, C	13,65	3,958	52,375	0,25	0,2435	3,38	0,034
Meyer-Juchems	13,84 (87,12W)	4,231	51,8	0,26	0,1377	3,66	0,036
Schmitz, HJ	13,98 (86,72W)	4,402	50,205	0,272	0,1259	3,85	0,038
Schneider	12,11	4,321	48,135	0,282	0,1129	3,27	0,034
Johanns, F	13,25	4,241	51,85	0,261	0,2768	3,51	0,035
Gentges, F	13,48 (87,43W)	4,075	50,975	0,257	0,1423	3,43	0,035
Christen, M	13,78 (86,74W)	4,431	51,495	0,268	0,3505	3,82	0,037
Thelen, C	12,77/13,3 (87,72W)	4,272	49,545	0,269	0,1574	3,41	0,034
Klein, J	13,55 (87,1W)	4,401	52,075	0,269	0,2946	3,73	0,036
Klein, KP	13,19/12,74 (87,5)	3,948	53,13	0,242	0,1080	3,25	0,032
Hoverath	12,68 (87,88W)				0,2396		
Finken, F	12,74				0,1057		
Johanns, P	12,13				0,1352		
Pinten	11,88 (87,2W)				0,0784		

Tabelle 24: Versuch der Quantifizierung von Selenomethionin in nativer und selenangereicherter Milch sowie daraus hergestellter Fermentationsprodukte

	Area (Peak-Fläche)	Height (Peak-Höhe)	BS/Conc.	ng Se-meth g ⁻¹ TM
Standard 10 ppb (Se-cys, Se-meth, Se-eth, TMSe) ¹⁾	39.300	183.195	10,00	10,00
Blindwert Dialysat I	690	3.575	0,18	0,18
Blindwert Dialysat II	826	4.007	0,21	0,21
Vorzugsmilch (frisch) A	872	4.044	0,01	0,22
Vorzugsmilch (frisch) B	873	3.932	0,01	0,22
Vorzugsmilch (gefriergetrocknet) A	822	3.560	0,00	0,21
Vorzugsmilch (gefriergetrocknet) B	821	3.797	0,00	0,21
Milch Königs I	736	3.577	-0,02	0,19
Milch Königs II	924	4.271	0,02	0,24
Milch Königs III	1.108	5.367	0,07	0,28
Milch Struben	736	3.577	-0,02	0,19
Milch Seifen	977	4.639	0,00	0,25
klassischer Joghurt (Königs I-III)	888	4.064	0,02	0,23
klassischer Joghurt (Seifen)	803	3.906	0,00	0,20

¹⁾ Se-cys = Selenocystein, Se-meth = Selenocystein, Se-eth = Selenoethionin, TMSe = Trimethylselenonium-Ion

Tabelle 25: Passagenkontrolle der Eifel-Weizenprobe (Nullprobe) zur Berechnung der Aschekurve sowie der in analoger Weise berechneten Selen- und Proteinkurven der Mahlfractionen

Passagenkontrolle Mühle V

	Versuch A	Asche TM	Feuchte	Ausbeute	Aschezahl	Ausbeute kum.	Aschez. kum.	Gemisch Asche	Ausbeute
Beschüttung 1.Schrot	2641,4	1,478	15,5						
Mehl 1	932,3	0,491	14,7	0,35296	0,17	35,30%	0,17	0,491	35,3%
Mehl 2	785,8	0,54	13,82	0,29749	0,16	65,05%	0,33	0,513	65,0%
Nachmehl	200,1	1,154	11,88	0,07576	0,09	72,62%	0,42	0,580	72,6%
Feinkleie	116,8	3,185	11,47	0,04422	0,14	77,04%	0,56	0,730	77,0%
Grießkleie	6,2	3,361	11,28	0,00235	0,01	77,28%	0,57	0,738	77,3%
Grobkleie	466,2	6,465	12,76	0,17650	1,14	94,93%	1,71	1,803	94,9%
Summe	2507,4			0,94927					

	Versuch A	Selen TM	Feuchte	Ausbeute	Selenzahl	Ausbeute kum.	Selenz. kum.	Gemisch Selen	Ausbeute
Beschüttung 1.Schrot	2641,4	0,009							
Mehl 1	932,3	0,009	14,7	0,35296	0,00	35,30%	0,00	0,009	35,3%
Mehl 2	785,8	0,009	13,82	0,29749	0,00	65,05%	0,01	0,009	65,0%
Nachmehl	200,1	0,07	11,88	0,07576	0,01	72,62%	0,01	0,015	72,6%
Feinkleie	116,8	0,009	11,47	0,04422	0,00	77,04%	0,01	0,015	77,0%
Grießkleie	6,2	0,086	11,28	0,00235	0,00	77,28%	0,01	0,015	77,3%
Grobkleie	466,2	0,009	12,76	0,17650	0,00	94,93%	0,01	0,014	94,9%
Summe	2507,4	0,009		0,94927					

	Versuch A	Protein TM/10	Feuchte	Ausbeute	Proteinanzahl	Ausbeute kum.	Proteinz. kum.	Gemisch Protein	Ausbeute
Beschüttung 1.Schrot	2641,4								
Mehl 1	932,3	0,692	14,7	0,35296	0,24	35,30%	0,24	0,692	35,3%
Mehl 2	785,8	0,766	13,82	0,29749	0,23	65,05%	0,47	0,726	65,0%
Nachmehl	200,1	1,102	11,88	0,07576	0,08	72,62%	0,56	0,765	72,6%
Feinkleie	116,8	1,239	11,47	0,04422	0,05	77,04%	0,61	0,792	77,0%
Grießkleie	6,2	1,19	11,28	0,00235	0,00	77,28%	0,61	0,793	77,3%
Grobkleie	466,2	1,425	12,76	0,17650	0,25	94,93%	0,86	0,911	94,9%
Summe	2507,4			0,94927					

Tabelle 26: Passagenkontrolle der selengedüngten Eifel-Weizenprobe zur Berechnung der Aschekurve sowie der in analoger Weise berechneten Selen- und Proteinkurven der Mahlfractionen

Passagenkontrolle Mühle V

	Versuch D	Asche TM	Feuchte	Ausbeu- te	Asche zahl	Ausbeute kum.	Aschez. kum.	Gemisch Asche	Ausbeute
Beschüttung 1.Schrot	3638,9	1,633	14,121						
Mehl 2	828,9	0,428	14,97	0,22779	0,10	22,78%	0,10	0,428	22,8%
Mehl 1	1494,6	0,521	14,51	0,41073	0,21	63,85%	0,31	0,488	63,9%
Nachmehl	302,5	1,421	12,63	0,08313	0,12	72,16%	0,43	0,595	72,2%
Grießkleie	96,1	2,136	13,41	0,02641	0,06	74,81%	0,49	0,650	74,8%
Feinkleie	230,7	3,399	12,04	0,06340	0,22	81,15%	0,70	0,865	81,1%
Grobkleie	547,2	6,731	12,82	0,15038	1,01	96,18%	1,71	1,782	96,2%
Summe	3500	1,568		0,96183					

	Versuch D	Selen TM*10	Feuchte	Ausbeu- te	Se- lenzah	Ausbeute kum.	Selenz. kum.	Gemisch Selen	Ausbeute
Beschüttung 1.Schrot	3638,9	0,109	16,5						
Mehl 2	828,9	0,119	14,97	0,22779	0,03	22,78%	0,03	0,119	22,8%
Mehl 1	1494,6	0,064	14,51	0,41073	0,03	63,85%	0,05	0,084	63,9%
Nachmehl	302,5	0,123	12,63	0,08313	0,01	72,16%	0,06	0,088	72,2%
Grießkleie	96,1	0,088	13,41	0,02641	0,00	74,81%	0,07	0,088	74,8%
Feinkleie	230,7	0,098	12,04	0,06340	0,01	81,15%	0,07	0,089	81,1%
Grobkleie	547,2	0,137	12,82	0,15038	0,02	96,18%	0,09	0,096	96,2%
Summe	3500			0,96183					

	Versuch D	Prote- in TM/10	Feuchte	Ausbeu- te	Prote- inzahl	Ausbeute kum.	Proteinz. kum.	Gemisch Protein	Ausbeute
Beschüttung 1.Schrot	3638,9		16,5						
Mehl 2	828,9	1,173	14,97	0,22779	0,27	22,78%	0,27	1,173	22,8%
Mehl 1	1494,6	1,122	14,51	0,41073	0,46	63,85%	0,73	1,140	63,9%
Nachmehl	302,5	1,643	12,63	0,08313	0,14	72,16%	0,86	1,198	72,2%
Grießkleie	96,1	1,336	13,41	0,02641	0,04	74,81%	0,90	1,203	74,8%
Feinkleie	230,7	1,465	12,04	0,06340	0,09	81,15%	0,99	1,223	81,1%
Grobkleie	547,2	1,66	12,82	0,15038	0,25	96,18%	1,24	1,292	96,2%
Summe	3500			0,96183					

Tabelle 27: Passagenkontrolle der US-Weizenprobe zur Berechnung der Aschekurve sowie der in analoger Weise berechneten Selen- und Proteinkurven der Mahlfractionen

Passagenkontrolle Mühle V

	Versuch B	Asche TM	Feuchte	Ausbeu- te	Asche zahl	Ausbeute kum.	Aschez. kum.	Gemisch Asche	Ausbeute
Beschüttung 1.Schrot	3431,9	1,986	16,5						
Mehl 1	817,2	0,493	16,19	0,23812	0,12	23,81%	0,12	0,493	23,8%
Mehl 2	1367,5	0,528	14,36	0,39847	0,21	63,66%	0,33	0,515	63,7%
Nachmehl	306,4	1,554	13,12	0,08928	0,14	72,59%	0,47	0,643	72,6%
Feinkleie	213,2	3,094	13,16	0,06212	0,19	78,80%	0,66	0,836	78,8%
Grießkleie	24,6	3,62	14,52	0,00717	0,03	79,52%	0,68	0,861	79,5%
Grobkleie	550,1	7,167	14,52	0,16029	1,15	95,54%	1,83	1,919	95,5%
Summe	3279			0,95545					

	Versuch B	Selen TM*10	Feuchte	Ausbeu- te	Se- lenzah l	Ausbeute kum	Selenz. Kum	Gemisch Selen	Ausbeute
Beschüttung 1.Schrot	3431,9	0,597	16,5						
Mehl 1	817,2	0,429	16,19	0,23812	0,10	23,81%	0,10	0,429	23,8%
Mehl 2	1367,5	0,474	14,36	0,39847	0,19	63,66%	0,29	0,457	63,7%
Nachmehl	306,4	0,691	13,12	0,08928	0,06	72,59%	0,35	0,486	72,6%
Feinkleie	213,2	0,623	13,16	0,06212	0,04	78,80%	0,39	0,497	78,8%
Grießkleie	24,6	0,621	14,52	0,00717	0,00	79,52%	0,40	0,498	79,5%
Grobkleie	550,1	0,929	14,52	0,16029	0,15	95,54%	0,54	0,570	95,5%
Summe	3279			0,95545					

	Versuch B	Prote- in TM/10	Feuchte	Ausbeu- te	Prote- inzahl	Ausbeute kum	Proteinz. Kum	Gemisch Protein	Ausbeute
Beschüttung 1.Schrot	3431,9		16,5						
Mehl 1	817,2	1,518	16,19	0,23812	0,36	23,81%	0,36	1,518	23,8%
Mehl 2	1367,5	1,373	14,36	0,39847	0,55	63,66%	0,91	1,427	63,7%
Nachmehl	306,4	2,127	13,12	0,08928	0,19	72,59%	1,10	1,513	72,6%
Feinkleie	213,2	1,862	13,16	0,06212	0,12	78,80%	1,21	1,541	78,8%
Grießkleie	24,6	1,726	14,52	0,00717	0,01	79,52%	1,23	1,542	79,5%
Grobkleie	550,1	2,055	14,52	0,16029	0,33	95,54%	1,56	1,628	95,5%
Summe	3279			0,95545					

Tabelle 28: Vergleich der mit verschiedenen Analysemethoden (Kjeldahl und *Elementar*) gemessenen Proteinwerte der Mahlfractionen

	Beschüttung 1.Schrot	Mehl 2	Mehl 1	Nachmehl	Grießkleie	Feinkleie	Grobkleie
o. Se (Eifel) Kjeldahl	8,33	7,35	7,01	10,80		12,20	13,61
o. Se (Eifel) <i>Elementar</i>		7,96	6,83	11,24	11,9	12,57	14,89
mit Se (Eifel) Kjeldahl	13,15	11,89	11,41	16,29	13,33	14,32	16,42
mit Se (Eifel) <i>Elementar</i>		11,57	11,02	16,56	13,38	14,97	16,78
US-Weizen Kjeldahl	15,28	13,82	15,29	21,28	17,43	18,39	20,73
US-Weizen <i>Elementar</i>		13,64	15,07	21,25	17,09	18,85	20,37

7 Zusammenfassung

Als Voraussetzung für die hier dargestellten Ergebnisse lag der erste Schwerpunkt dieser Arbeit in der Entwicklung eines Verfahrens der Hydrid-Atomabsorptionsspektrometrie (HG-AAS), um die auf ihren Selengehalt zu untersuchenden Proben schnell und zuverlässig analysieren zu können. Dazu wurde eine Methode entwickelt, die es erstmalig erlaubt, sämtliche vorbereitenden Arbeitsschritte (Probenaufschluss, Vorreduktion und Denitrifikation) komplett und geschlossen in der Mikrowelle auszuführen. Daraus resultiert nicht nur eine enorme Zeitersparnis, sondern auch ein weitest gehender Schutz vor Elementverlust und Kontaminationen. Ein weiterer Beitrag zur Automatisierung und Empfindlichkeitsverbesserung lag in der Implementierung einer selbst entwickelten, elektrisch beheizten Atomisierungseinheit in der AAS, die somit komplett unbeaufsichtigt betrieben werden kann.

Mittels dieser Selenanalytik wurde nun untersucht, wie sich mit Hilfe der Flüssig-Blattapplikation das essentielle Spurenelement Selen schon zu Anfang der Nahrungskette einfach und gut dosierbar in diese einbringen lässt und somit von Beginn an die positiven Effekte des Selens in allen Stufen zum Tragen kommen. So gelang es auch in einem vom Selenmangel besonders betroffenen Gebiet, der Hocheifel, durch die Applikation von Natrium- oder Calciumselenat während der Wachstumsphase von Weidegras den Selengehalt des Pflanzenaufwuchses auf ein tierernährungsphysiologisch bedeutsames Niveau anzuheben. Eine Erhöhung von durchschnittlich 16 μg auf bis zu mehr als 300 $\mu\text{g Se kg}^{-1}$ Silage-TM wurde dabei durch eine Dosierung von 5 g Selenat ha^{-1} in Kombination mit dem Flüssigdünger *AHL* bzw. durch 10 g Selenat ha^{-1} in Verbindung mit dem Suspensionsdünger *ROSAL*[®] erzielt.

Die Fütterung von Milchkühen mit derart selenangereicherter Silage führte zu einer deutlichen Erhöhung des Selengehaltes der Milch. Er stieg innerhalb von einigen Wochen von unter 5 auf über 25 $\mu\text{g L}^{-1}$ und folgte dabei binnen 24 – 48 Stunden der sinkenden bzw. steigenden Selenkonzentration im Grundfutter. Eine Zufütterung von anorganischem Selen ergab dagegen keinen Einfluss auf den Selengehalt der Milch, womit der Schluss nahe liegt, dass flüssig auf Weidegras appliziertes Selenat von den Pflanzen zu organisch gebundenem Selen assimiliert wird, wie es auch bei einer Aufnahme über die Wurzeln der Fall ist.

Es zeigte sich, dass das in der Milch enthaltene Selen überwiegend in proteingebundener Form vorliegt: Zu etwa gleichen Teilen im Kasein und den Molkenproteinen bei herkömmli-

cher Milch, bei den selenangereicherten Proben dagegen enthielten die Molkenproteine einen größeren Selenanteil als die Kaseine. Der Erhöhung des Selengehaltes der Milch sind aus tiergesundheitlicher Sicht Grenzen gesetzt: Ab einer regelmäßigen Aufnahmemenge von mehr als 8,4 mg Se/Tag kann es zu Leberschäden und Leistungsminderungen des Milchviehs kommen. Legt man aber eine für Milchkühe gesundheitlich positiv wirkende Aufnahmemenge von 6 mg Se/Tag zugrunde, kann von einem Milchselengehalt von 45 $\mu\text{g L}^{-1}$ und dementsprechend für den Menschen von einer alimentären Selenaufnahme durch Milch sowie Milchprodukte von durchschnittlich 11,5–20,5 $\mu\text{g/Tag}$ ausgegangen werden. Dies würde im Schnitt in etwa eine Verdreifachung bzw. einer Steigerung von 11 $\mu\text{g Se/Tag}$ gegenüber dem gegenwärtigen Versorgungsniveau von 3,6–6,4 $\mu\text{g Se/Tag}$ bedeuten.

Als effizienter erweist sich eine direkte Selenanreicherung pflanzlicher Nahrungsmittel. Durch Flüssig-Blattapplikation (7 g Se ha^{-1}) gelang es, den Selengehalt von Weizen von < 10 $\mu\text{g Se kg}^{-1}$ TM auf ca. 220 $\mu\text{g Se kg}^{-1}$ TM (sowie bei Gerste von 10 – 20 $\mu\text{g Se kg}^{-1}$ TM auf ca. 320 $\mu\text{g Se kg}^{-1}$ TM) und damit auf ein ernährungsphysiologisch bedeutsames Niveau anzuheben. Mahlversuche legten zudem dar, dass sich eine solche Selenanreicherung auf alle Mahlerzeugnisse verteilt, ähnlich wie bei Weizen von selenreichen Böden. Es zeigte sich, dass der Selengehalt nicht mit dem Aschegehalt korreliert, sondern sich weitgehend analog dem Proteingehalt auf die verschiedenen Fraktionen verteilt. Bei einem Selengehalt von 220 $\mu\text{g/kg}$ Weizen und einem durchschnittlichen täglichen Verzehr von 250 g des daraus gebackenen Brots ließe sich die Aufnahmemenge an Selen auf die von der EU empfohlene Menge von 56 $\mu\text{g Se/Tag}$ erhöhen (momentanes durchschnittliches Aufnahmeniveau: 35,5 $\mu\text{g Se/Tag}$), unabhängig davon, ob das Brot aus Vollkorn- oder Auszugsmehlen gebacken wurde.

An diese Arbeit anknüpfende Selendüngungsversuche von BODE (2003) zeigten zudem auf, dass die Selengehalte des Getreides bzw. des daraus gewonnen Vollkornmehls linear der Ausbringungsmenge des Selens folgen. Mit Hilfe der Selen-Flüssig-Blattapplikation ist es also problemlos möglich, an selenarmen Standorten Futterpflanzen und Getreide gezielt auf zuvor festgelegte Gehalte anzuheben ohne dass (wie bei der Ausbringung von selenhaltigen Feststoffdüngern) die Gefahr von überhöhten Selengehalten im Endprodukt besteht.

Summary

Investigation about the quality and levels of selenium entry in milk and cereals by selenium leaf liquid application

A prerequisite for this work was the development of a procedure of hydride atomic absorption spectrometry (HG-AAS), in order to be able to analyse fast and reliably the selenium content of samples. To that end, a method was developed which permitted preparation procedures (sample decomposition, pre-reduction and denitrification) to take place completely enclosed in a microwave oven. This method provides an enormous savings of time, and protection against element loss and contamination. In addition, the implementation of a proprietary electrically heated atomisation unit (operating without supervision) in the AAS allowed further improvement in automation and sensitivity.

Through this selenium analysis procedure, it is possible to examine how the leaf liquid application of selenium can be introduced at the beginning of the food chain to produce measurable positive effects in all stages. This procedure raised the selenium content of plants through the application of sodium- or calcium-selenate during the growth phase of pasture grass to enhance animal nourishment in High-Eifel (Germany), an area particularly concerned by the lack of selenium. Increases on average of 16 μg up to more than 300 $\mu\text{g Se kg}^{-1}$ of silage dry matter were obtained by a dosage of 5 g selenate ha^{-1} in combination with the liquid fertilizer *AHL* and/or by 10 g selenate ha^{-1} in connection with the suspension fertilizer *ROSAL*[®].

The feeding of selenium-enriched silage to milk cows led to a measurable increase in the selenium content of their milk. Content rose distinctly within a few weeks, from less than 5 to more than 25 $\mu\text{g L}^{-1}$ following within 24 - 48 hours the sinking and/or rising selenium concentration in the basic fodder. Feedings with inorganic selenium resulted in no influence on the selenium content of the milk – with the conclusion that liquid selenate applied to pasture grass is assimilated from the plants to organically bound selenium as it is also in case with an admission over their roots.

Selenium incorporated into the milk is shown to be present predominantly in protein-bound form; in equal amounts in casein and whey proteins in un-enriched milk. The selenium-enriched samples exhibited a greater proportion of whey proteins than caseins.

To preserve animal health, limits are set on the selenium content of milk. A regular intake of more than 8.4 mg Se/day/cow causes liver damage and results in interrupted milk production. An intake of 6 mg however has a positive effect on the milk cow and results in a milk selenium content from 45 $\mu\text{g L}^{-1}$. This creates a diet-related selenium intake for humans through milk (or with milk products) of 11.5-20.5 $\mu\text{g/day}$ on average. The result represents an increase of 11 $\mu\text{g Se/day}$ on average for humans (in comparison to the current support-level of 3,6–6,4 $\mu\text{g Se/day}$).

A more efficient way to produce selenium enhancement would be through the direct selenium enrichment of vegetable foods. Through leaf liquid application (7 g Se ha^{-1}), the selenium content of wheat was successfully raised from < 10 $\mu\text{g Se kg}^{-1}$ DM to approx. 220 $\mu\text{g Se kg}^{-1}$ DM (in barley, the content was raised from 10 - 20 $\mu\text{g Se kg}^{-1}$ DM to approx. 320 $\mu\text{g Se kg}^{-1}$ DM); an important level of nourishment. Meal trials also suggested that such selenium enrichment distributes selenium to all meal products, similar to the enrichment of wheat from selenium-rich soils. It was apparent that the selenium content does not correlate with the ash content, but for the most part selenium is distributed according to the protein content of the different fractions. With a selenium content of 220 $\mu\text{g kg}^{-1}$ realized in wheat and an average daily consumption of 250 g of bread baked from this wheat, the selenium intake could reach the EU recommended amount of 56 $\mu\text{g Se/day}$ (actual status: 35,5 $\mu\text{g Se/day}$), independent of whether bread was baked from full grain or superfine flours.

Selenium fertilization attempts of BODE (2003) related to these studies also noted that the selenium content of this grain and/or full grain flour were equal to the yield quantity of the selenium additive process. With the help of a selenium leaf liquid application, it would be easy for growers in selenium-poor locations to raise fodder plants and grain with pre-determined, intelligently-fixed contents without the danger of an excessive selenium content in the end product.

8 Literaturverzeichnis

- ÅKESSON, B.; HUANG, W. PERSSON-MOSCHOS, M.; MARCHALUK, E.; JACOBSSON, L.; LINDGARDE, F. (1997): Glutathione peroxidase, selenoprotein P and selenium in serum of elderly subjects in relation to other biomarkers of nutritional status and food intake. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 8(9):508-517
- AGF (Arbeitsgemeinschaft Getreideforschung e.V.) (Hrsg.) (1994): Standard-Methoden für Getreide, Mehl und Brot. 7. überarbeitete Auflage, Moritz Schäfer Verlag, Detmold
- AGTERDENBOS, J.; BUSSINK, R.W.; BAX, D. (1990): *Anal Chim Acta*. 232:405-407. In: WELZ, B.; SPERLING, M. (1997): Atomabsorptionsspektrometrie. 4. neubearbeitete Auflage. Verlag Wiley-VCH, Weinheim, Berlin, New York
- ALAEJOS, M.S.; DÍAZ ROMERO, C. (1995): Selenium in Human Lactation. *Nutrition Reviews*. 53(6):159-166
- ALAEJOS, M.S.; DÍAZ ROMERO, F.J.; DÍAZ ROMERO, C. (2000): Selenium and Cancer: Some nutritional Aspects. *Nutrition*. 16:376-383
- ALLABASHI, R.; RENDL, J.; GRASSERBAUER, M. (1997): Validation of three atomic absorption spectrometric methods for the determination of selenium – a comparative evaluation of performance characteristics. *Fresenius J Anal Chem*. 357:1024-1028
- ALLAN, C.B.; LACOURCIERE, G.M.; STADTMAN, T.C. (1999): Responsiveness of selenoproteins to dietary selenium. *Annu Rev Nutr*. 19:1-16.
- ALLAWAY, W.H. (1973): Selenium in the food chain. *Cornell Vet*. 63:151-170
- ALM, L. (1983): Fermenterad mjolk forlanger livet? *Kemisk-Tidskrift*. 95:30-32
- Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG, L 16.01-1. (1987). Beuth-Verlag, Berlin Wien Zürich
- Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG, L 01.00-10. (1988). Beuth-Verlag, Berlin Wien Zürich
- Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren SLMB, 1/1.10.3. (1995) Beuth-Verlag, Berlin Wien Zürich
- ANDERSEN, O.; NIELSON, J.B. (1993): Effects of simultaneous low-level dietary supplementation with inorganic and organic Se on blood and organ toxic levels of metals in mice. *J. Trace Elem. Electrolytes Health Dis*. 7:122-125
- ANGER, M. (1988): AHL auf Grünland. *Agrarpraxis*. 104(3):21-22
- ANKE, M.; SCHÜMANN, K. (1999) in: BIESALSKIE, H.K. Ernährungsmedizin, 2. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York
- ANKE, M.; DORN, W.; GUNSTHEIMER, G.; ARNOLD, W.; GLEI, M.; ANKE, S.; LÖSCH, E. (1998): Effects of trace and ultratrace elements on the reproduction performance of ruminants. *Czech. Vet. Med*. 43:272-282

- ARTEEL, G.A.; MOSTERT, V.; OUBRAHIM, H.; BRIVIBA, K.; ABEL, J.; SIES, H. (1998): Protection by selenoprotein P in human plasma against peroxynitrite-mediated oxidation and nitration. *Biol. Chem.* 379:1201-1205
- ARTEEL, G.A.; BRIVIBA, K.; SIES, H. (1999): Protection against peroxynitrite. *FEBS Lett.* 445:226-230
- ARTHUR, J.R. (2000): The glutathione peroxidases. *Cell Mol Life Sci.* 57:1825-1835
- ASHER, C.J.; EVANS, C.S.; JOHNSON, C.M. (1967): Collection and partial characterization of volatile selenium compounds from *Medicago sativa* L. *Aust. J. Biol. Sci.* 20:737-748
- ASLUND, F.; BECKWITH, J. (1999): The thioredoxin superfamily: redundancy, specificity, and gray-area genomics. *J. Bacteriol.* 181:1375-1379
- ÅSTRÖM, O. (1982): Flow-injection analysis for determination of bismuth by atomic-absorption spectrometry with hydride generation. *Anal. Chem.* 54:190-193
- AULINGER, F. (1968): Massenspektrometrie. KIENITZ, H. (Hrsg.). VCH, Weinheim
- AWASTHI, Y.C.; BEUTLER, E.; SRIVASTAVA, S.K. (1975): Purification and properties of erythrocyte glutathione peroxidase. *J. Biol. Chem.* 250:5144-5148
- BACH, K.; HAAS, H. J.; MATHIEU, A. (1990): Die Bestimmung des Selens in Nahrungsmitteln. *VitaMinSpur.* 5:161-166
- BAHNERS, N. (1987): Selengehalte von Böden und deren Grasaufwuchs in der Bundesrepublik sowie Möglichkeiten der Selenanreicherung durch verschiedene Selendüngungen. Dissertation. Inst. f. Tierernährung, Landw. Fak. Univ. Bonn
- BANUELOS, G.S.; MEEK, D.W. (1990): Accumulation of selenium in plants grown on selenium treated soil. *J Environ Qual.* 19:772-777
- BARCELOUX, D.G. (1999): Selenium. *Clin. Toxicol.* 37:145-172
- BARNES, P.J. (1998): Anti-inflammatory actions of glucocorticoids: molecular mechanisms. *Clin Sci (Lond).* 94(6):557-572
- BARTH, P.; KRIVAM, V.; HAUSBECK, R. (1992): Cross-interferences of hydride-forming elements in hydride-generation atomic absorption spectrometry. *Anal. Chim. Acta.* 263:111-118
- BAYER, W. (1996): Zur biomedizinischen Bedeutung von Selen. *Z. Allg. Med.* 72:18-27
- BEDWAL, R.S.; NAIR, N.; SHARMA, M. ; MATHUR, R.S. (1993): Selenium – its biological perspectives. *Med. Hypotheses.* 41:150-159
- BEHNE, D.; WOLTERS, W. (1983): Distribution of Selenium and Glutathione Peroxidase in the Rat. *J. Nutr.* 113:456-461
- BEHNE, D.; HILMERT, H.; SCHEID, S.; GESSNER, H.; EIGER, W. (1988): Evidence for specific selenium target tissues and biologically important selenoproteins. *Biochem. Biophys. Acta.* 966:12-21

- BEHNE, D.; IYENGAR, G.V. (1989): Spurenelementanalyse in biologischen Proben. In: BORSODORF, R.; FRESENIUS, W.; GÜNZLER, H.; HUBER, W.; KELKER, H.; LÜDERWALD, I.; TÖLG, G.; WISSER, H. (Hrsg.): Analytikertaschenbuch Bd. 6. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York, London, Paris, Tokyo. 237-280
- BEHNE, D.; KYRIAKOPOULOS, A.; MEINHOLD, H.; KÖHRLE, J. (1990): Identification of Typ I Iodothyronine 5'-Deiodase as a selenoenzyme. *Biochem Biophys Res Comm.* 173:1143-1149
- BEHNE, D.; GESSNER, H.; KYRIAKOPOULOS, A. (1996): Information on the selenium status of several body compartments of rats from the selenium concentrations in blood fractions, hair and nails. *J Trace Elem Med Bio.* 10(3):174-179
- BEHNE, D.; KYRIAKOPOULOS, A. (1997): Neue Selenoproteine: Verteilung, Funktionen und Selenbedarf. In: LOMBECK, I. (Hrsg.): Spurenelemente: Bedarf, Vergiftungen, Wechselwirkungen und neuere Meßmethoden. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart. 73-77
- BEHNE, D.; PFIEFER, H.; ROTHLEIN, D.; KYRIAKOPOULOS, A. (2000): Cellular and subcellular distribution of selenium and selenoproteins. In: ROUSSEL, A.M.; FAVIER, A.; ANDERSON, R.A. (Hrsg.): Trace elements in man and animals. Plenum Press, New York. 29-33
- BELITZ, H.-D.; GROSCH, W.; SCHIEBERLE, P. (2001). Lehrbuch der Lebensmittelchemie. 5., vollständig überarbeitete Auflage, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York
- BELL, P.F.; PARKER, D.R.; PAGE, A.L. (1992): Contrasting selenate sulfate interactions in selenium accumulating and nonaccumulating plant species. *Soil Sci Soc Am J.* 56:1818-1824
- BENEMARIYA, H.; ROBBERECHT, H.J.; DEELSTRA, H.A. (1993): - Zinc, copper and selenium in milk and organs of cow and goat from Burundi, Africa. *Sci Total Environ.* 128:83-89
- BEN BAOUALI, A.; AUBE, H.; MAUPOIL, V.; BLETTERY, B.; ROCHETTE, L. (1994): Plasma lipid peroxidation in critically ill patients: importance of mechanical ventilation. *Free Rad Biol Med.* 16:223-228
- BEN-HAYYIM, G.; FALTIN, Z.; GEPSTEIN, S.; CAMOIN, L.; STROSBERG, A.D.; ESHDAT, Y. (1993): Isolation and characterization of salt-associated protein in citrus. *Plant Sci.* 88:129-140
- BIANCO, A.C.; SALVATORE, D.; GEREBEN, B.; BERRY, M.J.; LARSEN, P.R. (2002): Biochemistry, cellular and molecular biology, and physiological roles of the iodothyronine selenodeiodinases. *Endocr Rev.* 23(1):38-89
- BIESALSKI, H.K.; BERGER, M.M.; BRÄTTER, P.; BRIGELIUS-FLOHÉ, R.; FÜRST, P.; KÖHRL, J.; OSTER, O.; SHENKIN, A.; VIELL, B.; WENDEL, A. (1997): Kenntnisstand Selen – Ergebnisse des Hohenheimer Konsensusmeetings. *Akt. Ernähr-Med.* 22:224-231
- BIESALSKI, H.K.; GRIMM, P. (2002): Taschenatlas der Ernährung. 2. aktualisierte Auflage. Georg Thieme Verlag, Stuttgart

- BODE, C. (2003): Verbesserung der bisher marginalen Selenversorgung durch selenangereicherten Weizen unter Berücksichtigung der Bioverfügbarkeit in Getreideprodukten. Examensarbeit, Institut für Lebensmittelwissenschaft und Lebensmittelchemie, Landw. Fak. Univ. Bonn
- BOSELDMANN, A.; BAYER, W.; SCHMIDT, K. (1991): Getreide – Mehl – Brot: Eine wichtige Nahrungsquelle für Selen. *VitaMinSpur*. 6:165-169
- BRÄTTER, P.; NEGRETTI DE BRÄTTER, V. E. (1996): Influence of high selenium intake on the thyroid hormone level in human serum. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 10:163-166
- BRIGELIUS-FLOHÉ, R.; MÜLLER, C.; MENARD, J.; FLORIAN, S.; SCHMEHL, K.; WRINGLER, K. (2001): Functions of GI-GPx: lessons from selenium-dependant expression and intracellular localization. *BioFactors*. 14(1-4):101-106
- BROOME, C.S.; MCARDLE, F.; KYLE, J.A.M.; ANDREWS, F.; LOWE, N.M.; HART, C.A.; ARTHUR, J.R.; JACKSON, M.J. (2004): An increase in selenium intake improves immune function and poliovirus handling in adults with marginal selenium status. *Am J Clin Nutr.* 80 (1):154-162
- BROWN Jr., R.M.; FRY, R.C.; MOYERS, J.L.; NORTHWAY, S.J.; DETON, M.B. (1981): Interference by Volatile Nitrogen Oxides and Transition-Metal Catalysis in the Preconcentration of Arsenic and Selenium as Hydrides. *Anal Chem.* 53:1560-1566
- BROWN, T.A.; SHRIFT, A. (1982): Selenium: toxicity and tolerance in higher plants. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society.* 57:59-84
- BROWN, K.M.; ARTHUR, J.R. (2001): Selenium, selenoproteins and human health: a review. *Public health Nutr.* 4(2B):593-599
- BRÜGGEMANN, J.; OCKER, H.D. (1990): Selengehalte in inländischem Brotgetreide. *Getreide, Mehl und Brot.* 44(1):3-8
- BRÜGGEMANN, J.; OCKER, H.D. (1992): Gehalte an den Spurenelementen Arsen, Nickel, Selen und Zink in Getreide und Getreideprodukten. In: OCKER, H.D.: Rückstände und Kontaminanten in Getreide. Behr's Verlag, Hamburg. 45-65
- BRUNORI, C.; DE LA CALLE-GUNTIÑAS, M.A., MORABITO, R. (1998): Optimization of the reduction of Se(VI) to Se(IV) in a microwave oven. *Fresenius J Anal Chem.* 360:26-30
- BRUSS, A. ; BECKER, K.W.; BERGMANN, H.; MACHELETT, B.; MEYER, B. (1997): Vorräte und Mobilität von Selen in Böden. *Mitt. Deutsche Bodenkundl. Ges.* 85:221-224
- Bundesgesundheitsblatt – Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz (2002): Selen und Human-Biomonitoring, Stellungnahme der Kommission „Human-Biomonitoring“ des Umweltbundesamtes. 45(2):190-195
- BURGUERA, J.L. ; BURGUERA, M. (1995): Liquid Sample Introduction Devices in Flow Injection Atomic Spectroscopy. *J. Anal. At. Spectrom.* 10:473-477

- BURK, R.F.; BROWN, D.G.; SEELEY, R.F.; SCAIEF (1972): Influence of dietary and injected selenium on whole body retention, route of excretion and tissue retention of $^{75}\text{SeO}_3^{2-}$ in the rat. *J. Nutr.* 102:1049-1053
- BURK, R.F.; HILL, K.E. (1999): Orphan selenoproteins. *BioEssays.* 21:231–237
- BUTH, I. (2001): In-vitro-Untersuchung zur Dialysierbarkeit von Selen aus Lebensmitteln als Parameter der Bioverfügbarkeit. Diplomarbeit, Institut für Lebensmittelwissenschaft und Lebensmittelchemie, Landw. Fak. Univ. Bonn
- BYE, R.; LUND, W. (1988): Optimal conditions for the reduction of selenate to selenite by hydrochloric acid. *Fresenius J Anal Chem.* 332:242-244
- CADENAS, E. (1997): Basic mechanisms of antioxidant activity. *BioFactors.* 6:391-397
- CAMMANN, K. (Hrsg.) (2001): Instrumentelle Analytische Chemie. Verfahren, Anwendung, Qualitätssicherung. Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg, Berlin, Oxford
- CAPPAUL, E.; CARCAGNO, A.; DELUCA, L. (1989): Alterations in the semen quality and plasma enzymes in bulls. Relation with selenium deficiency. In: NEVE, J.; FAVIER, A. (Hrsg.): Selenium in medicine and biology. De Gruyter, Berlin, New York. 377-379
- CARVALHO, K.M.; GALLARDO-WILLIAMS, M.T.; BENSON, R.F.; MARTIN, D.F. (2003): Effects of Selenium Supplementation on Four Agricultural Crops. *J Agric Food Chem.* 51:704-709
- CAVA-MONTESINOS, P.; CERVERA, M.L.; PASTOR, A.; DE LA GUARDIA, M. (2003): Hydride generation atomic fluorescence spectrometric determination of ultratracés of selenium and tellurium in cow milk. *Analytica Chimica Acta.* 481:291-300
- CERVERA, M.L.; MONTORO, R. (1994): Critical review of the atomic absorption spectrometric analysis of arsenic in foods. *Fresenius J Anal Chem.* 348:331-340
- CIAPPELLANO, S.; TESTOLIN, G.; ALLEGRI, M.; PORRINI, M. (1990): Availability of selenium in dough and biscuit in comparison to wheat meal. *Ann Nutr Metab.* 34(6):343-349
- CHANSLER, M.W.; MUTANEN, M.; MORRIS, V.C.; LEVANDER, O.A. (1986): Nutritional bioavailability to rats of selenium in Brazil nuts and mushrooms. *Nutrition Research.* 6:1419-1428
- CHEN, L.; YANG, F.; XU, J.; HU, Y.; HU, Q.; ZHANG, Y.; PAN, G. (2002): Determination of Selenium Concentration of Rice in China and Effect of Fertilization of Selenite and Selenate on Selenium Content of Rice. *J Agric Food Chem.* 50(18):5128-5130
- CHENG, W.H.; VALENTINE, B.A.; LEI, X.G. (1999 a): High levels of dietary vitamin E do not replace cellular glutathione peroxidase in protecting mice from acute oxidative stress. *J Nutr.* 128:1070-1076
- CHENG, W.H.; FU, Y.X.; PORRES, J.M.; ROSS, D.A.; LEI, X.G. (1999b): Selenium-dependent cellular glutathione peroxidase protects mice against a pro-oxidant-induced oxidation of NADPH, NADH, lipids, and protein. *FASEB J.* 13:1467-1475
- CHU, F.F.; ESWORTHY, R.S.; LEE, L.; WILCZYNSKI, S. (1999): Retinoic acid induces Gpx2 gene expression in MCF-7 human breast cancer cells. *J. Nutr.* 129:1846-1854

- CLARK, L.C.; COMBS, G.F.; TURNBULL, S.W.; SLATE, E.H.; CHALKER, D.K.; CHOW, J.; DAVIS, L.S.; GLOVER, R.A.; GRAHAM, G.F.; GROSS, E.G.; KRONGRAD, A.; LESHER, J.L.; PARK, H.K.; SANDERS, B.B.; SMITH, C.L.; TAYLOR, J.R. (1996): Effects of selenium supplementation for cancer prevention in patients with carcinoma of the skin. *JAMA*. 276:1957-1963
- COBO-FERNÁNDEZ, M.G.; PALACIOS, M.A.; CHAKRABORTI, D.; QUEVAUVILLER, P.; CÁMARA, C. (1995): On line speciation of Se(VI), Se(IV), and trimethylselenium by HPLC-microwave oven-hydride generation-atomic absorption spectrometry. *Fresenius J Anal Chem*. 351:438-442
- COMBS, G.F.; COMBS, S.B. (1984): The nutritional biochemistry of selenium. *Ann. Rev. Nutr.* 4:257-280
- COMBS, G.F.; COMBS, S.B. (1986): The role of selenium in nutrition. Academic Press, Inc. Orlando, Florida
- COMBS, G.F. (1988): Selenium in foods. *Adv. Food Res.* 32:85-113
- COMBS, G.F. (2000): Food system-based approaches to improving micronutrient nutrition: the case for selenium. *BioFactors*. 12:39-43
- CONTEMPRE, B.; DUMONT, J.E.; BEBE, N.; THILLY, C.H.; DIPLOCK, A.T.; VANDERPAS, J. (1991a): Effect of selenium supplementation in hypothyroid subjects of an iodine and selenium deficient area: the possible danger of indiscriminate supplementation of iodine-deficient subjects with selenium. *J Clin Endocrinol Metab.* 73:213-215
- CONTEMPRE, B.; VANDERPAS, J.; DUMONT, J.E. (1991b): Cretinism, thyroid hormones and selenium. *Mol Cell Endocrinology*. 81:C193-195
- CUTTER, G.A. (1978): Species determination of selenium in natural waters. *Anal. Chim. Acta*. 98:59-66
- CUTTER, G.A. (1983): Elimination of Nitrite Interference in the Determination of Selenium by Hydride Generation. *Anal. Chim. Acta*. 149:391-394
- D-A-CH (2000): Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr. Deutsche Gesellschaft für Ernährung (DGE), Österreichische Gesellschaft für Ernährung (ÖGE), Schweizerische Gesellschaft für Ernährung (SGE) und Schweizerische Vereinigung für Ernährung (SVE). Umschau Braus GmbH, Verlagsgesellschaft, Frankfurt a.M., 1. Aufl.
- DAMKRÖGER, G. (1995): Vergleich verschiedener Aufschlußtechniken für die Bestimmung der Elemente Arsen und Selen mit FIA-AAS. Diplomarbeit im Fachgebiet Angewandte Chemie der Uni/GSH Paderborn
- DAMKRÖGER, G.; GROTE, M.; JANßEN, E. (1997a): Comparison of sample digestion procedures for the determination of arsenic in certified marine samples using the FI-HG-AAS-technique. *Fresenius J Anal Chem*. 357:817-821
- DAMKRÖGER, G.; GROTE, M.; JANßEN, E. (1997b): Selenium determination in biological materials using FI-HG-AAS-technique: Optimized Se(VI)-prereduction after high pressure ashing and microwave digestion. *Agribiol Res*. 50:11-16

- DANIELS, L.A. (1996): Selenium metabolism and bioavailability. *Biol. Trace Elem. Res.* 54:185-199
- DATE, A.R.; CHEUNG, Y.Y.; STUART, M.E. (1987): The influence of polyatomic ion interferences in analysis by inductively coupled plasma source mass spectrometry (ICP-MS). *Spectrochim. Acta.* 42B:3-20
- DEBSKI, B.; PICCIANO, M.F.; MILNER, J.A. (1987): Selenium content and distribution of human, cow and goat milk. *Am. J. Nutr.* 117:1091-1097
- DESCHUYTERE, A.; VERMEYLEN, K.; DEELSTRA, H. (1987): Vitamin E and selenium concentrations in milk and milk fractions. *Z Lebensm Unters Forsch.* 184:385-387
- Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG) (1991): Ableitung von Nachweisgrenze und Bestimmungsgrenze nach dem Eichkurvenverfahren. In: Rückstandsanalytik von Pflanzenschutzmitteln. 11. Lieferung, Kapitel XI-A. VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim
- Deutsche Norm DIN Nr. 32645 des Deutschen Institutes für Normung e.V. (1994): Chemische Analytik. Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze. Beuth-Verlag, Berlin Wien Zürich
- DGE Ernährungsbericht (2000). Deutsche Gesellschaft für Ernährung (Hrsg.), Druckerei Henrich, Frankfurt/M.
- DIPLOCK, A.T. (1978): The biological function of vitamin E and the nature of the interaction of the vitamin with selenium. *World Rev. Nutr. Diet.* 31:178-183
- DIPLOCK, A.T. (1987): Trace elements in human health with special reference to selenium. *Am J Clin Nutr.* 45:1313-1322
- DIPLOCK, A.T. (1994): Antioxidants and disease prevention. *Mol Aspects Med.* 15:293-376
- DITTRICH, K.; MANDRY, R. (1986): Investigations into the Improvement of the Analytical Application of the Hydride Technique in Atomic Absorption Spectrometry by Matrix Modification and Graphite Furnace Atomization. *Analyst.* 111:269-275
- DJUJIC, I.; JOZANOV-STANKOV, O.N.; MILOVAC, M.; JANKOVIC, V.; DJERMANOVIC, V. (2002): Bioavailability and Possible Benefits of Wheat Intake Naturally Enriched with Selenium and Its Products. *Biol. Trace Elem. Res.* 77(3):273-285
- DOWNES, C.P.; MCAULIFFE, C.A.; WINTER, M.R.C. (1979): Selenium in biochemistry. *Inorg. Per. Biol. Med.* 2:241-270
- DREHER, I.; SCHMUTZLER, C.; JAKOB, F.; KÖHRLE, J. (1997): Expression von Selenoproteinen in Geweben und Zelllinien. In: LOMBECK, I. (Hrsg.): Spurenelemente: Bedarf, Vergiftungen, Wechselwirkungen und neuere Meßmethoden. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart. 156-158
- DREOSTI, I. (1986): Selenium. *J. Food Nutr.* 43:60-78

- DUFFIELD-LILICO, A.J.; SLATE, E.H.; REID, M.E.; TURNBULL, B.W.; WILKINS, P.A.; COMBS, G.F.; PARK, H.K.; GROSS, E.G.; GRAHAM, G.F.; STRATTON, M.S.; MARSHALL, J.R. (2003): Selenium Supplementation and Secondary Prevention of Nonmelanoma Skin Cancer in a Randomized Trial. *Journal of the National Cancer Institute*. 95(19):1477-1481
- DUNEMANN, L. (1994): Mikrowellenaufschluß. In: STOEPLER, M. (Hrsg.): Probennahme und Aufschluß. Kapitel 12. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York
- EDELBAUER, A. (1994): Selengehalte im Grünlandaufwuchs und den zugehörigen Böden alpiner Gebiete Österreichs. VDLUFA-Kongress, Jena. Bericht 106:289-292
- EDELBAUER, A.; SPANISCHBERGER, H. (2000): Selengehalt im österreichischen Wintergetreidesortiment. *Ernährung/Nutrition*. 24(9):369-376
- EHRENKRANZ, R.A.; GETTNER, P.A.; NELLI, C.M.; SHERWONIT, E.A.; WILLIAMS, J.E.; TING, B.T.G.; JANGHORBANI, M. (1991): Selenium absorption and retention by very-low-birth-weight infants: studies with the extrinsic stable isotope tag ⁷⁴Se. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 13:125-133
- EICKEN, K.; SCHOLZ, H.; STOCKHOFE-ZURWIEDEN, N. (1992): Mangelhafte Selen- und Vitamin-E-Versorgung als Ursache für bestandsweise auftretende Peritarsitiden beim Rind. *Tierärztl. Umschau*. 47:843-847
- EIGEL, W.N.; BUTTER, J.E.; ERNSTROM, C.A.; FARREL Jr., H.M.; HARWALKER, V.R.; JENNES, R.; WHITNEY, R. (1984): Nomenclature of proteins of cow's milk: Fifth revision. *J. Dairy Sci*. 67:1599-1631
- EINBRODT, H.J.; MICHELS, S. (1984): Selen. In: MERIAN, E. (Hrsg.): Metalle in der Umwelt. Verlag Chemie Weinheim. Kap. II.19
- EKMEKCIOGLU, C. (2000): Spurenelemente auf dem Weg ins 21. Jahrhundert – zunehmende Bedeutung von Eisen, Kupfer, Selen und Zink. *J. Ernährungsmed*. 2:18-23
- EL-HALLAQ, Y.H.; GÖKMEN, I.G.; ARAS, N.K.; GÖKMEN, A. (1992): *Analyst*. 117:447. In: MATEK, M.; BLANUŠA, M.; GRGIĆ, J. (2000): Determination of the daily selenium intake in Croatia. *Eur Food Res Technol*. 210:155-160
- ELLIS, D.R.; SALT, D.E. (2003): Plants, selenium and human health. *Current Opinion in Plant Biology*. 6:273-279
- ELMADFA, I. (1986): Selenium (Se). AID-Verbraucherdienst. 31:183-189
- ELMADFA, I.; LEITZMANN, C. (1990): Ernährung des Menschen. 2. Auflage. Ulmer Verlag, Stuttgart. 210-215
- ELMADFA, I.; LEITZMANN, C. (1998): Ernährung des Menschen. 3. Auflage. Ulmer Verlag, Stuttgart
- ELMADFA, I.; BURGER, P. (1998): Österreichischer Ernährungsbericht. Inst. f. Ernährungswissenschaften der Univ. Wien (Hrsg.)

- European Community (Hrsg.). (1993): Nutrient and Energy Intakes for the European Community, Reports of the Scientific Committee, for Food, Thirty-first Series. – Luxembourg: Office for Official Publications of the European Community
- EVANS, E.H.; CARUSO, J.A. (1992): Optimization strategies for the reduction of non spectroscopic interferences in inductively coupled plasma mass spectrometry. *Spectrochim. Acta.* 47B:1001-1012
- EVANS, E.H.; GIGLIO, J.J. (1993): Interferences in inductively coupled plasma mass spectrometry, A Review. *J. Anal. At. Spectrom.* 8:1-18
- FAIRWEATHER-TAIT, S.J. (1992): Bioavailability of trace elements. *Food Chem.* 43:213-217
- FAIRWEATHER-TAIT, S.J. (1997): Bioavailability of selenium. *Europ J Clin Nutr.* 51:520-523
- FAIRWEATHER-TAIT, S.J. (1999): The importance of trace element speciation in nutritional sciences. *Fresenius J Anal Chem.* 363:536-540
- FALBE, J.; REGITZ, M. (Hrsg.) (1995): Römpp-Chemie-Lexikon, CD: Version 1.0 Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York
- FELDMANN, I.; JAKUBOWSKI, N.; STUEWER, D. (1999): Application of an Hexapole Collision and Reaction Cell in ICP-MS, Part I: Instrumental aspects and operational optimization. *Fresenius J Anal Chem.* 365:415-421
- FERRI, T.; SANGIORGIO, P. (1996): Determination of selenium speciation in river waters by adsorption on iron(III)-Chelex-100 resin and differential pulse cathodic stripping voltammetry. *Anal. Chim. Acta.* 321:185-193
- FINLEY, J.W. (1999): Does selenium accumulation in meat confer a health benefit to the consumer? *Proceedings of the American Society of Animal Science.* 1–10
- FLEET, J.C.; MAYER, J. (1997): Dietary selenium repletion may reduce cancer incidence in people at high risk who live in areas with low soil selenium. *Nutrition Reviews.* 55(7):277-279
- FLOHÉ, L.; GÜNZLER, W.A.; SCHOCK, H.H. (1973): Glutathione peroxidase: A selenoenzyme. *FEBS Lett.* 32:132-134
- FLOHÉ, L. (1989): The selenoprotein glutathione peroxidase. In: DOLPHIN, D.; POULSON, R.; AVRAMOVIC, O. (Hrsg.): Glutathione: Chemical, Biochemical and Medical Aspects – Part A. John Wiley & Sons Inc., New York. 643-731
- FLOHÉ, L.; WINGENDER, E.; BRIGELIUS-FLOHÉ, R. (1997): The regulation of glutathione peroxidases. In: FORMAN, H.; CADENAS, E. (Hrsg.): Oxidative stress and signal transduction. Verlag Chapman & Hall, New York. 415-435
- FLOHÉ, L.; AUMANN, K.D.; STEINERT, P. (1998): Role of selenium in the enzymatic reduction of hydroperoxides. *Phosphorous Sulfur Silicon.* 136:25-42
- FLOHÉ, L.; ANDREESEN, J.R.; BRIGELIUS-FLOHÉ, R.; MAIORINO, M.; URSINI, F. (2000): Selenium, the element of the moon, in life and earth. *IUBMB Life.* 49:411-420

- FOLLMANN, H.; HABERLEIN, I. (1996): Thioredoxins: universal, yet specific thiol-disulfide redox cofactors. *BioFactors*. 5:147-156
- FORBES, R.M.; ERDMAN, J.W. (1983): Bioavailability of trace mineral elements. *Ann. Rev. Nutr.* 3:213-231
- FORCHHAMMER, K.; BÖCK, A. (1991): Biologie und Biochemie des Elements Selen. *Naturwissenschaften*. 78:497-504
- FORTH, W.; HENSCHLER, W.; RUMMEL, W.; FÖRSTERMANN, U.; STARKE, K. (2001): Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie. Urban & Fischer Verlag München, Jena
- FOSTER, L.H.; SUMAR, S. (1997): Selenium in health and disease: A review. *Food Science and Nutrition*. 37(3):211-228
- FRIEDEN, E. (1985): New Perspectives on the Essential Trace Elements. *J. Chem. Educ.* 62:917-923
- GALLIGNANI, M.; VALERO, M.; BRUNETTO, M.R.; BURGUERA, J.L.; BURGUERA, M.; PETIT DE PEÑA, Y. (2000): Sequential determination of Se(IV) and Se(VI) by flow injection-hydride generation-atomic absorption spectrometry with HCl/HBr microwave aided pre-reduction of Se(VI) to Se(IV). *Talanta*. 52:1015-1024
- GASNIER, B.C.H. (2002): Einfluß einer Selen-Substitution auf den Verlauf einer Autoimmunthyreoiditis. Dissertation. Med. Fak. Univ. München
- GAßMANN, B. (1996): Selen – Vorkommen, Ernährungsphysiologie, Biochemie. Empfehlungen für die nutritive Zufuhr. Versorgung und Versorgungszustand in der Bundesrepublik Deutschland. *Ernährungs-Umschau*. 43(12):464-467
- GAßMANN, B. (2000): Dietary Reference Intakes, Report 3: Vitamine C und E, Selen, Carotinoide. *Ernährungs-Umschau*. 47(7):265–270
- GE, K.; XUE, A.; BAI, J.; WANG, S. (1983): Keshan disease – an endemic cardiomyopathy in China. *Virchows Arch. A. Pathol. Anat. Histopathol.* 401:1-15
- GEERING, H.R.; CARY, E.E.; JONES, L.H.P.; ALLAWAY, W.H. (1968): Solubility and redox criteria for the possible forms of selenium in soils. *Soil Sci. Am. Proc.* 32:35 In: SCHULTE, W. (1988): Untersuchungen zum Selengehalt von Futter- und Nahrungsmitteln in der Bundesrepublik Deutschland. Dissertation. Landw. Fak. Univ. Bonn
- GIBSON, R.S. (1994): Content and bioavailability of trace elements in vegetarian diets. *Am J Clin Nutr.* 59(suppl):1223S-1232S
- GISSEL-NIELSEN, G. (1976): Selenium in soils and plants. Proc. Symp.: Selenium and tellurium in the environment (Univ. of Notre Dame). In: SCHULTE, W. (1988): Untersuchungen zum Selengehalt von Futter- und Nahrungsmitteln in der Bundesrepublik Deutschland. Dissertation. Landw. Fak. Univ. Bonn
- GISSEL-NIELSEN, G.; GUPTA, U.C.; LAMAND, M., WESTERMARCK, T. (1984): Selenium in soils and plants and its importance in livestock and human nutrition. *Adv. in Agronomie*. 37:397-461

- GISSEL-NIELSEN, G. (1993): General aspects of selenium fertilization. *Norw. J. Agric. Sci.* 11:135-140
- GIVENS, D.I.; ALLISON, R.; COTTRILL, B.; BLAKE, J.S. (2004): Enhancing the selenium content of bovine milk through alteration of the form and concentration of selenium in the diet of the dairy cow. *J Sci Food Agric.* 84:811-817
- GLADYSHEV, V.N.; KRYUKOV, G.V. (1999): Evolution of selenocysteine-containing proteins: significance of identification and functional characterization of selenoproteins. *BioFactors.* 14:87-92
- GÖBEL, T. (1999): Molkenproteine, ihre Gewinnung und Verwendung. Diplomarbeit, Institut für Lebensmittelwissenschaft und Lebensmittelchemie, Landw. Fak. Univ. Bonn
- GRAMM, H.J.; KOPF, A.; EYRICH, K. (1992): Spurenelementsupplementierung im Rahmen langjähriger parenteraler Ernährungstherapien. In: BRÄTTER, P.; GRAMM, H.J. (Hrsg.): Mineralstoffe und Spurenelemente in der Ernährung des Menschen. Blackwell Wissenschafts-Verlag, Berlin. 34-41
- GRAY, A.L.; WILLIAMS, J.G. (1987): Oxide and doubly charged ion response of a commercial inductively coupled plasma mass spectrometry instrument. *J. Anal. At. Spectrom.* 2:81-82
- GÜNZLER, W.A.; STEFFENS, G.; GROSSMAN, A.; KIM, S.M.; OTTING, F.; WENDEL, A.; FLOHÉ, L. (1984): The amino acid sequence of bovine GSH-Px. *Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem.* 365:195-212
- GU, B.Q. (1983): Pathology of Keshan disease. A comprehensive review. *Chin. Med. J. (engl.)* 96:251-261
- GUO, T.; ERLER, W.; MCINTOSH, S. (1989): Bestimmung von Arsen und Selen in umweltrelevanten Proben und Materialien biologischen Ursprungs mit Fliessinjektions-Hydrid-AAS. In: WELZ, B. (Hrsg.): 5. Colloquium Atomspektrometrische Spurenanalytik. Bodenseewerk Perkin-Elmer GmbH. 385-393
- GUO, X.; WU, L. (1998): Distribution of free seleno-amino acids in plant tissue of *Melilotu indica* L. grown in selenium laden soils. *Ecotoxicol Environ Safety.* 39:207-214
- GUPTA, U.C.; WINTER, K.A. (1989): Effect of selenate and selenite forms of selenium in increasing the selenium concentration in forages and cereals. *Can. J. Soil Sci.* 69:885-888
- HAHN, A.; PREUBNER, K.; HEINEMEYER, G. (2002): Ärztliche Mitteilungen bei Vergiftungen nach §16e Chemikaliengesetz 2002. BfR-Pressestelle. 56-57
- HAIJ-BAKRI, F. (1996): Wirkung von Selen auf Wachstum, Selengehalt und Salzstreß bei der Buschbohne. Dissertation Humboldt-Univ. Berlin. Shaker Verlag, Aachen. ISSN 0945-0653
- HANDRECK, K.A. (1995): Comparisation of preplant and fertigated micronutrients on the growth of the herb inspiration. *Communication in Soil Science and Plant Analysis.* 26(17-18):3063-3081

- HARTFIEL, W.; BAHNERS, N. (1987): Selenmangel in der Bundesrepublik Deutschland. *VitaMinSpur*. 2:125-131
- HARTFIEL, W.; SCHULTE, W. (1988): Selenmangel in der Bundesrepublik (II). *Akt. Ernähr.* 13:77-82
- HAYGARTH, P.M.; JONES, K.C.; HARRISON, A.F. (1991): Selenium cycling through agricultural grasslands in UK: budgeting the role of the atmosphere. *Sci. Total Environ.* 103:89-111
- HAYGARTH, P.M. (1994): Global Importance and Global Cycling of Selenium. In: FRANKENBERGER, W.T. Jr.; BENSON, S. (Hrsg.): *Selenium in the Environment*. Marcel Dekker, Inc., New York, Basel, Hong Kong. 1-27
- HEITMANN, U. (2001): Laserangeregte Atomfluoreszenz-Spektrometrie. Eine hochempfindliche Methode zum Nachweis von Spurenelementen auch im VUV-Spektralbereich. Mensch-und-Buch-Verlag, Berlin. ISBN 3-89820-252-6
- HERRMANN, U. (2001): Auf Spurenelemente im Futter achten. *dlz*. 2001(1):100-104
- HERSHEY, J.W.; KELIHER, P.N. (1989/90): *Appl Spectrosc Rev.* 25:213-228. In: WELZ, B.; SPERLING, M. (1997): *Atomabsorptionsspektrometrie*. 4. neubearbeitete Auflage. Verlag Wiley-VCH, Weinheim, Berlin, New York
- HERZFELD, A. (1991): Das Verhalten ausgewählter Antioxidation- und Immunitätsparameter unter Selensubstitution bei Gesunden. In: KRUSE-JARRES, J.D. (Hrsg.): *Freie Radikale, Antioxidantien und Selen*. Biosymposia Fellbach. 25-32
- HESEKER, H. (2001): *Deutschland - ein Selenmangelland?* Universität Paderborn. www.physik.upb.de/evb/materialien/vortraege/selen_pp.pdf
- HIEFTJE, G.M. (1992): Towards the next generation of plasma source mass Spectrometers. *J. Anal. At. Spectrom.* 7:783-790
- HILL, S.J.; PITTS, L.; WORSFOLD, P. (1995): Investigation into the Kinetics of Selenium(VI) Reduction using Hydride Generation Atomic Fluorescence Detection. *J. Anal. At. Spectrom.* 10:409-411
- HINTZE, K.J.; LARDY, G.P.; MARCHELLO, M.J.; FINLEY, J.W. (2001): Areas with high concentrations of selenium in the soil and forage produce beef with enhanced concentrations of selenium. *J Agric Food Chem.* 49(2):1062-7
- HÖSCH, J. (2002): Einfluss der Düngung auf die Selenaufnahme von Getreide. Arbeitsgemeinschaft Landwirtschaftlicher Versuchsanstalten. Jahrestagung 2002 in Klosterneuburg
- HOLAK, W. (1969): Gas-sampling technique for arsenic determination by atomic absorption spectrophotometry. *Anal. Chem.* 41:1712-1713
- HOLLAND, D.; BEN-HAYYIM, G.; FALTIN, Z.; CAMOIN, L.; STROSBERG, A.D.; ESHDAT, Y. (1993): Molecular characterization of salt-stress-associated protein in citrus: Protein and cDNA sequence homology to mammalian glutathione peroxidases. *Plant Mol. Biol.* 21:923-927

- HOLLAND, D.; FALTIN, Z.; PERL, A.; BEN-HAYYIM, G.; ESHDAT, Y. (1994): A novel plant glutathione peroxidase-like protein provides tolerance to oxygen radicals generated by paraquat in *Escherichia coli*. *FEBS Lett.* 337:52-55
- HOLLEMANN, A.F. (1995): Lehrbuch der anorganischen Chemie / Hollemann-Wiberg. De Gruyter, Berlin, New York. 613-628
- HOU, S.; ZHU, Z.; TAN, J. (1984): The relationship between the selenium dynamics in the course of human body growth and the Kashin-Beck Disease epidemiology. *Acta Geogr Sinica.* 39:75-85
- HOUSE, W.A. (1999): Trace element bioavailability as exemplified by iron and zinc. *Field Crops Research.* 60:115-141
- Institute of Medicine (U.S.) (Hrsg.) (2000): Dietary reference intakes for vitamin C, vitamin E, selenium, and carotenoids. Food and Nutrition Board, Institute of Medicine, Panel on Dietary Antioxidants and Related Compounds. - Washington D.C. National Academy Press. 284-324
- IP, C.; GANTHER, H.E. (1992): Relationship between the chemical form of selenium and anticarcinogenic activity. In: WATTENBERG, I.; LIPKIN, M.; BOON, C.W.; KELLOTT, G.J.; BOCA RATON, F.L.: Cancer Chemoprevention. CRC Press. 479-488
- ITOH, K.; CHIKUMA, M.; TANAKA, H. (1988): Determination of selenium in sediments by hydride generation atomic absorption spectrometry. Elimination of interferences. *Fresenius J Anal Chem.* 330:600-604
- JACKWERTH, E.; GOMISCEK, S. (1984): Acid Pressure Decomposition In Trace Analysis. *Pure Appl. Chem.* 56(4):479-489
- JACKWERTH, E.; WÜRFELS, M. (1994): Der Druckaufschluß - apparative Möglichkeiten, Probleme und Anwendungen. In: STOEPLER, M. (Hrsg.): Probennahme und Aufschluß. Kapitel 11. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York
- JANGHORBANI, M.; KASPER, L.J.; YOUNG, V.R. (1984): Dynamics of selenite metabolism in young men: studies with the stable isotope tracer method. *Am J Clin Nutr.* 40:208-218
- JANGHORBANI, M.; MARTIN, R.F.; KASPER, L.J.; SUN, X.F.; YOUNG, V.R. (1990): The selenite-exchangeable metabolic pool in humans: a new concept for the assessment of selenium status. *Am J Clin Nutr.* 51:670-677
- JARVIS, K.E.; GRAY, A.L.; HOUK, R.S. (1992): Handbook of Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. Blackie, Glasgow und London
- JASKOWSKI, J.M. (1993): Über den Einfluß antepartaler Gaben von Selen-Vitamin-E-Kombinationen auf die Inzidenz puerperaler Störungen beim Rind. *Tierärztl. Prax.* 21:111-116.
- JIANG, C.; JIANG, W.; IP, C.; GANTHER, H.; LU, J. (1999): Selenium-induced inhibition of angiogenesis in mammary cancer at chemopreventive levels of intake. *Mol Carcinog.* 26:213-225

- JIMÉNEZ DE BLAS, O.; MATEOS, N.R.; SANCHEZ, A.G. (1996): Determination of Total Arsenic and selenium in Soil and Plants by Atomic Absorption Spectrometry with Hydride Generation and Flow Injection Analysis Coupled Techniques. *Journal of AOAC International* 79(3):764-768
- JOCHUM, F.; TERWOLBECK, K.; MEINHOLD, H.; BEHNE, D.; MENZEL, H.; LOMBECK, I. (1999): Is there any health risk of low dietary selenium supply in PKU-children? *Nutrition Research*. 19(3):349–360
- JULSHAMN, K.; RINGDAL, O.; SLINNING, K.E.; BRAEKKAN, O.R. (1982): Optimization of the determination of selenium in marine samples by atomic absorption spectrometry: Comparison of a flameless graphite furnace atomic absorption system. *Spectrochim. Acta*. 37B:473-482
- KADRABOVA, J.; MADARIC, A.; GINTER, E. (1998): Determination of the daily selenium intake in Slovakia. *Biol. Trace Elem. Res.* 61:277-286
- KARDINAAL, A.F.M.; KOK, F.J.; KOHLMEIER, L.; MARTIN-MORENO, J.M.; RINGSTAD, J.; GOMEZ-ARACENA, J.; MAZAEV, VP, THAMM, M.; MARTIN, B.C.; ARO, A.; KARK, J.D.; DELGADO-RODRIGUEZ, M.; RIEMERSMA, R.A.; VAN'T VEER, P.; HUTTUNEN, J.K. (1997): Association between toenail selenium and risk of acute myocardial infarction in European men. The EURAMIC Study. European Antioxidant Myocardial Infarction and Breast Cancer. *Am J Epidemiol.* 145(4):373-379
- KARLBERG, B.; PACEY, G.E. (1989): Flow Injection Analysis, A Practical Guide. Elsevier Science Publishers B.V.
- KAWAGUCHI, H.; TANAKA, T.; NAKAMURA, T.; MORISHITA, M.; MIZUIKE, A. (1987): Matrix effects in inductively coupled plasma mass spectrometry. *Anal. Sci.* 3:305-311
- KEMIRA (2004): Praxisberichte – Mineralische Selen-Düngung im Grünland. <http://www.kemira-growhow.com/DE/EventsAndNews/Konkret/KK03-04/>
- KESSLER, J. (1987): Selen und Vitamin E in der Schaffütterung. *Kleinviehzüchter*. 35:1123-1126
- KIEFER, I.; WETZER, K.; KUNZE, M. (2002): Lebensmittel- und Nährstoff-Verbrauch – Trends und Internationaler Vergleich. *J. Ernährungsmed.* 3:20-24
- KIEFFER, E. (1984): Metalle als lebensnotwendige Spurenelemente für Pflanzen, Tiere und Menschen. In: MERIAN, E. (Hrsg.): Metalle in der Umwelt. Verlag Chemie Weinheim. Kap. I.6
- KIRCHGEßNER, M. (1989) in: WOLFRAM, G.; KIRCHGEßNER, M.: Spurenelemente und Ernährung, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart
- KLÄNTSCHI, N.; LIENEMANN, P.; RICHNER, P.; VONMONT, H. (1996): Elementanalytik. Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg, Berlin, Oxford
- KLAWONN, W.; LANDFIELD, K.; MÜLLER, C.; KÜHL, J.; SALEWSKI, A.; HESS, R. (1996): Zum Einfluß von Selen auf Gesundheit und Stoffwechsel von Milchkühen. *Tierärztl. Umschau*. 51:411-417

- KLUGE, G.; EMBERT, G. (1996): Düngemittelrecht. Landwirtschafts-Verlag GmbH, Münster – Hilstrup
- KÖHLER, P. (1993): Untersuchungen zum Einfluß einer zusätzlichen Versorgung mit Selen auf Leistungs- und Stoffwechselfparameter weidender Milchkühe. Dissertation. Inst. f. Ernährung und Umwelt, Biol. Fak. Univ. Jena
- KÖHLER, P.; FARRIES, E.; ANKE, M.; SMIDT, D.; SALLMANN, H.P. (1994): Einfluß einer zusätzlichen Selen-Versorgung auf Leistungs- und Stoffwechselfparameter weidender Milchkühe. *Züchtungskunde*. 66(1):66-72
- KÖHRLE, J. (1994a): Thyroid hormone deiodination in target tissue – a regulatory role for the trace element selenium? *Exp Clin Endocrinol*. 102:63-89
- KÖHRLE, J. (1994b): Jod: Selen und Jodversorgung – endokrinologische Zusammenhänge. VII. Stuttgarter Mineralstoff-Symposium
- KÖHRLE, J.; BRIGELIUS-FLOHÉ, R.; BÖCK, A.; GÄRTNER, R.; MEYER, O.; FLOHÉ, L. (2000): Selenium in biology: facts and medical perspectives. *Biol Chem*. 381:849-864
- KOHLMEIER, M.; THEFELD, W.; STELTE, W.; GRIMM, R.; HÄUßLER, A.; HÜNCHEN, K.; REUTER, U.; SAUPE, J.; SCHEK, A.; KÜBLER, W. (1995): Versorgung Erwachsener mit Mineralstoffen und Spurenelementen in der Bundesrepublik Deutschland. VERA Schriftenreihe. Band V. Wissenschaftlicher Fachverlag Dr. Fleck, Niederkleen. C9-C13
- KOLB, M.; BAHR, A.; HIPPICH, S.; SCHULZ, W. (1993): Ermittlung der Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze nach DIN 32645 mit Hilfe eines Programmes. *Acta Hydrochim Hydrobiol*. 21(6):308-311
- KOLB, E.; GRÜN, E. (1995): Die Bedeutung des Vitamins E und des Selens für das Immunsystem des Rindes, insbesondere für die Eutergesundheit. *Prakt. Tierarzt*. 76:749-756
- KOOPS, J.; KLOMP, H.; WESTERBEEK, D. (1989): Determination of selenium in with by spectrofluorometry and by Zeeman-corrected, stabilized-temperature platform-furnace atomic absorption spectroscopy. Comparison of results. *Neth. Milk Dairy J*. 43:185-198
- KOUTNIK, V.; INGR, I. (1998): Fleisch als Selenquelle in der menschlichen Ernährung. *Fleischwirtschaft*. 78(5):534-536
- KUKLINSKI, B.; VORBERG, B.; RÜHLMANN, G.; ZIMMERMANN, R.; HERZFELD, A. (1990): Latenter Antioxidantienmangel in der DDR-Population. Ursachen und klinische Bedeutung. *Z Ges Inn Med*. 45:33-38
- KUNZE, U.R. (1990): Grundlagen der quantitativen Analyse. 3. Auflage. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York
- KYRIAKOPOULOS, A.; BEHNE, D. (2004): Untersuchung von Selenoproteinen. <http://www.hmi.de/bereiche/SF/SF6/arbeitsg/selen.html>
- LÄUCHLI, A. (1993): Selenium in Plants: Uptake, Function, and Environmental Toxicity. *Bot. Acta* 106:455-468

- LANGNER, B.E. (1993): Selenium and Selenium Compounds. Ullmann's Encyclopedia of Ind. Chem. Vol. A23. VCH-Publishers, Inc.
- LANNEK, N.; LINDBERG, P. (1975): Vitamin E and selenium deficiencies (VESD) of domestic animals. *Adv. Vet. Sci. Comp. Med.* 19:127-164
- LARSSON, M.; MINEKUS, M.; HAVENAAR, R. (1997): Estimation of the bioavailability of iron and phosphorus in Cereals using a Dynamic in vitro Gastrointestinal Model. *J Sci Food Agric.* 74:99-106
- LEBOEUF, R.A.; LAISHES, B.A.; HOEKSTRA, W.G. (1985): Effects of selenium on cell proliferation in rat liver and mammalian cells as indicated by cytokinetic and biochemical analysis. *Cancer res.* 45:5496-5504
- LEIBETSEDER, J. (2000): Selenanreicherung der Kuhmilch. *Ernährung/Nutrition.* 24:431-432 sowie in: Dreiländertagung der ÖGE/DGE/SGEF, Wien, 9. und 10. November 2000:14-15
- LEIBETSEDER, J. (2001): Influence of Se intake on Se content in cow's milk. Proc. 17th Intern. Congr. of Nutrition, Vienna, August 27th-31st 2001
- LEITZMANN, C.; HAHN, A. (1996): Vegetarische Ernährung. Ulmer Verlag, Stuttgart
- LEVANDER, O.A.; BAUMANN, C.A. (1966): Selenium Metabolism-Effect of arsenic on the excretion of selenium in the bile. *Tox. and Appl. Pharm.* 9:106-110
- LEVANDER, O.A. (1983): Considerations in the design of selenium bioavailability studies. *Federation Proceedings.* Vol. 42(6):1721-1725
- LEVANDER, O.A.; ALFTHAN, G.; ARVILOMMI, H.; GREF, C.G.; HUTTUNEN, J.K.; KATAJA, M.; KOIVISTOINEN, P.; PIKKARAINEN, J. (1983): Bioavailability of selenium to Finnish men as assessed by platelet glutathione peroxidase activity and other blood parameters. *Am. J. Clin. Nutr.* 37:887-897
- LEVANDER, O.A. (1987): A global view of human selenium nutrition. *Ann. Rev. Nutr.* 7:227-250
- LINTSCHINGER, J.; FUCHS, N.; MOSER, J.; KUEHNELT, D.; GOESSLER, W. (2000): Selenium-enriched sprouts. A raw material for fortified cereal-based diets. *J Agric Food Chem.* 48(11):5362-5368
- LITOV, R.E.; COMBS, G.F. (1991): Selenium in pediatric nutrition. *Pediatrics.* 87:339-351
- LÖNNERDAL, B. (1985): Dietary factors affecting trace element bioavailability from human milk, cow's milk and infant formulas. *Progress in food and nutrition science.* 9:35-62
- LÖNNERDAL, B.; GLAZIER, C.E.; LIEN, E.L. (1992): Selenium supplementation of infant formula: uptake and retention of various forms of selenium in suckling rats. *J. Nutr. Biochem.* 3:644-652
- LOCKITCH, G.; TAYLOR, G.P.; WONG, L.T.K.; DAVIDSON, A.G.F.; DIXOU, P.J.; RIDELL, D.; MASSING, P. (1990): Cardiomyopathy associated with nonendemic selenium deficiency in a Caucasian adolescent. *Am J Clin Nutr.* 52:572-581

- LONGNECKER, M.P.; STAMPFER, M.J.; MORRIS, J.S.; SPATE, V.; BASKETT, C.; MASON, M.; WILLETT, W.C. (1993): A 1-y trial of the effect of high selenium-bread on selenium concentrations in blood and toenails. *Am J Clin Nutr.* 57:408-413
- LOMBECK, I. (1990): Selenversorgung und Selenmangel beim Menschen. In: WOLFFRAM, G.; KIRCHGEßNER, M. (Hrsg.): Spurenelemente und Ernährung. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart. 151-159
- LOW, S.C.; BERRY, M.J. (1996): Knowing when not to stop: selenocysteine incorporation in eukaryotes. *Trends Biochem Sci.* 21:203-208
- LUTEN, J.; CREWS, H.; FLYNN, A.; VAN DAEL, P.; KASTENMAYER, P.; HURRELL, R.; DEELSTRA, H.; SHEN, L.; FAIRWEATHER-TAIT, S.J.; HICKSON, K.; FARRÉ, R.; SCHLEMMER, U.; FROHLICH, W. (1996): Interlaboratory trial on the determination of the in vitro iron dialysability from food. *J Sci Food Agric.* 72:415-424
- MACPHERSON, A.; SCOTT, R.; YATES, R.W.S. (1993): The effect of selenium supplementation in subfertile males. In: ANKE, M.; MEISSNER, D.; MILLS, C.F. (Hrsg.): Trace Elements in Man and Animals-TEMA 8. Verlag Media Touristik, Gersdorf
- MACPHERSON, A.; BARCLAY, M.N.I.; SCOTT, R.; YATES, R.W.S. (1993): Loss of Canadian wheat lowers selenium intake and status of the Scottish population. In: FISCHER, P.W.F.; L'ABBÉ, M.R.; COCKELL, K.A.; GIBSON, R.S. (Hrsg.): Trace Elements in Man and Animals 9: Proceedings of the Ninth International Symposium on Trace Elements in Man and Animals. NRC Research Press, Ottawa. 203-205
- MAFF (2000): The Feedstuffs Regulations 2000. HMSO, London
- MAIORINO, M.; ROVERI, A.; URSINI, F. (1992): Antioxidant effect of Ebselen (PZ51): Peroxidase mimetic activity on phospholipid and cholesterol hydroperoxides vs. free radical scavenger activity. *Arch. Biochem. Biophys.* 295:404-409
- MAIORINO, M.; WISSING, J.B.; BRIGELIUS-FLOHÉ, R.; CALABRESE, F.; ROVERI, A.; STEINERT, P.; URSINI, F.; FLOHÉ, L. (1998): Testosterone mediates expression of the selenoprotein PHGPx by induction of spermatogenesis and not by direct transcriptional gene activation. *FASEB J.* 12:1359-1370
- MARCOCCI, L.; FLOHÉ, L.; PACKER, L. (1997): Evidence for a functional relevance of the selenocysteine residue in mammalian thioredoxin reductase. *BioFactors.* 6:351-358
- MARKTL, W. (2001): Physiologie und Ernährungsphysiologie von Selen. *J Miner Stoffwechs.* 3:34-36
- MARYLAND, H.F.; JAMES, L.F.; PANTER, K.E.; SONGEREGGER, J.L. (1989): Selenium in seleniferous environments. In: JACOBS, L.W.; MADISON, W.I.: Selenium in Agriculture and the Environment. Soil Science Society of America. 15-50
- MATEK, M.; BLANUŠA, M.; GRGIĆ, J. (2000): Determination of the daily selenium intake in Croatia. *Eur Food Res Technol.* 210:155-160
- MATHIAS, M.M.; HOGUE, D.E.; LOOSLI, J.K. (1967): The biological value of selenium in bovine milk for the rat and chick. *J. Nutr.* 93:14-20

- MATHIS, A.; HORBER, H.; JUCKER, H. (1982): Selenstoffwechsel beim Wiederkäuer – Eine Literaturübersicht. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 124:591-601
- MATSUI, M.; OSHIMA, M.; OSHIMA, H.; TAKAKU, K.; MARUYAMA, T.; YODOI, J.; TAKETO, M.M. (1996): Early embryonic lethality caused by targeted disruption of the mouse thioredoxin gene. *Develop. Biol.* 178:179-185
- MATTER, L. (1994): Tierische und pflanzliche Lebensmittel – Probennahme, Probenvorbereitung, Analytik. In: STOEPLER, M. (Hrsg.): Probennahme und Aufschluß. Kapitel 9. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York
- MATZKA, B. (1997): Vergleichende Darstellung der Supplementierung mit anorganischem und organisch gebundenem Selen beim Milchrind. Dissertation, Vet. Med. Univ. Wien
- MAYER, D.; HAUBENWALLNER, S.; KOSMUS, W.; BEYER, W. (1992): Modified electrical heating system for hydride generation atomic absorption spectrometry and elaboration of a digestion method for the determination of arsenic and selenium in biological materials. *Anal. Chim. Acta.* 268(2):315-321
- MAYER, I.M. (1998): Selen und seine Bedeutung für die menschliche Ernährung. AID-Verbraucherdienst. 43:632-636
- MCKENZIE, R.C., RAFFERTY, T.S.; BECKETT, G.J. (1998): Selenium: an essential element for immune function. *Immunol Today.* 19:342-345
- MCLAREN, J.W. (1992): An ICP-MS applications bibliography. *At. Spectrosc.* 13:81-88
- MELTZER, H.M.; NORHEIM, G.; LOKEN, E.B.; HOLM, H. (1992): Supplementation with wheat selenium induces a dose-dependent response in serum and urine of a Se-replete population. *Br. J. Nutr.* 67:287-294
- MICHALKE, B.; SCHRAMMEL, P. (1998): Selenium speciation by interfacing capillary electrophoresis with inductively coupled plasma mass spectrometry. *Electrophoresis.* 19:270-275
- MICHALKE, B. (2000): CE-ICP-MS: Advantages and Improvements in Selenium Speciation. *Spectroscopy.* 15(4):31-34
- MILLER, D.D.; SCHRICKER, B.R.; RASMUSSEN, R.R.; VAN CAMPEN, D. (1981): An in vitro method for estimation of iron availability from meals. *Am J Clin Nutr.* 34:2248-2256
- MILLS, G.C. (1957): Hemoglobin catabolism. I. Glutathione peroxidase, an erythrocyte enzyme which protects hemoglobin from oxidative breakdown. *J. Biol. Chem.* 229:189-197
- MILLS, C.F. (1985): Dietary interactions involving the trace elements. *Ann. Rev. Nutr.* 5:173-193
- MILNER, J.A. (1990): Trace minerals in the nutrition of children. *J. Pediatr.* 1990:147-155
- MINDAK, W.R.; DOLAN, S.P. (1999): Determination of Arsenic and Selenium in Food using a Microwave Digestion-Dry Ash Preparation and Flow Injection Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry. *J Food Comp Anal.* 12:111-122

- MITCHELL, J.A. (1997): Sodium salicylate inhibits cyclo-oxygenase-2 activity independently of transcription factor (nuclear factor kappaB) activation: role of arachidonic acid. *Mol Pharmacol.* 51(6):907-912
- MUKHOPADHYAY-SARDAR, S.; RANA, M.P.; CHATTERJEE, M. (2000): Antioxidant associated chemoprevention by selenomethionine in murine tumor model. *Mol Cell Biochem.* 206(1-2):17-25
- MURPHY, M.D.; QUIRKE, W.A. (1997): The effect of sulphur / nitrogen / selenium interactions on herbage yield and quality. *Irish J. Agric. & Food Res.* 36:31-38
- MUTANEN, M. (1986): Bioavailability of selenium. *Ann. Clin. Res.* 18:48-54
- MUTANEN, M.; KOIVISTOINEN, P.; MORRIS, V.C. (1987): Relative nutritional availability to rats of selenium in Finnish spring wheat (*Triticum aestivum* L.) fertilized or sprayed with sodium selenate and in an American winter bread wheat naturally high in Se. *Br J Nutr.* 57:319-329
- NADKARNI, R.A. (1984): Applications of microwave oven sample dissolution in analysis. *Anal. Chem.* 56:2233-2237
- NAHAPETIAN, A.T.; JAGHORBANI, M.; YOUNG, V.R. (1983): Urinary trimethylselenonium excretion by the rat. *J. Nutr.* 113:113-117
- NAQVI, S.M.S.; OZALP, V.C.; OKTEM, H.A.; YOCEL, M. (1995): Salt induced synthesis of new proteins in the roots of rice varieties. *J. Plant Nutr.* 18:1121-1137
- NEUMANN-MUMME, U.; BRONSCH, K. (1991): Zur Beurteilung der Se-Versorgung beim Wiederkäuer. *Prakt. Tierarzt.* 72:101-105
- NÉVE, J. (1995): Human selenium supplementation as assessed by changes in blood selenium concentration and glutathione activity. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 9:65-73
- NÉVE, J. (1996): Selenium as a risk factor for cardiovascular diseases. *J Cardiovasc Risk.* 3(1):42-47
- NRC (1989a): Mineral Tolerance of Domestic Animals. Nutrient Requirements of Horses. Washington D.C. 5th rev. edition. National Academy Press
- NRC (1989b): National Research Council: Recommended Dietary Allowance. National Council of Science. Washington D.C. 10th edition. National Academy Press
- OLDFIELD, J.E. (1985): Some implications of selenium in pig nutrition. *Pig News and Information.* 6:419-424
- OLIVARES, J.A.; HOUK, R.S. (1986): Suppression of analyte signals by various concomitant salts in ICP-MS. *Anal. Chem.* 58:20-25
- OLIVAS, R.M.; DONARD, O.F.X.; CÁMARA, C.; QUEVAUVILLER, P. (1994): Analytical techniques applied to the speciation of selenium in environmental matrices. *Anal. Chim. Acta.* 286:357-370

- OLIVIERI, O.; STANZIAL, A.M.; GIRELLI, D.; TREVISAN, M.T.; GUARINI, P.; TERZI, M.; CAFFI, S.; FONTANA, F.; CASARIL, M.; FERRARI, S. (1994): Selenium status, fatty acids, vitamins A and E, and aging: The Nove Study. *Am. J. Clin. Nutr.* 60(4):510-517
- ORTMAN, K.; PEHRSON, B. (1997): Selenite and selenium yeast as feed supplements for dairy cows. *J Vet Med.* 44:373-380
- ORTMAN, K.; PEHRSON, B. (1999): Effect of Selenate as a Feed Supplement to Dairy Cows in Comparison to Selenite and Selenium Yeast. *J Anim Sci.* 77:3365-3370
- ORTUÑO, J.; ROS, G.J.; PERIAGO, M.J.; MARTINEZ, C.; LOPEZ, G.; RODRIGO, J. (1996): Selenium bioavailability and methods of evaluation. *Food Science and Technology International.* 2:135-150
- OSTER, O.; PRELLWITZ, W.; KASPER, W.; MEINERTZ, T. (1983): Congestive cardiomyopathy and the selenium content of serum. *Clin Chim Acta.* 128:125-132
- OSTER, O.; DREXLER, M. (1986): The serum selenium concentration of patients with acute myocardial infarction. *Am Clin Res.* 18:36-42
- OSTER, O.; SCHMIEDEL, G.; PRELLWITZ, W. (1988): The organ distribution of selenium in German adults. *Biol. Trace Elem. Res.* 15:23-45
- OSTER, O.; DAHM, M.; OELERT, H.; PRELLWITZ, W. (1989): Concentrations of some trace elements (Se, Zn, Cu, Fe, Mg) in blood and heart tissue of patients with coronary heart disease. *Clin Chem.* 35:851-856
- OSTER, O.; PRELLWITZ, W. (1990): Selenium and cardiovascular Disease. *Biol. Trace Elem. Res.* 24:91-103
- OSTER, O. (1992): Zum Selenstatus in der Bundesrepublik Deutschland. Universitätsverlag Jena, Frankfurt, Budapest, Den Haag, USA
- OSTER, O.; SIEVERS, E. (1995): Renale und fäkale Verluste von Spurenelementen. In: HAAS, H.J. (Hrsg.): Mechanismen des Transports von Mineralstoffen und Spurenelementen. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart. 41-50
- OSTER, O. (1996): Selen – ein essentielles Spurenelement. Die Situation der Selenversorgung in der Bundesrepublik Deutschland. *Med Welt.* 47:12-23
- OSTER, O. (2003): Selen. In: EBERSDOBLER, H.F.; MEYER, A.H.: Praxishandbuch Functional Food 10. Behr's Verlag, Hamburg
- OTTO, M. (1995): Analytische Chemie. VCH, Weinheim. 147-176
- PATCHING, S.G.; GARDINER, P.H.E. (1999): Recent Developments in Selenium Metabolism and Chemical Speciation: A Review. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 13:193–214
- PEHRSON, B.; ORTMAN, K. (1995): Comparative study of selenite and selenium yeast (Sel-Plex 50) as feed supplements for multiparous dairy cows. In: LYONS, T.P.; JACQUES, K.A. (Hrsg.): Biotechnology in the Feed Industry: Proceedings of Alltech's 11th Annual Symposium. Nottingham University Press, Nottingham. 283-286

- PEHRSON, B. (1996): Milk analysis, nutritional and disease status of dairy cows. In: GARNSWORTHY, P.C.; WISEMAN, J.; HARESIGN, W. (Hrsg.): Recent Advances in Animal Nutrition. Nottingham University Press, Nottingham. 113-133
- PENG, A.; YANG, C.; RUI, H.; LI, H. (1992): Study on the pathogenic factors of Kashin-Beck disease. *J. Toxicol. Environ. Health.* 35:79-90
- PERSSON MOSCHOS, M. (2000): Selenoprotein P. *Cell Mol Life Sci.* 57:1836-1845
- PETRIE, H.T.; KLASSEN, L.W.; KLASSEN, P.S.; O'DELL, I.R.; KAY, H.D. (1989): Selenium and the immune response. *J Leuk Biol.* 45:215-227
- PETTERSSON, J.; OLIN, Å. (1991): The rate of reduction of selenium(VI) to selenium(IV) in hydrochloric acid. *Talanta.* 38(4):413-417
- PFANNHAUSER, W. (1988): Essentielle Spurenelemente in der Nahrung. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York, London, Paris, Tokyo.
- PFANNHAUSER, W. (1992a): Das essentielle Spurenelement Selen: Bedeutung, Wirkung und Vorkommen in der Nahrung. I. Essentialität, Funktion und Aufnahme. Selengehalt in Böden, Pflanzen und Tieren. *Ernährung/Nutrition.* 16(9):506-508
- PFANNHAUSER, W. (1992b): Das essentielle Spurenelement Selen: Bedeutung, Wirkung und Vorkommen in der Nahrung. III. Selen in der Nahrung: Selenversorgung und Aufnahmedaten aus Österreich im Vergleich mit Daten aus anderen Ländern. *Ernährung/Nutrition.* 16(11):642-646
- PFANNHAUSER, W. (1994): Selenaufnahme in Europa. In: ANKE, M; MEIBNER, D.; BERGMANN, H.; BÜSCH, H.; DORN, W.; FLACHOWSKY, G.; GROPP, B.; GÜRTLER, H.; LOMBECK, I.; LUCKAS, B.; MERBACH, W.; SCHNEIDER, H.J. (Hrsg.): Defizite und Überschüsse an Mengen- und Spurenelementen in der Ernährung. Verlag Harald Schubert, Leipzig. 79-94
- PILON-SMITS, E.A.G.; HWANG, S.; LYTLE, C.M.; ZHU, Y.; TAI, J.C.; BRAVO, R.C.; CHEN, Y.; LEUSTEK, T.; TERRY, N. (1999): Overexpression of ATP sulfurylase in indian mustard leads to increased selenate uptake, reduction, and tolerance. *Plant Physiology.* 119:123-132
- PSA (1999): Technisches Datenblatt Hydrid XIII/3. Millennium Excalibur System. PS Analytical LTD, Kent, England
- RAYMAN, M.P. (1997): Dietary selenium: Time to act – Low bioavailability in Britain and Europe could be contributing to cancers, cardiovascular disease, and subfertility. *British Medical Journal.* 314:387-388
- RAYMAN, M.P. (2000a): The importance of Selenium to human health. *The Lancet.* 356:233-241
- RAYMAN, M.P.; CLARK, L.C. (2000b): Selenium in cancer prevention. In: ROUSSEL, A.M.; FAVIER, A.; ANDERSON, R.A. (Hrsg.): Trace elements in man and animals 10: Proceedings of the tenth international symposium on trace elements in man and animals. Plenum Press, New York. 575-580

- RAYMAN, M.P. (2002): The argument for increasing selenium intake. *Proceedings of The Nutrition Society*. 61(2):203-215(13)
- REDDY, B.S. (1996): Micronutrients as chemopreventive agents. In: STEWART, B.W.; MCGREGOR, D.; KLEIHUES, P. (Hrsg.): Principles of Chemoprevention. IARC Scientific Publications No. 139. International Agency for Research on Cancer, Lyon. 221-235
- REGESTER, G.O.; MCINTOSH, G.H.; LEE, V.W.K.; SMITHERS, G.W. (1996): Whey proteins as nutritional and functional food ingredients. *Food Aust.* 48(3):123-127
- REID, M.; DUFFIELD-LILICO, A.J.; GARLAND, L.; TURNBULL, B.W.; CLARK, L.C.; MARSHALL, J.R. (2002): Selenium supplementation and lung cancer incidences: an update of the nutritional prevention cancer trial. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 11:1285-1291
- REILLY, C. (1993): Selenium in health and disease: a review. *Aust. J. Nutr. Diet.* 50:136-144
- REILLY, C. (1996a): Selenium in Food and Health. Blackie Academic & Professional, London
- REILLY, C. (1996b): Selenium supplementation-the Finnish experiment. *Br. Nutr. Found. Nutr. Bull.* 21:167-173
- REILLY, C. (1998): Selenium: A new entrant into the functional food arena. *Trends in Food Science & Technology.* 9:114-118
- REUTER, U. (1996): Die Versorgung der bundesdeutschen Bevölkerung mit Jod und Selen. Auswertung einer repräsentativen Querschnittsuntersuchung (VERA) bei Erwachsenen in der Bundesrepublik Deutschland in den Jahren 1987/88. Dissertation. Inst. f. Ernährungs- und Haushaltswissenschaften, Justus-Liebig-Univ. Gießen
- RHOADES, C.B. (1996): Clean Laboratory Chemistry for the Microwave-assisted Digestion of Botanical Samples. *J Anal Atom Spectrom.* 11:751-757
- RICHTER, D.; BERGMANN, H. (1994): Eintritt von Selen in die Nahrungskette: Selenaufnahme der Pflanzen aus dem Boden. In: ANKE, M.; MEISSNER, D.; BERGMANN, H.; BÜSCH, H.; DORN, W.; FLACHOWSKY, G.; GROPPPEL, B.; GÜRTLER, H.; LOMBECK, I.; LUCKAS, B.; MERBACH, W.; SCHNEIDER, H.J. (Hrsg.): Defizite und Überschüsse an Mengen- und Spurenelemente in der Ernährung. Verlag Harald Schubert, Leipzig. 164-170
- ROBINSON, M.F.; THOMSON, C.D. (1983): The role of selenium in the diet. *Nutr. Abst. Rev. Clin. Nutr.* 53:3-26
- ROBBERECHT, H.J.; HENDRIX, P.; VAN CAUWENBERGH, R.; DEELSTRA, H.A. (1994): Actual daily dietary intake of selenium in Belgium, using duplicate portion sampling. *Z Lebensm Unters Forsch.* 199:251-254
- ROCHER, C.; LALANN, J.L.; CHAUDIERE, J. (1992): Purification and properties of a recombinant sulfur analog murine selenium-glutathione peroxidase. *Eur J Biochem.* 205(3):955-960

- RODRIGUEZ RODRIGUEZ, E.M.; SANZ ALAEJOS, M.; DIAZ ROMERO, C. (1997): Comparison of mineralization methods for fluorimetric determination of selenium in Milks. *Z Lebensm Unters Forsch.* 204:425-428
- ROIG, M.J.; ALEGRIA, A.; REYES, B.; FARRÉ, R.; LAGARDA, M.J. (1999): Effects of different infant formula components on calcium dialysability. *Eur Food Res Technol.* 209:93-96
- ROSENFELD, I.; BEATH, O.A. (1964): Selenium – Geobotany, biochemistry, toxicity and nutrition. Academic Press, London, New York
- ROTRUCK, J.T.; POPE, A.L.; GANTHER, H.E.; HAFEMAN, D.G.; SWANSON, A.B.; HOEKSTRA, W.G. (1973): Selenium: biochemical role as a component of glutathione peroxidase. *Science.* 588-590
- ROY, M; KIREMIDIJAN-SCHUMACKER, L.; WISKE, H.I.; COHEN, M.M.; STOTZKY, G. (1990): Selenium and immuno cell functions. *Proc Soc Exp Biol Med.* 193:143-152
- RUZICKA, J.; HANSEN, E.H. (1975): Flow Injection Analysis Part 1. A New Concept of Fast Continuous Flow Analysis. *Anal. Chim. Acta.* 78:145-157
- RUZICKA, J.; HANSEN, E.H. (1988): Flow Injection Analysis. Second Edition. Verlag John Wiley & Sons
- SAGER, M. (1994): Spurenanalytik des Selens. In: GÜNZLER, H.; BORSODORF, R.; DANZER, K.; FRESENIUS, W.; HUBER, W.; LÜDERWALD, I.; TÖLG, G.; WISSER, H.: Analytiker Taschenbuch Nr. 12. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York, London, Paris, Tokyo. 258-308
- SALONEN, J.T.; ALFTHAN, G.; PIKKARAINEN, J.; HUTTUNEN, J.K.; PUSKA, P. (1982): Association between cardiovascular death and myocardial infarction and serum selenium in a matched pair longitudinal study. *The Lancet.* 2:175-179
- SALONEN, J.T. (1987): Selenium in ischaemic heart disease. *Int J Epidem.* 16:323-328
- SALONEN, J.T.; SALONEN, R.; SEPPAENEN, K. KANTOLA, M.; PARVIAINEN, M.; ALFTHAN, G.; MAENPAA, P.H.; TASKINEN, E.; RAURAMAA, R. (1988): Relationship of serum selenium and antioxidants to plasma lipoproteins, platelet aggregability and prevalent ischemic heart disease in Eastern Finnish men. *Atherosclerosis.* 70(1-2):155-160
- SATTLER, W.; MAIORINO, M.; STOCKER, R. (1994): Reduction of HDL- and LDL-associated cholesterylester and phospholipid hydroperoxides by phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase and Ebselen (PZ 51). *Arch Biochem Biophys.* 309:221-224
- SCF (2000): Opinion of the Scientific Committee on Food on the Tolerable Upper Intake Level of Selenium. Scientific Committee on Food SCF/CS/NUT/UPPLEV/25. Final 28. Nov. 2000
- SCHEID, S. (1989): Untersuchungen zum Stoffwechsel von Selen und Selenoproteinen in Geweben der Ratte. Dissertation. Hahn-Meitner-Institut Berlin
- SCHLATTER, J. (2003): Wie gefährlich ist Acrylamid? Acrylamid bgVV Text. Schweizerisches Bundesamt für Gesundheit (BAG), Sektion Lebensmitteltoxikologie

- SCHLOSKE, L.; WALDNER, H.; MARX, F. (2002): Optimisation of sample pre-treatment in the HG-AAS selenium analysis. *Anal Bioanal Chem.* 372:700-704
- SCHLOSKE, L.; WALDNER, H.; MARX, F.; MIELKE, K.; LUX, J. (2003a): Untersuchung der Selengehalte in den Mahlfractionen von Weizen nach einer Selenanreicherung durch Flüssig-Blattapplikation. *Getreide Mehl und Brot.* 57(1):9-14
- SCHLOSKE, L.; WALDNER, H.; LUX, J.; MARX, F. (2003b): Selengehalte in Milch nach einer Selenanreicherung der Grassilage durch Flüssig-Blattapplikation. *Ernährung/Nutrition.* 27(9):357-364
- SCHMIDT, K.; BAYER, W. (1988): Selen – Aktueller wissenschaftlicher Erkenntnisstand. *VitaMinSpur*, 3 (Supplement 1):1-20
- SCHMÖGER, M. (2000): Phytochelatine: Komplexierung von Metallen und Metalloiden, Untersuchungen zur Phytochelatin-Synthese. Dissertation. Lehrstuhl für Botanik, TU München
- SCHÖNTHALER, S. (1998): Untersuchungen zur Selenversorgung von Vollblutstuten und deren Fohlen während Trächtigkeit, Laktation und Aufzucht. Dissertation. Inst. f. Tierernährung, Fachbereich Veterinärmedizin. FU Berlin
- SCHOLZ, H. (1988): Selen-/Vitamin-E-Mangel – Realität auch in unseren Rinderpraxen? *Prakt. Tierarzt.* Coll. Vet. XIX:22-27
- SCHOMBURG, L.; SCHWEIZER, U.; HOLTMANN, B.; FLOHÉ, L.; SENDTNER, M.; KOHRLE, J. (2003): Gene disruption discloses role of selenoprotein P in selenium delivery to target tissues. *Biochem. J.* 370:397-402
- SCHRADER, W.; PORTALA, F.; WEBER, D.; FANG, Z. (1989): Analyse von Spurenelementen in stark salzhaltigen Lösungen mit Hilfe der FI-Flammen AAS. In: WELZ, B. (Hrsg.): 5. Colloquium Atomspektrometrische Spurenanalytik. Bodenseewerk Perkin-Elmer GmbH. 375-383
- SCHRAUZER, G.N. (1998): Selen - Neue Entwicklungen aus Biologie, Biochemie und Medizin, 3. Auflage, Barth Verlag, Heidelberg, Leipzig
- SCHRAUZER, G.N. (2000): Selenomethionine: A Review of its nutritional significance, metabolism and toxicity. American Society for Nutritional Sciences. *J. Nutr.* 130:1653-1656
- SCHRICKER, B.R.; MILLER, D.D.; RASMUSSEN, R.R.; VAN CAMPEN, D. (1981): A comparison of in vivo and in vitro methods for determining availability of iron from meals. *Am J Clin Nutr.* 34:2257-2263
- SCHUBERT, R.; LEUPOLD, M. (2001): Vorteile und Nachteile vegetarischer Kostformen. *Ernährungs-Umschau.* 48(3):96-101
- SCHULTE, W. (1988): Untersuchungen zum Selengehalt von Futter- und Nahrungsmitteln in der Bundesrepublik Deutschland. Dissertation. Inst. f. Tierernährung, Landw. Fak. Univ. Bonn
- SCHWARZ, K.; FOLTZ, C.M. (1957): Selenium As An Integral Part of Factor 3 Against Dietary Necrotic Liver Degeneration. *J Am Chem Soc.* 79:3292-3293

- SCHWARZ, K. (1976): The discovery of the essentially of selenium, and related topics. (A personnel account). Proceedings of the symposium on selenium-tellurium in the environment. Notre Dame, Indiana. 11.-13.May 1976. 349-376
- SCHWEDT, G. (1995): Analytische Chemie. Grundlagen, Methoden und Praxis. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York
- SEKO, Y.; IMURA, N. (1997): Active oxygen generation as a possible mechanism of selenium toxicity. *Biomed. Environ. Sci.* 10:333-339
- SELENIUM (1987): Environmental Health Criteria. WHO, Genf. 58
- SHAMBERGER, R.J.; (1976): Selenium in Health and Disease, Symposium on Selenium-Tellurium in the Environment, University of Notre Dame, Indiana. Mai 1976. 253-267
- SHAMBERGER, R.J. (1983): Biochemistry of Selenium. Plenum Press, New York, London
- SHEN, L.; VAN DAEL, P.; DEELSTRA, H. (1993): Evaluation of an in vitro method for estimation of the selenium availability from cow's milk. *Z Lebensm Unters Forsch.* 197:342-345
- SHEN, L.; VAN DAEL, P.; LUTEN, J.; DEELSTRA, H. (1996): Estimation of selenium bioavailability from human, cow's, goat and sheep milk by an in vitro method. *Int J Food Sci Nutr.* 47:75-81
- SHEN, L.; VAN DYCK, K., LUTEN, J.; DEELSTRA, H. (1997): Diffusibility of Selenate, Selenite, Seleno-Methionine, and Seleno-Cystine During Simulated Gastrointestinal Digestion. *Biological Trace Element Research.* 58:55-63
- SHI, B.; SPALLHOLZ, J.E. (1994): Selenium from beef is highly bioavailable as assessed by liver glutathione peroxidase activity (EC 1.11.1.9) and tissue selenium. *Br. J. Nutr.* 72:873-881
- SHRIFT, A. (1973): Metabolism of selenium by plants and microorganisms. In: KLAYMAN, D.L.; GÜNTHER, W.H.H. (Hrsg.) Organic Selenium Compounds: Their Chemistry and Biology. Wiley-Interscience, New York. 763-814
- Siebzehnte Durchführungsverordnung zum Getreidegesetz (Mahlerzeugnisse aus Getreide, Bundesgesetzblatt Teil I) Jahrgang 1982
- SIES, H. (1985): Oxidative Stress. Academic Press, London, New York
- SIES, H.; KLOTZ, L.O.; SHAROV, V.S.; ASSMANN, A.; BRIVIBA, K. (1998): Protection against peroxynitrite by selenoproteins. *Z. Naturforsch.* 53:228-232
- SILL-STEFFENS, R.; KRAUS-RAUCH, C.; REPP, V. (2001): Selen – ein lebenswichtiges Spurenelement. Deutsche Gesundheitshilfe (DGH), Frankfurt/Main. 1. Aufl.
- SINEMUS, H.W.; MAIER, D.; SCHUBERT-JACOBS, M.; WELZ, B. (1986): Einfluß von Nitrit auf die Hydridbildner Antimon, Arsen und Selen in Oberflächen- und Trinkwasser. In: WELZ, B. (Hrsg.): Fortschritte in der atomspektrometrischen Spurenanalytik. Wiley-VCH, Weinheim Berlin New York. Band 2. 571-577
- SLAVIN, W. (1992): A Comparison of Atomic Spectroscopic Analytical Techniques. *Spectroscopy International.* 4(1):22-27

- SNEDDON, J. (1990): Simplex Optimization in Atomic Spectroscopy. *Spectroscopy*. 5(7):33-36
- SNOOK, J.T.; PALMQUIST, D.L.; MOXON, A.L.; CANTOR, A.H.; VIVIAN, V.M. (1983): Selenium status of a rural (predominantly Amish) community living in low-selenium area. *Am J Clin Nutr*. 38:620-630
- SOKOLOFF, L. (1985): Endemic forms of osteoarthritis. *Clin Rheum Dis*. 11:187-202
- SOKOLOFF, L. (1988): Kashin-Beck disease: current status. *Nutr. Rev*. 46:113-119
- SOUCI, S. W.; FACHMANN, W.; KRAUT, H. (2000): Die Zusammensetzung der Lebensmittel. Nährwert-Tabellen. 6. Auflage. medpharm Scientific Publishers, Stuttgart
- SPALLHOLZ, J.E.; RAFFERTY, A. (1987): Nutritional, chemical and toxicological evaluation of high-selenium yeast. In: COMBS, G.F.; SPALLHOLZ, J.E.; LEVANDER, O.A.; OLDFIELD, J.E. (Hrsg.): Selenium in Biology and Medicine, Part A. Avi-Van Nostrand Reinhold, New York. 516-529
- STADLOBER, M.; SAGER, M.; IRGOLIC, K.J. (2001): Effects of selenate supplemented fertilisation on the selenium level of cereals – identification and quantification of selenium compounds by HPLC-ICP-MS. *Food Chemistry*. 73:357-366
- STADTMAN, T.C. (1974): Selenium Biochemistry. *Science*. 183:915-921
- ST.GERMAIN, D.L.; GALTON, V.A. (1997): The deiodinase family of selenoproteins. *Thyroid*. 7:655-668
- STOEPLER, M.; NÜRNBERG, H.W. (1984): Analytik von Metallen und ihren Verbindungen. In: MERIAN, E. (Hrsg.): Metalle in der Umwelt. Verlag Chemie Weinheim. Kap. I. 4 a
- STOEPLER, M. (1993): Bedeutung von Referenzmaterialien für die Richtigkeit von Monitoringdaten. In: KETTRUP, A.; FLAMMENKAMP, E. (Hrsg.): Analytische Chemie und Qualitätssicherung. Proceedings des GSF-Symposiums in der Analytischen Chemie, München
- STRYER, L. (1991): Biochemie. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin, New York. 618-619
- STÜNZI, H. (1989): Applikation von Selen auf Dauerwiesen. 2. Die Selengehalte, nach einer Frühjahrsgabe von 20g Selen pro Hektar als Selenat. *Schweiz. Landw. Fo*. 28:149-160
- SUADICANI, P.; HEIN, H.O.; GYNTELBERG, F. (1992): Serum Selenium concentration and risk of ischemic heart disease in a prospective cohort study of 3000 males. *Atherosclerosis*. 96:33-42
- SWANSON, C.A. (1990): Selenium intake age, gender, and smoking in relation to indices of selenium status of adults residing in a seleniferous area. *Am J Clin Nutr*. 52:858-862
- TAGMOUNT, A.; BERKEN, A.; TERRY, N. (2002): An essential role of S-adenosyl-L-methionine:L-methionine S-methyltransferase in selenium volatilization by plants. Methylation of selenomethionine to selenium-methyl-L-selenium-methionine, the precursor of volatile selenium. *Plant Physiol*. 130:847-856

- TAN, S.H.; HORLICK, G. (1987): Matrix-effect observations in the inductively coupled plasma-mass spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.* 2:745-763
- TAYLOR, A.; BRANCH, S.; FISHER, A.; HALLS, D.; WHITE, M. (2001): Clinical and Biological Materials, Foods and Beverages. *J Anal Atom Spectrom.* 16:421-446
- TERRY, N.; ZAYED, A.M.; DE SOUZA, M.P.; TARUN, A.S. (2000): Selenium in higher Plants. *Annu. Rev. Plant Mol. Biol.* 51:401-432
- THOMAS, J.P.; MAIORINO, M.; URSINI, F.; GIROTTI, A.W. (1990): Protective action of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase against membrane-damaging lipid peroxidation: in situ reduction of phospholipid and cholesterol hydroperoxides. *J. Biol. Chem.* 265:454-461
- THOMAS, C. (1999): Anwendung von hocheffizienten Zerstäubungstechniken bei der Kopplung von HPLC und ICP-Massenspektrometrie zur Speziation von Selen in biologischem Material. Der Andere Verlag, Osnabrück
- THOMPSON, J.N.; SCOTT, M.L. (1970): Impaired lipid and vitamin E absorption related to atrophy of the pancreas in selenium-deficient chicks. *J Nutr.* 100(7):797-809
- THOMSON, C.D.; ONG, L.K.; ROBINSON, M.F. (1985): Effects of supplementation with high-selenium wheat bread on selenium, glutathione peroxidase and related enzymes in blood components of New Zealand residents. *Am J Clin Nutr.* 41:1015-1022
- THOMSON, C.D.; ROBINSON, M.F. (1986): Urinary and faecal excretions and absorption of a large supplement of selenium as selenite or as selenate. *Am. J. Clin. Nutr.* 44:659-663
- TRAN, T.D. (1995): Fütterungsmaßnahmen für Eutergesundheit und Zellzahl in der Milch. *Kraftfutter.* 6:260-263
- TYLER, G. (1995): ICP-MS, or ICP-AES and AAS?—A comparison. *Spectroscopy Europe.* 7(1):14-22
- TYRALA, E.E.; BORSCHEL, M.W.; JACOBS, J.R. (1996): Selenate fortification of infant formulas improves the selenium status of preterm infants. *Am. J. Clin. Nutr.* 64:860-865
- ULLREY, D.E. (1974): The selenium deficiency problem in animal agriculture. In: HOEKSTRA, W.G.; SUTTIE, J.W.; GANTHER, H.E.; MERTZ, W. (Hrsg.). Trace Element Metabolism in Animals. University Park Press, Baltimore. 275-293
- ULLREY, D.E. (1981): Selenium in the soil-plant-food chain. In: SPALLHOLZ, J.E.; MARTIN, J.L.; GANTHER, H.E. (Hrsg.). Selenium in Biology and Medicine. Avi Publishing Company, Inc., Westport, Connecticut. 176-191
- UNDERWOOD, E.J. (1971): Trace Elements in Human and Animal Nutrition. 3rd edition. Academic Press, New York. 323-368
- UNI TERRA (1999): Rutherford - Lexikon der Elemente. Kindler & Glied GbR, Berlin. <http://www.uniterre.de/rutherford/ele034.htm>
- URSINI, F.; MAIORINO, M.; GREGOLIN, C. (1985): The selenoenzyme phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase. *Biochem. Biophys. Acta.* 839:62-70

- URSINI, F.; BINDOLI, A. (1987): The role of selenium peroxidase in the protection against oxidative damage of membranes. *Chem. Phys. Lipids*. 44:255-276
- URSINI, F.; MAIORINO, M.; BRIGELIUS-FLOHÉ, R.; AUMANN, K.D.; ROVERI, A.; SCHOMBURG, D.; FLOHÉ, L. (1995): Diversity of glutathione peroxidases. *Meth. Enzymol.* 252:38-53
- URSINI, F.; ZAMBURLINI, A.; CAZZOLATO, G.; MAIORINO, M.; BITTOLO-BON, G.; SEVANIAN, A. (1998): Postprandial lipid hydroperoxides: a possible link between diet and arteriosclerosis. *Free Rad. Biol. Med.* 25:250-252
- VAN DAEL, P.; VLAEMYNCK, G.; VAN RENTERGHEM, R.; DEELSTRA, H. (1991): Selenium content of cow's milk and its distribution in protein fractions. *Z Lebensm Unters Forsch.* 192:422-426
- VAN DAEL, P. (1992): Comparative study on the distribution of selenium in cow's milk and its distribution in protein fractions. Dissertation Univ. Antwerpen
- VAN DAEL, P.; DAVIDSSON, L.; ZIEGLER, E.E; FAY, L.B.; BARCLAY, D. (2002): Comparison of Selenite and Selenate Apparent Absorption and Retention in Infants Using Stable Isotope Methodology. *Pediatric Research.* 51:71-75
- VAN DEN BRANDT, P.A.; GOLDBOHM, R.A.; VAN'T VEER, P.; BODE, P.; DORANT, E.; HERMUS, R.J.; STURMANS, F. (1993): A prospective cohort study on selenium status and the risk of lung cancer. *Cancer Res.* 53(20):4860-4865
- VAN VLEET, J.F. (1980): Current knowledge of selenium – vitamin E deficiency in domestic animals. *J.A.V.M.A.* 176:321-325
- VARO, P.; ALFTHAN, G.; EKHOLM, P.; ARO, A.; KOIVISTOINEN, P. (1988): Selenium intake and serum selenium in Finland: effects of soil fertilization with selenium. *Am J Clin Nutr.* 48:324-329
- VENÄLÄINEN, E.-R.; HIRVI, T.; HIRN, J. (1997): Effect of selenium supplementation on the selenium content in muscle and liver of Finnish pigs and cattle. *J Agric Food Chem.* 45:810-813
- VENDELAND, S.C.; BUTLER, J.A.; WHANGER, P.D. (1992): Intestinal Absorption of selenite, selenate, and selenomethionin in the rat. *J Nutr Biochem.* 3:359-365
- VIJAN, P.N.; LEUNG, D. (1980): Reduction of chemical interference and speciation studies in the hydride generation-atomic absorption method for selenium. *Anal. Chim. Acta.* 120:141-146
- VIRTAMO, J.; VALKIELA, E.; ALFTHAN, G.; PUNSAR, S.; HUTTUNEN, J.K.; KARVONEN, M.J. (1985): Serum selenium and the risk of coronary heart disease and stroke. *Am J Epidemiol.* 122:276-282
- VITOUX, D.; CHAPPUIS, P.; ARNAUD, J.; BOST, M.; ACCOMINOTTI, M.; ROUSSEL, A.M. (1996): Selenium, Glutathione peroxidase, peroxides and function plaquettaires. *Am Biol Clin Paris.* 54(5):181-187
- VOLAND, B.; METZNER, I.; BOMBACH, G. (1987): Zur Selenverteilung der Böden in der DDR. In: ANKE, M. (Hrsg.): Mengen, Spurenelemente. 7. Arbeitstagung Leipzig. 1-10

- VON DORST, S.H.; PETERSON, P.J. (1984): Selenium speciation in the soil solution and its relevance to plant uptake. *J. Sci. Food Agric.* 35:601-605
- VOTH-BEACH, L.M.; SHRADER, D.E. (1985): Reduction of interferences in the determination of arsenic and selenium by hydride generation. *Spectroscopy.* 1:60-65
- WALDNER, H.; BUTH, I.; SCHLOSKE, L. (2000): Selenangereicherte Lebensmittel. *Lebensmitteltechnik.* 9:48-49
- WANG, C.; LOVELL, R.T. (1997): Organic selenium sources, selenomethionine and selenoyeast, have higher bioavailability than an inorganic selenium source, sodium selenite, in diets for channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Aquaculture.* 152(1-4):223-234
- WANG, Y.; BÖCK, A.; NEUHIERL, B. (1999): Acquisition of selenium tolerance by a selenium non-accumulating *Astragalus* species via selection. *BioFactors.* 9:3-10
- WASCHULEWSKI, I.H.; SUNDE, R.A. (1988): Effect of dietary methionine on tissue selenium and glutathione peroxidase on tissue selenium glutathione peroxidase (EC 1.11.1.9) activity given selenomethionine. *Br. J. Nutr.* 60:57-68
- WEISS, S.L.; EVENSON, J.K.; THOMPSON, K.M.; SUNDE, R.A. (1997): Dietary selenium regulation glutathione peroxidase mRNA and other selenium-dependent parameters in male rats. *J. Nutr. Biochem.* 8:85-91
- WELZ, B.; SCHUBERT-JACOBS, M. (1989): Fliessinjektion, die Innovation für die Hydrid- und Kaltdampf-AAS-Techniken. In: WELZ, B. (Hrsg.): 5. Colloquium Atomspektrometrische Spurenanalytik. Bodenseewerk Perkin-Elmer GmbH. 327-345
- WELZ, B.; GUO, T. (1992): Formation and interpretation of double peaks in flow injection hydride generation atomic absorption spectrometry. *Spectrochim. Acta, Part B.* 47(5):645-658
- WELZ, B.; SPERLING, M. (1997): Atomabsorptionsspektrometrie. 4. neubearbeitete Auflage. Verlag Wiley-VCH, Weinheim, Berlin, New York
- WEN, H.Y.; DAVIS, R.L.; SHI, B.; CHEN, J.J.; CHEN, L.; BOYLAN, M.; SPALLHOLZ, J.E. (1997): Bioavailability of selenium from veal, chicken, beef, lamb, flounder, tuna, selenomethionine, and sodium selenite assessed in selenium-deficient rats. *Biol. Trace Elem. Res.* 58(1-2):43-53
- WHANGER, P.D. (1982): Selenium in the treatment of heavy metal poisoning and chemical carcinogenesis. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis.* 6:209-221
- WHANGER, P.D. (2002): Selenocompounds in plants and animals and their biological significance. *J Am Coll Nutr.* 21:223-232
- WIESNER, E.; BERSCHNEIDER, K.; NEUFFER, K.; MENZEL, M. (1974): Selenwerte in Futtermitteln. 1. Mitteilung: Methodik und Normalwerte. *Arch. Tierernährung.* 24:601-609

- WIESNER, E.; BERSCHNEIDER, K.; NEUFFER, K.; LUDEWIG, C. (1982): Selenwerte in Futtermitteln. 2. Mitteilung: Einflüsse einiger geologischer Bodenfaktoren und der Niederschlagshöhe während der Vegetationsperiode auf den Selengehalt von Pflanzen. *Arch. Tierernährung*. 32:685-692
- WILBER, C.G. (1980): Toxicology of selenium: A review. *Clin. Toxicol.* 17:171-230
- WILPINGER, M.; SIMA, A.; PFANNHAUSER, W. (1998): Selengehalt in der Nahrung und dessen Zusammenhang zum Gehalt im Boden. *Lebensmittelchemie*. 52:93-95
- WILLETT, W.C.; POLK, B.F.; MORRIS, J.S.; STAMPFER, M.J.; PRESSEL, S.; ROSNER, B.; TAYLOR, J.O.; SCHNEIDER, K.; HAMES, C.G. (1983): Prediagnostic serum selenium and risk of cancer. *The Lancet*. 2:130-134
- WILSON, D.S.; TAPPEL, A.L. (1993): Binding of plasma selenoprotein P to cell membranes. *J. Inorg. Biochem.* 51:707-714
- WINGLER, K.; BRIGELIUS-FLOHÉ, R. (1999a): Expression of GI-GPx in selenium deficiency. *Free Rad. Biol. Med.* 27:23-25
- WINGLER, K.; BRIGELIUS-FLOHÉ, R. (1999b): Gastrointestinal glutathione peroxidase. *BioFactors*. 10:245-249
- WINGLER, K.; BÖCHER, M.; FLOHÉ, L.; KOLLMUS, H.; BRIGELIUS-FLOHÉ, R. (1999c): mRNA stability and selenocysteine insertion sequence efficiency rank gastrointestinal glutathione peroxidase high in the hierarchy of selenoproteins. *Eur. J. Biochem.* 259:149-157
- WINKLER, R.; FRISTER, H.; VON RAMIN, J. (2001): Die Stickstoff-/Proteinbestimmung nach Dumas in Milch und Milchprodukten. *GIT*. 3:299-302
- WOLF, C.; BLADT, A.; ALTMANN, B. (1998a): Selenversorgung von Kühen - Mangel oder Überschuß? 1. Mitteilung: Diagnostik der Selenversorgung bei Kühen. *Der praktische Tierarzt*. 79(7):651-656
- WOLF, C. (1998b): Selenversorgung von Kühen - Mangel oder Überschuß? 2. Mitteilung: Die Entwicklung der Selen-Glutathionperoxidase-Aktivität von Milch- und Mutterkühen in Mecklenburg-Vorpommern von 1993 bis 1996. *Der praktische Tierarzt*. 79(8):755-759
- WOLF, C.; BLADT, A.; ALTMANN, B. (1998c): Selenversorgung von Kühen - Mangel oder Überschuß? 3. Mitteilung: Selen-Überschuß in der Milchkuhfütterung. *Der praktische Tierarzt*. 79(11):1048-1053
- WOLFFRAM, S.; SCHARRER, E. (1986): Bioverfügbarkeit und intestinale Absorption des Spurenelements Selen. *Übers. Tierernährg.* 16:247-264
- WOLFFRAM, S. (1991): Absorption und Bioverfügbarkeit des Spurenelements Selen. Habilitationsschrift, Vet. Med. Fak. Univ. Zürich
- WOLFFRAM, S. (1992): Selenmangel bei Mensch und Tier – eine kurze Übersicht. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 134:5-11

- WRIGHT, P.L.; BELL, M.C. (1966): Comparative metabolism of selenium and tellurium in swine and sheep. *Am. J. Physiol.* 211:6-10
- WÜRFELS, M. (1988): Über den Rückstand biologischer Materialien nach Druckaufschluß mit Salpetersäure. Dissertation. Kernforschungsanlage Jülich. ISSN 0366-0885
- WÜRFELS, M.; JACKWERTH, E. (1985): Untersuchungen zur Kohlenstoffbilanz beim Aufschluß biologischer Probenmaterialien mit Salpetersäure. *Fresenius Z Anal Chem.* 322:354-358
- WÜRFELS, M.; JACKWERTH, E.; STOEPLER, M. (1987): Probenvorbereitungsstudien mit biologischen und Umweltmaterialien. *Fresenius Z Anal Chem.* 329:459-461
- WÜRMLI, R.; WOLFFRAM, S.; STINGELIN, Y.; SCHARRER, E. (1989): Stimulation of mucosal uptake of selenium from selenite by L-cysteine in sheep small intestine. *Biol. Trace Elem. Res.* 20:75-85
- YANG, G.Q.; CHEN, J.S.; WEN, Z.M.; GE, K.Y.; ZHU, L.Z.; CHEN, X.C.; CHEN, X.S. (1984): The role of selenium in Keshan disease. *Adv. Nutr. Res.* 6:203-231
- YOUN, Y.K.; LALONDE, C.; DEMLING, R. (1991): Use of antioxidant therapy in shock and trauma. *Circ Shock.* 35:245-249
- YLÄRANTA, T. (1983): Sorption of selenite and selenate in the soil. *Ann. Agric. Fenn.* 22:29-39
- YOSHIDA, M.; YASUMOTO, K.; IWAMI, K.; TASHIRO, H. (1981): Distribution of selenium in bovine milk and selenium deficiency in rats fed casein-based diets monitored by lipid peroxide level and glutathione peroxidase activity. *Agric. Biol. Chem.* 45:1681-1688
- ZEMEL, M.B. (1984): in vitro evaluation of the effects of ortho-, tripoly- and hexametaphosphate on zinc, iron and calcium bioavailability. *Journal of Food Science.* 49:1562-1565
- ZIMMERLI, B.; TOBLER, L.; BAJO, S.; WYTTENBACH, A.; HALDIMANN, M.; SIEBER, R. (1995): Untersuchungen von Tagesrationen aus schweizerischen Verpflegungsbetrieben. VII. Essentielle Spurenelemente: Jod und Selen. *Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg.* 86:226-265
- ZIMMERLI, B.; HALDIMANN, M. (1997): Selenstatus der schweizerischen Bevölkerung. *Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg.* 88:732-75