

Afdeling Contaminanten 1982-11-30

VERSLAG 82.88 Pr.nr. 404.0410

Onderwerp: De uitscheiding van anorganisch bromide, na orale dosering, in melk van lakterende koeien.

Verzendlijst: directeur, direktie VKA (V.d. Meijs, Mol, Klitsie, Kloet), sektorhoofd (3x), afd. Contaminanten (4x), afd. Normalisatie (Humme), Projektbeheer, Projektleider (Roos), afd. Additieven, afd. Diergeneesmiddelen, afd. Zware Metalen, Leesportefeuille sektoren/bibliotheek, LAC werkgroep Bodem en Gewas (15x), LAC werkgroep Zuivelverontreiniging (20x), IVVO Lelystad (Vreman).



Projekt: Onderzoek naar het voorkomen en naar de overdracht van  
anorganisch bromide

Onderwerp: De uitscheiding van anorganisch bromide, na orale dosering,  
in de melk van lakterende koeien

Voorgaande verslagen: 80.60 dd. 1980-11-23; 81.02 dd. 1981-01-12;  
82.44 dd. 1982-06-07

---

Doel:

Het vaststellen van de overdracht van anorganisch bromide van voer naar melk om normen in veevoedergrondstoffen en dierlijke produkten op elkaar af te stemmen.

Samenvatting/Conclusie:

In een voederexperiment met anorganisch bromide gedurende 9 weken werd de overdracht van anorganisch bromide van voer naar melk bepaald. Het bromide gehalte in de verstrekte voeders, drinkwater, stro en melk en de gemiddelde bromide opname per proefdier per dag wordt gegeven in de tabellen 3, 4 en 5.

Ondanks de beperkte tijdsduur van de doseringsperiode van anorganisch bromide en rekening houdend met de aanzienlijke bijdrage uit het voer zelf en de hierin optredende variatie mogen we aannemen dat de gemeten gehalten in de melk aan het einde van de doseringsperiode niet veel lager zullen zijn dan de plateauwaarde (evenwichtssituatie), die na langdurige dosering zal worden verkregen.

De overdrachtsfactor voor anorganisch bromide van voer naar melk berekend uit de dosering van bromide ( $\text{Br}^-$ ) is gelijk aan die berekend uit de totale opname aan bromide ( $\text{Br}^-$ ) uitgedrukt op de totale voerbasis. Bovendien heeft een verdubbeling van de dosering geen invloed op de hoogte van de overdrachtsfactor.

De in dit experiment berekende overdrachtsfactor (0,25) verschilt weinig van/stemt goed overeen met de uit literatuurgegevens berekende factor (0,28).

Met behulp van deze factor is het mogelijk om normen in voeders en melk op elkaar af te stemmen.

---

Verantwoordelijk: ir L.G.M.Th. Tuinstra / ir K. Vreman (IVVO Lelystad)  
Medewerker/Samensteller: R.J. van Mazijk, A.H. Roos, ir K. Vreman  
Projectleider: A.H. Roos <sup>43)</sup>

## 1. Inleiding

Het gehalte aan anorganisch bromide ( $\text{Br}^-$ ) in nederlandse melk ligt in de range 0,6-20 mg/kg op produktbasis (1). In de Residubeschikking (2) ontbreekt voor anorganisch bromide een norm voor melk en vlees, waardoor melk en vlees totaal geen bromide mogen bevatten (nultolerantie). Naast het ontbreken van een norm voor melk en vlees is er in Nederland een discussie gaande over de acceptable daily intake (ADI).

Door de WHO is voor anorganisch bromide ( $\text{Br}^-$ ) een ADI van 60 mg  $\text{Br}^-$ /dag bij een lichaamsgewicht van 60 kg vastgesteld. Het Rijksinstituut voor de Volksgezondheid te Bilthoven heeft in een 90-dagen voederexperiment met ratten een no-effekt level van 15 mg  $\text{Br}^-$ /kg lichaamsgewicht vastgesteld resulterend in een ADI van 9 mg  $\text{Br}^-$ /dag bij een veiligheidsfaktor van 100 (3).

Voor de mens bedraagt de gemiddelde dagelijkse opname via het voedsel 9,9 mg  $\text{Br}^-$  (4). Een belangrijke bron in de dagelijkse bromide opname is melk (5).

In verband met een in de Residubeschikking vast te stellen tolerantie voor melk was het zinvol om in de Nederlandse situatie een voederproef met anorganisch bromide uit te voeren. Met behulp van de relatie voermelk voor anorganisch bromide kunnen dan normen voor veevoerders en dierlijke produkten op elkaar afgestemd worden.

## 2. Materiaal en methode

### 2.1 Proefdieren en toediening van bromide

De voederproef werd met 9 nieuwmelkse koeien uitgevoerd op het proefbedrijf van het Instituut voor Veevoedingsonderzoek te Lelystad.

De koeien werden over 3 groepen van elk 3 dieren verdeeld.

Groep A diende als controle, groep B kreeg anorganisch bromide in de vorm van natriumbromide verstrekt op een niveau van 50 mg  $\text{Br}^-$ /kg droge stof rantsoen en groep C op een niveau van 100 mg  $\text{Br}^-$ /kg droge stof van het dagrantsoen uitgaande van een droge stof opname van 17,5 kg per dag.

De gemiddelde hoeveelheid voer, die dagelijks werd opgenomen, bedroeg echter in de voederproef 18,8 kg droge stof, waardoor de niveau's in werkelijkheid resp. 46,5 en 93,1 mg  $\text{Br}^-$ /kg op droge stof rantsoen zijn.

De gehele proefperiode bestond uit een voorperiode van één week om de achtergrond te meten, een doseringsperiode van vijf weken waarin bromide werd gedoseerd en een naperiode van drie weken met één dier per groep, waarin de daling van het bromidegehalte in de melk werd gevolgd. Natriumbromide werd opgelost in water en de vooraf vastgestelde hoeveelheden natriumbromide voor groep B en C werden door middel van pipetteren op briketjes krachtvoer gebracht. Nadat de waterige natriumbromideoplossing in de briket opgenomen was, werd de briket aan de lucht gedroogd en opgeslagen in cilinders tot het moment van voeding aan de proefdieren.

De koeien van groep B kregen 875 mg bromide/dag, overeenkomend met 1126,7 mg natriumbromide. De koeien van groep C kregen 1750 mg bromide/dag, overeenkomend met 2253,4 mg natriumbromide.

De toediening van deze hoeveelheden per koe per dag vond plaats via 2 briketten. De briketten werden telkens kort voor het melken verstrekt. Verdere gegevens over de proefdieren zijn in tabel 1 samengevat. De samenstelling van het krachtvoer is vermeld in tabel 2.

## 2.2 Monsterneming

De geproduceerde melk, het verstrekte krachtvoer (briketten, zonder en met dosering natriumbromide), voordrooggrassilage, drinkwater en stro werden gedurende de gehele proefperiode wekelijks bemonsterd. De monsters melk werden met natriumazide geconserveerd.

Aan het einde van de hoofdperiode werden van elke groep 2 koeien geslacht. Kort voor het slachten werden monsters bloed en urine genomen en direkt na het slachten monsters vlees, lever en nier.

Alle monsters werden voor onderzoek aan het Rijks-Kwaliteitsinstituut voor land- en tuinbouwprodukten te Wageningen toegezonden. Melk, stro, krachtvoer en grassilage werden tot moment van analyse opgeslagen in een koelcel bij 0°C, bloed, urine, vlees, lever en nier werden ingevroren bij -18°C.

## 2.3 Analysemethode

De methode is beschreven door Heuser en Scudamore (6). Na homogeniseren wordt een aliquot van het monster in bewerking genomen.

Door reactie met ethyleenoxide in zuur milieu wordt het bromide ion omgezet in 2-broomethanol en daarna gaschromatografisch bepaald op een Tracor 550 gaschromatograaf uitgerust met een elektroneninvang detector en een 10% OV 330 kolom. Gedurende de gehele analyseperiode werden recoveryexperimenten met kaliumbromide uitgevoerd op het 25 mg/kg niveau.

Voor blanco chemicaliën (n=13), melk (n=10), blanco krachtvoer (n=8), gras (n=4), vlees (n=2), lever (n=2), nier (n=2), urine (n=2), bloed (n=1) en stro (n=1) bedroeg de recovery gemiddeld resp. 97%, 99%, 100%, 88%, 112%, 99%, 94%, 92%, 97% en 86%. De variatiecoëfficiënt (VC) bedroeg voor blanco chemicaliën 4,4%, voor melk 10%, voor blanco krachtvoer 14% en voor gras 11%.

Tevens zijn er duplobepalingen uitgevoerd. De VC bedroeg in de melkmonsters (n=15) 5,7%.

### 3. Resultaten

#### 3.1 Het bromide gehalte in de verstrekte voeders, drinkwater en stro

Uit de gehele proefperiode werden willekeurig een aantal monsters krachtvoer, grassilage, drinkwater en stro onderzocht op anorganisch bromide. In tabel 3 is een overzicht gegeven van de bromidegehalten in de verstrekte voeders, drinkwater en stro. De duplobepalingen in krachtvoer, grassilage en stro zijn eveneens opgenomen in de tabel. Het gemiddelde gehalte aan anorganisch bromide in krachtvoeder bedraagt 11 mg Br<sup>-</sup>/kg op droge stof, in grassilage 17 mg Br<sup>-</sup>/kg op droge stof, in drinkwater 2,7 mg Br<sup>-</sup>/l en in stro 13 mg Br<sup>-</sup>/kg op droge stof. Het gemiddelde droge stof gehalte in krachtvoerders was 86,7%, in grassilage 61,6% en in stro 82,1%.

#### 3.2 Dosering anorganisch bromide groep B en C

De dosering van natriumbromide op de briketjes krachtvoer voor groep B en C werd in de doseringsperiode regelmatig gecontroleerd. Voor groep B bedroeg de gemiddelde opbrengst ten opzichte van de theoretische dosering gemiddeld 103% (n=6) met een VC van 7,9% en voor groep C gemiddeld 93% (n=6) met een VC van 6,9%.

### 3.3 Totale bromide ( $\text{Br}^-$ ) opname per groep

In tabel 4 wordt voor groep A, B en C de gemiddelde totale bromide opname in mg per koe per dag gegeven.

De gemiddelde consumptie van drinkwater en stro is in de voederproef niet gemeten. Deze hoeveelheden werden geschat om de bijdrage aan de totale bromide opname van drinkwater en stro te berekenen.

Voor groep A bedroeg de gemiddelde bromide opname per koe per dag 408 mg  $\text{Br}^-$ , voor groep B 1283 mg  $\text{Br}^-$  en voor groep C 2158 mg  $\text{Br}^-$ .

Uitgedrukt op voerbasis (18,8 kg droge stof), inclusief de bijdrage via het drinkwater, is de gemiddelde totale opname voor groep A 22 mg  $\text{Br}^-/\text{kg}$  voer op droge stof, voor groep B 68 mg  $\text{Br}^-/\text{kg}$  op droge stof en voor groep C 115 mg  $\text{Br}^-/\text{kg}$  op droge stof.

### 3.4 Het bromidegehalte in de melk

In tabel 5 wordt een overzicht gegeven van de gemiddelde bromide gehalten in de melk per groep per week. Tussen haakjes wordt de range per week in een groep weergegeven, verder is vermeld het aantal bepalingen (n).

De toename van het bromidegehalte in de blanco groep A aan het einde van de doseringsperiode zou het gevolg van cross-contaminatie kunnen zijn (gemiddeld 6,1 tegenover 2,5 in de voorperiode).

Voor de groepen B en C bedragen de gemiddelde gehalten in de zesde week van de doseringsperiode respectievelijk 17,4 en 30,5 mg bromide per kg melk, d.w.z. respectievelijk 6,5 en 9,5 maal de gemiddelde gehalten in de voorperiode.

De gehalten in de naperiode dalen vrij snel.

In de derde week van de naperiode bedragen de gemiddelde bromidegehalten voor de groepen B en C respectievelijk 5,5 en 6,8 mg per kg melk.

### 3.5 Overdracht van anorganisch bromide van voer naar melk

De overdrachtsfactor van voer naar melk is gedefinieerd als de verhouding van het bromidegehalte in de melk op produktbasis en het bromidegehalte in het voer op droge stof basis, beide gerekend aan het einde van de doseringsperiode.

De overdrachtsfactor kunnen we op twee manieren berekenen nl.



- a) uitgaande van de dosering van bromide verstrekt in de vorm van natriumbromide aan groep B en C en het gehalte in de melk van groep B en C gecorrigeerd voor het gehalte in de melk van groep A (de blancogroep)
- b) uitgaande van de gemiddelde totale bromide opname uitgedrukt op voerbasis en het gehalte in de melk van groep B en C.

ad a)

De dosering van natriumbromide voor groep B bedroeg 46,5 mg Br<sup>-</sup>/kg op droge stof en voor groep C 93,1 mg Br<sup>-</sup>/kg op droge stof.

Het gehalte aan organisch bromide in de melk gecorrigeerd voor de blanco groep A bedroeg aan het einde van de doseringsperiode voor groep B  $17,4 - 6,1 = 11,3$  mg Br<sup>-</sup>/kg op produktbasis en voor groep C  $30,5 - 6,1 = 24,4$  mg Br<sup>-</sup>/kg op produktbasis.

De overdrachtsfactor voor groep B is  $11,3/46,5 = 0,24$  en voor groep C  $24,4/93,1 = 0,26$ .

ad b)

De totale bromide opname uitgedrukt op voerbasis is voor groep B 68 mg Br<sup>-</sup>/kg op droge stof en voor groep C 115 mg Br<sup>-</sup>/kg op droge stof.

Het gehalte aan anorganisch bromide in de melk aan het einde van de doseringsperiode is gemiddeld voor groep B 17,4 mg Br<sup>-</sup>/kg op produktbasis en voor groep C 30,5 mg Br<sup>-</sup>/kg op produktbasis. De overdrachtsfactor voor groep B is dan  $17,4/68 = 0,26$  en voor groep C  $30,5/115 = 0,26$ .

### 3.6 Het bromidegehalte in bloed, urine, vlees, lever en nier

Het bromidegehalte in het bloed van de blanco groep A bedroeg gemiddeld 21 mg/l (range 16-28 mg/l). Voor de groepen B en C bedragen de gemiddelde gehalten resp. 58 en 95 mg/l (range resp. 51-66 en 87-106 mg/l). De bromidegehalten in het bloed zijn ca. driemaal hoger dan de bromidegehalten in de melk.

Het bromidegehalte in de urine van de blanco groep A bedroeg gemiddeld 4,8 mg/l (range 3,9-5,6 mg/l). Voor de groepen B en C bedragen de gemiddelde gehalten resp. 11,3 en 8,5 mg/l (range 8,6-14 en 2,0-15 mg/l). In de urine is geen relatie met de bromidegehalten in de melk aanwezig.

Het gemiddelde bromidegehalte in vlees, lever en nier van 2 dieren van groep C bedraagt resp. 21, 27 en 88 mg/kg (range resp. 17-25, 26-28 en 85-90 mg/kg). In vlees en lever is het resultaat globaal vergelijkbaar met het bromidegehalte in de melk. In de nier is het bromidegehalte ca. driemaal hoger dan in de melk en vergelijkbaar met het bromidegehalte in het bloed.

#### 4. Conclusies

Ondanks de beperkte tijdsduur van de doseringsperiode van anorganisch bromide nl. 5 weken en rekening houdend met de aanzienlijke bijdrage uit het voer zelf en de hierin optredende variatie mogen we concluderen dat de gemeten gehalten in de melk aan het einde van de doseringsperiode niet veel lager zijn dan de plateauwaarde die na langdurige dosering zal worden verkregen (evenwichtssituatie).

De berekening van de overdrachtsfactor voor anorganisch bromide van voer naar melk uit de extra dosering van bromide ( $\text{Br}^-$ ) en uit de totale opname aan bromide ( $\text{Br}^-$ ) uitgedrukt op totaal voerbasis geeft gelijke resultaten. Bovendien heeft een verdubbeling van de dosering geen invloed op de berekende overdrachtsfactor.

Met behulp van de overdrachtsfactor is het nu mogelijk om normen in veevoedergrondstoffen en eindprodukten op elkaar af te stemmen. De bepaalde overdrachtsfactor van 0,25 in dit voederexperiment stemt goed overeen met een voederexperiment beschreven in de literatuur (7), waaruit met de beschikbare gegevens een overdrachtsfactor van gemiddeld 0,28 is te berekenen.

Tabel 1 Gegevens over de proefdieren

	groep A	groep B	groep C
aantal proefdieren	3	3	3
melkproduktie (doseringsperiode) (kg)	14,93 $\pm$ 1,90	27,50 $\pm$ 2,64	21,75 $\pm$ 2,12
dagelijks rantsoen (kg droge stof)			
krachtvoer	7,22	7,22	7,22
grassilage	11,09	11,09	11,09
dosering natriumbromide (mg/koe/dag)	0	1126,7	2253,4
voorperiode (weken)	1	1	1
doseringsperiode (weken)	5	5	5
naperiode (weken)	3	3	3

Tabel 2 Samenstelling van verstrekte krachtvoer in briketvorm (%)

sojaschroot	11
lijnschilfers	17
mais	33
gerst	17
gedroogde pulp	10
rietmelasse	9
mineralen + vitaminen	2
voedervet	1

Tabel 3 Het bromide gehalte in de verstrekte voeders, drinkwater en stro

	krachtvoer (mg Br <sup>-</sup> /kg op ds)	grassilage (mg Br <sup>-</sup> /kg op ds)	drinkwater (mg Br <sup>-</sup> /l)	stro (mg Br <sup>-</sup> /kg op ds)
<u>voorperiode</u> week 1	14	22-22	2,5	15
<u>hoofdperiode</u> week 2	9,2	12-14		8,7-9,4
week 3		13		11
week 4		25		13
week 5	12-12	18-23		11
week 6	12-13	17	2,9	12
<u>naperiode</u> week 7		15		19
week 8	7,7	12		13
week 9		14		11
gemiddeld	11	17	2,7	13

Tabel 4 De gemiddelde bromide opname per groep (mg Br<sup>-</sup>/koe/dag)

	groep A	groep B	groep C
- via orale dosering aan het voer	0	875	1750
- via krachtvoer (7,22 kg droge stof)	79	79	79
- via grassilage (11,09 kg droge stof)	188	188	188
- via drinkwater (50 l)	135	135	135
- via stro (0,5 kg droge stof)	6	6	6
gemiddelde totale bromide opname (mg/koe/dag)	408	1283	2158
gemiddelde bromide opname uitgedrukt op voerbasis (mg/kg op droge stof)	22	68	115

Tabel 5 Het bromide gehalte in de melk, gemiddelde en range (mg Br<sup>-</sup>/kg op produktbasis)

	groep A		groep B		groep C	
		n		n		n
<u>voorperiode</u>						
week 1	2,5(2,0-3,4)	3	2,7( 2,6- 2,9)	3	3,2( 2,0- 4,1)	6
<u>doseringsperiode</u>						
week 2	3,3(2,7-4,2)	3	6,5( 4,6- 8,9)	6	9,2( 4,4-19,2)	15
week 3			8,9( 8,4- 9,8)	3	18,6(11,8-26,0)	15
week 4			10,7	1	21,6(14,4-30,6)	6
week 5			15,1(12,7-17,4)	6	28,0(20,8-32,2)	6
week 6	6,1(4,3-7,8)	3	17,4(16,1-18,8)	6	30,5(24,5-37,2)	6
<u>naperiode</u>						
week 7	3,1	1	11,1(10,8-11,4)	3	23,4(20,1-25,4)	5
week 8	3,4	1	7,0( 7,0- 7,1)	3	11,7( 9,8-13,8)	5
week 9	3,4	1	5,5	1	6,8( 6,0- 7,6)	2

Literatuur

1. Tuinstra, L.G.M.Th, Roos, A.H., van Mazijk, R.J.: RIKILT verslag 82.44 (1982). Te publiceren in tijdschrift Milchwissenschaft.
2. Bestrijdingsmiddelenwet, Residubeschikking, uitvoeringsvoorschrift C II-4.
3. van Logten, M.J., Wolhuis, M., Rauws, A.G., Kroes, R., Den Tonkelaar, E.M., Berkvens, H., van Esch, G.J.: Toxicology 2, 257-267 (1974).
4. de Vos, R.H.: Voedingsmiddelen technologie 11, 24-26 (1978).
5. de Vos, R.H., van Dokkum, W.: CIVO rapport nr. R 6331 (1980).
6. Heuser, S.G., Scudamore, K.A.: Pestic. Science 1, 244-249 (1970).
7. Lynn, G.E., Shrader, S.A., Lassiter, C.A.: J. Agr. Food Chem. 11, 87-91 (1963).