



Untersuchungen zum Dioxin- und PCB-Transfer im Pfad Boden-Huhn-Ei bei Hühnern aus Freilandhaltung

LANUV-Fachbericht 89

Untersuchungen zum Dioxin- und PCB-Transfer im Pfad Boden-Huhn-Ei bei Hühnern aus Freilandhaltung

LANUV-Fachbericht 89

Landesamt für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz Nordrhein-Westfalen
Recklinghausen 2019

IMPRESSUM

Herausgeber	Landesamt für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz Nordrhein-Westfalen (LANUV) Leibnizstraße 10, 45659 Recklinghausen Telefon 02361 305-0 Telefax 02361 305-3215 E-Mail: poststelle@lanuv.nrw.de
Projektbearbeitung	Prof. Karl-Heinz Südekum (Institut für Tierwissenschaften der Universität Bonn), Dr. Annegret Hembrock-Heger (LANUV, FB 32), Jörg Leisner (LANUV, FB 32), Frank Hartmann (LANUV, FB 80)
projektbegleitender Arbeitskreis	Dr. Thorsten Bernsmann (Chemisches und Veterinäruntersuchungsamt Münsterland- Emscher-Lippe), Christina Blachnik (Stadt Duisburg, Institut für gesundheitlichen Verbraucherschutz), Prof. Peter Fürst (Chemisches und Veterinäruntersuchungsamt Münsterland-Emscher-Lippe), Dr. Thomas Griebe (Stadt Duisburg, Amt für Umwelt und Grün), Dr. Stefanie Hinz (Stadt Duisburg, Institut für gesundheitlichen Verbraucherschutz), Dr. Barbara Köllner (LANUV, Abteilung 3), Dr. Heinz Neite (LANUV, FB 32), Rolf Schrapers (Stadt Duisburg, Amt für Umwelt und Grün)
Titelbild	Dr. Annegret Hembrock-Heger (LANUV)
ISSN	1864-3930 (Print), 2197-7690 (Internet), LANUV-Fachbericht
Informationsdienste	Informationen und Daten aus NRW zu Natur, Umwelt und Verbraucherschutz unter • www.lanuv.nrw.de Aktuelle Luftqualitätswerte zusätzlich im • WDR-Videotext
Bereitschaftsdienst	Nachrichtenbereitschaftszentrale des LANUV (24-Std.-Dienst) Telefon 0201 714488

Nachdruck – auch auszugsweise – ist nur unter Quellenangaben und Überlassung von Belegexemplaren nach vorheriger Zustimmung des Herausgebers gestattet. Die Verwendung für Werbezwecke ist grundsätzlich untersagt.

Inhalt

0	Vorbemerkungen	7
1	Veranlassung und Zielsetzung	9
2	Stand der Erkenntnisse zum Transfer von Dioxinen und PCB im Pfad Boden – Huhn - Ei	10
2.1	Begriffsdefinitionen	10
2.2	Eintragspfade in die Nahrungskette.....	10
2.3	Transfer in Hühner und Eier	11
3	Stand der Erkenntnisse zu Dioxin- und PCB-Gehalten in Eiern und Hühnern verschiedener Haltungsformen	14
3.1	Landesweites Untersuchungsprogramm (LUP) 2012	14
3.2	Untersuchungen von Eiern auf Dioxine und PCB 2013 – 2016 in NRW	17
3.3	Ergebnisse aus dem Nationalen Rückstandskontrollplan (NRKP).....	18
3.4	Dioxindatenbank des Bundes und der Länder.....	19
3.5	Zusammenfassung / Interpretation	20
4	Versuchskonzept	21
5	Durchführung	23
6	Auswertungen und Ergebnisse.....	26
6.1	Böden	26
6.2	Hühner und Eier	32
6.2.1	Hühner.....	32
6.2.2	Eier	34
6.3	Statistische und analytische Auswertungen.....	35
6.3.1	Unterschiede in den Gehalten in Eiern und im Fleisch der Hühner	36
6.3.1.1	PCDD/F im Fleisch von Hühnern	36
6.3.1.2	PCDD/F in Eiern	38
6.3.1.3	PCB im Fleisch der Hühner und in Eiern	39
6.3.2	Gehalte in Hühnerfleisch und Eiern im zeitlichen Verlauf.....	40
6.3.3	Transfer vom Boden in Fleisch und Eier	40
6.3.3.1	PCDD/F	40
6.3.3.2	PCB	43
6.3.4	Transfer vom Huhn in Eier	43
6.3.5	Stoffbilanzierungen zur Plausibilisierung von Ein- und Austragsfrachten	46
6.3.5.1	Stoffbilanzierung für PCDD/F	47
6.3.5.2	Bedeutung der Toxizitätsäquivalenzfaktoren	52
6.3.5.3	Bedeutung von Boden- und Futteraufnahme	57
6.3.5.4	Stoffbilanzierung für PCB.....	59

6.3.6	Veränderungen und mögliche Einflussfaktoren auf die PCDD/F-Kongenerenprofile	63
6.3.7	Vergleich mit anderen Standorten	66
7	Fazit.....	68
8	Literaturverzeichnis.....	69
Anhang „Biometrisches Gutachten zur Fallzahlschätzung bei einem Tierversuch“ (Institut für Medizinische Statistik / RWTH Aachen).....		71

Tabellenverzeichnis

Tab. 1:	Anzahl untersuchter Eier-Proben und Überschreitungshäufigkeit.....	14
Tab. 2:	Ergebnisse Bio- und Freilandhaltung.....	15
Tab. 3:	Käfig- und Kleingruppenhaltung.....	16
Tab. 4:	Bodenhaltung.....	16
Tab. 5:	Untersuchungsergebnisse unterschiedlicher Haltungsformen 2013-2016 (Quelle: Datenbank der amtlichen Untersuchungsergebnisse in NRW).....	17
Tab. 6:	Untersuchungsergebnisse der NRKP-Durchgänge 2012-2014	18
Tab. 7:	Untersuchungsergebnisse in der Dioxindatenbank.....	20
Tab. 8:	dl- und ndl-PCB-Gehalte in Böden der Versuchsvarianten.....	31
Tab. 9:	Mittelwerte der PCDD/F-Gehalte [pg WHO-PCDD/F-TEQ/g Fett (Ei)] und Ergebnis der Signifikanzprüfung der Eiprobe differenziert nach Varianten und Zeitschnitten	38

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1:	Auslauf von Stall 3 am 01.08.2016.....	23
Abb. 2:	Legeleistung der Hühner der Ställe 1, 2 und 3 im Versuchszeitraum von Juli 2016 bis Januar 2017..	25
Abb. 3:	PCDD/F-Gehalte [ng WHO-PCDD/F-TEQ/kg Boden] im Oberboden (0-10 cm) der Versuchsflächen. Ergebnisse der Untersuchungen aus 2017 und 2014.....	26
Abb. 4:	PCDD/F-Gehalte [ng/kg Boden] im Oberboden (0-10 cm) der Variante 1 (grün) – (2017: Flächenbeprobung von 6 Teilquadranten, 2015: Flächenbeprobung als Mischprobe der Gesamtfläche, 2014: Beprobung des Aufbringungsmaterials).....	27
Abb. 5:	PCDD/F-Gehalte [ng/kg Boden] im Oberboden (0-10 cm) der Variante 2 (blau) – (2013 und 2017: Flächenbeprobung von 6 Teilquadranten, 2015: Flächenbeprobung als Mischprobe der Gesamtfläche)	28
Abb. 6:	PCDD/F-Gehalte [ng/kg Boden] im Oberboden (0-10 cm) der Variante 3 (rot) – (2013 und 2017 Flächenbeprobung von 6 Teilquadranten, 2015: Flächenbeprobung als Mischprobe der Gesamtfläche)	28

Abb. 7:	PCDD/F-Gehalte in Böden [ng/kg TS] der 3 Varianten (Probenahme 2015)	29
Abb. 8:	Relativer Anteil (% an Gesamtsumme einer Variante) der PCDD/F-Kongenere in Böden der drei Varianten (Probenahme 2015)	29
Abb. 9:	Prozentuale Verteilung der PCDD/F-Gehalte in Böden unterschiedlicher Standorte ($\Sigma_{PCDD/F}$ je Standort = 100 %)	30
Abb. 10:	PCDD/F-Gehalte im Fleisch von Hühnern [pg WHO-PCDD/F-TEQ/g Fett] in Abhängigkeit von Varianten unterschiedlicher Bodengehalte und Versuchslaufzeit (rote Linie: Höchstgehalt 1,75 pg WHO-PCDD/F-TEQ/g Fett)	33
Abb. 11:	dl-PCB-Gehalte (links in pg WHO-dl-PCB-TEQ/g Fett) und ndl-PCB-Gehalte (rechts in ng PCB ₆ /g Fett) im Fleisch von Hühnern in Abhängigkeit von Varianten unterschiedlicher Bodengehalte und Versuchslaufzeit (rote Linie = Auslösewert: 0,75 pg WHO-dl-PCB-TEQ/g Fett)	33
Abb. 12:	PCDD/F-Gehalte in Eiern [pg WHO-PCDD/F-TEQ/g Fett (Ei)] in Abhängigkeit von Varianten unterschiedlicher Bodengehalte und Versuchslaufzeit (rote Linie: Höchstgehalt 2,5 pg WHO-PCDD/F-TEQ/g Fett)	34
Abb. 13:	dl-PCB-Gehalte (links in pg WHO-dl-PCB-TEQ/g Fett) und ndl-PCB-Gehalte (rechts in ng PCB ₆ /g Fett) in Eiern in Abhängigkeit von Varianten unterschiedlicher Bodengehalte und Versuchslaufzeit (rote Linie = Auslösewert: 1,75 pg WHO-dl-PCB-TEQ/g Fett)	35
Abb. 14:	Mittelwerte und 95%-Konfidenzintervalle der PCDD/F-Gehalte [pg WHO-PCDD/F-TEQ/g Fett (Huhn)] im Fleisch der Hühner der drei Varianten im zeitlichen Verlauf (rote Linie: Höchstgehalt 1,75 pg WHO-PCDD/F-TEQ/g Fett)	37
Abb. 15:	Mittelwerte und 95%-Konfidenzintervalle der PCDD/F-Gehalte [pg WHO-PCDD/F-TEQ/g Fett (Huhn)] im Fleisch der Hühner im zeitlichen Verlauf (rote Linie: Höchstgehalt 1,75 pg WHO-PCDD/F-TEQ/g Fett)	37
Abb. 16:	Mittelwerte und 95%-Konfidenzintervalle der PCDD/F-Gehalte [pg WHO-PCDD/F-TEQ/g Fett] in Eiern der drei Varianten im zeitlichen Verlauf (rote Linie: Höchstgehalt 2,5 pg WHO-PCDD/F-TEQ/g Fett)	39
Abb. 17:	Abhängigkeit von 2,3,7,8-TeCDF-Gehalten (links) bzw. 1,2,3,7,8-PeCDF-Gehalten (rechts) in Eiern (y-Achse [pg/g Fett (Ei)]) vom Gehalt im Boden (x-Achse [ng/kg Boden]); differenziert nach Zeitschnitten (in Tagen)	41
Abb. 18:	2,3,7,8-TeCDF-Gehalte (links) bzw. 1,2,3,7,8-PeCDF-Gehalte (rechts) [pg/g Fett (Ei)] in Eiern (y-Achse) in Abhängigkeit von der Versuchsdauer (x-Achse) differenziert nach Versuchsvarianten ..	42
Abb. 19:	2,3,7,8-TeCDF-Gehalte (links) und 1,2,3,7,8-PeCDF-Gehalte (rechts) [pg/g Fett (Ei)] in Eiern (y-Achse) in Abhängigkeit von der Versuchsdauer (x-Achse), getrennt berechnet für die einzelnen Versuchsvarianten	43
Abb. 20:	Plot der PCDD/F-Gehalte im Hühnerfleisch (x-Achse) gegen die Gehalte im Ei (y-Achse)	44
Abb. 21:	Plot der dl-PCB-Gehalte im Hühnerfleisch (x-Achse) gegen die Gehalte im Ei (y-Achse) differenziert nach Versuchstagen	45

Abb. 22:	Plot der ndl-PCB-Gehalte im Hühnerfleisch (x-Achse) gegen die Gehalte im Ei (y-Achse) differenziert nach Versuchstagen.....	45
Abb. 23:	Frachtbilanzen für PCDD/F-Kongenere (Input: 2 g Boden/ 120 g Futter – Output: Eier/Fleisch) nach 42 Tagen.....	48
Abb. 24:	Frachtbilanzen für PCDD/F-Kongenere (Input: 2 g Boden/ 120 g Futter – Output: Eier/Fleisch) nach 84 Tagen.....	49
Abb. 25:	Frachtbilanzen für PCDD/F-Kongenere (Input: 2 g Boden/ 120 g Futter – Output: Eier/Fleisch) nach 126 Tagen (für Gehalte im Fleisch der Hühner liegen keine Untersuchungsergebnisse vor)	50
Abb. 26:	Frachtbilanzen für PCDD/F-Kongenere (Input: 2 g Boden/ 120 g Futter – Output: Eier/Fleisch) nach 168 Tagen.....	51
Abb. 27:	Frachtbilanzen für PCDD/F-Kongenere unter Berücksichtigung der jeweiligen Toxizitätsäquivalenzfaktoren (Input: 2 g Boden/ 120 g Futter – Output: Eier/Fleisch) nach 42 Tagen	53
Abb. 28:	Frachtbilanzen für PCDD/F-Kongenere unter Berücksichtigung der jeweiligen Toxizitätsäquivalenzfaktoren (Input: 2 g Boden/ 120 g Futter – Output: Eier/Fleisch) nach 84 Tagen	54
Abb. 29:	Frachtbilanzen für PCDD/F-Kongenere unter Berücksichtigung der jeweiligen Toxizitätsäquivalenzfaktoren (Input: 2 g Boden/ 120 g Futter – Output: Eier/Fleisch) nach 126 Tagen (für Gehalte im Fleisch der Hühner liegen keine Untersuchungsergebnisse vor)	55
Abb. 30:	Frachtbilanzen für PCDD/F-Kongenere unter Berücksichtigung der jeweiligen Toxizitätsäquivalenzfaktoren (Input: 2 g Boden/ 120 g Futter – Output: Eier/Fleisch) nach 168 Tagen.....	56
Abb. 31:	Prozentuale Anteile der Schadstoffaufnahme der Hühner bei einer angenommenen Bodenaufnahme von 2 g /Tag und Huhn nach 168 Versuchstagen.....	58
Abb. 32:	Frachtbilanzen für dl-PCB (Input: 2 g Boden/ 120 g Futter/Tag – Output: Eier/Fleisch) nach 168 Tagen.....	61
Abb. 33:	Frachtbilanzen für ndl-PCB (Input: 2 g Boden/ 120 g Futter/Tag – Output: Eier/Fleisch) in der Variante 1 (grün) nach 168 Tagen	62
Abb. 34:	PCDD/F-Gehalte im Fleisch der Hühner [pg/g Fett] im Versuchsverlauf (Tage) differenziert für die 3 Versuchsvarianten im Vergleich zum Versuchsbeginn	64
Abb. 35:	PCDD/F-Gehalte in den Eiern [pg/g Fett] im Versuchsverlauf (Tage) differenziert für die Versuchsvarianten grün und rot im Vergleich zum Versuchsbeginn	65
Abb. 36:	Prozentuale Verteilung der PCDD/F-Gehalte in Eiern verschiedener Standorte in NRW und vom Versuchsstandort (44.Lebenswoche) – (Σ PCDD/F je Standort = 100%)	66

0. Vorbemerkungen

Mit dem Begriff „Dioxine“ wird im allgemeinen Sprachgebrauch eine Gruppe organischer Schadstoffe, die sich aus 75 polychlorierten Dibenzodioxinen (PCDD) und 135 polychlorierten Dibenzofuranen (PCDF) zusammensetzt, bezeichnet. Polychlorierte Biphenyle (PCB) gehören zu einer ähnlichen Schadstoffgruppe mit 209 Einzelverbindungen (Kongenere). Beide Substanzgruppen liegen immer als Gemische von Einzelverbindungen mit unterschiedlicher Zusammensetzung vor.

Dioxine wurden nie gezielt produziert, sondern gelangten als unerwünschte Verunreinigung bei technischen Prozessen in die Umwelt. Im Gegensatz dazu wurden PCB früher in großen Mengen erzeugt und wegen ihrer technischen Eigenschaften industriell eingesetzt. Da beide Stoffgruppen kaum abbaubar sind, sind sie trotz erfolgreicher Emissionsminderung der letzten Jahre und Herstellungsverbieten weiterhin überall in der Umwelt nachweisbar.

Dioxine können für den Menschen langfristig bereits in sehr geringen Mengen toxisch wirken. Wenn die Stoffe vom Organismus aufgenommen werden, verteilen sie sich im Körper und werden vorrangig im Fettgewebe eingelagert. Langfristig können sie gesundheitliche Störungen unterschiedlicher Art verursachen. Eine akut giftige Wirkung ist beim Menschen allerdings nur bei Aufnahme sehr hoher Mengen, z. B. nach Unfällen zu erwarten. Auch einige PCB-Einzelverbindungen zeigen dioxinähnliche Wirkungen. Diese Verbindungen werden als dl-PCB bezeichnet.

Dioxine und PCB können sich in der Nahrungskette anreichern. Dabei sind unterschiedliche Aufnahme- und Transfermechanismen zu beachten. So ist ein Transfer in Lebensmittel direkt über kontaminiertes Futtermittel und das lebensmittelliefernde Tier, oder über die Aufnahme von Bodenpartikeln möglich. Die Aufklärung dieser Transferpfade und die Quantifizierung möglicher Umweltbelastungen ist deshalb eine wichtige Aufgabe der Wissenschaft in Zusammenarbeit mit den Behörden für Umweltschutz, Verbraucherschutz und Landwirtschaft.

In der jüngeren Vergangenheit wurden verschiedentlich Überschreitungen von Höchstgehalten der EU-Kontaminantenverordnung für Dioxine und Furane sowie polychlorierte Biphenyle in Eiern und Muskelfleisch bei Hühnern unter Freilandhaltung festgestellt. Bei Untersuchungen zur Ursachenermittlung wurden in mehreren Fällen erhöhte Schadstoffgehalte im Boden als wahrscheinliche Quelle der Belastungen ermittelt. Es fehlt allerdings bis heute an abgestimmten Bewertungsmaßstäben für Schadstoffgehalte im Boden in diesem Wirkungspfad. Um Grundlagen für eine sichere Bewertung zu schaffen, war es zunächst notwendig, Zusammenhänge zwischen Dioxin- und PCB- Gehalten in Böden, dem lebensmittelliefernden Tier und den Lebensmittelproben zu ermitteln. Um die Einflussgrößen für den Schadstofftransfer auf dem Weg Boden-Huhn-Ei bestimmen zu können, wurde das Landesamt für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz Nordrhein-Westfalen (LANUV) vom nordrhein-westfälischen Umweltministerium (MULNV) um entsprechende Untersuchungen gebeten.

In Zusammenarbeit mit dem Institut für Tierwissenschaften der Universität Bonn hat das LANUV daher zu dieser Fragestellung gezielte Untersuchungen an einem Standort im Ballungsraum des Ruhrgebietes durchgeführt. In einer 24-wöchigen Versuchsphase wurden dort Hühner auf drei Teilflächen mit unterschiedlichen Gehalten an Dioxinen und PCB im Boden gehalten und Eier sowie Muskelfleisch periodisch untersucht.

Die Ergebnisse dieses Versuchs und die sich daraus ableitenden Schlussfolgerungen wurden im vorliegenden Fachbericht zusammengestellt und bewertet. Es ist ausdrücklich darauf hinzuweisen, dass die in diesem Bericht dargestellten Ergebnisse und die sich ergebenden Konsequenzen nur auf den konkreten Versuchsstandort angewandt werden können. Um die gewonnenen Erkenntnisse auch auf andere Standorte übertragen zu können, wären weitere Untersuchungen auch auf anderen Standorten notwendig.

Für den Versuchsstandort wurde **unter den gegebenen Versuchs- und Standortbedingungen** ein Einfluss variierender Dioxin-Gehalte im Boden auf die Gehalte im Fleisch von Hühnern und von Eiern der Tiere nachgewiesen. Eine konkrete Schwelle für Schadstoffgehalte im Boden, ab denen mit Überschreitungen der Höchstgehalte in Lebensmitteln gerechnet werden muss, ließ sich aufgrund der hohen Unsicherheiten aus den Untersuchungen nicht ableiten. Auf Flächen des Versuchsstandortes mit vergleichsweise hohen Schadstoffgehalten im Boden traten jedoch erstmalig nach einigen Wochen auch Schadstoffkonzentrationen im Bereich der Höchstgehalte der EU-Kontaminantenverordnung auf. Bei Überschreiten dieser Werte dürfen Lebensmittel nicht mehr vermarktet werden.

Da Dioxine und PCB in der Vergangenheit auch über die Luft in Böden eingetragen wurden und dort kaum abgebaut, jedoch recht fest an Bodenpartikel gebunden wurden, ist es häufig zu einer Anreicherung in Böden gekommen, so dass diese Stoffe heute nahezu überall in Spuren nachweisbar sind. Durch lokale Eintragsquellen, unsachgemäßen Umgang mit schadstoffhaltigen Materialien oder nach Überflutungen bei Hochwasser-Ereignissen kann es im Einzelfall auch zu räumlich begrenzten, höheren Gehalten in Böden kommen. Das betrifft insbesondere die dicht besiedelten und in der Vergangenheit intensiv und sehr unterschiedlich genutzten Ballungsräume. Es liegen bisher jedoch nur unzureichende Kenntnisse darüber vor, wo und in welchem Umfang erhöhte Bodengehalte an Dioxinen und PCB vorkommen können. In ländlichen Gebieten werden üblicherweise niedrigere Konzentrationen als in den Ballungsgebieten gemessen.

Um das Risiko einer Kontamination von Eiern und Fleisch auch in Fällen erhöhter Schadstoffgehalte im Boden minimieren zu können, bietet das LANUV im Internet Haltungsempfehlungen für Betriebe in Freilandhaltung an¹. Bei Einhaltung der dort genannten Kriterien (z.B. Freilandhaltung auf Böden mit möglichst geschlossener Pflanzendecke) kann ein Schadstofftransfer in Lebensmittel deutlich vermindert werden.

¹

(https://www.lanuv.nrw.de/fileadmin/lanuv/verbraucher/pdf/tiergesundheit_pdf/2015_02_05_Merkblatt_Dioxine_PCB_Legehennen.pdf)

1. Veranlassung und Zielsetzung

In den vergangenen Jahren wurden bei der Freilandhaltung von Hühnern an Standorten in NRW und weiteren Bundesländern zahlreiche Überschreitungen der Höchstgehalte der EU-Kontaminantenverordnung (EG) 1881/2006 (EU-KmV) an Dioxinen und PCB in Eiern und Muskelfleisch von Hühnern festgestellt. Überschreitungen traten hierbei sowohl in Ballungsräumen mit hoher Siedlungsdichte als auch in ländlichen Bereichen auf. Bisher vorliegende Einzelergebnisse aus anlassbezogenen Untersuchungen, beispielsweise im Zuge lebensmittelrechtlicher Überwachungsmaßnahmen festgestellte Überschreitungen von Höchstgehalten der EU-Kontaminantenverordnung, deuten ebenso wie Hinweise aus der wissenschaftlichen Fachliteratur darauf hin, dass die Dioxin- und PCB-Gehalte in Böden die Gehalte in Eiern und Fleisch der dort gehaltenen Hühner beeinflussen. Quantifizierbare Zusammenhänge zwischen Dioxin- und PCB-Gehalten in Böden und Lebensmittelproben konnten jedoch bisher nicht hergestellt werden. Ebenso fehlen Beurteilungsgrundlagen für Dioxin- und PCB-belastete Böden im Hinblick auf den Schadstoffübergang in Hühner und Eier.

Aus diesem Grund hat das Ministerium für Umwelt, Landwirtschaft, Natur- und Verbraucherschutz NRW mit Erlass vom 19.02.2014 das Landesamt für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz (LANUV) NRW darum gebeten, in Kooperation mit dem Institut für Tierwissenschaften der Universität Bonn entsprechende Untersuchungen zum Transfer dieser Stoffe durchzuführen. Für die Durchführung des Versuchs wurde ein Standort im Ballungsraum des Ruhrgebietes ausgewählt, der für ein solches Projekt auch deshalb als besonders geeignet erschien, weil aus Voruntersuchungen Informationen zum Niveau und der flächenhaften Verteilung der Schadstoffgehalte im Bereich bereits bestehender Auslaufflächen für Hühner vorlagen.

2. Stand der Erkenntnisse zum Transfer von Dioxinen und PCB im Pfad Boden – Huhn - Ei

2.1 Begriffsdefinitionen

Der Begriff ‚Dioxine‘ bezieht sich auf zwei Klassen unterschiedlich chlorierter Verbindungen, bestehend aus 75 polychlorierten Dibenzo-p-dioxinen (PCDD) und 135 polychlorierten Dibenzofuranen (PCDF). Dioxine (PCDD/F) haben ähnliche chemische und physikalische Eigenschaften. Besonders toxisch und gleichzeitig persistent sind 17 Kongenere, die in 2,3,7,8-Stellung chloriert sind. Diese können sich im Fettgewebe von Tieren und Menschen anreichern.

Die Stoffgruppe der polychlorierten Biphenyle (PCB) umfasst 209 Substanzen, die sich durch Anzahl und Position der Chloratome am Biphenyl unterscheiden und unterschiedliche (toxische) Eigenschaften haben. Kongenere, die eine den Dioxinen ähnliche räumliche Struktur und ähnliche biologische Wirkungen aufweisen, werden dioxinähnliche PCB (dl-PCB) genannt. Alle anderen PCB haben keine dioxinähnlichen Eigenschaften, weisen ein anderes toxikologisches Profil auf und werden deshalb als nicht-dioxinähnliche PCB (ndl-PCB) bezeichnet (BfR, 2012). Zur Bestimmung der Konzentration an ndl-PCB wird die Summe der 6 PCB-Kongenere PCB 28, PCB 52, PCB 101, PCB 138, PCB 153 und PCB 180 (PCB₆) ermittelt.

2.2 Eintragspfade in die Nahrungskette

Dioxine entstehen als unerwünschte und manchmal unvermeidbare Verunreinigungen bei einer Vielzahl industrieller und thermischer Prozesse. Polychlorierte Biphenyle sind chlorierte Kohlenwasserstoffe, die industriell produziert wurden. Die Dioxine und PCB werden über die Luft verteilt und gelangen so in bzw. auf andere Umweltkompartimente (Bröker et al. 1998; BMU 2009). Aufgrund ihrer Persistenz kommen Dioxine (PCDD/F) und PCB sehr weit verbreitet vor, d. h. in fast allen Umweltproben (z. B. Luft, Wasser, Boden). Die emittierten Stoffe werden über die Atmosphäre durch nasse oder trockene Deposition in Böden, Wasser oder in die Vegetation eingetragen. Böden und Sedimente dienen dabei als primäres Reservoir für PCDD/F und PCB.

Von den insgesamt im Ökosystem vorhandenen PCDD/F befinden sich Schätzungen zufolge knapp 70 % im Boden, nahezu 30 % in Sedimenten von Gewässern, jeweils weniger als 1 % in Luft und Staub bzw. Wasser und nur 0,05 % in Lebewesen (Kaune und Fiedler, 1991). Etwa 90 % der PCDD/F-Exposition des Menschen gehen auf Lebensmittel zurück. Lebensmittel tierischen Ursprungs sind dabei in der Regel für etwa 80 % der Gesamtexposition verantwortlich. Die PCDD/F-Belastung von Tieren wiederum ist vor allem auf Futtermittel zurückzuführen. Daher sind Futtermittel – und in einigen Fällen bzw. regional der Boden – als potenzielle PCDD/F-Quelle von besonderer Bedeutung (Anonym, 2006). Gude et al. (2008) haben die diesbezügliche Literatur sehr gründlich und umfassend dargestellt. Der Eintrag von Dioxinen und PCB über Futtermittel in Eier wurde vor allem in den Niederlanden und Polen) sehr systematisch untersucht (Hoogenboom et al., 2006; (Piskorska-Pliszczyńska et al., 2014 und Piskorska-Pliszczyńska et al., 2015). Zwischen den Dioxingehalten im Futter

und den Eiern wurde eine lineare (positive) Beziehung ermittelt. Gleiches galt, wenn kontaminierter Boden mit einem Anteil von 10 Gewichtsprozenten dem Futter beigemischt wurde. In dieser und anderen Quellen (De Vos et al., 2005; Fujita et al., 2012) wird deutlich, dass auch für Hühner vor allem der Eintrag über die Fütterung, d. h. die Aufnahme von Dioxin- und/oder PCB-haltigem Futter durch Hühner und die nachfolgende Anreicherung in verschiedenen Körperteilen bzw. die Exkretion untersucht wurden. Diese Studien können jedoch zur Beurteilung des Transfers aus Dioxin- und PCB-haltigen Böden nicht herangezogen werden, da die Absorption der Dioxine und PCB aus dem Verdauungstrakt in den Tierkörper in großem Umfang abhängig ist von dem Trägermaterial, mit dem die Hühner Dioxine und PCB aufnehmen. Da über landwirtschaftlich genutzte Flächen ein Eintrag der Dioxine in die menschliche Nahrungskette erfolgen kann, sind Kenntnisse über ihr Vorkommen in Böden von besonderer Bedeutung (Ballschmiter und Bacher, 1996). Die in die Böden eingetragenen lipophilen Verbindungen werden an Bodenpartikel adsorbiert und sind relativ immobil. Die in der Freilandhaltung typischen Weidetiere (z. B. Rinder und Schafe) nehmen Dioxine und PCB vor allem über die oberirdische Biomasse auf, die durch anhaftende Bodenpartikel oder durch Sedimente nach Überschwemmungen kontaminiert sein kann. Die Situation bei Hühnern in Freilandhaltung stellt sich komplexer dar, weil diese aufgrund ihres typischen Verhaltens (Scharren, Picken) sowohl oberirdische pflanzliche Biomasse als auch Bodenpartikel und Bodenlebewesen (Würmer, Insekten) aufnehmen (De Vries et al., 2006; Domingo, 2014). Das führt dazu, dass in Produktionssystemen mit vorgeschriebener Freilandhaltung das Risiko des Transfers von Kontaminanten aus Böden gegenüber einer Stallhaltung erhöht ist. Dies gilt für ökologische und konventionelle Freilandhaltung von Hühnern gleichermaßen.

Daher müssen zur Beantwortung der Fragestellung (Transfer von Dioxinen und PCB im Pfad Boden – Huhn – Ei) zwangsläufig Untersuchungen mit Bodenmaterial durchgeführt werden. Eine Dotierung unbelasteter Böden mit Dioxinen und PCB schließt sich in Freilandversuchen unter Umweltschutzgesichtspunkten aus. Im Übrigen ist zu berücksichtigen, dass ein Eintrag von Dioxinen und PCB in Böden und die Sorption an Bodenbestandteile über einen sehr langen Zeitraum (Jahrzehnte (PCB) bis Jahrhunderte (Dioxine)) erfolgte. Es gilt deshalb als gesichert, dass frisch mit Schadstoffen dotierte Böden deutlich andere Eigenschaften hinsichtlich der Schadstoffverfügbarkeit aufweisen als „gealterte“ Böden, wie sie am Versuchsstandort und vielen anderen Standorten vorliegen.

2.3 Transfer in Hühner und Eier

Zwar wurden auch Untersuchungen zum Transfer von Dioxinen und PCB aus Böden in Hühner und Eier durchgeführt (Piskorska-Pliszczynska et al., 2014; Fournier et al., 2012; Hoozenboom et al. 2006; Schuler et al., 1997). Die Standorte sind jedoch häufig nicht oder nur unzureichend charakterisiert worden (z. B. Bodenart, Bodentyp), es fehlen Angaben zu den Hintergrundgehalten der Kontaminanten, und der Stichprobenumfang war häufig sehr begrenzt, so dass keine statistische Prüfung und Absicherung der Befunde erfolgen konnte. Die PCDD/F- und PCB-Gehalte der Eier wiesen teilweise bei ähnlichen Gehalten im Boden große Unterschiede auf. Bei den Untersuchungen von Schuler et al. (1997) wurden bei einem PCDD/F-Gehalt von 11 ng WHO-PCDD/F-TEQ/kg im Boden Gehalte in Eiern von 3,2 und 6,1 pg WHO-PCDD/F-TEQ/g Fett nachgewiesen, während bei einem Bodengehalt von 13 ng WHO-PCDD/F-TEQ/kg in den Eiern 19 pg WHO-PCDD/F-TEQ/g Fett und 12 pg WHO-PCDD/F-TEQ/g Fett festgestellt wurden.

In der Studie von Piskorska-Pliszczynska et al. (2014) waren die untersuchten Hühner in einem schlechten Gesundheitszustand und unterernährt, so dass an einem Standort nur eine Ei-Probe von einem Huhn, an einem zweiten Standort je eine Ei-Probe von drei Hühnern untersucht werden konnten. An einem Standort mit einem PCDD/F-Gehalt von 11,4 ng WHO-PCDD/F-TEQ/kg wurden in den Ei-Proben 1,33 pg WHO-PCDD/F-TEQ/g Fett, 2,06 pg WHO-PCDD/F-TEQ/g Fett und 15,86 pg WHO-PCDD/F-TEQ/g Fett nachgewiesen. Auch das Muskelfleisch wies große Unterschiede auf: Es wurden Gehalte von 1,71 bis 13,51 pg WHO-PCDD/F-TEQ/g Fett nachgewiesen. An dem zweiten Standort mit einem Bodengehalt von 28,89 ng WHO-PCDD/F-TEQ/kg wurden im Muskelfleisch Gehalte von 4,52 bis 83,08 pg WHO-PCDD/F-TEQ/g Fett festgestellt.

Die Bodenaufnahme durch im Freiland gehaltene Hühner ist sehr variabel. Van der Meulen et al. (2008) schätzten aus Literaturdaten eine tägliche Bodenaufnahme von 14 - 32 g/Tier, fügten aber hinzu, dass diese Werte eine so starke Verdünnung der Energie- und Nährstoffgehalte des Futters mit sich bringen würden, dass eine derart hohe Bodenaufnahme nicht mit einer hohen Legeleistung der Tiere kompatibel sei. Piskorska-Pliszczynska et al. (2015) geben an, dass bei Freilandhühnern die Bodenaufnahme 2 - 10 % der Futteraufnahme beträgt. Dies entspricht bei einer unterstellten Futteraufnahme von 120 g/Tag einer Bodenmenge von 2,4 - 12 g/Tag. Die Autoren zitieren jedoch auch Quellen, die bis zu 30 g Bodenaufnahme pro Tag nennen, ähnlich hoch wie von van der Meulen al. (2008) angegeben. Ohne konkrete Angaben zur aufgenommenen Bodenmenge zu machen, leiten andere Autoren anhand unterschiedlicher Merkmale gleichwohl ab, dass der Boden die quantitativ bedeutendste Quelle für Dioxine in Hühnereiern ist (Kijlstra et al., 2007; Waegeneers et al., 2009). Jedoch konnten Kijlstra et al. (2007) keinen statistisch signifikanten Zusammenhang zwischen den Dioxingehalten in Eiern und denen im Boden oder Regenwürmern feststellen. Dies kann als Hinweis darauf gedeutet werden, dass die Hühner den Boden beim Scharren und Picken mit unterschiedlicher Intensität bearbeiten, so dass sie unterschiedliche Mengen an Bodenmaterial aufnehmen.

Zu den Transferraten von Dioxinen und dl-PCB aus dem Futter und Boden durch den Tierkörper in das Ei liegen ebenfalls nur Abschätzungen vor. In einer neueren Übersicht geben Piskorska-Pliszczynska et al. (2015) an, dass Dioxine aus dem Futter konstant zu etwa 90 % ins Ei transferiert werden, vermutlich ein Spiegelbild der hohen Verdaulichkeit von Fett bei Hühnern und der Tatsache, dass die stark lipophilen Dioxine (und dl-PCB) sowohl bei der Absorption aus dem Verdauungstrakt als auch beim Transport im Tierkörper in das Eigelb passiv zusammen mit dem Fett transportiert werden. Dennoch sind diese Werte nur nachvollziehbar und plausibel, wenn kein Verbleib im Körperfett der Hennen unterstellt wird. Andere Autoren gehen von einer Standardrate von 25 % der aufgenommenen Dioxine aus, die in das Eigelb abgegeben werden (De Vries et al., 2006). Stephens et al. (1995) betonen, dass die Verteilung von Dioxinen in tierischen Geweben und Produkten vom Kongenerenmuster abhängt, so dass ein Anteil von 5 - 30 % der Aufnahme in das Ei gelangt, 7 - 54 % im Körperfett gespeichert werden und weniger als 1 % in der Leber verbleibt. Verständlicherweise ist dann bei männlichen Hühnern eine höhere Akkumulation im Körperfett zu beobachten, weil die Abgabe ins Ei fehlt (Petreas et al., 1996). Eine gleichgerichtete Veränderung ist auch bei niedrigen Legeleistungen von Hennen zu erwarten.

Grundsätzlich variabel sind nach Piskorska-Pliszczynska et al. (2015) die Transferraten von Dioxinen ins Eigelb aus aufgenommenem Bodenmaterial, nämlich 40 - 60 % (Piskorska-Pliszczynska et al., 2015). Die Autoren führen aus, dass diese Variation vor allem durch zwei Faktoren verursacht wird: Der Höhe der Aufnahme an Bodenmaterial und der gleichzeitigen Aufnahme von Grünfutter, weil dieses bei der Passage durch den Verdauungstrakt die Sorption und Desorption der Dioxine beeinflusst, so dass die Resorption unterschiedlich sein kann.

3. Stand der Erkenntnisse zu Dioxin- und PCB-Gehalten in Eiern und Hühnern verschiedener Haltungsformen

Im Rahmen der amtlichen Lebensmittelkontrolle werden regelmäßig Eier aus verschiedenen Haltungsformen als amtliche Proben entnommen und u.a. auf deren Gehalte an PCDD/F, dl-PCB und PCB₆ untersucht. Die Untersuchungen erfolgen sowohl aufgrund von risikoorientiert geplanten Planproben als auch im Rahmen von verschiedenen landesweiten oder länderübergreifenden Untersuchungsprogrammen.

Es soll ein kurzer Überblick über die hier vorliegenden Daten gegeben werden.

3.1 Landesweites Untersuchungsprogramm (LUP) 2012

2012 sind Hühnereier aus verschiedenen Haltungsformen in Nordrhein-Westfalen auf deren PCDD/F- und dl-PCB-Gehalte untersucht worden, da in vorhergehenden Untersuchungen Eier von freilaufenden Hühnern im Vergleich zu in Ställen gehaltenen Tieren häufiger mit diesen Kontaminanten belastet waren.

Die Ergebnisse zeigen, dass Eier von Hühnern aus Stallhaltungen geringer mit Dioxinen und dl-PCB belastet waren als Eier von Hühnern, denen ein Auslauf zur Verfügung stand.

Die Probenverteilung auf die verschiedenen Haltungsformen und die Überschreitungen der Höchstgehalte bzw. der Auslösewerte ergeben sich aus folgender Tabelle. Dabei wird die Bio- und Freilandhaltung gemeinsam betrachtet, da bei beiden Betriebsformen die Tiere immer Auslauf im Freien haben.

Tab. 1: Anzahl untersuchter Eier-Proben und Überschreitungshäufigkeit

	Bio- u. Freilandhaltung	Bodenhaltung	Käfig-/ Kleingruppenhaltung
Eier-Probenzahl	48	26	14
>Höchstgehalt (Dioxin oder Summe Dioxin+dl-PCB)	4	0	0
>Auslösewert (Dioxin oder dl-PCB)	6	0	0

In der EU-Kontaminantenverordnung, VO (EG) Nr. 1881/2006 werden die dort aufgeführten Höchstgehalte wie folgt angegeben: Dioxine (Summe aus polychlorierten Dibenzopara-dioxinen (PCDD) und polychlorierten Dibenzofuranen (PCDF), ausgedrückt in Toxizitätsäquivalenten der WHO (2005) unter Verwendung der WHO-TEF (Toxizitätsäquivalenzfaktoren), und Summe aus Dioxinen und dioxinähnlichen PCB (Summe aus polychlorierten Dibenzopara-dioxinen (PCDD), polychlorierten Dibenzofuranen (PCDF) und polychlorierten Biphenylen (PCB), ausgedrückt in Toxizitätsäquivalenten der WHO unter Verwendung der WHO-TEF (Toxizitätsäquivalenzfaktoren). TEF der WHO zur Bewertung des Risikos beim Menschen auf Grundlage der Schlussfolgerungen der Experten-Sitzung der Weltgesundheitsorganisation und des Internationalen Programms für Chemikaliensicherheit (IPCS — International Programme on Chemical Safety) in Genf im Juni 2005 (Martin van den Berg et al., The 2005 World Health Organization Reevaluation of Human and Mammalian Toxic Equivalency Factors for Dioxins and Dioxin-like Compounds. Toxicological Sciences 93(2), 223–241 (2006)).

Die durch die EU-Kontaminantenverordnung festgesetzten Höchstgehalte (HG) für Hühnereier zum Zeitpunkt des Landesweiten Untersuchungsprogramms und heute sind unverändert. Für Hühnereier sind festgelegt (jeweils WHO TEQ 2005, upperbound):

WHO-PCDD/F-TEQ: 2,5 pg/g Fett
 WHO-PCDD/F-dl-PCB-TEQ: 5,0 pg/g Fett
 Summe ndl-PCB (PCB 28, 52, 101, 138, 153, 180): 40 ng/g Fett

Ebenfalls unverändert sind die Auslösewerte der Empfehlung der Kommission zur Reduzierung des Anteils von Dioxinen, Furanen und PCB in Futtermitteln und Lebensmitteln (2013/711/EU und 2014/663/EU) geblieben. Folgende Auslösewerte (AW) gelten für Hühnereier (jeweils WHO-TEF 2005, upperbound):

WHO-PCDD/F-TEQ: 1,75 pg/g Fett
 WHO-dl-PCB-TEQ: 1,75 pg/g Fett

Tab. 2: Ergebnisse Bio- und Freilandhaltung

Bio- + Freilandhaltung	Dioxine (pg WHO-PCDD/F-TEQ/g Fett)	Σ Dioxine+dl-PCB (pg WHO-PCDD/F-dl-PCB-TEQ/g Fett)
Anzahl Proben	48	48
Min:	0,13	0,19
Max:	3,37	8,15
Mittelwert:	0,57	1,31
Median:	0,44	0,89
90. Perzentil:	1,02	2,35
95. Perzentil:	1,29	3,89

Bei den 48 Proben aus Bio- und Freilandhaltung wurden in vier Proben Höchstgehaltsüberschreitungen festgestellt. Diese vier Proben stammten jedoch nur aus zwei Betrieben.

Die Mediane der gefundenen PCDD/F- und dl-PCB-Gehalte liegen deutlich unterhalb der zulässigen Höchstgehalte und der Auslösewerte. Das 90. und 95. Perzentil liegen ebenfalls unterhalb der Höchstgehalte. Lediglich das 95. Perzentil für den dl-PCB-Gehalt liegt mit 2,23 pg WHO-TEQ/g Fett oberhalb des Auslösewertes von 1,75 WHO-TEQ/g Fett. Hieraus lässt sich ableiten, dass auch bei Bio- und Freilandeiern die gesetzlich zulässigen Höchstgehalte für Dioxine und dl-PCB grundsätzlich eingehalten werden können.

Tab. 3: Käfig- und Kleingruppenhaltung

Käfig-/Kleingruppenhaltung	Dioxine (pg WHO-PCDD/F-TEQ/g Fett)	Σ Dioxine+dl-PCB (pg WHO-PCDD/F-dl-PCB-TEQ/g Fett)
Anzahl Proben	14	14
Min:	0,11	0,20
Max:	0,24	0,31
Mittelwert:	0,17	0,25
Median:	0,16	0,22
90. Perzentil:	0,22	0,31
95. Perzentil:	0,23	0,31

Tab. 4: Bodenhaltung

Bodenhaltung	Dioxine (pg WHO-PCDD/F-TEQ/g Fett)	Σ Dioxine+dl-PCB (pg WHO-PCDD/F-dl-PCB-TEQ/g Fett)
Anzahl Proben	26	26
Min:	0,10	0,17
Max:	0,43	0,58
Mittelwert:	0,20	0,30
Median:	0,17	0,28
90. Perzentil:	0,34	0,46
95. Perzentil:	0,38	0,50

Ermittlungen in den auffälligen Betrieben

Bei den beiden Betrieben mit Höchstgehaltsüberschreitungen in den Eiern handelte es sich um einen Biobetrieb und einen Betrieb mit Freilandhaltung. Bemerkenswert ist die Feststellung, dass in beiden Betrieben nicht alle erzeugten Eier betroffen waren. Die Überschreitungen ließen sich anhand weiterer Nachproben aus unterschiedlichen Ställen jeweils auf einen betroffenen Stall eingrenzen.

In beiden Fällen beruhten die Höchstgehaltüberschreitungen auf Punktquellen (Hot Spots) im Betrieb, welche für die Kontamination verantwortlich waren. In einem Fall war ein mit PCDD/F belasteter Bimssteinschutt im Auslauf festgestellt worden und das andere Mal ein alter Traktor, der über die Zeit Öl verloren hatte.

3.2 Untersuchungen von Eiern auf Dioxine und PCB 2013 – 2016 in NRW

Routinemäßig werden von der amtlichen Lebensmittelkontrolle Hühnereier beprobt und auf ihren Gehalt an Dioxinen und PCB untersucht. Hierbei handelt es sich um risikoorientiert entnommene Proben, das heißt, dass die Auswahl der zu untersuchenden Proben und der zu kontrollierenden Betriebe gezielt auf Basis einer Risikoanalyse erfolgt. Für den Zeitraum 01.01.2013 bis 31.12.2016 liegen 282 Probenergebnisse zu Eiern aus verschiedenen Haltungsformen (soweit die Haltungsform bei der Probenahme angegeben wurde) vor. Bei diesen Proben handelt es sich sowohl um Eier, die direkt bei den Erzeugern, als auch um solche, die aus dem Einzelhandel entnommen wurden.

Tab. 5: Untersuchungsergebnisse unterschiedlicher Haltungsformen 2013-2016 (Quelle: Datenbank der amtlichen Untersuchungsergebnisse in NRW)

Haltungsform	Parameter	Anzahl Datensätze	Min	Max	Mittelwert	Median	Nominelle Überschreitung des Höchstgehaltes
Öko	PCDD/F	39	0,099	2,390	0,699	0,610	0
Öko	PCDD/F + dl-PCB	39	0,134	16,780	1,781	1,059	3
Freiland	PCDD/F	77	0,140	4,660	0,945	0,644	6
Freiland	PCDD/F + dl-PCB	77	0,220	24,800	2,598	1,083	9
Boden	PCDD/F	88	0,076	1,680	0,249	0,198	0
Boden	PCDD/F + dl-PCB	88	0,114	3,440	0,367	0,284	0
Käfig	PCDD/F	5	0,088	0,752	0,303	0,220	0
Käfig	PCDD/F + dl-PCB	5	0,128	0,794	0,365	0,294	0
Unbekannt	PCDD/F	73	0,124	3,370	0,469	0,222	2
Unbekannt	PCDD/F + dl-PCB	73	0,168	7,390	0,939	0,337	3

Alle Gehalte angegeben in pg WHO-TEQ PCDD/F-TEQ/g Fett

HG [PCDD/F]:	2,5 [pg WHO-PCDD/F-TEQ/g Fett]
HG [PCDD/F + dl-PCB]:	5,0 [pg WHO-PCDD/F+dl-PCB-TEQ/g Fett]

Bei den 116 Eiern aus Öko-(Bio) und Freilandhaltung zusammen überschritten sechs Proben nominell (ohne Berücksichtigung der Messunsicherheit) die Höchstgehalte für PCDD/F und zwölf Proben die Höchstgehalte für die Summe aus PCDD/F und dl-PCB. Darunter waren drei Proben, in denen PCDD/F und die Summe aus PCDD/F und dl-PCB gleichzeitig überschritten waren. Die Überschreitungen resultierten überwiegend aus erhöhten dl-PCB-Gehalten und weniger aufgrund der PCDD/F-Gehalte.

Neun dieser Überschreitungen (7,8 %) führten zu förmlichen Beanstandungen und amtlichen Reglementierungen. Von den nominellen Höchstgehaltüberschreitungen waren acht Betriebe

betroffen in Hilchenbach, Drensteinfurt, Espelkamp, Kamp-Lintfort, Herzebrock-Clarholz, Münster, Düsseldorf sowie ein Betrieb unbekannter Herkunft.

3.3 Ergebnisse aus dem Nationalen Rückstandskontrollplan (NRKP)

Der Nationale Rückstandskontrollplan (NRKP) für Lebensmittel tierischen Ursprungs ist ein seit 1989 durchgeführtes Programm, in dessen Rahmen unter anderem lebende Nutztiere, Fleisch, Aquakulturerzeugnisse, Milch, Eier und Honig auf Rückstände unerwünschter Stoffe untersucht werden. Die Probenahme erfolgt zielorientiert. Das bedeutet, dass Kenntnisse über örtliche oder regionale Gegebenheiten berücksichtigt werden oder dass Hinweisen auf unzulässige oder vorschriftswidrige Tierbehandlungen nachgegangen wird. Der NRKP ist also nicht auf die Erzielung statistisch repräsentativer Daten ausgerichtet.

Im Rahmen des NRKP werden bundesweit Untersuchungen von Eiern auf PCDD/F und die Summe von PCDD/F und dl-PCB durchgeführt. Die beiden folgenden Tabellen zeigen die Ergebnisse aus den letzten NRKP-Durchgängen 2012, 2013 und 2014 (BVL: https://www.bvl.bund.de/DE/01_Lebensmittel/02_UnerwunschteStoffeOrganismen/02_TAM_RueckstaendeLM/01_NRKP/Im_nrkp_node.html).

Tab. 6: Untersuchungsergebnisse der NRKP-Durchgänge 2012-2014

Haltungsform	Anzahl untersuch- ter Proben	Nachweis von Dioxinen	Anzahl Proben mit Gehalten > 2,5 pg/g Fett	Mittelwert [pg/g Fett]	Median [pg/g Fett]	Minimum [pg/g Fett]	Maximum [pg/g Fett]
Erzeugnis gemäß Öko- Verordnung (EG) 2014	14	14	0	0,53	0,55	0,10	1,0
2013	17	17	0	0,54	0,50	0,10	1,9
2012	10	10	0	0,38	0,35	0,05	0,9
Freilandhaltung 2014	44	44	0	0,63	0,50	0,10	2,4
2013	27	26	1	0,54	0,37	0,00	3,0
2012	28	28	0	0,81	0,40	0,10	2,9
Käfighaltung 2014	2	2	0	0,10	0,10	0,10	0,1
2013	7	7	0	0,17	0,10	0,10	0,17
2012	4	4	0	0,18	0,20	0,10	0,2
Bodenhaltung 2014	65	65	0	0,26	0,20	0,10	1,6
2013	62	61	1	0,26	0,20	0,00	3,1
2012	69	69	0	0,24	0,20	0,04	2,5
ohne Angabe 2014	12	12	1	0,66	0,30	0,10	2,6
2013	10	10	1	0,63	0,30	0,20	2,8
2012	11	11	0	0,53	0,30	0,10	2,1
Summe	382	380	4				

Gehalte in pg WHO-PCDD/F-TEQ/g Fett (upperbound)

Fortsetzung Tab. 6: Untersuchungsergebnisse der NRKP-Durchgänge 2012-2014

Haltungsform	Anzahl untersuchter Proben	Nachweis von Dioxinen und dioxin- ähnlichen PCB	Anzahl Proben mit Gehalt en > 5,0 pg/g Fett	Mittelwert [pg/g Fett]	Median [pg/g Fett]	Minimum [pg/g Fett]	Maximum [pg/g Fett]
Erzeugnis gemäß Öko-Verordnung (EG) 2014	14	14	0	0,84	0,70	0,20	2,40
2013	17	17	1	1,44	0,90	0,20	8,80
2012	10	10	0	0,98	0,66	0,30	3,32
Freilandhaltung 2014	44	44	2	1,57	0,70	0,20	12,40
2013	27	26	2	2,40	0,49	0,10	45,80
2012	28	28	2	2,03	0,95	0,20	12,00
Käfighaltung 2014	2	2	0	0,15	0,15	0,10	0,20
2013	7	7	0	0,21	0,20	0,10	0,50
2012	4	4	0	0,23	0,20	0,20	0,30
Bodenhaltung 2014	65	65	0	0,36	0,30	0,10	1,80
2013	62	62	0	0,36	0,30	0,00	3,20
2012	65	65	0	0,34	0,20	0,06	3,00
ohne Angabe 2014	12	12	1	1,56	0,45	0,20	7,70
2013	10	10	0	0,93	0,40	0,30	4,30
2012	11	11	0	0,91	0,60	0,20	2,60
Summe	376	376	8				

Gehalte in pg WHO-PCDD/F+dl-PCB-TEQ/g Fett (upperbound)

In vier von insgesamt 376 (1,1 %) untersuchten Proben in den Jahren 2012, 2013 und 2014 wurden Gehalte an PCDD/F über dem Höchstgehalt festgestellt. Betroffen von den Höchstgehaltsüberschreitungen waren eine Freilandhaltung, eine Bodenhaltung sowie zwei unbekannte Haltungsformen.

In acht von insgesamt 376 (2,1 %) untersuchten Proben in den Jahren 2012, 2013 und 2014 wurden Summengehalte von PCDD/F und dl-PCB über dem Höchstgehalt festgestellt. Betroffen von den Höchstgehaltsüberschreitungen waren eine Öko-(Bio-)haltung, zwei Freilandhaltungen und eine unbekannte Haltungsform.

3.4 Dioxindatenbank des Bundes und der Länder

Das Umweltbundesamt (UBA) betreibt in Zusammenarbeit mit dem Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL) und dem Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) die Dioxindatenbank des Bundes und der Länder. Dabei ist zu berücksichtigen, dass diese Datenbank auch alle Ergebnisse aus NRW enthält.

Eine Abfrage der dort vorliegenden Daten zu Untersuchungen von Eiern auf Dioxine und PCB von 2010 bis Mai 2017 ergibt folgende Ergebnisse:

Tab. 7: Untersuchungsergebnisse in der Dioxindatenbank

WHO-PCDD/F-TEQ (2005) [ng/kg]						
	Anzahl Proben	Mittelwert	Median	90. Perzentil	95. Perzentil	Max.
Haltungsform						
Bio + Freiland	509	0,694	0,491	1,217	2,013	22,273
Boden	356	0,379	0,291	0,567	0,948	9,105
Käfig	36	0,336	0,332	0,406	0,421	1,464

WHO-PCDD/F+ dl-PCB-TEQ (2005) [ng/kg]						
	Anzahl Proben	Mittelwert	Median	90. Perzentil	95. Perzentil	Max.
Haltungsform						
Bio + Freiland	508	1,675	0,922	2,727	4,978	65,303
Boden	353	0,541	0,407	0,886	1,254	9,552
Käfig	36	0,431	0,425	0,513	0,525	1,647

Angegeben sind jeweils die Mittelwerte der länderspezifischen Auswertung (ausgenommen Max.)

Da die Daten in der Datenbank nach Bundesländern getrennt vorliegen, wurden jeweils die Mittelwerte aus den verfügbaren Daten gebildet – mit Ausnahme der Angabe der Maximalwerte. Hier lässt sich erkennen, dass auch bei Bio- und Freilandhaltung die Mittelwerte der 95. Perzentile sowohl bei den Gehalten der Dioxine als auch bei der Summe aus Dioxinen und dl-PCB unterhalb der Höchstgehalte liegen.

3.5 Zusammenfassung / Interpretation

Die bisher hier vorliegenden Untersuchungsergebnisse aus Nordrhein-Westfalen zeigen, dass Höchstgehaltüberschreitungen eher bei Öko-(Bio-) und Freilandhaltungen auftreten als bei Käfig-/Volierenhaltungen. Auch Bodenhaltungen weisen so gut wie keine Überschreitungen auf. Diese Befunde korrelieren auch gut mit den Ergebnissen aus dem NRKP und den in der Dioxindatenbank des Bundes und der Länder gespeicherten Werten. Höchstgehaltüberschreitungen sind insbesondere bei den Summenparametern PCDD/F und dl-PCB zu beobachten. Die Überschreitungen aufgrund erhöhter reiner PCDD/F-Gehalte sind eher gering.

Die in Nordrhein-Westfalen festgestellten Höchstgehaltüberschreitungen resultieren überwiegend aus erhöhten Gehalten an dl-PCB und nicht aus den PCDD/F-Gehalten. Dies korreliert mit der Beobachtung, dass die Dioxingehalte in der Umwelt rückläufig sind, wogegen die PCB-Gehalte auf einem Level bleiben. Die Belastung bei Haltungsformen mit Auslauf für die Tiere (Bio- und Freilandhaltung) ist in der Regel höher als bei reiner Boden- oder Käfighaltung. Insgesamt kommen Höchstgehaltüberschreitungen jedoch nur selten vor. Zudem ließen sich die Überschreitungen in Nordrhein-Westfalen überwiegend auf Punktquellen zurückführen.

Eine Ableitung von besonders belasteten Gebieten in Nordrhein-Westfalen ist anhand der Daten nicht möglich.

4. Versuchskonzept

Zur Ermittlung der Aufnahme von Dioxinen und PCB aus den Böden durch die dort gehaltenen Hühner und der Anreicherung der Kontaminanten im Fleisch der Hühner und den Eiern war es zwingend erforderlich, die Untersuchung unter ähnlichen Bedingungen wie in der landwirtschaftlichen Praxis durchzuführen. Nur ein Freilandversuch auf gewachsenen Böden bietet die Möglichkeit eines realistischen Vergleichs mit Untersuchungen an anderen Standorten. Eine Grundvoraussetzung für die Übertragbarkeit besteht darin, dass Hühner auf Flächen gehalten werden, deren Böden nicht künstlich mit Schadstoffen angereichert wurden. Vergleichbare Untersuchungen wurden bisher noch nicht durchgeführt.

Die Versuchsflächen wurden an einem Standort im Ruhrgebiet ausgewählt, der für diese Fragestellung auch deshalb besonders geeignet war, weil dort bereits seit vielen Jahren Hühner in Freilandhaltung gehalten werden und von den dortigen Flächen Boden- und Eieruntersuchungen auf Dioxine und PCB aus dem Jahr 2012 vorlagen. Aus den Ergebnissen dieser Untersuchung und den anschließenden Voruntersuchungen aus 2013/14 sowie 2015 konnte geschlossen werden, dass die am Standort vorliegenden Bodengehalte von 12 bis 14 bzw. 17 bis 23 ng WHO-PCDD/F-TEQ/kg Boden unter Einbeziehung einer geringer belasteten Variante nach Austausch des Oberbodens mit einem Gehalt von 5 bis 6 ng WHO-PCDD/F-TEQ/ kg Boden die Spannweite üblicherweise vorkommender Gehalte abdecken. Noch geringer belastetes Bodenmaterial für den Austausch des Oberbodens stand nicht zur Verfügung.

Hühner zeigen bezüglich ihres Pick- und Scharrverhaltens und damit ihres Aktionsradius unterschiedliche Präferenzen. Dies wirkt sich möglicherweise auf die Bodenaufnahmerate der Tiere aus. Da mit Blick auf die Fragestellung grundsätzlich nicht auf die Durchführung eines Versuchs unter Freilandbedingungen verzichtet werden konnte, die Verhaltensweise der Hühner unter diesen Rahmenbedingungen jedoch nicht steuerbar ist, waren besondere Anforderungen an das Versuchskonzept zu stellen. Um diese Anforderungen zu berücksichtigen, wurde ein biometrisches Gutachten durch Prof. Hilgers (Institut für medizinische Statistik der RWTH Aachen) erstellt. Das Konzept basiert auf realistisch vorkommenden Unterschieden in der Höhe der Dioxin-Gehalte in den Böden von drei Auslaufflächen sowie den zu erwartenden Gehalten in Fleisch und Eiern, die auf der Basis vorliegender Untersuchungsergebnisse in NRW und von Literaturlauswertungen abgeschätzt wurden. Es setzt voraus, dass sich die Bodengehalte der Auslaufflächen voneinander unterscheiden und dass die Schadstoffkonzentrationen in den Hühnern und den Eiern im Wesentlichen aus der Aufnahme belasteten Bodenmaterials resultieren. Da diese Voraussetzungen als erfüllt angesehen wurden, wurde für jede Gruppe der Stichprobenumfang berechnet, der zum Nachweis eines gesicherten Unterschiedes in den Dioxin-Gehalten im Hühnerfleisch erforderlich ist. Mit der so ermittelten Mindestanzahl von Hühnern können auch Unterschiede im individuellen Verhalten der Tiere erfasst werden.

Aufgrund des unterschiedlichen Scharr- und Pickverhaltens, des Wachstums der Hühner und der Verteilung der aufgenommenen Dioxin-Menge im Fettgewebe der Hühner sowie der Ausscheidung mit den Eiern und mit dem Kot waren in Abhängigkeit vom Alter der Hühner unterschiedliche Dioxin-Gehalte zu erwarten. Da Hühner nur bis zu einem Lebensalter von ca. 32 Wochen einen messbaren Lebendmassezuwachs aufweisen und dann als ausgewachsen gelten, kann erwartet werden, dass danach durch weitere Aufnahme von Dioxinen

durch den Kontakt mit dem Boden die Dioxin-Konzentrationen im Fett weiter steigen. Deshalb wurden die PCDD/F-Gehalte in den Hühnern und den Eiern bis 12 Wochen nach dem Ende des Größenwachstums untersucht.

Der Zeitraum zwischen der Legereife der Hühner im Lebensalter von 20 Wochen und dem daraufhin erfolgenden Erstkontakt mit dem Boden bis 12 Wochen nach Ende des Größenwachstums bestimmte die Projektlaufzeit von 24 Wochen.

5. Durchführung

Für die Durchführung des Projekts wurden Hühner auf drei Versuchsflächen mit jeweils einer Auslauffläche von 150 m² und einem Hühnerstall gehalten. Die Auslaufflächen wiesen bei allen drei Versuchsflächen eine dichte Grasnarbe über den gesamten Bereich auf. Beispielfhaft ist in Abb. 1 der Auslauf von Variante 3 dargestellt. Die drei Auslaufflächen wurden durch 1,80 m hohe Zäune voneinander getrennt und zum Schutz vor Greifvögeln mit einem Netz überspannt.

Bei Voruntersuchungen zur Bodenbelastung waren in 2013/14 die PCDD/F-Gehalte der oberen Bodenschicht von 0-10 cm in einem 5*5 m – Raster differenziert für die gesamte Fläche bestimmt worden. Anhand dieser Untersuchungen wurden die Versuchsvarianten festgelegt. Der dabei in Variante 3 festgestellte Bodengehalt von 17 bis 23 ng WHO-PCDD/F-TEQ/kg stellt die Obergrenze der Belastung dar. Im gleichen Areal befindet sich eine Fläche, die geringere Gehalte (12 bis 14 ng WHO-PCDD/F-TEQ/kg) aufweist (Variante 2). Die am Standort vorliegenden Gehalte entsprechen typischen Gegebenheiten im Ballungsraum von NRW. Die PCDD/F-Gehalte der dritten Fläche mit dem niedrigsten Bodengehalt von ca. 5 bis 6 ng WHO-PCDD/F-TEQ/kg wurden durch Abtragen des vor Ort vorhandenen Oberbodens und Einfüllen eines geringer belasteten Bodens aus dem südlichen Münsterland in einer Tiefe bis 15 cm erreicht (Variante 1). Zur Absicherung der Untersuchungsergebnisse wurden anschließend Bodenproben jeweils als Mischproben für die festgelegten Auslaufflächen entnommen und analysiert. Eine erneute und abschließende der Untersuchung der Böden wurde nach Abschluss des Versuches wiederum im 5*5 m - Raster durchgeführt.

Neben den Analysen auf PCDD/F, dl-PCB und ndl-PCB wurden auch Körnungsanalysen der Böden durchgeführt sowie deren TOC-Gehalte und pH-Werte ermittelt.



Abb. 1: Auslauf von Stall 3 am 01.08.2016

Für das Projekt wurden Hybridhühner der Rasse Tetra eingesetzt. Die Küken wurden bei einem Geflügelhändler bis zum Alter 15–16 Wochen gehalten. Danach wurden die Hühner auf den Hof eines anderen Geflügelhandels verbracht und verblieben dort bis zum Alter von 20 Wochen. Die Hühner wurden dort teilweise auch schon mit Legemehl gefüttert; sie wurden aber im Dunkeln gehalten, damit sie noch keine Eier legen. Im Alter von 20 Wochen wurden die Hühner am 26.07.2016 auf die Versuchsflächen gebracht.

Nach den Vorgaben des biometrischen Gutachtens (Anhang) waren für die Durchführung des Projekts 63 Hühner erforderlich. Da - wie bei jeder Hühnerhaltung möglich - ein Teil der Tiere eines natürlichen Todes sterben kann, wurde eine Dropout Rate von 10 % berücksichtigt, so dass zusätzlich neun Hühner in den Versuch aufgenommen werden mussten. Somit wurden zu Anfang des Versuchs 72 Hühner aufgestellt. Zur Ermittlung der PCDD/F- und PCB-Gehalte im Fleisch der Hühner vor dem ersten Kontakt mit dem Boden wurden von den drei Teilflächen je drei legereife Hühner im Alter von 20 Wochen durch Injektion des Barbiturats Pentobarbital getötet und das Brustfleisch im Chemischen und Veterinäruntersuchungsamt Münsterland-Emscher-Lippe (CVUA-MEL) untersucht. Danach wurden zu drei weiteren Zeitpunkten (Alter der Tiere 26, 32 und 44 Wochen) von jeder der drei Teilflächen sechs Hühner getötet und untersucht.

Die getöteten Tiere wurden jeweils unverzüglich an das Labor des CVUA-MEL geliefert und in der dortigen Pathologie seziert. Da sich PCDD/F und PCB im Fettgewebe einlagern, wurde möglichst viel fetthaltiges Gewebe des gesamten Tieres entnommen. Die nachfolgende Fettbestimmung im Labor ergab jeweils Fettgehalte von ca. 70-80%. Der zugrundeliegende Fettgehalt spiegelt somit ungefähr die Situation beim Verzehr von Hühnerfleischprodukten, z.B. eines Suppenhuhnes wider.

Im Verlauf des Projektes sind zwei Hühner gestorben: 26 Tage nach dem Start des Projekts ein Huhn aus dem Stall 1/Variante 1 und 36 Tage nach dem Start ein Huhn aus Stall 3 / Variante 3. Nach Auskunft des für die Überwachung des Gesundheitszustands der Hühner zuständigen Tierarztes sind die Hühner eines natürlichen Todes (Legenot) gestorben.

Zur Fütterung der Hühner wurde marktübliches Legehennenfutter verwendet. Das mehlartige Futtermittel wurde ausschließlich in die Futtertröge der drei Hühnerställe gegeben. Eine Fütterung auf den Auslaufflächen wurde nicht durchgeführt. Die Tagesration entsprach in etwa einer Menge an 120 – 130 g Futtermittel/Huhn.

Von 17:00 Uhr bis zum nächsten Tag um 8:00 Uhr verblieben die Hühner in den Ställen. Von 8:00 Uhr bis 17:00 Uhr konnten die Hühner neben dem Hühnerstall auch die Auslaufflächen nutzen und beim Scharren sowohl Gras als auch Boden mit aufnehmen. Eine zusätzliche Fütterung mit Grünfutter erfolgte nicht.

Die Anzahl der gelegten Eier pro Tag wurde für die drei Ställe getrennt erfasst. Die Legeleistung, d.h. die Anzahl der Eier je Huhn und Tag ist differenziert für die drei Ställe in Abb. 2 dargestellt. Bereits wenige Tage nach dem Start ist in allen drei Ställen über den gesamten Versuchszeitraum eine sehr hohe Legeleistung von etwa 0,9 Eiern pro Huhn und Tag zu erkennen mit - bedingt durch geringere Außentemperaturen - leicht abnehmender Tendenz im Zeitraum von Anfang November 2016 bis Januar 2017. Unterschiede in der Legeleistung zwischen den Versuchsvarianten sind nicht erkennbar.

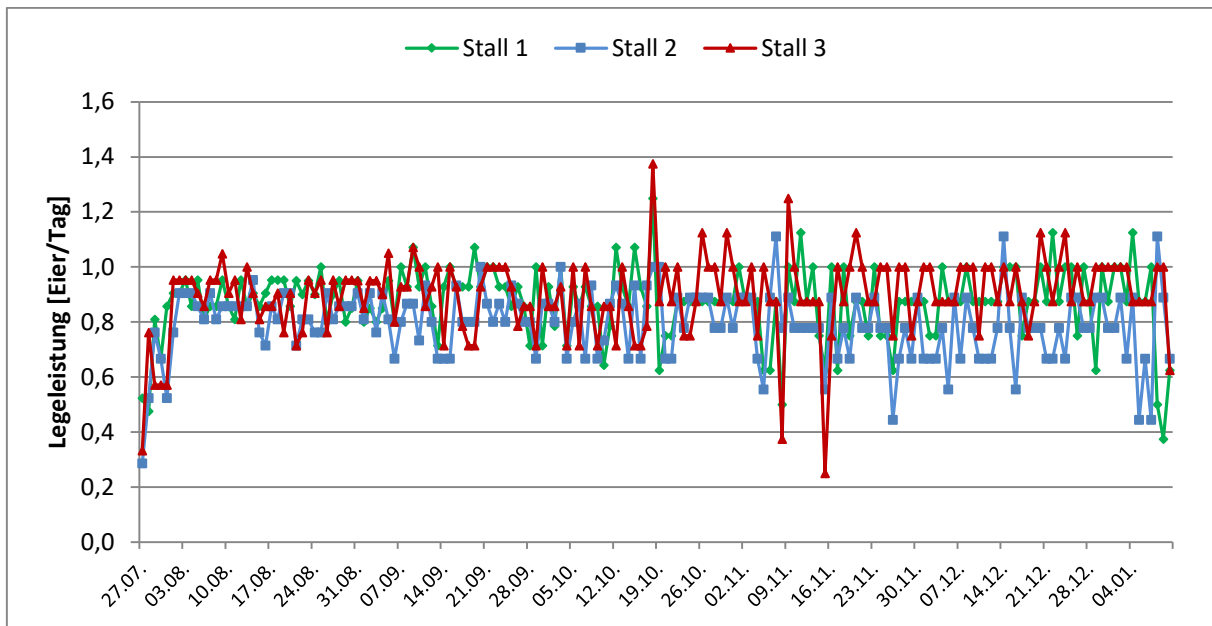


Abb. 2: Legelleistung der Hühner der Ställe 1, 2 und 3 im Versuchszeitraum von Juli 2016 bis Januar 2017

Zur Bestimmung der PCDD/F- und PCB-Gehalte der Eier wurden den Vorgaben des biometrischen Gutachtens (Anhang) entsprechend vor dem ersten Kontakt mit den Böden im Lebensalter von 20 Wochen von jeder Teilfläche drei Mischproben von je drei Eiern entnommen und ebenfalls im Labor des CVUA-MEL auf ihre Gehalte an PCDD/F und PCB untersucht. Danach wurden zu vier weiteren Zeitpunkten (26., 32., 38. und 44. Lebenswoche der Hühner) am Tag bevor die Hühner getötet wurden, für jede Teilfläche entsprechend sechs Mischproben von je drei Eiern erstellt und auf ihre Gehalte an Dioxinen und PCB untersucht. Darüber hinaus wurden weitere Eierproben aus der 22., 24., 28. und 30. Lebenswoche zunächst als Rückstellproben gelagert und nach der Auswertung der ersten Ergebnisse ebenfalls untersucht.

Um einen möglichen Eintrag von PCDD/F und PCB über das Futtermittel und das Tränkwasser sowie über Materialien, mit denen die Hühner während des Projekts Kontakt hatten, zu erfassen, wurden Futtermittel (*Charge 1: 26.07.2016 bis 06.09.2016; Charge 2: 07.09.2016 bis 18.10.2016; Charge 3: 19.10.2016 bis 10.01.2017*), Tränkwasser, Stroh und Materialproben von Hühnerställen, Stützpfehlen für die Netze über den Auslaufflächen sowie Legenestern auf ihre Gehalte an PCDD/F und PCB untersucht.

In unmittelbarer Nähe zu den Auslaufflächen der Hühner wurden Grünkohlpflanzen in mit unbelasteter Einheitserde gefüllten Pflanzcontainern kultiviert und nach Versuchsende auf ihre Schadstoffgehalte untersucht. Da Grünkohl als Indikatorpflanze für immissionsbedingte Einträge von PCDD/F und PCB gilt, können diese Ergebnisse auf atmosphärische Stoffeinträge hin bewertet werden.

6. Auswertungen und Ergebnisse

Für die Auswertungen des Versuches wurden die folgenden Konventionen zu Grunde gelegt:

- Daten mit Werten für Einzelparameter „<BG“ gehen grundsätzlich mit dem Wert der Bestimmungsgrenze in die Auswertung ein.
- Summenparameter werden als „Upper Bound“-Werte ausgewertet, da dies der üblichen Vorgehensweise in der Lebens- und Futtermittelbewertung entspricht.

Ausgewählte Berechnungen und Statistiken werden zusätzlich mit „Lower Bound“-Werten durchgeführt.

6.1 Böden

PCDD/F-Analysen der verschiedenen Bodenproben auf den Untersuchungsflächen

Im Rahmen der Voruntersuchungen zur Versuchsdurchführung waren in 2013/14 Beprobungen der oberen Bodenschicht von 0-10 cm in einem 5*5 m – Raster durchgeführt und die Bodenproben auf PCDD/F-Gehalte analysiert worden. Nach Abschluss des Versuchs in 2017 wurden die Böden der drei auf dieser Basis festgelegten Auslaufflächen nach gleichem Muster, differenziert in je 6 Teilquadranten erneut beprobt und untersucht. Da der Boden der Fläche 1 zwischenzeitlich ausgetauscht worden war, ist ein Vergleich für diese Fläche nur mit den Werten des aufgebrauchten Materials möglich. In der nachfolgenden Abbildung werden die Untersuchungsergebnisse der einzelnen Quadranten für PCDD/F vor und nach dem Versuch räumlich dargestellt (Abb. 3). Zwar sind für einzelne Quadranten leichte Abweichungen gegenüber der Voruntersuchung festzustellen, im Mittel bestätigen sich die Ergebnisse der Voruntersuchungen jedoch.

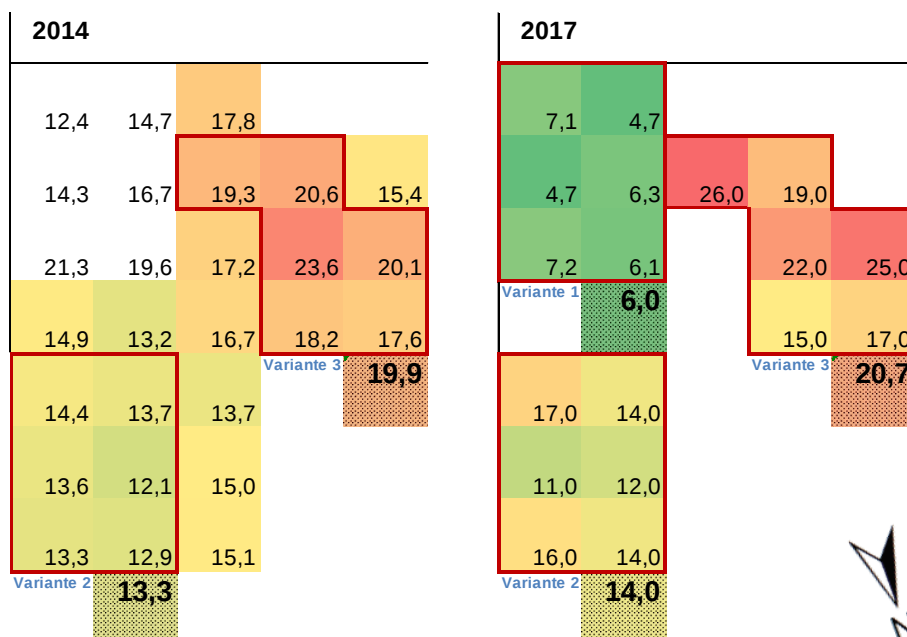


Abb. 3: PCDD/F-Gehalte [ng WHO-PCDD/F-TEQ/kg Boden] im Oberboden (0-10 cm) der Versuchsflächen. Ergebnisse der Untersuchungen aus 2014 und 2017 (Aufsicht)

Unmittelbar vor Versuchsbeginn waren in 2015 zur Absicherung der mittleren Gehalte auf den drei Auslaufflächen Mischproben von der jeweiligen Gesamtfläche entnommen und analysiert worden. Mit gemessenen PCDD/F-Gehalten von 4,6 ng WHO-PCDD/F-TEQ/kg im Auslauf der Variante 1 (grün), 13,0 ng WHO-PCDD/F-TEQ/kg im Auslauf der Variante 2 (blau) bzw. 17,0 ng WHO-PCDD/F-TEQ/kg im Auslauf der Variante 3 (rot) bestätigen auch diese Untersuchungen die grundsätzliche Abstufung der Bodengehalte.

Anhand aller durchgeführten Bodenuntersuchungen wurden auch Vergleiche der unterschiedlichen Probenahmezeitpunkte bzgl. der jeweiligen Kongenerenverteilung vorgenommen. Für diese Vergleiche konnten auch die Ergebnisse der Voruntersuchungen des Aufbringungsmaterials auf Fläche 1 (grün) einbezogen werden.

Nachfolgend (Abb. 4 - Abb. 6) werden für die drei Versuchsflächen jeweils die Analysenergebnisse aller dort entnommenen Bodenproben für alle Kongenere grafisch dargestellt und verglichen. Danach ist festzustellen, dass insbesondere für die beiden Flächen 2 (blau) und 3 (rot) mit „gewachsenem“ Boden die jeweiligen Analysenwerte recht gut reproduzierbar zu sein scheinen. Leichte Streuungen sind auf der Fläche 2 (blau) beim OCDF zu konstatieren. Etwas höhere, jedoch auch vertretbare Streuungen finden sich auf der Fläche 1 (grün), was damit zusammenhängen kann, dass geringfügige punktuelle Vermischungen mit dem ursprünglichen Bodenmaterial beim Bodenaustausch möglicherweise nicht gänzlich ausgeschlossen werden konnten.

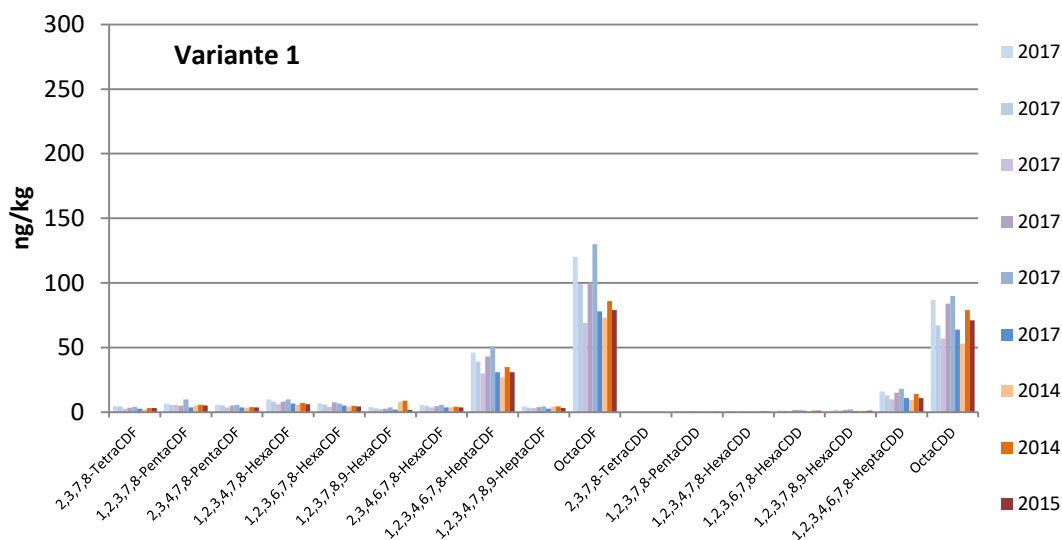


Abb. 4: PCDD/F-Gehalte [ng/kg Boden] im Oberboden (0-10 cm) der Variante 1 (grün) – (2017: Flächenbeprobung von 6 Teilquadranten, 2015: Flächenbeprobung als Mischprobe der Gesamtfläche, 2014: Beprobung des Aufbringungsmaterials)

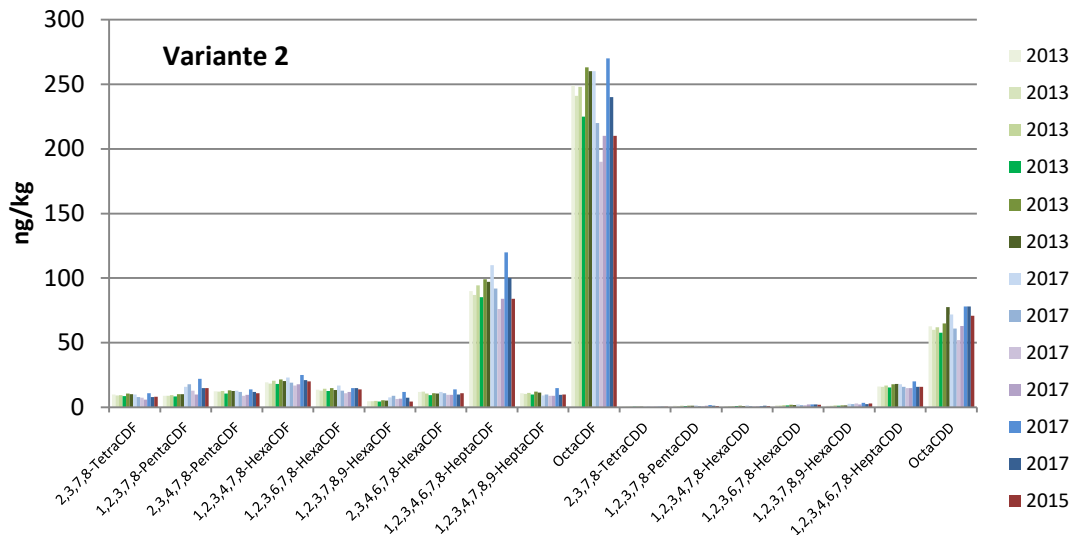


Abb. 5: PCDD/F-Gehalte [ng/kg Boden] im Oberboden (0-10 cm) der Variante 2 (blau) – (2013 und 2017: Flächenbeprobung von 6 Teilquadranten, 2015: Flächenbeprobung als Mischprobe der Gesamtfläche)

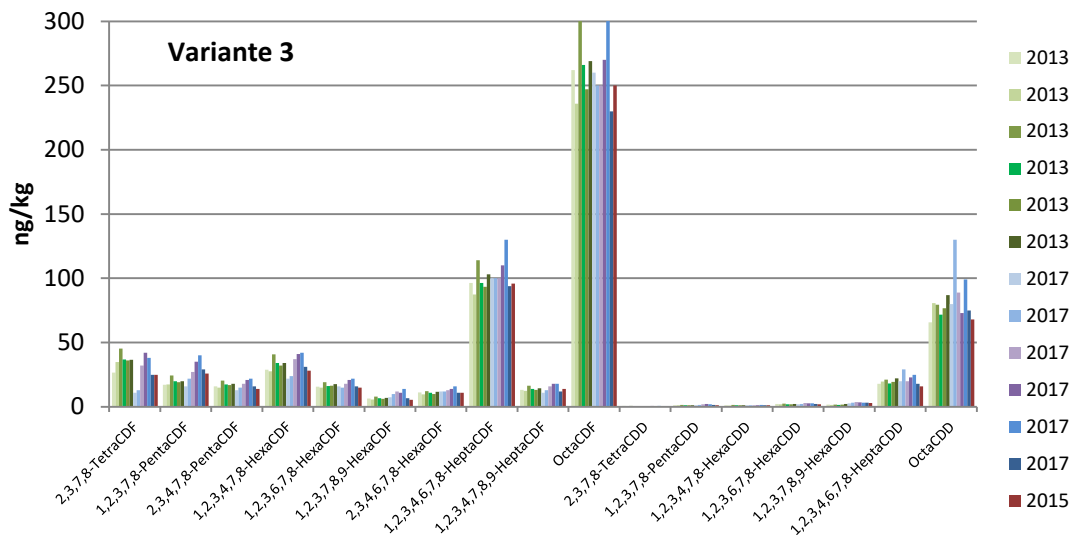


Abb. 6: PCDD/F-Gehalte [ng/kg Boden] im Oberboden (0-10 cm) der Variante 3 (rot) – (2013 und 2017 Flächenbeprobung von 6 Teilquadranten, 2015: Flächenbeprobung als Mischprobe der Gesamtfläche)

Für die weiteren Auswertungen zum Transfer wurde entschieden, ausschließlich die in 2015 ermittelten Bodenwerte zu berücksichtigen. Die Konzentrationen der Kongenere in den Bodenproben der drei Varianten werden in der nachfolgenden Abbildung gezeigt (Abb. 7). Mit Ausnahme des OCDD sind in der Variante 1 erwartungsgemäß niedrigere Gehalte aller Kongenere gegenüber den Belastungsvarianten 2 und 3 festzustellen.

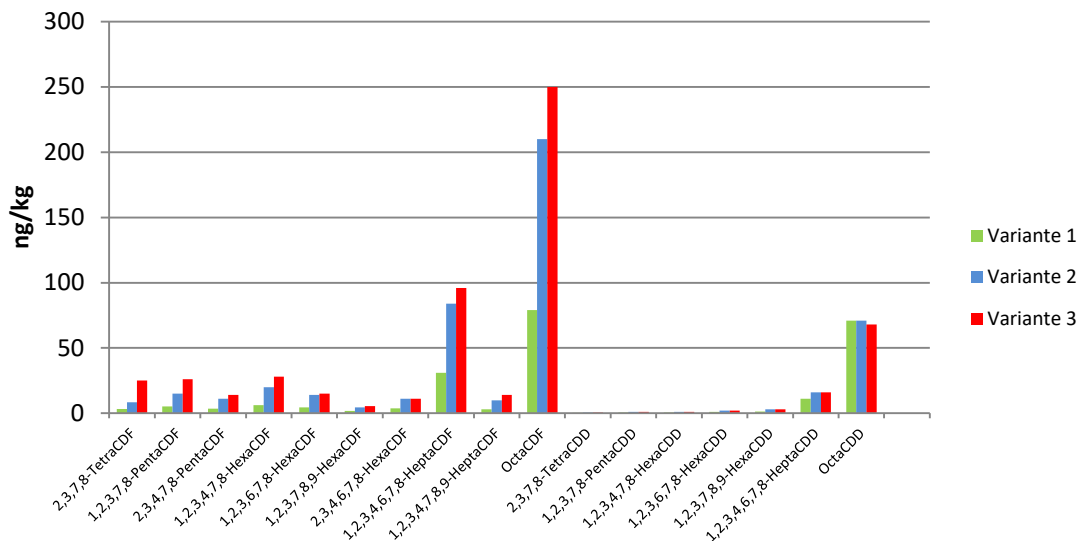


Abb. 7: PCDD/F-Gehalte in Böden [ng/kg TS] der 3 Varianten (Probenahme 2015)

Die PCDD/F-Profile der Böden werden durch die Visualisierung der prozentualen Anteile der Kongenere an der Summe der PCDD/F in der nachfolgenden Abbildung deutlich (Abb. 8).

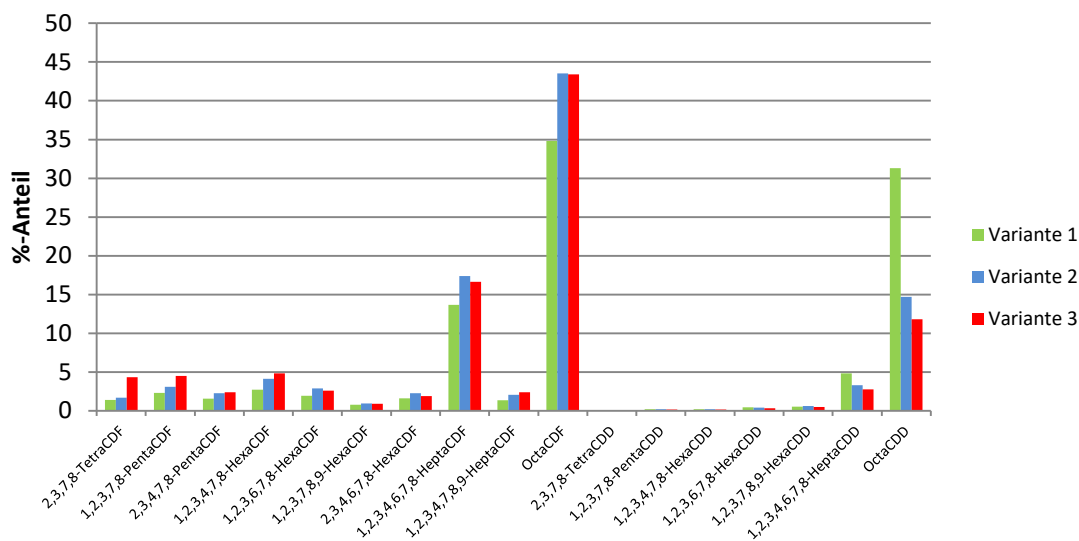


Abb. 8: Relativer Anteil (% an Gesamtsumme einer Variante) der PCDD/F-Kongenere in Böden der drei Varianten (Probenahme 2015)

Bei der Gegenüberstellung der Varianten ist zu erkennen, dass das auf der Fläche 1 aufgefüllte Bodenmaterial relativ hohe Gehalte an hepta- und octachlorierten Dioxinen aufweist, wohingegen die Böden der Belastungsvarianten 2 und 3 zwar für einen großen Teil der Kongenere - von 1,2,3,6,7,8-HexaCDF bis OCDD - ein untereinander ähnliches Verteilungsmus-

ter zeigen, im Vergleich dieser beiden Varianten jedoch auf der Versuchsfläche 3 relativ hohe Anteile an 2,3,7,8-TetraCDF und 1,2,3,7,8-PentaCDF nachgewiesen wurden.

Wie zuvor beschrieben liegen die Versuchsflächen im anthropogen stark überprägten Ballungszentrum des Ruhrgebietes. Für einen Vergleich mit anderen Flächen unter Freilandhaltung von Hühnern wurden beispielhaft Untersuchungen des LANUV von 2012 - 2014 aus dem Kreis Borken (n=6), zwei Untersuchungen aus dem Kreis Minden-Lübbecke (n=11 und (n=5) sowie die Untersuchung am Versuchsstandort aus 2012 (n=2) und eine zeitgleich in Duisburg (n=2) durchgeführte Untersuchung herangezogen. Dabei zeigen sich deutliche Unterschiede beim Vergleich der mittleren prozentualen Verteilung der Kongenere (Abb. 9). So weisen alle Flächen am Versuchsstandort höhere Anteile an Furanen und tendenziell niedrigere Anteile an Dioxinen auf. Besonders deutlich prägt sich dieser Unterschied aber bei den Böden der Varianten 2 und 3 sowie bei den Proben aus 2012, also den vor Versuchsbeginn dort bereits untersuchten Bodenproben aus. Aber auch die ca. 5 km nördlich des Versuchsstandorts gelegene Fläche in Duisburg und das in der Variante 1 aufgebrachte, aus dem Kreis Recklinghausen stammende Bodenmaterial weisen vergleichsweise hohe Furananteile auf. Im Gegensatz dazu finden sich in anderen Bodenproben höhere Anteile v.a. hochchlorierter Dioxine. Bei einer ergänzenden Auswertung der prozentualen Verteilung der Kongenere aller Standorte sind bei Betrachtung der tetra- bis hexachlorierten Furane weitere Auffälligkeiten erkennbar. Ähnlich hohe prozentuale Anteile von 2,3,7,8-TeCDF, 1,2,3,7,8-PeCDF, 2,3,4,7,8-PentaCDF und 1,2,3,4,7,8-HexaCDF wie am Standort in Duisburg werden durchaus auch an einzelnen Standorten im ländlichen Bereich festgestellt. Den Fragen, ob solche Unterschiede im Kongenerenprofil der PCDD/F regional verbreitet sind oder sich auf einzelne Standorte beschränken und welche Ursachen dafür verantwortlich sind, kann möglicherweise durch Auswertung weiterer Bodenuntersuchungen nachgegangen werden.

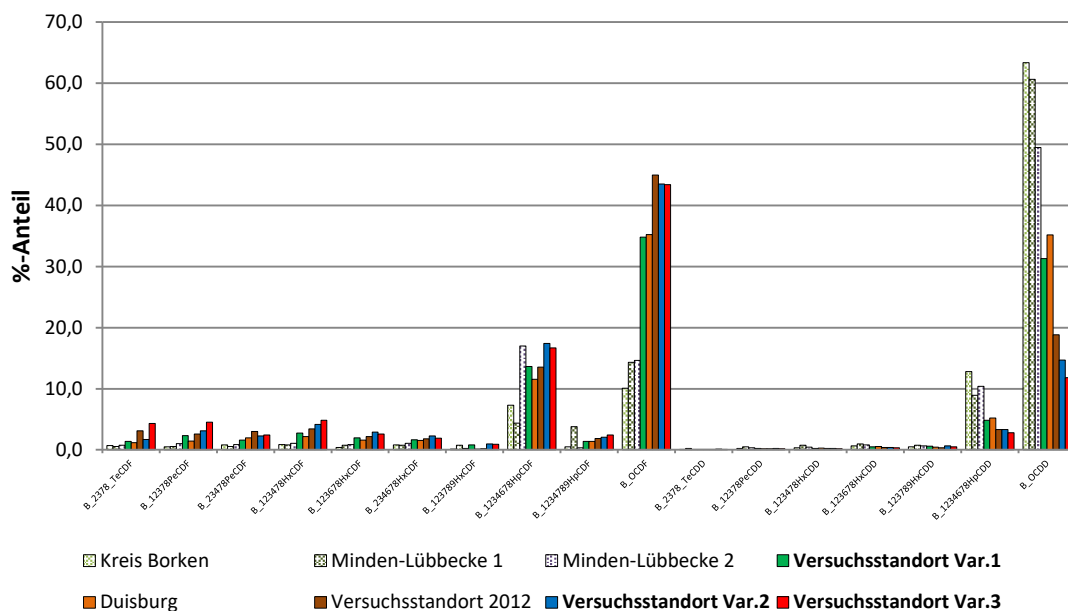


Abb. 9: Prozentuale Verteilung der PCDD/F-Gehalte in Böden unterschiedlicher Standorte ($\Sigma_{PCDD/F}$ je Standort = 100 %)

PCB-Gehalte auf den Untersuchungsflächen

Die dl-PCB- und ndl-PCB-Gehalte der Varianten 1 bis 3 liegen in einer ähnlichen Größenordnung und zeigen keine vergleichbaren Abstufungen wie die PCDD/F-Gehalte.

Tab. 8: dl- und ndl-PCB-Gehalte in Böden der Versuchsvarianten

	Var. 1 (grün)	Var. 2 (blau)	Var. 3 (rot)
dl-PCB [ng WHO-TEQ /kg]	1,2	2,9	2,4
ndl-PCB [µg /kg]	8,4	11,8	7,4

Begleitende Untersuchungsparameter

Die Körnungsanalyse der Bodenproben hat deutliche Unterschiede der beiden Belastungsvarianten 2 und 3 gegenüber der geringer belasteten Variante bezüglich der Bodenart aufgezeigt. Das in Variante 1 aufgebrachte Bodenmaterial weist sehr viel höhere Sandanteile auf und wird der Bodenart „schwach toniger Sand“ zugeordnet, während der Boden am Standort mit deutlich höheren Schluffanteilen als „schluffig-lehmiger Sand“ anzusprechen ist.

Eine genaue Spezifizierung der C-Gehalte der Böden erfolgte mittels temperaturfraktionierter Kohlenstoff-Phasenanalytik nach DIN 19539. Dabei wurden die Summenparameter TOC (organischer Kohlenstoff), TIC (anorganischer Kohlenstoff) und ROC (Elementarer Kohlenstoff bzw. restlicher oxidierbarer Kohlenstoff) ermittelt. Alle Bodenproben weisen mit Werten zwischen 4,1 % und 4,6 % ähnlich hohe C_{ges}-Gehalte auf. Die TOC-Gehalte schwanken zwischen 2,5 und 3,0 %. Alle Böden liegen im Bereich der für Grünlandböden üblicherweise ermittelten TOC-Gehalte. Die TOC-Fraktionierung weist aufgrund der ROC-Gehalten von 0,8 bis 1,1 % auf möglicherweise bergbaubedingte Einflüsse hin.

Der pH-Wert des Bodens der Variante 1 liegt mit 5,6 im Bereich des von der Landwirtschaftskammer empfohlenen Ziel-pH-Wertes für Grünlandböden der Bodenart schwach toniger Sand. Die pH-Werte der Böden der Varianten 2 und 3 liegen mit 6,1 und 6 geringfügig oberhalb des Ziel-pH-Wertes für Grünlandböden der Bodenart schluffig-lehmiger Sand.

Aufgrund der geringen Variation der bodenkundlichen Begleitparameter war deren weitere Betrachtung bei der Analyse von Einflussfaktoren auf den Transfer in Fleisch und Eier nicht sinnvoll möglich.

Die am Versuchsstandort in Containern exponierten Grünkohlproben weisen erwartungsgemäß PCDD/F- und PCB-Gehalte auf, die im Bereich des 95.-Perzentils der Hintergrunduntersuchungen in NRW liegen. Sie entsprechen vom Gehaltsniveau und mit Blick auf die Kongenerenmuster den in Duisburg üblicherweise anzutreffenden Ergebnissen. Es ergeben sich damit keine Hinweise auf außergewöhnliche PCDD/F und PCB-Einträge durch Staubbiederschlag. Die systemische Aufnahme dieser Stoffe über die Pflanzenwurzeln in den Grasaufwuchs wird als unbedeutend eingeschätzt.

Auch in den Materialproben der Ställe, Zaunpfähle sowie dem Tränkwasser und dem Stroh wurden keine Auffälligkeiten festgestellt, so dass insgesamt weitestgehend sichergestellt ist, dass außergewöhnliche andere Belastungsquellen am Versuchsstandort nicht vorliegen.

Zur besseren Lesbarkeit des Berichtes werden nachfolgend noch einmal die zugrunde gelegten PCDD/F- und PCB-Gehalte in den Böden der drei Varianten als Legende zusammengestellt.

Variante	PCDD/F [ng WHO-TEQ/kg]	dl-PCB [ng WHO-TEQ/kg]	ndl-PCB [μ g /kg]
1 (niedrig)	6,0	1,9	8,4
2 (mittel)	14,0	2,9	11,8
3 (hoch)	20,7	2,4	7,4

6.2 Hühner und Eier

Zur Identifikation von Trends und Ausreißern von Eier- und Gewebeproben wurden Boxplots differenziert nach Zeit und Varianten für PCDD/F, dl-PCB und PCB₆ erstellt. Mit Hilfe der „Boxen“ werden jeweils das erste und dritte Quartil sowie der Median identifiziert, die „Whisker“ kennzeichnen den 1,5-fachen Interquartilabstand. Ausreißer (>1,5-faches Interquartil außerhalb der Box), in den nachfolgenden Darstellungen mit ° gekennzeichnet, und Extremwerte (>3-faches Interquartil außerhalb der Box), in den nachfolgenden Darstellungen mit * gekennzeichnet, wurden in den weiteren Auswertungen nicht ausgeschlossen.

6.2.1 Hühner

PCDD/F

Bei den PCDD/F-Gehalten im Fleisch der Hühner ist bereits in den Boxplots insgesamt ein Anstieg mit fortdauernder Laufzeit des Versuches festzustellen. Dieser Trend scheint jedoch nicht kontinuierlich sondern in verschiedenen Phasen abzulaufen. Die Gehalte steigen in allen Varianten unmittelbar nach Beginn des Versuches stark an und scheinen danach bis zur 32. Lebenswoche, in der die Hühner im Allgemeinen weitgehend ausgewachsen sind, auf vergleichbarem Niveau im Bereich der Höchstmengenkonzentration zu bleiben. Dabei sind jedoch erhebliche Streuungen der Einzelwerte festzustellen. Die Werte steigen nach der 32. Lebenswoche noch einmal deutlich an und überschreiten ab der 44. Lebenswoche, also 168 Tage nach Versuchsbeginn, durchgängig den Höchstgehalt. Da einige Autoren (z. B. Ikeda et al., 2004) davon ausgehen, dass die aufgenommenen Dioxinmengen von den Hennen zunächst akkumuliert und dann mit einer weitgehend konstanten Rate in das Eigelb transferiert werden, deutet dieser Befund darauf hin, dass bei den Hennen bei weitgehend gleicher Körpermasse – trotz der beobachteten durchgehend hohen Legeleistung – eine Veränderung der Körperzusammensetzung hin zu mehr Fettmasse und weniger Protein- (und Wasser-)Masse stattfand. Da keine Ganzkörperanalysen an den Hennen vorgenommen werden konnten, lässt sich diese Vermutung anhand der Daten des aktuellen Vorhabens jedoch nicht überprüfen.

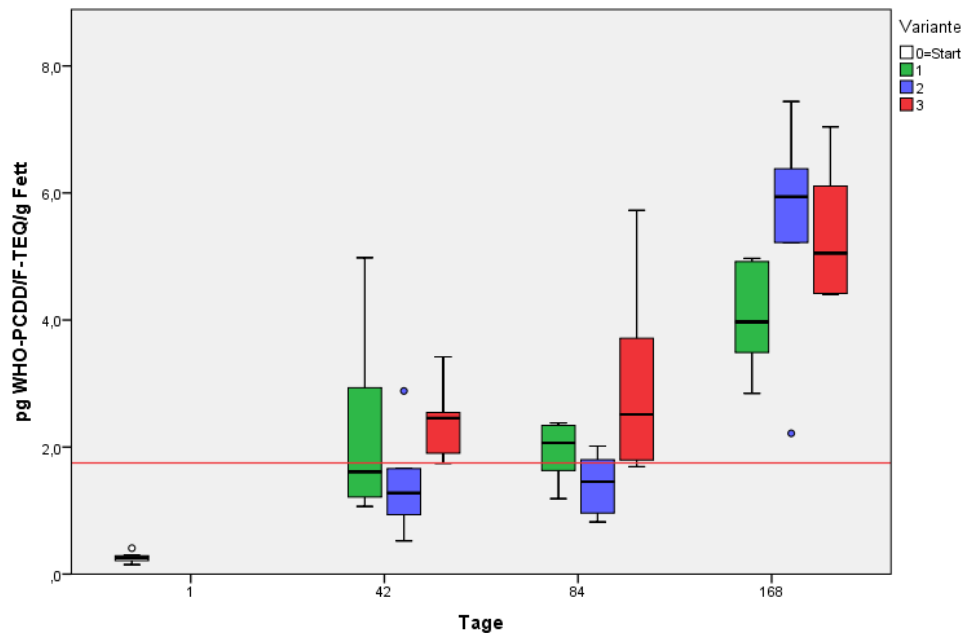


Abb. 10: PCDD/F-Gehalte im Fleisch von Hühnern [pg WHO-PCDD/F-TEQ/g Fett] in Abhängigkeit von Varianten unterschiedlicher Bodengehalte und Versuchslaufzeit (jeweils n = 6; rote Linie: Höchstgehalt 1,75 pg WHO-PCDD/F-TEQ/g Fett)

PCB

Ein ähnlicher zeitlicher Verlauf deutet sich auch bei den PCB an. Wie bei PCDD/F-Gehalten ist aber auch bei PCB-Gehalten im Fleisch der Hühner mit erheblichen Streuungen zu rechnen (Abb. 11).

Der Auslösewert für dl-PCB (0,75 pg WHO-dl-PCB-TEQ/g Fett) wird unmittelbar nach Versuchsbeginn regelmäßig überschritten. Einen Wert für dl-PCB-Höchstgehalte gibt es nicht. Die Aussagen zu PCDD/F sind somit auf die Summe von PCDD/F+dl-PCB übertragbar. Überschreitungen des Höchstgehaltes für ndl-PCB (40 ng/g Fett) sind nicht festzustellen.

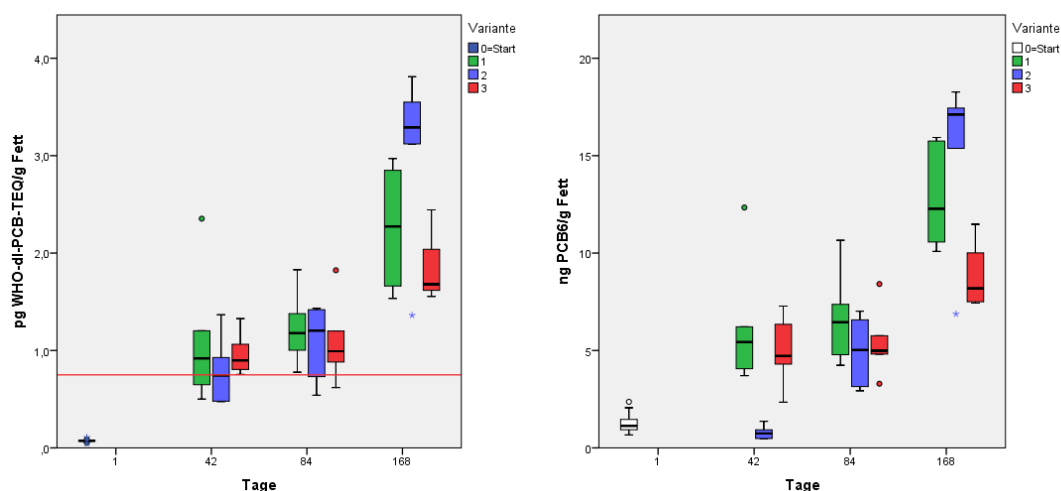


Abb. 11: dl-PCB-Gehalte (links in pg WHO-dl-PCB-TEQ/g Fett) und ndl-PCB-Gehalte (rechts in ng PCB₆/g Fett) im Fleisch von Hühnern in Abhängigkeit von Varianten unterschiedlicher Bodengehalte und Versuchslaufzeit (jeweils n = 6; rote Linie = Auslösewert: 0,75 pg WHO-dl-PCB-TEQ/g Fett)

6.2.2 Eier

PCDD/F

Auch in den Eiern steigen die PCDD/F-Gehalte sehr schnell nach Versuchsbeginn an und bleiben bis zum Ende des Größenwachstums der Hühner zunächst auf einem ähnlichen Niveau (Abb. 12). Nach der 30./32. Woche (70/84 Tage nach dem Start) ist auch hier ein erneuter Anstieg der Gehalte festzustellen.

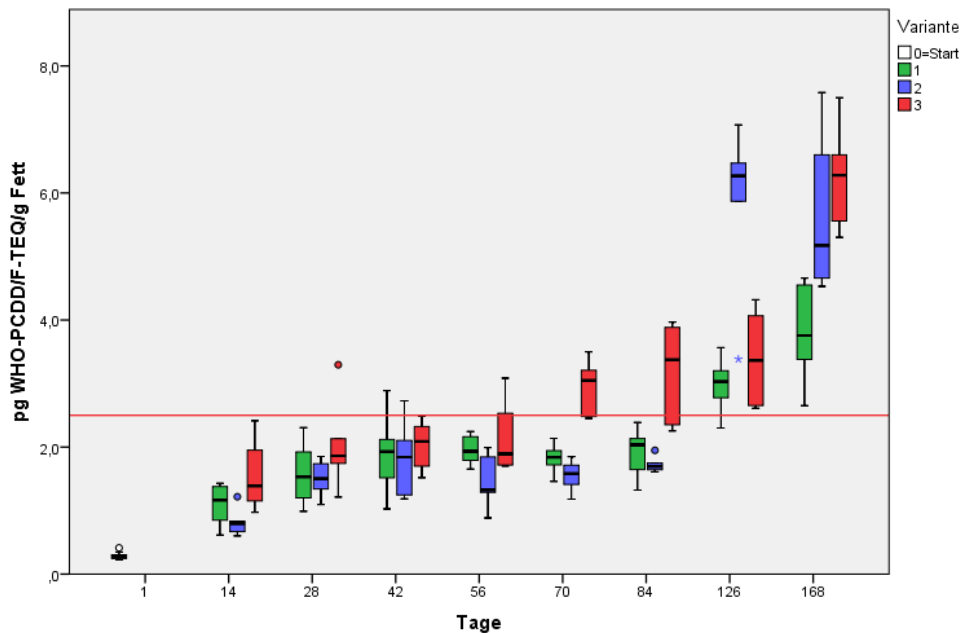


Abb. 12: PCDD/F-Gehalte in Eiern [pg WHO-PCDD/F-TEQ/g Fett (Ei)] in Abhängigkeit von Varianten unterschiedlicher Bodengehalte und Versuchslaufzeit (jeweils n = 6; rote Linie: Höchstgehalt 2,5 pg WHO-PCDD/F-TEQ/g Fett)

Die Streuungen bei Eiern sind tendenziell geringer, die Zahl der Extremwerte und der Ausreißer ist allerdings höher als bei den PCDD/F-Gehalten in den Hühnerfleischproben.

PCB

Der zeitliche Verlauf der PCB-Gehalte in Eiern ähnelt dem der PCDD/F. Überschreitungen des Auslösewertes für dl-PCB (1,75 pg WHO-dl-PCB-TEQ/g Fett) sind in allen Varianten erstmalig 126 Tage nach Versuchsbeginn, d.h. in der 38. Lebenswoche festzustellen. Auch hier sind die grundlegenden Aussagen zu PCDD/F auf die Summe von PCDD/F+dl-PCB übertragbar. Höchstgehaltsüberschreitungen für ndl-PCB (40 ng PCB₆/g Fett) wurden nicht festgestellt. Ausreißer und Extremwerte treten noch häufiger auf als im Fleisch der Tiere.

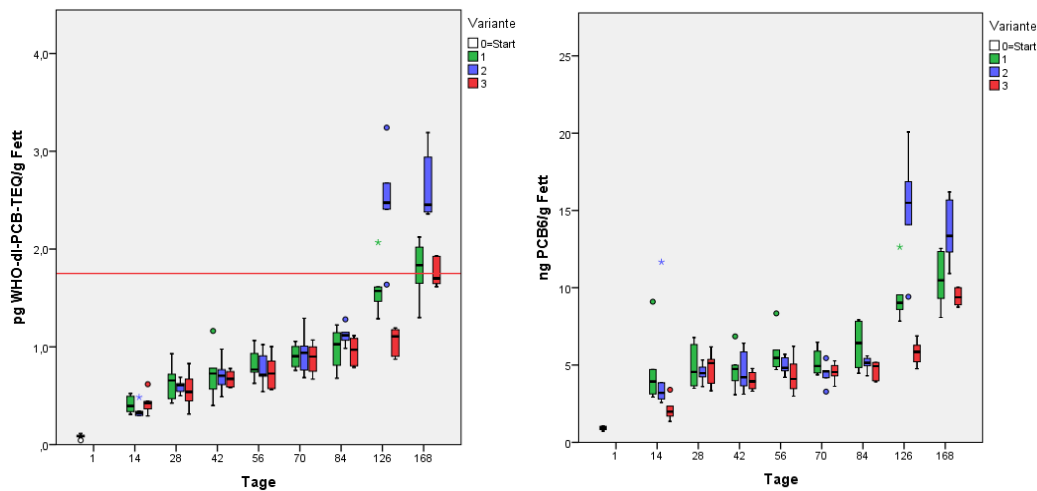


Abb. 13: dl-PCB-Gehalte (links in pg WHO-dl-PCB-TEQ/g Fett) und ndl-PCB-Gehalte (rechts in ng PCB₆/g Fett) in Eiern in Abhängigkeit von Varianten unterschiedlicher Bodengehalte und Versuchslaufzeit (jeweils n = 6; rote Linie = Auslösewert: 1,75 pg WHO-dl-PCB-TEQ/g Fett)

6.3 Statistische und analytische Auswertungen

Um gesicherte Aussagen zu den zuvor beschriebenen Beobachtungen machen zu können, wurde folgenden Fragestellungen mit Hilfe statistisch-analytischer Ansätze nachgegangen:

- Beeinflussen die Schadstoffgehalte in Böden die Schadstoffgehalte in Eiern und im Fleisch von Hühnern, die auf diesen Böden unter Freilandbedingungen gehalten werden? (siehe Kapitel 6.3.1)
- Gibt es signifikante Unterschiede in den Gehalten (Summenfaktoren und alle Kongenere) in Eiern und im Fleisch zwischen den drei Varianten? (siehe Kapitel 6.3.1)
- Gibt es signifikante Unterschiede in den Gehalten (Summenfaktoren und alle Kongenere) in Eiern und im Fleisch zwischen den Untersuchungszeitpunkten bzw. im zeitlichen Verlauf? (siehe Kapitel 6.3.2)
- Lässt sich der Transfer vom Boden in Eier und Fleisch quantifizieren? Gibt es andere Faktoren (Körnung/Humusgehalt), die diesen Transfer beeinflussen? (siehe Kapitel 6.3.3)
- Lässt sich der Transfer vom Huhn in Eier quantifizieren? (siehe Kapitel 6.3.4)
- Unterscheiden sich die Kongenere hinsichtlich des Transfers aus unterschiedlichen Medien? (siehe Kapitel 6.3.3)
- Ab welchem Zeitpunkt ist mit relevanten bzw. nicht tolerierbaren Überschreitungen von Höchstmengen (PCDD/F-TEQ, PCB₆ und PCDD/F+dl-PCB-TEQ) zu rechnen?
- Gibt es Kongenere, die den Zeitpunkt oder das Ausmaß dieser Überschreitungen besonders beeinflussen? (siehe Kapitel 6.3.6)
- Lassen sich aus Bilanzrechnungen Aussagen zur Plausibilität der Ergebnisse und ggf. zur Verfügbarkeit der Schadstoffe ableiten? (siehe Kapitel 6.3.5)
- Lassen sich Hinweise auf mögliche Maßnahmen ableiten?

Zur Beantwortung der vorgenannten Fragestellungen wurden die nachfolgend beschriebenen Auswertungen mit Hilfe unterschiedlicher Werkzeuge (SPSS 23.0 und Excel 2010) durchgeführt. Das Signifikanzniveau wird einheitlich auf $p < 0,05$ festgelegt.

6.3.1 Unterschiede in den Gehalten in Eiern und im Fleisch der Hühner

Für den statistischen Nachweis signifikanter Unterschiede zwischen den Varianten sowohl für Fleisch als auch Eier waren entsprechend der Vorgaben des statistischen Gutachtens des IMSA (Kapitel 4) paarweise t-Tests angestrebt. Voraussetzung dafür ist u.a. die Normalverteilung der Daten. Diese kann nach Prüfung durch Shapiro-Wilk-Tests jedoch nur für einzelne Varianten oder Zeitreihen angenommen werden. Die Proben der drei Varianten wurden deshalb zu allen Zeitpunkten zunächst mit einem nichtparametrischen Testverfahren (Kruskal-Wallis-Test) für die PCDD/F-TEQ verglichen. Damit sollte für diesen Parameter in den jeweiligen Zeitschnitte geklärt werden, ob zwischen den Varianten signifikante Unterschiede bestehen. Sofern diese Tests auf Unterschiede hinwiesen, wurde mit Mann-Whitney-U-Tests geprüft, für welche der Varianten pro Zeitschnitt diese nachzuweisen sind. Ausgehend von den Gehalten zu Versuchsende wurden die Tests wie nachfolgend beschrieben schrittweise nacheinander durchgeführt.

6.3.1.1 PCDD/F im Fleisch von Hühnern

Es wurden zunächst Mittelwertvergleiche für die gemessenen PCDD/F-Gehalte im Fleisch der Hühner vorgenommen:

- a. Vergleich der drei Bodenvarianten zum Zeitpunkt 168 Tage nach Versuchsbeginn
- b. Wenn a. signifikant -> zwischen drei Bodenvarianten zum Zeitpunkt 84 Tage nach Versuchsbeginn
- c. Wenn b. signifikant -> zwischen drei Bodenvarianten zum Zeitpunkt 42 Tage nach Versuchsbeginn

Für keinen der Zeitschnitte konnten auf Basis dieser Tests signifikante Unterschiede der PCDD/F-Gehalte im Fleisch der Hühner zwischen den Bodenvarianten konstatiert werden. Die Mittelwerte sind nachfolgend mit den jeweiligen Konfidenzintervallen grafisch dargestellt.

Es sind innerhalb der Varianten sehr hohe Streuungen unabhängig von den Bodengehalten festzustellen, so dass die berechneten Mittelwerte ausgesprochen unsicher sind (Abb. 14). Da mit den vorherigen Auswertungen zu den jeweiligen Probenahmezeitpunkten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Varianten nachgewiesen werden konnten, wurden sie anschließend zusammengefasst (Abb. 15).

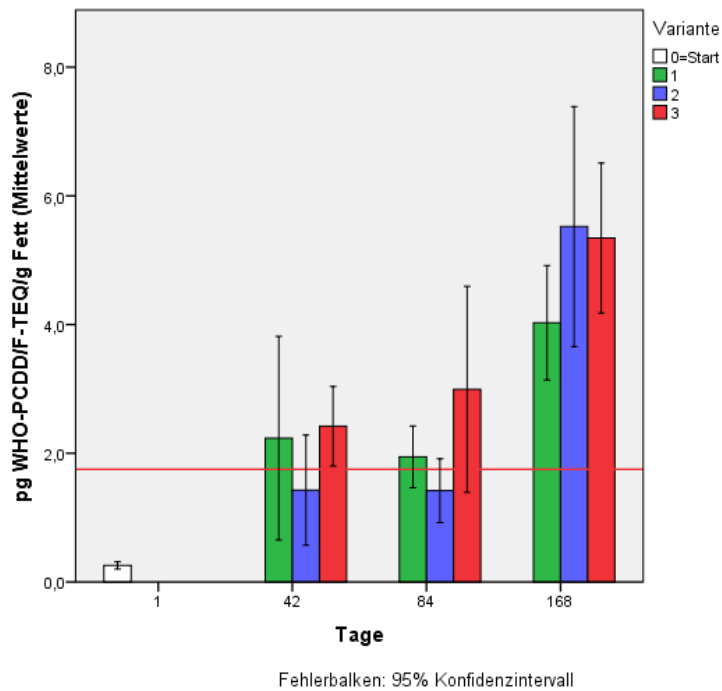


Abb. 14: Mittelwerte und 95%-Konfidenzintervalle der PCDD/F-Gehalte [pg WHO-PCDD/F-TEQ/g Fett (Huhn)] im Fleisch der Hühner der drei Varianten im zeitlichen Verlauf (jeweils n = 6; rote Linie: Höchstgehalt 1,75 pg WHO-PCDD/F-TEQ/g Fett)

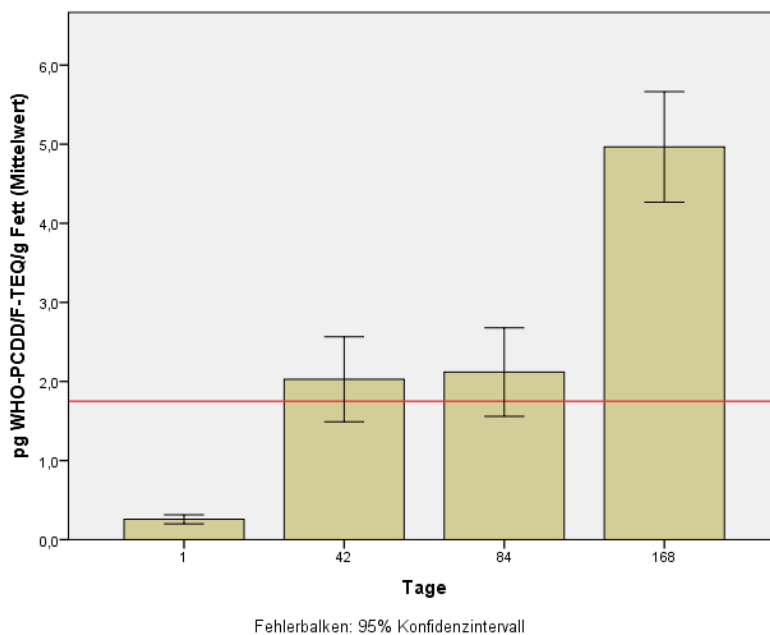


Abb. 15: Mittelwerte und 95%-Konfidenzintervalle der PCDD/F-Gehalte [pg WHO-PCDD/F-TEQ/g Fett (Huhn)] im Fleisch der Hühner im zeitlichen Verlauf (rote Linie: Höchstgehalt 1,75 pg WHO-PCDD/F-TEQ/g Fett)

Interpretation:

Im Fleisch von Hühnern wird mit nahezu 95 %iger Wahrscheinlichkeit der Höchstwert der EU-KmV für PCDD/F (1,75 pg WHO-PCDD/F-TEQ/g Fett) im Mittel und unabhängig vom

Bodengehalt (innerhalb des hier betrachteten Konzentrationsbereiches) bereits 42 Tage nach dem Start (26. Lebenswoche) überschritten und bleibt bis 84 Tage nach dem Start (32. Lebenswoche), d.h. bis zum Erreichen der maximalen Größe auf diesem Niveau. Noch höhere Gehalte werden zum Zeitpunkt 168 Tage nach dem Start (44. Lebenswoche) nachgewiesen.

6.3.1.2 PCDD/F in Eiern

Wie oben beschrieben und analog zur Vorgehensweise bei den Fleischproben der Hühner wurden Mittelwertvergleiche für Eier zu den Zeitpunkten 168, 126, 84, 70, 56, 42, 28 und 14 Tage nach Versuchsstart durchgeführt.

Im Gegensatz zu den Fleischproben der Hühner wurden bei Eiern signifikante Unterschiede zwischen den Varianten festgestellt. Nachweisbare Unterschiede betrafen zu verschiedenen Zeitpunkten jedoch nicht immer dieselben Varianten. In der nachfolgenden Tabelle sind die Mittelwerte der Varianten zusammengestellt und homogene Gruppen (Varianten, die sich nicht voneinander unterscheiden) differenziert nach Zeitschnitten dargestellt (Tab. 9). In der Tabelle sind Varianten, die sich innerhalb eines Zeitschnittes nicht voneinander unterscheiden, mit gleichen Buchstaben gekennzeichnet.

Tab. 9: Mittelwerte der PCDD/F-Gehalte [pg WHO-PCDD/F-TEQ/g Fett (Ei)] und Ergebnis der Signifikanzprüfung der Eiprobe differenziert nach Varianten und Zeitschnitten

	Var. 1 (grün)	Var. 2 (blau)	Var. 3 (rot)
14 Tage	1,1 ^a	0,8 ^a	1,5 ^a
28 Tage	1,6 ^a	1,5 ^a	2,0 ^a
42 Tage	1,9 ^a	1,8 ^a	2,0 ^a
56 Tage	2,0 ^a	1,4 ^a	2,1 ^a
70 Tage	1,8 ^a	1,6 ^a	3,0 ^b
84 Tage	1,9 ^a	1,7 ^a	3,2 ^b
126 Tage	3,0*	(5,9)*	3,4*
168 Tage	3,8 ^a	5,6 ^b	6,3 ^b

Varianten mit gleichen Buchstaben innerhalb eines Zeitschnittes unterscheiden sich nicht signifikant (mindestens $p < 0,05$) voneinander

*nicht in die Prüfung einbezogen

Demnach weisen zum Ende des Versuches (168 Tage) die beiden höher belasteten Varianten 3 (rot) und 2 (blau) gegenüber der gering belasteten Variante 1 (grün) signifikant höhere Gehalte ($p < 0,01$) in den Eiern auf. Die anschließende Prüfung des nächsten Zeitschnittes ist damit zulässig. In den Proben der Variante 2 (blau) zum Zeitpunkt 126 Tage nach Versuchs-

beginn wurden auffällig und unerklärlich hohe Gehalte festgestellt, durch Nachanalysen jedoch bestätigt. Es konnte jedoch nicht ausgeschlossen werden, dass es hier zuvor zu einer Probenverwechslung gekommen war. Die weiteren Signifikanzprüfungen wurden daher anschließend durch entsprechende Vergleiche für die Zeitschnitte 84, 70 und 56 Tage nach Versuchsbeginn durchgeführt. Signifikant höhere Gehalte ($p < 0,01$) wurden jeweils v.a. für die höchstbelastete Variante 3 (rot) ermittelt. Für den Zeitraum von weniger als 70 Tagen nach Versuchsbeginn wurden keine signifikanten Unterschiede ermittelt. Die unterschiedlichen Bodenbelastungsstufen werden also erst nach mehr als 56 Tagen eindeutig in den entsprechenden Gehalten der Eier erkennbar.

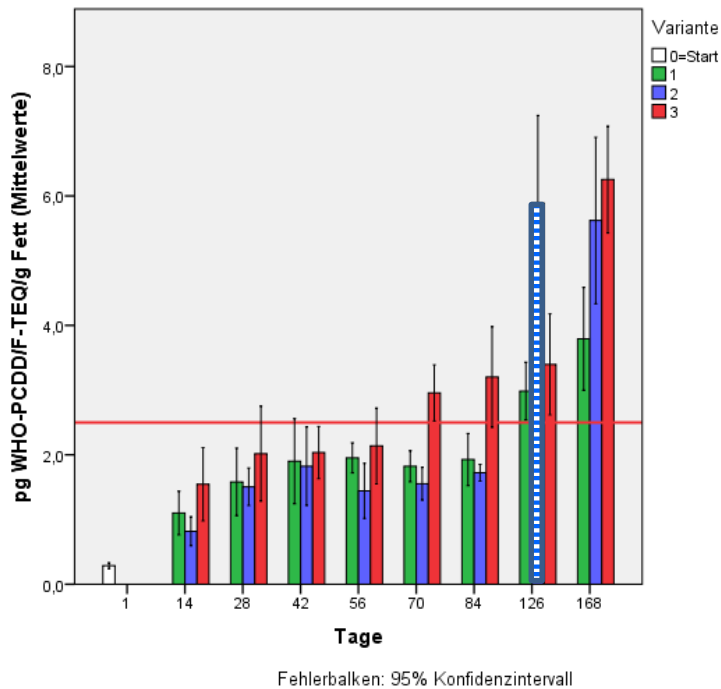


Abb. 16: Mittelwerte und 95%-Konfidenzintervalle der PCDD/F-Gehalte [pg WHO-PCDD/F-TEQ/g Fett] in Eiern der drei Varianten im zeitlichen Verlauf (jeweils $n = 6$; rote Linie: Höchstgehalt 2,5 pg WHO-PCDD/F-TEQ/g Fett)

Interpretation:

Bei Bodengehalten von 5 und 13 ng WHO-PCDD/F-TEQ/kg wird der Höchstwert der EU-KmV in Eiern bis zur 32. Lebenswoche (84 Tage nach dem Start) mit 95%iger Sicherheit im Mittel eingehalten (Abb. 16). Einzelne Überschreitungen traten jedoch bereits früher auf. Ab der 38. Lebenswoche (126 Tage nach dem Start) wurden regelmäßig hohe Werte ermittelt.

6.3.1.3 PCB im Fleisch der Hühner und in Eiern

Erwartungsgemäß wurden sinnvoll interpretierbare Unterschiede zwischen den drei Varianten geringfügig unterscheidbarer Bodengehalte bei Hühnern und Eiern weder für dl-PCB noch für ndl-PCB festgestellt.

6.3.2 Gehalte in Hühnerfleisch und Eiern im zeitlichen Verlauf

Analog zum Vorgehen unter 6.3.1. wurden Varianzanalyse und Post-Hoc-Tests zur statistischen Absicherung der Unterschiede zu unterschiedlichen Zeitpunkten durchgeführt. Über den gesamten Datenbestand der untersuchten Eier zeigen sich erwartungsgemäß neben signifikanten Einflüssen der Bodengehalte sowohl bei PCDD/F als auch bei PCB hochsignifikante Einflüsse des Faktors Zeit. Unterschiede betreffen insbesondere die Phasen zu Beginn und zum Ende des Versuches. Gegenüber dem Zeitpunkt 14 Tage, also unmittelbar nach Beginn des Versuches, weisen - mit Ausnahme des direkt darauf folgenden Probenahme-termins am 28. Tag - alle anderen Zeitpunkte signifikant höhere Gehalte auf, wohingegen sich die Gehalte ab dem Tag 28 bis zu 84 Tagen nur gegenüber den Zeitpunkten 126 und 168 Tage zum Ende des Versuches unterscheiden.

Aus der Varianzanalyse ergeben sich auch Hinweise auf Wechselwirkungen, wonach sich höhere Bodengehalte nach ca. 70 Tagen stärker bemerkbar machen als am Anfang.

Damit wird die o.g. Beobachtung bestätigt, dass nach dem Start des Versuchs die Gehalte schnell ansteigen und danach bis zum Erreichen der Maximalgröße der Hühner auf einem ähnlich hohen Niveau bleiben. Nach dem Erreichen der Maximalgröße steigen die Gehalte wieder an. Um den Einfluss des Wachstums auf die Schadstoffkonzentrationen im Hühnerfleisch berücksichtigen zu können, wird für zukünftige Untersuchungen angeregt, die Tiere regelmäßig zu wiegen oder diesen Einfluss unter Anwendung von Modellen zum Tierwachstum anzurechnen.

6.3.3 Transfer vom Boden in Fleisch und Eier

6.3.3.1 PCDD/F

Der Versuch einer Quantifizierung des Schadstofftransfers vom Boden über das Huhn zum Ei wurde mit Hilfe von Korrelations- und Regressionsanalysen vorgenommen. Da bei PCDD/F und dl-PCB einzelne Kongenere mit Toxizitätsäquivalenzfaktoren belegt sind, ist die Berechnung quantitativer Zusammenhänge für die Summenparameter nicht sinnvoll. Die nachfolgenden Prüfungen wurden deshalb zunächst für die jeweiligen Einzelstoffe berechnet. Da Normalverteilung der Daten nicht durchgängig vorlag, wurden die Korrelationskoeffizienten nichtparametrisch nach Spearman berechnet.

Boden - Hühner

Korrelationsrechnungen zur Quantifizierung möglicher Einflüsse des Bodens auf die Gehalte an PCDD/F-Kongeneren im Fettgewebe der Hühner ergaben mit Ausnahme des 2,3,7,8-TeCDF und 1,2,3,7,8-PeCDF keine signifikanten Zusammenhänge zwischen Bodengehalten und Hühnerfleischproben.

Des Weiteren konnte weder bei den dl-PCB noch bei den ndl-PCB für ein Kongener ein signifikanter Korrelationskoeffizient bestimmt werden.

Boden - Eier

Die Betrachtung von Kongeneren zur detaillierteren Interpretation möglicher Zusammenhänge zwischen Boden- und Eiergehalten ergibt ein etwas differenzierteres Bild als dies bei den Hühnern selbst festzustellen war. Sowohl für die Gruppe der PCDD als auch für die der

dl-PCB konnte für keinen Einzelstoff ein signifikanter Einfluss des Bodens auf die Gehalte im Ei nachgewiesen werden. Hoch signifikante Zusammenhänge auf dem Niveau $p < 0,01$ wurden allerdings innerhalb der Gruppe der PCDF für 2,3,7,8-TeCDF ($r_{\text{SPEARMAN}} = 0,53$), 1,2,3,7,8-PeCDF und 2,3,4,7,8-PeCDF ($r = 0,37$ bzw. $0,23$) und 1,2,3,4,7,8-HxCDF ($r = 0,33$) festgestellt. Berechnungen der Korrelationskoeffizienten mit „Lower Bound“-Werten ergaben nahezu gleiche Ergebnisse. Die Effektstärke ist allgemein als mittel, unter den gegebenen Bedingungen als gut zu bezeichnen.

Beispielhaft wird dieser Zusammenhang für 2,3,7,8-TeCDF und 1,2,3,7,8-PeCDF nachfolgend weiter betrachtet. So sind in den nachfolgenden Abbildungen sowohl der Bodeneinfluss als auch die zeitliche Komponente deutlich zu erkennen (Abb. 17 und Abb. 18.)

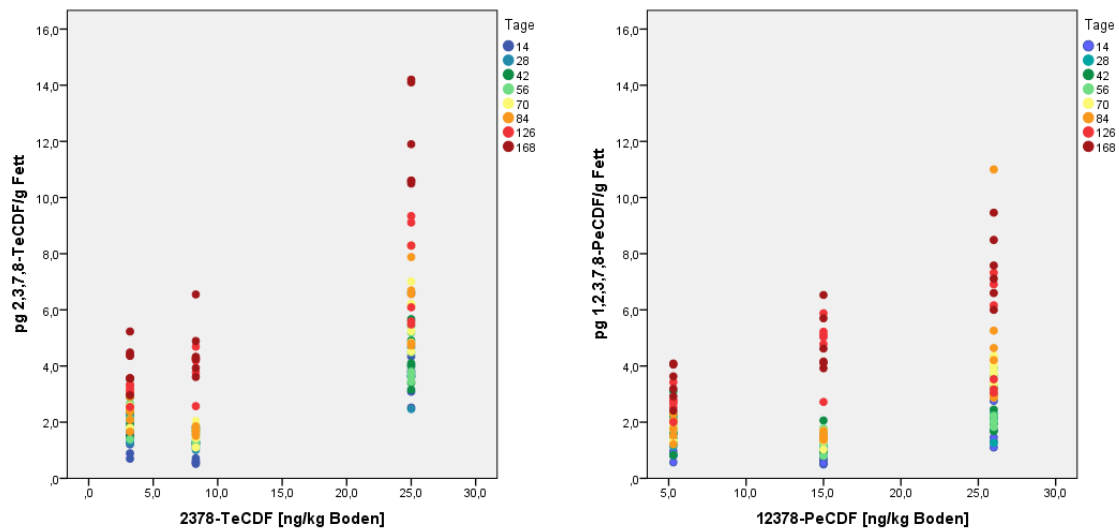


Abb. 17: Abhängigkeit von 2,3,7,8-TeCDF-Gehalten (links) bzw. 1,2,3,7,8-PeCDF-Gehalten (rechts) in Eiern (y-Achse [pg/g Fett (Ei)]) vom Gehalt im Boden (x-Achse [ng/kg Boden]); differenziert nach Zeitschnitten (in Tagen)

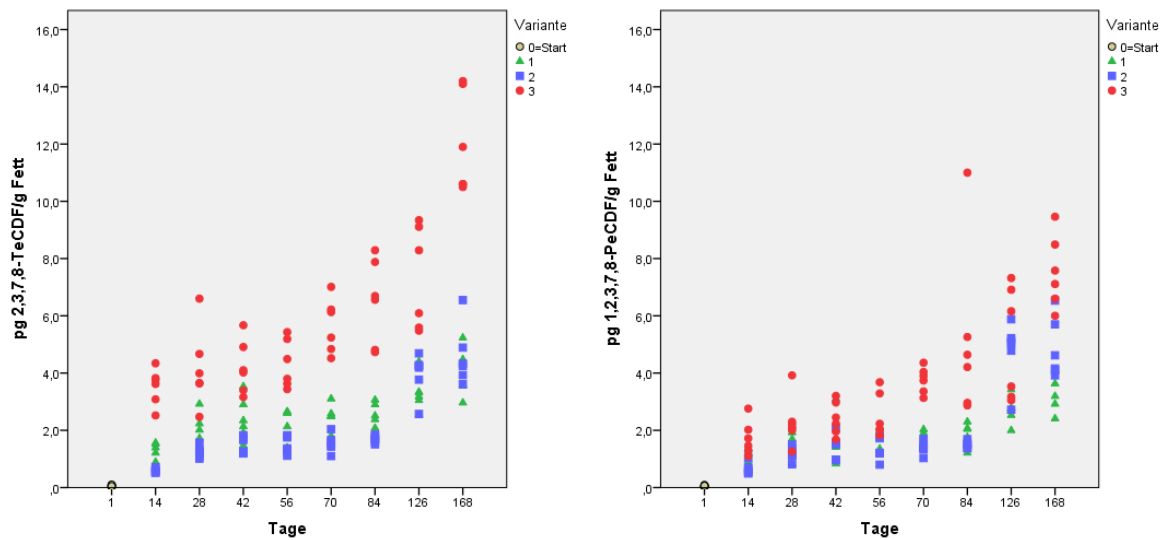
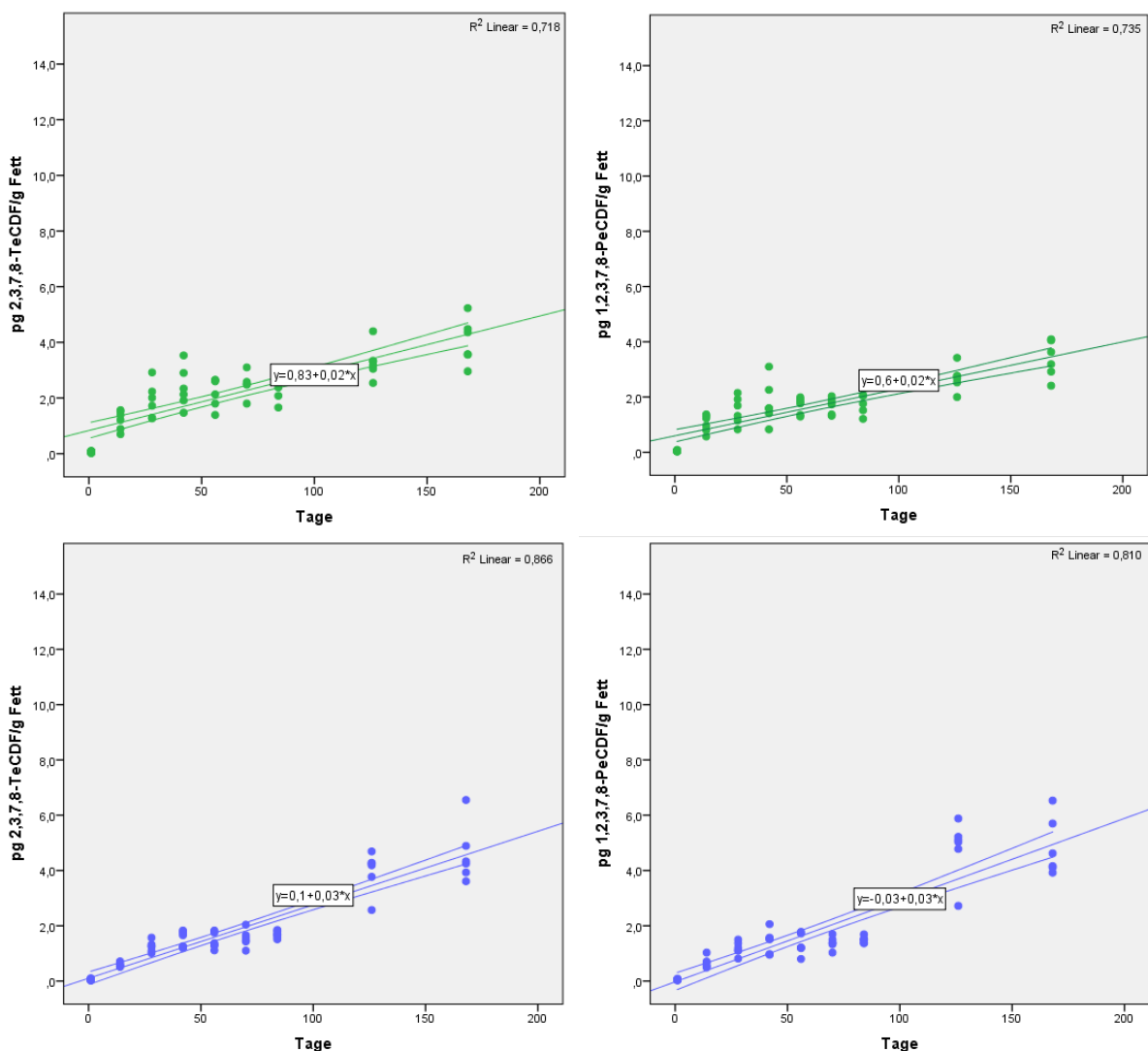


Abb. 18: 2,3,7,8-TeCDF-Gehalte (links) bzw. 1,2,3,7,8-PeCDF-Gehalte (rechts) [pg/g Fett (Ei)] in Eiern (y-Achse) in Abhängigkeit von der Versuchsdauer (x-Achse) differenziert nach Versuchsvarianten



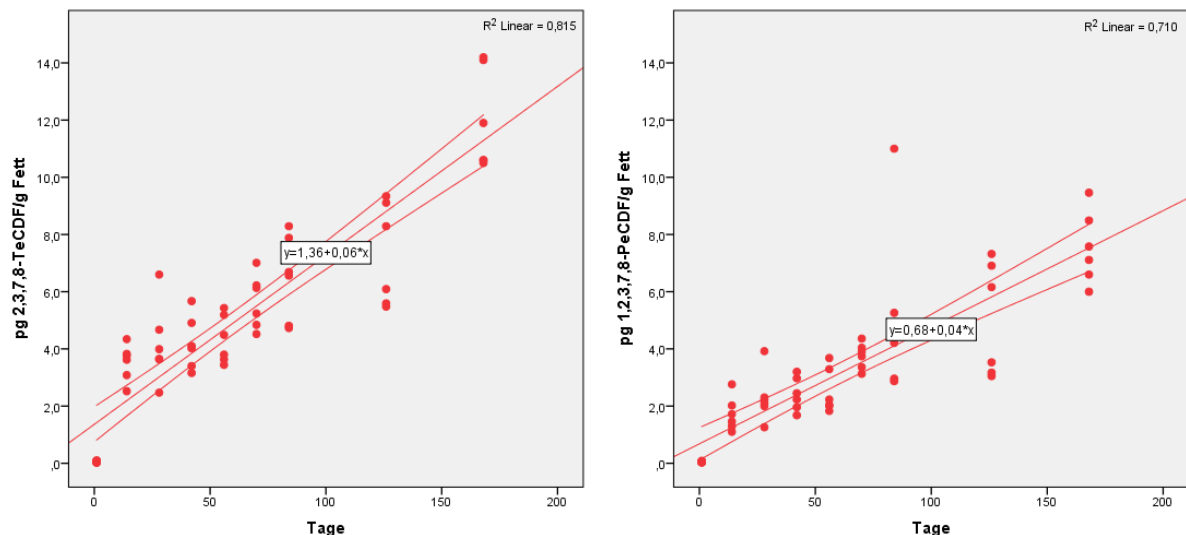


Abb. 19: 2,3,7,8-TeCDF-Gehalte (links) und 1,2,3,7,8-PeCDF-Gehalte (rechts) [pg/g Fett (Ei)] in Eiern (y-Achse) in Abhängigkeit von der Versuchsdauer (x-Achse), getrennt berechnet für die einzelnen Versuchsvarianten

Werden die drei Versuchsvarianten einzeln betrachtet, kann für 2,3,7,8-TeCDF und 1,2,3,7,8-PeCDF ein linearer zeitlicher Trend steigender Konzentrationen im Ei in Abhängigkeit von den Bodengehalten mit Regressionskoeffizienten (r^2) zwischen 0,71 und 0,87 recht sicher beschrieben werden (Abb. 19).

Deutlich erkennbar ist der Einfluss steigender Bodengehalte auf den zeitlichen Konzentrationsverlauf durch die Zunahme der Steigung der Regressionsgeraden von der gering belasteten Variante 1 (grün) bis zur höchstbelasteten Variante 3 (rot). 2,3,7,8-TeCDF scheint insgesamt eine geringfügig höhere Anreicherungsneigung als 1,2,3,7,8-PeCDF aufzuweisen. Ähnlich gute Zusammenhänge sind allerdings für die weiteren untersuchten Kongenere nicht nachweisbar.

6.3.3.2 PCB

Auch wenn es wegen der nur geringen Unterschiede der Bodenkonzentrationen im Rahmen dieses Versuches nicht möglich ist, Einflüsse variierender Bodengehalte auf die PCB-Gehalte in den untersuchten Lebensmitteln nachzuweisen, wurden sowohl für dl-PCB als auch für ndl-PCB hochsignifikante Zunahmen der Gehalte im Verlauf der Versuchszeit unabhängig von den Bodenkonzentrationen festgestellt. Während dies bei ndl-PCB jedoch lediglich für die beiden letzten Probenahmezeitpunkte statistisch belegbar ist, sind die Unterschiede bei dl-PCB deutlich kontinuierlicher über den gesamten Versuchszeitraum verteilt.

6.3.4 Transfer vom Huhn in Eier

PCDD/F

Zur Prüfung, ob ein Zusammenhang zwischen den Schadstoffgehalten, die im Fleisch der Hühner gemessen wurden, und denen in Eiern besteht, wurden zunächst Korrelationen der TEQ berechnet. Da eine Zuordnung von Einzeltieren und den von ihnen gelegten Eiern nicht

möglich war, wurden für die Gehalte im Hühnerfleisch aus den Einzelproben Mittelwerte für die jeweiligen Probenahmezeitpunkte und Varianten gebildet. Da auch hier keine Normalverteilung angenommen wird, wird wieder eine nichtparametrische Korrelation nach SPEARMAN berechnet.

Im Ergebnis zeigt sich, dass 42 Tage nach Versuchsbeginn noch kein signifikanter Zusammenhang zwischen Hühner- und Eiproben festgestellt wurde, sich nach 84 und nach 168 Tage aber hochsignifikante Zusammenhänge ($r=0,77$ bzw. $0,56$) nachweisen lassen. Wird der gesamte Versuchszeitraum betrachtet, erhöht sich der Koeffizient auf $r=0,90$ (siehe Abb. 20). Bei Berücksichtigung des Gesamtzeitraumes ergeben sich auch für alle Einzelstoffe auf einem Signifikanzniveau von $0,01$ gesicherte Korrelationskoeffizienten nach SPEARMAN zwischen $0,71$ und $0,93$.

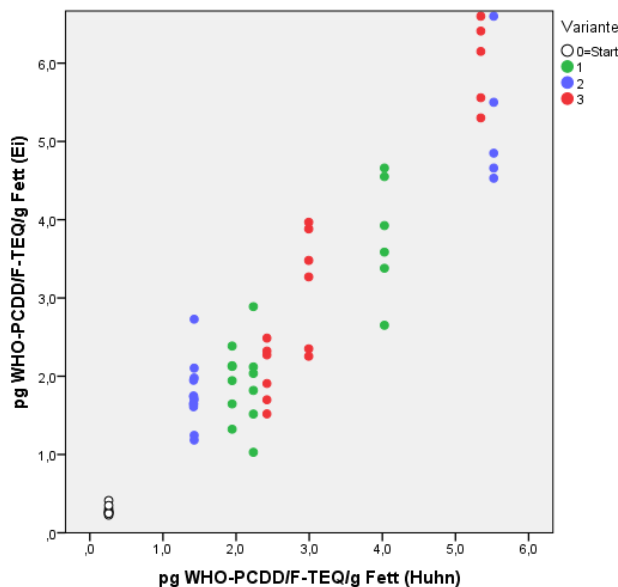


Abb. 20: Plot der PCDD/F-Gehalte im Hühnerfleisch (x-Achse) gegen die Gehalte im Ei (y-Achse)

PCB

Sowohl die dl-PCB-Gehalte (TEQ) als auch die PCB₆-Gehalte in Hühnern und Eiern korrelieren über den Gesamtzeitraum mit einem Koeffizienten von $0,88$ bzw. $0,83$ hochsignifikant miteinander. Dies gilt mit Werten zwischen $0,61$ und $0,91$ auch für alle Einzelstoffe.

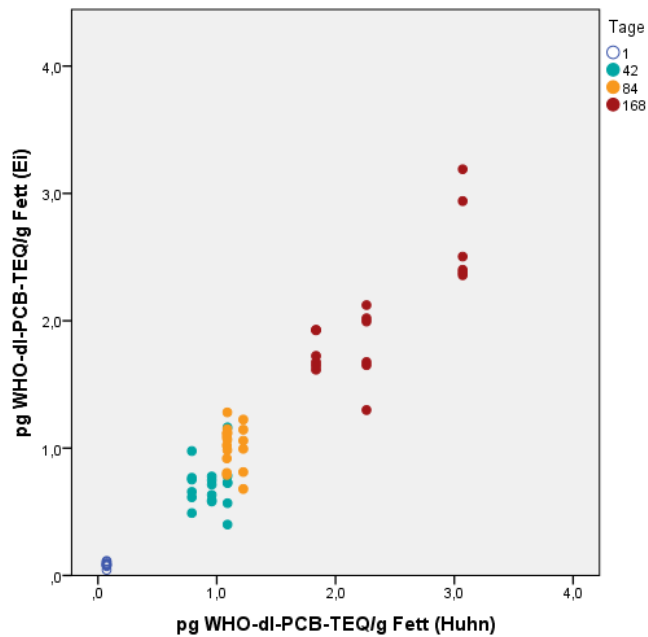


Abb. 21: Plot der dl-PCB-Gehalte im Hühnerfleisch (x-Achse) gegen die Gehalte im Ei (y-Achse) differenziert nach Versuchstagen

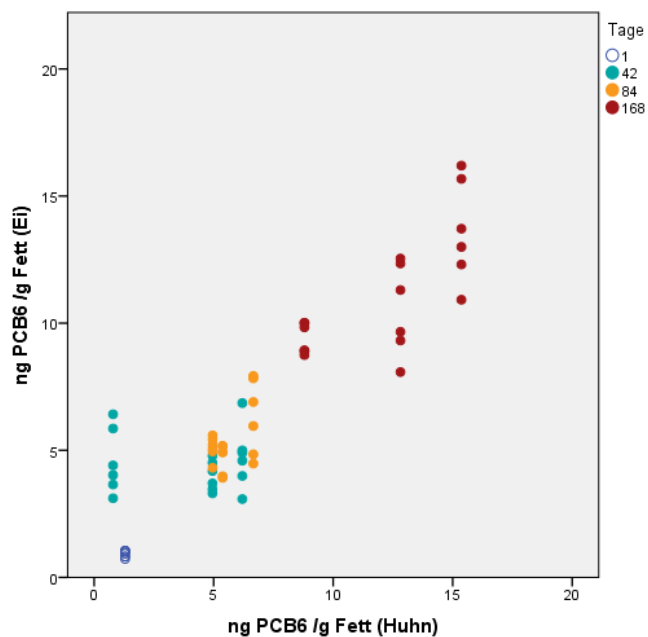


Abb. 22: Plot der ndl-PCB-Gehalte im Hühnerfleisch (x-Achse) gegen die Gehalte im Ei (y-Achse) differenziert nach Versuchstagen.

Insgesamt kann festgestellt werden, dass zwischen Huhn- und Eigelten für alle untersuchten Stoffe eindeutige Zusammenhänge nachzuweisen sind, die sich mit fortschreitender Versuchsdauer immer stärker ausdifferenzieren.

6.3.5 Stoffbilanzierungen zur Plausibilisierung von Ein- und Austragsfrachten

Mit den nachfolgenden Überlegungen und Berechnungen wird der Versuch unternommen, die Transferwege der Einzelparameter im Sinne einer Gesamtbilanzierung ein- und ausge-tragener Schadstoffe zu erklären bzw. zu plausibilisieren. Dazu waren verschiedene Annah-men zu treffen, die nachfolgend beschrieben und begründet werden.

Berechnungsgrundlagen

- Die Bodenaufnahmemenge ist über den Versuchsaufbau nicht quantifizierbar. Eine quantitative Schätzung der Bodenaufnahmemenge hätte u. a. die Sammlung der Ex-kreta (Gemisch aus Kot und Harn) erfordert und die analytische Bestimmung des Merk-mals ‚säureunlösliche Asche‘ in den Exkreta. Dies bildet eine Voraussetzung für eine Abschätzung der Bodenaufnahme, wie sie etwa bei Wildtieren angewandt wird (Beyer et al., 1994). Der damit verbundene personelle und analytische Mehraufwand war im Rahmen der Versuchsanstellung nicht zu leisten. In die Berechnungen geht die Boden-aufnahmemenge deshalb als variable Größe ein. Werte im Bereich zwischen 1 bis 10 g /Huhn und Tag werden als plausibel angesehen. Die nachfolgenden Berechnungen werden zunächst auf Basis einer Bodenaufnahmemenge von 2 g /Huhn und Tag durch-geführt. Höhere Aufnahmemengen sind möglich. Für die Berechnungen wird aber vo-rausgesetzt, dass keine Veränderung über die Versuchslaufzeit stattfindet.
- Der Futterverbrauch wird konstant mit 120 g/Tag und Huhn angenommen. Die Verfütte-rung der 1. Charge hat bis ca. zur 26. Lebenswoche, die der 2. Charge bis ca. zur 32. Lebenswoche und die der 3. Charge bis zum Versuchende stattgefunden. Die unter-schiedlichen Stoffgehalte finden jeweils für diese Zeiträume Eingang in die Berechnun-gen. Auch wenn diese Annahme für den Futterverbrauch zumindest für die Hühner zu Beginn der Legeperiode eine Überschätzung darstellt, wird bei der nachfolgenden Bi-lanzierung deutlich, dass der Eintragspfad Futtermittel im vorliegenden Fall selbst bei Unterstellung extrem unterschiedlicher Futteraufnahmen nur wenige Prozentpunkte Un-terschied in den Gesamt-TEQ ausmachen würde.
- Die Tränkwasseraufnahme wird mit 0,3 l/Tag und Huhn angenommen.
- Die Schadstoffaufnahme über Grasaufwuchs wird nicht betrachtet.
- Die Legeleistung je Huhn wird durchschnittlich mit 1 Ei /Tag angesetzt. Je Ei wird ein Fettgehalt von 6 g über die gesamte Versuchszeit angenommen.
- Für das Gewicht der Hühner werden folgende Werte angenommen:
 - Zu Versuchsbeginn 1 kg Gesamt- und 112,5 g Fettgewicht,
 - nach 42 Tagen Zunahme auf 1,5 kg Gesamtgewicht und ca. 170 g Fett und
 - nach 84 Tagen Annahme eines Endgewichts von 2 kg und 225 g Fettgewicht.

6.3.5.1 Stoffbilanzierung für PCDD/F

Auf Basis der gemessenen Stoffkonzentrationen aller PCDD/F-Kongenere wurde für die Zeitschnitte 42, 84, 126 (nur Eier) und 168 Tage nach Versuchsbeginn jeweils die Menge der mit Futter, Boden und Wasser aufgenommenen Kongenere berechnet. Diese Mengen werden in der Addition als „Input“-Frachten definiert. Die Zufuhr über Tränkwasser hat sich als vernachlässigbar herausgestellt und wurde in der weiteren Bilanzierung nicht weiter betrachtet.

Verglichen wurden die so geschätzten Schadstoffzufuhren mit den Mengen, die im Körper des Huhnes gespeichert wurden oder über gelegte Eier dem System entzogen wurden („Output“-Frachten). Die mit den Exkreta ausgeschiedenen Mengen konnten im Versuch nicht bestimmt werden und müssen als Differenzen betrachtet werden.

Die jeweiligen Teilfrachten wurden unter Berücksichtigung der o.g. Annahmen über die einzelnen Zeitschnitte und die gesamte Versuchslaufzeit aufaddiert und bilanziert. Im Einzelnen wurde aus der Konzentration in der jeweiligen Futtercharge und der täglichen Futterration für jeden Versuchstag die Aufnahmemenge jedes Kongeneres über das Futter errechnet. Diese können dann zu verschiedenen Zeitschnitten aufaddiert werden. In gleicher Weise kann aus der Konzentration im Boden der drei Varianten und einer hypothetischen täglichen Bodenaufnahmemenge für jedes Kongener eine Gesamtaufnahmemenge errechnet werden. Beide Pfade können verglichen und zu einer Gesamtaufnahmefracht addiert werden.

Unter der Annahme, dass täglich ein Ei mit der zum Probenahmezeitpunkt gemessenen Stoffkonzentration gelegt wurde, kann für den jeweiligen Zeitraum zwischen zwei Probenahmen kongenerenscharf die dadurch ausgeschiedene Stoffmenge bestimmt werden und ebenfalls über die Versuchsdauer aufaddiert werden. Unter Berücksichtigung des im Verlauf des Versuches zunehmenden Gewichtes und des daraus resultierenden Fettgehaltes der Versuchstiere kann aus den Konzentrationen im Fleisch der Hühner zu verschiedenen Zeitpunkten die Gesamtmenge der im Fett der Hühner gespeicherten Schadstoffe abgeschätzt werden. Es ist dann näherungsweise möglich, zu verschiedenen Zeitpunkten die vom Huhn über Futter und Boden aufgenommenen Schadstoffmengen den Mengen gegenüberzustellen, die über die Eiablage ausgeschieden oder im Fleisch der Hühner gespeicherten werden.

Ziel der Berechnungen war es, Hinweise auf die im Versuch anzunehmende Bodenaufnahmemenge zu erhalten und den Einfluss der Bodengehalte auf den Transfer und die Schadstoffgehalte in Eiern und Fleisch der Hühner zu plausibilisieren. Die Ergebnisse werden in den nachfolgenden Abbildungen dargestellt. Dort wurden im Positivabschnitt der y-Achse die Futter- und Bodenaufnahme (blaue bzw. rote Balken) und im Negativabschnitt der y-Achse der Austrag über die Akkumulation im Fleisch und über die gelegten Eier (grüne bzw. lila Balken) jeweils als additive Fracht dargestellt. Die Bilanzen wurden für alle Kongenere differenziert nach Bodengehalt und Zeitabschnitt berechnet und visualisiert. Die Bodenaufnahmemenge geht als variable Größe in die Berechnungsformeln ein. Die nachfolgenden Abbildungen zeigen beispielhaft die Situation für eine theoretische Bodenaufnahmemenge von 2 g/Huhn und Tag. Durch Variation der Bodenaufnahme ist es möglich, die vorgenannten Annahmen zu plausibilisieren. In den folgenden Abbildungen werden die theoretischen Schadstoffmengen aller PCDD/F-Kongenere für die einzelnen Versuchsvarianten und die Veränderungen im zeitlichen Verlauf dargestellt (Abb. 23 – Abb. 26).

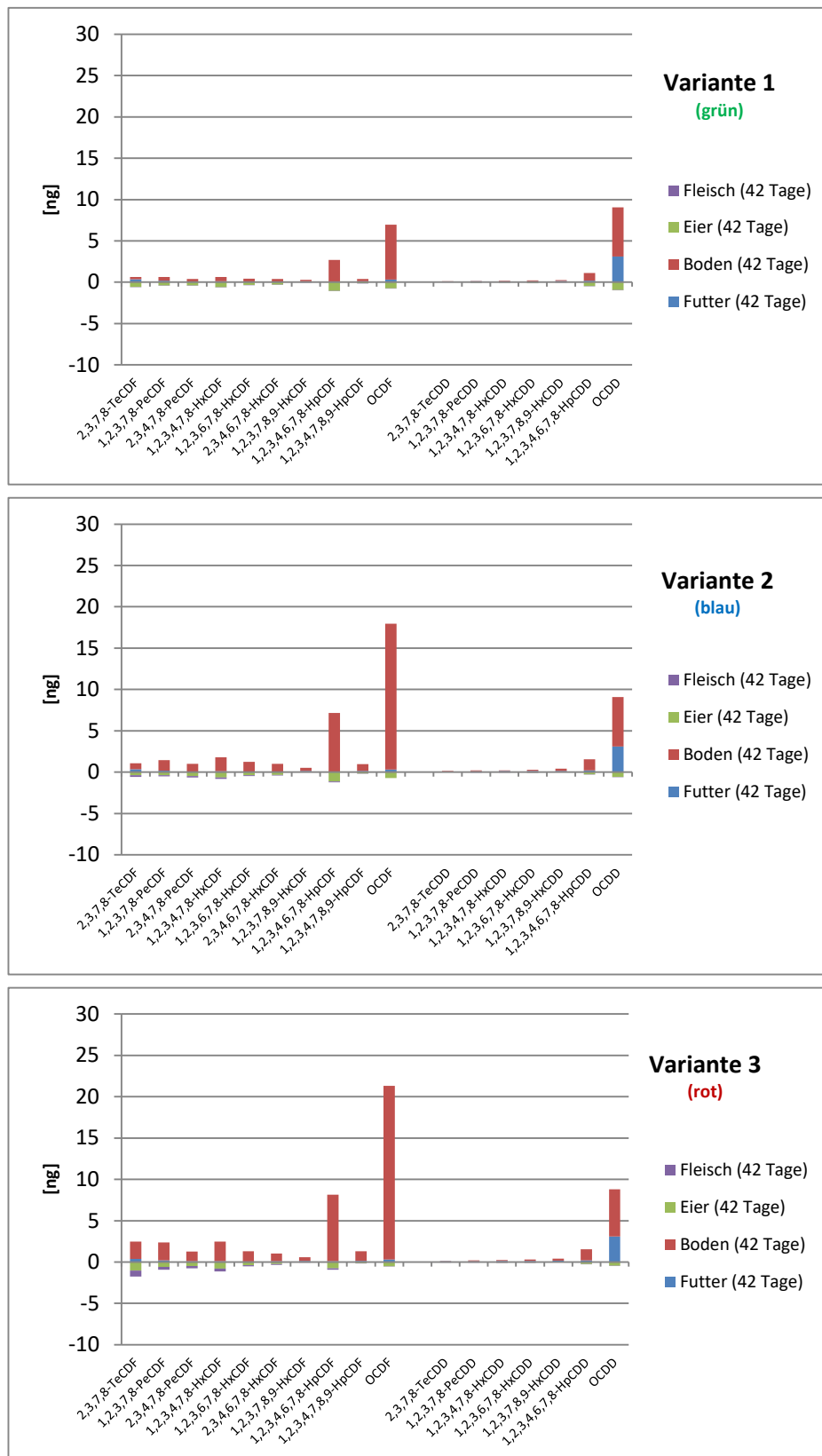


Abb. 23: Frachtbilanzen für PCDD/F-Kongenere (Input: 2 g Boden/ 120 g Futter – Output: Eier/Fleisch) nach 42 Tagen

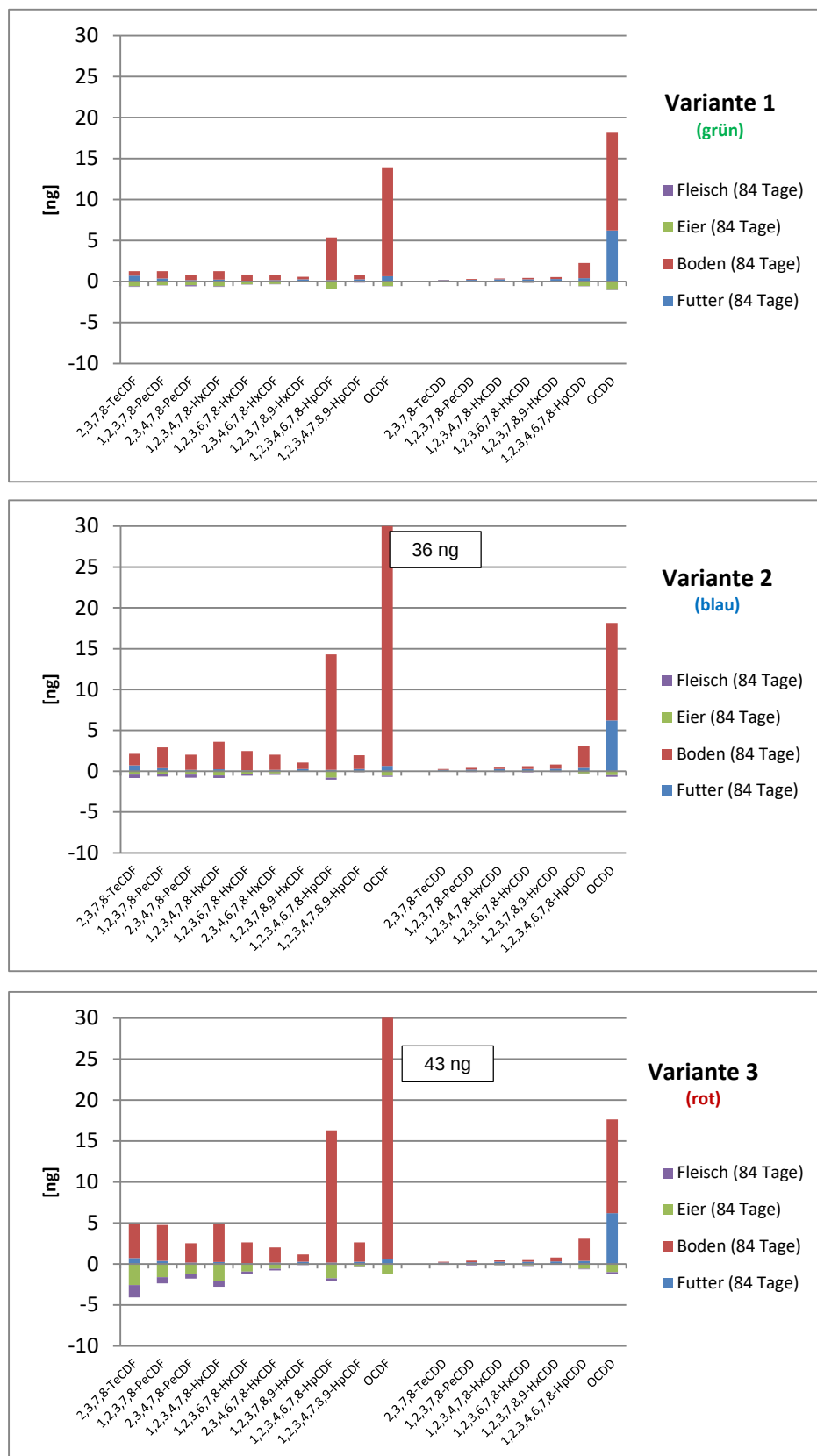


Abb. 24: Frachtbilanzen für PCDD/F-Kongenere (Input: 2 g Boden/ 120 g Futter – Output: Eier/Fleisch) nach 84 Tagen

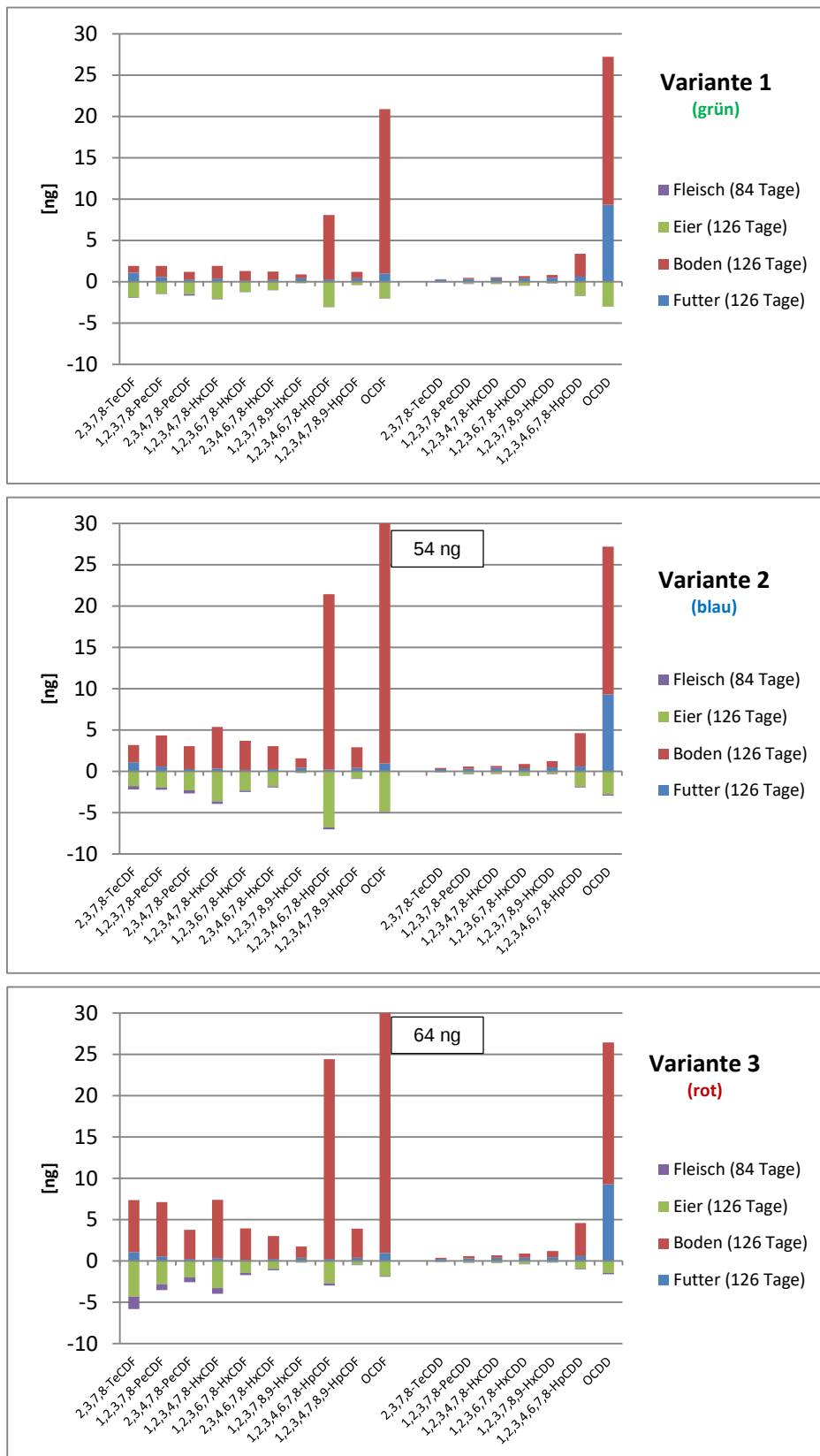


Abb. 25: Frachtbilanzen für PCDD/F-Kongenerne (Input: 2 g Boden/ 120 g Futter – Output: Eier/Fleisch) nach 126 Tagen (für Gehalte im Fleisch der Hühner liegen keine Untersuchungsergebnisse vor)

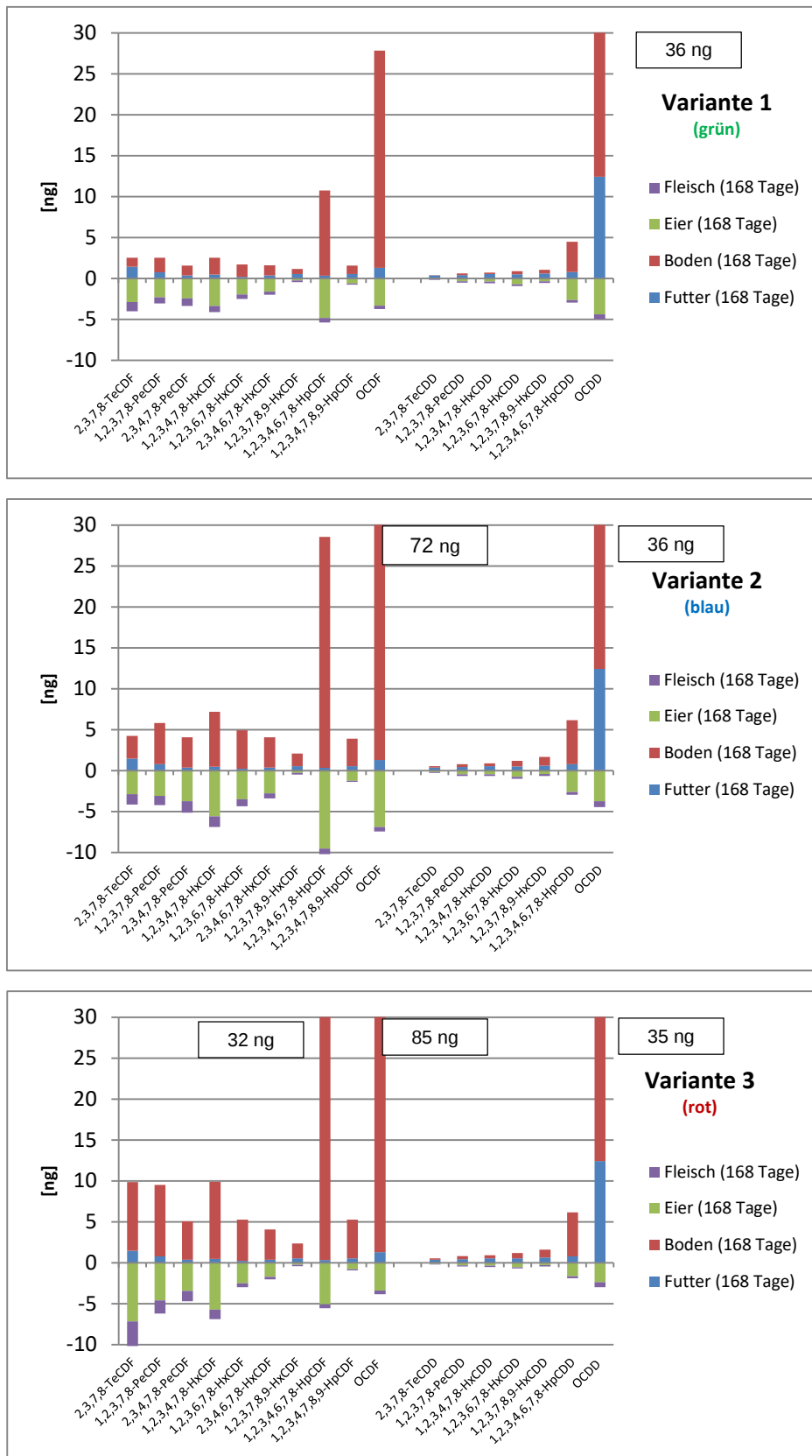


Abb. 26: Frachtbilanzen für PCDD/F-Kongenerne (Input: 2 g Boden/ 120 g Futter – Output: Eier/Fleisch) nach 168 Tagen

6.5.3.2 Bedeutung der Toxizitätsäquivalenzfaktoren

Um den Einfluss der einzelnen Kongenere hinsichtlich der jeweiligen Beiträge zur Gesamtoxizität berücksichtigen zu können, wurden die zuvor dargestellten Bilanzrechnungen zusätzlich so durchgeführt, dass die Konzentrationen aller Kongenere vor der Bilanzierung mit dem zugehörigen Toxizitätsäquivalenzfaktor TEF multipliziert wurden. Auf diese Art und Weise können **Bilanzierungen der Toxizitätsäquivalente** vorgenommen werden, die einen massen- und wirkungsseitigen Vergleich ermöglichen (Abb. 27 – Abb. 30).

Die Vermutung, dass sich die von Futtermitteln ausgehenden Beiträge zur Belastung von Fleisch und Eiern unter Berücksichtigung der TEF deutlicher ausprägen, bestätigt sich nur bedingt. So zeigen sich relevante Beiträge des eingesetzten Futters für die einzelnen TEQ an den Gesamt-TEQ auf der „Input-Seite“ lediglich beim 2,3,7,8 TeCDD und 1,2,3,7,8-PeCDD. Beim Futtermittel der Charge 1 können diese beiden Kongenere mit jeweils ca. 30 % der Gesamt-TEQ im Zeitraum der Verfütterung deutlich zu der auf TEQ umgerechneten Belastung beigetragen haben, während in den beiden anderen Futtermittel-Chargen ein ausgeglichenes Verhältnis der Dioxine und Furane festzustellen ist und in den Bodenproben die TEQ der Furane dann mit prozentualen Anteilen von 77 bis 86 % stark dominieren. An dieser Stelle ist deutlich darauf hinzuweisen, dass im Futter der Charge 1 mit Ausnahme von Hepta- und OctaCDD für die Dioxine generell Werte unterhalb der Bestimmungsgrenze gemessen wurden. Bei einer Berechnung mit „Lower Bound“-Werten entfällt auch dieser theoretische Einfluss deshalb nahezu vollständig.

Auch auf der „Output-Seite“ überwiegt die toxische Bedeutung der Furane. Ihre TEQ-Anteile liegen bei Eierproben zumeist um 80 %, was in den Varianten 2 (blau) und 3 (rot) auch ungefähr für die Fleischproben der Hühner zutrifft. Für die Variante 1 (grün) ist festzustellen, dass hier zunächst die toxikologische Bedeutung der niedrigchlorierten Dioxine mit Anteilen von knapp 60 % überwiegen und sich erst zum Ende des Versuches ein ähnliches Verhältnis wie auf den beiden „Belastungsvarianten“ einstellt. Die höherchlorierten Dioxine (Hexa- bis OctaCDD) und auch OctaCDF spielen bei der Bilanzierung der Toxizitätsäquivalente de facto keine Rolle mehr.

Die Berechnung unter Zugrundelegung von „Lower Bound“-Werten kann wie oben dargestellt entfallen, da in den Eiern Werte unterhalb der Bestimmungsgrenze nach 56 Versuchstagen praktisch nicht mehr vorkommen und die Gehalte im Fleisch der Hühner in der Bilanz eine nur untergeordnete Rolle spielen.

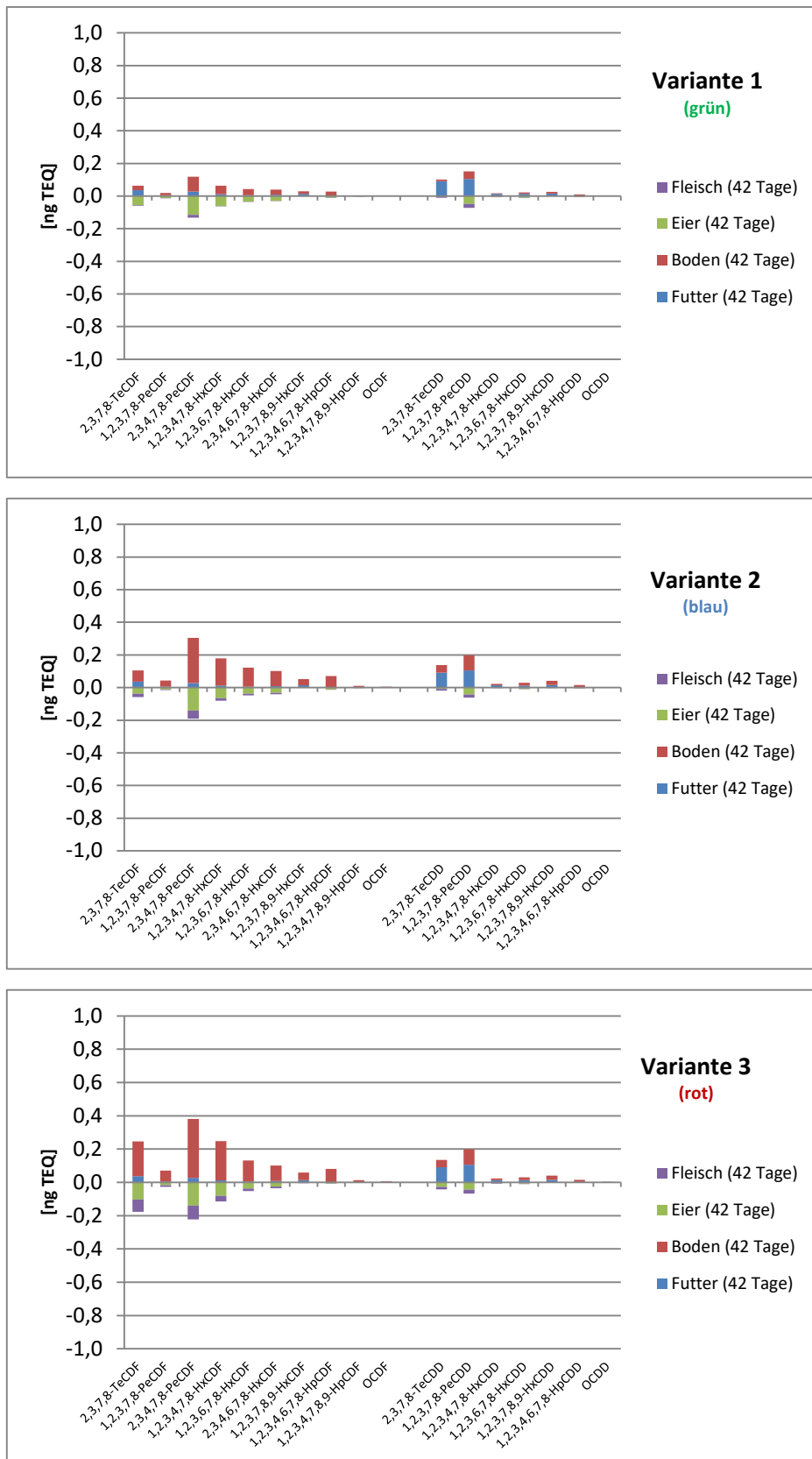


Abb. 27: Frachtbilanzen für PCDD/F-Kongenere unter Berücksichtigung der jeweiligen Toxizitätsäquivalenzfaktoren (Input: 2 g Boden/ 120 g Futter – Output: Ei-er/Fleisch) nach 42 Tagen

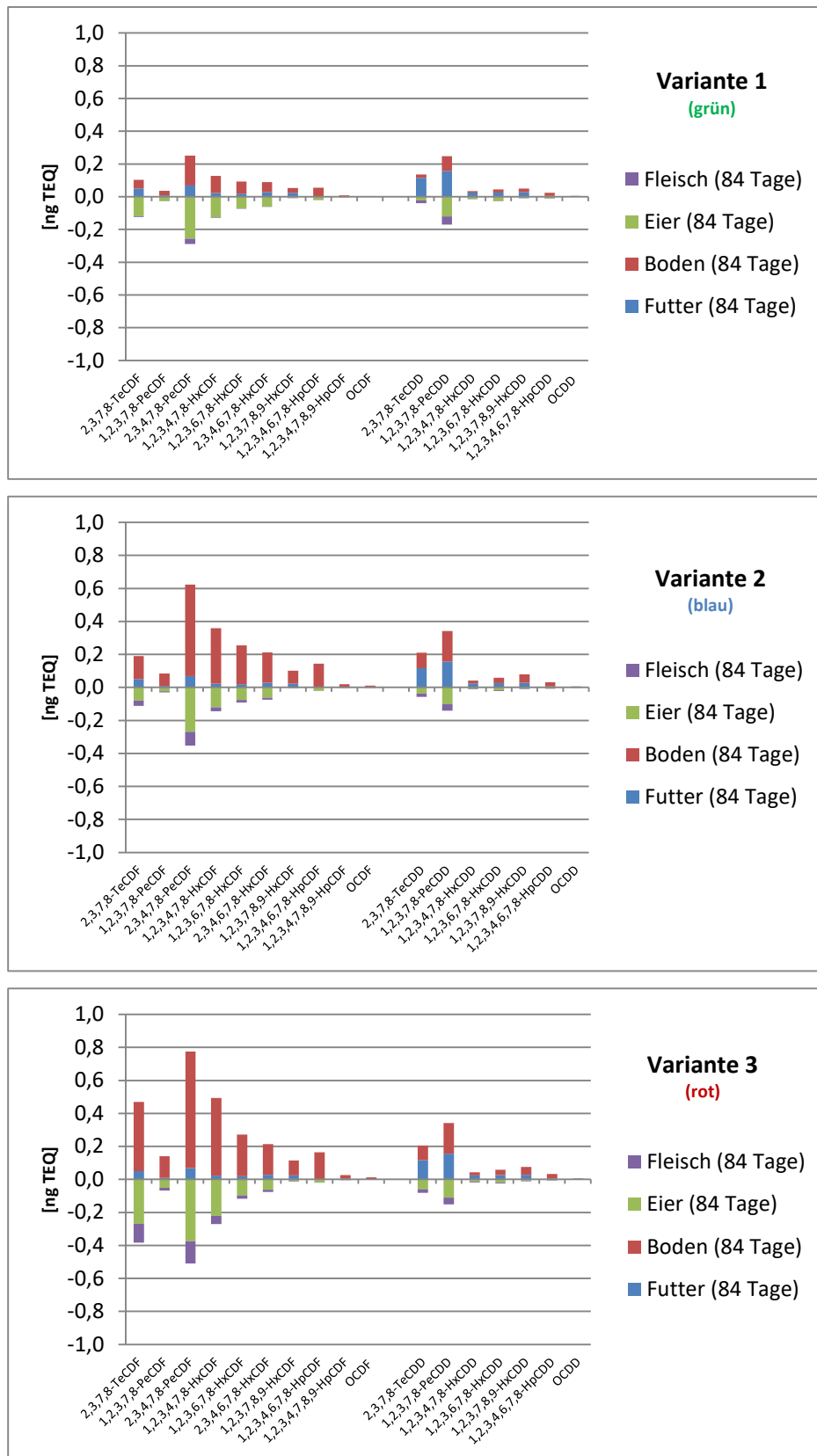


Abb. 28: Frachtbilanzen für PCDD/F-Kongenere unter Berücksichtigung der jeweiligen Toxizitätsäquivalenzfaktoren (Input: 2 g Boden/ 120 g Futter – Output: Eier/Fleisch) nach 84 Tagen

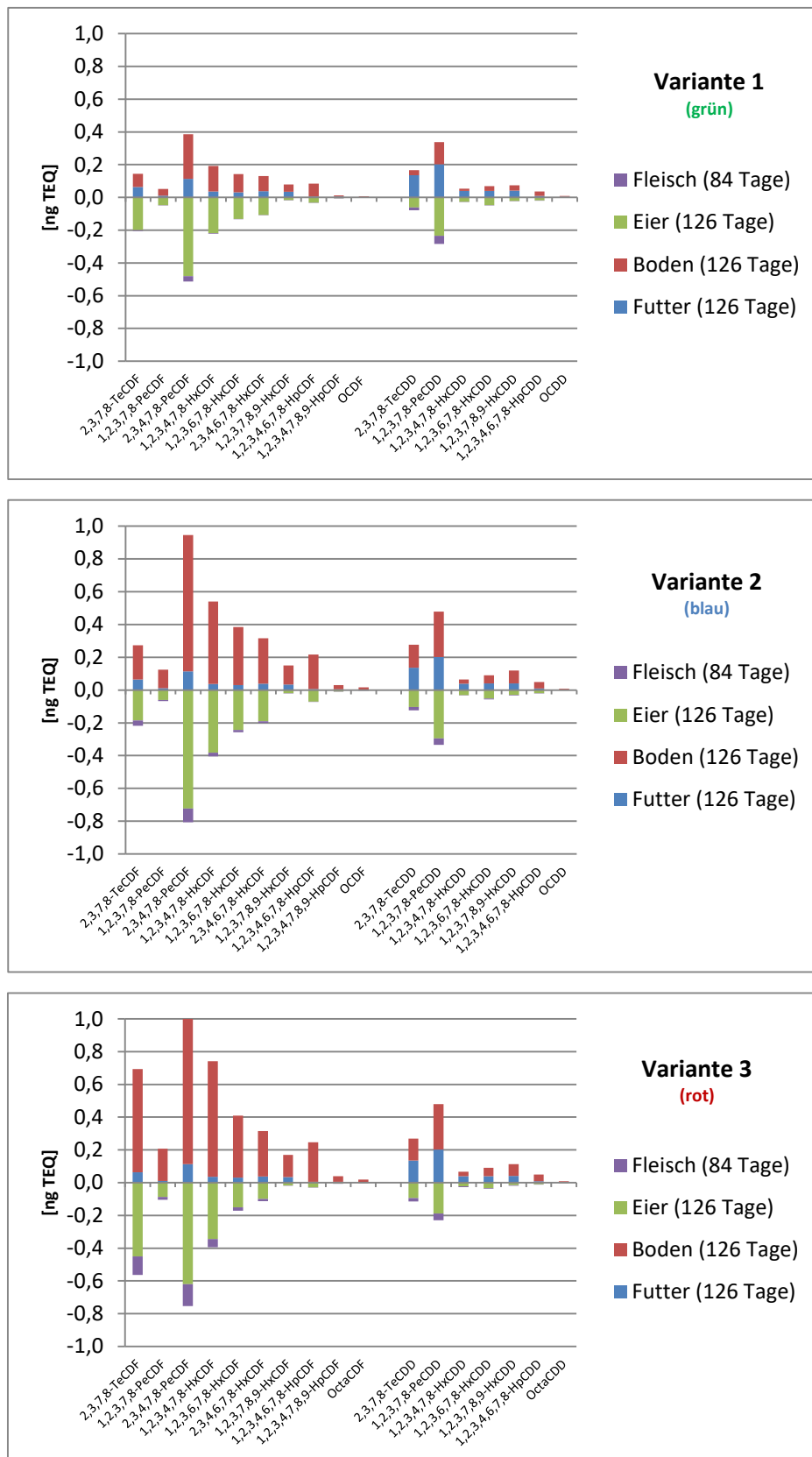


Abb. 29: Frachtbilanzen für PCDD/F-Kongenere unter Berücksichtigung der jeweiligen Toxizitätsäquivalenzfaktoren (Input: 2 g Boden/ 120 g Futter – Output: Ei-er/Fleisch) nach 126 Tagen (für Gehalte im Fleisch der Hühner liegen keine Untersuchungsergebnisse vor)

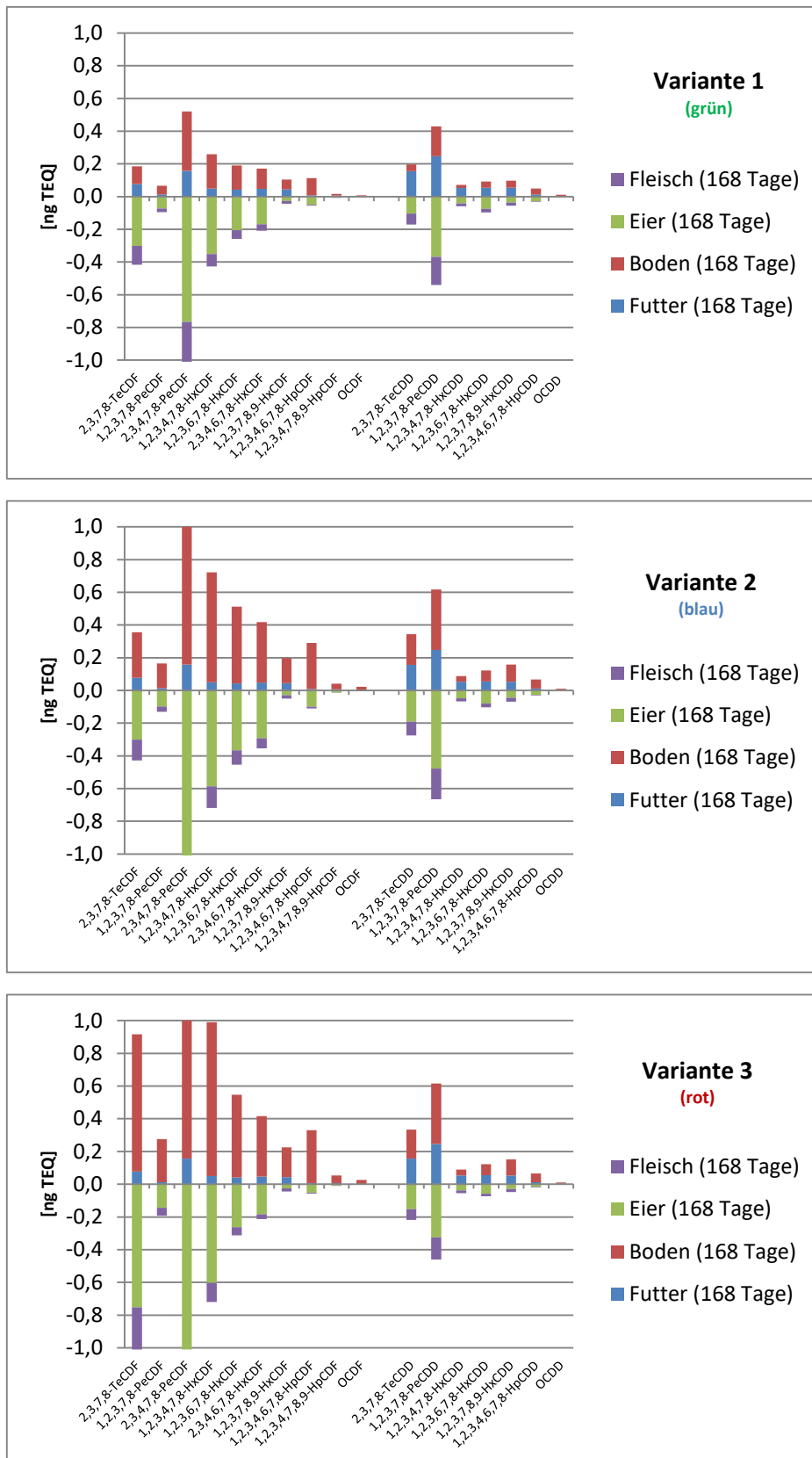


Abb. 30: Frachtbilanzen für PCDD/F-Kongenerne unter Berücksichtigung der jeweiligen Toxizitätsäquivalenzfaktoren (Input: 2 g Boden/ 120 g Futter – Output: Eier/Fleisch) nach 168 Tagen

Interpretation:

1. Insbesondere bei hochchlorierten Kongeneren ist die Gesamtaufnahme – bei Annahme von nur 1 g Bodenaufnahme pro Tag und Huhn und 120 g täglicher Futteraufnahme – weit höher als die im Körper gespeicherte und über gelegte Eier abgegebene Stoffmenge. Das bedeutet, dass eine erhebliche Menge (über 90% bei Hepta- und OctaCDF) der aufgenommenen Schadstoffe nicht resorbiert wird. Eine denkbare Ursache dafür kann sein, dass die Resorptionsverfügbarkeit und/oder die Resorptionsquote insbesondere hochchlorierter Kongenere sehr gering sind.
2. Die Schadstoffaufnahme über die Futterration ist mehr oder weniger gut berechenbar, die Aufnahme über den Boden hingegen nicht. Bei Annahme einer Bodenaufnahmerate von 1 g pro Huhn und Tag ist insbesondere bei den tetra- bis hexachlorierten PCDF festzustellen, dass die resorbierten, im Körper gespeicherten und über die gelegten Eier ausgeschiedenen Schadstoffmengen die über Boden und Futter aufgenommenen Frachten rechnerisch übersteigen. Da andere wesentliche Eintragspfade weitgehend auszuschließen sind, muss somit die Bodenaufnahmerate größer als 1 g sein. Eine rechnerisch ausgeglichene Bilanz würde sich bei einer Bodenaufnahme von mindestens 2 g pro Tag und Huhn ergeben (siehe vorangegangene Abbildungen). Da aber auch bei diesen Kongeneren nicht davon auszugehen ist, dass die Resorption und die Resorptionsverfügbarkeit 100% betragen, ist von einer noch höheren Bodenaufnahmemenge auszugehen.

6.3.5.3 Bedeutung von Boden- und Futteraufnahme

Um Schadstoffeinflüsse, die aus Futtermitteln stammen, gegenüber solchen, die aus dem Boden stammen, besser abgrenzen zu können, wurden die oben berechneten Input-Frachten separat betrachtet und für unterschiedliche Fallkonstellationen auf ihre prozentualen Anteile umgerechnet. Wegen der als konstant angenommenen Futteraufnahme verändern sich diese Anteile folgerichtig mit Veränderung der postulierten Bodenaufnahmemenge. Für die nachfolgende beispielhafte Darstellung in Abbildung 31 wurde wiederum ein Wert für die Bodenaufnahmemenge von 2 g/Huhn und Tag eingesetzt.

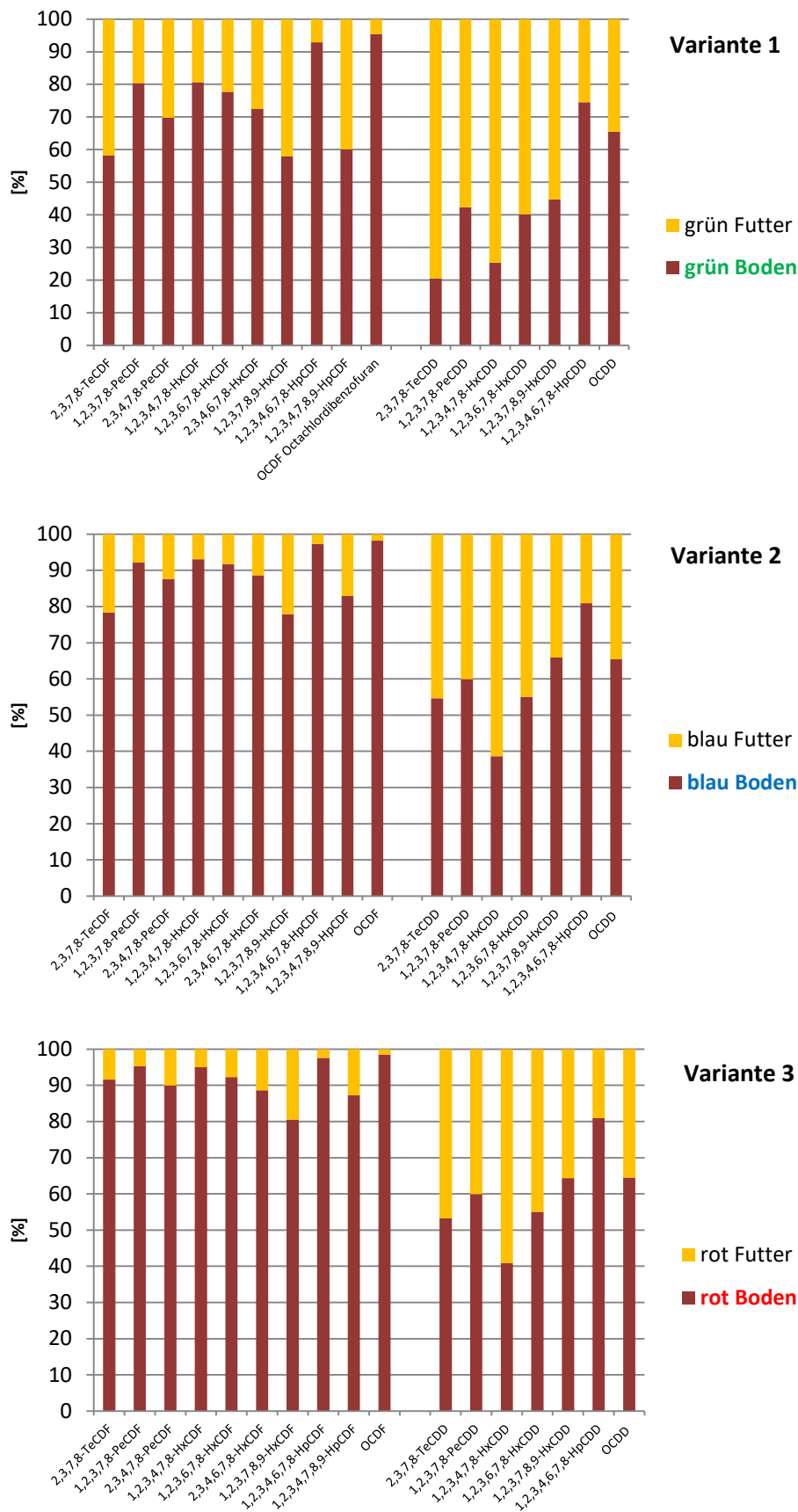


Abb. 31: Prozentuale Anteile der Schadstoffaufnahme der Hühner bei einer angenommenen Bodenaufnahme von 2 g /Tag und Huhn nach 168 Versuchstagen

In Abhängigkeit von den Grundannahmen können auch diese Auswertungen unterschiedliche Schlussfolgerungen nahelegen. In Bezug auf die theoretische Bedeutung der eingesetzten Futtermittel unterscheidet sich die Variante 1 aufgrund der dort gemessenen relativ niedrigen Bodengehalte stark von den beiden „Belastungsvarianten“. Wegen unterschiedlicher Kongenerenverteilung der 3 Futtermittelchargen kommt es auch zu leicht differierenden Einschätzungen bei der Betrachtung unterschiedlicher Zeitabschnitte.

Die Hinweise zur Bedeutung von Futter- und Bodenaufnahme, die sich aus der Absolutbetrachtung der Input-Frachten (Abb. 21 – 24) ergeben haben, werden in dieser Darstellung bei Annahme aufgenommener Bodenmenge von 2 g/Huhn und Tag noch besser erkennbar. Es zeigt sich, dass in diesem Versuch der Transfer über den Bodenpfad die Belastung der Lebensmittel in deutlich stärkerem Maße beeinflusst hat als der über die eingesetzten Futtermittel. Die Einflüsse der Futtermittel, die sich bei den niedrigchlorierten Dioxinen aus der rechnerischen Ableitung andeuten, sind vor dem Hintergrund zu interpretieren, dass die Messwerte dieser Kongenere im Bereich oder unterhalb der Bestimmungsgrenze liegen, und bei Berechnung mit „Lower-Bound“-Werten nicht zum Tragen kommen.

Interpretation

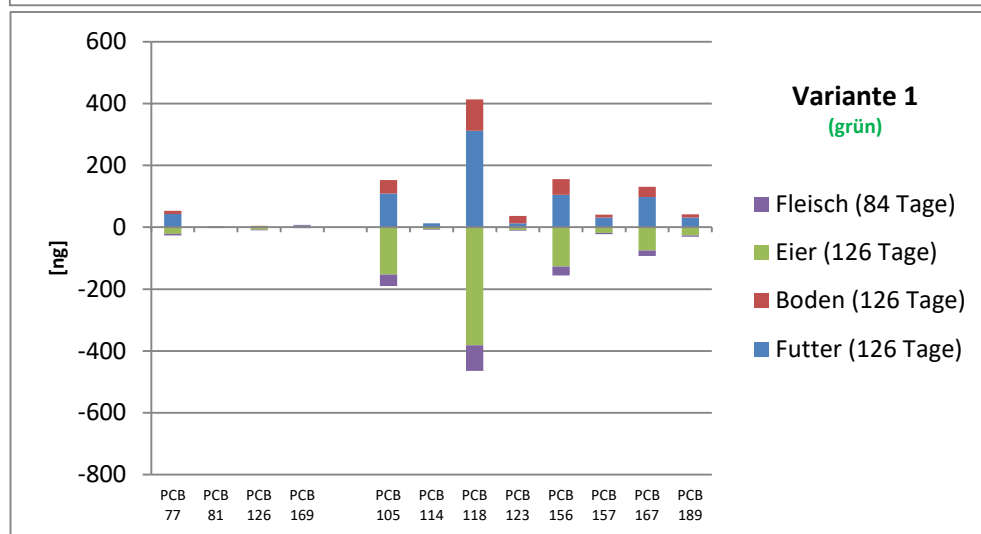
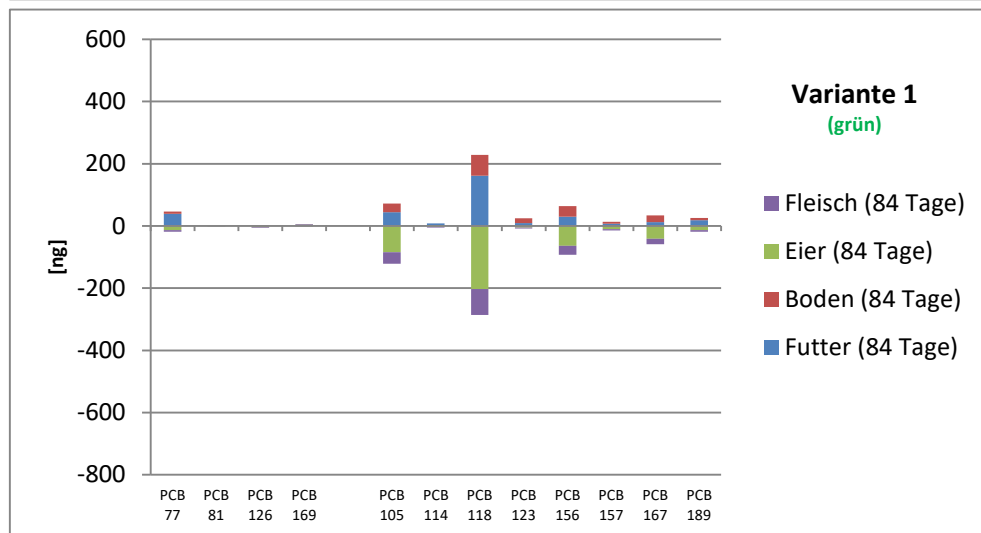
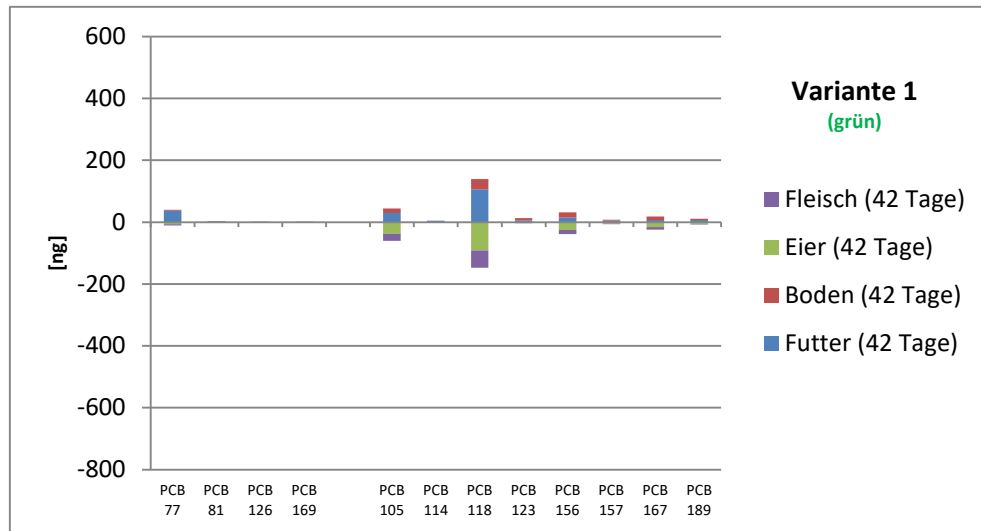
In Abhängigkeit von der Höhe der Bodenbelastung, der angenommenen Bodenaufnahmemenge und dem jeweiligen PCDD/F-Kongener zeigt sich, dass neben den Schadstoffgehalten im Boden auch die Gehalte im Futtermittel einen Einfluss auf die Gehalte in Eiern und Hühnerfleisch haben können. Der Einfluss des Futtermittels sinkt naturgemäß mit steigenden Bodengehalten und steigender angenommener Bodenaufnahmemenge. Ein Einfluss der Futtermittelgehalte, der den der Bodengehalte übersteigt, ist für die Gruppe der Dioxine eher anzunehmen als für die der Furane und betrifft v.a. die tetra- bis hexachlorierten Kongenere, die allerdings in allen Medien sehr geringe Absolutgehalte im Bereich oder unterhalb der Bestimmungsgrenze aufweisen.

6.3.5.4 Stoffbilanzierung für PCB

Grundsätzlich können für die Analyse des Transfers von PCB in Fleisch und Eier dieselben Verfahren wie für PCDD/F angewandt werden, allerdings ist ein Vergleich verschiedener Bodenvarianten wegen der fehlenden Bodenabstufung nicht möglich. Die Daten der drei Varianten könnten deshalb auch zusammengefasst werden. Eine Auswertung ist dann nur mit Blick auf die zeitliche Anreicherungsdynamik und hinsichtlich der Fragen, die in der Bilanzbetrachtung aufgeworfen wurden, sinnvoll.

Zur Stoffbilanzierungen und den daraus folgenden Plausibilisierungsansätzen wurden dennoch Ein- und Austragsfrachten wie für PCDD/F durchgeführt. Zwischen den drei Versuchsvarianten ergaben sich erwartungsgemäß nur geringe Unterschiede. Nachfolgend wird repräsentativ für alle Varianten der zeitliche Verlauf für die Variante 1 dargestellt (Abb. 32 – Abb. 33).

dl-PCB



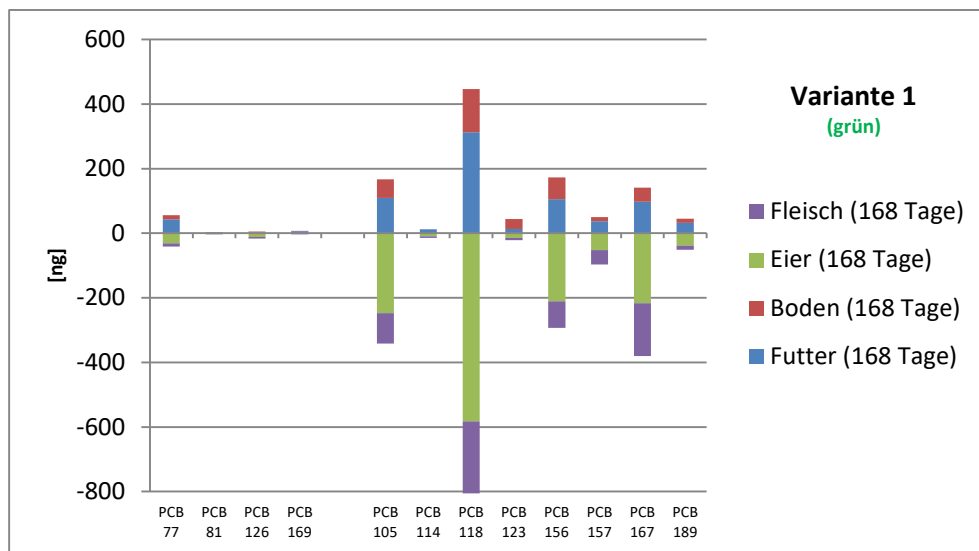
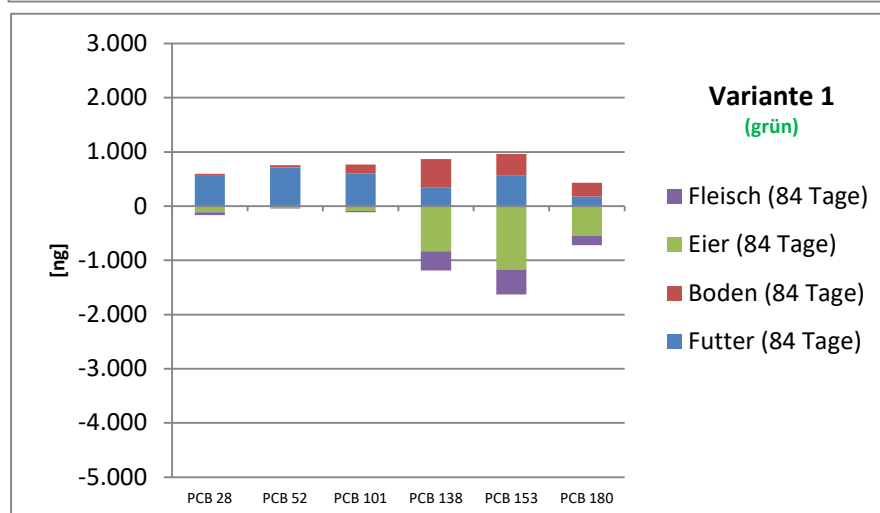
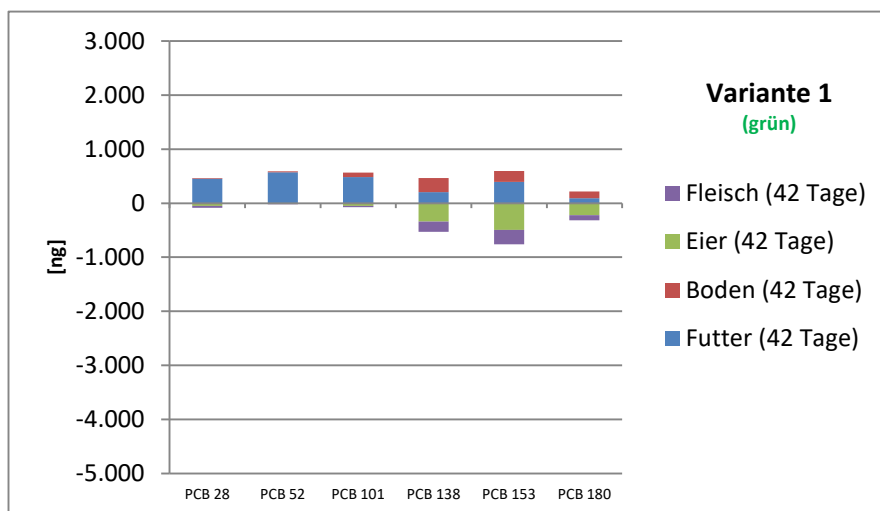


Abb. 32: Frachtbilanzen für dl-PCB (Input: 2 g Boden/ 120 g Futter/Tag – Output: Ei-er/Fleisch) nach 168 Tagen

ndl-PCB



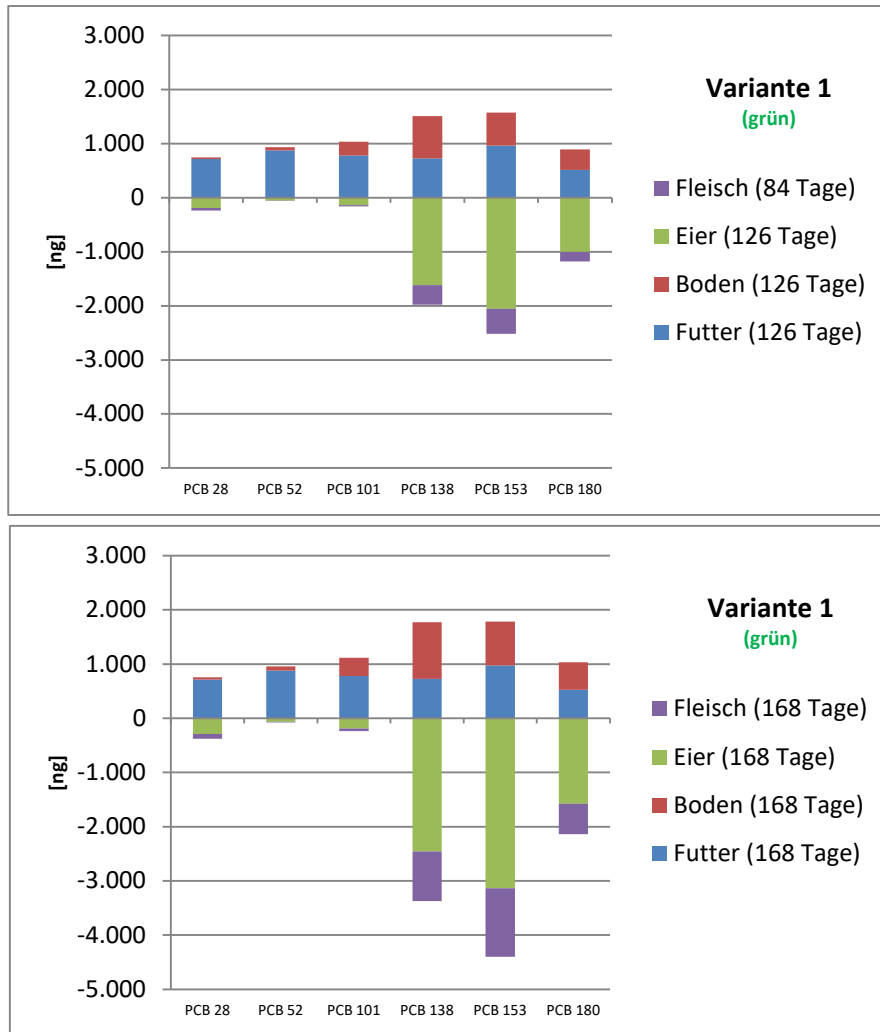


Abb. 33: Frachtbilanzen für ndl-PCB (Input: 2 g Boden/ 120 g Futter/Tag – Output: Ei-er/Fleisch) in der Variante 1 (grün) nach 168 Tagen

Interpretation

1. Im Gegensatz zu den PCDD/F scheint der Einfluss der PCB-Gehalte im Futter den Einfluss der Bodengehalte im Bereich der hier vorliegenden Konzentrationen zu übersteigen.
2. Im Vergleich zu den PCDD/F verschieben sich die bilanzierten Frachten bei PCB deutlich zur „Output“-Seite. Ein theoretisches Gleichgewicht, das bei PCDD/F bei einer minimal anzunehmenden Bodenaufnahmemenge von 2 g /Huhn und Tag zu erreichen wäre, ist auf der Basis der Berechnungsgrundlagen für die PCB erst bei mindestens 5 g Bodenaufnahme zu beobachten. Daraus kann geschlossen werden, dass die Verfügbarkeit von dl- und ndl-PCB die von PCDD/F an diesem Standort deutlich übersteigt.

6.3.6 Veränderungen und mögliche Einflussfaktoren auf die PCDD/F-Kongenerenprofile

Zusätzliche Informationen können aus der Tatsache abgeleitet werden, dass zu Versuchsbeginn der Einfluss von Schadstoffen, die über den Boden aufgenommen wurden, ausgeschlossen werden kann. Es wurde daher der Versuch unternommen, zeitliche Veränderungen des Schadstoffprofils im Fleisch von Hühnern und Eiern mit den Schadstoffprofilen von Böden und eingesetzten Futtermitteln abzugleichen. Die Interpretation dieser Einflüsse wird allerdings dadurch erschwert, dass die Konzentrationen im Fleisch der Hühner zu Versuchsbeginn insbesondere für PCDD/F-Kongeneren, vielfach jedoch auch für dl-PCB, unterhalb der jeweiligen Bestimmungsgrenze lagen. Außerdem ist nicht bekannt, mit welchem Futter die Hühner vor Versuchsbeginn gefüttert wurden. Überschlägige Abschätzungen sind daher nur auf Basis der bekannten Werte möglich.

Werden die Schadstoffprofile im Verlauf des Versuches beobachtet, ist für die PCDD/F-Konzentrationen im Fleisch der Hühner festzustellen, dass sich mit fortdauernder Versuchszeit das Profil immer mehr in Richtung niedrigchlorierter Furane verschiebt (siehe nachfolgende Abb. 34). Diese Verschiebung zeigt sich in allen Varianten, allerdings umso deutlicher, je höher die Bodengehalte sind.

Bei den höherchlorierten Kongeneren zeigen sich mit fortschreitender Versuchsdauer nur relativ gemäßigte Konzentrationserhöhungen. Diese scheinen zudem in nur geringem Maße von den Bodengehalten beeinflusst zu werden. Bei den niedrigchlorierten Furanen ist hingegen bereits nach 42 Tagen eine Anreicherung gegenüber den Gehalten zu Versuchsbeginn um den Faktor 20 bis 30 festzustellen. Bis zum Versuchsende kommt es zu einer weiteren Verdoppelung dieser Gehalte, wodurch sich die Verschiebung im Kongenerenprofil weiter verstärkt. Auch dies ist als starker Hinweis darauf zu werten, dass insbesondere die Gehalte niedrigchlorierter Furane im Fleisch der Hühner wesentlich über die Aufnahme von Bodenpartikeln gesteuert werden.

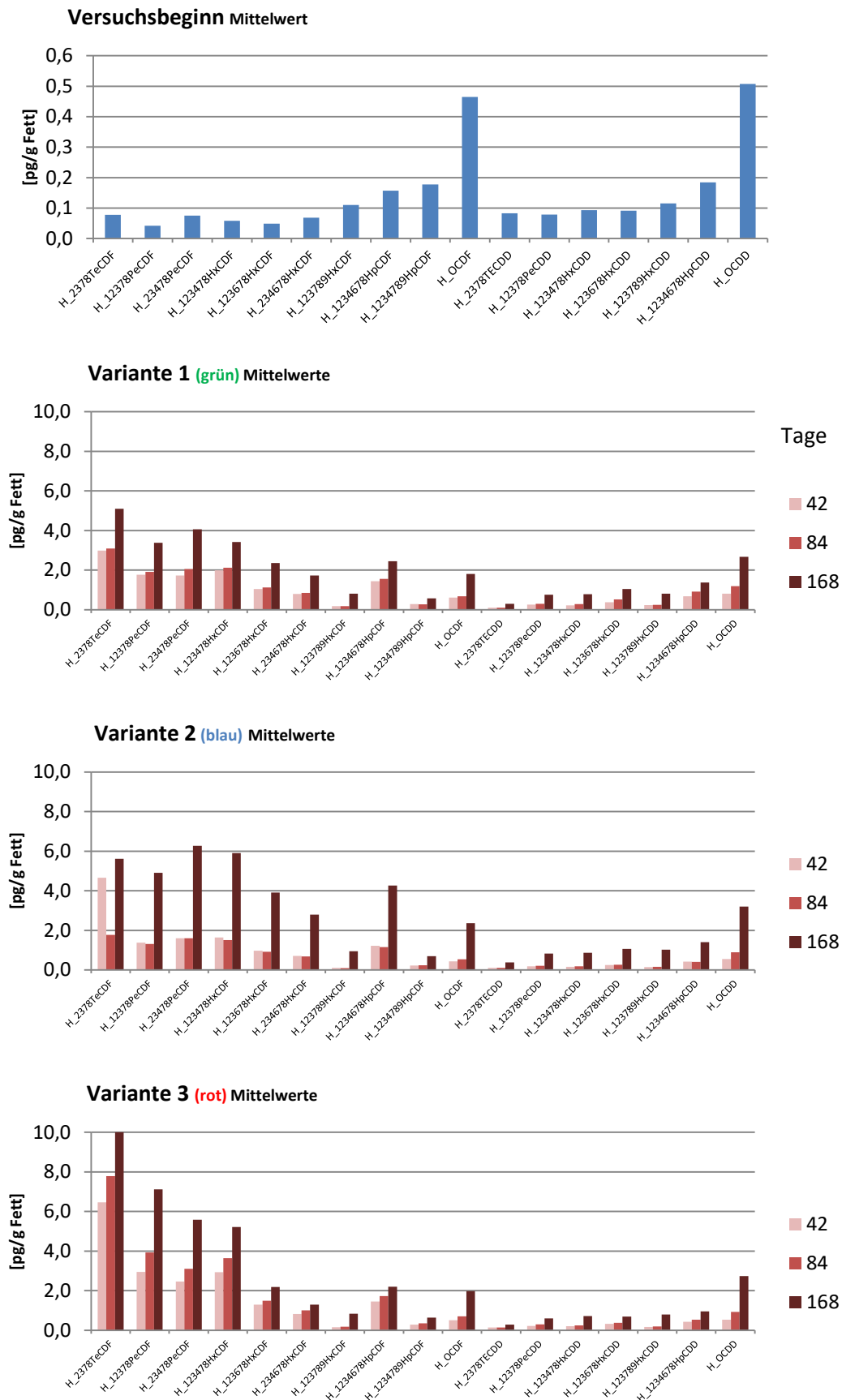


Abb. 34: PCDD/F-Gehalte im Fleisch der Hühner [pg/g Fett] im Versuchsverlauf (Tage) differenziert für die 3 Versuchsvarianten im Vergleich zum Versuchsbeginn

Die oben dargestellte Profilverschiebung im Versuchsverlauf spiegelt sich auch in den Eiern wider (Abb. 35). Ein Vergleich der Varianten 1 (grün) und 3 (rot) lässt aber auch vermuten, dass sich bei den Gehalten in Eiern der Einfluss des Bodens noch stärker durchprägt. Einschränkung ist darauf hinzuweisen, dass die Variante 2 (blau) über die gesamte Laufzeitzeit des Versuches erhebliche Streuungen der Konzentrationen zeigt und daher nicht dargestellt wird, so dass sich für die Variante 2 diese Vermutung nicht erhärten lässt.

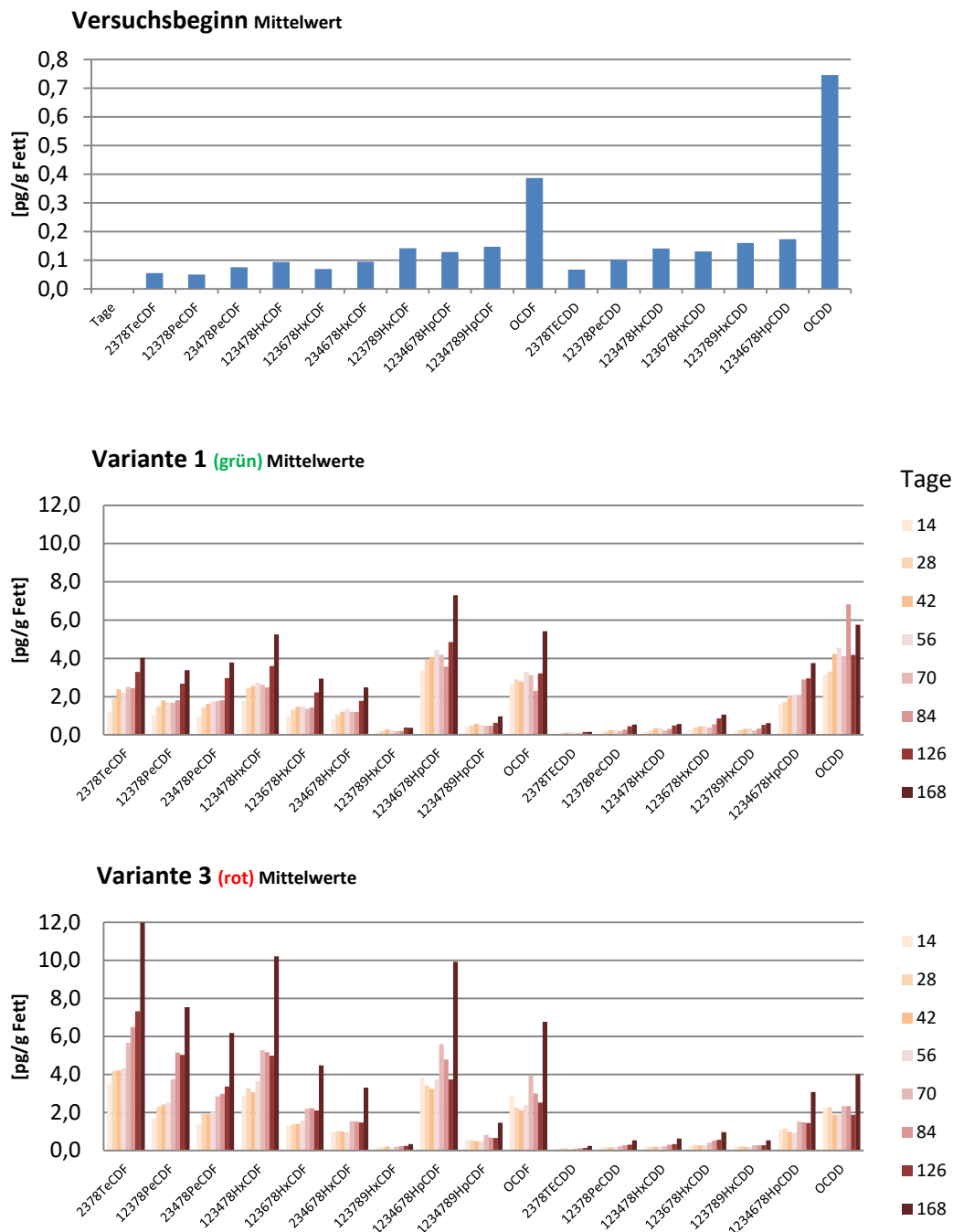


Abb. 35: PCDD/F-Gehalte in den Eiern [pg/g Fett] im Versuchsverlauf (Tage) differenziert für die Versuchsvarianten grün und rot im Vergleich zum Versuchsbeginn

6.3.7 Vergleich mit anderen Standorten

Beim Vergleich der Untersuchungsergebnisse der Eierproben mit denen der im Kapitel 3 dargestellten Werte aus dem Lebensmittelmonitoring und anlassbezogenen Sonderuntersuchungen ist festgestellt worden, dass die PCDD/F-Gehalte, die am Versuchsstandort ermittelt wurden, gemessen an ihren Toxizitätsäquivalenten vergleichsweise hoch sind. Ein Erklärungsansatz hierfür ergibt sich aus den in Kapitel 6.1 diskutierten Unterschieden in der prozentualen Verteilung der Kongenere der Versuchsböden im Vergleich zu anderen in NRW untersuchten Flächen unter Freilandhaltung von Hühnern. Dabei war festgestellt worden, dass die Bodenproben auf den Versuchsflächen deutlich höhere Anteile an Furanen und tendenziell niedrigere Anteile an Dioxinen gegenüber den in den Kreisen Borken und Minden-Lübbecke untersuchten Flächen aufweisen. Allerdings werden am Standort Duisburg ähnlich hohe prozentuale Anteile von 2,3,7,8-TeCDF, 1,2,3,7,8-PeCDF, 2,3,4,7,8-PentaCDF und 1,2,3,4,7,8-HexaCDF festgestellt wie auch an einzelnen Standorten in ländlichen Bereichen. Hinweise auf mögliche Unterschiede im PCDD/F-Muster zwischen ländlichen und anthropogen überprägten Bereichen sowie Hinweise auf mögliche Emittenten lassen sich eventuell auch aus dem am Versuchsstandort exponierten Grünkohlproben im Vergleich mit den Proben aus dem Wirkungsdauermessprogramm des LANUV ableiten.

Die Unterschiede zwischen den Standorten werden bei den Ei-Proben noch deutlicher erkennbar (Abb. 36). So weisen die Eier am Versuchsstandort auch in der Untersuchung aus 2012 - im Vergleich zu den Eiern aus den Kreisen Borken und Minden-Lübbecke - insbesondere für tetra- bis hexachlorierte Furane erkennbar höhere prozentuale Anteile auf. Im Gegensatz dazu sind die relativen Anteile der hochchlorierten Dioxine (1,2,3,4,6,7,8-HpCDD und OCDD) in den Eiprobe aus ländlich geprägten Bereichen deutlich höher als in denen der im Ballungsraum gelegenen Versuchsflächen.

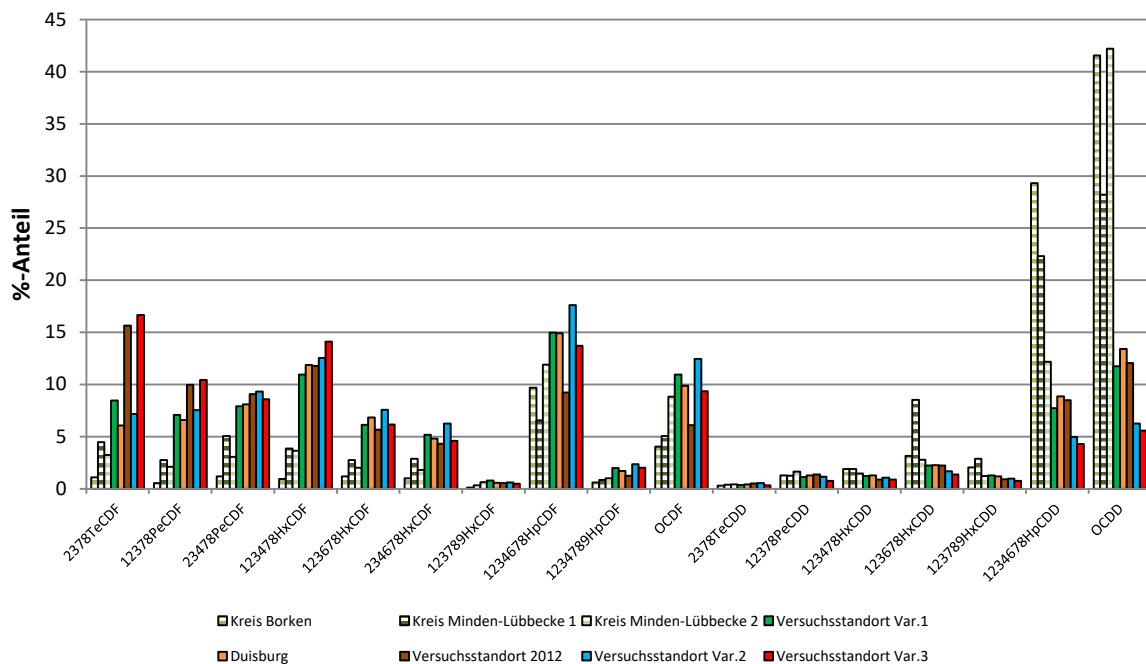


Abb. 36: Prozentuale Verteilung der PCDD/F-Gehalte in Eiern verschiedener Standorte in NRW und vom Versuchsstandort (44.Lebenswoche) – (Σ PCDD/F je Standort = 100%)

Die, verglichen mit Eiern aus anderen Untersuchungen, auffällig hohen TEQ-Gehalte in den Eiern aus dem Versuch können daher auf die am Standort in den Böden festgestellte Kongenerenverteilung, insbesondere auf die hohen Anteile niedrigchlorierter Furane zurückzuführen sein. Bei einem TEF von 0,1 für 2,3,7,8-TeCDF, einem TEF von 0,3 für 2,3,4,7,8-PentaCDF und einem TEF von 0,1 sowohl für 1,2,3,4,7,8-HexaCDF als auch für 1,2,3,6,7,8-Hexa-CDF haben die Gehalte dieser Kongenere einen bedeutenden Einfluss auf den Gesamt-TEQ-Gehalt. Hohe Gehalte dieser Einzelstoffe können somit einen Beitrag zur Erklärung der am Versuchsstandort schon nach wenigen Tagen ermittelten Überschreitungen des Höchstgehalts liefern.

7. Fazit

Aus der Zusammenschau der Daten des vorliegenden Versuchsvorhabens lassen sich die folgenden Überlegungen und Schlussfolgerungen ableiten, deren Übertragbarkeit auf andere Standorte– und damit eine Verallgemeinerung – einer weiteren Bearbeitung bedürfen. Abgeleitete Schlussfolgerungen gelten nur für den hier beschriebenen Versuchsaufbau.

- Der Einfluss variierender PCDD/F-Gehalte im Boden auf die Gehalte im Fleisch von Hühnern und von Eiern der Tiere, die unter Freilandhaltungsbedingungen gehalten wurden, konnte mit dem Versuch nachgewiesen werden.
- Noch deutlichere Auswirkungen auf die Gehalte der oben genannten Lebensmittel hatte jedoch die Zeitdauer, über den die Tiere im Freiland gehalten wurden. Im durchgeführten Versuch wurde im Fleisch der Hühner bei PCDD/F-Gehalten über 5 ng WHO-PCDD/F-TEQ/kg Boden bereits nach wenigen Wochen Schadstoffkonzentrationen im Bereich der Höchstgehalte ermittelt.
- Die PCDD/F-Gehalte und dl-PCB-Gehalte in den Eiern und im Fleisch der Hühner stiegen nach dem ersten Kontakt mit den Böden schnell an, verblieben dann aber bis zum Erreichen der Maximalgröße der Hühner auf einem ähnlichen Niveau. Danach wurde ein erneuter Anstieg der Gehalte festgestellt.
- Bei der **auf den Versuchsflächen vorgefundenen Kongenerenverteilung** kam es auf Böden mit PCDD/F-Gehalten unter 15 ng WHO-PCDD/F-TEQ/kg in den 12 bis 18 Wochen nach dem ersten Bodenkontakt bei den Eiern **im Mittel zu keiner Überschreitung des Höchstgehalts der EU-Kontaminantenverordnung**.
- Die genannten zeitlichen Zusammenhänge konnten auch für dl- und ndl-PCB festgestellt werden, ein Einfluss steigender PCB-Gehalte im Boden wurde im Rahmen dieses Versuches nicht geprüft.
- Für die Freilandhaltung von Hühnern in Regionen mit Hintergrundgehalten im Konzentrationsbereich der Versuchsböden sollten Maßnahmen auf die Reduzierung der Bodenaufnahme von Hühnern abzielen. Hierzu müssen praktikable Ansätze weiter entwickelt werden.

8. Literaturverzeichnis

- Anonym, 2006. Verordnung (EG) Nr. 1881/2006 der Kommission vom 6. Februar 2006 zur Reduzierung des Anteils von Dioxinen, Furanen und PCB in Futtermitteln und Lebensmitteln. Abl. EG L 42/26-28 vom 14.02.2006.
- Beyer, W.N., Connor, E.E., Gerould, S., 1994. Estimates of soil ingestion by wildlife J. Wildl. Manage. 58, 375-382.
- Ballschmiter, K., Bacher, R., 1996. Dioxine. Chemie, Analytik, vorkommen, Umweltverhalten und Toxikologie der halogenierten Dibenzo-p-Dioxine und Dibenzofurane. VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim.
- BfR (Bundesinstitut für Risikobewertung), 2012. Fragen und Antworten zu Dioxinen und PCB in Lebensmitteln. BfR, Berlin.
- BMU (Bundesministerium für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit), 2009. Dioxin- und PCB-einträge in Lebensmittel vermeiden. Ein Leitfaden für Rinder-, Hühner- und Schweinehalter. Reihe Umweltpolitik.
(http://www.gfrs.de/fileadmin/files/1UBA_Leitfaden__Dioxin_2009.pdf).
- Bröker, G., Bruckmann, P., Hiester, E., Krause, G.H.M., Quass, H., 1998. Belastung der Atmosphäre mit Dioxinen und Furanen: Emissionen und Immissionen. In: Oehme, M. (Hrsg.), Handbuch Dioxine. Quellen, Vorkommen, Analytik. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, und Berlin, 73-163.
- De Vos, S., Verschueren, D., De Schrijver, R., 2005. Digestibility, retention and incorporation of low-level dietary PCB contents in laying hens. Chemosphere 58, 1553-1562.
- De Vries, M., Kwakkel, R.P., Kijlstra, A., 2006. Dioxins in organic eggs: a review. NJAS – Wagen. J. Life Sci. 54, 207-221.
- Domingo, J.L., 2014. Health risks of human exposure to chemical contaminants through egg consumption: A review. Food Res. Int. 56, 159-165.
- Fournier, A., Feidt, C., Travel, A., Le Bizec, B., Venisseau, A., Marchand, P., Jondreville, C., 2012. Relative bioavailability to laying hens of indicator polychlorobiphenyls present in soil. Chemosphere 88, 300-306.
- Fujita, H., Honda, K., Iwakiri, R., Guruge, K.S., Yamanaka, N., Tanimura, N., 2012. Suppressive effect of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, polychlorinated dibenzofurans and dioxin-like polychlorinated biphenyls transfer from feed to eggs of laying hens by activated carbon as feed additive. Chemosphere 88, 820-827.
- GfE (Gesellschaft für Ernährungsphysiologie), 1999. Empfehlungen zur Energie- und Nährstoffversorgung der Legehennen und Masthühner (Broiler). DLG-Verlag, Frankfurt/Main.
- Gude, K., Taube, F., Bruns-Weller, E., Severin, K., Schulz, A.J., Kamphues, J., 2008. Dioxine und dl-PCB als Futtermittelkontaminanten und ihre Bedeutung für die Lebensmittelsicherheit. Übers. Tierernährg. 36, 93-144.
- Hoogenboom, L.A.P., Kan, C.A., Zeilmaker, M.J., Van Ejkeren, J., Traag, W.A., 2006. Carry-over of dioxins and PCBs from feed and soil to eggs at low contamination levels – influence of mycotoxin binders on the carry-over from feed to eggs. Food Addit. Contamin. 23, 518–527.

- Ikeda, M., Matsushita, S., Yamashita, J., Ikeya, M., Iwasawa, T., Tomita, T., 2004. The transfer of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin into eggs and chicks following exposure to hens. *Organohalogen Compounds* 66, 3305-3309.
- Kaune, A., Fiedler, H., 1991. Ein Überblick über Eintrag und Verhalten von PCDD/F in Böden. *Organohalogen Compounds* 7, 275-284.
- Kijlstra, A., Traag, W.A., Hoogenboom, L.A.P., 2007. Effect of flock size on dioxin levels in eggs from chickens kept outside. *Poult. Sci.* 86, 2042-2048.
- Petreas, M.R., Ruble, R., Visita, P., Mok, M., McKinney, M. She, J., Stephens, R., 1996. Bioaccumulation of PCDD/Fs from soil by foraging chickens. *Organohalogen Compounds* 29, 51-53.
- Piskorska-Pliszczynska, J., Mikolajczyk, S. Warenik-Bany, M., Maszewski, S., Strucinski, P., 2014. Soil as a source of dioxin contamination in eggs from free-range hens on a Polish farm. *Sci. Total Environ.* 466-467, 447-454.
- Piskorska-Pliszczynska, J., Struciński, P., Mikolajczyk, S., Maszewski, S., Rachubik, J., Warenik-Bany, M., 2015. Dioxins, furans, and polychlorinated biphenyls in hen eggs – a new source of hazard for consumers? *Bull. Vet. Inst. Pulawy* 59, 519-526.
- Schuler, F., Schmid, P., Schlatter, C., 1997. The transfer of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans from soil into eggs of foraging chicken. *Chemosphere* 34, 711-718.
- Stephens, R.D., Petreas, M.X., Hayward, D.G., 1995. Biotransfer and accumulation of dioxins and furans from soil: chicken as model for foraging animals. *Sci. Total Environ.* 175, 253-272.
- van der Meulen, J., Kwakernaak, C., Kan, C.A., 2008. Sand intake by laying hens and its effect on egg production parameters. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 92, 426-431.
- Waegeneers, N., De Steur, H., De Temmerman, L., Van Steenwinkel, S., Gellynck, X., Viaene, J., 2009. Transfer of soil contaminants to home-produced eggs and preventive measures to reduce contamination. *Sci. Total Environ.* 407, 4438-4446.

Anhang

„Biometrisches Gutachten zur Fallzahlschätzung bei einem Tierversuch“ (Institut für Medizinische Statistik / RWTH Aachen)

Biometrisches Gutachten zur Fallzahlschätzung für einen Tierversuch

1. Allgemeine Angaben

1. Antragsteller	
Name	<i>Prof. Dr. Karl-Heinz Südekum</i>
Anschrift:	<i>Institut für Tierwissenschaften Tierernährung Universität</i>
Klinik / Institut / Abteilung:	<i>Bonn Endenicher Allee 15 53115 Bonn</i>
Tel.:	<i>Tel.: 0228/73-2287</i>
<i>Fax</i>	<i>Fax: 0228/73-2295</i>
E-Mail	<i>E-mail ksue@itw.uni-bonn.de</i>
2. Berater des Instituts für Medizinische Statistik	
Berater:	<i>Prof. Dr. Ralf-Dieter Hilgers Institut für Medizinische Statistik RWTH Aachen University Pauwelsstr. 30 52074 Aachen rhilgers@ukaachen.de</i>

2. Studienspezifische Angaben

Titel der Studie:	
<i>Untersuchung zum Transfer von Dioxinen und PCB im Pfad Boden - Huhn - Ei bei Hühnern aus Freilandhaltung und Ermittlung von Maßnahmen zur Reduktion der Dioxin- und PCB-Belastung von Hühnern und Eiern.</i>	
<i>(Untersuchung zum Dioxin- und PCB-Transfer im Pfad Boden-Huhn-Ei bei Hühnern aus Freilandhaltung)</i>	
Studiennummer:	<i>365-6.22.5</i>
Andere Behördennummer:	

3. Anmerkungen

Die Bestimmung des Stichprobenumfangs (Fallzahlschätzung) auf der Basis biostatistischer Gesichtspunkte ist ein entscheidender Schritt bei der Planung eines Tierversuchs.

Basis der Fallzahlschätzung sind Annahmen, die in der weiteren Beratung im Anhang unter A) und B) festgehalten werden. Für die Richtigkeit der Annahmen ist der Beratungsnehmer verantwortlich. Für die Richtigkeit der Berechnung, die im Anhang unter C) festgehalten wird, ist das Institut für Medizinische Statistik verantwortlich.

Die Fallzahlschätzung bezieht sich ausschließlich auf das unter Punkt 2 spezifizierte Projekt. Die Verwendung der Ergebnisse der Fallzahlschätzung im Rahmen eines anderen, als des oben genannten Projektes bedarf der Zustimmung des Instituts für Medizinische Statistik.

Es ist empfehlenswert, dass das Institut für Medizinische Statistik auch im weiteren Verlauf des Projektes beteiligt ist. Beschränkt sich die Mitwirkung des Instituts in dem Projekt lediglich auf die Fallzahlschätzung, so fallen Gebühren an, die gesondert vereinbart werden.

Weitere Einzelheiten können der SOP zur Statistischen Beratung (SOP BE01) des Institutes für Medizinische Statistik (www.medstat.rwth-aachen.de) entnommen werden.

Ich stimme den unter Punkt 3 aufgeführten Anmerkungen zu.

Antragsteller:

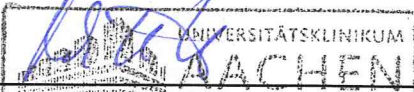
Datum

Unterschrift

Berater:

23.2.15

Datum



Unterschrift

Institut für Medizinische Statistik
Direktor:
Univ.-Prof. Dr. rer. nat. R.-D. Hilgers
Pauwelsstraße 30, D-52074 Aachen

ANHANG

A. Studienspezifische Voraussetzungen

Hauptfragestellung (Spezifikation der Fragestellung):	<i>Ermittlung der Aufnahme von Dioxinen und PCB aus Böden mit unterschiedlichen Dioxingehalten im Hühnerfleisch und in Eiern</i>
Ziel dieser Studie	<i>Ermittlung des Dioxin-Gehalts im Hühnerfleisch im zeitlichen Verlauf sowie zwischen drei verschiedenen Böden, die sich anhand des Dioxin Gehaltes unterscheiden (Hoher Dioxin-Gehalt im Boden: 20 ng Dioxine/kg Boden, mittlerer Dioxin-Gehalt im Boden: 13 ng Dioxine/kg Boden, geringer Dioxin-Gehalt im Boden: 5 ng Dioxine/kg Boden)</i> <i>Darüber hinaus soll der Dioxin-Gehalt in Eiern im zeitlichen Verlauf sowie zwischen den drei verschiedenen Böden betrachtet werden. Dazu werden Sammelproben aus 3 Eiern gebildet und deren Gehalt ermittelt.</i> <i>Als Nebenfragestellung soll der jeweilige Zeitpunkt pro Dioxin-Gehalt im Boden ermittelt werden, bei dem der Dioxin-Gehalt erstmalig den zulässigen Höchstwert von 2.5 pg Dioxine/g Fett in Eiern bzw. 1.75 pg Dioxine/g Fett in Hühnern überschreitet.</i>
Zielparameter (Spezifikation des Parameters zur Beantwortung der Hauptfragestellung)	<i>Dioxin-Gehalt im Fleisch der Hühner</i> <i>Dioxin-Gehalt in der Sammelprobe der Eier</i>
Zielparameter Messskala (Spezifikation der möglichen Ausprägungen des Zielparameters und Charakterisierung der Messskala als nominal, ordinal oder metrisch) : [U/L] ☐ Nominal ☐ Ordinal ☒ Metrisch	
Behandlungsfaktoren (Spezifikation der Behandlungen):	<i>3 Bodengehalte</i> <i>4 Zeitpunkte</i>
Vergleichsgruppen (Spezifikation und Anzahl der zu	<i>3 Bodengehalte</i> <i>Hoher Dioxin-Gehalt: 20 ng Dioxine/kg Boden</i>

vergleichenden Gruppen):	• mittlerer Dioxin-Gehalt: 13 ng Dioxine/kg Boden • geringer Dioxin-Gehalt: 5 ng Dioxine/kg Boden
Vergleichszeitpunkte (Zeitpunkt(e) der geplanten Vergleiche):	Für die Analyse des Dioxin-Gehalts im Fleisch der Hühner werden die folgenden vier Zeitpunkte betrachtet (jeweils Lebensalter der Hühner): • 18 Wochen • 24 Wochen • 30 Wochen • 42 Wochen Für die Analyse des Dioxin-Gehalts in den Eiern, werden Sammelproben aus jeweils 3 Eiern gebildet. Diese Sammelproben werden zu den folgenden fünf Zeitpunkten analysiert (jeweils Lebensalter der Hühner): • 18 Wochen • 24 Wochen • 30 Wochen • 36 Wochen • 42 Wochen

Statistische Hypothese (Formulierung der statistischen Hypothese im Einklang mit der Hauptfragestellung, Charakterisierung als Überlegenheits-, Äquivalenz- oder Nicht-Unterlegenheitsnachweis):

Hierarchisch geordnete Hypothesen

Die Primäre Hypothese betrifft den Nachweis von Unterschieden des erwarteten Dioxin-Gehaltes im Hühnerfleisch zwischen den drei verschiedenen Böden zum Zeitpunkt 42 Wochen. Dazu werden diesem Zeitpunkt alle drei Gruppen paarweise miteinander verglichen (korrigiertes Signifikanzniveau der Einzelvergleich 0.05 / 3). Falls sich für einen dieser Test ein signifikanter Unterschied ergibt, werden die erwarteten Dioxin-Gehalte zum Zeitpunkt 30 Wochen paarweise miteinander auf dem 0.05 / 3 Niveau verglichen. Falls sich wiederum für einen dieser Test ein signifikanter Unterschied ergibt, werden die erwarteten Dioxin-Gehalte zum Zeitpunkt 24 Wochen paarweise miteinander auf dem 0.05 / 3 Niveau verglichen. Falls sich wiederum für einen dieser Test ein signifikanter Unterschied ergibt, werden die erwarteten Dioxin-Gehalte zum Zeitpunkt 18 Wochen paarweise miteinander auf dem 0.05 / 3 Niveau auf Äquivalenz getestet.

Testung in den Hühnern: ($\mu_{x,y}$ steht für erwarteten Dioxin-Gehalt in Gruppe x zu Zeitpunkt y)

$H_{01}: \mu_{20 \text{ ng Dioxine},42} = \mu_{13 \text{ ng Dioxine},42}$ vs. $H_{11}: \mu_{20 \text{ ng Dioxine},42} \neq \mu_{13 \text{ ng Dioxine},42}$

$H_{02}: \mu_{20 \text{ ng Dioxine},42} = \mu_{5 \text{ ng Dioxine},42}$ vs. $H_{11}: \mu_{20 \text{ ng Dioxine},42} \neq \mu_{5 \text{ ng Dioxine},42}$

$H_{03}: \mu_{5 \text{ ng Dioxine},42} = \mu_{13 \text{ ng Dioxine},42}$ vs. $H_{11}: \mu_{5 \text{ ng Dioxine},42} \neq \mu_{13 \text{ ng Dioxine},42}$

Alle drei Tests auf 0.05/3 Signifikanzniveau

Falls einer der p-Werte unterhalb von 0.05/3 fällt kann eine, bzw. alle drei der folgenden Hypothesen

$$H_{01}: \mu_{20 \text{ ng Dioxine},30} = \mu_{13 \text{ ng Dioxine},30} \text{ vs. } H_{11}: \mu_{20 \text{ ng Dioxine},30} \neq \mu_{13 \text{ ng Dioxine},30}$$

$$H_{02}: \mu_{20 \text{ ng Dioxine},30} = \mu_{5 \text{ ng Dioxine},30} \text{ vs. } H_{11}: \mu_{20 \text{ ng Dioxine},30} \neq \mu_{5 \text{ ng Dioxine},30}$$

$$H_{03}: \mu_{5 \text{ ng Dioxine},30} = \mu_{13 \text{ ng Dioxine},30} \text{ vs. } H_{11}: \mu_{5 \text{ ng Dioxine},30} \neq \mu_{13 \text{ ng Dioxine},30}$$

Falls einer der p-Werte unterhalb von 0.05/3 fällt kann eine, bzw. alle drei der folgenden Hypothesen

$$H_{01}: \mu_{20 \text{ ng Dioxine},24} = \mu_{13 \text{ ng Dioxine},24} \text{ vs. } H_{11}: \mu_{20 \text{ ng Dioxine},24} \neq \mu_{13 \text{ ng Dioxine},24}$$

$$H_{02}: \mu_{20 \text{ ng Dioxine},24} = \mu_{5 \text{ ng Dioxine},24} \text{ vs. } H_{11}: \mu_{20 \text{ ng Dioxine},24} \neq \mu_{5 \text{ ng Dioxine},24}$$

$$H_{03}: \mu_{5 \text{ ng Dioxine},24} = \mu_{13 \text{ ng Dioxine},24} \text{ vs. } H_{11}: \mu_{5 \text{ ng Dioxine},24} \neq \mu_{13 \text{ ng Dioxine},24}$$

Falls einer der p-Werte unterhalb von 0.05/3 fällt kann eine, bzw. alle drei der folgenden Hypothesen

$$H_{01}: |\mu_{20 \text{ ng Dioxine},18} - \mu_{13 \text{ ng Dioxine},18}| > 0.75 \text{ vs } H_{11}: |\mu_{20 \text{ ng Dioxine},18} - \mu_{13 \text{ ng Dioxine},18}| \leq 0.75$$

$$H_{02}: |\mu_{20 \text{ ng Dioxine},18} - \mu_{5 \text{ ng Dioxine},18}| > 0.75 \text{ vs } H_{11}: |\mu_{20 \text{ ng Dioxine},18} - \mu_{5 \text{ ng Dioxine},18}| \leq 0.75$$

$$H_{03}: |\mu_{5 \text{ ng Dioxine},18} - \mu_{13 \text{ ng Dioxine},18}| > 0.75 \text{ vs } H_{11}: |\mu_{5 \text{ ng Dioxine},18} - \mu_{13 \text{ ng Dioxine},18}| \leq 0.75$$

geprüft werden. Die Testung in den Eiern erfolgt analoger Weise mit den gleichen Hypothesen für die hierarchisch geordneten Zeitpunkte 42, 36, 30, 24 und 18 Wochen.

Die Testung in den Eiern bzw. im Hühnerfleisch erfolgt unabhängig voneinander.



Nachweis eines Unterschiedes (Überlegenheit)



Nachweis der Äquivalenz



Nachweis der Nicht-Unterlegenheit

Design (Charakterisierung als Complete Randomized Design, Block Design, Factorial Design, Crossover Design,

Repeated Measures Design, ...):



Complete Randomized Design



Randomized Block Design



Factorial Design



Cross-Over Design



Repeated Measures Design



Sonstiges: _____

Untersuchungseinheit (Einheit, der (zufällig) eine von mehreren Behandlungen zugewiesen wird):	<i>Legehennen zur Eiproduktion in Freilandhaltung</i>
Blockfaktoren (Spezifikation (z.B. Käfig, Mausstamm) einschließlich der möglichen Ausprägungen):	<i>Entfällt</i>
Matchingfaktoren (Spezifikation (z.B. Alter, Geschlecht) einschließlich der möglichen Ausprägungen):	<i>Entfällt</i>
Kovariablen (Spezifikation (z.B. Ausgangsgewicht) einschließlich der möglichen Ausprägungen):	<i>Entfällt</i>
Balancierung (Zuteilungsverhältnis: 1:1 oder 1:2 Randomisierung bzw. Zuteilung):	<i>1:1:1 Randomisierung für jeden Zeitpunkt</i>
Interim Analysen (Gruppensequentielle Designs, Adaptive Designs, Anzahl der Zwischenauswertungen und Zeitpunkte):	<i>Entfällt</i>
Statistisches Modell (z.B. T-Test, Chi-Quadrat Test, log Rank Test, ANOVA Modell, multiple Testprozeduren, Annahmen bzgl. des Tests zur Prüfung der Hypothese, etc.): <i>Die Fallzahlplanung basiert auf paarweisen t-Tests (Satterthwaite, ungleiche Varianzen, Prozedure MTTOuv-1) mit korrigiertem Signifikanzniveau, wie unter „Statistische Hypothese“ erläutert. Damit ist die Fallzahlschätzung konservativ. Die Daten für die erwarteten Effekte und daraus sich ergebende Fallzahlen sind im Anhang (Tabelle 1, 2) zu finden. Für den Äquivalenznachweis (Zeitpunkt 18 Wochen) wurde eine Indifferenzschranke von 0.75 angenommen. Die Testung erfolgt anhand der Berechnung der 95 % Konfidenzintervalle (Prozedure MTE0).</i> <i>Für die statistische Auswertung wird den Daten des Dioxin-Gehalts in Eiern ein 2-level-mixed effects Model angepasst. Die Hühner (Eier) bilden die Level 1 Units, die Böden die Level 2 Units. Der Faktor Zeitpunkt (24, 30, 42 Wochen) bildet einen „Level 1 – Prediktor“. Die obigen Hypothesen werden mittels linearer Kontraste geprüft. Für den Äquivalenznachweis (Zeitpunkt 18 Wochen) wurde eine Indifferenzschranke von 0.75 angenommen. Die Testung erfolgt anhand der Berechnung der 95 % Konfidenzintervalle (Prozedure MTE0).</i>	

B. Annahmen der Fallzahlplanung

Signifikanzniveau (Festlegung des Signifikanzniveaus, üblicherweise 5%):	Aufgrund der hierarchischen Ordnung werden alle Vergleiche auf dem Signifikanzniveau von 5%/3 durchgeführt. Damit wird die Gesamtirrtumswahrscheinlichkeit mit 5% kontrolliert.
☐ einseitig	
☒ zweiseitig	
Power (Festlegung der Power, üblicherweise 80%):	80%
Effektmaß (Annahmen über die Größenordnung des Effektmaßes unter Angabe der Quelle, z.B. Ergebnisse aus Vorversuchen, Literatur, etc.):	Ergeben sich aus den Angaben in Tabelle 1 und 2 im Anhang
Dropout Raten (geschätzte Dropout Rate und Annahmen über den Dropout-Mechanismus):	10%

C. Ergebnis der Fallzahlschätzung

Software (verwendete Software zur Berechnung der benötigten Anzahl von Versuchstieren, z.B. ADDPLAN, nQuery, SAS, ...):	nQuery Advisor 7.0
Stichprobenumfang je Gruppe (Anzahl vorgesehener Tiere für jede Gruppe innerhalb des Versuchs): Zum Nachweis eines Unterschiedes im erwarteten Dioxingehalt des Hühnerfleisches sind Fallzahl zwischen 5 und 7 erforderlich, vgl. Tabelle 1. Da lediglich ein Vergleich eine Fallzahl von 7 erfordert (Zeitpunkt 24, Vergleich B vs C), erscheint eine Gruppengröße von $N = 6 \text{ Hühner} \times 3 \text{ Bodengehalte} = 18 \text{ Hühner}$ geeignet zu sein, die überwiegende Zahl der Hypothesen zu prüfen. Damit ergibt sich also insgesamt eine Fallzahl von $N = 3 \text{ (Zeitpunkte)} \times 3 \text{ (Bodengehalte)} \times 6 \text{ (Hühner)} = 54 \text{ Hühnern}$. Da insgesamt mit einer Dropout Rate von 10% zu rechnen ist, müssen insgesamt $3 \times 3 \times 7 = 63 \text{ Tiere}$ in die Untersuchung eingebracht werden. Für den Äquivalenznachweis zum Zeitpunkt 18 Wochen ergibt sich eine Fallzahl von $n = 3 \text{ pro Gruppe}$ also insgesamt 9 Tiere. Die Fallzahlabeschätzung für die Ermittlung des Dioxingehaltes in Eier-Sammelstichproben ergab die gleichen Anzahlen von Sammelstichproben pro Bodengehalt zu jedem der vier	

Zeitpunkte, d.h. $4 \times 3 \times 6 = 72$ Sammelproben, vgl. Tabelle 2. Zusätzlich werden 9 (3 pro Gruppe) Sammelproben für den Äquivalenznachweis zum Zeitpunkt 18 Wochen benötigt, so dass insgesamt 81 Sammelproben analysiert werden müssen.

Für die Analyse des Dioxingehaltes in Eier-Sammelstichproben ist entsprechend ein 2 level mixed effects Model zu verwenden.

Gesamtstichprobenumfang (Gesamtzahl aller Tiere, die in dem beantragten Versuch benötigt werden unter Berücksichtigung aller Gruppen und Zeitpunkte):

$N = 3 \times 3 \times 7 + 3 \times 3 = 72$ Tiere (incl. Dropout)

Ergebnisbewertung:

Unter den getroffenen Annahmen (Piskorska et al. (2013); Daten und Ergebnisse aus eigenen Untersuchungen (u.a. Sternwede, Duisburg, Velen), die lediglich als Berichte an das MKULNV vorliegen), die mit statistischen Methoden nicht verifiziert werden können und unter der Maßgabe, dass die oben beschriebenen Verfahren (A. Statistisches Modell) zur Analyse der Daten verwendet werden, erscheint eine Anzahl von 72 Tieren für den geplanten Versuch ausreichend, um den angenommenen Effekt mit der gewünschten Power nachzuweisen zu können. Aus biometrischer Sicht ist die beantragte Zahl von Tieren im Sinne der gesetzlichen Vorgaben als plausibel und adäquat hinsichtlich der Umsetzung des 3R-Prinzips zu bewerten. Im vorgelegten Antrag wurden auch Analyse an Eiern mit einbezogen. Diese betreffen nicht das 3R Prinzip. Ich habe dennoch die entsprechende Fallzahlberechnung hier inkludiert.

Tabelle 1: Fallzahlplanung in Hühnerfleisch auf der Basis aller Paarvergleiche zwischen den drei „Bodenhaltungsgruppen“ mittels zweiseitigem unabhängiger t-tests. Signifikanzniveau der Paarvergleiche 0.05/3 (Power 80%). Hypothesen zwischen den Zeitpunkten hierarchisch geordnet über die Zeitpunkte beginnend mit Zeitpunkt 42 Wochen. Berechnungen mit nQuery 7.0.

Alter der Hühner [Wochen]	Hohe Dioxin-Gehalte im Boden: 20 ng Dioxine/kg Boden (A)	Mittlere Dioxin-Gehalte im Boden: 13 ng Dioxine/kg Boden (B)	Geringe Dioxin-Gehalte im Boden: 5 ng Dioxine/kg Boden (C)	Anzahl Hühner	Anzahl Hühner	Anzahl Hühner			
Alter der Hühner [Wochen]	Dioxin-Gehalt in Fleisch [pg/g Fett] (Mittelwert)	SD	Dioxin-Gehalt in Fleisch [pg/g Fett] (Mittelwert)	SD	Dioxin-Gehalt in Fleisch [pg/g Fett] (Mittelwert)	SD	Vergleich A vs B	Vergleich A vs C	Vergleich B vs C
18	0	0,275	0	0,275	0	0,275	3	3	3
24	7,5	1,875	3,5	0,875	2,0	0,50	6	5	7
30	15	3,75	7,0	1,75	3,5	0,875	6	5	6
42	25	6,25	12,0	3,00	6,0	1,50	6	5	6

Tabelle 2: Fallzahlplanung in Eiern auf der Basis aller Paarvergleiche zwischen den drei „Bodenhaltungsgruppen“ mittels zweiseitigem unabhängiger t-tests. Signifikanzniveau der Paarvergleiche 0.05/3 (Power 80%). Hypothesen zwischen den Zeitpunkten hierarchisch geordnet über die Zeitpunkte beginnend mit Zeitpunkt 42 Wochen. Berechnungen mit nQuery 7.0.

Alter der Hühner [Wochen]	Hohe Dioxin-Gehalte im Boden: 20 ng Dioxine/kg Boden (A)	Mittlere Dioxin-Gehalte im Boden: 13 ng Dioxine/kg Boden (B)	Geringe Dioxin-Gehalte im Boden: 5 ng Dioxine/kg Boden (C)	Anzahl Eierproben	Anzahl Eierproben	Anzahl Eierproben			
Alter der Hühner [Wochen]	Dioxin-Gehalt in Eiern [pg/g Fett] (Mittelwert)	SD	Dioxin-Gehalt in Eiern [pg/g Fett] (Mittelwert)				SD		
18	0	0,275	0	0,275	3	3			
24	1,5	0,375	0,75	0,19	0,3	0,075	6	4	5
30	2,5	0,625	1,25	0,31	0,7	0,175	6	5	7
36	3,8	0,95	1,9	0,48	1,0	0,25	6	5	7
42	5,0	1,25	2,5	0,625	1,2	0,3	6	5	6

Landesamt für Natur, Umwelt und
Verbraucherschutz Nordrhein-Westfalen

Leibnizstraße 10
45659 Recklinghausen
Telefon 02361 305-0
poststelle@lanuv.nrw.de

www.lanuv.nrw.de