

Programm Lebensgrundlage Umwelt und ihre Sicherung (BWPLUS)

Forschungsbericht FZKA-BWPLUS

Toxikokinetik von bodengebundenen Metallen/Metalloiden im Minischwein

Abschlußbericht

von

M. Wilhelm¹⁾, P. Welge¹⁾, U. Rostek, M. Mielcarek,
K. Gemmer, M. Sager⁴⁾, D. Hafner³⁾, H. Idel²⁾

¹⁾ Abteilung für Hygiene, Sozial- und Umweltmedizin, Ruhr-Universität-Bochum

²⁾ Institut für Hygiene, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

³⁾ Institut für Pharmakologie, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

⁴⁾ Tierversuchsanlage, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Förderkennzeichen PUG U 95006

Die Arbeiten des Projektes Umwelt und Gesundheit wurden mit Mitteln des Landes
Baden-Württemberg gefördert

August 1999

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	3
1.1.	Fragestellung und Ziel	3
1.2.	Methodischer Ansatz	3
1.3.	Stand der Kenntnisse	3
1.4.	Vorkommen von mit Arsen, Blei, Cadmium oder Quecksilber kontaminierten Böden und Prüfwerte	5
1.4.1.	Arsen	6
1.4.2.	Blei	6
1.4.3.	Cadmium	7
1.4.4.	Quecksilber	7
1.5.	Hand-zu-Mund-Aktivität bei Kindern	8
2.	Materialien und Methoden	8
2.1.	Tierversuch	8
2.1.1.	Im Tierversuch verwendete Bodenmaterialien	8
2.1.2.	Versuchstiere	10
2.1.3.	Haltung der Versuchstiere	10
2.1.4.	Fütterung	11
2.1.5.	Implantation des Verweilkatheters	13
2.1.6.	Intravenöse Schadstoffverabreichung zur Bestimmung der Bioverfügbarkeit	14
2.1.7.	Verabreichung von Bodenmaterialien und Futter	15
2.1.8.	Probenahme	15
	Entnahme von Blutproben (kombiniert mit Katheterpflege)	15
	Entnahme von Urinproben	15
	Entnahme von Faecesproben	15
	Entnahme von Organproben	16
2.2.	Analytische Methoden zur Bestimmung der Elementgehalte	16
2.2.1.	Aufschluß fester Proben	16
2.2.2.	Bestimmung von Arsen im Urin	16
2.2.2.1.	Meßprinzip	16
2.2.2.2.	Probenaufbereitung	16
2.2.2.3.	Kalibrierung	17
2.2.2.4.	Statistische Kenngrößen	17
2.2.3.	Bestimmung von Cadmium und Blei	17
2.2.3.1.	Meßprinzip	17
2.2.3.2.	Probenaufbereitung	17
	Urin	17
	Vollblut	17
2.2.3.3.	Organ-, Futter- und Faecesaufschlüsse	17
2.2.3.4.	Geräteparameter	18
2.2.4.	Bestimmung von Quecksilber	18
2.2.4.1.	Prinzip	18
2.2.4.2.	Geräteparameter	18
2.2.4.3.	Probenaufbereitung	18
	Urin	18
	Blut	19
	Organ-, Futter- und Faecesaufschlüsse	19
2.2.5.	Kalibrierung	19
2.2.6.	Statistische Kenngrößen der Meßverfahren	19
	Nachweisgrenzen und Variationskoeffizienten	19
	Richtigkeit	19
2.2.7.	Externe Qualitätssicherung der analytischen Methoden	20
2.3.	Statistische und mathematische Methoden	20
2.3.1.	Berechnung der Bioverfügbarkeit	20
2.3.2.	Ermittlung der Anpassungsfunktion für die Blutspiegel nach subakuter Bodenexposition	21

3.	Ergebnisse.....	21
3.1.	Arsen	21
3.1.1.	Renale Ausscheidung nach subakuter Gabe	21
3.1.1.1.	Bodenmaterial 1	21
3.1.1.2.	Bodenmaterial 1 mit Experimentalfutter	22
3.1.1.3.	Bodenmaterial 3	22
3.1.2.	Organgehalte.....	23
3.1.2.1.	Leber.....	23
3.1.2.2.	Niere	24
3.2.	Blei.....	25
3.2.1.	Blutbleispiegel nach subakuter Gabe.....	25
3.2.1.1.	Bodenmaterial 1	25
3.2.1.2.	Bodenmaterial 1 mit Experimentalfutter	26
	Bleikonzentration im Blut	26
3.2.1.3.	Bodenmaterial 3	27
	Bleikonzentration	27
3.2.2.	Bioverfügbarkeit im Blut.....	28
3.2.2.1.	Bodenmaterial 1	28
3.2.2.2.	Bodenmaterial 1 mit Experimentalfutter	28
3.2.2.3.	Bodenmaterial 3	28
3.2.3.	Renale Ausscheidung nach subakuter Gabe	29
3.2.3.1.	Bodenmaterial 1	29
3.2.3.2.	Bodenmaterial 1 mit Experimentalfutter	30
3.2.3.3.	Bodenmaterial 3	31
3.2.4.	Organgehalte.....	32
3.2.4.1.	Leber.....	32
3.2.4.2.	Niere	32
3.3.	Cadmium	33
3.3.1.	Organgehalte.....	33
3.3.1.1.	Leber.....	33
3.3.1.2.	Niere	34
3.4.	Quecksilber (Bodenmaterial 2).....	35
3.4.1.	Blutquecksilberspiegel nach subakuter Gabe	35
3.4.2.	Bioverfügbarkeit im Blut.....	35
3.4.3.	Renale Ausscheidung nach subakuter Gabe	35
3.4.4.	Organgehalte.....	36
3.4.4.1.	Leber.....	36
3.4.4.2.	Niere	37
4.	Diskussion	37
4.1.	Arsen	37
4.1.1.	Fütterungsversuch mit Boden 1 mit Standardfutter.....	37
4.1.2.	Fütterungsversuch mit Boden 1 mit Experimentalfutter	37
4.1.3.	Fütterungsversuch mit Boden 3.....	38
4.1.4.	Vergleich der kumulativen renalen Exkretion von Arsen nach oraler Verabreichung von zwei verschiedenen Bodenmaterialien bei gleichen Fütterungsbedingungen.	38
4.1.5.	Vergleich der kumulativen renalen Exkretion von Arsen nach oraler Verabreichung eines Bodenmaterials bei unterschiedlichen Fütterungsbedingungen.....	38
4.2.	Blei.....	39
4.2.1.	Fütterungsversuch mit Boden 1 mit Standardfutter.....	39
4.2.2.	Fütterungsversuch mit Boden 1 mit Experimentalfutter	39
4.2.3.	Fütterungsversuch mit Boden 3.....	39
4.2.4.	Vergleich der Ergebnisse der subakuten oralen Verabreichung von zwei verschiedenen bleihaltigen Bodenmaterialien bei gleichen Fütterungsbedingungen.....	40
4.2.5.	Vergleich der kumulativen renalen Exkretion von Blei nach oraler Verabreichung eines Bodenmaterials bei unterschiedlichen Fütterungsbedingungen.....	40
4.3.	Cadmium	41
4.4.	Quecksilber.....	41
5.	Zusammenfassung.....	41
6.	Literaturverzeichnis	43

1. Einleitung

1.1. Fragestellung und Ziel

Mit Schadstoffen belastetes Bodenmaterial birgt ein schwer einschätzbares Gesundheitsrisiko für den Menschen. Dies gilt besonders für Kinder, die beim Spiel durch direkten Hand-zu-Mund-Kontakt Bodenpartikel oral aufnehmen können [CALABRESE 1989]. Dabei ist bisher unklar, in welchem Ausmaß bodengebundene Schadstoffe gastrointestinal absorbiert werden.

Angesichts der Häufigkeit und des Umfanges von mit anorganischen oder organischen Schadstoffen belasteten Böden ist eine Abschätzung der Gefahren nötig, die von diesen Böden bei oraler Aufnahme durch Kinder ausgehen. Dies ist besonders deshalb wichtig, weil aus praktischen und finanziellen Gründen nicht alle kontaminierten Flächen sofort saniert werden können oder der Kontakt mit ihnen verhindert werden kann. Für diese Gefahrenabschätzung ist eine Ermittlung desjenigen Anteils der Kontaminanten erforderlich, der tatsächlich über den Magen-Darm-Trakt in den Körper aufgenommen wird, weil nur dieser potentielle toxische Wirkungen an den Zielorganen verursachen kann.

Ziel unseres Vorhabens war die Untersuchung der Toxikokinetik, insbesondere der Bioverfügbarkeit, von Arsen, Blei, Cadmium und Quecksilber nach oraler Aufnahme aus verschiedenen Bodenmaterialien im Tiermodell.

1.2. Methodischer Ansatz

Als Tiermodell wurde das Münchener Minischwein ausgewählt. Die Bioverfügbarkeit von Blei und Quecksilber im pharmakologischen Sinne (Bioverfügbarkeit i.e.S.) wurde durch die Ermittlung der AUC der Blutspiegel-Zeit-Kurve nach oraler Einmal-Exposition gegenüber kontaminiertem Bodenmaterial versus der AUC der Blutkonzentrations-Zeit-Kurve nach intravenöser Gabe von Bleiacetat bzw. Quecksilbernitrat bestimmt.

Weiterhin wurden die aus einer subakuten oralen Bodenexposition über zehn Tage resultierenden Blut- und Uringehalte ermittelt, um daraus Erkenntnisse über das Ausmaß der Absorption zu gewinnen.

Die Bioverfügbarkeit von Arsen wurde durch die kumulative renale Exkretion nach subakuter oraler Gabe eines kontaminierten Bodens abgeschätzt.

Ziel war weiter die Untersuchung der Aufnahme von Cadmium aus Bodenmaterial. Die orale Gabe entsprechender Böden hatte aber keine erhöhten Gehalte von Cadmium im Blut oder Urin der exponierten Schweine zur Folge.

Am Ende des Experiments wurden Organproben von Leber und Niere der exponierten Schweine entnommen und auf die Gehalte an Arsen, Blei, Cadmium und Quecksilber untersucht. Diese wurden mit den Konzentrationen dieser Stoffe in Leber und Niere von Tieren aus einem anderen Forschungsvorhaben, die nicht gegenüber Bodenmaterial exponiert waren, verglichen. Die Ergebnisse der Organuntersuchungen können nur grob orientierenden Charakter haben, da für die Bestimmung der Bioverfügbarkeit die intravenöse Gabe der untersuchten Stoffe nötig war und somit die Organgehalte nicht nur auf die orale Bodenexposition zurückgeführt werden können.

1.3. Stand der Kenntnisse

Um die Bioverfügbarkeit von Bodenkontaminanten zu ermitteln, werden grundsätzlich zwei Wege beschritten. Zum einen wurden In-vitro-Verdauungsmodelle entwickelt, mit denen das Ausmaß der Mobilisierung von bodengebundenen Schadstoffen aus den Böden unter Bedingungen des Gastrointestinaltraktes ermittelt werden soll (HACK 1996, 1997, 1998, 1998a, ROTARD et al. 1995, 1996). Zum anderen wurde die Bioverfügbarkeit der genannten Stoffe durch Verfüttern von Böden an Versuchstiere im Labor oder durch Exposition gegenüber kontaminierten Böden in Freilandexperimenten ermittelt.

Für eine Reihe von Tierarten wurde die Bioverfügbarkeit von Bodenschadstoffen, insbesondere von Chlorphenolen, PCDD/F und Metallen/Metalloiden ermittelt, so z. B. für Regenwürmer (MA 1987, VAN GESTEL; MA 1988), Wachteln (CONNER et al. 1994), Hühner (PETREAS et al. 1990), Mäuse (PASCOE et al. 1994), Ratten (FREEMAN et al. 1992, 1994, FRIES et al. 1989, SHU et al. 1988, MCCONELL et al. 1984, TURKALL et al. 1988, KADRY et al. 1991), Meerschweinchen (UMBREIT et al. 1988, 1986), Kaninchen (BONACCORSI et al. 1984, FREEMAN et al. 1993), Maulwürfe (MA 1987), Hunde (GROEN et al. 1994), Kühe (JONES et al. 1989) und Schweine (CASTEEL et al. 1996, 1996a, 1996b, 1996c, 1997, 1997a, 1997b, LORENZANA 1996, LAVELLE et al. 1991).

In den erwähnten Studien werden unterschiedliche Verfahren für die Ermittlung der Bioverfügbarkeit i.w.S. eingesetzt. In einigen Untersuchungen wurde statt der absoluten Bioverfügbarkeit (s.o.) die relative Bioverfügbarkeit bestimmt. Sie berechnet sich durch Vergleich mit einer Substanz mit hoher Absorptionsrate.

Meist kamen anthropogen oder geogen hochbelastete Böden zum Einsatz.

Im Folgenden sollen einige derjenigen Studien kurz vorgestellt werden, die im Hinblick auf das vorliegende Projekt besonders relevant sind, weil sie die von uns zu untersuchenden Stoffe Arsen, Blei, Cadmium oder Quecksilber berücksichtigen und durch die Wahl höherer Säugetiere eine größere Vergleichbarkeit mit dem Menschen nahelegen.

FREEMAN et al. (1992) bestimmten die relative Bioverfügbarkeit von Pb aus Bergwerksabfällen im Vergleich zu der von Bleiacetat in einem unbelasteten Testboden in Ratten. Dazu wurden an je vier Gruppen von Ratten vier unterschiedliche Mengen zweier Testböden, an weitere 4 Gruppen unterschiedliche Mengen Bleiacetat mit dem Futter über einen Zeitraum von 30 Tagen verabreicht. Anschließend wurden die Bleigehalte in Blut, Leber und Femur bestimmt. Es errechnete sich eine mittlere relative Bioverfügbarkeit von 20%, bezogen auf Blut, von 9%, bezogen auf Knochen, und von 8%, bezogen auf die Leber. Die relative Bioverfügbarkeit war unabhängig vom verwendeten Boden, von der Dosis und vom Geschlecht der Versuchstiere.

In weiteren Untersuchungen (FREEMAN et al. 1994) wurde die absolute Bioverfügbarkeit von Bleiacetat und von Blei aus Bergwerksabfällen bestimmt, indem die Blut-, Knochen- und Lebergehalte nach 30tägiger oraler Applikation und 29tägiger intravenöser Applikation verglichen wurden. Die absolute Bioverfügbarkeit von Blei aus Bergwerksabfällen belief sich, bezogen auf Blut auf 3%, bezogen auf Knochen und Leber auf weniger als 1%.

Die Absorption von Arsen aus einem Boden wurde an einer Studie an Kaninchen (FREEMAN et al. 1993) untersucht. Ratten eignen sich in Bezug auf Arsen nicht als Modell für den Menschen, da sie Arsen aufgrund von Bindung an Erythrozyten wesentlich langsamer eliminieren. Der untersuchte Boden wies einen Gehalt von 3900 ppm As auf. An je eine Gruppe von Kaninchen wurden 0,2; 0,5 bzw. 1,0 g Boden/kg verfüttert, zusätzlich an eine Kontrollgruppe Natriumarsenat per Schlundsonde, einer weiteren wurde Naarsenat intravenös gegeben. Zur Bestimmung der Absorption wurden Faeces, Urin und Stallspülflüssigkeit untersucht. Die relative Bioverfügbarkeit errechnet sich aus dem Vergleich mit den Exkretionsdaten bei der i.v.-Applikation. Sie beträgt $50 \pm 5,7\%$ für Naarsenat (Schlundsonde) und $24 \pm 2,7\%$ für die verabreichten Böden.

Anatomie und Physiologie des Verdauungstraktes von Ratten und Kaninchen unterscheiden sich deutlicher von dem des Menschen, als dies bei Hunden, Schweinen oder Primaten der Fall ist.

GROEN et al.(1994) untersuchten die Bioverfügbarkeit anorganischen Arsens aus schlammhaltigem Boden an Hunden. Arsenat war die vorherrschende Species in diesem Boden. Den Tieren wurden 20 g Boden mit einem Gehalt von $339 \pm 19 \mu\text{g/g}$ Feuchtgewicht As in einer Einmaldosis mit dem Futter verabreicht und die Ausscheidung von As mit dem Urin über einen Zeitraum von insgesamt 120 Stunden gemessen. Diese wurde mit der Ausscheidung nach i.v.-Gabe einer wäßrigen Lösung mit $2,0 \text{ mg/ml}$ As verglichen.

Nach intravenöser Gabe wurden innerhalb von 120 h $88 \pm 13 \%$ des verabreichten As renal ausgeschieden, bei oraler Gabe des arsenhaltigen Boden betrug die Ausscheidung $7,0 \pm 1,5 \%$. Daraus errechnete sich eine orale Bioverfügbarkeit von anorganischem As aus dem o.g. Boden von $8,3 \pm 2,0 \%$.

In einer Studie mit Schweinen (LAVELLE et al. 1991) wurde die Bioverfügbarkeit von Blei aus Bergbauabraum bestimmt. Zweimal im Abstand von 120 h wurden an drei Gruppen Böden mit unterschiedlich hohen Bleigehalten, an eine Gruppe Kontrollboden mit Bleisulfid und an eine weitere Gruppe Kontrollboden mit Bleinitrat per Schlundsonde verabreicht. Vor der Applikation und zu den definierten Zeitpunkten nach der Applikation wurden Blutproben entnommen und der Bleigehalt bestimmt. Die relative Bioverfügbarkeit wurde durch Berechnung der AUC ermittelt. Es wurde eine annähernd lineare Beziehung zwischen dem Bleigehalt in den verabreichten Böden und der absorbierten Bleimenge (gemessen als AUC) festgestellt. Das Blei in den Böden scheint eine zwei- bis dreifach höhere Verfügbarkeit aufzuweisen, als Bleisulfid.

In einer Studie von CASTEEL et al. (1997) wurden zwei bleihaltige Böden an Schweine verfüttert und relative Bioverfügbarkeiten von 56 % bzw. 58 % bestimmt. Weiter liegt ein USEPA-Bericht über die Bioverfügbarkeit von Arsen und Blei beim Schwein aus Böden aus Tacoma, Washington und Triumph, Idaho vor (LORENZANA et al. 1996). Weitere Studien von CASTEEL et al. (1996, 1996a, 1996b, 1996c, 1997a, 1997b) liegen lediglich in Berichtsform vor. In diesen werden Bodenmaterialien verschiedener Standorte an Schweine verfüttert und die Bioverfügbarkeit von Blei und Arsen bestimmt. Die Abschätzung für die absolute Bioverfügbarkeit von Blei aus den verschiedenen Bodenmaterialien ergibt Werte zwischen 13 % (untere Grenze des plausiblen Bereichs des Bodens mit der niedrigsten Bioverfügbarkeit) und 43 % (obere Grenze des plausiblen Bereichs des Bodens mit der höchsten Bioverfügbarkeit), basierend auf der relativen Bioverfügbarkeit im Vergleich zu oral verabreichtem Bleiacetat und einer angenommenen Bioverfügbarkeit von 50 % für Bleiacetat bei Kindern (CASTEEL 1996, 1996a, 1996b, 1996c, 1997b). In CASTEEL (1997b) wird die relative Bioverfügbarkeit von Arsen bestimmt. Sie liegt für verschiedene Bodenmaterialien zwischen 7 % und 98 %, bezogen auf oral verabreichtes Natriumarsenat.

Hinsichtlich der Versuchstiere sind vor allem die Arbeiten von GROEN et al. (1994), LAVELLE et al. (1991) und CASTEEL ET AL. 1996, 1996a, 1996b, 1996c, 1997, 1997a, 1997b für den Vergleich mit dem Menschen relevant. Bei der Untersuchung von LAVELLE et al. handelt es sich explizit um vorläufige Ergebnisse, die noch keine quantitativen Schlußfolgerungen erlauben.

Die Untersuchungen unterscheiden sich hinsichtlich des verwendeten Bodenmaterials, der Applikationsart, der Expositionshöhe und -dauer, der verwendeten Tierart sowie der bestimmten Parameter. Teilweise basieren die Untersuchungen auf Gehalten in Blut oder Organen nach Bodenexposition, teilweise auf der Ausscheidung der Schadstoffe mit dem Urin. Aufgrund dieser Unterschiede sind sie nur sehr eingeschränkt vergleichbar.

1.4. Vorkommen von mit Arsen, Blei, Cadmium oder Quecksilber kontaminierten Böden und Prüfwerte

Das Vorkommen von Metallen und Arsen in Böden ist auf geogene und anthropogene Ursachen zurückzuführen. Metalle und Arsen sind natürlicherweise in Böden als Bestandteile von Mineralen im Ausgangsgestein vorhanden (SCHIMMING 1992). Durch Verwitterung, Verlagerung und andere Prozesse sowie durch menschliche Tätigkeit (z. B. Erzabbau) kann es zur lokalen Anreicherung dieser Stoffe kommen. Anthropogene Ursachen sind industrielle Tätigkeit, wie NE-Hüttenwerke, Eisen- und Stahlerzeugung, Glashütten, Zementwerke, Kohleverbrennung, aber auch Ablagerung von Abfällen (Klärschlamm, Bergbauabraum, Müllkomposten) und Straßenverkehr.

Atmosphärische Immission durch trockene Deposition metallhaltiger Stäube und Aerosole sowie nasse Deposition gelöster oder suspendierter Metallbindungsformen sind wichtige Faktoren bei der Belastung von Böden mit Metallen. Dabei erfolgt der Hauptanteil der Immission in partikulärer Form in unmittelbarer Nähe der Emittenten (SCHIMMING 1992).

In den Abschnitten 1.4.1 bis 1.4.4 sind Abschätzungen der Arsen-, Blei-, Cadmium- und Quecksilber Gehalte in Oberböden landwirtschaftlich und gärtnerisch genutzter Flächen in der Bundesrepublik Deutschland, beispielhafte Angaben zu Bodengehalten dieser Stoffe in Abhängigkeit von der Nutzung, beispielhafte Angaben zum Umfang des Vorkommens erhöhter Bodengehalte und die vorgesehenen Prüfwerte nach dem aktuellen Stand des Entwurfs der Bodenschutzverordnung angegeben.

1.4.1. Arsen

KÖNIG (1996) schätzt folgende Gehalte in Oberböden ab (Angaben in mg/kg):

- landwirtschaftlich genutzte Flächen in überwiegend ländlichen Gebieten: **2 - 20**
- Gartenböden großstädtischer Verdichtungsgebiete: **10 - 30**
- Böden mit Schadstoffanreicherungen aus spezifischer Ursache: **> 80**

In den Untersuchungen zum Hamburger Schwermetallkataster wurde festgestellt, daß der Flächenanteil für Böden mit einem Arsengehalt von > 20 mg/kg bei 21% liegt, 7% der Fläche weist Gehalte über 40 mg/kg auf (MIEHLICH et al. 1994).

Die Prüfwerte nach §8 Abs.1 Satz 2 Nr. 1 Bundesbodenschutzgesetz (BBodSchG) im Entwurf der Bodenschutzverordnung (E-BodSchV) vom 1.9.1998 für den Wirkungspfad Boden-Mensch (direkter Kontakt) [mg/kg TM] sind wie folgt vorgeschlagen worden:

- Kinderspielflächen **25**
- Wohngebiete **50**
- Park- und Freizeitanlagen **125**
- Industrie- und Gewerbegrundstücke **140**

1.4.2. Blei

KÖNIG (1996) schätzt folgende Gehalte in Oberböden ab (Angaben in mg/kg):

- landwirtschaftlich genutzte Flächen in überwiegend ländlichen Gebieten: **20 - 60**
- Gartenböden großstädtischer Verdichtungsgebiete: **50 - 150**
- Böden mit Schadstoffanreicherungen aus spezifischer Ursache: **500 > 2000**

Für Hamburg wurde ein Flächenanteil von 15% mit Bleigehalten oberhalb von 200 mg/kg ermittelt (MIEHLICH et al. 1994).

Die Bleigehalte in Böden Berlins sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt:

Tab. 1: Bleigehalte in Böden Berlins (SENATSVERWALTUNG FÜR STADTENTWICKLUNG, UMWELTSCHUTZ UND TECHNOLOGIE BERLIN 1997)

Bleigehalte von Böden unterschiedlicher Flächennutzung in Berlin					
Nutzung	Anzahl Standorte	(mg/kg lufttrockener Boden)			
		50. Perzentil	Durchschnitt	90. Perzentil	Maximum
Kleingarten	2870	113	228	391	10459
Hausgarten	118	52	87	144	391
Landwirtschaft	438	31	60	112	873
Gartenbau	17	24	32	41	711
Rieselfeld	902	35	89	43	1049
Forsten	90	53	69	125	380
Grünfläche	115	95	97	198	430
Spielplatz	22	165	160	408	769
sonstige Nutzung	60	69	210	430	1441

Die Prüfwerte nach §8 Abs.1 Satz 2 Nr. 1 BBodSchG (E-BodSchV vom 1.9.1998) für den Wirkungspfad Boden-Mensch (direkter Kontakt) [mg/kg TM] sind wie folgt vorgeschlagen worden:

- Kinderspielflächen **200**
- Wohngebiete **400**
- Park- und Freizeitanlagen **1000**
- Industrie- und Gewerbegrundstücke **2000**

1.4.3. Cadmium

KÖNIG (1996) schätzt folgende Gehalte in Oberböden ab (Angaben in mg/kg):

- landwirtschaftlich genutzte Flächen in überwiegend ländlichen Gebieten: **0,2 – 1,0**
- Gartenböden großstädtischer Verdichtungsgebiete: **0,5 – 1,5**
- Böden mit Schadstoffanreicherungen aus spezifischer Ursache: **4 > 30**

Die Cadmiumgehalte in Böden Berlins sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt:

Tab. 2: Cadmiumgehalte in Böden Berlins (Senatsverwaltung für Stadtentwicklung, Umweltschutz und Technologie Berlin 1997)

Cadmiumgehalte von Böden unterschiedlicher Flächennutzung in Berlin					
Nutzung	Anzahl Standorte	(mg/kg lufttrockener Böden)			
		50. Perzentil	Durchschnitt	90. Perzentil	Maximum
Kleingarten	2870	0,7	1,1	1,6	80,4
Hausgarten	118	0,3	0,4	0,6	1,9
Landwirtschaft	438	0,3	0,7	1,7	7
Gartenbau	17	0,2	0,3	0,5	1
Rieselfeld	902	2,8	4	8,5	42,9
Forsten	90	0,3	0,7	1,2	3,9
Grünfläche	115	0,2	1,1	1,4	28,9
Spielplatz	22	1,1	6,6	15	38
sonstige Nutzung	60	0,6	1	2	3,2

Die Prüfwerte nach §8 Abs.1 Satz 2 Nr. 1 BBodSchG (E-BodSchV vom 1.9.1998) für den Wirkungspfad Boden-Mensch (direkter Kontakt) [mg/kg TM] sind wie folgt vorgeschlagen worden:

- Kinderspielflächen **10**
- Wohngebiete **20**
- Park- und Freizeitanlagen **50**
- Industrie- und Gewerbegrundstücke **60**

1.4.4. Quecksilber

KÖNIG (1996) schätzt folgende Gehalte in Oberböden ab (Angaben in mg/kg):

- Allgemein verbreitete Gehalte: **0,1 - 0,4**
- Böden mit Schadstoffanreicherungen aus spezifischer Ursache: **> 2**

Die Prüfwerte nach §8 Abs.1 Satz 2 Nr. 1 BBodSchG (E-BodSchV vom 1.9.1998) für den Wirkungspfad Boden-Mensch (direkter Kontakt) [mg/kg TM] sind wie folgt vorgeschlagen worden:

- Kinderspielflächen **10**
- Wohngebiete **20**
- Park- und Freizeitanlagen **50**
- Industrie- und Gewerbegrundstücke **80**

1.5. Hand-zu-Mund-Aktivität bei Kindern

Es liegen eine Reihe von Studien zur Quantifizierung der oralen Bodenaufnahme durch Hand-zu-Mund-Aktivität bei Kindern vor.

Allgemein wird für Kinder eine tägliche oral aufgenommene Bodenmenge von größenordnungsmäßig etwa 100 mg/d angenommen. CALABRESE et al. (1989) ermittelten, je nach verwendetem Tracer, 153 mg/d bzw. 180 mg/d. Die EPA (1985) geht davon aus, daß Kleinkinder im allgemeinen bis zu 200 mg/d aufnehmen. Die Bodenaufnahme bei abnormem Verhalten (Geophagie, „pica-Verhalten“) beträgt nach Einschätzung von CALABRESE et al. (1991) 5 bis 7 g/d, in einem Fall 10 bis 13 g/d.

Die ARBEITSGEMEINSCHAFT DER LEITENDEN MEDIZINALBEAMTINNEN UND –BEAMTEN (1995) gibt folgende vorläufige Empfehlungen zur Abschätzung der oralen Aufnahme von Boden:

1. Wahrscheinlicher Fall:

Alter (Jahre)	< 1	1 - 3	4 - 6	7 - 9	10 - 14	15 - 19	20 - 75
Aufnahme (mg/d)	20 - 100	20 – 100	20 – 100	5 – 25	5 – 25	2 – 10	2 - 10

2. Ungünstiger Fall

Alter (Jahre)	< 1	1 - 3	4 - 6	7 - 9	10 - 14	15 - 19	20 - 75
Aufnahme (mg/d)	100 - 500	100 - 500	100 - 500	25 – 125	25 – 125	10 - 50	10 - 50

Für die Risikoabschätzung wird empfohlen, den unteren Wert des angegebenen Bereiches zu verwenden, wenn keine zusätzliche Informationen vorliegen. Wenn zusätzliche Informationen vorliegen (z.B. Bioverfügbarkeit, Resorptionsrate, Zeitbudget), kann der obere Wert als Ausgangspunkt für eine detailliertere Abschätzung verwendet werden.

2. Materialien und Methoden

2.1. Tierversuch

2.1.1. Im Tierversuch verwendete Bodenmaterialien

Es kamen drei verschiedene Bodenmaterialien zum Einsatz, von denen eines aus Nordrhein-Westfalen und zwei aus Baden-Württemberg stammen. Es handelt sich um reale kontaminierte Bodenproben.

Die verwendeten Böden wurden bei Raumtemperatur an der Luft getrocknet. Anschließend wurde das Material in mehreren Schritten mit Analysensieben aus Nylon gesiebt, um die Korngrößenfraktion ≤ 1 mm zu erhalten. Im Tierversuch kam dieses feinkörnige Material zum Einsatz, da Kinder durch Hand-zu-Mund-Aktivität eher feinkörniges als grobkörniges Material aufnehmen. Das gesiebte Bodenmaterial wurde in Polyethylen-Weithalsflaschen bei 4° C dunkel gelagert. Vor dem Abwiegen der zu verabrei-

chenden Bodendosis wurden die Proben manuell durchmischt, um Entmischungseffekte durch den Transport des Materials wieder aufzuheben. Die auf ihren Schadstoffgehalt analysierten Aliquote des gesiebten Materials und die für die orale Verabreichung bestimmten Aliquote wurden in gleicher Weise behandelt.

Boden 1:

Es handelt sich um sandiges bis schluffiges Material, vermischt mit Bauschutt, Schlacke und Bergematerial aus dem verfüllten Absetzbecken eines stillgelegten Erzbergwerkes aus Mülheim. Die vorherrschenden im Rahmen dieses Projektes relevanten Kontaminanten sind Arsen und Blei.

Boden 2:

In Bodenmaterial 2 ist Quecksilber die vorherrschende relevante Kontaminante. Das Material stammt aus Bad Krozingen.

Boden 3:

Bodenmaterial 3 ist hauptsächlich mit Arsen und Blei kontaminiert und stammt aus Wiesloch.

Tab. 3: Elementgehalte in den untersuchten Böden [mg/kg]

Elementgehalte in den untersuchten Böden [mg/kg]*				
Bodenmaterial	Arsen	Blei	Cadmium	Quecksilber
Boden 1	674	3050	22	7,73
Boden 2	10,4	32,6	0,4	167
Boden 3	520	802	15,4	< BG

* Die Messungen wurden durch das Landesamt für Natur und Umwelt des Landes Schleswig-Holstein durchgeführt. Der Aufschluß der Proben erfolgte mittels Königswasserdruckauszug.

Die aus der Verabreichung von 0,5 g Boden je kg Körpergewicht und Tag resultierenden Dosen von Arsen, Blei, Camium und Quecksilber sind in der folgenden Tabelle dargestellt:

Tab. 4: Verabreichte Dosis von As, Pb, Cd und Hg [$\mu\text{g}/\text{kg KG}/\text{d}$]

Verabreichte Dosis von As, Pb, Cd und Hg [$\mu\text{g}/\text{kg KG}/\text{d}$]*				
Versuchsgruppe	As	Pb	Cd	Hg
Gruppe 0 (Kontrolle)	0	0	0	0
Gruppe 1 (Boden 1, Standardfutter)	337	1525	11	3,87
Gruppe 2 (Boden 1, Exp.-futter)	337	1525	11	3,87
Gruppe 3 (Boden 3, Standardfutter)	260	401	7,7	n.b.
Gruppe 4 (Boden 2, Standardfutter)	5,2	16,3	0,2	83,5

2.1.2. Versuchstiere

Als Versuchstiere wurden Münchener Minischweine „Troll“ eingesetzt. Die Tiere wurden in der Tierversuchsanlage der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf gezüchtet.

Das Schwein ist aufgrund seiner Nahrungszusammensetzung (Allesfresser) und der Physiologie und des Aufbaus des Verdauungstraktes das beste Modell für die menschliche Verdauung unter den Nicht-Primaten (MILLER UND ULLREY 1987). Die Ergebnisse aus den Versuchen mit Schweinen sind deshalb in höherem Maße auf den Menschen übertragbar, als Versuche mit Nagetieren oder Hasenartigen. Der Einsatz von Primaten verbietet sich aufgrund der einzusetzenden Tierzahlen und aus ethischen Gründen.

Es kamen ca. 12 Monate alte, ca. 20-25 kg schwere Minischweine "Troll" zum Einsatz. Die Untersuchungen wurden jeweils an einer Gruppe von n=5 Schweinen durchgeführt. Die Untersuchungsgruppen setzten sich aus Tieren beider Geschlechter zusammen. Die Männchen waren als Ferkel kastriert worden.

2.1.3. Haltung der Versuchstiere

Die Tiere wurden während des Versuchs einzeln in Stoffwechsellkäfigen aus Edelstahl (120 x 88 x 123 cm) gehalten, um eine getrennte Sammlung von Faeces und Urin zu ermöglichen und die Urin- und Faecesproben individuell zuordnen zu können.

Der Boden des Käfigs bestand aus einem herausnehmbaren kunststoffbeschichteten Gitter (Tenderfoot-Matte, Maschenweite ca. 1,5 cm). Eine Edelstahl-Auffangwanne leitete den Urin in das untergestellte Sammelgefäß. Zwischen Bodengitter und Auffangwanne befand sich zusätzlich ein mit Nylon-Fliegen-gaze bespannter Rahmen, um den Eintrag von Faecespartikeln in den Urin zu minimieren.

2.1.4. Fütterung

Die Fütterung erfolgte ausschließlich mit standardisiertem pelletierten Trockenfutter, dessen Gehalte an Blei, Cadmium und Quecksilber von uns analysiert worden sind. Die Fütterung erfolgte jeweils um 9.00 Uhr und 15.30 Uhr. Die Tagesmenge von 600 g wurde gleichmäßig auf die beiden Fütterungen verteilt. Die Fütterung der Versuchstiere während der Haltung in den Stoffwechsellkäfigen erfolgte (mit Ausnahme des Experiments zur Ermittlung des Einflusses des Mineralstoff- und Fasergehaltes auf die Bioverfügbarkeit, „Experimentalfutter-Gruppe“) mit einem kommerziell erhältlichen, speziell für die Fütterung von Mischweinen produzierten Alleinfutter (Mpig-E, energiereduziert, 4 mm, Fa. Ssniff, Soest). Dieses Futter wird im Folgenden als „Standardfutter“ bezeichnet.

Tab. 5: Arsen-, Blei, Cadmium- und Quecksilbergehalte des Standardfutters [$\mu\text{g}/\text{kg}$]

Element	Gehalt [$\mu\text{g}/\text{kg}$]
Arsen	163
Blei	186
Cadmium	55
Quecksilber	30

Die Spurenelement- und Fasergehalte des Standardfutters sind in Tab. 7 dargestellt.

In der Literatur ist ein Einfluß des Gehaltes von essentiellen Spurenelementen und des Faserstoffgehaltes der Nahrung auf die Aufnahme der untersuchten Stoffe aus dem Gastrointestinaltrakt beschrieben (GOYER 1997). Deshalb wurde im Tiermodell in einer Versuchsreihe gemeinsam mit Boden 1 ein Experimentalfutter verabreicht, das hinsichtlich seines Mineralstoff- und Fasergehaltes der Zusammensetzung der kindlichen Nahrung entspricht. Die Anforderungen an das Experimentalfutter wurden unter Zugrundelegung der Daten aus DGE 1996 und PFANNHAUSER 1994 ermittelt. Die Mineralstoffgehalte und der Rohfasergehalt des Experimentalfutters sind in Tab. 7 dargestellt.

Tab. 6: Arsen-, Blei, Cadmium- und Quecksilbergehalte eines Experimentalfutters zur Ermittlung des Einflusses von Nahrungsbestandteilen auf die Bioverfügbarkeit [$\mu\text{g}/\text{kg}$], Mittelwert aus n=3 Proben.

Element	Gehalt [$\mu\text{g}/\text{kg}$]
Arsen	< BG
Blei	37
Cadmium	1,2
Quecksilber	32

Tab. 7: Mineralstoffgehalte und Rohfasergehalt des Standard- und des Experimentalfutters

Element- und Fasergehalte von Standard- und Experimentalfutter		
Element	Standardfutter	Experimentalfutter
Calcium [% w/w]	1	0,16
Magnesium [% w/w]	0,2	0,06
Eisen [mg/kg]	200	14
Zink [mg/kg]	100	17
Kupfer [mg/kg]	25	2
Selen [mg/kg]	0,2	< 0,1
Faserstoffe [%]	10	3,8

Aufgrund des geringeren Faseranteils ergab sich eine höhere Energiedichte des Experimentalfutters. Um die Energiezufuhr für die Minischweine konstant zu halten, wurden 500 g Experimentalfutter täglich verabreicht, gleichmäßig verteilt auf die beiden Fütterungen.

Die jeweilige Mineralstoff- und Faserzufuhr bei Fütterung mit Standard- oder Experimentalfutter ist in der folgenden Tabelle dargestellt

Tab. 8: Element- und Faserzufuhr durch Standard- und Experimentalfutter pro Tag

Element- und Faserzufuhr durch Standard- und Experimentalfutter pro Tag		
Element [mg]	Standardfutter	Experimentalfutter
Calcium	6000	800
Magnesium	1200	600
Eisen	120	7
Zink	60	8,5
Kupfer	15	1
Selen	0,12	< 0,05
Faserstoffe	63000	19000

Die Futterumstellung von Standard- auf Experimentalfutter erfolgte in mehreren Stufen, um eine Umstellung der Gastrointestinalflora zu ermöglichen. Die Umstellung war sieben Tage vor Beginn der Bodenverabreichung abgeschlossen.

Tränkwasser stand ad libitum zur Verfügung.

2.1.5. Implantation des Verweilkatheters

Jedem Minischwein wurde mindestens zehn Tage vor Beginn des Fütterungsversuches ein Verweilkatheter mit Port implantiert, wie von BAILIE et al. (1986) beschrieben. Der Verweilkatheter ermöglichte wiederholte und für das Schwein weitgehend stressarme Blutentnahmen. Die Entnahme von Blutproben durch Punktion des Ports ist unter hygienischen Gesichtspunkten risikoarm. Die Gefahr von Katheterinfektionen ist gegenüber einem offenen Katheter, der zwischen den Blutentnahmen verschlossen und keimarm gehalten werden muss, deutlich reduziert.

Bei dem verwendeten Verweilkatheter mit Port handelte es sich um einen Silikon-Gummi-Katheter (7 French, 60 cm Länge) mit einem 33 x 13 mm großen Polysulfon-Plastik-Reservoir (GVP-AC-7IS, Access Technologies, N. Ridgeway, USA).

Die Tiere wurden präoperativ mit einer Kombination aus Stresnil, Hypnodil (2-4 mg/kg) sowie Ketanest (8 mg/kg), Atropin (0,25-0,5 mg) und Fentanyl (1-3 ml) intramuskulär sediert. Die chirurgische Toleranz wurde induziert und erhalten durch Inhalationsnarkose mit 1,5%-1% Enfluran bei kombinierter Anwendung mit Lachgas/Sauerstoffgemisch (2:1).

Zur Implantation des Ports wurde eine halbkreisförmige Inzision im proximalen Bereich der Scapula, über dem Cartilago scapulae durchgeführt. Im Unterhautgewebe wurde eine taschenförmige Erweiterung freipräpariert. Der Port wurde nach Füllung des Reservoirs mit physiologischer Kochsalzlösung in die

Gewebstasche eingesetzt und mit nicht resorbierbarem Nahtmaterial (surgical silk) auf der Unterhautfascie festgenäht.

Rechts der Medianlinie am Hals wurde im Bereich der Drosselrinne eine zweite, ca. 6-7 cm lange Inzision, durchgeführt und die Vena jugularis dextra freipräpariert. Die Vene wurde zum Einführen des zuvor mit physiologischer Kochsalzlösung gefüllten Katheters mit einem kleinen Schnitt eröffnet. Nach Einführen des Katheters wurde die Jugularvene cranial ligiert.

Das Unterhautgewebe wurde bis zum Port getunnelt, der Katheter hindurchgeführt und angeschlossen. Zur Punktion des Ports wurde eine speziell dafür entwickelte Huberpointnadel verwendet.

Um die Durchgängigkeit des Katheters zu sichern, wurde Blut aspiriert und der Katheter anschließend mit physiologischer Kochsalzlösung gespült. Um Thrombenbildung zu verhindern wurde daraufhin ein Katheterblock mit Heparin (100 U/ml) injiziert.

Die Operationswunden wurden mit Unterhautnaht und Hautnaht verschlossen. Der Katheter mußte täglich einmal mit physiologischer Kochsalzlösung gespült und mit Heparin (100 U/ml) geblockt werden.

2.1.6. Intravenöse Schadstoffverabreichung zur Bestimmung der Bioverfügbarkeit

Zur Bestimmung der Bioverfügbarkeit im pharmakologischen Sinne muß die Fläche unter der Blutkonzentrations-Zeitkurve (AUC, „area under curve“) nach der intravenösen Gabe eines leicht wasserlöslichen Salzes des zu untersuchenden Stoffes bestimmt werden.

Hierbei müssen die Blutproben auf einem anderen Wege entnommen werden, als er für die intravenöse Injektion benutzt wird, um eine Kontamination der Blutproben durch die Injektionslösung zu verhindern. Deshalb wurde die intravenöse Verabreichung direkt nach der Katheterimplantation noch unter Narkose vorgenommen. So konnte die Injektion der Schadstofflösung über die Ohrvene erfolgen, die Blutproben wurden über den Port des Verweilkatheters gewonnen. Die Injektion in die Ohrvene wäre beim wachen Schwein nicht unter reproduzierbaren Bedingungen möglich gewesen.

Da aus einem Vorversuch bekannt war, daß die im Bodenmaterial enthaltenen Cadmiummengen nach oraler Aufnahme nicht zu einer messbaren Erhöhung der Blutcadmiumgehalte führten, wurde auf die intravenöse Gabe von Cadmium verzichtet. Arsen wurde in Form von Dinatriumhydrogenarsenat-Heptahydrat gegeben, Blei in Form von Bleiacetat(II)trihydrat und Quecksilber in Form von Quecksilber(II)nitrat-Monohydrat. Die zu verabreichende Dosis wurde aufgrund der in einem Vorversuch ermittelten Blutkonzentrationen nach einmaliger oraler Bodengabe unter Berücksichtigung des abgeschätzten Blutvolumens ermittelt. Ziel war es, nach oraler und nach intravenöser Gabe größenordnungsmäßig vergleichbare Blutspiegel zu erhalten.

Tab. 9: Für die intravenöse Gabe von Arsen, Blei und Quecksilber eingesetzte Verbindungen, Konzentration der Injektionslösung (bezogen auf die Verbindung) und angestrebter Blutspiegel (bezogen auf das untersuchte Element)

Element	Eingesetzte Verbindung	Konzentration der Injektionslösung [mg/L]	Angestrebte Blutspiegel [μ g/L]
Arsen	Dinatriumhydrogenarsenat-Heptahydrat	10411	1000
Blei	Bleiacetat(II)trihydrat	298	60
Quecksilber	Quecksilber(II)nitrat-Monohydrat	46,8	10

Die Injektionslösungen wurden unter sterilen Bedingungen angesetzt. Die Verdünnung wurde so berechnet, daß ein Injektionsvolumen von 5 mL resultierte. Vor der Injektion wurde die Durchgängigkeit des intravenösen Zugangs in die Ohrvene geprüft. Die drei Stoffe wurden nacheinander injiziert, um eine Reaktion der Substanzen untereinander und ein Ausfallen möglicher Reaktionsprodukte zu verhindern. Aus diesem Grunde wurde zusätzlich zwischen den einzelnen Substanzen 5 mL Aqua ad iniectionem injiziert. Die intravenöse Gabe aller drei Schadstoffe dauerte 30 bis 45 Sekunden. Vor der Injektion von Arsen, Blei und Quecksilber wurde eine Blutprobe entnommen, um die Hintergrundgehalte dieser Stoffe

im Blut zu bestimmen. Die weiteren Blutproben wurden 2,5 Min., 5 Min., 10 Min., 30 Min., 60 Min, 4 h, 8 h, 24 h und dann weiter im 24-Stundenrhythmus nach der Injektion entnommen. Zwischen den Blutentnahmen wurde der Katheter mit physiologischer Kochsalzlösung gespült, um die Kontamination einer folgenden Blutprobe durch die jeweils vorige zu verhindern.

2.1.7. Verabreichung von Bodenmaterialien und Futter

Da einer Verabreichung der schadstoffhaltigen Böden per Schlundsonde Tierschutzgründe entgegenstanden, erhielten die Schweine den Boden mit dem morgendlichen Futter. Dazu wurden 0,5 g Boden/kg Körpergewicht (Korngrößenfraktion < 1 mm) mit 100 g Haltungsfutter und 150 ml Wasser angeteigt und sorgfältig verrührt. Die entstandene Masse sollte so fest sein, daß der Bodenanteil nicht sedimentieren konnte. Die Verabreichung der Futter-Boden-Mischung erfolgte an zehn aufeinanderfolgenden Tagen zu Beginn der morgendlichen Fütterung (8.30 Uhr).

2.1.8. Probenahme

Entnahme von Blutproben (kombiniert mit Katheterpflege)

Die Blutprobenahme erfolgte täglich vor der Bodengabe und zusätzlich während ausgewählter Tage zu festgelegten Zeitpunkten. Vor der Blutentnahme wurde der Punktionsbereich gereinigt und desinfiziert. Der Port wurde mit einer Huber-Point-Nadel (22ga x 3/4"/1,9cm (PG 22-75), Access-Technologies, N. Ridgeway, USA) punktiert. Mittels einer 5-ml-PP-Spritze wurden 3 ml Blut entnommen und verworfen. Mit einer 10-ml-PP-Spritze wurde dann die Blutprobe von 10 ml entnommen und sofort in ein säurevorgeinigtes 15-ml-PP-Röhrchen überführt, in das zuvor 100 µl Heparinlösung (Liquemin N 25 000) vorgelegt wurde. Blut und Heparin wurden sorgfältig durchmischt und bis zur weiteren Verarbeitung bei -18°C gelagert.

Nach jeder Blutentnahme mußte eine Katheterpflege durchgeführt werden. Der Katheter wurde mit 10 ml physiol. Kochsalzlösung gespült. Anschließend wurde der Katheter mit 1,5 ml Heparin (Liquemin in physiol. Kochsalzlösung, 100 U/ml) geblockt.

Entnahme von Urinproben

Die Urinprobenahme erfolgte in 24-h-Sammelproben, beginnend jeweils morgens zum Zeitpunkt der Blutprobenahme, in säurevorgeinigten 2-l-Uringefäßen. Um das Sorptionsrisiko der Elementspuren an den Gefäßwänden zu minimieren, mußte der Urin bereits während der Probensammlung angesäuert werden. Hierzu wurden 20 ml 3%ige Salpetersäure in dem Urinsammelbehälter vorgelegt.

Am Ende des Sammelzeitraumes wurden die Uringefäße samt Probe gewogen. Nach intensivem Schütteln des Urins wurde ein 45-ml-Aliquot in ein säuregereinigtes 50-ml-PP-Zentrifugenröhrchen gefüllt, ein weiteres Aliquot wurde zur Abtrennung feiner Schwebstoffe 10 min bei 3000 U/min zentrifugiert. Nach einer Dichte-, Volumen- und Gewichtsbestimmung wurde der restliche Urin verworfen. Bis zur weiteren Verarbeitung wurden die Proben bei -50°C gelagert.

Für die Analyse wurden Urinproben, ebenso wie Blutproben, über Nacht aufgetaut und vor Entnahme der Probenaliquote auf dem Vibrationsmischer homogenisiert.

Entnahme von Faecesproben

Der Probenahmerhythmus der Faecesproben entsprach dem der Urinproben. Die Faeces wurden mindestens zweimal täglich mit Hilfe von Kunststoffschaufel, -schaber und -spatel vom Bodengitter aufgenommen und zusätzlich jeweils zum Ende des Probenahmeintervalls auch die in das Gitter hineingetretenen und auf den Gazerahmen durchgefallenen Faecesanteile eingesammelt. Als Sammelgefäße dienten ebenfalls vorgereinigte 2-l-Uringefäße.

Die gesamten Faeces einer 24-h-Sammelperiode wurden unter Zugabe von aqua bidest. im Haushaltsmischer homogenisiert. Ein 100-g-Aliquot dieses Faecesbreies wurde lyophilisiert, zwei 50-ml-Aliquote wurden als Rückstellproben tiefgefroren. Der restliche Faecesanteil wurde verworfen.

Entnahme von Organproben

Ausgewählte Organproben (Leber, Niere, Muskel, Herz, Gehirn) wurden zur Bestimmung der Gehalte an Arsen, Blei, Cadmium und Quecksilber entnommen (vorgereinigte Edelstahl-Instrumente). Die Organproben wurden direkt nach der Entnahme in säuregereinigte Sammelbecher überführt und bis zur weiteren Verarbeitung bei -50°C gelagert. Ein Teil der Organe wurde mit einem EDTA-gereinigten Skalpell zerkleinert und lyophilisiert. Lyophilisierte Organe wurden, ebenso wie Faeces, durch Mörsern homogenisiert und in 50-ml-Braunglasröhrchen mit Silikonsepten im Exsikkator gelagert.

2.2. Analytische Methoden zur Bestimmung der Elementgehalte

2.2.1. Aufschluß fester Proben

Lyophilisierte Organproben, Faecesproben bzw. Futterproben wurden durch einen oxidativen Mikrowellen-Druckaufschluß (DUNEMANN 1994) mineralisiert (Mikrowellenaufschlußsystem MLS 2000, Einwäge 200-400 mg, 2 ml Salpetersäure 65%, 1 ml Wasserstoffperoxid 30%). Folgendes Zeit-Leistungsprogramm wurde verwendet:

Tab. 10: Zeit-Leistungsprogramm für den Mikrowellenaufschluß fester Proben

Zeit [min]	2	1	2	1	2	1	3
MW-Leistung [W]	200	0	350	0	450		550

Nach einer 30-minütigen Abkühlphase wurden die aufgeschlossenen Proben mit aqua bidest. aufgenommen (Endvolumen ca. 6 ml), in 15-ml-PE-Zentrifugenröhrchen überführt und bis zur Analyse max. 3 Tage bei 4°C gelagert, ansonsten bei -18°C tiefgefroren.

2.2.2. Bestimmung von Arsen im Urin

2.2.2.1. Meßprinzip

Arsen wurde direkt im Urin durch Hydrid-Atomabsorptionsspektrometrie bestimmt (WELZ & MELCHER 1979). Als Reduktionsmittel diente Natriumborhydrid (3% in 0,5% NaOH). Die Meßeinrichtung bestand aus einem Hydridgenerator (MHS 20, Perkin Elmer) und einem Zweistrahl-Atomabsorptionsspektrometer (Modell 3100, Perkin-Elmer). Die Meßparameter sind in Tab. 11 angegeben.

Tab. 11: Geräteparameter für die Hydrid-AAS-Bestimmung von As

Wellenlänge	[nm]	193,7	Spülzeit Argon I	[s]	30
Spaltbreite	[nm]	0,7	Reaktionszeit	[s]	8
EDL-Lampenleistung	[W]	9	Spülzeit Argon II	[s]	20
Küvettemperatur	[$^{\circ}\text{C}$]	900			

2.2.2.2. Probenaufbereitung

1 mL Urin, 7,5 mL HCl 1,5%, 0,5 mL Entschäumerlösung (Sigma Antifoam A, 1:100) sowie 1 mL einer Vorreduktionslösung (Kaliumiodid 5% und L-Ascorbinsäure 10% in bidest. Wasser) wurden in das Reaktionsgefäß pipettiert. Das Reaktionsgefäß wurde verschlossen und bis zur Messung 30 min stehen gelassen.

2.2.2.3. Kalibrierung

Die Kalibrierung erfolgte gegen matrixangepaßte Standardlösungen. (Kalibrierbereich 0-120 ng/mL As). Urinproben, deren Gehalte den Kalibrierbereich überschritten, wurden entsprechend mit HCl 1,5% verdünnt.

2.2.2.4. Statistische Kenngrößen

Nachweisgrenzen und Variationskoeffizienten

Bei Einsatz von 1 mL Urin betrug die Nachweisgrenze 1,4 µg/L. Die Präzision (day to day) lag bei 9,9%.

Richtigkeit

Zur Qualitätskontrolle dienen ein Standardreferenzurin (Biorad 69021, zertifiziert 52 (42-62) µg/L, gemessen $46,3 \pm 5,0$ µg/L (N=6)) sowie ein dotierter Pool-Urin (Dotierung: 50 µg/L As, As-Eigengehalt < 1,4 µg/L, gemessen $50,7 \pm 5,1$ µg/L (N=20)).

2.2.3. Bestimmung von Cadmium und Blei

2.2.3.1. Meßprinzip

Cadmium und Blei wurden durch Graphitrohfen-Atomabsorptionsspektrometrie (GFAAS) mit Zeeman-Effekt-Untergrundkorrektur (Atomabsorptionsspektrometer Z3030 mit Autosampler AS60 und elektrodenlosen Entladungslampen für Cd und Pb, Perkin-Elmer) unter Verwendung eines Palladium-Magnesium-Matrixmodifiers (0,15% Pd als Nitrat und 0,1% Mg als Nitrat) bestimmt (WELZ et al. 1988).

2.2.3.2. Probenaufbereitung

Urin

In Abwandlung eines Verfahrens von SUBRAMANIAN ET AL. (1983) wurden die Urinproben im Verhältnis 1:1 mit einer Modifizierlösung vermischt. (Cd-Bestimmung: 0,4% $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ in 0,4% HNO_3 ; Pb-Bestimmung: 1% NH_4NO_3 in 2% HNO_3). Für die Pb-Bestimmung wurde abweichend vom zitierten Verfahren zur Verminderung der sonst beobachteten hohen Untergrundabsorption zusätzlich ein Pd-Mg-Modifizier eingesetzt.

Vollblut

Vollblut wurde einer Proteinfällung unterworfen (STOEPLER ET AL. 1978). Hierzu wurden im 1,5-ml-Reaktionsröhrchen (Eppendorf) 200 µl Blut mit 600 µl 1-M- HNO_3 versetzt und 30 s auf dem Vibrationsmischer intensiv durchmischt. Nach Abzentrifugieren (5 min, 8000 U/min) wurde der Überstand analysiert.

2.2.3.3. Organ-, Futter- und Faecesaufschlüsse

Die Aufschlußlösungen wurden ohne weitere Vorbehandlung der Bestimmung zugeführt. Waren aufgrund von Vorversuchen in einem bestimmten Material hohe Elementgehalte zu erwarten, so wurden die Lösungen vor der Analyse mit aqua bidest. verdünnt.

2.2.3.4. Geräteparameter

Tab. 12: Geräteparameter für die GFAAS-Bestimmung von Cd und Pb

Element	Cd	Pb
Wellenlänge [nm]	228,8	283,4
Spaltbreite [nm]	0,7	0,7
Lampenstrom [mA]	240	460
Injektionsvolumen [μ l]	10	20
Volumen Modifier [μ l]	10	10

Es wurden pyrolytisch beschichtete Graphitrohre mit L'Vov-Plattform verwendet. Die Auswertung erfolgte über die Signalfäche (Doppelbestimmung).

Tab. 13: Temperaturprogramme für die GFAAS-Bestimmung von Cd und Pb

Element	Trocknen			Veraschen			Atomisieren *			Ausheizen		
	T	R	H	T	R	H	T	R	H	T	R	H
Cd	150	10	30	600	10	10	1600	0	3	2600	1	2
Pb	150	10	40	1000	10	10	2000	0	3	2600	1	2

T: Temperatur [$^{\circ}$ C], R: Rampe [s], H: Halten [s], Interner Gasfluß: 300 ml/min, * = Gas-Stop

2.2.4. Bestimmung von Quecksilber

2.2.4.1. Prinzip

Quecksilber wurde durch Kaltdampf-Atomabsorptionsspektrometrie (CVAAS) unter Zuhilfenahme der Amalgamtechnik bestimmt (WELZ ET AL. 1984). Als Reduktionsmittel diente Natriumborhydrid (1% in 0,05% NaOH). Auf Basis der vorhandenen Geräteausstattung (Atomabsorptionsspektrometer 1100B mit FIAS 200 und Amalgamsystem, Perkin Elmer) wurde ein Batch-System aus peristaltischer Pumpe, Reaktionszelle (50-ml-PP-Zentrifugenröhrchen, PP-Stopfen mit integriertem Gaseinleitungs- und -ableitungsschlauch), Trockenrohr ($MgClO_4$) und Amalgam-System (Gold-Platin-Netz im beheizbaren Quarzrohr) zusammengestellt.

Die mit 10 ml Meßlösung gefüllte Reaktionszelle wurde an das System angeschlossen. Ein Zeitprogramm steuerte Reduktionsmittelzufuhr und Spülgargonfluß. Das auf dem Gold-Platin-Netz des Amalgamsystems angereicherte Quecksilber wurde verdampft und in die Meßzelle des Spektrometers geleitet. Zur Auswertung wurde die Höhe der Extinktionssignale herangezogen.

2.2.4.2. Geräteparameter

Tab. 14: Geräteparameter für die CVAAS-Bestimmung von Hg

Wellenlänge	[nm]	253,7
Spaltbreite	[nm]	0,7
Lampenstrom	[mA]	4
Spülgargonfluß	[ml/min]	300
Förderrate Pumpe	[ml/min]	5

2.2.4.3. Probenaufbereitung

Urin

Eine von SCHIERLING & SCHALLER (1981) beschriebene Methode zur Bestimmung von Hg in Urin und Vollblut wurde auf die oben beschriebene Meßeinrichtung angepaßt. In Abwandlung wurden 10 ml einer dichromathaltigen Mischsäure (HNO_3 0,83% (v/v), H_2SO_4 0,42% (v/v), $K_2Cr_2O_7$ 0,1% (w/v) in aqua

bidest.) zum Ansäuern der Proben verwendet. 1 bzw. 2 ml Urin wurden in die Reaktionszelle pipettiert, mit 0,2 ml Entschäumer (Sigma Antifoam A, 1:10 verdünnt) sowie mit 10 ml Mischsäure versetzt und bis zur Messung 30 min stehengelassen.

Blut

0,5 bzw. 1 ml Vollblut wurden in die Reaktionszelle pipettiert und mit 0,2 ml Entschäumer (Sigma Antifoam A, unverdünnt) versetzt. 10 ml Mischsäure wurden in einem Guß zugesetzt, um ein grobes Ausflocken der Proteine zu vermeiden. Die Probe wurde bis zur Messung unter gelegentlichem Umschwenken eine Stunde abgestellt.

Organ-, Futter- und Faecesaufschlüsse

1 ml der Aufschlußlösung wurden zusammen mit 0,5 ml HNO₃ 65% und 1 ml Mischsäure in die Reaktionszelle pipettiert und mit aqua bidest. ad 10 ml aufgefüllt.

2.2.5. Kalibrierung

Die Kalibrierung erfolgte gegen in der jeweiligen Matrix angesetzte Standards. Kalibrierbereiche: 0-5 ng/ml (Cd); 0-50 ng/ml (Pb); 0-10 ng/ml (Hg).

2.2.6. Statistische Kenngrößen der Meßverfahren

Nachweisgrenzen und Variationskoeffizienten

Tab. 15 zeigt die mit den o.g. Meßverfahren erreichten Nachweisgrenzen sowie die Variationskoeffizienten der Messung bei den jeweils in Klammern angegebenen Spurenkonzentrationen.

Tab. 15: Nachweisgrenzen und Variationskoeffizienten bei der Bestimmung von Cd, Pb und Hg

	Cd		Pb		Hg	
	NWG	Varkoeff	NWG	Varkoeff	NWG	Varkoeff
Aufschlußlösungen	0,1 µg/l	3,0 % (2 µg/l)	1,5 µg/l	3,9% (20 µg/l)	0,15 µg/l (1 ml)	4,6% (3 µg/l)
Urin	0,1 µg/l	2,9 % (4 µg/l)	2,0 µg/l	3,9 % (40 µg/l)	0,08 µg/l (2 ml)	2,7% (1,5 µg/l)
Blut	0,25 µg/l	4,2 % (10 µg/l)	5,0 µg/l	3,7% (80 µg/l)	0,3 µg/l (1 ml)	5,0% (3 µg/l)
Festproben (Einwaage 400 mg)	1,5 µg/kg		23 µg/kg		2,3 µg/kg	

Das Nachweisvermögen der auf die verfügbare Geräteausstattung und die zu untersuchenden Probenmaterialien angepaßten Verfahren ermöglichte somit die Erfassung der interessierenden Elementspuren in Konzentrationsbereichen, wie sie für die Grundbelastung von Kindern normal sind und auch für unbelastete Minischweine erwartet werden konnten.

Richtigkeit

Ausgewählte Standardreferenzmaterialien wurden mit den oben beschriebenen Verfahren untersucht (Tab. 16, Tab. 17, Tab. 18).

Tab. 16: Referenzmaterialien für Cd, Pb und Hg in Blut (Angaben in µg/l)

	Cd		Pb		Hg	
	zertifiziert	gemessen	zertifiziert	gemessen	zertifiziert	gemessen
Seronorm 404107	0,7 (0,67 - 0,76)	0,67	34 (31 - 39)	30; 33; 38	3 (2,2 - 3,3)	2,2; 2,3
Seronorm 01001	2,7 (2,4 - 2,9)	2,4; 2,5; 2,9	42 (37 - 46)	46; 48		

Tab. 17: Referenzmaterialien für Cd, Pb und Hg in Urin (Angaben in µg/l)

	Cd		Pb		Hg	
	zertifiziert	gemessen	zertifiziert	gemessen	zertifiziert	gemessen
Lyphocheck1 60901	7,2 (5,8 - 8,7)	7,2; 7,5				
Lyphocheck2 60902	13,2 (10,6 - 15,8)	13,8; 15,7	64 (51-77)	58; 61		
SRM 2672a high level					105 (97 - 113)	96; 104; 110

Tab. 18: Referenzmaterialien für Cd, Pb und Hg in Organen (Angaben in µg/kg)

	Cd		Pb		Hg	
	zertifiziert	gemessen	zertifiziert	gemessen	zertifiziert	gemessen
NBS 1577a Bovine Liver	440 (380 - 500)	474	135 (120 - 150)	120		
BCR 185 Bovine Liver	298 (273-323)	327	501 (478-528)	454; 485	44 (41 - 47)	41; 43; 46

Es zeigte sich eine gute Übereinstimmung zwischen den gefundenen und den zertifizierten Werten. Die Verfahren sind somit hinsichtlich der Richtigkeit abgesichert.

2.2.7. Externe Qualitätssicherung der analytischen Methoden

Die Methoden zur Bestimmung von Cadmium, Blei und Quecksilber im Blut konnten durch die erfolgreiche Teilnahme am "Ringversuch 20 1997 für arbeitsmedizinisch- und umweltmedizinisch-toxikologische Analysen gemäß TRGS 410" validiert werden.

2.3. Statistische und mathematische Methoden

2.3.1. Berechnung der Bioverfügbarkeit

Die Bioverfügbarkeit wird durch Vergleich der Gesamtfläche unter der Blutspiegel-Zeit-Kurve (AUC) nach intravenöser (i.v.) Bolusgabe (Bioverfügbarkeit = 100%) und oraler Einmalgabe unter Berücksichtigung der jeweiligen Dosis ermittelt:

$$f = \frac{AUC_{oral} \cdot Dosis_{i.v.}}{AUC_{i.v.} \cdot Dosis_{oral}}$$

2.3.2. Ermittlung der Anpassungsfunktion für die Blutspiegel nach subakuter Bodenexposition

Für die pharmakokinetische Analyse wurde ein Ein-Kompartiment-Modell mit Zufuhr wie bei einer Infusion gewählt, da sich die Tagesschwankungen im gewählten Versuchsansatz nicht auflösen lassen und die Daten eine Auflösung in mehrere Kompartimente nicht zulassen.

Das Modell wird durch folgende Gleichungen beschrieben:

$$\text{Invasion: } y(t) = Y_1(1 - e^{-k_1 t}) + Y_2$$

$$\text{Evasion: } y(t) = Y_1 e^{-k_2 t} + Y_2$$

Hierin bedeuten Y_1 , Y_2 die Amplitudenfaktoren und k_1 , k_2 Geschwindigkeitskonstanten.

Die Anpassungskurven wurden durch Minimierung der Fehlerquadrate zwischen realer und angepaßter Kurve berechnet.

3. Ergebnisse

3.1. Arsen

3.1.1. Renale Ausscheidung nach subakuter Gabe

3.1.1.1. Bodenmaterial 1

Die Hintergrundwerte der renalen Arsenausscheidung betragen $15 \pm 2 \mu\text{g}/24\text{h}$. Nach Beginn der Bodengabe stieg die mittlere renale Arsenausscheidung schnell auf Werte um $1500 \mu\text{g}/24\text{h}$ an. Die Evasion erfolgte sehr schnell. Bereits am 4. Tag nach der letzten Bodengabe war die Arsenausscheidung für alle Schweine wieder auf das Niveau der Hintergrundwerte gesunken (Abb. 1).

Anhand der kumulativen renalen Arsenausscheidung läßt sich ableiten, daß $\bar{x} = 16,7 \pm 3,2\%$ ($r = 14,2 - 21,7\%$; $n=5$) der zugeführten Arsendosis mit dem Urin ausgeschieden wurden.

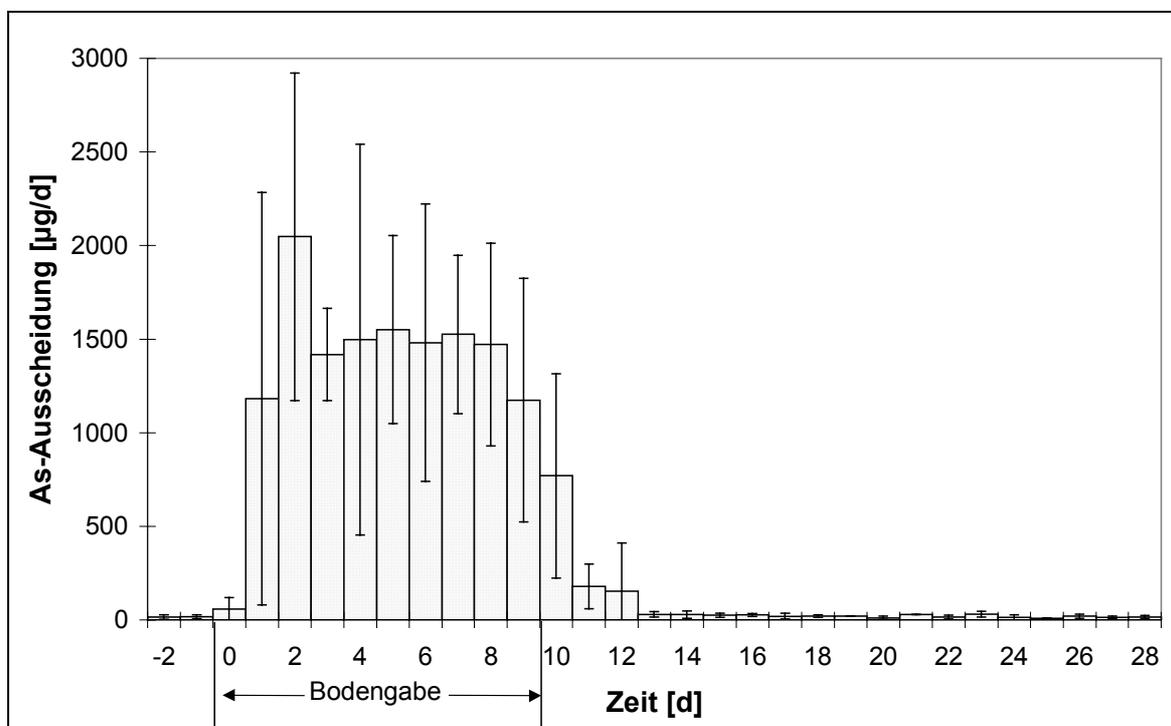


Abb. 1: Renale Arsenausscheidung nach subakuter Gabe ($t = 10$ Tage) von Boden 1 (Dosis $337 \mu\text{g As/kg KG}$ und Tag), Mittelwerte und Standardabweichungen ($n=5$).

3.1.1.2. Bodenmaterial 1 mit Experimentalfutter

Vor Beginn der Bodengabe betrug die renale Exkretion $2,6 \pm 0,9 \mu\text{g}/24\text{h}$ ($n=4$). Bei Beginn der Bodenverabreichung stiegen die Uringehalte rasch an. Am zehnten Tag betrug die Ausscheidung $2570 \pm 870 \mu\text{g}/24\text{h}$. Nach Ende der Bodengabe wurden die Hintergrundgehalte im Untersuchungszeitraum von 15 Tagen nicht wieder erreicht. Ab dem fünften Tag nach Ende der Bodengabe bewegte sich die mittlere As-Ausscheidung im Bereich von 10 bis $50 \mu\text{g}/24 \text{h}$.

Bereits am Tag nach Beendigung der Bodengabe waren bei kumulativer Berechnung von Arsenzufuhr über das verabreichte Bodenmaterial und Ausscheidung über den Urin $26,5 \pm 11,6\%$ der über 10 Tage zugeführten Arsenmenge wieder ausgeschieden. Dieser Wert änderte sich im Verlauf der weiteren Beobachtung nicht mehr wesentlich, da nach Ende der Bodenexposition die Arsenausscheidung rasch wieder absank.

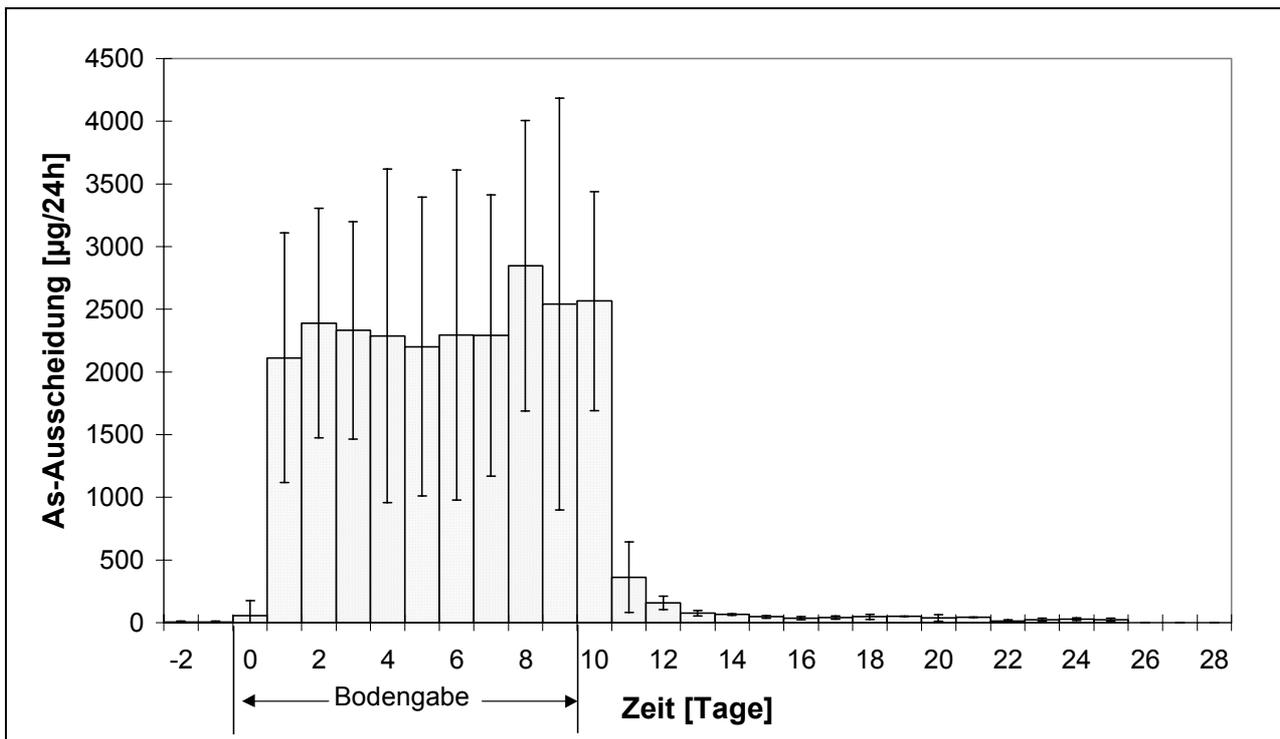


Abb. 2: Renale Arsenausscheidung nach subakuter Gabe ($t=10$ Tage) von Boden 1 (Dosis $337 \mu\text{g As/kg KG}$ und Tag) unter Fütterung mit Experimentalfutter, Mittelwerte \pm Standardabweichung ($n=5$).

3.1.1.3. Bodenmaterial 3

Die mittlere Ausscheidung von Arsen über den Urin betrug vor Beginn der subakuten Verabreichung von Boden 3 $28,7 \pm 10,8 \mu\text{g}/24\text{h}$. Sie stieg bei Beginn der Bodengabe rasch an und erreichte während des Expositionszeitraumes Maxima von 820 bis $2170 \mu\text{g}/24\text{h}$ (Mittelwert $1180 \pm 580 \mu\text{g}/24\text{h}$, $n=5$). Nach Ende der Bodengabe fielen die ausgeschiedenen Urinmengen schnell wieder ab, z. B. nach vier Tagen auf $33,4 \pm 8,4 \mu\text{g}/24\text{h}$.

Die Ermittlung der kumulativen renalen Ausscheidung ergab, daß $13,5 \pm 5,3\%$ der mit dem Boden zugeführten Arsenmenge bis drei Tage nach Beendigung der Bodengabe wieder ausgeschieden wurde.

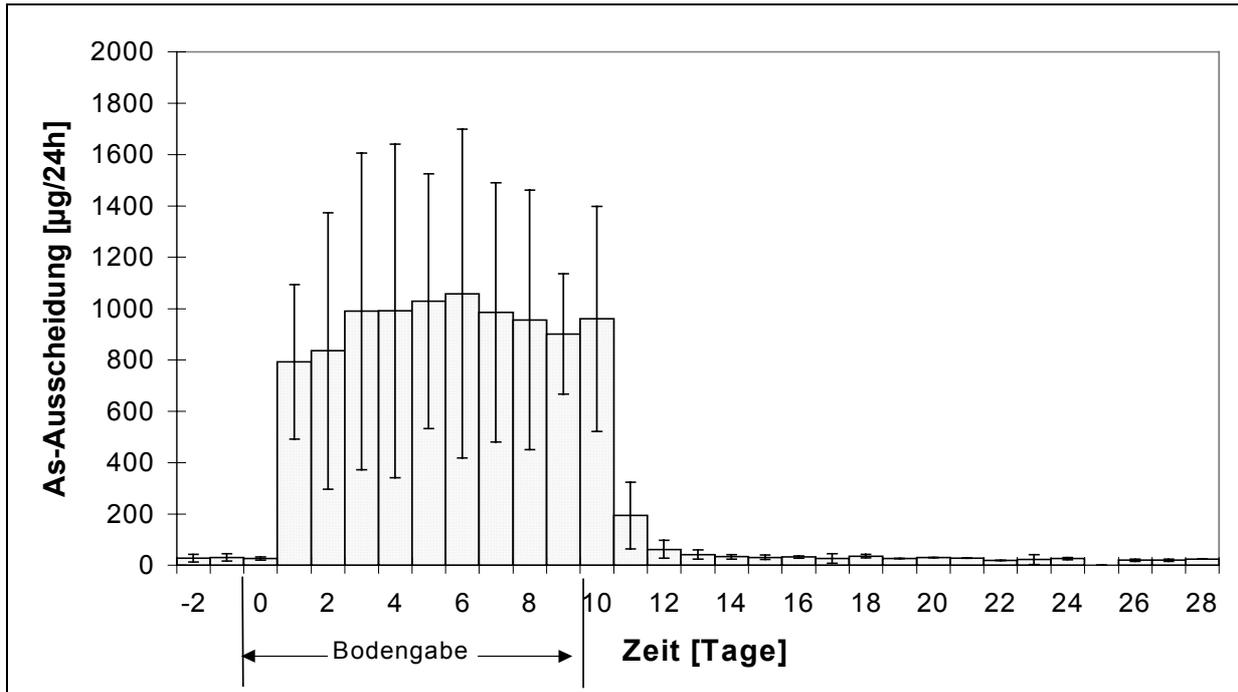


Abb. 3: Renale Arsenausscheidung nach subakuter Gabe (t=10 Tage) von Boden 3 (Dosis 260 µg As/kg KG und Tag), Mittelwerte ± Standardabweichung (n=5).

3.1.2. Organgehalte

Aufgrund des Studiendesigns sind die Organgehalte nur eingeschränkt interpretierbar.

3.1.2.1. Leber

Tab. 19: Arsengehalte in der Leber

Arsengehalte in der Leber			
Versuchsgruppe	As-Dosis* [µg/kg KG/d]	Median [µg/kg TG]	Spannweite [µg/kg TG]
Gruppe 0 (Kontrolle)	0	10	10
Gruppe 1 (Boden 1, Standardfutter)	337	54	10 - 180
Gruppe 2 (Boden 1, Exp.-futter)	337	10	10 - 23
Gruppe 3 (Boden 3, Standardfutter)	260	10	10 - 38
Gruppe 4 (Boden 2, Standardfutter)	5,2	42	25 - 92

* tägliche Dosis bei Bodenverabreichung über 10 Tage

Die Bestimmungsgrenze für Arsen betrug 20 µg/kg TG. Meßwerte unterhalb der Bestimmungsgrenze sind mit der halben Bestimmungsgrenze einbezogen.

3.1.2.2. Niere

Tab. 20: Arsengehalte in der Niere

Arsengehalte in der Niere			
Versuchsgruppe	As-Dosis* [µg/kg KG/d]	Median [µg/kg TG]	Spannweite [µg/kg TG]
Gruppe 0 (Kontrolle)	0	10	10
Gruppe 1 (Boden 1, Standardfutter)	337	69	48 - 94
Gruppe 2 (Boden 1, Exp.-futter)	337	10	10
Gruppe 3 (Boden 3, Standardfutter)	260	10	10 - 30
Gruppe 4 (Boden 2, Standardfutter)	5,2	10	10 - 96

3.2. Blei

3.2.1. Blutbleispiegel nach subakuter Gabe

3.2.1.1. Bodenmaterial 1

Der Verlauf der Blutbleikonzentration ist in Abb. 4 dargestellt.

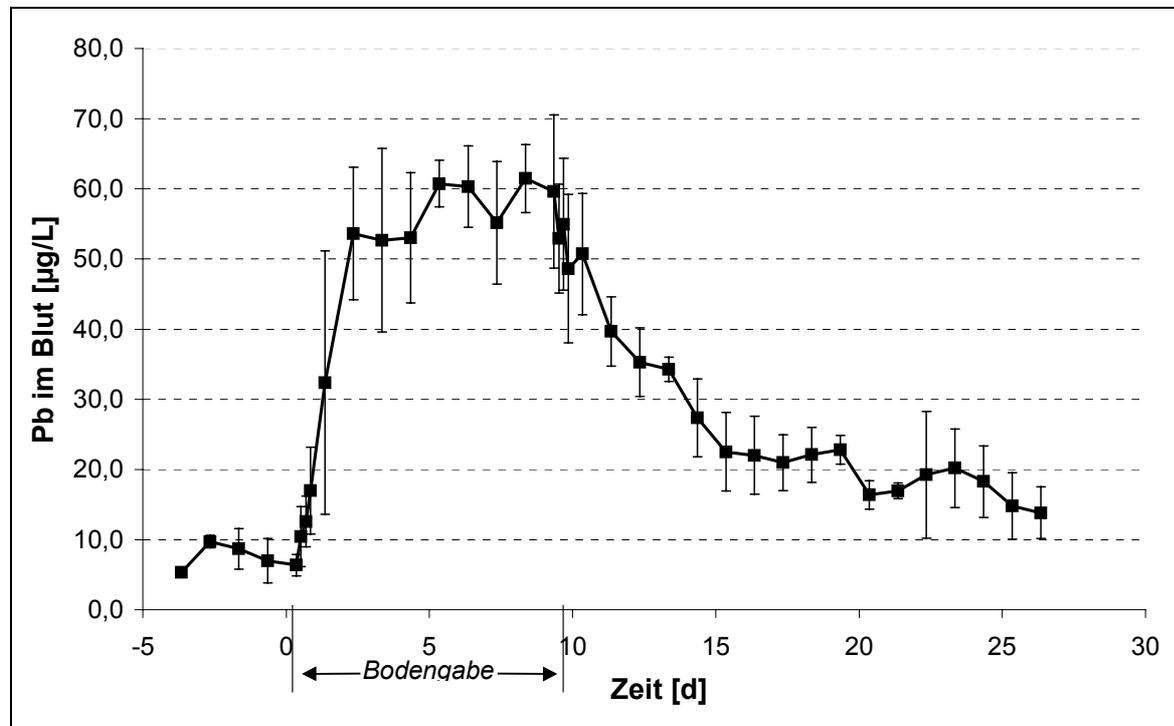


Abb. 4: Blutbleikonzentrations-Zeit-Kurve nach subakuter Gabe ($t = 10$ Tage) von Boden 1 (Dosis $1,525 \text{ mg Pb/kg KG und Tag}$), Mittelwerte \pm Standardabweichung ($n=5$).

Die Hintergrund-Bleigehalte betragen $7,6 \pm 2,5 \text{ µg/L Blut}$ ($n=5$).

Für die pharmakokinetische Analyse wurde ein Ein-Kompartiment-Modell mit Zufuhr wie bei einer Infusion gewählt.

Am zehnten Tag der Bodengabe erreichten die angepaßten Kurven einen mittleren Wert von $60,0 \text{ µg/L}$ ($52,8 - 67,3 \text{ µg/L}$). Dieser war in allen Fällen größer als 95% der errechneten Plateaukonzentration. Die mittlere Halbwertszeit für die Invasion betrug $1,21 \pm 0,38$ Tage. Nach der Bodengabe wurden die Ausgangsbleigehalte im Beobachtungszeitraum nicht wieder erreicht. 16 Tage nach Ende der Bodengabe waren die Blutbleigehalte im Mittel auf $15,0 \text{ µg/L}$ ($12,3 - 21,9 \text{ µg/L}$) abgesunken. Die mittlere Evasions-Halbwertszeit betrug $2,99 \pm 0,80$ Tage).

3.2.1.2. Bodenmaterial 1 mit Experimentalfutter

Boden 1 wurde in einer Menge von 0,5 g/kg KG über einen Zeitraum von zehn Tagen an eine Gruppe von 5 Schweinen verfüttert. Bei zwei Schweinen trat jedoch eine Thrombusbildung im Katheter auf, so daß nur von drei Schweinen Blutproben für die Bestimmung des Blutbleispiegels zur Verfügung standen. Die den Schweinen verabreichte Dosis betrug 1525 µg Pb/kg KG und Tag.

Bleikonzentration im Blut

Vor Beginn der Bodengabe wiesen die Schweine einen Hintergrund-Blutbleispiegel von $11,7 \pm 4,7$ µg/L (15 Messungen an drei Schweinen während fünf Tagen vor Beginn der Bodengabe) auf. Dieser stieg bis zum zehnten Tag der Bodengabe auf $80,5 \pm 22,4$ µg/L (n=3) an. Während des Versuchszeitraumes wurden die Ausgangsgehalte nicht ganz wieder erreicht und lagen 12 Tage nach Beendigung der Bodengabe bei etwa 20 µg/L.

Die Mittelwerte der Blutbleikonzentrations-Zeit- Kurve sind in Abb. 5 dargestellt.

Bei pharmakokinetischer Analyse mit einem Einkompartimentmodell erreichte die entsprechende angepaßte Kurve für die Invasion nach zehntägiger Verabreichung von Bodenmaterial einen Bleigehalt von $92,9 \pm 11,2$ µg/L. Die errechnete Plateaukonzentration betrug $96,8 \pm 17,2$ µg/L.

Die mittlere Evasions-Halbwertszeit betrug $5,5 \pm 2,2$ Tage.

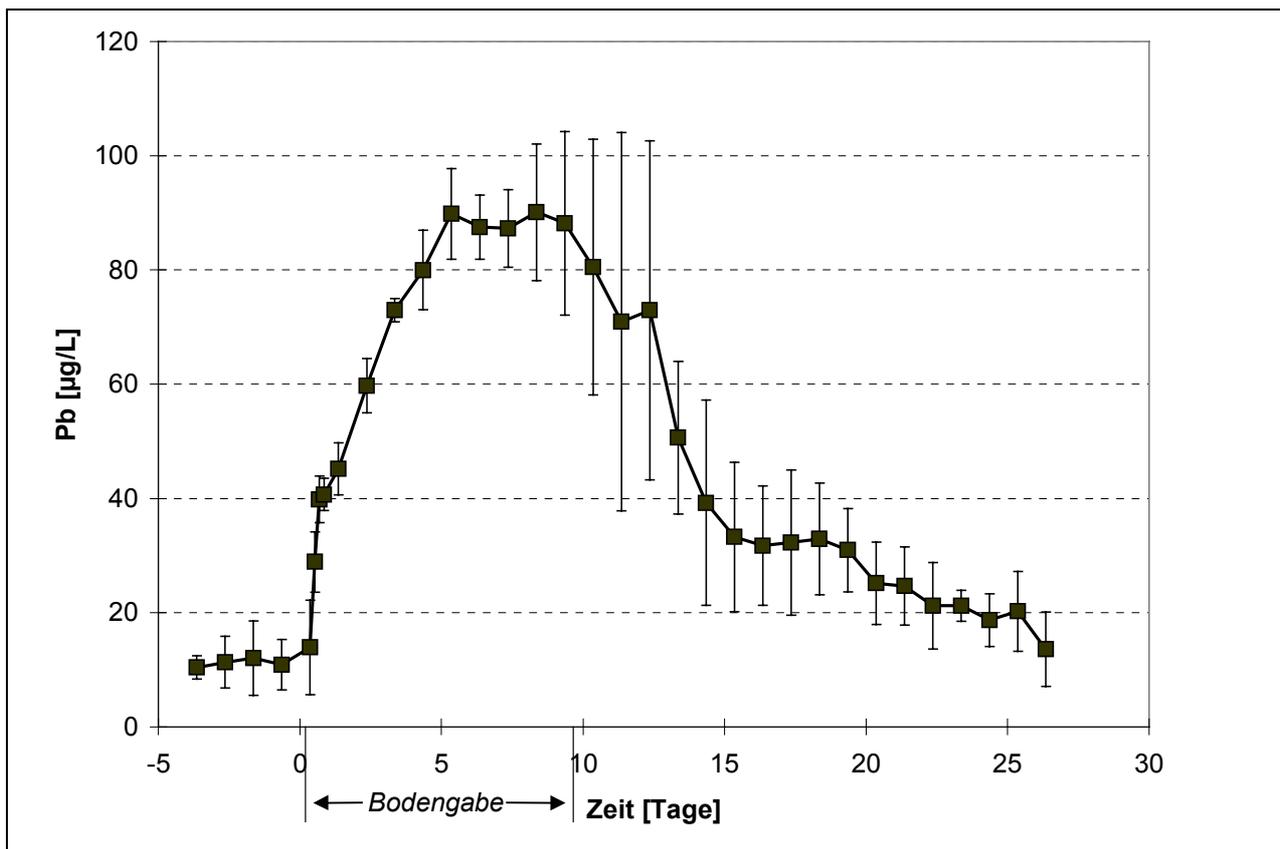


Abb. 5: Blutbleikonzentrations-Zeit-Kurve nach subakuter Gabe (t=10 Tage) von Boden 1 (Dosis 1525 µg Pb/kg KG und Tag) unter Fütterung mit Experimentalfutter, Mittelwerte \pm Standardabweichung (n=3)

3.2.1.3. Bodenmaterial 3

Boden 3 wurde in einer Menge von 0,5 g Boden/kg KG und Tag, dies entspricht einer Dosis von 401 µg Pb/kg KG und Tag, an eine Gruppe von fünf Schweinen mit dem Futter über einen Zeitraum von 10 Tagen verabreicht.

Bleikonzentration

Vor Beginn der Bodengabe betrug die mittlere Bleikonzentration im Blut $8,1 \pm 1,9$ µg/L (n=29 Einzelmessungen an fünf Schweinen innerhalb der neun Tage vor der ersten Bodengabe). Nach 10tägiger Bodengabe war der mittlere Bleigehalt auf $33,6 \pm 7,7$ µg/L angestiegen. 22 Tage nach Beendigung der Bodengabe wurde der Ausgangsbleispiegel wieder erreicht.

Die Mittelwerte der Blutbleikonzentrations-Zeit- Kurve sind in Abb. 6 dargestellt.

Bei pharmakokinetischer Analyse mit einem Einkompartimentmodell erreichte die entsprechende angepaßte Kurve für die Invasion nach zehntägiger Verabreichung von Bodenmaterial einen Bleigehalt von $37,2 \pm 8,6$ µg/L. Die errechnete Plateaukonzentration betrug $42,1 \pm 12,7$ µg/L. 95% dieser Plateaukonzentration wurden nach $11,9 \pm 8,3$ Tagen erreicht.

Die mittlere Evasions-Halbwertszeit betrug $3,2 \pm 1,8$ Tage.

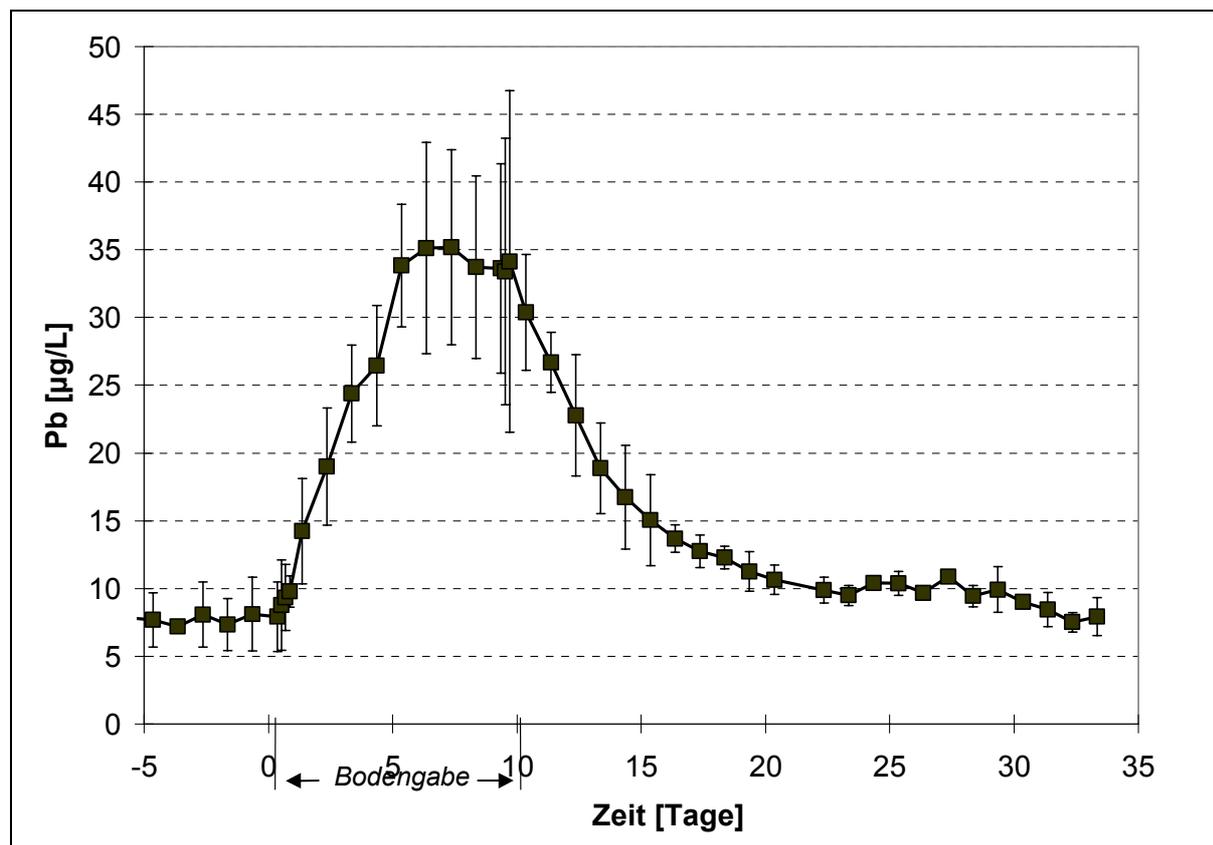


Abb. 6: Blutbleikonzentrations-Zeit-Kurve nach subakuter Gabe (t=10 Tage) von Boden 3 (Dosis 401 µg Pb/kg KG und Tag), Mittelwerte \pm Standardabweichung (n=5).

3.2.2. Bioverfügbarkeit im Blut

3.2.2.1. Bodenmaterial 1

In der folgenden Abbildung ist beispielhaft der Blutbleispiegel im Zeitverlauf nach intravenöser Einmalgabe und nach oraler Einmalgabe dargestellt:

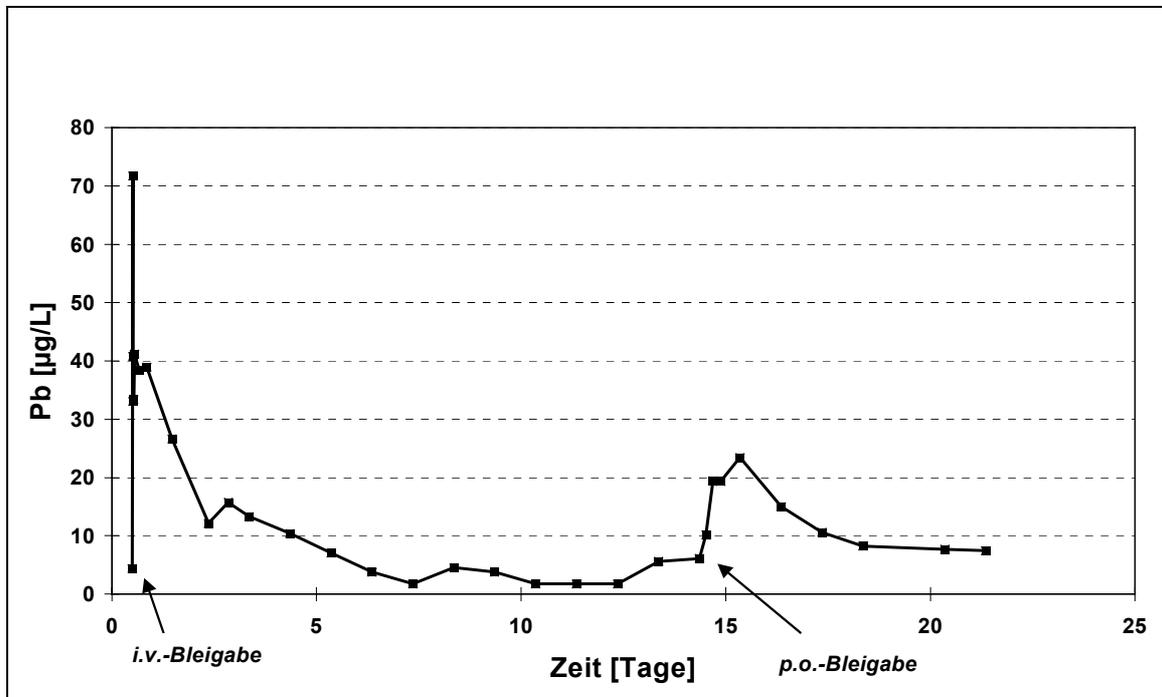


Abb. 7: Blutbleikonzentrations-Zeit-Kurve nach i.v.- sowie p.o.-Einmalgabe (n=1).

Die Bioverfügbarkeit betrug im Mittel 0,32% (0,26 – 0,35%; n = 3).

3.2.2.2. Bodenmaterial 1 mit Experimentalfutter

Die Bioverfügbarkeit, berechnet aus der AUC nach intravenöser Einmalgabe einer Bleiacetat-Lösung und der oralen Einmalgabe von 0,5 g Boden I pro kg Körpergewicht (entspricht 1525 µg Pb/kg KG) betrug $0,63 \pm 0,21$ % (n=3). Die Spannweite betrug 0,46 bis 0,86%.

3.2.2.3. Bodenmaterial 3

Die Bioverfügbarkeit, berechnet aus der AUC nach intravenöser Einmalgabe einer Bleiacetat-Lösung (Dosis zwischen 5,88 und 6,04 µg/kg KG Blei) und der oralen Einmalgabe von 0,5 g Boden 3 pro kg Körpergewicht (entspricht 401 µg Pb/kg KG) betrug $0,5 \pm 0,3$ % (n=5). Die Spannweite betrug 0,2 bis 0,9%.

3.2.3. Renale Ausscheidung nach subakuter Gabe

3.2.3.1. Bodenmaterial 1

Die mittlere renale Bleiausscheidung vor Bodengabe betrug $3,1 \pm 1,4 \mu\text{g}/24\text{h}$, sie stieg nach Beginn der Bodengabe schnell auf 30 bis 40 $\mu\text{g}/24\text{h}$ an. Ausscheidungsmengen im Bereich der Hintergrundwerte waren bis Versuchsende annähernd erreicht (Abb. 8).

Anhand der kumulativen renalen Bleiausscheidung ließ sich ableiten, daß weniger als 0,3% der zugeführten Bleidosis mit dem Urin ausgeschieden wurden.

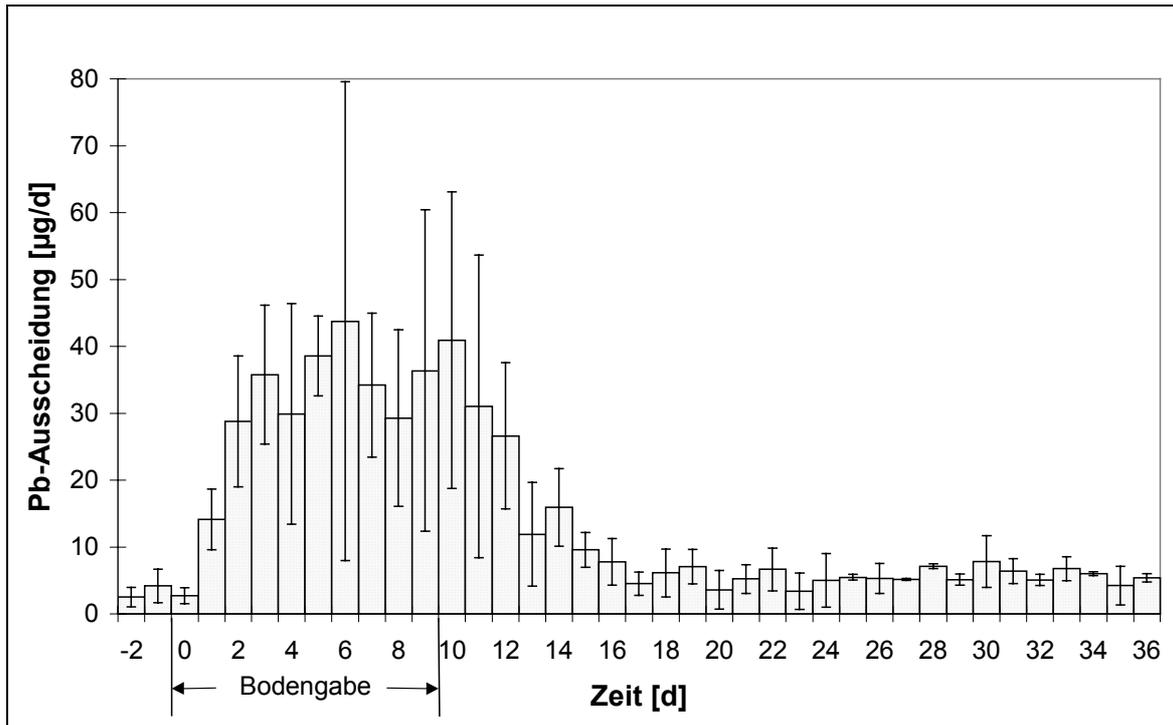


Abb. 8: Renale Bleiausscheidung nach subakuter Gabe ($t = 10$ Tage) von Boden 1 (Dosis 1,525 mg Pb/kg KG und Tag), Mittelwerte \pm Standardabweichung ($n=5$).

3.2.3.2. Bodenmaterial 1 mit Experimentalfutter

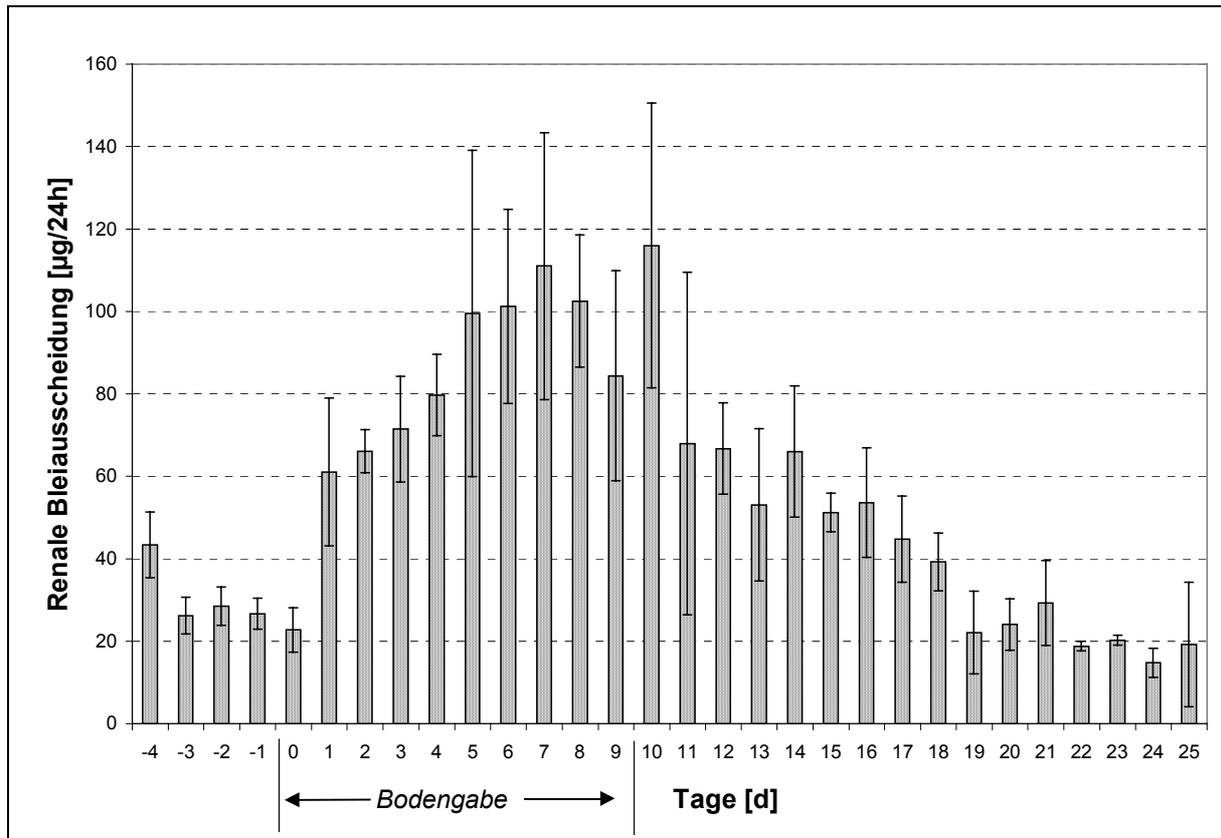


Abb. 9: Renale Bleiauscheidung ($\bar{x} \pm \text{SD}$, $n=4$) nach subakuter Gabe ($t=10$ Tage) von $1525 \mu\text{g Pb/kg KG/d}$ mit Bodenmaterial 1 aus einem verfüllten Absetzbecken eines ehemaligen Erzbergwerks (3050 mg Pb/kg TS) unter Gabe von Experimentalfutter.

3.2.3.3. Bodenmaterial 3

Die Hintergrundwerte der Bleiausscheidung über den Urin betragen $7,9 \pm 7,4 \mu\text{g}/24\text{h}$ (n=25 Messungen an fünf Schweinen an fünf Tagen vor Beginn der Bodenverabreichung). Während der zehntägigen Bodengabe stieg die Bleiausscheidung auf $35,1 \pm 24,2 \mu\text{g}/24\text{h}$ an und fiel anschließend kontinuierlich wieder ab. Etwa 12 Tage nach Expositionsende waren die Hintergrundwerte wieder erreicht.

Die renale Ausscheidung von Blei nach subakuter Bodengabe ist in Abb. 10 dargestellt.

Die kumulative renale Ausscheidung betrug bis Tag 9 nach Ende der Bodenverabreichung $0,27 \pm 0,14\%$.

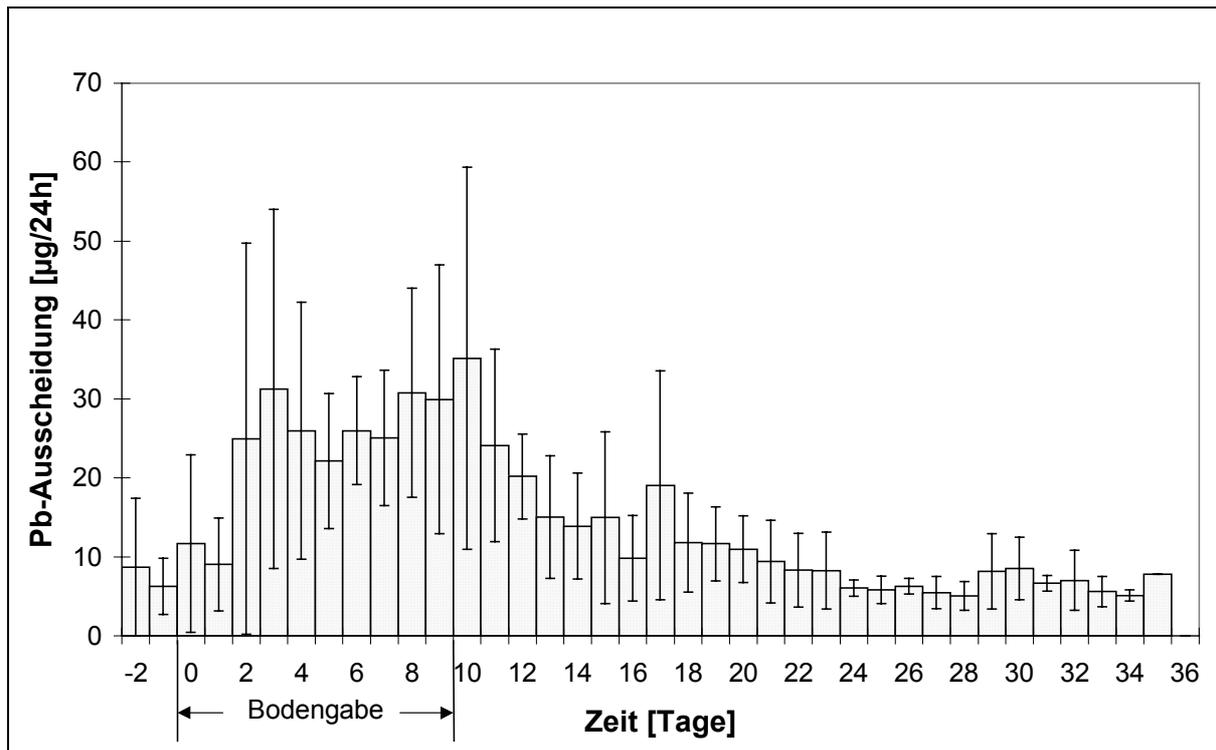


Abb. 10: Renale Bleiausscheidung nach subakuter Gabe (t=10 Tage) von Boden 3 (Dosis $401 \mu\text{g Pb/kg KG}$ und Tag), Mittelwerte \pm Standardabweichung (n=5).

3.2.4. Organgehalte

Aufgrund des Studiendesigns sind die Organgehalte nur eingeschränkt interpretierbar.

3.2.4.1. Leber

Tab. 21: Bleigehalte in der Leber

Bleigehalte in der Leber			
Versuchsgruppe	Pb-Dosis* [µg/kg KG/d]	Median [µg/kg TG]	Spannweite [µg/kg TG]
Gruppe 0 (Kontrolle)	0	57	35 - 75
Gruppe 1 (Boden 1, Standardfutter)	1525	207	139 - 318
Gruppe 2 (Boden 1, Exp.-futter)	1525	144	65 - 164
Gruppe 3 (Boden 3, Standardfutter)	401	102	65 - 502
Gruppe 4 (Boden 2, Standardfutter)	16,3	86	60 - 300

3.2.4.2. Niere

Tab. 22: Bleigehalte in der Niere

Bleigehalte in der Niere			
Versuchsgruppe	Pb-Dosis* [µg/kg KG/d]	Median [µg/kg TG]	Spannweite [µg/kg TG]
Gruppe 0 (Kontrolle)	0	92	76 - 96
Gruppe 1 (Boden 1, Standardfutter)	1525	152	129 - 355
Gruppe 2 (Boden 1, Exp.-futter)	1525	203	120 - 296
Gruppe 3 (Boden 3, Standardfutter)	401	122	74 - 133
Gruppe 4 (Boden 2, Standardfutter)	16,3	86	26 - 200

* tägliche Dosis bei Bodenverabreichung über 10 Tage

3.3. Cadmium

Weder unter subakuter Verabreichung von Bodenmaterial 1 (Cadmiumgehalt 22 mg/kg, Cadmiumdosis 11 µg/kg KG/d) noch unter subakuter Verabreichung von Bodenmaterial 3 (Cadmiumgehalt 15,4 mg/kg, Cadmiumdosis 7,7 µg/kg KG/d) zeigte sich ein Anstieg der Blutcadmiumspiegel, sodaß kein Anhaltspunkt für eine Absorption von Cadmium aus diesen Bodenmaterialien vorliegt. Der Median der untersuchten Blutproben lag unterhalb der Bestimmungsgrenze von 0,4 µg/L.

3.3.1. Organgehalte

Aufgrund des Studiendesigns sind die Organgehalte nur eingeschränkt interpretierbar.

3.3.1.1. Leber

Tab. 23: Cadmiumgehalte in der Leber

Cadmiumgehalte in der Leber			
Versuchsgruppe	Cd-Dosis* [µg/kg KG/d]	Median [µg/kg TG]	Spannweite [µg/kg TG]
Gruppe 0 (Kontrolle)	0	41	36 - 65
Gruppe 1 (Boden 1, Standardfutter)	11	156	137 - 250
Gruppe 2 (Boden 1, Exp.-futter)	11	218	136 - 441
Gruppe 3 (Boden 3, Standardfutter)	7,7	140	85 - 172
Gruppe 4 (Boden 2, Standardfutter)	0,2	143	115 - 397

* tägliche Dosis bei Bodenverabreichung über 10 Tage

3.3.1.2. Niere

Tab. 24: Cadmiumgehalte in der Niere

Cadmiumgehalte in der Niere			
Versuchsgruppe	Cd-Dosis* [µg/kg KG/d]	Median [µg/kg TG]	Spannweite [µg/kg TG]
Gruppe 0 (Kontrolle)	0	359	321 - 401
Gruppe 1 (Boden 1, Standardfutter)	11	959	864 - 1341
Gruppe 2 (Boden 1, Exp.-futter)	11	1261	187 – 2669
Gruppe 3 (Boden 3, Standardfutter)	7,7	771	671 - 1026
Gruppe 4 (Boden 2, Standardfutter)	0,2	791	492 - 1033

* tägliche Dosis bei Bodenverabreichung über 10 Tage

3.4. Quecksilber (Bodenmaterial 2)

3.4.1. Blutquecksilberspiegel nach subakuter Gabe

Der Verlauf der Blutquecksilber-Konzentration ist in Abb. 11 dargestellt.

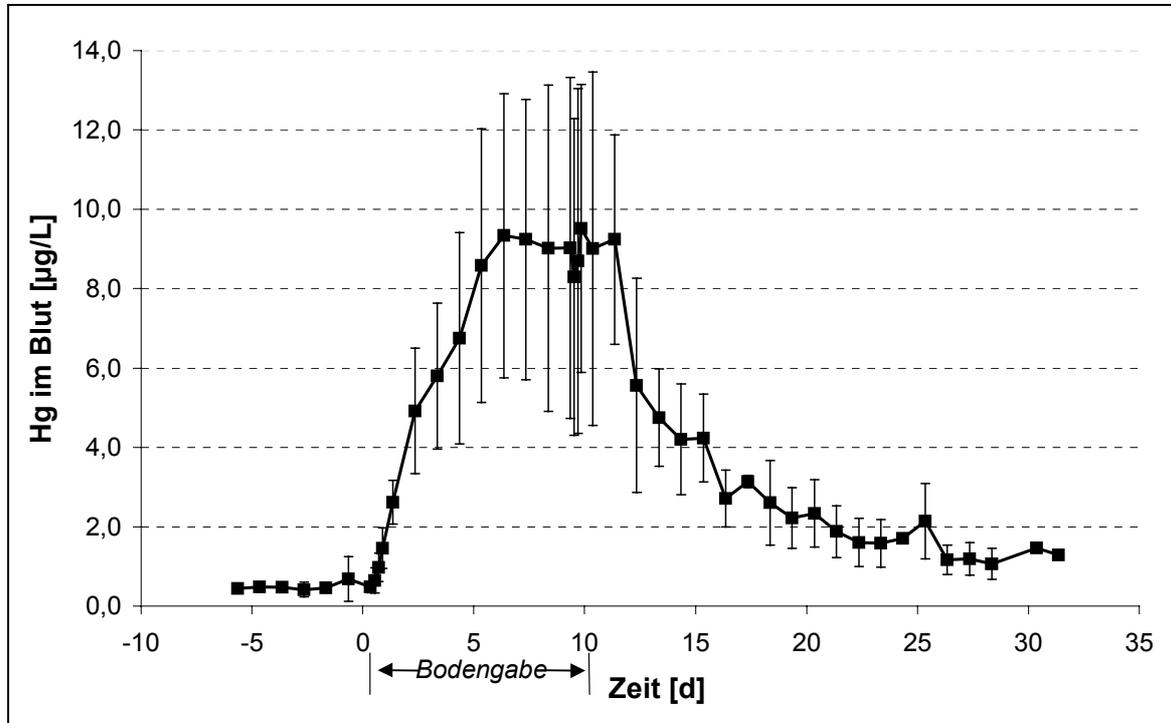


Abb. 11: Blutquecksilberkonzentrations-Zeit-Kurve nach subakuter Gabe ($t = 10$ Tage) von Boden 2 (Dosis $83,5 \mu\text{g Hg/kg KG}$ und Tag), Mittelwerte \pm Standardabweichung ($n=5$).

Die Hintergrund-Quecksilbergehalte im Blut betragen $0,47 \pm 0,16 \mu\text{g/L}$.

Bei der pharmakokinetischen Analyse mit einem Ein-Kompartiment-Modell mit Zufuhr wie bei einer Infusion erreichten die angepaßten Kurven am zehnten Tag der Bodengabe einen mittleren Wert von $9,39 \pm 4,1 \mu\text{g/L}$. Dieser erreichte in allen Fällen nahezu 95% der errechneten Plateaukonzentration. Die mittlere Halbwertszeit für die Invasion betrug $1,86 \pm 0,82$ Tage.

Nach der Bodengabe wurden die Ausgangsquecksilbergehalte im Blut während des Beobachtungszeitraums nicht wieder erreicht. 18 Tage nach Ende der Bodengabe waren die Blutquecksilbergehalte im Mittel auf $1,07 \pm 0,39 \mu\text{g/L}$ gesunken. Die mittlere Evasions-Halbwertszeit betrug $3,49 \pm 1,13$ Tage.

3.4.2. Bioverfügbarkeit im Blut

Die Bioverfügbarkeit von Quecksilber aus dem obengenannten Boden betrug $2,5 \pm 1,4\%$ ($n=4$).

3.4.3. Renale Ausscheidung nach subakuter Gabe

Die Hintergrundwerte der renalen Quecksilberausscheidung betragen $0,3 \pm 0,1 \mu\text{g/24h}$. Während der Bodengabe stieg die mittlere renale Quecksilberausscheidung langsam auf Werte von etwa $7 \mu\text{g/24h}$. Am 25. Tag nach Beendigung der Bodengabe wurden noch $3,5 \mu\text{g/24h}$ ausgeschieden, so daß innerhalb des Beobachtungszeitraumes die Hintergrundwerte bei weitem nicht erreicht wurden. Unter dieser Vor-

aussetzung wurden bis zum 35. Tag nach Beendigung der Bodengabe $\bar{x} = 0,74\%$ ($r = 0,37 - 1,09\%$) der zugeführten Quecksilberdosis kumulativ mit dem Urin ausgeschieden.

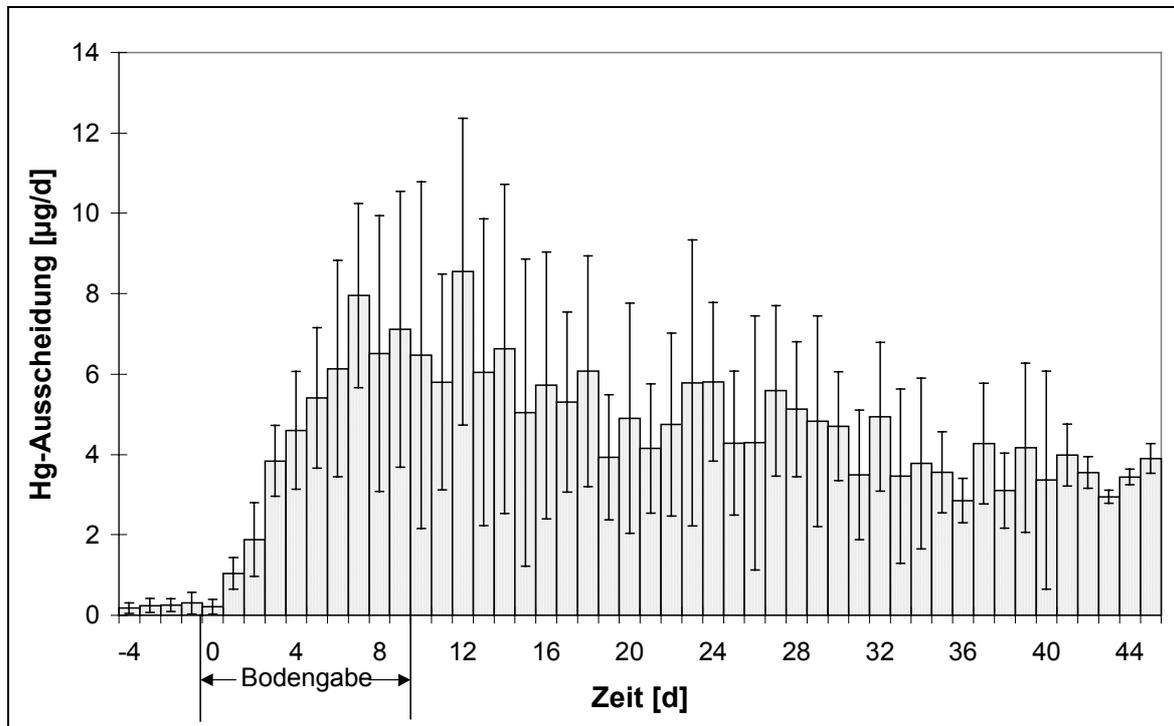


Abb. 12: Renale Quecksilberausscheidung nach subakuter Gabe ($t = 10$ Tage) von Boden 2 (Dosis $83,5 \mu\text{g Hg/kg KG}$ und Tag), Mittelwert \pm Standardabweichung ($n=5$).

3.4.4. Organgehalte

Aufgrund des Studiendesigns sind die Organgehalte nur eingeschränkt interpretierbar.

3.4.4.1. Leber

Tab. 25: Quecksilbergehalte in der Leber

Quecksilbergehalte in der Leber			
Versuchsgruppe	Hg-Dosis* [$\mu\text{g/kg KG/d}$]	Median [$\mu\text{g/kg TG}$]	Spannweite [$\mu\text{g/kg TG}$]
Gruppe 0 (Kontrolle)	0	3,8	3,1 - 40
Gruppe 4 (Boden 2, Standardfutter)	83,5	380	203 - 520

* tägliche Dosis bei Bodenverabreichung über 10 Tage

3.4.4.2. Niere

Tab. 26: Quecksilbergehalte in der Niere

Quecksilbergehalte in der Niere			
Versuchsgruppe	Hg-Dosis* [µg/kg KG/d]	Median [µg/kg TG]	Spannweite [µg/kg TG]
Gruppe 0 (Kontrolle)	0	314	111 - 435
Gruppe 4 (Boden 2, Standardfutter)	83,5	9950	5550 - 15700

* tägliche Dosis bei Bodenverabreichung über 10 Tage

4. Diskussion

4.1. Arsen

4.1.1. Fütterungsversuch mit Boden 1 mit Standardfutter

Die Absorption von Arsen aus Bodenmaterial wurde durch die Ermittlung der kumulativen renalen Exkretion abgeschätzt. Arsen weist von den von uns untersuchten Elementen die höchste Absorptionsrate auf. Der infolge subakuter Gabe von 337 µg/kg KG und Tag aus Bodenmaterial 1 mit dem Urin ausgeschiedene Anteil der zugeführten Arsenmenge beträgt im Mittel 17%. Dieser Wert steht in guter Übereinstimmung mit publizierten Studien. So fanden FREEMAN et al. (1995) in Affen (*Cynomolgus spec.*) eine absolute Bioverfügbarkeit von 14% nach der Verabreichung von Bodenmaterial in einer Arsendosis von 0,62 mg As/kg KG, bezogen auf die Ausscheidung im Urin im Vergleich zur Ausscheidung von Arsen nach intravenöser Verabreichung von Natriumarsenat. In einer Studie an Kaninchen ermittelten FREEMAN et al. (1993) bei der Verabreichung von arsenhaltigem Bodenmaterial in Dosen zwischen 0,78 und 3,9 mg As/kg KG durch die Bestimmung der mit dem Urin ausgeschiedenen Arsenmengen eine absolute Bioverfügbarkeit von im Mittel 24%. GROEN et al. (1994) ermittelten an Beagles nach Gabe von arsenhaltigem Bodenmaterial (97 mg/kg) auf der Basis der mit dem Urin ausgeschiedenen Mengen (im Vergleich zu der ausgeschiedenen Menge nach intravenöser Gabe von Arsenoxid) eine absolute Bioverfügbarkeit von 8,3%.

Auch der schnelle Abfall der Urinkonzentrationen nach Ende der Exposition steht in Übereinstimmung mit den zitierten Studien.

4.1.2. Fütterungsversuch mit Boden 1 mit Experimentalfutter

Im Mittel wurden etwa 26% des in dem Boden vorhandenen Arsens aufgenommen. Ebenso wie bei Boden 3 stiegen die ausgeschiedenen Arsenmengen bei Bodenverabreichung schnell an und fielen nach Ende der Exposition schnell wieder ab.

Auch die unter Verabreichung von Experimentalfutter festgestellte kumulative renale Exkretion von 26% liegt im Bereich dessen, was in den oben zitierten Studien festgestellt wurde.

4.1.3. Fütterungsversuch mit Boden 3

Auch die relative kumulative renale Ausscheidung liegt mit 13,5% in dem Bereich der Ergebnisse anderer Studien (s.o.).

4.1.4. Vergleich der kumulativen renalen Exkretion von Arsen nach oraler Verabreichung von zwei verschiedenen Bodenmaterialien bei gleichen Fütterungsbedingungen.

Tab. 27: Vergleich der Ergebnisse der subakuten Verabreichung (t = 10 d) von Boden 1 und von Boden 3, jeweils bei Fütterung von Standardfutter

Parameter	Boden 1	Boden 3
Tägliche Arsendosis aus Bodenmaterial [$\mu\text{g}/\text{kg KG}/\text{d}$]	337	260
Kumulative renale Exkretion, $x \pm \text{SD}$ [%]	$16,7 \pm 3,2$	$13,5 \pm 5,3$

In den beiden Bodenmaterialien liegen ähnliche Arsengehalte vor. Die kumulative renale Exkretion nach zehntägiger oraler Verabreichung von 0,5 g Bodenmaterial / kg Körpergewicht unterscheidet sich nicht signifikant. Da diese Untersuchungen nur an zwei Bodenmaterialien mit relevanten Arsen-Gehalten durchgeführt wurden, sollte aus diesem Befund noch nicht geschlossen werden, daß die Arsenabsorption aus dem Boden vom Bodenmaterial unabhängig ist.

4.1.5. Vergleich der kumulativen renalen Exkretion von Arsen nach oraler Verabreichung eines Bodenmaterials bei unterschiedlichen Fütterungsbedingungen.

Tab. 28: Vergleich der Ergebnisse der subakuten Verabreichung (t = 10 d) von Boden 1 bei Fütterung von Standardfutter und bei Fütterung von Experimentalfutter

Parameter	Fütterung mit Standardfutter	Fütterung mit Experimentalfutter
Tägliche Arsendosis aus Bodenmaterial [$\mu\text{g}/\text{kg KG}/\text{d}$]	337	337
Kumulative renale Exkretion, $x \pm \text{SD}$ [%]	$16,7 \pm 3,2$	$26,5 \pm 11,6$

Die Ursache der erhöhten relativen kumulativen renalen Exkretion von Arsen unter Fütterung mit Experimentalfutter kann weder aus unserer Untersuchung noch aus der Literatur eindeutig erklärt werden.

4.2. Blei

4.2.1. Fütterungsversuch mit Boden 1 mit Standardfutter

Wenn man den aktuellen HBM-I-Wert von 100 µg/L für den Menschen, bei dessen Unterschreitung nicht mit einer gesundheitlichen Beeinträchtigung zu rechnen ist, auch für die toxikologische Bewertung der Blutbleigehalte beim Minischwein zugrundelegt, so werden bei Verfütterung von Boden 1 in einer Dosis von 1525 µg/kg KG und Tag über zehn Tage keine toxikologisch relevanten Blutbleispiegel erreicht.

Die Bioverfügbarkeit des Bleis ist mit < 1% sehr gering. Die prozentuale kumulative renale Ausscheidung liegt unterhalb der Bioverfügbarkeit. Damit sind diese Befunde plausibel.

Die Bioverfügbarkeit des Bleis aus dem im vorliegenden Projekt eingesetzten Boden liegt wesentlich unter der von CASTEEL et al. (1997) für Böden aus Colorado (USA) an Schweinen ermittelten. CASTEEL fand eine absolute Bioverfügbarkeit von 28% aus einem Boden mit 14 200 µg/kg Blei und von 29% aus einem Boden mit 3870 µg/kg Blei. FREEMAN et al. (1994) fanden nach Verfütterung von Bergwerksabraum an Ratten eine absolute Bioverfügbarkeit (auf der Basis der nach einer 30tägigen oralen Verabreichung erreichten terminalen Blutkonzentration) von etwa 3%. Die Unterschiede in der Bioverfügbarkeit zwischen der Studie von CASTEEL et al., der Studie von FREEMAN et al. und unseren Untersuchungen beruhen möglicherweise auf der Verwendung unterschiedlicher Bodenmaterialien. Wie In-vitro-Untersuchungen von HACK et al. (1998) am Magen-Darm-Modell zeigen, schwankt die Mobilisierbarkeit von Kontaminanten in Böden erheblich.

Um die Schwermetallbindungsformen des von uns untersuchten Bodenmaterials 1 zu charakterisieren, wurde im Rahmen eines Umweltgutachtens (AHU – Büro für Hydrogeologie und Umwelt GmbH 1995) eine sequentielle Extraktion nach ZEIEN UND BRÜMMER (1991) durchgeführt. Dabei zeigte sich, daß der Maximalgehalt in Fraktion VI, also in einer an kristalline Eisenoxide gebundenen, schwer mobilisierbaren Form vorliegt. Daneben liegen in geringerem Umfang auch leichter mobilisierbare Anteile vor.

4.2.2. Fütterungsversuch mit Boden 1 mit Experimentalfutter

Bei Verabreichung von Boden 1 an Schweine, die mit einer faser- und mineralstoffarmen Kost gefüttert wurden, führt eine Dosis von 1525 µg Pb/kg KG und Tag zu Blutbleispiegeln in der Nähe des HBM-I-Wertes. Dabei ist zu berücksichtigen, daß die verabreichten Bodenmengen etwa dem zehnfachen der abgeschätzten Bodenaufnahme bei Kleinkindern durch Hand-zu-Mund-Aktivität entsprechen. Die Bioverfügbarkeit des Bleis aus diesem Bodenmaterial liegt ebenfalls unter 1%. Dieser Wert liegt ebenfalls unter dem von CASTEEL et al. (1997) für Böden aus Colorado ermittelten.

4.2.3. Fütterungsversuch mit Boden 3

Auch bei der Verabreichung von Boden 3 fand sich eine sehr geringe Bioverfügbarkeit, die unter 1 % liegt. Die kumulative renale Exkretion liegt unterhalb der Bioverfügbarkeit. Damit sind diese Befunde untereinander plausibel. Auch in diesem Boden liegt der größte Teil des Bleis in schwer löslichen Bindungsformen (Bleisulfid) vor. Möglicherweise erklärt diese Tatsache die im Vergleich zu anderen Studien geringe Bioverfügbarkeit des Bleis aus dem Bodenmaterial.

4.2.4. Vergleich der Ergebnisse der subakuten oralen Verabreichung von zwei verschiedenen bleihaltigen Bodenmaterialien bei gleichen Fütterungsbedingungen.

Tab. 29: Vergleich der Ergebnisse der subakuten Verabreichung (t = 10 d) von Boden 1 und von Boden 3, jeweils bei Fütterung von Standardfutter

Parameter	Boden 1	Boden 3
Tägliche Bleidosis aus Bodenmaterial [$\mu\text{g}/\text{kg KG}/\text{d}$]	1525	401
Plateaukonzentration der Anpassungskurve der Blutbleikonzentrationen [$\mu\text{g}/\text{L}$]	60 ± 6	42 ± 13
Bioverfügbarkeit auf der Basis der AUC der Blutbleikonzentrations-Zeitkurven, $x \pm \text{SD}$ [%]	$0,32 \pm 0,05$	$0,5 \pm 0,3$
Kumulative renale Exkretion, $x \pm \text{SD}$ [%]	< 0,2	$0,3 \pm 0,1$

Die geringere Bleidosis bei Gabe von Boden 3 resultiert erwartungsgemäß in einer geringeren Plateaukonzentration der Anpassungskurve. Die Bioverfügbarkeit ist in beiden Fällen gering und unterscheidet sich nicht deutlich. Gleiches gilt für die kumulative renale Ausscheidung.

4.2.5. Vergleich der kumulativen renalen Exkretion von Blei nach oraler Verabreichung eines Bodenmaterials bei unterschiedlichen Fütterungsbedingungen.

Tab. 30: Vergleich der Ergebnisse der subakuten Verabreichung (t = 10 d) von Boden 1 bei Fütterung von Standardfutter und bei Fütterung von Experimentalfutter

Parameter	Fütterung mit Standardfutter	Fütterung mit Experimentalfutter
Tägliche Bleidosis aus Bodenmaterial [$\mu\text{g}/\text{kg KG}/\text{d}$]	1525	1525
Plateaukonzentration der Anpassungskurve der Blutbleikonzentrationen [$\mu\text{g}/\text{L}$]	60 ± 6	97 ± 17
Bioverfügbarkeit auf der Basis der AUC der Blutbleikonzentrations-Zeitkurven, $x \pm \text{SD}$ [%]	$0,32 \pm 0,05$	$0,63 \pm 0,21$
Kumulative renale Exkretion, $x \pm \text{SD}$ [%]	< 0,2	$0,4 \pm 0,3$

Durch den Einsatz eines mineralstoff- und faserärmeren Futters (Experimentalfutter) erhöhte sich sowohl die Bioverfügbarkeit auf der Basis der Blutbleikonzentrations-Zeit-Kurve als auch die kumulative renale Exkretion auf etwa das Doppelte gegenüber der Verwendung des Standardfutters. Auch die erreichte Plateaukonzentration der angepaßten Blutbleikonzentrations-Zeit-Kurve lag etwa 1,5fach höher als in der Standardfuttergruppe. Aus tierexperimentellen Studien ist ein Zusammenhang zwischen dem Calcium-Gehalt der Nahrung und der Absorption von Blei aus dem Gastrointestinaltrakt bekannt (SIX & GOYER 1970, BARTON et al. 1978, MAHAFFEY et al. 1973). Ein hoher Calcium-Gehalt der Nahrung führte zu einer geringeren Aufnahme von Blei. Auch Eisenmangel führte im Tierexperiment zu einer Erhöhung der Bleiabsorption aus dem Verdauungstrakt (SIX & GOYER 1972). Experimentelle Befunde deuten darauf hin, daß auch Zinkmangel die Bleiabsorption erhöht (GOYER 1995).

Auf dem Hintergrund der insgesamt geringen Bioverfügbarkeit, die in beiden Fällen unter 1% liegt, bleibt dieser Befund aber für die Risikoabschätzung von geringer Bedeutung.

4.3. Cadmium

In den untersuchten Böden konnte unter oraler Gabe der cadmiumhaltigen Bodenmaterialien keine Erhöhung der Blutcadmiumkonzentrationen festgestellt werden. Auf diesem Hintergrund wurden zur Bioverfügbarkeit von Cadmium keine weitergehenden Untersuchungen angestellt.

4.4. Quecksilber

Nach unserem Kenntnisstand gibt es bisher keine tierexperimentellen Studien, in denen die Absorption von Quecksilber aus Bodenmaterialien nach oraler Aufnahme durch Bestimmung der Bioverfügbarkeit auf der Basis der AUC der Blutquecksilberkonzentrations-Zeit-Kurve oder der kumulativen renalen Exkretion bestimmt wurde.

Es liegen die Ergebnisse aus zwei Studien vor, in denen die Quecksilberretention im Körper nach oraler Gabe von quecksilberhaltigen Klärschlämmen mit dem Futter an Ochsen (VON KIENHOLZ et al. 1979) und Rinder (JOHNSON et al. 1981) untersucht wurde. Dabei wurde auf der Basis der Messung von Organgehalten eine Retention 0,07% (VON KIENHOLZ et al. 1979) bzw. 0,6% (JOHNSON et al. 1981) gefunden. Aufgrund des anderen Zielparameters ist das Ergebnis dieser Studien nicht direkt mit unseren Ergebnissen vergleichbar.

Die Bioverfügbarkeit von 2,5 +/- 1,4% liegt unterhalb der von der EPA angenommenen Absorptionsquote von 7 (-15) % für anorganische Quecksilbersalze (EPA 1988) und weit unterhalb der für Methylquecksilber angenommenen vollständigen Resorption (WHO 1990).

5. Zusammenfassung

Ziel unseres Vorhabens war die Untersuchung der Toxikokinetik, insbesondere der Bioverfügbarkeit, von Arsen, Blei, Cadmium und Quecksilber nach oraler Aufnahme aus verschiedenen Bodenmaterialien im Tiermodell. Hintergrund dieser Fragestellung ist die Abschätzung der Gefahr, die Kindern durch die orale Aufnahme kontaminierter Böden durch direkten Hand-zu-Mund-Kontakt entsteht. In diesem Zusammenhang war bisher unklar, in welchem Ausmaß bodengebundene Schadstoffe gastrointestinal absorbiert werden.

Als Tiermodell wurde das Münchener Minischwein ausgewählt. Die Bioverfügbarkeit von Blei und Quecksilber im pharmakologischen Sinne (Bioverfügbarkeit i.e.S.) wurde durch die Ermittlung der AUC der Blutspiegel-Zeit-Kurve nach oraler Einmal-Exposition gegenüber kontaminiertem Bodenmaterial versus der AUC der Blutkonzentrations-Zeit-Kurve nach intravenöser Gabe von Bleiacetat bzw. Quecksilbernitrat bestimmt. Weiterhin wurden die aus einer subakuten oralen Bodenexposition über zehn Tage resultierenden Blut- und Uringehalte ermittelt, um daraus Erkenntnisse über das Ausmaß der Absorption zu gewinnen. Die Bioverfügbarkeit von Arsen wurde durch die kumulative renale Exkretion nach subakuter oraler Gabe eines kontaminierten Bodens abgeschätzt. Ziel war weiter die Untersuchung der Aufnahme von Cadmium aus Bodenmaterial. Die orale Gabe entsprechender Böden hatte aber keine erhöhten Gehalte von Cadmium im Blut oder Urin der exponierten Schweine zur Folge.

Um den Einfluß von Nahrungsbestandteilen auf die Absorption der untersuchten Stoffe abzuschätzen, wurde beispielhaft eines der untersuchten Bodenmaterialien zusätzlich mit einem Experimentalfutter verfüttert, welches gegenüber dem Standardfutter reduzierte Gehalte an Mineral- und Faserstoffen aufwies. Die Gehalte des Experimentalfutters an Mineral- und Faserstoffen waren so bemessen, daß die körpergewichtsbezogene Zufuhr für das Schwein derjenigen von Kindern entsprach.

Die wichtigsten Ergebnisse sind im folgenden kurz zusammengefaßt:

1. Arsen

Bodenmaterial 1 enthielt 674 mg/kg Arsen. Daraus resultierte eine zugeführte Dosis von 337 µg/kg KG/d. Die kumulative renale Ausscheidung betrug $\bar{x} = 16,7 \pm 3,2\%$ ($r = 14,2 - 21,7\%$; $n=5$). Unter Gabe von Experimentalfutter, aber sonst gleichen Versuchsbedingungen, erhöhte sich die kumulative renale Ausscheidung auf $26,5 \pm 11,6\%$.

Bei subakuter Verabreichung von Bodenmaterial 3 (Arsengehalt 520 mg/kg, Arsendosis 260 µg/kg KG/d) wurden $13,5 \pm 5,3\%$ kumulativ renal wieder ausgeschieden.

2. Blei

Bodenmaterial 1 enthielt 3050 mg/kg Blei. Bei Verabreichung von 0,5 g Boden/kg KG und Tag resultierte eine Bleidosis von 1525 µg/kg KG/d. Die Bioverfügbarkeit i.e.S. betrug 0,32 % ($r = 0,26 - 0,35\%$, $n=3$). Die kumulative renale Bleiausscheidung nach subakuter Gabe lag unterhalb von 0,3 % ($n=5$).

Bei Verabreichung des gleichen Bodenmaterials unter Fütterung der Schweine mit dem Experimentalfutter, aber unter sonst gleichen Versuchsbedingungen, wurde eine Bioverfügbarkeit von $0,63 \pm 0,21\%$ ($r = 0,46 - 0,86\%$, $n=3$) und eine kumulative renale Exkretion von $0,4 \pm 0,3$ ($n=5$) ermittelt.

Bodenmaterial 3 enthielt 802 mg/kg Blei. Es resultierte eine Bleidosis von 401 µg/kg KG/d. Die Bioverfügbarkeit i.e.S. betrug $0,5 \pm 0,3\%$ ($r = 0,2 - 0,9\%$, $n=5$). Die kumulative renale Bleiausscheidung nach subakuter Gabe lag unterhalb von 0,3 % ($n=5$). Die kumulative renale Ausscheidung betrug $0,27 \pm 0,14\%$.

3. Cadmium

Weder unter subakuter Verabreichung von Bodenmaterial 1 (Cadmiumgehalt 22 mg/kg, Cadmiumdosis 11 µg/kg KG/d) noch unter subakuter Verabreichung von Bodenmaterial 3 (Cadmiumgehalt 15,4 mg/kg, Cadmiumdosis 7,7 µg/kg KG/d) zeigte sich ein Anstieg der Blutcadmiumspiegel, sodaß kein Anhaltspunkt für eine Absorption von Cadmium aus diesen Bodenmaterialien vorliegt.

4. Quecksilber

Bodenmaterial 2 enthielt 167 mg/kg Quecksilber. Die bei einer Verabreichung von 0,5 g Boden/kg KG und Tag resultierende Quecksilberdosis betrug 83,5 µg/kg KG/d. Die Bioverfügbarkeit i.e.S. betrug $2,5 \pm 1,4\%$ ($n=4$). Die kumulative renale Ausscheidung nach subakuter Gabe über zehn Tage betrug $\bar{x} = 0,74\%$ ($r = 0,37 - 1,09\%$).

6. Literaturverzeichnis

AHU - Büro für Hydrogeologie und Umwelt GmbH (1995): Gefährdungsabschätzung ehemaliges Erzbergwerk Neudiepenbrock III in Mülheim an der Ruhr. Teil II: Gefährdungsabschätzung Boden. Durchgeführt im Auftrag des Umweltamtes der Stadt Mülheim a.d. Ruhr.

ARBEITSGEMEINSCHAFT DER LEITENDEN MEDIZINALBEAMTINNEN UND -BEAMTEN (1995): Standards zur Expositionsabschätzung. Hg. BAGS, Hamburg.

BAILIE MB, WIXSON SK, LANDI MS (1986): Vascular-Access-Port Implantation for Serial Blood Sampling in Conscious Swine. - Lab. Anim. Sci. **36**, 431 - 433.

BARTON JC, CONRAD ME, HARRISON L, NUBY S (1978): Effects of calcium on the absorption and retention of lead. J. Lab. Clin. Med. **91**, 366-376.

BBodSchG (1998) – Gesetz zum Schutz vor schädlichen Bodenveränderungen und zur Sanierung von Altlasten (Bundesbodenschutzgesetz). BGBl. 1 Nr. 16 vom 24. März 1998.

BONACCORSI A et al. (1984): The influence of soil particle adsorption on 2,3,7,8-tetra-chlorodibenzo-p-dioxin biological uptake in the rabbit. Arch. Toxicol. Suppl. **7**, 431 - 434.

BRIXIUS D, WELGE P, WILHELM M (1996): Toxikokinetik von bodengebundenen Metallen/Metalloiden unter besonderer Berücksichtigung von einzelnen Metallverbindungen und Nahrungsbestandteilen: Stand der Kenntnisse und Projektplanung. - IN: PROJEKT UMWELT UND GESUNDHEIT (PUG) IM FORSCHUNGSZENTRUM KARLSRUHE (Hg.): 5. Statuskolloquium des PUG am 5. und 6. März 1996 im Forschungszentrum Karlsruhe. (FZKA-PUG 22), S. 348 - 356. Zusammenge stellt von HORSCH F et al..

CALABRESE EJ et al. (1989): How much soil do young children ingest: An epidemiologic study. Regul. Toxicol. Pharmacol. **10**, 123 - 137.

CALABRESE EJ, STANEK E, GILBERT CE (1991): Evidence of soil-pica behaviour and quantification of soil ingested. Hum. Exp. Toxicol. **10**, 245 - 249.

CASTEEL SW et al. (1997): Bioavailability of lead to juvenile swine dosed with soil from the Smuggler Mountain NPL site of Aspen, Colorado. Fund. Appl. Toxicol. **36**, 177 - 187.

CONNER EE et al. (1994): Bioavailability of lead from contaminated sediment in northern bobwhites, *Colinus Virginianus*. Arch. Environ. Contam. Toxicol. **27**, 60 - 63.

DGE (DEUTSCHE GESELLSCHAFT FÜR ERNÄHRUNG) (1996): Ernährungsbericht, Frankfurt am Main.

DUNEMANN L (1994): Mikrowellenaufschluß. In: STOEPLER M: Probenahme und Aufschluß. Springer-Verlag, Berlin, 139 - 150.

E-BbodSchV (1998) – Entwurf: Verordnung zur Durchführung des Bundes-Bodenschutzgesetzes (Bodenschutz- und Altlastenverordnung – BodSchV). Bundesrats Drucksache 780/98 vom 10. 9. 1998.

EPA, ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (1985): Superfund Health Assessment Manual: Office of Emergency and Remedial Response, Washington, DC.

EPA, ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (1988): Review of Environmental Contamination and Toxicology, Springer-Verlag New York, Berlin, Heidelberg, London, Paris, Tokyo, 1989, **107**.

FREEMAN GB et al. (1992): Relative bioavailability of lead from mining waste soil in rats. Fundam. Appl. Toxicol. **19**, 388 - 398.

FREEMAN GB et al. (1993): Bioavailability of arsenic in soil impacted by smelter activities following oral administration in rabbits. Fundam. Appl. Toxicol. **21**, 83 - 88.

FREEMAN GB et al. (1994): Absolute bioavailability of lead acetate and mining waste lead in rats. Toxicology **91**, 151 - 163.

FREEMAN GB et al. (1995): Bioavailability of arsenic in soil and house dust impacted by smelter activities following oral administration in *Cynomolgus* monkeys. Fundam. Appl. Toxicol. **28**, 215 - 222.

FRIES GF et al. (1989): Oral bioavailability of aged polychlorinated biphenyl residues contained in soil. Bull. Environ. Contam. Toxicol. **43**, 683 - 690.

GOYER RA (1995): Nutrition and metal toxicity. Am J. Clin. Nutr. **61 (Suppl.)**, 646 - 650 S.

- GOYER RA (1997): Toxic and essential metal interactions. *Annu. Rev. Nutr.* **17**, 37 - 50.
- GROEN K et al. (1994): Bioavailability of inorganic arsenic from bog ore-containing soil in the dog. *Environ. Health Perspect.* **102**, 182 - 184.
- HACK A, KRAFT M, MACKRODT M, SELENKA F, WILHELM M (1998): Mobilisierung von Blei und Quecksilber aus real kontaminiertem Bodenmaterial durch synthetische Verdauungssäfte unter besonderer Berücksichtigung des Einflusses von Lebensmitteln. *Umweltmed. Forsch. Prax.* **3**, 297 - 305.
- HACK A, SELENKA F (1996): Mobilization of PAH and PCB from contaminated soil using a digestive tract model. *Toxicol. Lett.* **88**, 199 - 210.
- HACK A et al. (1997): Umweltforschungsplan des Bundesministers für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit. Bericht zu F + E Vorhaben 103 40 123. Erfassung und Bewertung von Daten zur biologischen Verfügbarkeit alllastenrelevanter Stoffe. Teilprojekt Bioverfügbarkeit von organischen und anorganischen Schadstoffen aus dem Boden. Abschlußbericht im Auftrag des Umweltbundesamtes.
- HACK A et al. (1998a): Mobilisierung von organischen und anorganischen Schadstoffen aus kontaminierten Umweltmaterialien in einem physiologienahen standardisierten *in vitro*-Verdauungssystem. Untersuchungsbericht im Auftrag des Landesumweltamtes NRW.
- JOHNSON DE, KIENHOLZ EW, BAXTER JC, SPANGLER E, WARD GM (1981): Heavy metal retention in tissues of cattle fed high cadmium sewage sludge. *J. Anim. Sci.* **52 (1)**, 108 - 114.
- KADRY AM et al. (1991): Soil adsorption alters kinetics and bioavailability of trichloroethylene in orally exposed female rats. *Toxicol. Lett.* **58**, 337 - 346.
- KIENHOLZ E, WARD GM, JOHNSON JC, BAXTER JC, BRAUDE GL, STERN G (1979): Metropolitan Denver sewage sludge fed to feedlot steers. *J. Anim. Sci.* **48**, 735 - 741.
- KOMMISSION "HUMAN-BIOMONITORING" DES UMWELTBUNDESAMTES (1996a): Konzept der Referenz- und Human-Biomonitoring-Werte (HBM) in der Umweltmedizin. *Bundesgesundheitsbl.* **6**, 221 - 224.
- KOMMISSION "HUMAN-BIOMONITORING" DES UMWELTBUNDESAMTES (1996b): Stoffmonographie Blei - Referenz- und Human-Biomonitoring-Werte (HBM). *Bundesgesundheitsbl.* **6**, 236 - 241.
- KÖNIG W (1996): Landwirtschaftlich und gärtnerisch genutzte Flächen. In: WICHMANN HE, SCHLIPKÖTER HW, FÜLGRAFF G: *Handbuch der Umweltmedizin*. Ecomed, Landsberg/Lech. 9. Ergänzungslieferung.
- LAVELLE JM et al. (1991): Bioavailability of lead in mining wastes: an oral intubation study in young swine. *Chem. Spec. Bioavail.* **3**, 105 - 111.
- LORENZANA RL et al. (1996): Bioavailability of arsenic and lead in environmental substrates. EPA 910/R-96-002.
- MA WC (1987): Heavy metal accumulation in the mole, *Talpa europea*, and earthworms as an indicator of metal bioavailability in terrestrial environments. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **39**, 933 - 938.
- MAHAFFEY KR, HASEMAN JD, GOYER RA (1973): Dose-response to lead ingestion in rats fed low dietary calcium. *J. Lab. Clin. Med.* **83**, 92 - 100.
- MCCONNELL EE et al. (1984): Dioxin in soil: bioavailability after ingestion by rats and guinea pigs. *Science* **223**, 1077 - 1079.
- MIEHLICH G, CRÖßMANN G, LUX W (1994): Herkunft und Vorkommen von Blei, Cadmium und Arsen in Böden von Ballungsräumen. In: KREYSA G, WIESNER J: Beurteilung von Schwermetallen in Böden von Ballungsgebieten: Arsen, Blei und Cadmium. Internationale Expertenbeiträge und Resümee der DECHEMA-Arbeitsgruppe „Bewertung von Gefährdungspotentialen im Bodenschutz“. Frankfurt/Main (DECHEMA).
- MILLER ER, ULLREY DE (1987): The pig as a model for human nutrition. *Ann. Rev. Nutr.* **7**, 361 - 382.
- PASCOE GA et al. (1994): Bioavailability of metals and arsenic to small mammals at a mining waste-contaminated wetland. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **27**, 44 - 50.
- PETREAS M et al. (1990): Bioaccumulation of PCDD/PCDF in chickens: Controlled exposure study. *Organohalogen compounds* **1**, 489 - 492.

- PFANNHAUSER W (1994): Selenaufnahme in Europa. In: ANKE M et al. (1994): Defizite und Überschüsse an Mengen- und Spurenelementen in der Ernährung: 10 Jahrestagung der Gesellschaft für Mineralstoffe und Spurenelemente e.V., 14 Arbeitstagung Mengen- und Spurenelemente am 25. und 26. November 1994 an der Friedrich-Schiller-Universität Jena, 79 - 94.
- ROTARD W et al. (1995): Bestimmung resorptionsverfügbarer PCDD/PCDF aus Kieselrot. Z. Umweltchem. Ökotox. **7**, 3 - 9.
- ROTARD W (1996): Mobilisierung von Schadstoffen, insbesondere Schwermetalle, aus Böden durch "*in-vitro*"-Simulation der Digestion. In: MINISTERIUM FÜR ARBEIT, GESUNDHEIT UND SOZIALORDNUNG, Baden-Württemberg (Hrsg.): Kurzinfo - Umwelthygiene: Infos für den öffentlichen Gesundheitsdienst 1/96. Bodenschutz. Verfahren zur Ermittlung der im Magen-Darm-Trakt resorbierbaren Schadstoffe.
- SCHIERLING P, SCHALLER KH (1981): Einfache und zuverlässige Methoden zur atomabsorptionsspektrometrischen Bestimmung von Quecksilber in Blut und Urin. Arbeitsmed. Sozialmed. Präventivmed. **16**, 57 - 61.
- SCHIMMING CG (1992): Belastung mit Metallen. In: BLUME HP (Hrsg.): Handbuch des Bodenschutzes. 2. Auflage, Ecomed, Landsberg/Lech 1992.
- SENATSWERWALTUNG FÜR STADTENTWICKLUNG, UMWELTSCHUTZ UND TECHNOLOGIE BERLIN (1997): Digitaler Umweltatlas Berlin 1997. <http://www.sensut.berlin.de/SenSUT/umwelt/uisonline/dua96/html/i1031.htm>, Stand 6.5.1999.
- SHU H et al. (1988): Bioavailability of soil-bound TCDD: oral bioavailability in the rat. Fundam. Appl. Toxicol. **10**, 648 - 654.
- SIX KM, GOYER RA (1970): Experimental enhancement of lead toxicity by low dietary calcium. J. Lab. Clin. Med. **83**, 933 - 942.
- SIX KM, GOYER RA (1972): The influence of iron deficiency on tissue content and toxicity of ingested lead in the rat. J. Lab. Clin. Med. **79**, 128 - 136.
- STOEPPLER M et al. (1978): Rapid method for the automated determination of lead in whole blood by electrothermal atomic absorption spectrometry. Analyst **103**, 114 - 722.
- SUBRAMANIAN KS et al. (1983): Graphite furnace atomic absorption spectrometry with matrix modification for determination of cadmium and lead in human urine. Anal. Chem. **55**, 1064 - 1067.
- TURKALL RM et al. (1988): Soil adsorption alters kinetics and bioavailability of benzene in orally exposed male rats. Arch. Environ. Contam. Toxicol. **17**, 159 - 164.
- UMBREIT TH et al. (1986): Bioavailability of dioxin in soil from a 2,4,5-T manufacturing site. Science **232**, 497 - 499.
- UMBREIT TH et al. (1988): Bioavailability and cytochrome P-450 induction from 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-P-dioxin contaminated soils from Times Beach, Missouri, and Newark, New Jersey. Drug. Chem. Toxicol. **11**, 405 - 418.
- VAN GESTEL CA, MA WC (1988): Toxicity and bioaccumulation of chlorophenols in earthworms, in relation to bioavailability in soil. Ecotoxicol. Environ. Safety **15**, 289 - 297.
- WELLS DE (1992): Extraction and Pre-Concentration of Organometallic Species from Environmental Samples. Mikrochim. Acta **109**, 13 - 21.
- WELZ B, MELCHER M (1979): Use of a new antifoaming agent for the determination of arsenic in urine with the Hydride AA Technique. At. Absorpt. Newsletter. **18**, 121 - 122.
- WELZ B., MELCHER M, SINEMUS HW, MAIER D (1984): Picotrace Determination of Mercury Using the Amalgamation Technique. Atom. Spectrosc. **5**, 37 - 42.
- WELZ B, SCHLEMMER G, MUDAKAVI JR (1988): Palladium Nitrate - Magnesium Nitrate Modifier for Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry Part 2. Determination of Arsenic, Cadmium, Copper, Manganese, Lead, Antimony, Selenium and Thallium in Water. J. Anal. Atom. Spectrosc. **3**, 695 - 701.
- WHO, WORL HEALTH ORGANIZATION (1990): Methylmercury, Environmental Health Criteria 101, IPCS, International Programme on Chemical Safety, 1990.

WILHELM M, ROSTEK U, WELGE P, IDEL H (1997): Toxikokinetik von bodengebundenem Arsen, Blei, Cadmium und Quecksilber: Methodenentwicklung, Etablierung des Tiermodells und erste vorläufige Ergebnisse. In: PROJEKT UMWELT UND GESUNDHEIT (PUG) IM FORSCHUNGSZENTRUM KARLSRUHE (Hg.): 6. Statuskolloquium des PUG am 3. und 4. März 1997 im Forschungszentrum Karlsruhe. (FZKA-PUG) 27. April 1997. Zusammenge stellt von HORSCH F et al.

WILHELM M et al. (1998): Toxikokinetik von bodengebundenem Arsen, Blei, Cadmium und Quecksilber im Minischwein: Zwischenergebnisse. In: F. HORSCH et al.: 7. Statuskolloquium des PUG am 9. und 10. März 1998 im Forschungszentrum Karlsruhe. FZKA-PUG 28, April 1998.

ZEIEN H, BRÜMMER GW (1991): Ermittlung der Mobilität und Bindungsformen von Schwermetallen in Böden mittels sequentieller Extraktionen. *Mitteilgn. Dtsch. Bodenkundl. Gesellsch.* **66 (1)**, 439 - 442.