

# Forschungsgruppe : Tiere & Funktionen tierischer Produkte



[www.uraarpa.fr](http://www.uraarpa.fr)

**PB2P**

Proteolyse und biol.  
Funktionen von  
Proteinen & Peptiden  
zB alpha-casozépine

**S. JURJANZ**



**MRCA**

Mikroschadstoffe und  
ihre Metaboliten in der  
Nahrungskette  
organische Schadstoffe

**DAC**

Domestikation &  
Binnenfischzucht  
zB Flussbarsch

## 2 Beispielstudien das Transfers von org. Schadstoffen

- Schadstoff : Dioxine (& DL)
- Materie:
  - Kontaminiertes Heu
  - Kontaminierter Boden
- Tierarten (Produkte)
  - Ziege (Milch)
  - Ei (Legehennen)

# Müllverbrennungsanlage in Savoyen

erste grosse Studie der UR AFPA Gruppe



Chemosphere 64 (2006) 650–657

CHEMOSPHERE

[www.elsevier.com/locate/chemosphere](http://www.elsevier.com/locate/chemosphere)

## PCDD/F and PCB transfer to milk in goats exposed to a long-term intake of contaminated hay

Adrián Costera <sup>a</sup>, Cyril Feidt <sup>a</sup>, Philippe Marchand <sup>b</sup>, Bruno Le Bizec <sup>b</sup>,  
Guido Rychen <sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> URAPA, INRA-INPL-UHP, 2 Avenue de la Forêt de Haye, 54505 Vandœuvre-Lès-Nancy Cedex, France

<sup>b</sup> LABERCA, ENVN Route de Gachet, 44307 Nantes Cedex 3, France

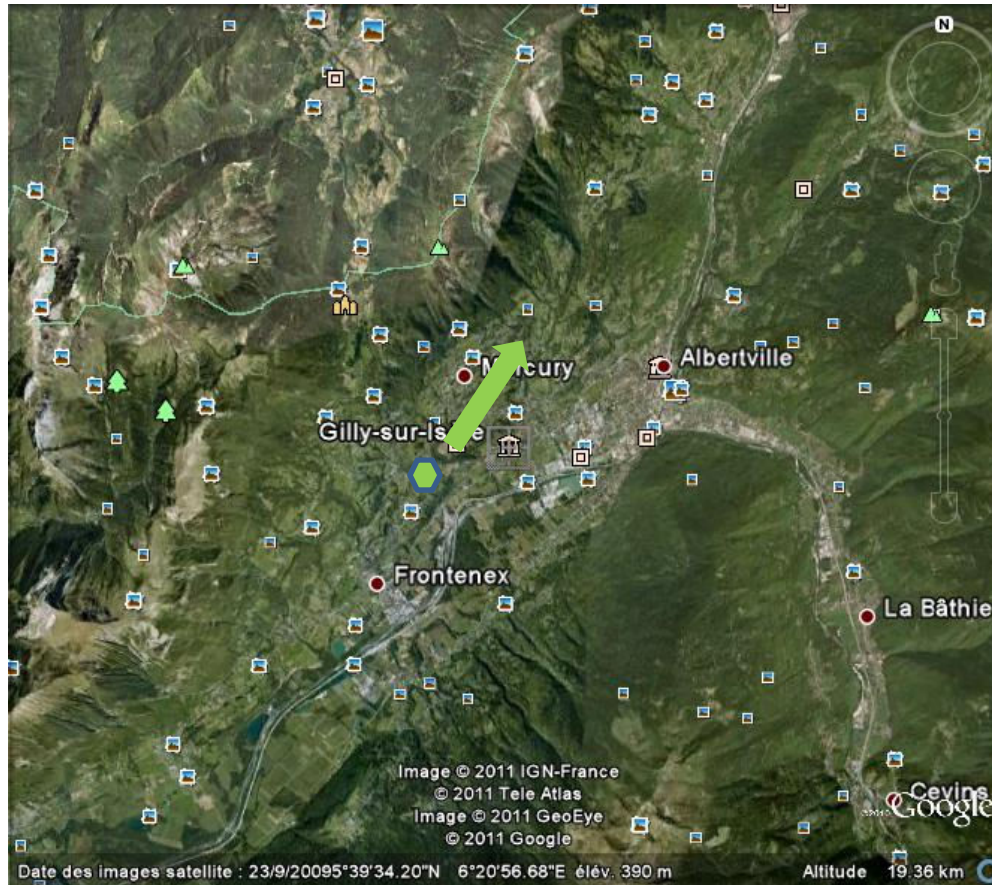
Received 4 May 2005; received in revised form 19 September 2005; accepted 27 October 2005

Available online 9 December 2005

### Abstract

The purpose of this study was to determine the feed to milk transfer of 17 PCDD/Fs and 18 PCBs in goats exposed to a 10-week long-term intake of contaminated hay collected in the vicinity of a hazardous municipal waste incinerator. The sum of PCDD/Fs and PCBs WHO-I-TEQ was found to be higher than  $3 \text{ ng kg}^{-1}$  of milk fat after the first experimental week. Carry-over rates (CORS) of PCDD/Fs and PCBs could be established at steady state conditions for each compound studied. For PCDD/Fs, 2,3,7,8-TCDD appeared as the

# Müllverbrennungsanlage in franz. Alpen



**Savoie : une usine d'incinération émet des fumées de dioxines**

*(Le Monde, 2001)*

## Gilly-sur-Isère (38)

**Schließung : 24/10/2001**

- 365 Höfe sind kontaminiert
- 6875 Tiere euthanasiert
- 2230 T Milch zerstört

**Kosten : 18 Mill. €**

- Dekontamination des Standorts ?
- 9000 T Heu zu entsorgen

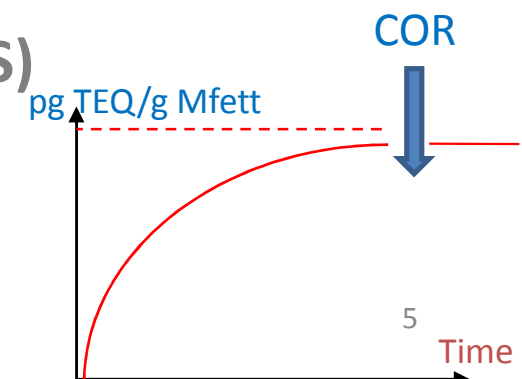
**Welches Risiko bei der Nutzung des Heus für die Produkte ?**

## Material & Methoden

- Exposition von 3 Milchziegen während 70 Tagen



- täglich 0,8 kg Heu (+ 1,4 kg Konzentrat)
  - 2 pg TEQ PCDD F & 0,38 pg TEQ PCB DL / kg TS  
(1 ng iPCB/kg)
- Milchproben : 7, 15, 22, 29, 36, 43, 57 & 71 (d)
- Analysen : Extraktion ( $ASE_{Toluen}$ ) + Purifikation (chromato : 3 Columns) + Detektion (GC-HRMS)
- Angleichen an die Funktion :  $a + b(1-e^{-ct})$  und ab steady state :  $COR_{(MacLachlan \& Richter 1998)}$



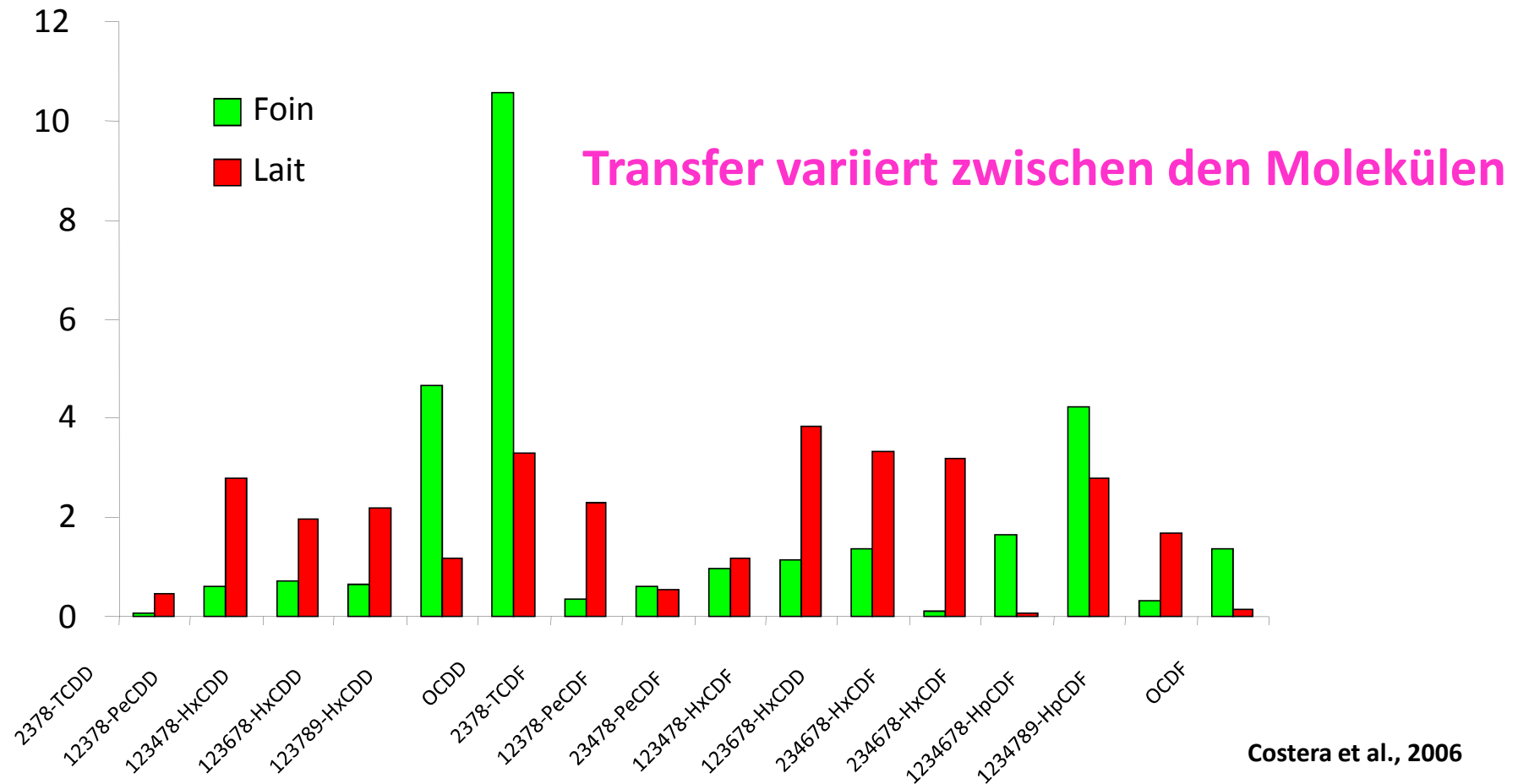
# Resultate :

## Konzentration der Schadstoffe in der Milch :

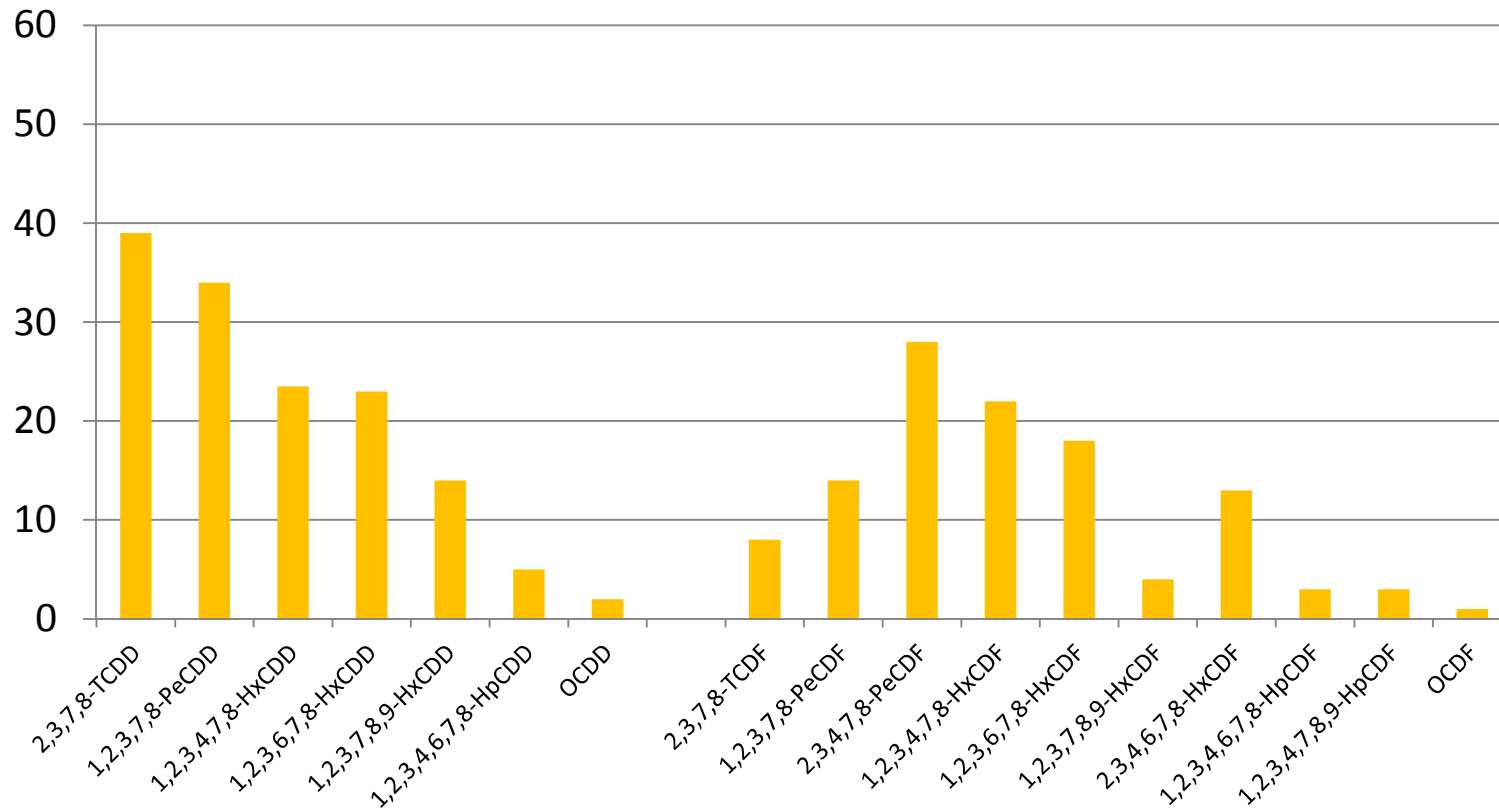
Nach 15 Tagen : > 6,8 pg TEQ PCDD/Fs & PCB DL /g Milchfett

nach 71 Tagen : 6,9 pg TEQ PCDD/F & 2,3 pg TEQ PCB DL /g Milchfett

## Vergleich der PCDD/Fs Profile zwischen Heu und Milch



## COR der PCDD/F



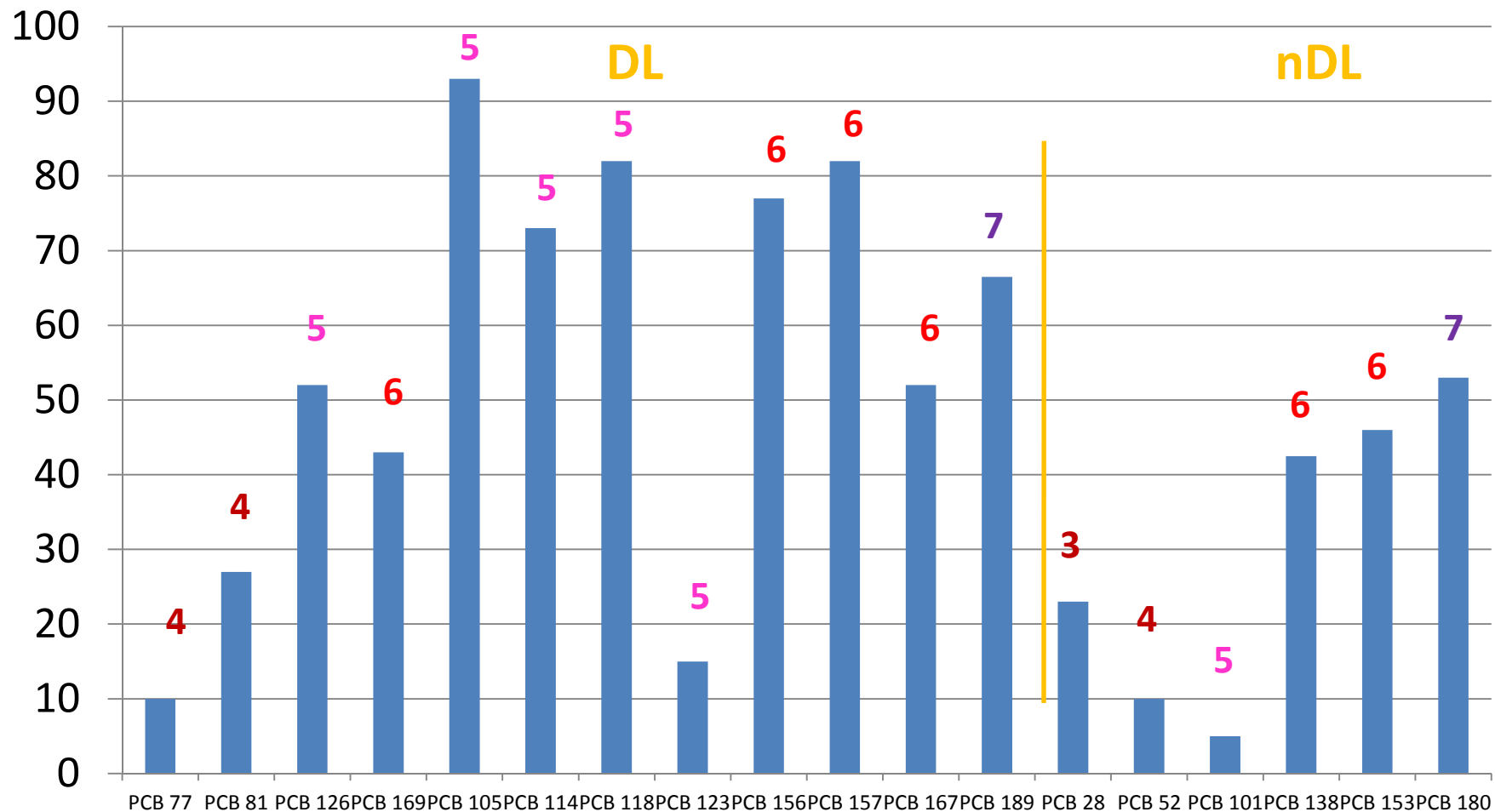
Transfer bis zu 40% der aufgenommenen Dosis

Dioxine : Transfer sinkt mit steigender Anzahl Cl

Furane : ähnliche Tendenz Octa < Hepta < Hexa

aber einige atypischen Molekülen (TCDF !)

# COR der PCB



**Transfer** : große Unterschiede zwischen den Molekülen : 5 bis 92%

Chloratome : 3 & 4 < 6 & 7 ; aber erklärt nicht alles (5 Cl !)

Keine signifikanter Unterschied zwischen DL - nDL,

Transfer rate : log Kow nicht diskriminant, aber Stoffwechsellabilität<sup>8</sup>



# Schlussfolgerungen

- Am steady state : alle Moleküle werden in Milch übertragen
- Exposition von Wiederkäuern zu kontaminiertem Heu führt schnell zu Anreicherungen von PCDD/Fs & PCBs in Milch : nach 2 Wochen sind Grenzwerte überschritten
- Anzahl Cl und die Stoffwechsellabilität sind Eigenschaften, die die grossen Unterschiede im Transfer zwischen den Molekülen erklären können
- Literaturergebnisse (MacLachlan, 1993 ; Thomas *et al.* 1999) lassen grosse Ähnlichkeit zwischen Wiederkäuerarten vermuten



Nancy-Université



# Relative bioavailability bodengebundener iPCBs in landwirtschaftlichen Nutztieren: Legehennen und Milchziegen

Jondreville *et al.* 2011, DIOXIN2011, Brussels, 21 -25 August

Stefan JURJANZ

## ➔ Hintergrund :

- Schmelbrand in einem Holzlager eines Recyclingunternehmens
  - Rauchemission während mehreren Wochen
  - Verseuchung der umliegenden lw genutzten Böden
    - PCDDs, PCDFs
    - PCB (DL & nDL)
- stark fettlösliche Moleküle
  - ⇒ Kontamination der Nahrungskette
    - Milch
    - Eier
    - Fleisch (Rind, Geflügel, Schafe)



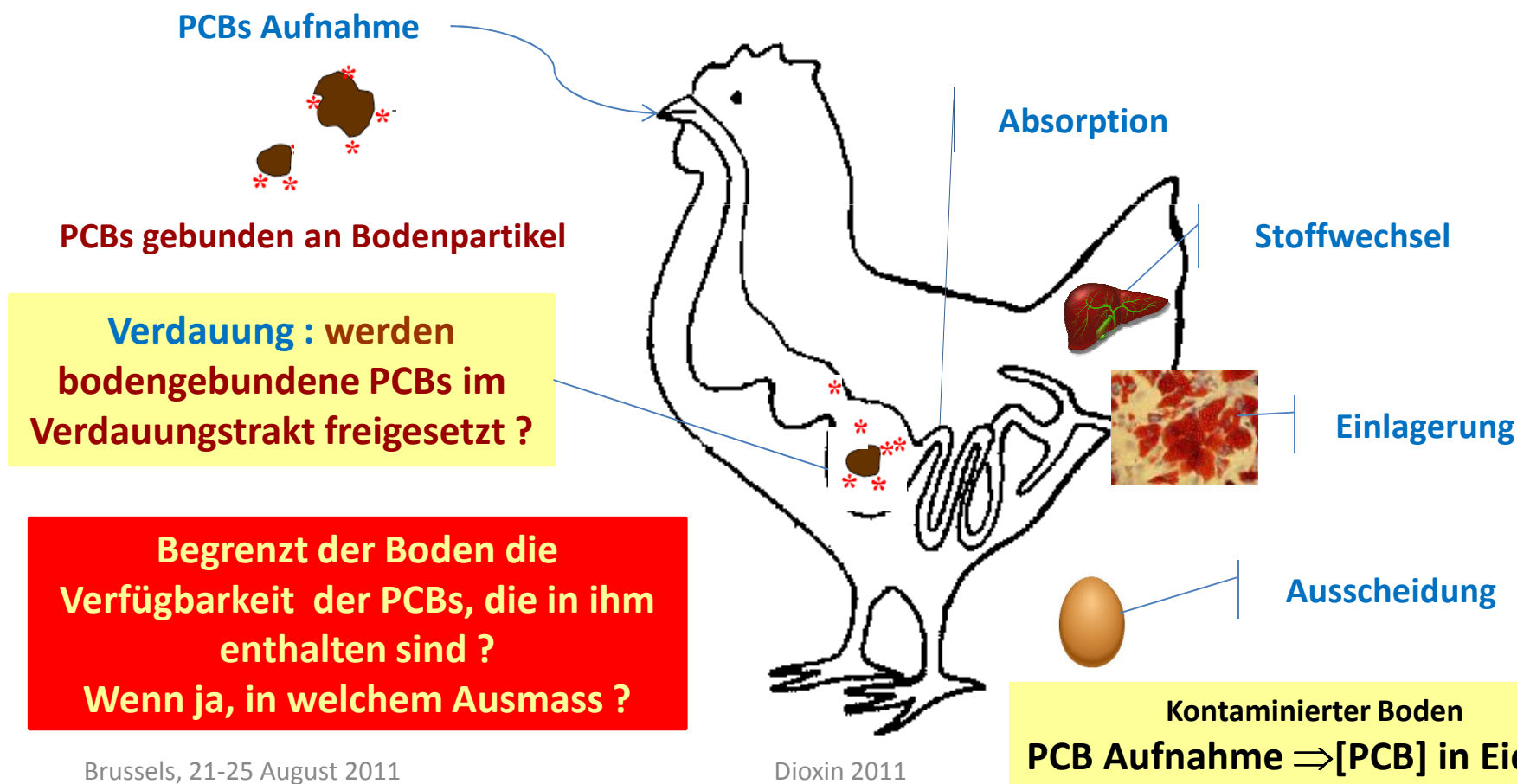
## ➡ Hintergrund :

- Hohe Konzentration von iPCBs im Boden
  - bis zu 800 ng iPCB / g TS
    - in nicht-exponierten Böden « remote areas » : 0.03 to 97 ng / g TS (Meijer et al., 2003)
- Bodenaufnahme von Tieren in Freilandhaltung
  - Legehennen : bis zu 30 % der TS-aufnahme
  - Wiederkäuer : bis zu 10 % der TS-aufnahme
    - ⇒ Eintrag in Lebensmitteln tierischer Herkunft
- In Lebensmitteln (Milch, Eier...)
  - < 50 ng nDL PCBs / g Fett (iPCB = 6 nDL PCB + PCB 118)

**Wie groß ist das Risiko, dass Tiere in Freilandhaltung in diesem Gebiet kontaminierte Produkte (Milch & Eier) liefern ?**

## → Hintergrund

### Modell zur Charakterisierung der Risikokette

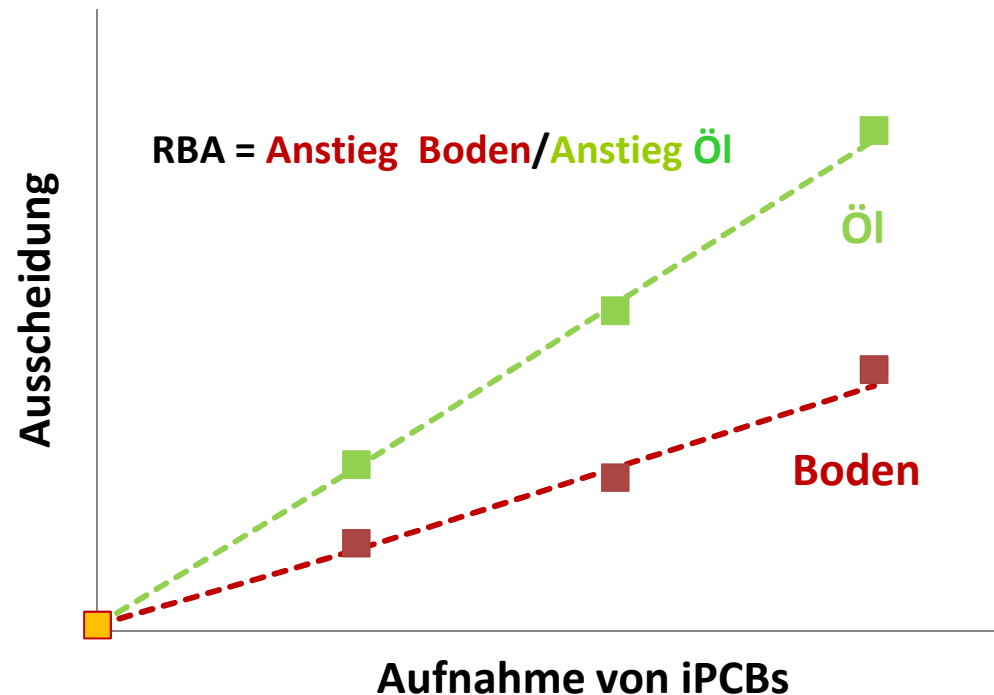


## → Prinzip der Schätzung des Bodeneffekts auf die Verfügbarkeit von iPCBs

- Relative Bio-  
verfügbarkeit (RBA)

Vergleich der Ausscheidung  
nach einer bodengebundenen  
Exposition mit einer Referenz  
material (angereichertes Öl)

[iPCB] Eigelb oder [iPCB] Milch



## Effekte des Bodens auf die Verfügbarkeit von iPCB : Literaturdaten

- Eine eventuelle Wechselwirkung von bodengebundenen POPs mit Ton oder OS  $\Rightarrow$  könnte Verfügbarkeit reduzieren
- RBA von POPs desselben Bodens kann zwischen Tierarten variieren
  - **Budinsky et al. (2008)**
    - 2 Böden (PCDD/F)
    - RBA : 0.4-0.6 Laborratte, aber 0.2-0.3 Schwein
    - Keine Daten über Bodencharakteristika
- **Geflügel (Legehennen)**
  - **1 reference (Van Eijkeren et al., 2006)**
    - 2 Böden (PCDD/F, DL PCB)
    - RBA : ungefähr 0.5-0.6 (Boden reduziert den Transfer in Eier)
    - Keine Daten über Bodencharakteristika
- **und beim Wiederkäuer ??**

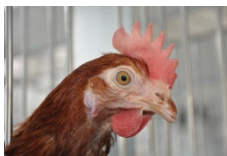
## ➔ Experiment

### – Ziel

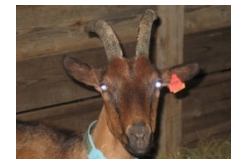
- RBA der iPCB aus der Bodenprobe *in situ*
- Vergleich von 2 Tierarten
  - Legehennen
  - Milchziegen

### – Prinzip

- Methode : Vergleich der Anstiegsquotienten
- Ausgangsmaterial : dieselbe Bodenprobe
- Referenzmaterial : angereichertes Öl
- Messkriterien



[iPCBs] im Eigelb



[iPCBs] in der Milch



## ➔ Material und Methoden : kontaminierte Materie

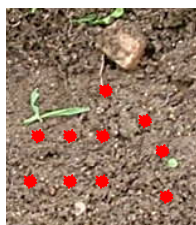
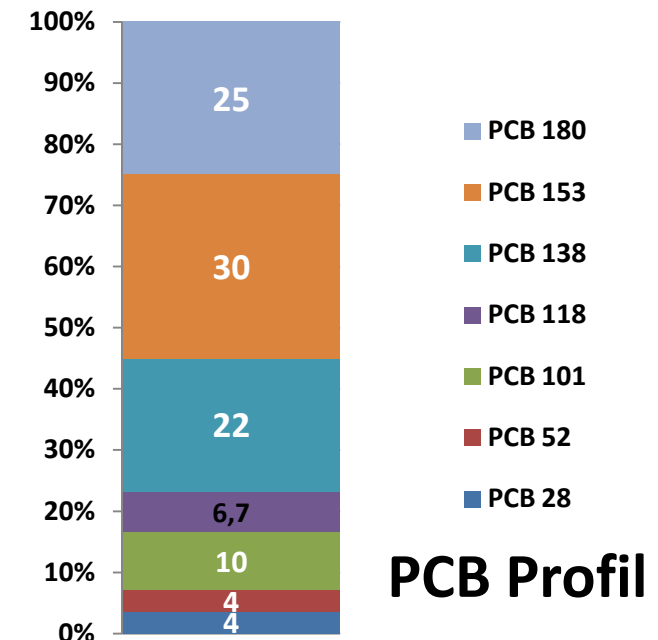
### • Boden

#### – Sandig

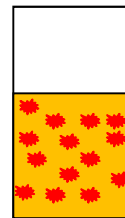
- (6% Ton, 11% Lehm, 83% Sand, 1.2% OS)

– 709 ng iPCB / g TS

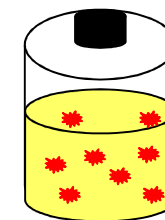
### • Öl



Extraction by ASE\*  
Toluene/acetone mixture



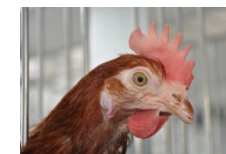
Öl spiking



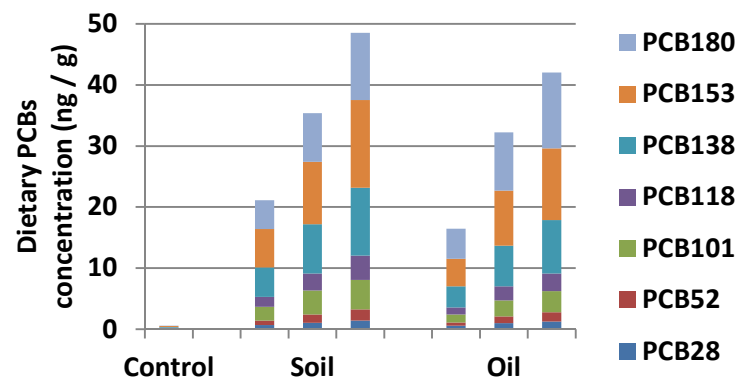
\*Accelerated Solvent extraction



## Material und Methoden : Versuchsrationen



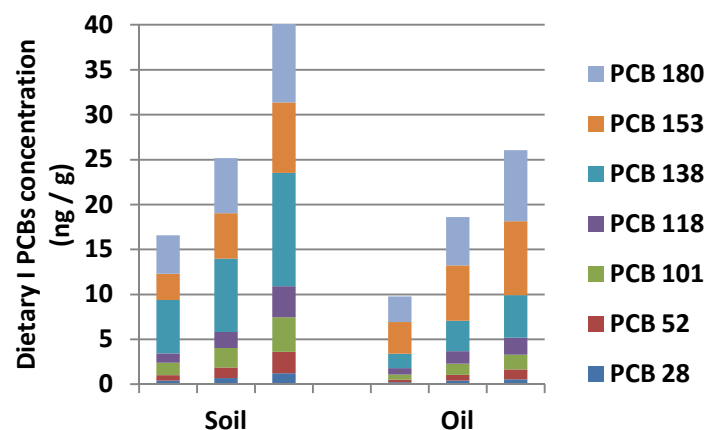
		Kontrolle	Boden			Öl		
			1	2	3	1	2	3
<div>Basisfutter : 90.5%</div>	Zusammensetzung (%)							
	Basisfutter	90.5	90.5	90.5	90.5	90.5	90.5	90.5
<div>Sand + Boden: 9%</div>	Sand	9.0	6.0	3.0		9.0	9.0	9.0
	kontaminierter Boden		3.0	6.0	9.0			
<div>Blank + angereich. Öl : 0.5%</div>	« sauberes » Öl	0.5	0.5	0.5	0.5	0.33	0.17	
	kontaminiertes Öl					0.17	0.33	0.5
	iPCBs (ng / g)	0.59	21	35	49	16	32	42



## ➔ Material und Methoden : Versuchsrationen



	Boden			Öl		
	1	2	3	1	2	3
<b>Zusammensetzung (%)</b>						
<b>Basisfutter : 94.5%</b>						
Basisfutter	94.5	94.5	94.5	94.5	94.5	94.5
<b>Sand + Boden: 4%</b>						
Sand	2.7	1.3		4.0	4.0	4.0
Kontaminierter Boden	1.3	2.7	4.0			
<b>Blank + angereich. Öl : 1.5%</b>						
« sauberes » Öl	1.5	1.5	1.5	1.0	0.5	
Kontaminiertes Öl				0.5	1.0	1.5
<b>iPCBs (ng / g)</b>	17	25	40	10	19	26



## ➔ Material und Methoden : Tiere

- Einzelaufstallung
  - Individuelle Kontrolle von :
    - Futteraufnahme
    - Produktion (Anzahl Eier, Milchmenge)
- 28 Legehennen
  - Exposition 14 Tage
    - 4 Hennen pro Modalität
    - Ei des letzten Versuchstages
- 8 laktierende Ziegen (Alpine)
  - Versuchsdauer : 96 Tage



	32 Tage	32 Tage	32 Tage
Ziegen 1 – 4 : <b>Boden</b>	<b>Dose 1</b>	<b>Dose 2</b>	<b>Dose 3</b>
Ziegen 5 – 8 : <b>Öl</b>	<b>Dose 1</b>	<b>Dose 2</b>	<b>Dose 3</b>

Letzte Woche jeder Periode

Milch

Dioxin 2011



## Material und Methoden : Analyse der PCBs

- Internal Standards
  - Sieben  $^{13}\text{C}$ -labelled iPCBs
- Extraktion
  - Eigelb: ASE
  - Milch : Extraktion liquid-liquid
  - Purifikation
  - Eigelb und Milch : multilayer silica gel und Florisil columns
  - Eigelb : Celite/carbon column
  - Externer Standard :  $^{13}\text{C}$ -labelled-PCB 111 (Recovery calculation)
- Detektion
  - GC-HRMS
- Detektionsgrenzen
  - Futter : 0.001 ng / g Futter bei 12% Restfeuchte,
  - Eigelb : 0.04 ng / g Fett
  - Milch : 0.01 ng / g Fett

## ➡ Material und Methoden : statistische Analyse

- Prinzip
  - Parameter der „response“ der [iPCB] in Zielgeweben - Eigelb oder Milch (ng / g Fett) – im Vergleich zu aufgenommen iPCBs
  - $RBA = \text{Anstieg (Boden)} / \text{Anstieg (Öl)}$
- Methode :
  - Analyse der Covariance
    - Materie (Boden vs Öl)
    - Aufnahme von iPCBs (co-variable)
  - Drei Bedingungen vor dem Angleichen der Funktion (Anstiege)
    - 3 Tests
      - Die Funktion ist linear in beiden Trägersubstanzen (Öl und Boden)
      - Gemeinsamer Achsenschnitt ( $x=0$ )
      - Die Ordinate am Nullniveau (Kontrolle in Legehennen und Basiswert für die Ziegen) entspricht dem gemeinsamen Wert des Intercept

## ➔ Material und Methoden : statistische Analyse

### • Prinzip

- Parameter der „response“ der [iPCB] in Zielgeweben - Eigelb oder Milch (ng / g Fett) – im Vergleich zu aufgenommen iPCBs
- $RBA = \text{Anstieg (Boden)} / \text{Anstieg (Öl)}$

### • Methode :

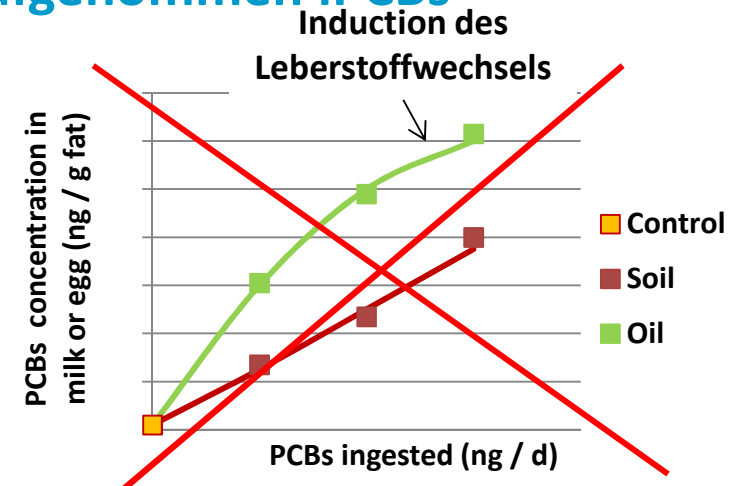
#### – Analyse der Covariance

- Matrix (Boden vs Öl)
- Aufnahme von iPCBs (covariable)

#### – Drei Bedingungen vor dem Angleichen der Funktion (Anstiege)

##### • 3 Tests

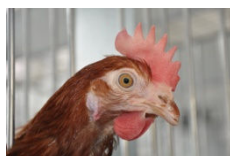
- Die Funktion ist linear in beiden Trägersubstanzen (Öl und Boden)
- Gemeinsamer Achsenschnitt ( $x=0$ )
- Die Ordinate am Nullniveau (Kontrolle in Legehennen und Basiswert für die Ziegen) entspricht dem gemeinsamen Wert des Intercept



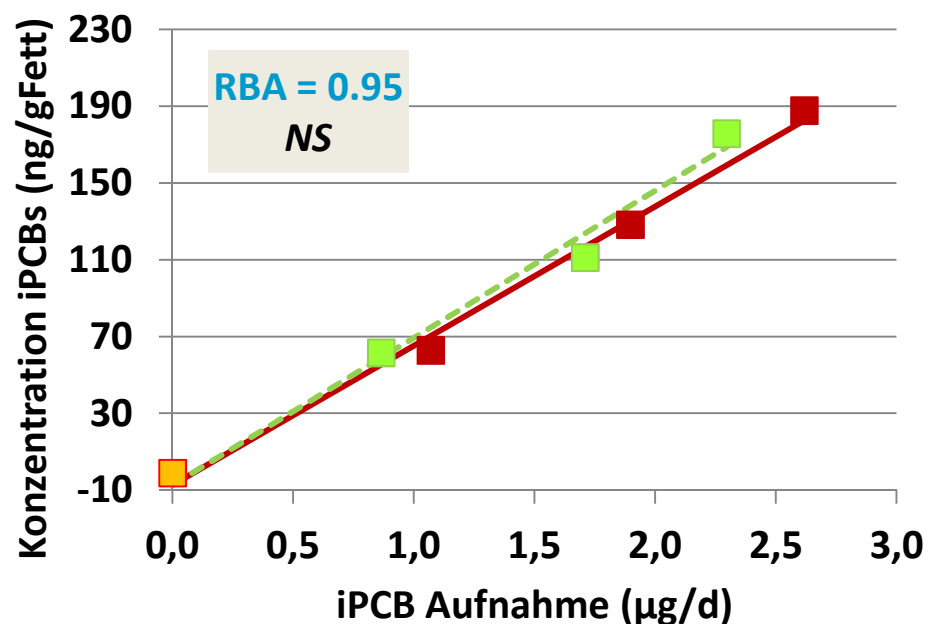




## Resultate : RBA der iPCB



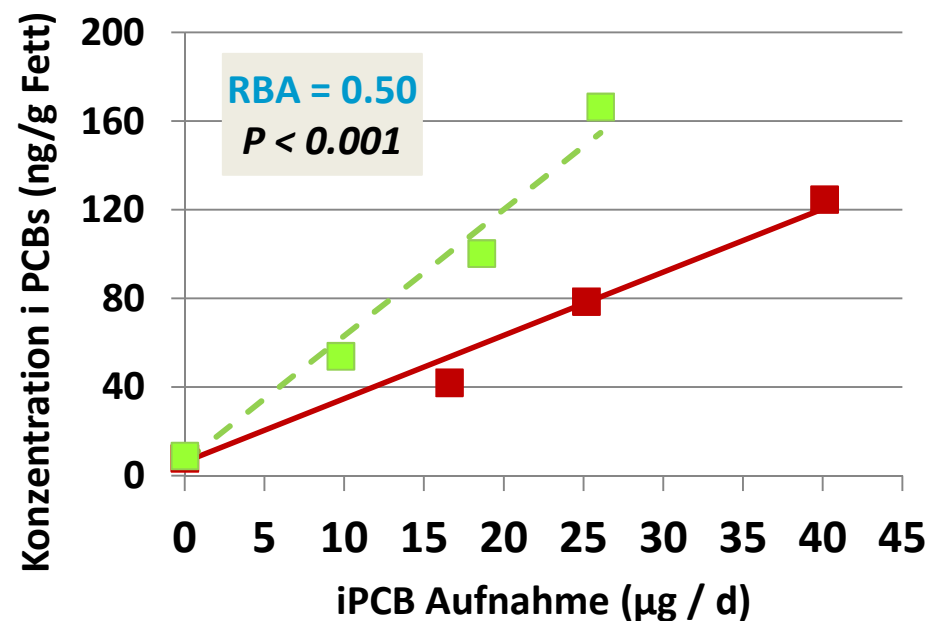
Eigelb



Control Soil Oil



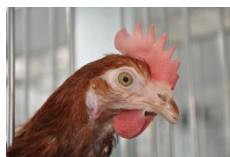
Milchfett



Control soil Oil



## → Schlussfolgerungen



Dieser Boden **reduziert nicht** die  
RBA von iPCB



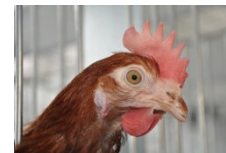
Dieser Boden **ändert** die RBA von  
iPCBs ; **RBA = 0.5**

- Tierartunterschiede
- Verdauungsunterschiede (Fütterungseffizienz - Transitdauer, Fettverdauung...)
- ⇒ Risiko für tierische Produkte muss artspezifisch eingeschätzt werden
- In beiden Arten (auch in Ziegen) : Boden = signifikanter Vektor des Kontaminationsrisikos in tierischen Produkten
- Einfluss der Bodencharakteristika und des Kontaminationsprofiles ?
  - Weitere Arbeiten sind unabdingbar !

## → Wir danken :

- **Finanzielle Unterstützung**
  - Ministerium f LW im Rahmen eines Projekts CASDAR n°7106
  - ADEME (Agentur f. Energie und Umweltmanagement)
- **Technische Unterstützung**
  - N. Besne, M. Gibelin (PEAT, INRA)
  - P. Hartmeyer (URAFPA, Nancy-Universität)
- **Kontaminierter Boden**
  - K. Tack, S. Denys (INERIS)

**für Ihre Aufmerksamkeit**



**und für Ihre Einladung**