

Aus dem Institut für Tierernährung  
des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Freien Universität Berlin

**Ermittlung des Einflusses küchenmäßiger  
Zubereitungen von Wildbret auf die Bioverfügbarkeit  
von Rückständen bleihaltiger Geschosse im  
Tierversuch am Modelltier Schwein**

**Inaugural-Dissertation**  
zur Erlangung des Grades eines  
Doktors der Veterinärmedizin  
an der  
Freien Universität Berlin

vorgelegt von  
**Franziska Pia Brenneis**  
Tierärztin aus Karlsruhe

Berlin 2021  
Journal-Nr.: 4197







**Aus dem Institut für Tierernährung  
des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Freien Universität Berlin**

**Ermittlung des Einflusses küchenmäßiger Zubereitungen von Wildbret auf die  
Bioverfügbarkeit von Rückständen bleihaltiger Geschosse im Tierversuch am  
Modelltier Schwein**

**Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Grades eines  
Doktors der Veterinärmedizin  
an der  
Freien Universität Berlin**

**vorgelegt von  
Franziska Pia Brenneis  
Tierärztin aus Karlsruhe**

**Berlin 2021**

**Journal-Nr.: 4197**

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Jürgen Zentek  
Erster Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Jürgen Zentek  
Zweiter Gutachter: PD Dr. Helmut Schafft  
Dritter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Diana Meemken

*Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):*

animal model; pigs; game animals; meat; food safety; food hygiene; feeding; lead;  
lead poisoning; hunting; bioavailability;

Tag der Promotion: 29.03.2021

Bibliografische Information der *Deutschen Nationalbibliothek*

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <<https://dnb.de>> abrufbar.

ISBN: 978-3-96729-107-0

**Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2021**

Dissertation, Freie Universität Berlin

**D188**

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt.

Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des Nachdruckes und der Vervielfältigung des Buches, oder Teilen daraus, vorbehalten. Kein Teil des Werkes darf ohne schriftliche Genehmigung des Verlages in irgendeiner Form reproduziert oder unter Verwendung elektronischer Systeme verarbeitet, vervielfältigt oder verbreitet werden.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Warenbezeichnungen, usw. in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürfen.

This document is protected by copyright law.

No part of this document may be reproduced in any form by any means without prior written authorization of the publisher.

alle Rechte vorbehalten | all rights reserved

© Mensch und Buch Verlag 2021

Choriner Str. 85 - 10119 Berlin

verlag@menschundbuch.de – [www.menschundbuch.de](http://www.menschundbuch.de)

---

**Inhaltsverzeichnis**

<b>Erlaubnis für die Durchführung von Tierexperimenten.....</b>	<b>6</b>
<b>Tabellenverzeichnis .....</b>	<b>7</b>
<b>Abbildungsverzeichnis .....</b>	<b>9</b>
<b>Abkürzungsverzeichnis .....</b>	<b>10</b>
<b>1. Einleitung .....</b>	<b>13</b>
<b>2. Literatur.....</b>	<b>15</b>
<b>2.1. Toxikologie von Blei .....</b>	<b>15</b>
<b>2.2. Toxikokinetik und Toxizität von Blei .....</b>	<b>16</b>
<b>2.2.1. Toxikokinetik .....</b>	<b>16</b>
<b>2.2.2. Toxizität .....</b>	<b>20</b>
<b>2.3. Gesetzliche Regelung von Blei als Kontaminante bzw. unerwünschter Stoff und gesundheitliche Bewertung von Blei .....</b>	<b>25</b>
<b>2.3.1. Gesetzliche Regelung von Blei als Kontaminante in Lebensmitteln .....</b>	<b>25</b>
<b>2.3.2. Blei als unerwünschter Stoff in Futtermitteln .....</b>	<b>26</b>
<b>2.3.3. Gesundheitliche Bewertung von Blei .....</b>	<b>27</b>
<b>2.4. Exposition des Verbrauchers gegenüber Blei über Trinkwasser und Nahrungsmittel .....</b>	<b>28</b>
<b>2.5. Exposition des Verbrauchers gegenüber Blei als Folge der Verwendung bleihaltiger Munition bei der Jagd.....</b>	<b>32</b>
<b>2.5.1. Bleigehalte im Wildfleisch nach Verwendung bleihaltiger Munition .....</b>	<b>34</b>
<b>2.5.2. Bioverfügbarkeit von Blei nach oraler Aufnahme.....</b>	<b>37</b>
<b>2.5.3. Verzehr von Wildfleisch und Blutbleigehalte von Jägern .....</b>	<b>38</b>
<b>2.6. Mögliche Einflüsse auf die Bleiexposition.....</b>	<b>42</b>
<b>2.6.1. Wildbrethygiene .....</b>	<b>42</b>
<b>2.6.1.1. Gesetzliche Grundlagen und Wildbrethygiene .....</b>	<b>42</b>
<b>2.6.1.2. Trefferlage beim Rehwild .....</b>	<b>44</b>
<b>2.6.1.3. Aufbrechmethoden und Zerwirken (Zerlegen) des Rehwildes .....</b>	<b>44</b>
<b>2.6.1.4. Bleiverteilung im Wildkörper .....</b>	<b>44</b>
<b>2.6.2. Küchenmäßige Zubereitung von Wildbret und deren Einfluss auf die Bioverfügbarkeit von Blei.....</b>	<b>45</b>
<b>2.7. Die intravenöse Gabe von Blei .....</b>	<b>47</b>
<b>2.8. Das Schwein als Modell- und Versuchstier .....</b>	<b>48</b>
<b>2.9. Ableitung der eigenen Aufgabenstellung .....</b>	<b>49</b>
<b>3. Material und Methoden.....</b>	<b>51</b>

<b>3.1. Herstellung der Versuchsrationen (Wildbretportionen) .....</b>	<b>51</b>
<b>3.1.1. Wildbrethygienische Versorgung (Zerlegung) von Rehen zur Gewinnung der Fleischportionen für den Fütterungsversuch .....</b>	<b>51</b>
<b>3.1.2. Küchenmäßige Zubereitung .....</b>	<b>52</b>
<b>3.1.3. Bleianalyse im Wildbret .....</b>	<b>53</b>
<b>3.2. Fütterungsversuch .....</b>	<b>54</b>
<b>3.2.1. Versuchstiere .....</b>	<b>54</b>
<b>3.2.2. Haltung.....</b>	<b>54</b>
<b>3.2.3. Fütterung .....</b>	<b>56</b>
<b>3.2.4. Blutentnahme .....</b>	<b>59</b>
<b>3.2.5. Schlachtung.....</b>	<b>61</b>
<b>3.2.6. Intravenöse Gabe von Bleiacetat .....</b>	<b>61</b>
<b>3.3. Analytik der Blutproben am LGL München.....</b>	<b>62</b>
<b>3.4. Statistik .....</b>	<b>63</b>
<b>4. Ergebnisse .....</b>	<b>65</b>
<b>4.1. Ergebnisse der Wildbretgewinnung und -zubereitung .....</b>	<b>65</b>
<b>4.1.1. Einfluss der wildbrethygienischen Versorgung auf die zu verfütternden Wildbretportionen .....</b>	<b>65</b>
<b>4.1.2. Einfluss der küchenmäßigen Zubereitung auf die Fleischbeschaffenheit und Ergebnisse der Analyse der Bleigehalte im Wildbret .....</b>	<b>65</b>
<b>4.2. Ergebnisse des Fütterungsversuchs mit Schweinen.....</b>	<b>68</b>
<b>4.2.1. Körpermasse und Tageszunahmen .....</b>	<b>68</b>
<b>4.2.2. Tiergesundheit .....</b>	<b>69</b>
<b>4.2.3. Wildbret- und Bleiaufnahme .....</b>	<b>69</b>
<b>4.2.4. Bleikonzentrationen im Blut der Schweine nach Aufnahme der bleihaltigen Wildbretportion .....</b>	<b>71</b>
<b>4.2.5. Bioverfügbarkeit von Blei nach i.v.-Applikation von Bleiacetat und Vergleich mit den Ergebnissen des Fütterungsversuchs .....</b>	<b>78</b>
<b>5. Diskussion .....</b>	<b>80</b>
<b>5.1. Bleigehalte im Wildbret .....</b>	<b>80</b>
<b>5.2. Körpermasse und Tageszunahmen.....</b>	<b>83</b>
<b>5.3. Bleikonzentrationen im Blut von Schweinen nach Verzehr einer bleihaltigen Wildbretportion .....</b>	<b>83</b>
<b>5.4. Einfluss der küchenmäßigen Zubereitung auf die Bioverfügbarkeit von Blei.....</b>	<b>87</b>
<b>6. Zusammenfassung .....</b>	<b>90</b>
<b>7. Summary .....</b>	<b>91</b>
<b>8. Literaturverzeichnis.....</b>	<b>92</b>



<b>9.</b>	<b>Anhang .....</b>	<b>101</b>
<b>9.1.</b>	<b>Körpermasse der Versuchstiere .....</b>	<b>101</b>
<b>9.2.</b>	<b>Bleikonzentrationen im Blut der Versuchstiere .....</b>	<b>102</b>
<b>9.3.</b>	<b>Differenzen der Bleikonzentrationen im Blut der Versuchstiere – Differenz zwischen den Versuchstagen und der Nullprobe für die Auswertung mittels R .....</b>	<b>110</b>
<b>9.4.</b>	<b>Ergebnisse des Dunn’s Test .....</b>	<b>111</b>
<b>9.5.</b>	<b>Statistische Auswertung – Skript für das Statistikprogramm RStudio .....</b>	<b>112</b>
	<b>Publikationsverzeichnis .....</b>	<b>115</b>
	<b>Danksagung .....</b>	<b>116</b>
	<b>Selbstständigkeitserklärung .....</b>	<b>117</b>

## **Erlaubnis für die Durchführung von Tierexperimenten**

### Fütterung bleihaltigen Wildbrets an Schweine

Die Genehmigung erfolgte am 11.08.2015 durch das Landesamt für Landwirtschaft, Lebensmittelsicherheit und Fischerei Mecklenburg-Vorpommern.

Aktenzeichen: 7221.3-2-027/15

### Intravenöse Gabe von Bleiacetat bei Schweinen

Die Genehmigung erfolgte am 28.11.2016 durch das Landesamt für Landwirtschaft, Lebensmittelsicherheit und Fischerei Mecklenburg-Vorpommern.

Aktenzeichen: 7221.3-2-021/16

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Darstellung der Verzehrgruppen von Wildbret.....	33
Tabelle 2: Bleigehalte in den Teilproben vom Rehwild des LEMISI-Projektes .....	36
Tabelle 3: Ablauf der ersten 13 Tage.....	57
Tabelle 4: Portionsgröße für die Schweine der Versuchsgruppen A, B und der Kontrollgruppe K zur Gewöhnung an das Wildbret und Portionsgröße am Versuchstag.....	58
Tabelle 5: Versuchsablauf ab Tag -1 .....	60
Tabelle 6: Ergebnisse der pH-Wert-Messung im rohen und zubereiteten Wildbret .....	66
Tabelle 7: Ergebnisse der Analyse der Wildbretzubereitungen.....	67
Tabelle 8: Entwicklung der mittleren Körpermasse je Gruppe in kg: Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) und Standardabweichungen (SD).....	68
Tabelle 9: Ein- und Rückwaage der Wildbretportionen am Versuchstag (Tag 0) .....	70
Tabelle 10: Wildbret- und Bleiaufnahme der Einzeltiere .....	71
Tabelle 11: Mittelwert ( $\bar{x}$ ), Standardabweichung (SD) und Mittelwert ( $\bar{x}$ ) der Differenz zur Nullprobe auf Gruppenebene zum jeweiligen Zeitpunkt für die Versuchsgruppen A und B und die Kontrollgruppe K .....	76
Tabelle 12: Bleigehalte im Wildbret (mg/kg) aus dem LEMISI-Projekt und dem eigenen Fütterungsversuch .....	81
Tabelle 13: Körpermasse der Schweine der Versuchsgruppe A.....	101
Tabelle 14: Körpermasse der Schweine der Versuchsgruppe B .....	101
Tabelle 15: Körpermasse der Schweine der Kontrollgruppe K.....	101
Tabelle 16: Ergebnisse der ICP-MS Analyse der Blutproben der Schweine der Versuchsgruppe A.....	102
Tabelle 17: Mittlere Bleikonzentrationen ( $\mu\text{g/l}$ ) im Blut der Schweine der Gruppe A.....	104
Tabelle 18: Ergebnisse der ICP-MS Analyse der Blutproben der Schweine der Versuchsgruppe B.....	105
Tabelle 19: Mittlere Bleikonzentrationen ( $\mu\text{g/l}$ ) im Blut der Schweine der Gruppe B.....	107
Tabelle 20: Ergebnisse der ICP-MS Analyse der Blutproben der Schweine der Kontrollgruppe K .....	108
Tabelle 21: Mittlere Bleikonzentrationen ( $\mu\text{g/l}$ ) im Blut der Schweine der Kontrollgruppe K109	
Tabelle 22: Differenzen der Bleikonzentrationen im Blut.....	110
Tabelle 23: Darstellung des p-Wertes (adjustiert) für den Vergleich der Differenz zwischen Nullprobe (NP) (Tag -1) und Tag 1 für die Gruppen A - B, A - K und B - K ....	111
Tabelle 24: Darstellung des p-Wertes (adjustiert) für den Vergleich der Differenz zwischen Nullprobe (NP) (Tag -1) und Tag 2 für die Gruppen A - B, A - K und B - K.	111

Tabelle 25: Darstellung des p-Wertes (adjustiert) für den Vergleich der Differenz zwischen Nullprobe (NP) (Tag -1) und Tag 3 für die Gruppen A - B, A - K und B - K. 111

**Abbildungsverzeichnis**

Abbildung 1: Verschiedene Eintragspfade und Verteilung von Blei im Körper .....	18
Abbildung 2: Untergrenze (lower bound) der geschätzten Verbrauchereexposition gegenüber Blei über verschiedene Nahrungsmittel-Unterkategorien und -Unterklassen ....	30
Abbildung 3: Anteil verschiedener Lebensmittel an der täglichen Bleiaufnahme.....	32
Abbildung 4: Schematische Darstellung des Stalles und der Buchten .....	55
Abbildung 5: Futtermittelkennzeichnung des verfütterten Alleinfuttermittels.....	56
Abbildung 6: Mittlere Bleikonzentrationen im Blut der Schweine der Versuchsgruppe A grafisch dargestellt.....	72
Abbildung 7: Mittlere Bleikonzentrationen im Blut der Schweine der Versuchsgruppe B grafisch dargestellt.....	73
Abbildung 8: Mittlere Bleikonzentrationen im Blut der Schweine der Kontrollgruppe K grafisch dargestellt .....	75
Abbildung 9: Bleikonzentrationen im Blut der Versuchsgruppen A, B und der Kontrollgruppe K ( $\bar{x} \pm SD$ ) grafisch dargestellt.....	77
Abbildung 10: Darstellung der Bleikonzentrationen im Blut zwischen den Gruppen über den Versuchszeitraum von 7 Tagen ( $\bar{x} \pm SD$ ) .....	78
Abbildung 11: Mittlere Bleikonzentration im Blut $\pm$ SD der vier Versuchsschweine im Vergleich zu den vier Kontrollschweinen im Versuch von Hunt et al. (2009) ..	85
Abbildung 12: In R eingespeiste Daten.....	112

## Abkürzungsverzeichnis

ADP	Adenosindiphosphat
ALARA	As Low As Reasonably Achievable – So niedrig wie vernünftigerweise erreichbar
AUC	Area under the curve
BfR	Bundesinstitut für Risikobewertung
BMD	Benchmark-Dosis
BMEL	Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft
BVL	Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit
Ca <sup>2+</sup> -Kanal	Kalzium-Kanal
CKD	Chronic Kidney Disease – Chronische Nierenerkrankung
CONTAM-Gremium	EFSA-Gremium für Kontaminanten in der Lebensmittelkette
DFG	Deutsche Forschungsgemeinschaft
e	Eichwert
EFSA	European Food Safety Authority – Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit
EU	Europäische Union
GABA	γ-Aminobuttersäure
GF-AAS	Graphitrohr-Atomabsorptionsspektrometrie
HCl	Salzsäure
Hg	Quecksilber
HNO <sub>3</sub>	Salpetersäure
IARC	International Agency for Research on Cancer
ICP-MS	Induktiv gekoppelte Plasma-Massenspektrometrie
IQ	Intelligenzquotient
i.v.	Intravenös
JECFA	Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives
KM	Körpermasse
LD <sub>50</sub> -Wert	Mittlere letale Dosis
LEMISI-Projekt	Lebensmittelsicherheit von jagdlich gewonnenem Wildbret
LExUKon-Projekt	Lebensmittelbedingte Exposition gegenüber Umweltkontaminanten
LFGB	Lebensmittel- und Futtermittelgesetzbuch
LGL	Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit
LMHV	Lebensmittelhygiene-Verordnung
LOAEL	Lowest Observed Adverse Effect Level – Niedrigste Zufuhr mit nachteiliger Wirkung

ML	Maximum Level
MoE	Margin of Exposure
MRL	Minimum Risk Level
MS	Massenspektrometrie
n	Anzahl
NP	Nullprobe
Pb	Plumbum – Blei
PTWI	Provisional tolerable weekly intake
SCF	European Commission's Scientific Committee for Food
SD	Standardabweichung
spICP-MS	single particle induktiv gekoppelte Plasma-Massenspektrometrie
Tier-LMHV	Tierische Lebensmittel-Hygieneverordnung
TrinkwV	Trinkwasserverordnung
U.S. ATSDR	United States Agency for Toxic Substances and Disease Registry
U.S. EPA	United States Environmental Protection Agency
VKM	Norwegian Scientific Committee on Food Safety
VO	Verordnung
WHO	World Health Organization – Weltgesundheitsorganisation
$\bar{x}$	Mittelwert





## 1. Einleitung

Blei ist eine Umweltkontaminante und gelangt aus natürlichen Quellen wie Erosion oder Vulkanismus in die Umwelt, aber auch aus anthropogenen Quellen. Hierzu zählen unter anderem Bergbau, Verhüttung, Bleibatterien und Munition (Pattee und Pain, 2003; EFSA, 2010; WHO, 2010). Blei ist ein hochtoxisches Schwermetall und seine Toxizität betrifft alle Organsysteme. Die schwerwiegendsten Auswirkungen werden im Nerven-, Verdauungs- und Kreislaufsystem beschrieben (WHO, 2010). Nach oraler Aufnahme können sich sowohl akute Auswirkungen als auch chronische Langzeiteffekte bei Mensch und Tier zeigen. Eine wiederholte Exposition führt zu einer chronischen Toxizität mit Neurotoxizität und Toxizität bei der Entwicklung des Nervensystems, kardiovaskulären Effekten, Nierentoxizität, Genotoxizität und Karzinogenität (EFSA, 2010). Die Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA) kam in ihrer Stellungnahme aus dem Jahr 2010 zu dem Schluss, dass für Blei keine Wirkungsschwelle abzuleiten ist und damit keine Aufnahmemenge an Blei existiert, die als unbedenklich gilt (EFSA, 2010). Grundsätzlich sollten alle Maßnahmen unterstützt werden, die zu einer Verringerung des Eintrags an Blei in die Nahrungskette führen.

Bislang wurde bei der Ausübung der Jagd hauptsächlich Bleimunition verwendet. Auch im wildbrethygienisch versorgten Fleisch sind messbare Bleigehalte nachweisbar, die größtenteils auf die Verwendung bleihaltiger Geschosse zurückzuführen sind (BfR, 2010). Die Frage, wie viel des aus der Bleimunition stammenden Bleis (als Bleilegierungen und Bleiverbindungen) nach dem Abhängen des Tieres und nach küchenmäßiger Zubereitung tatsächlich in resorbierbarer Form im Wildbret vorliegt und folglich für den Verbraucher nach dem Verzehr verfügbar ist, ist bis heute nicht geklärt. Je nach verwendetem Geschosstyp und Trefferlage verändert sich das Geschoss im Wildtier nach dem Auftreffen und Eindringen in den Wildtierkörper. Dabei können Geschossdeformationen sowie größere Geschossfragmente und/oder feinste Bleisplitter entstehen, die sich in Form einer Splitterwolke im Muskelgewebe entlang des Schusskanals oder auch im weiter entfernten Muskelgewebe verteilen können. Im Zuge der Fleischreifung („Abhängen“ des Wildtierkörpers) finden Reaktionen des Bleis aus den Geschossfragmenten bzw. feinsten Bleisplittern mit dem Eiweiß des Muskelgewebes statt (Mateo et al., 2007; Mateo et al., 2011). Dies hat zur Folge, dass ein Teil des Bleis in andere Bindungsformen übergeht. Wird das Wildbret küchenmäßig zubereitet, bewirkt z. B. ein Beizen bzw. Einlegen des Wildbrets in Wein- oder Essigbeize vor dem Braten sowie das anschließende Braten selbst ebenfalls eine Überführung eines Teils des Bleis aus der Munition in andere, vergleichsweise leicht lösliche Bleiverbindungen. Je saurer die Beize ist, desto mehr ist von einer Änderung der

chemischen Bindungsverhältnisse an der Oberfläche der Bleisplitter und von einer potenziell höheren Bioverfügbarkeit des Bleis im Verdauungstrakt auszugehen (Hecht, 1984, 2000).

Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung sollen dazu beitragen, die Bleiaufnahme des Verbrauchers infolge des Verzehrs bleihaltig erlegten Wildbrets in Abhängigkeit von der Art der Zubereitung quantifizieren zu können. Die Arbeitshypothese ist, dass die küchenmäßige Zubereitung von Wildbret mit einer sauren Beize die Bioverfügbarkeit des Bleis erhöht. Mit den im Tierversuch erhaltenen Ergebnissen können im Sinne des vorsorgenden gesundheitlichen Verbraucherschutzes entsprechende Empfehlungen abgeleitet werden.

## 2. Literatur

### 2.1. Toxikologie von Blei

Blei ist ein natürlich vorkommendes Element, welches der Gruppe 4A des Periodensystems angehört, die Ordnungszahl 82 besitzt und eine Atommasse von 207,2 u aufweist. Es ist ein silbern-bläuliches Metall, das in kleinen Mengen in der Erdkruste vorkommt. Meistens tritt Blei als Verbindung mit zwei oder mehreren anderen Metallen auf (EFSA, 2010). Blei ist ein weiches, formbares Metall mit einem niedrigen Schmelzpunkt (327,5°C), einem Siedepunkt von 1744°C und einer hohen Dichte (11,34 g/cm<sup>3</sup>). Es ist äußerst dehnbar, schwach elektrisch leitfähig und korrosionsbeständig (Itter und Pabel, 2013). Blei kommt natürlicherweise in einer ganzen Reihe von Mineralen, wie z. B. Galenit (Bleiglanz), Cerussit (Weißbleierz) und Anglesit (Bleivitriol) vor (Pokras und Kneeland, 2009; EFSA, 2010). In der Erdkruste findet man es in geringen Mengen als Bleisulfid (WHO, 2010). Die jährliche Produktionsmenge von Blei beträgt etwa 4,5 Millionen Tonnen, wobei die Hälfte des Bleis aus dem Bergbau in China stammt. Weitere Produzenten sind Australien, USA, Peru und Mexiko (Skerfving und Bergdahl, 2007).

Blei existiert sowohl in organischer als auch in anorganischer Form. Es kommt in der Natur kaum elementar vor und liegt in der Umwelt überwiegend in anorganischer Bindung vor (als Oxid oder Sulfid, sowie als Bleicarbonat, -sulfat oder -chromat) (EFSA, 2010; Itter und Pabel, 2013). Blei ist eine natürliche Umweltkontaminante. Es gelangt aus natürlichen Quellen (Erosion, Verwitterungsprozesse von Felsen, Vulkanismus), aber auch aus anthropogenen Quellen (Bergbau, Verhüttung, Industrie, früher bleihaltiges Benzin, Landwirtschaft, Bleibatterien, Munition, Senkblei beim Angeln, bleihaltige Farben, Wasserrohre) in die Umwelt und ist nahezu ubiquitär vorhanden (Pattee und Pain, 2003; EFSA, 2010; WHO, 2010). Blei wird auch heute noch im Strahlenschutz, in Akkus und als Munition verwendet (Pattee und Pain, 2003; Itter und Pabel, 2013). Die Reglementierung von Blei in Farbe, Benzin, Rohren und Dosen zur Lebensmittelaufbewahrung erfolgt in Europa und den USA seit den 1970er Jahren durch entsprechende Kontrollmaßnahmen und führte zu einer signifikanten Reduzierung der Exposition gegenüber Blei für die gesamte Bevölkerung (EFSA, 2010). Zwischen 1976 und 1991 sank der mittlere Blutbleigehalt bei Kindern im Alter von ein bis fünf Jahren in direkter Abhängigkeit zu der Menge an Tetraethylblei (produziert für die Verwendung in Benzin) um 77 % von 13,7 µg/dl auf 3,2 µg/dl (Pirkle et al., 1994).

Die Verwendung von Blei in der Industrie, wie z. B. beim Bergbau oder bei der Verhüttung, hat zu erhöhten Gehalten im Boden, im Wasser und in der Luft geführt. Nicht nur verbleites Benzin, sondern auch Emissionen aus Müllverbrennungsanlagen haben in der Vergangenheit zum Eintrag von Blei in die Umwelt beigetragen. Die Akkumulation von Blei in Böden und Oberflächengewässern ist von vielen unterschiedlichen Faktoren abhängig, unter

anderem vom pH-Wert, der Mineralzusammensetzung und der Menge und Art des organischen Materials. Das Blei aus dem Boden kann auf diesem Wege ebenfalls in Nutzpflanzen übergehen (EFSA, 2010). Ist Blei erst einmal durch die Luft, das Wasser oder den Boden in die Nahrungskette gelangt, kann es in allen Organismen bioakkumulieren (Burger und Gochfeld, 2005).

## **2.2. Toxikokinetik und Toxizität von Blei**

### **2.2.1. Toxikokinetik**

Die Toxikokinetik umfasst alle Prozesse im Körper, denen ein Fremdstoff unterlegen ist. Dies beinhaltet die Aufnahme (Absorption), die Verteilung (Distribution), den Metabolismus (Biotransformation), die Speicherung und die Ausscheidung (Elimination) eines Stoffes (Rabinowitz, 1991; Nau et al., 2003; ChemgaPedia, 2019).

### **Orale Aufnahme und Bioverfügbarkeit**

Die Bioverfügbarkeit und die gastrointestinale Absorption von oral aufgenommenem Blei werden von unterschiedlichen physiologischen Faktoren (z. B. Alter, Nahrungskarenz, Kalzium- und Eisengehalt der Nahrung, Schwangerschaft) und physikochemischen Eigenschaften der Partikel (Größe, Löslichkeit und Bleispezies) beeinflusst. Nähere Details zum Mechanismus der Absorption sind noch nicht hinreichend bekannt (EFSA, 2010). Im Verdauungstrakt des menschlichen Körpers wird Blei durch Magensäure in lösliche Salze umgewandelt. Diese sind bioverfügbar und können im Darm absorbiert werden (Pokras und Kneeland, 2009). In Experimenten mit radioaktiven Tracern bei fastenden Probanden betrug je nach Studie der absorbierte Anteil von Blei 37 bis 70 % (Rabinowitz et al., 1980; James et al., 1985; EFSA, 2010). Bei Studien zur Aufnahme von stabilen Bleisotopen bei Erwachsenen, die nicht gefastet hatten, wurde eine mittlere Absorption von 15 bis 20 % ermittelt (Skerfving und Bergdahl, 2007). In anderen Studien wurden Absorptionsraten bei erwachsenen Männern zwischen 10 und 15 % festgestellt, der restliche Anteil wurde über die Fäzes ausgeschieden (Pokras und Kneeland, 2009).

Die Absorption von oral aufgenommenen Bleiverbindungen scheint bei Kindern höher zu sein als bei Erwachsenen. Kinder absorbieren bis zu 40 bis 50 % des oral aufgenommenen Bleis, somit das 4- bis 5-fache der Menge, die ein Erwachsener (abgesehen von Schwangeren) absorbiert (Alexander et al., 1974; Ziegler et al., 1978; U.S. ATSDR, 2007; Pokras und Kneeland, 2009; WHO, 2010). Bei allen Altersgruppen kann die Absorption von Blei, z. B. durch Stress, wie Schwangerschaft, Verletzungen oder Krankheit, erhöht sein (Pokras und Kneeland, 2009). Verschiedene Studien an Versuchstieren zeigten ebenfalls eine altersabhängige Absorption von Blei. Rattenjungtiere nahmen etwa 40- bis 50-mal mehr

Blei aus dem Futter auf als adulte Ratten (Kostial et al., 1971; Forbes und Reina, 1972; Aungst et al., 1981). Forbes und Reina (1972) stellten in ihrer Untersuchung fest, dass sehr junge Ratten nahezu die gesamte oral verabreichte Dosis absorbierten. Zum Zeitpunkt des Absetzens der Tiere von der Mutter sank die Absorption abrupt und im Alter von 30 Tagen wurden Absorptionsraten wie bei adulten Tieren erreicht.

Die Anwesenheit von Nahrung im Gastrointestinaltrakt verringert laut Studien am Menschen die Absorption von wasserlöslichen Bleiverbindungen, die ermittelte Absorptionsrate betrug in verschiedenen Studien 3 bis 21 % (im Mittel 8 %), wenn das Blei mit einer Mahlzeit aufgenommen wurde (Rabinowitz et al., 1980; Heard und Chamberlain, 1982; Blake et al., 1983; James et al., 1985). Dabei spielt auch der Eisengehalt der Nahrung bei der Bleiabsorption eine Rolle. Eine geringe Eisenaufnahme ist mit erhöhten Bleikonzentrationen im Blut verbunden (Cheng et al., 1998). Verschiedene Studien an Ratten bestätigten die Beobachtungen zum Einfluss des Eisengehaltes auf die Bleiabsorption. Ein Eisenmangel in der Nahrung führt zu einer erhöhten Retention des Bleis im Körper (Six und Goyer, 1972; Barton et al., 1978b; Morrison und Quarterman, 1987). Außerdem scheint die Bleiabsorption auch von der Kalziumaufnahme beeinflusst zu werden. Bei Kindern war eine umgekehrte Beziehung zwischen Kalziumgehalt der Nahrung und Bleikonzentration im Blut zu beobachten. Dies bedeutet, dass Kinder mit Kalziummangel mehr Blei absorbieren als Kinder mit einem Kalziumüberschuss (Ziegler et al., 1978). In einer Studie an Ratten konnte festgestellt werden, dass die Tiere mit Kalziummangel eine erniedrigte Exkretion und somit eine erhöhte Retention von Blei aufwiesen (Barton et al., 1978a). Auch bei Erwachsenen konnte ein Einfluss von Kalzium auf die Bleiabsorption festgestellt werden. So zeigte unter anderem eine Studie, dass die orale Aufnahme von 200 mg Kalzium die Absorption von Blei um den Faktor 1,3 verringerte (Heard und Chamberlain, 1982).

Barltrop und Meek (1979) untersuchten den Einfluss der Partikelgröße auf die Absorption von Blei aus dem Magendarmtrakt bei Ratten. Die mittlere Bleikonzentration im Blut von Ratten, die metallisches Blei mit einem Partikeldurchmesser von  $< 38 \mu\text{m}$  oral aufgenommen hatten, war um das 2,3-fache höher als bei Ratten, die Partikel mit einem Durchmesser von 150 bis  $250 \mu\text{m}$  aufgenommen hatten. Diese Ergebnisse zeigen, dass eine Verbindung zwischen Partikelgröße und Absorption von Blei aus dem Magendarmtrakt vorliegt. Eine mögliche Erklärung für die erhöhte Absorption des Bleis aus kleinen Partikeln könnte die erhöhte Oberflächenoxidation sein (Barltrop und Meek, 1979).

### **Aufnahme durch Inhalation**

Größe und Löslichkeit inhalierter bleihaltiger Partikel beeinflussen deren Ablagerung und Absorption im Respirationstrakt (EFSA, 2010). Partikel, welche größer als  $5 \mu\text{m}$  sind, werden vom Flüssigkeitsfilm der Trachea und Bronchien umhüllt und durch mukoziliären Transport

zum Pharynx transportiert. Dort können sie abgeschluckt werden. Danach ist eine Absorption des Bleis im Gastrointestinaltrakt möglich (EFSA, 2010). Kleinere Partikel können im distalen Teil des Respirationstraktes abgelagert werden. Von dort können sie, nachdem sie extrazellulär aufgelöst oder von Alveolarmakrophagen aufgenommen wurden, absorbiert werden (EFSA, 2010).

### **Dermale Aufnahme**

Bestimmte lipophile Bleiverbindungen können auch über die Haut aufgenommen werden (Pokras und Kneeland, 2009). Die Aufnahme von Bleiverbindungen über die Haut wird allgemein als deutlich geringer angesehen als die Aufnahme durch Inhalation oder die orale Aufnahme (Stauber et al., 1994; EFSA, 2010). Es gibt nur wenige Studien mit quantitativen Schätzungen zur dermalen Absorption von Blei beim Menschen (EFSA, 2010).

### **Verteilung und Metabolismus**

Blei enthaltende Metalloproteine und Peptide werden über den Blutkreislauf zu Weichgeweben und Knochen transportiert. Dort akkumuliert Blei im Laufe der Jahre. Die Halbwertszeit von Blei im Blut beträgt etwa 30 Tage, in Weichgeweben 30 bis 55 Tage und in Knochen 10 bis 30 Jahre (Rabinowitz et al., 1976; Rabinowitz, 1991; Needleman, 2004; EFSA, 2010). Abbildung 1 zeigt die unterschiedlichen Aufnahmepfade und die weitere Verteilung von Blei im Körper.

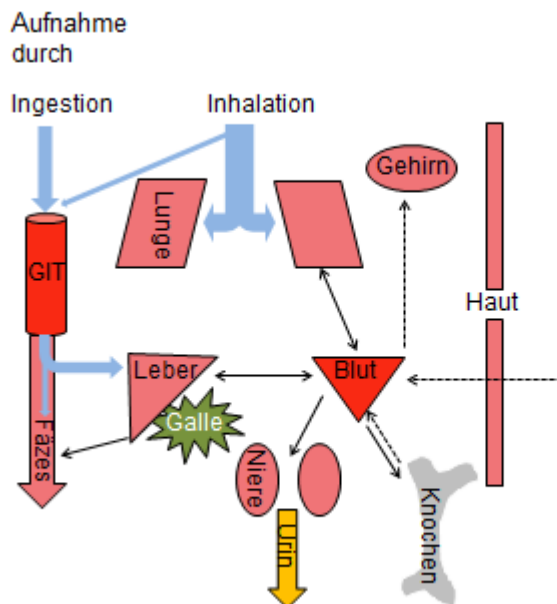


Abbildung 1: Verschiedene Eintragspfade und Verteilung von Blei im Körper

GIT = Gastrointestinaltrakt

Abgeändert nach EFSA (2010), Seite 65

Sobald Blei in den Blutstrom eintritt, wird es vor allem von Erythrozyten aufgenommen. Gewöhnlich verbleibt weniger als 1 % des Bleis im Plasma (Bergdahl et al., 1997; Skerfving und Bergdahl, 2007). In der frühen Phase der Bleiexposition steigt die Bleikonzentration im Blut rasch an und stellt somit einen sensitiven Indikator für eine kürzlich stattgefundenen Absorption dar (Rabinowitz et al., 1976).

Obwohl die Mechanismen, die dafür sorgen, dass Blei die Zellmembranen passiert, noch nicht vollständig geklärt sind, weisen verschiedene Studienergebnisse mit Erythrozyten darauf hin, dass der Hauptweg vermutlich ein Hydrogencarbonat-abhängiger Anionen-Austauscher ist (Simons, 1986b, 1986a, 1993). Eine Studie zeigte, dass sich Blei und Kalzium auch einen Permeabilitätsweg teilen können. Dies kann ein  $\text{Ca}^{2+}$ -Kanal sein (Calderón-Salinas et al., 1999).

Ein großer Anteil des absorbierten Bleis wird in das Skelett eingebaut. Bei Erwachsenen findet sich ungefähr 90 % der totalen Körperlast von Blei im Knochen (Barry, 1975; Demayo et al., 1982). Die Knochen von Männern enthalten bis zu 30 % mehr Blei im Vergleich zu Frauen (Barry, 1975). Der Autor führt dafür keine Gründe an, vermutlich ist dies aber auf den unterschiedlichen Stoffwechsel von Mann und Frau zurückzuführen. Auch lange nachdem die exogene Exposition geendet hat, kann dieser große Pool an Blei im Knochen, z. B. bei Arbeitern einer Bleihütte, die Bleikonzentration im Blut stetig erhöht halten (O'Flaherty et al., 1982; Fleming et al., 1997). Im Gegensatz dazu beträgt bei Kindern der Anteil des Bleis im Knochen nur 70 % der Körperlast (EFSA, 2010). Aufgrund des langsamen Netto-Turnovers steigt der Bleigehalt im Knochen mit zunehmendem Alter. Mittlere Bleigehalte in der Tibia wurden mit ungefähr 2  $\mu\text{g/g}$  bei Jugendlichen, mit 17  $\mu\text{g/g}$  bei Erwachsenen im Alter von 30 bis 50 Jahren und mit 30  $\mu\text{g/g}$  im Alter von über 75 Jahren angegeben (Wittmers et al., 1988). Unter bestimmten Bedingungen wird der Knochen-Turnover erhöht, so z. B. während der Schwangerschaft, Laktation, postmenopausalen Osteoporose und bei Hyperthyreoidismus. Es kommt zu erhöhten Bleikonzentrationen im Blut als Folge der Mobilisierung von Blei aus den Knochenspeichern (Silbergeld et al., 1988; Silbergeld, 1991; Klein et al., 1998; Gulson et al., 2003). In manchen Knochen, wie z. B. im Femur und im Beckenknochen, nimmt der Bleigehalt mit dem Alter ab (Drasch et al., 1987). Diese Abnahme ist am deutlichsten ausgeprägt bei Frauen und kann möglicherweise auf das Auftreten von Osteoporose und die Freisetzung von Blei aus dem Knochen ins Blut zurückzuführen sein (Drasch et al., 1987; Silbergeld et al., 1988). Während der Schwangerschaft wird ebenfalls vermehrt Blei aus den Knochen mobilisiert, da zur Bildung des fetalen Skeletts Kalzium aus dem Knochen freigesetzt wird. Diese Mobilisation kann möglicherweise der Grund für die Erhöhung der Bleikonzentration im Blut sein, die während der Schwangerschaft beobachtet wurde (Silbergeld, 1991; Landrigan und Todd, 1994; Lagerkvist et al., 1996; Gulson et al., 1997; Gulson et al., 2003). Das Blei aus dem

mütterlichen Blut gelangt durch die Plazenta zum Fötus (Silbergeld, 1986; Goyer, 1990) und wird nach der Geburt vom Neugeborenen und Kleinkind auch über die Muttermilch aufgenommen (Silbergeld, 1991; Ettinger et al., 2006).

Im Gegensatz zu Blei im Knochen, welches mit fortschreitender Exposition beim Erwachsenen akkumuliert, sind die Gehalte von Blei im Weichgewebe (z. B. Leber und Nieren) auch mit zunehmendem Alter beim Erwachsenen relativ konstant (Barry, 1975; Treble und Thompson, 1997). Dies spricht für einen schnelleren Turnover von Blei in diesen Geweben.

### **Exkretion**

Im Allgemeinen wird Blei vor allem über den Harn (54 bis 78 % durch glomeruläre Filtration) ausgeschieden (Rabinowitz et al., 1976). Die Exkretion über die Fäzes beträgt etwa ein Drittel der gesamten Exkretion des absorbierten Bleis (U.S. ATSDR, 2007). Schweiß, Speichel, Haare, Nägel und Muttermilch spielen in Bezug auf die Exkretion von Blei eine eher untergeordnete Rolle (Kehoe, 1961; Rabinowitz et al., 1976; Kehoe, 1987; Stauber et al., 1994; IARC und WHO, 2006; Skerfving und Bergdahl, 2007).

#### **2.2.2. Toxizität**

Es liegen verschiedene Daten zu nachteiligen Effekten von Blei auf die Entwicklung des Nervensystems, auf mutagene, karzinogene, kardiovaskuläre und renale Effekte, Effekte auf das endokrine System, gastrointestinale, hämatologische und muskuloskeletale Effekte, Reproduktionseffekte und Effekte auf die Entwicklung vor (IARC und WHO, 2006; U.S. ATSDR, 2007; EFSA, 2010). Die Toxizität von Blei betrifft grundsätzlich alle Organsysteme, aber die schwerwiegendsten Auswirkungen werden im Nerven-, Verdauungs- und Kreislaufsystem beschrieben (WHO, 2010). Studien zur Genotoxizität in Zellsystemen, Tieren und Menschen weisen darauf hin, dass Blei ein indirektes Mutagen ist (IARC und WHO, 2006; U.S. ATSDR, 2007; EFSA, 2010).

Blei ist ein nicht-spezifischer Giftstoff auf molekularer Ebene und hemmt die Aktivität vieler Enzyme, die für physiologische Vorgänge notwendig sind. Es sind zwischen- und innerartliche Unterschiede bekannt bezüglich der Mechanismen und Faktoren, die die Bleiabsorption, -retention und -elimination beeinflussen. Die wichtigste Variable, welche die Bleiabsorption beeinflusst, ist die Nahrung. Alter, Geschlecht, der physiologische Zustand des Individuums und Umwelteinflüsse beeinflussen ebenfalls die Auswirkungen von Blei auf den Organismus (Pattee und Pain, 2003). Blei kann sowohl akute Auswirkungen als auch chronische Langzeiteffekte auf Mensch und Tier haben.



### **Akute Toxizität**

Gesundheitliche Effekte von Blei werden im Allgemeinen nicht nach einer einmaligen Exposition beobachtet und die oralen LD<sub>50</sub>-Werte für Bleisalze liegen bei über 2000 mg/kg Körpermasse (KM). Die niedrigsten tödlichen Dosen beim Tier, die nach mehrmaliger oraler Kurzzeiteexposition gegenüber Bleiacetat, Bleichlorat, Bleinitrat, Bleioleat, Bleioxid oder Bleisulfat beobachtet wurden, liegen zwischen 300 und 4000 mg/kg Körpermasse (WHO, 2000; EFSA, 2010).

Akute Symptome treten meist bei kurzzeitiger Exposition gegenüber hohen Dosen auf. Dazu gehören gastrointestinale Symptome wie Anorexie, Nausea, Erbrechen oder Abdominalschmerzen und -koliken, Konstipation, außerdem Leber- und Nierenschäden, Hypertension und neurologische Auswirkungen (Benommenheit, Enzephalopathien, Hirnödem), die zu Konvulsionen und dem Tod führen können (Cullen et al., 1983; Needleman, 2004; WHO, 2010).

### **Wiederholte Exposition und chronische Toxizität**

Bezüglich des möglichen Risikos für die menschliche Gesundheit ist die chronische Toxizität von Blei aufgrund der langen Halbwertszeit im Körper von größter Bedeutung.

Bei wiederholter Exposition gegenüber Blei können folgende Effekte beobachtet werden:

- Neurotoxizität und Toxizität bei der Entwicklung des Nervensystems
- Kardiovaskuläre Effekte
- Nierentoxizität
- Genotoxizität
- Karzinogenität

Eine Exposition gegenüber niedrigen Bleimengen führt beim Menschen zu einer Vielzahl von Symptomen, wie kognitiven Defiziten bei Kindern, Nierenschäden, Hypertension, Katarakten, Anämie, neurologischen Beeinträchtigungen (Kopfschmerzen, Lethargie, Konvulsionen, Muskelschwäche, Ataxie, Tremor, Paralyse) und Reproduktionsstörungen wie Fehl- oder Totgeburten und verminderte Fertilität bei Frauen bzw. Männern (Patrick, 2006).

### **Neurotoxizität**

Das zentrale Nervensystem ist beim Menschen Hauptzielorgan für die Toxizität von Blei. Es wurde festgestellt, dass die bleiassozierte Neurotoxizität bei Erwachsenen die zentrale Informationsverarbeitung beeinflusst, vor allem die Verarbeitung für die visuell-räumliche Organisation und das verbale Kurzzeitgedächtnis. Zudem können psychische Symptome hervorgerufen sowie die manuelle Geschicklichkeit beeinträchtigt werden (EFSA, 2010). Es gibt umfangreiche Beweise, die belegen, dass das sich entwickelnde Gehirn empfindlicher gegenüber der Neurotoxizität von Blei ist als das adulte/reife Gehirn. Bei Kindern wird eine

erhöhte Bleikonzentration im Blut mit einem reduzierten Intelligenzquotienten (IQ) und verminderten kognitiven Fähigkeiten bis zum Alter von sieben Jahren in Verbindung gebracht (EFSA, 2010). Es gibt Hinweise, dass dies anschließend vor allem im präfrontalen Cortex zu einem reduzierten Volumen der adulten Substantia grisea (Grauen Substanz) führen kann (EFSA, 2010). Die Dosis-Wirkungs-Beziehung zwischen Bleikonzentration im Blut und IQ zeigt eine nicht-lineare Kurve, die einen größeren relativen Einfluss bei geringen Bleikonzentrationen im Blut zeigt (EFSA, 2010).

Viele der toxischen Eigenschaften von Blei sind darauf zurückzuführen, dass Blei Kalzium hemmt, imitiert oder mit ihm konkurriert (Bressler und Goldstein, 1991; Needleman, 2004; Pokras und Kneeland, 2009). Blei hemmt den Eintritt von Kalzium in die Zelle und hat zwei Auswirkungen auf die Neurotransmitter-Ausschüttung: die spontane Neurotransmitter-Ausschüttung ist erhöht, während die stimulierte Ausschüttung gehemmt wird (Bressler und Goldstein, 1991; Needleman, 2004). Ersteres könnte auf die Aktivierung von Proteinkinasen in den Nervenendigungen zurückzuführen sein, letzteres auf die Blockierung spannungsabhängiger Kalzium-Kanäle. Diese Störung der neuronalen Aktivität könnte wiederum die Entwicklungsprozesse der Synapsenausbildung verändern und in einem weniger effizienten Gehirn mit kognitiven Defiziten resultieren (Bressler und Goldstein, 1991).

In geringen Konzentrationen erhöht Blei die spontane oder basale Ausschüttung von Neurotransmittern an den präsynaptischen Nervenenden (Bressler und Goldstein, 1991). Eine bleiinduzierte Ausschüttung von Neurotransmittern tritt ebenfalls im Zentralnervensystem auf. Mikromolare Bleikonzentrationen erhöhten die spontane Ausschüttung von Dopamin, Acetylcholin und  $\gamma$ -Aminobuttersäure (GABA) in isolierten Geweben der Ratte (Minnema et al., 1986; Minnema und Michaelson, 1986; Minnema et al., 1988). Zusätzlich zu der eben genannten Verstärkung der spontanen Ausschüttung von Neurotransmittern blockiert Blei die Ausschüttung von Neurotransmittern, die physiologischerweise durch Depolarisation der Nervenenden produziert werden (Bressler und Goldstein, 1991).

Im peripheren Nervensystem sind die Motoraxone das hauptsächliche Ziel von Blei. Bleiinduzierte pathologische Veränderungen in diesen Fasern beinhalten segmentale Demyelinisierung und axonale Degeneration (Fullerton, 1966). Die Paralyse der Extensormuskulatur an Hand- und Fußgelenk führt zu Radialisfallhand und Spitzfußstellung. Dies war bereits zu Zeiten von Hippokrates ein klassisches klinisches Anzeichen einer Bleivergiftung (Landrigan und Todd, 1994).

### Kardiovaskuläre Effekte

Bei chronischer Exposition gegenüber niedrigen Bleimengen und daraus resultierenden niedrigen Bleikonzentrationen im Blut muss sowohl mit einem Anstieg des systemischen Blutdrucks als auch einer Verringerung der glomerulären Filtrationsrate gerechnet werden. Diese beiden Effekte können sich gegenseitig bedingen. Eine Verringerung der glomerulären Filtrationsrate könnte zu einem Anstieg des Blutdrucks beitragen und ein erhöhter Blutdruck könnte für eine glomeruläre Erkrankung prädisponierend sein (U.S. ATSDR, 2007). In einer Studie wurde die Verbindung zwischen Blutdruck und Bleikonzentration im Blut bestätigt. Die Studie zeigte, dass eine Verdopplung der Bleikonzentration im Blut mit einem Anstieg des systolischen Blutdrucks um 1,0 mm Hg und des diastolischen Blutdrucks um 0,6 mm Hg verbunden ist (Nawrot et al., 2002).

### Nierentoxizität

Eine durch Blei hervorgerufene Nierenschädigung ist gekennzeichnet durch eine proximale tubuläre Nephropathie, glomeruläre Sklerose, interstitielle Fibrose und letztlich Niereninsuffizienz (Loghman-Adham, 1997; U.S. ATSDR, 2007). Blei neigt in der Niere dazu, sich in den Zellkernen, vor allem in den proximalen gewundenen Tubuluszellen, abzulagern. Beim Menschen wurde nach einer Exposition gegenüber Blei mit einer daraus resultierenden Bleikonzentration im Blut von < 20 µg/dl eine Verminderung der glomerulären Filtrationsrate beobachtet (U.S. ATSDR, 2007).

### Genotoxizität und Karzinogenität

Blei kann ein schwaches indirekt genotoxisches Metall sein. Weiterhin gibt es umfassende experimentelle Beweise dafür, dass Blei in hohen Dosen Tumoren bei einer Vielzahl von Nagern induzieren kann (EFSA, 2010). Die Internationale Agentur für Krebsforschung IARC (International Agency for Research on Cancer) hat im Jahr 2006 anorganisches Blei als wahrscheinlich kanzerogen für den Menschen (Gruppe 2A) eingestuft (IARC und WHO, 2006). Organische Bleiverbindungen wurden als nicht klassifizierbar bezüglich ihrer Karzinogenität für den Menschen (Gruppe 3) eingestuft. Der Grund hierfür ist der inadäquate Nachweis der Karzinogenität bei Mensch und Tier (IARC und WHO, 2006). Die U.S. EPA (United States Environmental Protection Agency) hat Blei als ein wahrscheinliches Karzinogen kategorisiert (Gruppe B2). Dies wurde durch ausreichende Daten bei Tieren unterstützt, obwohl mangelhafte Informationen zum Menschen vorlagen (U.S. EPA, 2004). Die DFG (Deutsche Forschungsgemeinschaft) hat Blei als krebserzeugend im Tierversuch beziehungsweise krebserzeugend für den Menschen sowie als mutagen für die Keimzellen eingeordnet (DFG, 2006).

In verschiedenen Studien wurde gezeigt, dass die orale Aufnahme von Bleiacetat kanzerogene Effekte in der Niere der Ratte hervorruft. Es wurden nach einer chronischen Exposition gegenüber Blei Adenome und Adenokarzinome bei männlichen und weiblichen Tieren beobachtet. Die Dosis in diesen Studien war im Vergleich zur Aufnahme beim Menschen allerdings sehr hoch (IARC und WHO, 2006; EFSA, 2010). Eine andere Studie zeigte bei Ratten beider Geschlechter nach oraler Aufnahme von 3 mg Bleiacetat pro Ratte und Tag Tumoren in der Lunge, Hypophyse, Prostata, Milchdrüse und Nebenniere (IARC und WHO, 2006).

Da Blei nicht direkt genotoxisch wirkt und die Dosen, welche in Versuchen mit Nagern Tumoren hervorgerufen haben, im Vergleich zur Aufnahme beim Menschen sehr hoch waren, kommt das CONTAM-Gremium (Gremium für Kontaminanten in der Lebensmittelkette) der EFSA zu der Schlussfolgerung, dass es unwahrscheinlich ist, dass die Exposition des Menschen gegenüber Blei durch die Nahrung ein signifikantes Krebsrisiko darstellt (EFSA, 2010).

### **Auswirkungen von Blei bei Kleinkindern und Kindern**

Das primäre Zielorgan der Bleitoxizität bei Kindern ist das zentrale Nervensystem (U.S. ATSDR, 1988). Die Gesundheit des Fötus kann in der Schwangerschaft schon durch die einmalige Aufnahme von Lebensmitteln, die einen hohen Bleigehalt aufweisen, beeinflusst werden. Hierdurch können besonders sensible Zeitabschnitte in der Entwicklung des Fötus beeinträchtigt werden, so z. B. die Entwicklung des Nervensystems (BfR, 2010).

Verschiedene Studien belegen, dass das Auftreten von Frühgeburten mit der mütterlichen Bleikonzentration im Blut zum Zeitpunkt der Geburt korreliert (McMichael et al., 1986; Davis und Svendsgaard, 1987). Das relative Risiko einer Frühgeburt stieg in der Studie von Davis und Svendsgaard um das 4-fache, wenn der Blutbleigehalt von 8 auf > 14 µg/dl anstieg.

Das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) empfiehlt in seiner Stellungnahme aus dem Jahr 2010: „Bei Kindern bis zum Alter von sieben Jahren sollte die Exposition gegenüber Blei insgesamt so gering wie möglich sein und noch weiter reduziert werden, da auf Basis der Auswertung zur Exposition gegenüber Blei über Lebensmittel und andere Quellen sowie der Benchmark-Dosis(BMD)-Modellierung durch die EFSA der Wert des Margin of Exposure (MoE) kleiner als 1 ist (EFSA, 2010) und damit entwicklungsneurotoxische Effekte möglich sind. Deshalb sollte unbedingt jede zusätzliche Bleiaufnahme vermieden werden.“ (BfR, 2010).

Kinder absorbieren bis zu 40 bis 50 % des oral aufgenommenen Bleis bzw. das 4- bis 5-fache an Blei im Vergleich zu Erwachsenen (abgesehen von Schwangeren). Kleinkinder und Kinder bis zu einem Alter von fünf Jahren und Schwangere sind besonders empfindlich

gegenüber nachteiligen Effekten von Blei. Zu beachten ist außerdem, dass bei Kindern die Blut-Hirn-Schranke noch nicht vollständig entwickelt ist (Alexander et al., 1974; Ziegler et al., 1978; U.S. ATSDR, 2007; Pokras und Kneeland, 2009; WHO, 2010). Die höhere Empfindlichkeit der Kinder gegenüber neurotoxischen Effekten von Blei ist auf den höheren Anteil an absorbiertem bioverfügbarem Blei zurückzuführen. Außerdem besitzen sie ein sich entwickelndes System von Zelldifferenzierungen und -wachstum, welches angreifbarer ist gegenüber Hemmung und Schäden (Needleman, 2004). Lanphear et al. (2000) stellten bereits Einschränkungen in den kognitiven und akademischen Fähigkeiten bei Kindern mit einer Bleikonzentration im Blut unter 5 µg/dl fest. Die Studie von Canfield et al. (2003) zeigte, dass ein Anstieg der mittleren Bleikonzentration im Blut um 1 µg/dl (gemessen über die gesamte Lebensspanne) mit einem Verlust von 0,46 IQ-Punkten verbunden war. In einer weiteren Studie von Lanphear et al. (2005) wurde bei einem Anstieg der Bleikonzentration im Blut von 2,4 auf 10 µg/dl festgestellt, dass der IQ um 3,9 Punkte, bei einem Anstieg von 10 auf 20 µg/dl um 1,9 Punkte und bei einem Anstieg von 20 auf 30 µg/dl um 1,1 Punkte sank. Die intellektuelle Beeinträchtigung bei Kindern war bei einer maximalen Bleikonzentration im Blut von bis zu 7,5 µg/dl signifikant größer als bei Kindern mit einer maximalen Bleikonzentration im Blut von  $\geq 7,5$  µg/dl. Der IQ-Test wurde bei Kindern im Alter von 5 bis 10 Jahren durchgeführt. Die Autoren kamen zu dem Schluss, dass eine maximale Bleikonzentration im Blut von  $< 7,5$  µg/dl bei Kindern mit intellektuellen Defiziten verbunden ist (Lanphear et al., 2005). Auch Jusko et al. (2008) ermittelten eine Verbindung zwischen Bleikonzentrationen im Blut und verminderter Intelligenz bei Kindern. Verglichen mit Kindern, die mittlere Bleikonzentrationen im Blut von  $< 5$  µg/dl aufwiesen, zeigten Kinder mit mittleren Bleikonzentrationen im Blut zwischen 5 und 9,9 µg/dl eine um 4,9 IQ-Punkte reduzierte Intelligenzleistung (Jusko et al., 2008).

Bleiassoziierte Verhaltensabnormalitäten bei kleinen Kindern sind schwer zu spezifizieren. Unspezifische Symptome wie Hyperaktivität, Reizbarkeit und Lethargie könnten bis zum Schuleintritt unbemerkt bleiben (Sciarillo et al., 1992). In verschiedenen Studien wurde ein Zusammenhang zwischen erhöhten Blutbleigehalten und einem straffälligen, antisozialen oder aggressiven Verhalten bei Menschen hergestellt (Byers und Lord, 1943; Sciarillo et al., 1992; Nevin, 2000; Dietrich et al., 2001).

### **2.3. Gesetzliche Regelung von Blei als Kontaminante bzw. unerwünschter Stoff und gesundheitliche Bewertung von Blei**

#### **2.3.1. Gesetzliche Regelung von Blei als Kontaminante in Lebensmitteln**

In den vergangenen Jahren wurden die Grenzwerte und Höchstgehalte für Blei in Lebensmitteln immer weiter herabgesetzt. Das beste Beispiel hierfür ist der Grenzwert für

Blei im Trinkwasser: der früher gültige Bleigrenzwert von 0,04 mg/l wurde erst auf 0,025 mg/l abgesenkt und seit dem 01.12.2013 sind nur noch maximal 0,010 mg Blei/Liter Trinkwasser zulässig (Trinkwasserverordnung (TrinkwV), 2001; UBA (Umweltbundesamt), 2013).

Die Verordnung (EG) Nr. 1881/2006 der Kommission vom 19. Dezember 2006 zur Festsetzung der Höchstgehalte für bestimmte Kontaminanten in Lebensmitteln enthält die aktuellen Höchstgehalte für Blei in Lebensmitteln (VO (EG) Nr. 1881/2006). Diese Gehalte werden stetig von der Kommission überprüft (EFSA, 2010). In der Verordnung (EU) Nr. 2015/1005 der Kommission vom 25. Juni 2015 wurde die Risikobewertung der EFSA aus dem Jahr 2010 aufgenommen und der Höchstgehalt für Blei in einigen Lebensmitteln angepasst (VO (EU) 2015/1005). So wurden insbesondere für Säuglingsanfangsnahrung und Folgenahrung die Höchstgehalte reduziert. Zudem wurde ein einheitlicher Höchstgehalt für Blei in Honig festgesetzt. Der maximale Höchstgehalt (ML Maximum Level) für Blei liegt bei 3,0 mg/kg für Nahrungsergänzungsmittel (VO (EG) Nr. 629/2008). Für Fleisch (ausgenommen Nebenprodukte der Schlachtung) von Rindern, Schafen, Schweinen und Geflügel gilt ein Höchstgehalt für Blei von 0,1 mg/kg. Für Nebenprodukte der Schlachtung von Rindern, Schafen, Schweinen und Geflügel gilt ein Höchstgehalt für Blei von 0,5 mg/kg. Ein Höchstgehalt für Blei in Wildbret (Reh-, Rot-, Schwarzwild) existiert weder auf europäischer noch auf nationaler Ebene. Die Einführung eines Höchstgehalts für Blei im Wildbret in Deutschland ist schwer durchführbar, da ein hoher Anteil des Wildbrets durch Eigenvermarktung an den Verbraucher abgegeben wird und die Jäger zu einem Großteil ihren Eigenbedarf decken (BfR, 2010).

### **2.3.2. Blei als unerwünschter Stoff in Futtermitteln**

Die EFSA veröffentlichte im Jahr 2004 eine Stellungnahme zu Blei als unerwünschtem Stoff in Futtermitteln. Obwohl der Bleigehalt in kommerziellen Futtererzeugnissen generell zu gering war, um eine Toxizität zu induzieren, wurde von gelegentlichen Intoxikationen bei Rindern oder Schafen durch die Aufnahme von Futter, welches aus mit Blei belasteten Regionen stammte oder durch die unbeabsichtigte Aufnahme von Blei aus entsorgten Batterien oder anderem Industrieabfall, berichtet (EFSA, 2004). In der Richtlinie 2002/32/EG des Europäischen Parlaments und des Rates vom 7. Mai 2002 über unerwünschte Stoffe in der Tierernährung und der Verordnung (EU) Nr. 1275/2013 der Kommission vom 6. Dezember 2013 zur Änderung von Anhang I der Richtlinie 2002/32/EG des Europäischen Parlaments und des Rates sind Höchstgehalte für Arsen, Cadmium, Blei, Nitrite, flüchtiges Senföl und schädliche botanische Verunreinigungen in zur Tierernährung bestimmten Erzeugnissen festgelegt. Demnach besteht für Futtermittelausgangserzeugnisse ein Höchstgehalt für Blei von 10 mg/kg (bezogen auf ein Futtermittel mit einem

Feuchtigkeitsgehalt von 12 %). Ausgenommen hiervon ist z. B. Grünfutter mit einem Höchstgehalt für Blei von 30 mg/kg. Für Alleinfuttermittel gilt ein Höchstgehalt für Blei von 5 mg/kg (Richtlinie 2002/32/EG; VO (EU) Nr. 1275/2013).

### 2.3.3. Gesundheitliche Bewertung von Blei

Die erste von der JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) durchgeführte Bewertung von Blei datiert aus dem Jahr 1972. In dieser wurde ein PTWI (provisional tolerable weekly intake – vorläufige tolerierbare wöchentliche Aufnahmemenge) von 3 mg Blei pro Person, entsprechend 50 µg/kg KM, festgesetzt. Dieser Wert bezog sich auf alle Quellen einer Bleiexposition und galt nur für Erwachsene (WHO, 1972; EFSA, 2010). Im Jahr 1986 wurde ein PTWI für Blei von 25 µg/kg KM für Kleinkinder und Kinder festgesetzt. Dieser Wert wurde festgelegt aufgrund der Beobachtungen, dass eine mittlere tägliche Aufnahmemenge von 3 bis 4 µg Blei/kg KM bei Kleinkindern und Kindern zu keiner Erhöhung der Bleikonzentration im Blut führen sollte (WHO, 1986). Im Jahr 1990 bestätigte der Wissenschaftliche Lebensmittelausschuss der Europäischen Kommission (European Commission's Scientific Committee for Food (SCF)) den 1986 von der JECFA ermittelten PTWI für Blei von 25 µg/kg KM für Kleinkinder und Kinder (EFSA, 2010).

In seiner Stellungnahme zu Blei in Nahrung und Trinkwasser aus dem Jahr 1992 empfahl das SCF, dass eine erneute Überprüfung der Toxizität von Blei angebracht sei (Scientific Committee on Food (SCF), 1992). Die JECFA bewertete Blei im Jahr 1993 neu und bestätigte den PTWI für Blei von 25 µg/kg KM für Kleinkinder und Kinder erneut. Sie erweiterte diesen, unabhängig von der Altersgruppe, auf die gesamte Bevölkerung (WHO, 1993). Im Jahr 1999 bewertete die JECFA den Einfluss einer Bleiexposition über Nahrungsquellen auf den IQ von Kindern. Eine orale Aufnahme von 1 µg Blei/kg KM und Tag führte laut Einschätzung der JECFA zu einer Bleikonzentration im Blut von 10 µg/l (obere Schätzung für Kleinkinder). Diese Beziehung zwischen oraler Bleiaufnahme und Bleikonzentration im Blut wurde als zutreffend für die ersten zehn Lebensjahre angenommen (WHO, 2000). Auf der Grundlage einer quantitativen Risikobewertung schlussfolgerte die JECFA, dass derzeitige Bleigehalte in Lebensmitteln vernachlässigbare Effekte auf die verhaltensneurologische Entwicklung von Kleinkindern und Kindern haben. Die JECFA stimmte darin überein, den PTWI für Blei von 25 µg/kg KM beizubehalten (WHO, 2000).

Im Jahr 2007 hat die Amerikanische Agentur für Toxische Substanzen und Seuchenregister (U.S. Agency of Toxic Substances and Disease Registry, U.S. ATSDR) den Bericht „Toxikologisches Profil für Blei“ (Toxicological profile for lead) veröffentlicht. In diesem wurde kein Minimum Risk Level (MRL) für Blei abgeleitet, da ein klarer Grenzwert für die empfindlichen Effekte beim Menschen nicht festgelegt werden konnte (U.S. ATSDR, 2007).

Das CONTAM-Gremium der EFSA hat in seiner Stellungnahme aus dem Jahr 2010 empfohlen, dass der PTWI für Blei von 25 µg/kg KM nicht länger angemessen ist und dass es keinen Beweis für einen Grenzwert für eine Vielzahl von kritischen Endpunkten (einschließlich der Neurotoxizität während der Entwicklung und der Nierentoxizität bei Erwachsenen) gibt. Demnach ist es nicht angemessen, einen Grenzwert abzuleiten (EFSA, 2010). Das CONTAM-Gremium hält es für angemessen, Margins of Exposure (MoE) zu berechnen, um die Risikocharakterisierung zu unterstützen (EFSA, 2010). Der MoE stellt einen Sicherheitsabstand zur Bestimmung des Gesundheitsrisikos durch eine bestimmte Bleikonzentration dar. Das Bundesinstitut für Risikobewertung definiert den MoE in seiner Stellungnahme zur „Bleibelastung von Wildbret durch Verwendung von Bleimunition bei der Jagd“ (2010) wie folgt: „Dieser Margin of Exposure wird als Abstand zwischen zwei Größen berechnet und stellt damit das Verhältnis zwischen der vorher definierten Effektdosis für eine spezifische toxische Wirkung von Blei und der Bleiexposition des Verbrauchers dar“ (BfR, 2010).

Die EFSA untersuchte die Tatsache, dass für Blei schon seit längerem keine Wirkungsschwelle definiert werden konnte, erneut hinsichtlich der drei Endpunkte Entwicklungsneurotoxizität, Nierentoxizität und kardiovaskuläre Effekte und konnte zeigen, dass diese drei Effekte auch bei geringen Blutbleikonzentrationen auftreten können (EFSA, 2010). Dabei kam die EFSA zu dem Schluss, dass das Risiko klinisch relevanter Effekte auf das kardiovaskuläre System oder die Nieren für erwachsene Verbraucher bei der momentanen Exposition gegenüber Blei gering bis vernachlässigbar ist. Bei Kleinkindern, Kindern und Schwangeren besteht ein mögliches Risiko bei der momentanen Exposition gegenüber Blei für Effekte auf die Entwicklung des Nervensystems. Kinder und Frauen im gebärfähigen Alter sollten aufgrund der möglichen Risiken eines Effektes auf die Entwicklung des Nervensystems gegenüber einer Exposition mit Blei geschützt werden (EFSA, 2010). Die EFSA zog in ihrer Stellungnahme das Fazit, dass für die Toxizität von Blei keine Wirkungsschwelle vorhanden ist. Für Blei ist folglich keine Aufnahmemenge abzuleiten, die als unbedenklich gilt. Es kann keine Dosis ohne Wirkung angegeben werden (EFSA, 2010). Der bis dahin geltende gesundheitsbezogene Referenzwert (PTWI) für Blei der JECFA von 25 µg/kg KM pro Woche (WHO, 1986, 2000) wurde aufgehoben, da er nicht länger als angemessen erschien (BfR, 2010; EFSA, 2010).

#### **2.4. Exposition des Verbrauchers gegenüber Blei über Trinkwasser und Nahrungsmittel**

Im Gutachten des CONTAM-Gremiums der EFSA zu möglichen gesundheitlichen Risiken im Zusammenhang mit dem Vorkommen von Blei in Lebensmitteln vom April 2010 werden



Getreide, Gemüse und Leitungswasser als die Hauptquellen der ernährungsbedingten Bleibelastung der meisten Europäer beschrieben (EFSA, 2010). Abbildung 2 zeigt die Untergrenzen der geschätzten Verbraucherexposition durch verschiedene Lebensmittel. Dies sind Quellen, die sich nur schwer vermeiden lassen oder deren Verzehr nicht reduziert werden sollte. Die Exposition über Luft, Staub und Erde erfolgt nur zu einem geringen Anteil. Bei einem durchschnittlichen erwachsenen Verbraucher beträgt die Exposition gegenüber Blei über die Nahrung zwischen 0,36 und 1,24 µg Blei/kg KM und Tag. Das 95. Perzentil liegt beim Erwachsenen zwischen 0,73 und 2,43 µg Blei/kg KM und Tag. Die Exposition von Kleinkindern beträgt 0,21 bis 0,94 µg Blei/kg KM und Tag. Bei Kindern liegt die Exposition gegenüber Blei bei 0,80 bis 3,10 µg/kg KM und Tag für einen durchschnittlichen Verbraucher und bei bis zu 5,51 µg/kg KM und Tag für einen Verbraucher mit hoher Exposition (EFSA, 2010). Die mittlere tägliche Aufnahme von Blei beim Erwachsenen liegt bei 42 µg (17 % des PTWI) (European Commission, 2004; EFSA, 2010).

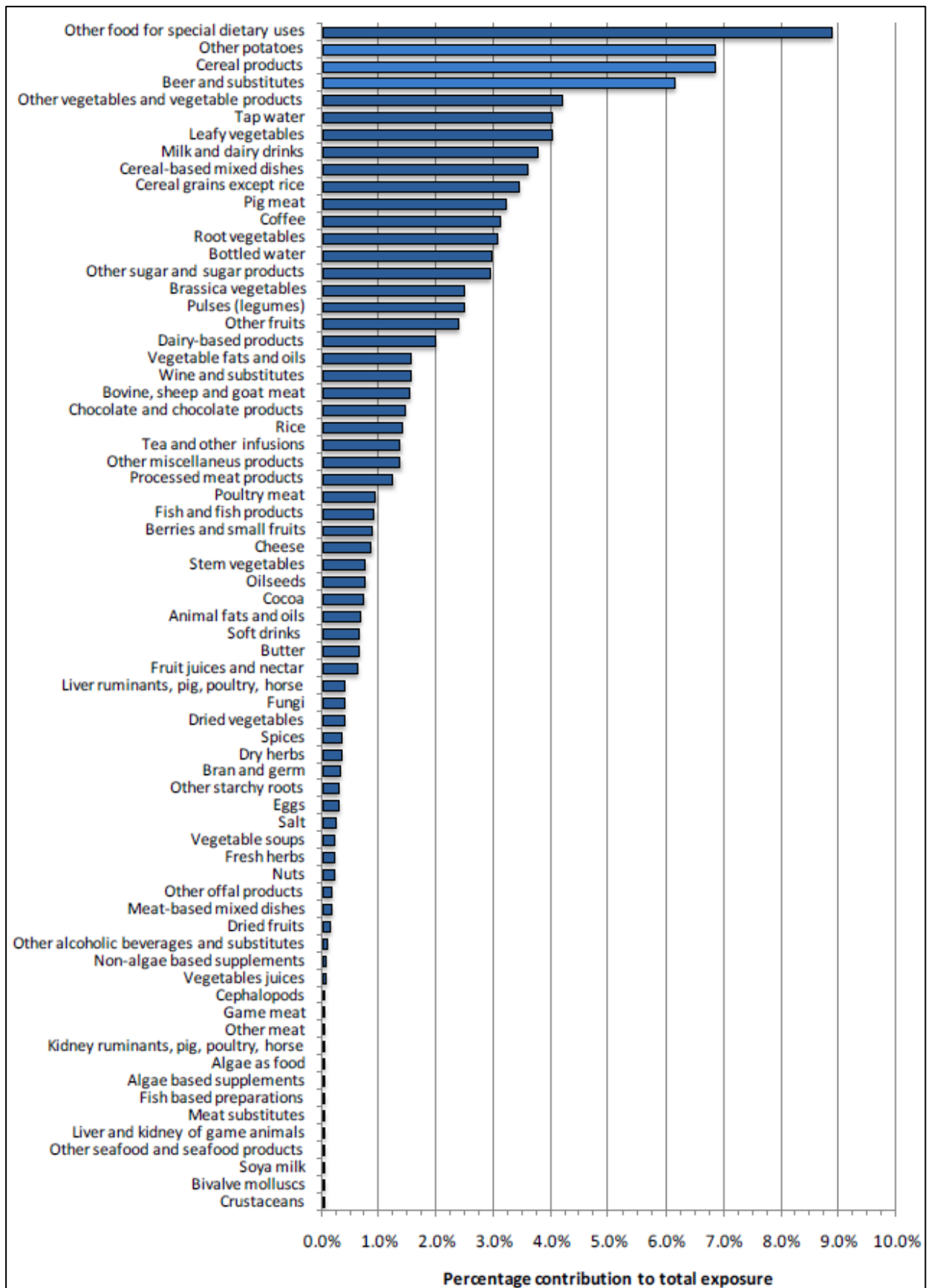


Abbildung 2: Untergrenze (lower bound) der geschätzten Verbrauchereexposition gegenüber Blei über verschiedene Nahrungsmittel-Unterkategorien und -Unterklassen  
 Quelle: EFSA, 2010, Seite 5

Laut vorliegenden Daten aus Deutschland und Frankreich haben Kinder vor allem im Alter zwischen vier und sechs Jahren eine geringere absolute Bleiaufnahme. Aufgrund ihrer geringeren Körpermasse ist die Körperexposition (1 µg Blei/kg KM und Tag: 35 % des PTWI) höher als die von Erwachsenen (0,6 µg Blei/kg KM und Tag: 19 % des PTWI) (EFSA, 2010). In einer Studie in Deutschland sank die Bleikonzentration im Blut deutscher Erwachsener von 70 µg/l im Jahr 1981 auf Konzentrationen unter 15 µg/l im Jahr 2009 (Becker et al., 2013).

Kleinkinder werden über die Aufnahme von Muttermilch oder Säuglingsanfangsnahrung exogenem Blei ausgesetzt. Ebenso kann es zu einer möglichen endogenen Freisetzung von Blei kommen, welches während der pränatalen Exposition akkumuliert ist. Dieses Blei wird durch den Knochen-Turnover während der Schwangerschaft freigesetzt (Rabinowitz, 1991; Silbergeld, 1991; Gulson et al., 2003). Der Fötus kann während der Schwangerschaft bereits durch eine einmalige Exposition gegenüber Blei gefährdet werden. In besonders sensiblen Phasen kann unter anderem die Entwicklung des Nervensystems geschädigt werden (IARC und WHO, 2006; BfR, 2010).

Im Projekt LExUKon (Lebensmittelbedingte Aufnahme von Umweltkontaminanten – Datenaufbereitung zur Unterstützung der Standardisierung von Expositionsschätzungen auf Basis der Nationalen Verzehrsstudie II) wurde die aktuelle Aufnahme von Umweltkontaminanten ermittelt (Blume et al., 2010). Die Auswertungen ergaben, dass Fleisch vom Wild oder Wildgeflügel, Innereien, Meeresfrüchte und Gewürze zu den Lebensmitteln mit hohen Bleigehalten zählen. Lebensmittel wie Gemüse und Getränke liefern jedoch aufgrund des Verzehrverhaltens den größten Beitrag zur Bleiexposition, gefolgt von Obst, Nüssen und Kakao sowie Getreide. Getränke und Gemüse werden häufig in großen Mengen verzehrt, das heißt, sie haben einen höheren Einfluss auf die Gesamtexposition als selten verzehrte Lebensmittel wie Wild (Abbildung 3). Zur Gesamtleiaufnahme können auch Expositionsquellen wie Trinkwasser aus Bleileitungen, Kinderspielzeug und bleihaltige Keramikglasuren beitragen (BfR, 2010).

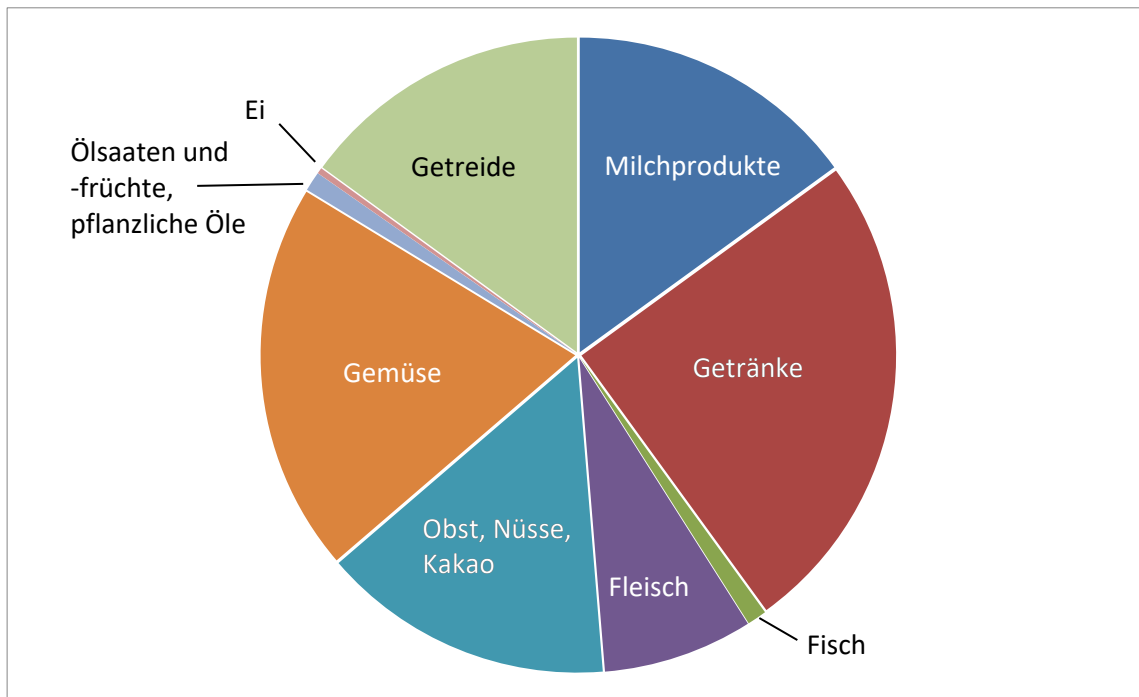


Abbildung 3: Anteil verschiedener Lebensmittel an der täglichen Bleiaufnahme  
Quelle: abgeändert nach LExUKon (2010)

Aus dem LExUKon-Projekt ergab sich für die Gesamtbevölkerung eine Bleiaufnahme von 0,53 bis 0,72  $\mu\text{g}/\text{kg KM und Tag}$  für Durchschnitts- bzw. Vielverzehrer (Blume et al., 2010). Bei Schwangeren und Vegetariern ist die Exposition gegenüber Blei höher als die der Gesamtbevölkerung (BfR, 2010). Die Auswertungen aus LExUKon zeigten, dass Schwangere eine etwa 17 % höhere Exposition gegenüber Blei aufweisen als die Gesamtbevölkerung. Grund hierfür könnte die Tatsache sein, dass die Nahrungsaufnahme bei Schwangeren um etwa 14 % erhöht und das Ernährungsverhalten insgesamt verändert ist (Blume et al., 2010).

Die Exposition über die Nahrung hat für die allgemeine Bevölkerung der EU die größte Bedeutung. Verglichen damit ist die Exposition, die nicht über die Nahrung erfolgt, von untergeordneter Bedeutung. Das Rauchen von Zigaretten trägt zusätzlich zur Bleiexposition bei (WHO, 2010). Bei Kindern können Hausstaub und Erde jedoch eine weitere wichtige Expositionsquelle für Blei sein (EFSA, 2010).

## 2.5. Exposition des Verbrauchers gegenüber Blei als Folge der Verwendung bleihaltiger Munition bei der Jagd

Wildbret zählt sowohl in Deutschland als auch in Europa zu den Lebensmittelgruppen, welche die höchsten Bleigehalte aufweisen (BfR, 2010; EFSA, 2010). Wildbret gehört jedoch zu den selten verzehrten Lebensmitteln und wird von nur etwa 11 % der deutschen Bevölkerung verzehrt. Somit ist der Beitrag zur Bleiexposition durch den Verzehr von

Wildbret bezogen auf die Allgemeinbevölkerung als gering zu betrachten. Jäger und ihre Familien sollten aber aufgrund ihres hohen Verzehrs von Wildbret gesondert betrachtet werden (BfR, 2010).

Jeder zusätzliche Eintrag von Blei sollte generell vermieden werden, da eine Exposition bereits über andere Grundnahrungsmittel wie Getreide, Gemüse und Leitungswasser gegeben ist. Aus Sicht des gesundheitlichen Verbraucherschutzes sind grundsätzlich alle Maßnahmen zu unterstützen, die zu einer Verringerung des Eintrags von Blei in die Nahrungskette führen (ALARA-Prinzip: As Low As Reasonably Achievable – so niedrig wie vernünftigerweise möglich). Bezogen auf die Bleibelastung in Wildbret sollte dies nicht nur in einer Aufklärung des Verbrauchers resultieren, sondern auch im Gebrauch von Alternativgeschossen und dem Aussprechen von Verzehrsempfehlungen (BfR, 2010). Insbesondere für besonders empfindliche Bevölkerungsgruppen wie Kinder (bis zum Alter von sieben Jahren) und Schwangere (sowie Frauen im gebärfähigen Alter) ist ein gesundheitliches Risiko durch die Exposition gegenüber Blei möglich (BfR, 2010). In Abhängigkeit von der Anzahl und Größe einer Verzehrportion steigt die Exposition. In Tabelle 1 sind die definierten Verzehrgruppen aufgelistet.

Tabelle 1: Darstellung der Verzehrgruppen von Wildbret

<b>Verzehrgruppe</b>	<b>Anzahl der Portionen/Jahr und Portionsgröße</b>
Normalverzehrer (Mittelwert)	Männer: 2 Portionen zu 200 g Wildfleisch pro Jahr Frauen: 1 Portion zu 200 g Wildfleisch pro Jahr
Vielverzehrer (95. Perzentil)	Männer: 10 Portionen zu 200 g Wildfleisch pro Jahr Frauen: 5 Portionen zu 200 g Wildfleisch pro Jahr
Jägerhaushalte und ihr Umfeld, Extremverzehrer	Männer/Frauen: 91 Portionen zu 200 g Wildfleisch pro Jahr (Haldimann et al., 2002); 51 Portionen zu 200 g pro Jahr (EFSA, 2010)

Abgeändert nach: BfR, 2010a

Jägerfamilien mit einem hohen Verzehr von Wildbret (bis zu 90 Portionen im Jahr und mehr) gehören im Vergleich zu den Vielverzellern der übrigen Bevölkerung (10 Portionen im Jahr)

zur Gruppe von Personen mit einem erhöhten gesundheitlichen Risiko durch die Exposition gegenüber Blei.

### **2.5.1. Bleigehalte im Wildfleisch nach Verwendung bleihaltiger Munition**

In einer Studie von Tsuji et al. (2009) wurden Muskelproben von vier Weißwedelhirschen und drei Karibus auf ihren Bleigehalt untersucht. In drei von vier Muskelproben der Hirsche wurden erhöhte Bleigehalte ( $> 0,5 \mu\text{g/g}$ ) festgestellt. Alle Muskelproben der Karibus wiesen einen erhöhten Bleigehalt auf. Die Autoren schlossen trotz des begrenzten Datenumfangs aus diesen Untersuchungen, dass Großwild, welches mit bleihaltiger Munition erlegt wird, mit Blei kontaminiert sein kann, sodass einige Teile des Gewebes nicht zum menschlichen Verzehr geeignet sind. Die hohe Varianz in den Bleigehalten ist auf die inhomogene Verteilung der Bleifragmente zurückzuführen. Der Grad der Kontamination des Gewebes ist abhängig von Schussdistanz und Trefferlage. Speziell Knochentreffer können zu einer starken Zersplitterung des Geschosses beitragen (Tsuji et al., 2009).

Im Rahmen einer Studie von Dobrowolska und Melosik (2008) wurden Muskelgewebsproben von zehn Wildschweinen und zehn Rothirschen unmittelbar nach deren Erlegung untersucht. Diese Proben wurden rund um Ein- und Ausschusswunde, am Schusskanal entlang an unterschiedlichen Stellen und in einer Entfernung vom Schusskanal von 5, 15, 25 und 30 cm entnommen. Ziel dieser Studie war es, das Ausmaß der Bleikontamination im Weichteilgewebe entlang des Schusskanals und die Distanz zwischen Schusskanal und dem Gewebe, das nicht mehr mit Blei kontaminiert ist, zu bestimmen. Die Probe eines Wildschweines wies nahe des Einschusses einen Bleigehalt von 1096 mg/kg und nahe des Ausschusses von 736 mg/kg auf. Eine weitere Probe eines Wildschweines hatte einen Bleigehalt von 361 mg/kg um den Schusskanal und 633 mg/kg am Ausschuss. Die niedrigsten beobachteten Bleigehalte am Ein- bzw. Ausschuss eines Wildschweines lagen bei 125 bzw. 60 mg/kg. Die Autoren stellten fest, dass der Schusskanal bei einem schweren Tier (adultes Wildschwein, adulter Hirsch) relativ lang ist. Sowohl der Widerstand der Haut und des zusammenhängenden Gewebes als auch die Härte der Knochen bewirken, dass das Geschoss an der Stelle des Einschusses am stärksten aufpilzt. Um diese Wunde herum ist demnach die höchste Kontamination zu finden. Dagegen ist der Schusskanal bei jüngeren Tieren verhältnismäßig kurz. Aufgrund des sehr viel niedrigeren Gewebewiderstandes trat die maximale Aufpilzung bei diesen Tieren in der Nähe des Ausschusses auf. Die Autoren vermerkten zudem, dass mit zunehmender Entfernung zum Schusskanal auch der Bleigehalt im Gewebe abnahm. Die in den untersuchten Proben ermittelten Bleigehalte waren nicht einheitlich, was auf eine ungleichmäßige Verteilung der Bleipartikel schließen lässt. Die Autoren kamen zu dem Schluss, dass es sich als schwierig erweist, eine allgemeine

Aussage darüber zu treffen, wie viel Gewebe um den Schusskanal entfernt werden sollte (Dobrowolska und Melosik, 2008).

Grund et al. (2010) untersuchten die Schlachtkörper von acht Weißwedelhirschen und 72 Hausschafen. Die zuvor euthanasierten Hausschafe wurden in einer sternalen, liegenden Position fixiert und daraufhin von lateral aus einer Entfernung von 50 m in den Thorax beschossen (Schulterblatt wurde nach vorne positioniert, sodass die Kugel das Schulterblatt nicht streifte). Es wurden ventrodorsale und laterale Röntgenaufnahmen angefertigt. Zur Darstellung des Schusskanals wurde dieser mit einem Stab nachverfolgt. Zum Auszählen der Fragmente wurde die ventrodorsale Aufnahme genutzt, zusätzlich zur Gesamtzahl wurden auch die Fragmente < 5 cm am Ausschuss gezählt. In Anlehnung an Dobrowolska und Melosik (2008) wurden Muskelproben in verschiedenen Abständen von 5, 25 und 45 cm zur Ausschusswunde gewonnen und mittels ICP-MS analysiert. Die Autoren stellten einen bedeutenden Unterschied im Fragmentierungsmuster und in der Bleiverteilung fest, was auf den Gebrauch unterschiedlicher Geschosstypen zurückzuführen war. Es konnte in der Studie kein definierter Abstand zur Ausschusswunde festgelegt werden, in welchem kein Blei mehr nachzuweisen war, da bei den Untersuchungen Proben ermittelt wurden, welche auch in einem Abstand von 45 cm zur Ausschusswunde noch Blei aufwiesen. Basierend auf diesen Feststellungen kommen die Autoren zu dem Schluss, dass das gesamte Fleisch eines Hirsches, welcher mit einem bleihaltigen Geschoss erlegt wurde, das Potenzial besitzt, zumindest in geringen Mengen Blei zu enthalten (Grund et al., 2010).

In einer Studie von Knott et al. (2010) wurden zur Feststellung des Grades der Splitterung von Bleigeschossen zwölf Hirsche mit Kupfer-ummantelten Bleikerngeschossen durch einen Schuss in den Thorax erlegt. Daraufhin wurden der Thorax und die abdominalen Innereien jedes Hirsches geröntgt. Dazu wurden Fragmente von definierter Größe mit Klebestreifen fixiert und ebenfalls geröntgt. Durchschnittlich waren auf dem Röntgenbild 356 metallische Fragmente im Schlachtkörper sichtbar und 180 Fragmente in den Eingeweiden. Das geschätzte Gesamtgewicht der Fragmente im Schlachtkörper betrug 17 % des ursprünglichen Geschossgewichts. Die Autoren stellten fest, dass aufgrund der geringen Größe viele Fragmente nicht registriert werden konnten, da sie nur schwer oder gar nicht zu sehen waren. Die mittlere Anzahl der Fragmente wurde dadurch wahrscheinlich unterschätzt, ebenso wie das Gesamtgewicht der Metallfragmente (Knott et al., 2010).

In einer Studie von Fachehoun et al. (2015) wurden unter anderem die Bleigehalte in Wildfleisch aus Quebec (Hackfleisch und Steak) untersucht. Die Bleianalyse ergab, dass Blei in 90 % der 30 Proben vom Weißwedelhirsch und in 70 % der 30 Elchproben nachweisbar war. Bei 37 % der Proben vom Weißwedelhirsch und 13 % der Proben vom Elch wurden Bleigehalte über 0,1 mg/kg festgestellt. Der Mittelwert für die Proben vom Weißwedelhirsch

lag bei 0,28 mg/kg und der Median bei 0,004 mg/kg, für die Proben vom Elch lag der Mittelwert bei 0,17 mg/kg und der Median bei 0,003 mg/kg (Fachehoun et al., 2015).

Kollander et al. (2017) untersuchten, ob Wildbret Bleianopartikel aus bleihaltiger Munition enthält. Sie konnten mittels single particle ICP-MS (spICP-MS) Nanopartikel im Bereich von 40 bis 750 nm im Wildbret nachweisen. Der Median des Durchmessers betrug etwa 60 nm. In einer Probe aus dem Schusskanal vom Wildschwein wurden vor allem Bleianopartikel unter 100 nm im Durchmesser gemessen. Der größte Nanopartikel wies rund 570 nm auf. Die Probe vom Schusskanal vom Rehwild wies einen erheblichen Anteil an Partikeln in der Größenordnung von 40 bis 400 nm auf. Die Absorption solcher Nanopartikel im humanen Gastrointestinaltrakt ist zum großen Teil noch unklar. Materialien mit einem gewissen toxischen Potenzial, wie z. B. Blei, können sich jedoch als äußerst potent in ihrer Nanopartikelform erweisen. Die vergrößerte Oberfläche der Nanopartikel kann eine verstärkte chemische Reaktionsfähigkeit auslösen (Kollander et al., 2017).

Im Rahmen des Projektes „Lebensmittelsicherheit von jagdlich gewonnenem Wildbret“ (LEMISI) des Bundesministeriums für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL) und des Bundesinstituts für Risikobewertung (BfR) wurden Proben von Reh-, Rot- und Schwarzwild, die mit bleihaltiger oder bleifreier Munition erlegt wurden, auf ihren Bleigehalt untersucht (BfR, 2014). Für Rehwild lagen Daten von 1073 Tieren vor. Es wurden die Teilstücke Keule, Rücken und verzehrsfähiges Fleisch aus Schusskanalnähe auf ihren Bleigehalt untersucht. Von den Proben aus der Keule der bleihaltig erlegten Tiere enthielten 275 Proben messbare Bleigehalte, aus dem Rücken waren dies 309 Proben und aus dem verzehrsfähigen Fleisch aus Schusskanalnähe 419 Proben. In Tabelle 2 sind Mittelwert, Median und Maximalwert für die Bleigehalte in den Teilstücken dargestellt.

Tabelle 2: Bleigehalte in den Teilproben vom Rehwild des LEMISI-Projektes

<b>Teilprobe</b>	<b>Mittelwert (mg/kg)</b>	<b>Median (mg/kg)</b>	<b>Maximum (mg/kg)</b>
Keule <u>bleihaltig</u> erlegt	0,18	0,007	73,00
Keule bleifrei erlegt	0,01	0,003	0,48
Rücken <u>bleihaltig</u> erlegt	1,03	0,009	189,29
Rücken bleifrei erlegt	0,01	0,003	0,34



Schusskanalnähe bleihaltig erlegt	14,59	0,023	4727,98
Schusskanalnähe bleifrei erlegt	0,70	0,008	190,40

Quelle: „Wild – Gut erlegt?“ BfR-Symposium zu Forschungsvorhaben zum Thema Wildbret (2014)

Die Proben von Rehen, die mit bleihaltiger Munition erlegt wurden, wiesen im Mittel höhere Bleigehalte auf als die Proben von Rehen, die mit bleifreier Munition erlegt wurden. Die Bleigehalte in der Keule waren am geringsten, gefolgt vom Rücken. Das Fleisch aus Schusskanalnähe wies die höchsten Bleigehalte auf. Die Ergebnisse zeigen, dass der Bleigehalt in dem untersuchten Wildfleisch oberhalb der in der Verordnung (EG) Nr. 1881/2006 festgelegten Höchstgehalte für Blei in Fleisch von Rindern, Schafen und Schweinen von 0,1 mg/kg lag. Ein Höchstgehalt für Blei in Wildbret ist jedoch gesetzlich nicht festgelegt.

Die Daten aus dem Lebensmittel-Monitoring weisen ebenfalls darauf hin, dass Wildbret zu der Lebensmittelgruppe mit den höchsten Bleigehalten in Deutschland und Europa gehört. Im Jahr 2007 lag das 95. Perzentil der Bleigehalte im Muskelfleisch von Wildschweinen im Lebensmittel-Monitoring bei 20,9 mg/kg und der Maximalgehalt bei 288 mg/kg (BfR, 2010). Die EFSA (2010) hat aus ihren Daten für das 95. Perzentil einen Bleigehalt von 1,5 mg/kg Wildfleisch bei einem Maximalgehalt von 867 mg/kg ermittelt (BfR, 2010; EFSA, 2010). Im Rahmen des Lebensmittel-Monitorings des Jahres 2012 wurden Fleischteilstücke von Hirschen, Damwild und Rehwild verschiedener Haltungsformen untersucht. In einem großen Teil der Proben war Blei nicht nachweisbar oder lag unter der Bestimmungsgrenze. Bei Rehen aus freier Wildbahn lagen die Bleigehalte im Muskelfleisch bei bis zu 27 mg/kg. Zwei Proben waren mit Bleigehalten von 1843 mg/kg und 5309 mg/kg extrem belastet (BVL, 2013).

### 2.5.2. Bioverfügbarkeit von Blei nach oraler Aufnahme

Hunt et al. (2009) verfütterten gebratenes Wildbret von Weißwedelhirschen, das röntgenologisch sichtbare Bleifragmente enthielt, an Schweine und stellten daraufhin eine Erhöhung der Bleikonzentration im Blut der Schweine fest. Sie konnten eine maximale Bleikonzentration im Blut von 3,8 µg/dl messen (Hunt et al., 2009). Es fehlt allerdings eine vorherige Analyse der Bleigehalte in den verfütterten Wildbretportionen, so dass keine Rückschlüsse auf die Absorptionsraten und die Bioverfügbarkeit des Bleis aus der Munition gezogen werden können.

### 2.5.3. Verzehr von Wildfleisch und Blutbleigehalte von Jägern

Untersuchungen von Blutproben zeigten, dass 7 % der 475 untersuchten Inuit-Neugeborenen Bleikonzentrationen im Nabelschnurblut von  $\geq 0,5 \mu\text{mol/l}$  aufwiesen. Eine Isotopen-Untersuchung zeigte, dass unter anderem Blei aus Munition eine wichtige Quelle der Exposition für die Inuit-Bevölkerung darstellt (Lévesque et al., 2003). Tsuji et al. (2008) bestätigten in ihrer Studie, dass Blei aus der Munition eine unumstrittene Quelle der Bleiexposition für die Ureinwohner Kanadas darstellt. Bei der Isotopen-Analyse konnten sie jedoch keine Unterscheidung machen, ob das Blei aus Schrotmunition oder Büchsenmunition stammte (Tsuji et al., 2008).

In einer Studie von Iqbal et al. (2009) wurde die Verbindung zwischen Bleikonzentration im Blut und Wildfleischverzehr untersucht. Es wurden Blutproben von 736 Teilnehmern im Alter von 2 bis 92 Jahren gewonnen. Die Teilnehmer machten unter anderem auch Angaben zu ihrem Wildverzehr. Der Mittelwert der Bleikonzentration im Blut aller Teilnehmer lag bei  $1,2 \mu\text{g/dl}$ . Der Mittelwert der Bleikonzentration im Blut für die Teilnehmer, die angegeben hatten, Wildfleisch zu verzehren, lag bei  $1,3 \mu\text{g/dl}$  und für die Teilnehmer, die kein Wildfleisch verzehrten, bei  $0,8 \mu\text{g/dl}$ . Etwa 80,8 % ( $n=594$ ) der Teilnehmer gaben an, mindestens eine Art von Wild zu verzehren. Von diesen gaben 86,4 % ( $n=513$ ) an, mehr als eine Tierart zu verzehren. Der Verzehr von Wildfleisch korrelierte mit einem Anstieg der Bleikonzentration im Blut um  $0,3 \mu\text{g/dl}$  (Iqbal et al., 2009).

Meltzer et al. (2013) führten eine Studie mit 147 Erwachsenen durch, die alle eine weite Spanne beim Verzehr von Wildbret aufwiesen. Ziel der Studie war es, festzustellen, ob ein hoher Verzehr von mit bleihaltiger Munition erlegtem Hirschfleisch mit einer erhöhten Bleikonzentration im Blut verbunden ist. Ein weiteres Ziel war es, andere Faktoren neben dem Verzehr von Wildbret zu ermitteln, die die beobachtete Variabilität der Bleikonzentrationen im Blut erklären könnten. Der Median der Bleikonzentrationen im Blut lag bei  $16,6 \mu\text{g/l}$ , das 5. Perzentil bei  $7,5 \mu\text{g/l}$  und das 95. Perzentil bei  $39 \mu\text{g/l}$ . Ein lineares Regressionsmodell zeigte, dass ein Verzehr von Wildbret einmal im Monat oder häufiger mit einem Anstieg der Bleikonzentration im Blut von etwa 31 % einhergeht. Dieser Anstieg schien vor allem mit dem Verzehr von Hackfleisch vom Hirsch verbunden zu sein, insbesondere wenn es sich um gekauftes Hackfleisch handelte. Allerdings wiesen viele Teilnehmer, die schon lange Zeit und große Mengen Wildbret verzehrten, niedrige Bleikonzentrationen im Blut auf. Der Verzehr von Hirschfleisch zusammen mit der Anzahl an Abschüssen pro Jahr, Jahre des Wildbretverzehr, die Selbstfertigung von Munition, Weinkonsum und Rauchen bedingten gemeinsam etwa 25 % der Variation der Bleikonzentration im Blut, während Alter und Geschlecht 27 % der Varianz bedingten. In Abhängigkeit des Alters der Versuchspersonen stiegen die Bleikonzentrationen im Blut etwa

um 18 % alle zehn Jahre. Männer hatten im Mittel um 30 % höhere Bleikonzentrationen im Blut als Frauen. Jäger, die ihre Munition selbst herstellten, hatten 52 % höhere Bleikonzentrationen im Blut als Personen, die keine Munition herstellten. Die Ergebnisse zeigen, dass jagdliche Praktiken, wie die Verwendung von bleihaltiger Munition, Selbstfertigung von bleihaltigen Patronen und die Verwendung von bleikontaminiertem Fleisch die Exposition gegenüber Blei maßgeblich bestimmten. Meltzer et al. (2013) kamen zu dem Schluss, dass die Bleikonzentrationen im Blut im Bereich der Referenzwerte für ein geringes erhöhtes Risiko für erhöhten Blutdruck und eine chronische Nierenerkrankung (CKD) auf Bevölkerungsebene lagen, während das Risiko auf der individuellen Ebene gering oder vernachlässigbar ist. Die Autoren merkten an, dass die geringe Anzahl an Studienteilnehmern in Relation zu der beträchtlichen Anzahl an Einflussfaktoren eine Schwäche dieser Studie darstellt. Außerdem wurden die verzehrten Portionen nicht auf ihren Bleigehalt hin untersucht. Der Bleigehalt kann jedoch stark variieren. Die Autoren kommen zu dem Schluss, dass weitere Studien in Bezug auf Bleigehalte in Wildfleisch und vor allem in Hackfleisch von Wild in Norwegen benötigt werden. Des Weiteren beziehen sich die Ergebnisse dieser Studie nur auf Erwachsene (Meltzer et al., 2013).

In einer Studie von Lindboe et al. (2012) wurden Proben von 300 bis 500 g aus 52 verschiedenen Portionen gehackten Elchfleisches entnommen. Das Fleisch war zum menschlichen Verzehr geeignet und stammte von wilden Elchen, die mit bleihaltiger Munition erlegt wurden. In den meisten Fällen stammte eine Einzelprobe von einem Tier. Es wurde Hackfleisch ausgewählt, um eine gemischte Probe aus verschiedenen Teilstücken des Elches zu erhalten. Zusätzlich wurden fünf Portionen gehacktes Elchfleisch gekauft. Aus den analysierten Bleigehalten im Fleisch wurde ein Modell erstellt. Der Bleigehalt in jeder Verzehrportion wurde zufällig aus der modellierten Verteilung gezogen; die voraussichtliche mittlere wöchentliche Bleiaufnahme wurde dann aus den ermittelten Gehalten und dem Verhältnis zwischen Portionsgröße und Körpermasse berechnet. Eine gemäßigte Portionsgröße von 2 g Fleisch/kg KM wurde für die Berechnungen herangezogen (50 g Fleisch für ein Kind mit 25 kg KM oder 150 g Fleisch für einen Erwachsenen mit 75 kg KM). Die Exposition war direkt proportional zur Aufnahme. In 42 (81 %) der 52 Proben wurde Blei in einer quantifizierbaren Menge nachgewiesen. Der mittlere Bleigehalt betrug  $5,6 \pm 20$  mg/kg, der Median lag bei 0,3 mg/kg und das Maximum bei 110 mg/kg.

Die berechnete Bleiaufnahme bei Verzehr des Fleisches betrug im Mittel 11  $\mu\text{g/kg KM}$  ( $5,6 \mu\text{g/g Fleisch} \times 2 \text{ g/kg KM}$ ) bei einer Verzehrsmenge von 2 g/kg KM. Das Maximum der Aufnahme lag bei 220  $\mu\text{g Blei/kg KM}$ . Beim Verzehr von Wildfleisch über einen längeren Zeitraum kann die Bleiaufnahme aufgrund der unterschiedlichen Bleigehalte in den Portionen stark variieren. Das Modell sagt eine wöchentliche Bleiaufnahme von 12  $\mu\text{g/kg KM}$  (2,6-27  $\mu\text{g/kg KM}$ ) bei einem einmaligen Wildverzehr pro Woche und 25  $\mu\text{g/kg KM}$  (10-45  $\mu\text{g/kg KM}$ )

KM) bei einem Wildverzehr von zweimal pro Woche vorher. Die Bleiaufnahme war direkt proportional zur Portionsgröße. Einunddreißig Proben (60 %) lagen oberhalb des zulässigen Höchstgehalts für Blei von 0,01 mg/kg für Fleisch (ohne Innereien) von Rind, Schaf, Schwein und Geflügel. Die Autoren merken an, dass es unsicher bleibt, in welchem Ausmaß das Blei aus dem Wildfleisch im Vergleich zu Blei aus anderen Lebensmitteln im menschlichen Körper absorbiert wird. Für Norwegen schätzen die Autoren, dass Jägerhaushalte 1,5-mal pro Woche Elch essen (die Spanne reicht von 0,5- bis 4-mal pro Woche). Die Autoren kommen zu dem Schluss, dass es basierend auf den Risikoabschätzungen der EFSA dringend notwendig ist, eine unnötige Bleiexposition zu vermeiden. Obwohl zusätzliche Studien benötigt werden, um das Ausmaß dieses Effekts abzuschätzen, ist es wahrscheinlich, dass sogar gelegentlicher Verzehr von Großwild mit erhöhten Bleigehalten ein Risiko für adverse Effekte nach sich ziehen könnte. Bevölkerungsgruppen mit einem erhöhten Verzehr von Elchfleisch oder anderem Fleisch von Großwild, welches mit bleihaltiger Munition erlegt wurde, weisen wahrscheinlich eine über das besorgniserregende Maß hinausgehende Exposition gegenüber Blei auf. Dabei sind vor allem Kinder diesem Risiko ausgesetzt, entweder direkt durch den Verzehr von Wildfleisch oder indirekt durch die Exposition über die Plazenta oder über die Muttermilch. Laut der Autoren mag es aufgrund dieser Erkenntnisse für Gesundheits- und Lebensmittelsicherheitsbehörden gerechtfertigt sein, weitere Verzehrsmuster und Auswirkungen auf die öffentliche Gesundheit zu untersuchen und gegebenenfalls entsprechende Maßnahmen zu ergreifen (Lindboe et al., 2012).

Auch das wissenschaftliche Komitee zur Lebensmittelsicherheit in Norwegen (Norwegian Scientific Committee on Food Safety – VKM) kommt in seiner Stellungnahme zur Risikobewertung der Bleiexposition durch Wildfleisch zu dem Schluss, dass mehr Daten benötigt werden, um die Bioverfügbarkeit des Bleis aus Munition im Fleisch abschätzen zu können. Außerdem bemängeln sie, dass für Bleikonzentrationen im Blut von Kindern die Daten nicht ausreichen. Sie führen an, dass diese jedoch benötigt werden, um eine verfeinerte Risikobewertung der Bleiexposition von Kindern durch Verzehr von Wildfleisch abgeben zu können (Norwegian Scientific Committee for Food Safety (VKM), 2013).

Morales et al. (2011) haben in ihrer Studie eine Risikobewertung der Bleiaufnahme über den Verzehr von Rothirsch- und Wildschweinfleisch in Südspanien durchgeführt. Die Bleigehalte, die im Fleisch von Wildschweinen ermittelt wurden (im Mittel 1291 µg/kg), waren deutlich höher als die Bleigehalte im Fleisch von Rothirschen (im Mittel 326 µg/kg). Die Verzehrdaten zeigen, dass 199 der 301 Befragten angaben, Fleisch vom Rothirsch oder Wildschwein zu verzehren. Daten zu Fleisch anderer Tierarten lagen nicht vor. Zweiundsechzig % der Verzehrer von Fleisch vom Rothirsch und Wildschwein waren Jäger, 38 % waren keine Jäger. Es zeigte sich, dass 15 % nur das Fleisch vom Rothirsch

verzehrten (kein Verzehr von Wildschweinfleisch) und 14 % nur das Fleisch vom Wildschwein verzehrten (kein Verzehr von Rothirschfleisch); 71 % verzehrten sowohl Rothirsch- als auch Wildschweinfleisch. Die Verzehrsmengen für Personen, die nur Rothirschfleisch verzehrten, betragen  $5,4 \pm 8,5$  und  $1,8 \pm 1,7$  kg/Person und Jahr für Jäger bzw. Nicht-Jäger; für Personen, die nur Wildschweinfleisch verzehrten,  $5,0 \pm 7,4$  und  $2,0 \pm 3,7$  kg/Person und Jahr für Jäger bzw. Nicht-Jäger. Expositionsszenarien (basierend auf dem 95. Perzentil) zeigten, dass Jäger, die Fleisch von Rothirsch und Wildschwein verzehrten, eine Bleimenge von  $35,4 \mu\text{g/kg KM}$  und Woche aufnahmen; Jäger, die lediglich Wildschweinfleisch verzehrten nahmen eine Bleimenge von  $37,9 \mu\text{g/kg KM}$  und Woche auf. Fleisch von Rothirsch und Wildschwein stellte in der Studie demnach eine entscheidende Expositionsquelle für Blei für den Verbraucher dar. In dieser Studie wurde die Bevölkerungsgruppe der Jäger als die Risikogruppe identifiziert. Morales et al. (2011) empfehlen einen moderaten Verzehr von Wildfleisch als wichtige Maßnahme zur Reduzierung der Bleiaufnahme. Die Autoren führen ebenfalls an, dass die Aufnahme von Blei aus anderen Quellen als Wildfleisch betrachtet werden muss, um eine vollständige Abschätzung der Bleiexposition abgeben zu können (Morales et al., 2011).

Fachehoun et al. (2015) untersuchten neben den Bleigehalten in Wildfleisch auch den Verzehr von Weißwedelhirsch- und Elchfleisch von Jägern aus Quebec. Zudem wurde die Wahrnehmung der Jäger und Metzger bezüglich des damit verbundenen Gesundheitsrisikos dokumentiert und nach der Analyse der Bleigehalte in Wildfleisch wurden die mit dem Verzehr dieses Fleisches zusammenhängenden Gesundheitsrisiken beurteilt. Dazu wurde ein Fragebogen unter Jägern verteilt, welcher den Verzehr von Fleisch vom Elch und Weißwedelhirsch und die Wahrnehmung des Gesundheitsrisikos durch Bleiexposition aus dieser Quelle dokumentieren sollte. Zudem sollten die Jäger angeben, wie das Fleisch rund um den Schusskanal bearbeitet wird. Ein zweiter Fragebogen unter Metzgern diente der Überprüfung, wie das Fleisch, insbesondere das Fleisch rund um Ein- und Ausschuss, von Elch und Weißwedelhirsch bearbeitet wird. Zudem erfolgte die Analyse von Elch- und Weißwedelhirschfleisch auf ihren Bleigehalt (60 mit bleihaltiger Munition erlegt) mittels ICP-MS. Für den Verzehr ergab der Fragebogen, dass 2,4 % der Jäger nur Fleisch vom Weißwedelhirsch verzehrten, 35 % nur Elchfleisch und 62 % beide Fleischarten. Außerdem zeigte sich, dass 26 % der Jäger einmal pro Woche und 49 % mehr als einmal pro Woche dieses Fleisch verzehrten. Die Mehrheit der Jäger gab an, dass der Verzehr von Fleisch vom Weißwedelhirsch, welches mit bleihaltiger Munition erlegt wurde, sicher ist. Zusätzlich gaben rund 60 % der Jäger und 61 % der Metzger an, dass nur das verletzte Gewebe rund um den Schusskanal entfernt wurde. Die Autoren zeigten, dass die individuelle Expositions-dosis für Blei für Jäger bei  $0,12 \mu\text{g/kg KM}$  und Tag und beim 95. Perzentil bei  $0,31 \mu\text{g/kg KM}$  und Tag liegt. Diese Studie zeigte ebenfalls, dass die Jäger das Fleisch als sicher erachten, obwohl

es mit bleihaltiger Munition erlegt wurde und es gängige Praxis war, lediglich das verletzte Gewebe rund um den Schusskanal zu entfernen (Fachehoun et al., 2015).

Buenz und Parry (2017) untersuchten in ihrer Studie zur chronischen Exposition gegenüber Blei, ob die Umstellung des Verzehrs von bleihaltig erlegtem Wildbret auf bleifrei erlegtes Wildbret die Bleikonzentration im Blut verringert. Bei dem Probanden der Studie handelte es sich um einen Mann, der sich die letzten drei Jahre nur von selbst erlegtem Wildbret ernährt hatte, welches er mit Bleimunition geschossen hatte. Er verzehrte zwei Mahlzeiten mit jeweils 750 g Wildbret pro Tag bzw. einen ganzen Hasen. Die Bleikonzentration im Blut betrug 74,7 µg/dl. Die Autoren errechneten eine Bleiaufnahme von  $259,3 \pm 235,6$  µg pro Tag. Ab dem Zeitpunkt, an dem der Proband bleifreie Munition verwendete, sank die Bleikonzentration im Blut. Laut der Autoren würde es etwa 16 Jahre dauern, bis die Bleikonzentration im Blut auf 5 µg/dl sinkt. Dies ist der Wert, ab dem eine Bleiexposition in den USA und in Neuseeland als besorgniserregend gilt (Buenz und Parry, 2017).

Verschiedenste Studien zeigen, dass das Ausmaß der Bleikontamination der verzehrbaren Fleischteilstücke und somit das mögliche gesundheitliche Risiko direkt abhängig ist vom Bleigehalt der verzehrbaren Fleischteilstücke, von der Verzehrsmenge (Größe einer Mahlzeit und Verzehrshäufigkeit) und von der biologischen Verfügbarkeit der Bleifragmente (BfR, 2010).

## **2.6. Mögliche Einflüsse auf die Bleiexposition**

### **2.6.1. Wildbrethygiene**

#### **2.6.1.1. Gesetzliche Grundlagen und Wildbrethygiene**

In der EU sind Lebensmittelrecht und -hygiene einheitlich geregelt. Die EU-Verordnungen (VO) sind unmittelbar geltendes Recht und befassen sich auch mit der Gewinnung und Vermarktung von Wildbret. Die EU-Basisverordnung (EG) Nr. 178/2002 zur Festlegung der allgemeinen Grundsätze und Anforderungen des Lebensmittelrechts, zur Errichtung der Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA) und zur Festlegung von Verfahren zur Lebensmittelsicherheit legt das allgemeine Lebensmittelrecht fest. Aus dieser Verordnung ergaben sich auch für Deutschland verschiedene Änderungen. So wurde auf nationaler Ebene als Konsequenz des EU-Lebensmittelhygienepakets die Verordnung zur Durchführung von Vorschriften des gemeinschaftlichen Lebensmittelhygienerechts geschaffen (VO (EG) Nr. 178/2002; BfR, 2006a, 2006b).

Auf EU-Ebene sind für den Jäger neben der VO (EG) Nr. 178/2002 auch die VO (EG) Nr. 852/2004 über Lebensmittelhygiene und die VO (EG) Nr. 853/2004 mit spezifischen Hygienevorschriften für Lebensmittel tierischen Ursprungs von Bedeutung (VO (EG) Nr.

852/2004; VO (EG) Nr. 853/2004). Weitere für den Jäger wichtige gesetzliche Bestimmungen sind die Lebensmittelhygiene-Verordnung (LMHV), die Tierische Lebensmittelhygiene-Verordnung (Tier-LMHV), das Lebensmittel-, Bedarfsgegenstände- und Futtermittelgesetzbuch (LFGB) und die VO (EG) Nr. 1069/2009 mit Hygienevorschriften für nicht für den menschlichen Verzehr bestimmte tierische Nebenprodukte und zur Aufhebung der VO (EG) Nr. 1774/2002 (Verordnung über tierische Nebenprodukte) (Lebensmittel- und Futtermittelgesetzbuch - LFGB; Lebensmittelhygiene-Verordnung - LMHV; VO (EG) Nr. 1069/2009; BfR, 2006a, 2006b).

Nach Artikel 14 der VO (EG) Nr. 178/2002 (1) ist der Jäger, ebenso wie ein Lebensmittelunternehmer, für die Lebensmittelsicherheit des Wildbrets, welches er in Verkehr bringt, verantwortlich. Der Jäger benötigt hierfür die in der Tier-LMHV geforderte „ausreichende Schulung“ (ausreichend geschulte Person), die er durch die nach dem 1. Februar 1987 bestandene Jägerprüfung erfüllt. Dies bezieht sich auf die „Abgabe kleiner Mengen von erlegtem Wild direkt an den Verbraucher oder örtliche Betriebe des Einzelhandels zur unmittelbaren Abgabe an den Verbraucher“ (§ 4 Tier-LMHV). Bei „Abgabe von Wild an einen zugelassenen Wildbearbeitungsbetrieb“ muss nach VO (EG) Nr. 853/2004 eine Person der Jagdgesellschaft zur „kundigen Person“ fortgebildet sein. Die für Schlachttiere (z. B. Rind und Schwein) vorgeschriebene Schlachttieruntersuchung am lebenden Tier (Lebendtier-Untersuchung) nimmt der Jäger vor dem Schuss vor. Er beurteilt Allgemeinzustand und Verhalten des angesprochenen Wildes durch Beobachten vom Hochsitz aus. Wenn das Wild als gesund beurteilt und erlegt wurde, sollte es zeitnah aufgebrochen werden (Entfernen der inneren Organe), um die Keimbelastung des Wildbrets so gering wie möglich zu halten. Das Wild und dessen Organe sollten auf Merkmale hin untersucht werden, die bedenklich sind oder auf eine Krankheit hindeuten. Der Transport in eine Wildkammer zur Kühlung des Schlachtkörpers sollte zügig erfolgen. Dem Jäger ist für sein erlegtes Wild die amtliche Fleischuntersuchung, die für Schlachttiere vorgeschrieben ist, übertragen worden. In der Tier-LMHV sind hierfür bedenkliche Merkmale aufgelistet, auf die das erlegte Stück untersucht werden muss. Während der einzelnen Verarbeitungsschritte sollte vermieden werden, dass das erlegte Stück durch Haare, Erde oder andere Materialien kontaminiert wird.

In der Tier-LMHV ist festgeschrieben, dass Großwild auf maximal + 7°C, Innereien auf maximal + 3°C abzukühlen sind. Die Fleischreifung ist ein wichtiger Vorgang, um sowohl aromatisches als auch zartes Wildfleisch zu erhalten. Während der Totenstarre beginnt der Abbau von Glykogen in Laktat. Dabei entsteht Adenosindiphosphat (ADP), durch welches die Muskelkontraktion der Totenstarre langsam wieder gelöst wird und die Muskulatur wieder weicher wird. Das entstandene Laktat führt zu einem Absinken des pH-Wertes im Fleisch auf etwa 5,8 am Ende der Fleischreifung (BfR, 2006a, 2006b; Landwirtschaftliches Zentrum

Baden-Württemberg (LAZBW), 2011; Niedersächsisches Landesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (LAVES), 2013; Bartels, [s.a.]).

#### **2.6.1.2. Trefferlage beim Rehwild**

Von großer Bedeutung für Keimbelastung und Wildbrethygiene ist die Trefferlage. Dabei ist der Kammerschuss auf das breit stehende Stück als optimal anzusehen. Dadurch werden die großen Gefäße im Bereich des Herzens und der Lunge zerstört und es kommt zu einer guten Ausblutung (Ausschweißen), was lebensmittelhygienisch anzustreben ist. Bei einem Schuss in die Kammer wird ein Zerstören der Bauchorgane (Gescheide) vermieden. Werden Pansen oder Darm verletzt, führt dies zu einer Kontamination (BfR, 2006a; Landwirtschaftliches Zentrum Baden-Württemberg (LAZBW), 2011; BfR, 2013).

#### **2.6.1.3. Aufbrechmethoden und Zerwirken (Zerlegen) des Rehwildes**

Das Aufbrechen ist grundsätzlich sowohl am liegenden, als auch am hängenden Wild (Schlachtermethode) möglich, wobei die hängende Methode aus hygienischer Sicht zu bevorzugen ist (BfR, 2013). Nach dem Aufbrechen wird das Tier mit dem Haupt (Kopf) nach unten zur Fleischreifung in der Kühlkammer aufgehängt.

Das Rehwild wird aus der Decke geschlagen (Abziehen des Fells). Dazu kann das Tier an den Vorderläufen aufgehängt werden. Das Haupt wird abgesetzt und die Decke von den Vorderläufen her über Brust und Bauch bis zu den Keulen abgezogen. Nach Entfernung der Decke kann das Tier zerwirkt werden. Das Tier wird nun wieder an den Hinterläufen aufgehängt. Ein- und Ausschuss werden großzügig entfernt. Im ersten Schritt werden die Schultern abgesetzt. Danach werden Rippen- und Bauchlappen abgesetzt. Der rippengestützte Brustkorb wird mit einer Säge oder Aufbrechzange entfernt. Der Hals wird vom Rücken abgetrennt und Brust- und Lendenwirbelsäule vor dem Becken abgesetzt. Die beiden Keulen werden im Hüftgelenk abgesetzt (Deutz, [s.a.]).

#### **2.6.1.4. Bleiverteilung im Wildkörper**

Bei der Erlegung von Wild verändert sich, je nach verwendetem Geschosstyp, das Geschoss im Wildtier nach dem Auftreffen und Eindringen in den Wildtierkörper. Dabei entstehen zum Teil Geschossdeformationen (z. B. Aufpilzen) sowie größere Geschossfragmente und/oder feinste Bleisplitter, die sich in Form einer Splitterwolke im Muskelgewebe entlang des Schusskanals oder auch in entferntere Muskelgewebe verteilen können. Die feinen Splitter und die Splitterwolke sind makroskopisch nicht zu erkennen und lediglich zu einem gewissen Anteil radiologisch darstellbar. Ziel ist es, eine maximale Verwundung zu setzen, um einen



schnellen und tierschutzkonformen Tod gewährleisten zu können (Hunt et al., 2006; Stroud und Hunt, 2009; Knott et al., 2010).

Durch die heterogene Verteilung der Bleipartikel ist auch durch eine Bleianalyse im Wildbret nur eine Momentaufnahme möglich. In der Literatur wird berichtet, dass bis zu einer Entfernung von 40 bis 45 cm vom Schusskanal Bleisplitter und Bleifragmente nachgewiesen werden können (Dobrowolska und Melosik, 2008; Grund et al., 2010; Stewart und Veverka, 2011). Um mögliche Bleifragmente entfernen zu können, empfiehlt das BfR daher, dass das Ausschärfen (Ausschneiden) des Schusskanals über den Bereich der sichtbaren Gewebeerstörung (Hämatome) hinausgehen sollte (BfR, 2010).

### **2.6.2. Küchenmäßige Zubereitung von Wildbret und deren Einfluss auf die Bioverfügbarkeit von Blei**

Eine mögliche Zubereitungsart von Wildfleisch ist das Beizen. Dazu werden Beizen aus Rotwein, Essig oder Buttermilch verwendet. Bei kleineren Fleischstücken (Gulasch) hat eine Beize den Effekt, das Fleisch zarter zu machen. Bei größeren Fleischstücken dringt die Beize jedoch auch nach Beizen über mehrere Tage nur 8 bis 12 mm tief in das Fleisch ein (AID, 2012).

In einer Studie von Mateo et al. (2007) wurde der Transfer von Blei aus Munition ins Brustfleisch von Wachteln mit 0, 1, 2 oder 4 eingebetteten Bleigeschossfragmenten während der Zubereitung untersucht. Dabei wurde ein traditionelles spanisches Rezept verwendet, bei dem durch Essig die mögliche Lagerungsdauer erhöht werden sollte. Der Effekt der sauren Bedingungen durch den Essig auf den Transfer von Blei wurde mit demselben Rezept, bei dem jedoch statt Essig Wasser eingesetzt wurde, verglichen. Es wurden Wachteln verwendet, in deren Muskelfleisch zuvor manuell Bleischrot eingebettet wurde. Die Wachteln kamen aus einer Zucht und waren nicht geschossen worden. In Anlehnung an eine Studie von Johansen et al. (2004), die 0 bis 5 Schrotkugeln in der Brust von Dickschnabellummen und 0 bis 3 Schrotkugeln in der von Eiderenten fanden, wurden 0, 1, 2 oder 4 Schrotkugeln in jedes Bruststück eingebettet. Je drei Bruststücke mit unterschiedlicher Anzahl an Schrotkugeln wurden mit oder ohne Essig zubereitet, um den Transfer von Blei während des Zubereitungsprozesses unter diesen unterschiedlichen Bedingungen vergleichen zu können. Der Effekt der Lagerungsdauer wurde ebenfalls mit je drei Bruststücken je Anzahl an Schrotkugeln und je Lagerungsdauer (1, 7, 14 und 28 Tage) untersucht. Die zubereiteten Proben wurden traditionell in Glasbehältern bei Raumtemperatur (+ 23°C) gelagert. In einer weiteren Untersuchung wurde die Abgabe von Blei aus Schrotkugeln in Abhängigkeit der verwendeten Flüssigkeit und der Temperatur untersucht. Ein Schrotgeschoss wurde in ein Röhrchen mit 5 ml Wasser oder mit einer wässrigen Essigsäurelösung (3 %, pH-Wert 2,5)

gegeben. Diese Röhrchen wurden eine Stunde bei einer Temperatur von + 25°C oder + 90°C gehalten. Die Abgabe von Blei wurde daraufhin durch die direkte Analyse des Bleigehaltes der Flüssigkeit untersucht. Die Bleifragmente wurden vor der Analyse entfernt. Die Ergebnisse zeigten, dass der Transfer von Blei in das Fleisch höher war, wenn es mit Essig anstatt mit Wasser zubereitet wurde. Die Anzahl an Bleifragmenten korrelierte positiv mit dem Bleigehalt im Fleisch nach der Zubereitung. Eine Lagerung des Fleisches von bis zu vier Wochen erhöhte den Transfer von Blei unter sauren Bedingungen bei Raumtemperatur nicht signifikant. Für die Untersuchung, bei der Bleischrot direkt in einer wässrigen Flüssigkeit lag, wurden die sauren Bedingungen und die hohe Temperatur als wichtige Einflussfaktoren bestätigt. Die Menge an abgegebenem Blei war signifikant höher bei Anwesenheit von Essigsäure und hoher Temperatur. Die Verwendung von Bleischrot bei der Jagd auf kleines Wild trägt signifikant zur Kontamination dieses Fleisches bei, insbesondere wenn es mit Essig zubereitet wird. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen zeigen, dass der Transfer von Blei ins Fleisch beim Kochen unter Anwesenheit von Essig und hohen Temperaturen am größten ist.

Basierend auf den Angaben von Johansen et al. (2001), die 200 g Fleisch als eine normale Portionsgröße für kleines Wild erachteten, kalkulierten Mateo et al. (2007) die Bleiaufnahme über eingelegtes Fleisch, welches eingebetteten Bleischrot enthielt. Sie zeigten, dass der Verzehr von nur einer solchen Mahlzeit den „Lowest Observed Adverse Effect Level“ (LOAEL) – die niedrigste Zufuhr mit nachteiliger Wirkung – für verschiedene Altersgruppen in der Bevölkerung und unter gewissen Bedingungen auch den früher geltenden PTWI überschreiten würde. Diese LOAELs betragen 60 µg Blei/Tag bei Kindern ≤ 6 Jahre, 150 µg Blei/Tag für Kinder ≥ 7 Jahre, 250 µg Blei/Tag für Schwangere und 750 µg Blei/Tag für Erwachsene. Der bis zum Jahr 2010 gültige PTWI (25 µg Blei/kg KM), welcher 1500 µg Blei bei einer Körpermasse von 60 kg entspricht, wäre um 8,3 % bzw. 33,3 % bei einer 200 g Mahlzeit von eingelegtem Fleisch, welches entsprechend zwei bzw. vier Bleischrote pro Bruststück enthält, überschritten. Die Autoren kamen zu der Schlussfolgerung, dass der Verzehr von einer halben in Essig eingelegten Wachtel pro Woche (mit eingebettetem Bleifragment) eine Überschreitung des früher gültigen PTWI von Blei beim spanischen Verbraucher verursachen könnte (Johansen et al., 2001; Mateo et al., 2007).

In einer späteren Untersuchung zeigten Mateo et al. (2011) einen Einfluss des Kochprozesses und der Verwendung von Zutaten mit einem sauren pH-Wert auf die Bioverfügbarkeit von Blei. Die Brustmuskulatur von erlegten Rothühnern wurde geröntgt und die Anzahl der Schrotkugeln und Bleifragmente notiert. Daraufhin wurde das Fleisch auf vier unterschiedliche Arten zubereitet, darunter traditionelle spanische Rezepte: zwei Arten von „escabeche“, wobei der Essig vor dem Kochen oder nach dem Kochen zugegeben wurde, „a la Toledana“ mit Weißwein und eine Gruppe wurde roh belassen. Nach der Zubereitung

wurden die Schrotkugeln entfernt und das Fleisch zerhackt, um das Kauen nachzuahmen. Danach wurde das Fleisch in einer in vitro gastrointestinalen Simulation verdaut und mittels GF-AAS auf den Bleigehalt hin analysiert. Der Anteil an bioverfügbarem Blei in der simulierten intestinalen Phase war in dem Fleisch höher, das mit Essig (6,75 %) und Wein (4,51 %) zubereitet worden war, als in dem rohen Fleisch (0,7 %). Es spielte dabei keine Rolle, ob der Essig vor oder nach dem Kochen hinzugefügt wurde (Mateo et al., 2011).

Inwieweit die Art der küchenmäßigen Zubereitung von Wildbret einen Einfluss auf die Bioverfügbarkeit von Blei aus Büchsenmunition haben könnte, wurde bei bisherigen Betrachtungen nicht berücksichtigt. Die bisherigen Untersuchungen zu Bleischrot sind nicht auf Büchsenmunition übertragbar, da das ballistische Verhalten nicht vergleichbar ist.

### **2.7. Die intravenöse Gabe von Blei**

Um die Bioverfügbarkeit oral aufgenommenen Bleis quantifizieren zu können, werden Bleikonzentrationen im Blut mit den Ergebnissen intravenös (i.v.) verabreichten Bleis verglichen. Studien zur Kinetik von intravenös verabreichtem Blei beim Schwein sind begrenzt. Booker et al. (1969) haben an zwei menschlichen Probanden die Bleikonzentrationen im Blut nach Inhalation bzw. Injektion von  $^{212}\text{Pb}$  untersucht. Eine maximale Konzentration im Blut wird frühestens 24 Stunden nach der Injektion erreicht. Danach nimmt die Konzentration relativ langsam, mit einer Halbwertszeit von 15 Tagen, ab (Booker et al., 1969).

Castellino und Aloj (1964) haben eine Einzeldosis  $^{210}\text{Pb}$ -Acetat intravenös an Ratten verabreicht. Jede Ratte bekam 100 µg Blei injiziert. Über 14 Tage wurden Verteilung und Ausscheidung beobachtet. Eine Stunde nach Injektion befand sich das Blei vor allem in Blut (20,7 %), Leber (20,2 %) und den Nieren (19,0 %). Die Autoren kamen zu dem Schluss, dass das Vorhandensein verschiedener Exkretionsphasen für einen komplexen Bleimetabolismus hinweisend ist. Die zu Anfang schnellen Phasen zeigen den Abbau von Blei, welches als Ion vorliegt, vermutlich schwach gebunden, und im inter- und intrazellulären Raum zu finden ist. Die langsame Endphase spiegelt den Abbau von zellgebundenem Blei wieder, welches nun vermutlich als ein organischer Komplex vorliegt (Castellino und Aloj, 1964).

Freeman et al. (1994) verabreichten Ratten Bleiacetat oral bzw. intravenös über 29 Tage in einer Dosierung von 0,02, 0,20 bzw. 2,0 mg Blei/kg KM/Tag. Die Gruppe der Ratten, die Blei intravenös verabreicht bekamen, dienten zur Darstellung der maximalen Absorption. Es wurde angenommen, dass dieses Blei zu 100 % bioverfügbar ist. Mittlere Bleikonzentrationen im Blut nach intravenöser Gabe von Blei lagen im Bereich von 26 µg/l bei der 0,02 mg Blei/kg Dosierung und bei bis zu 1740 µg/l bei der 2 mg Blei/kg Dosierung (Freeman et al., 1994).

In einer Studie, in welcher Ratten  $^{203}\text{Pb}$  intravenös verabreicht wurde, konnte ein Maximum an Blei im venösen Blut eine Stunde nach der Injektion gemessen werden. Zu diesem Zeitpunkt wurden 35 bis 40 % der verabreichten Bleidosis im Blut nachgewiesen. Der Gehalt im Blut nahm danach rapide ab und nach zwei Tagen waren nur noch 5 % der verabreichten Dosis im Blut nachweisbar. Die Autoren stellten fest, dass bei der Ratte der Blei-Turnover sehr viel schneller als beim Menschen ist (Morgan et al., 1977). Wie zuvor beschrieben, haben dagegen Booker et al. (1969) beim Menschen festgestellt, dass die maximale Bleikonzentration im Blut frühestens 24 Stunden nach Injektion bestimmt werden kann. Danach fällt die Bleikonzentration im Blut relativ langsam mit einer Halbwertszeit von 15 Tagen ab.

In einer Studie von Casteel et al. (1997) bekamen Jungschweine über mehrere Tage einmal am Tag eine Dosis Bleiacetat injiziert. Die Versuchsgruppen erhielten Blei lediglich oral. Auch hier diente die Gruppe der Schweine, welche Blei intravenös verabreicht bekam, zur Darstellung der maximalen Absorption. Damit konnten im Anschluss die AUC (Area under the curve) und die Bioverfügbarkeit der oral aufgenommenen Bleimenge bestimmt werden (Casteel et al., 1997).

Wilhelm et al. (1999) haben in ihrer Studie bleihaltiges Bodenmaterial an Minischweine verfüttert und dies ebenfalls mit einer intravenösen Gabe von Blei verglichen (Wilhelm et al., 1999).

## **2.8. Das Schwein als Modell- und Versuchstier**

Aufgrund der Vergleichbarkeit der stoffwechselphysiologischen Vorgänge zum Menschen wurde als Versuchstierart das Schwein ausgewählt. Schweine sind als Modell für den menschlichen Organismus anerkannt. Im Versuch sollen junge Schweine als Modell für den kindlichen und jugendlichen Organismus dienen. Die Magenfunktion juveniler Schweine ist mit der von Kindern vergleichbar (Weis und Lavelle, 1991; Casteel et al., 1996). Bei juvenilen Schweinen und Kleinkindern finden sich ähnliche Sekretionsmuster für Salzsäure (HCl), Pepsin und andere Enzyme im Magen, auch wenn sich die Verteilung der Drüsen unterscheidet.

Die Anatomie des Verdauungssystems bei Schwein und Mensch ist sehr ähnlich. Die an die Körpermasse angepassten Verhältnisse zwischen Darmlänge und Magenvolumen im Kind und im Ferkel sind vergleichbar (Moughan et al., 1992). In ihren Nährstoffbedürfnissen ähneln Schweine dem Menschen mehr als jeder andere Nicht-Primat (Pond und Houpt, 1978). Junge Schweine wurden bereits erfolgreich als Modell für die gastrointestinalen Funktionen von Kindern eingesetzt (Miller und Ullrey, 1987). Kinder stehen aufgrund ihrer höheren Absorptionsrate für Blei und der auf ihr Körpermasse bezogenen größeren Menge

an aufgenommenem Blei bezüglich des gesundheitlichen Verbraucherschutzes besonders im Fokus. Die Absorptionsrate von Blei liegt beim Kind bei etwa 50 %, während bei einem Erwachsenen von 10-15 % ausgegangen wird. Die Ähnlichkeit junger Schweine und Kinder bzgl. ihres physiologischen Alters und ihrer Körpermasse ist genauso ein Vorteil wie das unkomplizierte Sammeln von mehreren kleinen Mengen Blut ohne das Risiko einer Anämie (Casteel et al., 1996). Es ist davon auszugehen, dass durch die Wahl des Versuchstieres Schwein die bestmöglichen auf den Menschen übertragbaren Ergebnisse bezüglich Absorption und Bioverfügbarkeit von Blei zu erwarten sind.

## **2.9. Ableitung der eigenen Aufgabenstellung**

Die Frage, wieviel des durch die Jagdmunition in den Wildtierkörper eingebrachten Bleis nach dem Abhängen des Tieres und der küchenmäßigen Zubereitung des Wildbrets für den Verbraucher nach dem Verzehr in absorbierbarer Form verfügbar ist, ist bis heute weitgehend ungeklärt. Die Ergebnisse von Hecht (1984) deuten darauf hin, dass aufgenommenes elementares Blei eine etwa 10-mal geringere Absorptionsrate als andere lösliche Bleiverbindungen aufweist (Hecht, 1984). Eine erste Umwandlung der Bleirückstände erfolgt bereits während der Fleischreifung im Wildtierkörper („Abhängen“ des Rehwilds für ca. 3 bis 4 Tage). Im Zuge dieser Fleischreifung finden Reaktionen des Bleis aus den Geschossfragmenten bzw. feinsten Bleisplittern mit dem Eiweiß des Muskelgewebes statt, was zur Folge hat, dass ein Teil des Bleis in andere Bindungsformen übergeht, die eine höhere Bioverfügbarkeit aufweisen. Weitere Umwandlungen von Bleirückständen im Wildfleisch können durch die Art der küchenmäßigen Zubereitung (Beizen und Braten) verursacht werden. Durch die pH-Wert-Änderung beim Beizvorgang entstehen leichter lösliche Bleiverbindungen, die im Vergleich zu elementarem Blei besser bioverfügbar sind. Je saurer die Beize ist, desto mehr ist von einer Änderung der chemischen Bindungsverhältnisse an der Oberfläche der Bleisplitter und von einer potenziell höheren Bioverfügbarkeit des Bleis auszugehen (Hecht, 1984, 2000). Neben dem Beizen bzw. Einlegen des Wildbrets in Wein- bzw. Essigbeize vor dem Braten wirkt sich auch das anschließende Braten selbst auf die Überführung eines Teils des Bleis aus den Geschossresten in andere, leichter lösliche Bindungsformen aus (Mateo et al., 2007; Mateo et al., 2011).

Welchen Einfluss das Beizen auf die Umwandlung der Bleiverbindungen und damit auf eine Erhöhung der Bioverfügbarkeit hat, zu welchem Anteil diese besser bioverfügbaren Bleiverbindungen vorliegen und wie viel dieses Bleis tatsächlich absorbiert wird, ist bislang nicht geklärt. Das folgende Versuchsvorhaben soll den Einfluss der Zubereitung von Wildfleisch auf die Bleikonzentration im Blut von Versuchsschweinen untersuchen. Durch die

Bestimmung des Bleigehalts in den verfütterten Portionen soll eine Quantifizierung der absorbierten Bleimenge ermöglicht werden. Da es immer beliebter wird, Fleisch zu marinieren und nicht nur Wein, sondern auch Fruchtsäfte und Essig bei der Zubereitung zu verwenden, ist es von Bedeutung, Untersuchungen zur Ermittlung der Bioverfügbarkeit von Blei nach dem Beizen und der küchenmäßigen Zubereitung durchzuführen. Ziel ist es, den Unterschied in der Bioverfügbarkeit von Blei nach Verzehr von gebeiztem bzw. nicht gebeiztem Wildbret quantifizieren zu können. Mit Hilfe der Untersuchungen kann auf den Anteil des eigentlich absorbierten Bleis geschlossen werden, um entsprechende Zubereitungsempfehlungen von Wildbret für den Verbraucher aussprechen zu können.

### 3. Material und Methoden

#### 3.1. Herstellung der Versuchsrationen (Wildbretportionen)

##### 3.1.1. Wildbrethygienische Versorgung (Zerlegung) von Rehen zur Gewinnung der Fleischportionen für den Fütterungsversuch

Es wurden insgesamt 24 Rehe mit bleihaltiger und 30 Rehe mit bleifreier Munition erlegt. Das Rehwild wurde in der Zeit von September 2013 bis Februar 2014 bei Ansitz- und Bewegungsjagden (Drückjagden) erlegt. Die bleihaltige Munition bestand aus einem Teilmantelrundkopf-Geschoss von RWS (Kaliber 7x64) oder einem Geco-Teilmantelgeschoss (Kaliber 8x57 IS, 30-06 oder .308). Die Jagdreviere für die mit bleihaltiger Munition erlegten Rehe befanden sich im Stadforst Strausberg und bei der Zwillenberg-Tietz-Stiftung in Märkisch Luch OT Linde. Die mit bleifreier Munition erlegten Rehe wurden von Jägern des Bundesforstbetriebes Havel-Oder-Spree erlegt. Das Alter der erlegten Tiere lag zwischen 0 und 3 Jahren.

Die erlegten Tiere wurden unverzüglich in eine Wildkammer verbracht und dort vom Jäger wildbrethygienisch versorgt und kopfüber hängend auf + 7°C gekühlt. Für jedes erlegte Reh liegen ein vom Jäger ausgefüllter Wildursprungs- und ein Probenbegleitschein (vom BfR erstellt) vor. In diesem Probenbegleitschein wurden vom Jäger neben Datum der Erlegung, Geschlecht und Körpermasse des erlegten Stücks auch die verwendete Munition und die Trefferlage vermerkt. Die Jäger waren zuvor seitens des BfR entsprechend eingewiesen worden.

Alle weiteren Vorgänge wurden von der Verfasserin der Arbeit durchgeführt.

Nach drei- bis viertägigem Abhängen wurden die bei + 7°C gekühlten Rehe in Transportkisten in den Gefrierraum des BfR verbracht. Die Tiere wurden zusätzlich an den Hinterläufen mit einem Etikett gekennzeichnet, auf dem die Wildursprungsnummer und eine fortlaufende BfR-Probennummer vermerkt wurden. Die noch in der Decke befindlichen Rehe wurden sofort bei - 24°C tiefgefroren. Vor der Weiterverarbeitung wurden die Rehe 48 Stunden bei Zimmertemperatur (+ 20°C) aufgetaut. Danach wurden die Rehe aus der Decke geschlagen. Dazu wurde den Tieren der Kopf am Gelenk zwischen Atlas (erster Halswirbel) und Schädelknochen abgesetzt (falls dieser nicht bereits vom Jäger abgetrennt worden war) und die Vorderläufe an den Karpalgelenken abgetrennt. Das Reh wurde an den Hinterläufen aufgehängt und die Decke abgezogen. Als nächster Schritt wurden die Hinterläufe im Sprunggelenk abgetrennt und Decke, Läufe und Kopf gewogen. Das Zerlegen erfolgte nach gängiger Jagdpraxis unter Beachtung der Wildbrethygiene durch einen Fleischermeister des BfR.

Beim Zerwirken (Zerlegen) wurde zunächst der Schusskanal ausgeschärft (ausgeschnitten). Das Gewebe entlang des direkten Schusskanals ist für den menschlichen Verzehr untauglich; hierzu zählen durch den Schuss zerstörtes Gewebe, Knochenfragmente und Hämatome. Die zu entfernende Menge des für den menschlichen Verzehr untauglichen Fleisches aus dem direkten Schusskanal wurde von Reh zu Reh und je nach Trefferlage durch den Fleischermeister festgelegt.

Nach Entfernung des direkten Schusskanals wurde bei den Rehen, die mit bleihaltiger Munition erlegt worden waren, stets in einem Radius von 20 cm um den zuvor entfernten Schusskanal das verzehrsfähige Fleisch aus Schusskanalnähe gewonnen. Je nach Trefferlage schloss dieses verzehrsfähige Fleisch aus Schusskanalnähe auch Teilstücke wie Schulter oder Rücken mit ein. Um eine Kontamination anderer Fleischteilstücke mit Blei aus dem Schusskanal zu vermeiden, wurde das Messer nach der Bearbeitung des jeweiligen Fleischteilstückes gereinigt. Bei dem Fleisch aus Schusskanalnähe handelte es sich um verzehrs- und verkehrsfähiges Fleisch.

Für jedes Reh wurden folgende Teilstücke entnommen: Schulterfleisch (je nach Trefferlage wurde dieses Fleisch komplett oder zum Teil zu verzehrsfähigem Fleisch aus Schusskanalnähe gezählt), Rückenfiletfleisch (je nach Trefferlage wurde dieses Fleisch komplett oder zum Teil zu verzehrsfähigem Fleisch aus Schusskanalnähe gezählt), verzehrsfähiges Fleisch aus Schusskanalnähe und Keulenfleisch. Die Teilstücke wurden auf dem mit einer Autoklaventüte abgedeckten Tisch abgelegt und separat abgepackt, gewogen und beschriftet. Jedes der mit bleihaltiger Munition erlegten Tiere erhielt zur Zerwirkung eine neue Unterlage in Form einer Autoklaventüte. Das Fleisch eines jeden Rehs wurde in einem beschrifteten 15 Liter-Eimer mit Deckel bis zur Zubereitung bei - 24°C eingefroren.

### **3.1.2. Küchenmäßige Zubereitung**

Die küchenmäßige Zubereitung erfolgte durch die Verfasserin der Arbeit mit Unterstützung des Fleischermeisters des BfR.

Die küchenmäßige Zubereitung erfolgte nach Teilstück getrennt, um eine Kreuzkontamination mit Blei zu vermeiden und die jeweiligen Teilstücke analysieren zu können. Das zerlegte und eingefrorene Wildbret wurde 24 Stunden vor der Zubereitung bei Raumtemperatur (+ 20°C) aufgetaut (Tag 1). Für die Zubereitung der Fütterungsportionen für die Versuchsgruppen B und K wurde am nächsten Tag (Tag 2) der pH-Wert des Wildbrets gemessen und dieses für 24 Stunden in eine Beize eingelegt, die sich aus einem viertel Liter Apfelessig, einem halben Liter Rotwein und einem halben Liter Wasser zusammensetzte. Der pH-Wert der Beize wurde ebenfalls ermittelt. Der pH-Wert wurde mittels eines pH-Meters PCE-228M und einer Lebensmittel pH-Elektrode CPC-OSH-12-01 (PCE Deutschland GmbH,



Meschede, Deutschland) bestimmt. Der Messbereich des pH-Meters lag zwischen pH-Wert 0 und 14. Der pH-Wert wurde mit der pH-Elektrode jeweils viermal oberflächlich und viermal in einer Tiefe von 3 cm gemessen.

Das in die Beize eingelegte Fleisch wurde für 24 Stunden in einem Kühlraum (+ 7°C) gelagert. Am Tag 3 wurde das Wildbret aus der Beize entnommen, abgetupft und der pH-Wert erneut gemessen. Das Fleisch wurde in einer Pfanne mit Öl (4 cl) angebraten, danach abgetupft, mit Wein und Wasser abgelöscht und gesalzen. Das Salz wurde in die Wein-/Wassermischung gegeben (10 g Salz pro kg Fleisch und Wein-/Wassermischung). Die Zubereitung wurde pro Kilogramm Fleisch eine Stunde gekocht. Nach dem Schmoren und Abkühlen wurde erneut der pH-Wert von Fleisch und Sauce ermittelt. Das Fleisch der Teilstücke wurde zusammen mit der Sauce in einem Kutter homogenisiert und daraus eine Probe von 100 g für die Analytik entnommen. Um das zubereitete Wildbret homogenisieren zu können, wurde ein Teil der Sauce, welche zum Schmoren des Wildbrets verwendet wurde, dazugegeben. Nach einem Probeversuch stellte sich heraus, dass ein Volumenanteil von einem Drittel Sauce dazugegeben werden musste, um eine Homogenisierung zu ermöglichen. Die Homogenisierung wurde mittels eines für die Fleischverarbeitung handelsüblichen Kutters durchgeführt. Dies ist nicht Teil einer gewöhnlichen küchenmäßigen Zubereitung, wurde aber mit dem Ziel durchgeführt, eine möglichst homogene Masse herzustellen, sodass die Analyse eine zuverlässig Aussage über den Bleigehalt im jeweiligen Teilstück ergab. Die Fütterungsportionen für die Schweine bestanden nach der Homogenisierung zu zwei Drittel aus zubereitetem Wildbret und zu einem Drittel aus Sauce. Das zubereitete Wildbret für die Versuchsgruppe A wurde lediglich angebraten und geschmort. Es lagen somit jeweils Homogenate vom Schulterfleisch, vom Rückenfiletfleisch, vom verzehrsfähigen Fleisch aus Schusskanalnähe und vom Keulenfleisch der bleifrei und bleihaltig erlegten Rehe vor.

### **3.1.3. Bleianalyse im Wildbret**

Die Analyse der Bleigehalte im Wildbret wurde im Bayerischen Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit (LGL), Sachgebiet Chemikaliensicherheit und Toxikologie in München durchgeführt.

Die Proben aus homogenisiertem Wildbret wurden in einem Mikrowellenverfahren (Druckaufschluss) nach DIN EN 13805:2014 (bzw. der damals gültigen DIN EN 13805:2002) aufgeschlossen. Die Einwaage betrug 0,8 g mit 4 ml Salpetersäure (HNO<sub>3</sub>) und 0,5 ml Salzsäure (HCl) (die Säuren werden von wechselnden Herstellern bezogen und am LGL mittels eines hausinternen Verfahrens (Destillation) aufgereinigt, um die benötigte Qualität zu

erhalten). Daraufhin wurden die Bleigehalte mittels ICP-MS (Quadrupol-Gerät, Typ 7700, Fa. Agilent, Waldbronn, Deutschland) bestimmt.

### **3.2. Fütterungsversuch**

#### **3.2.1. Versuchstiere**

Im November und Dezember 2015 wurde ein Fütterungsversuch mit insgesamt 18 Schweinen in Kooperation mit der Universität Rostock, Agrar- und Umweltwissenschaftliche Fakultät, Professur für Ernährungsphysiologie und Tierernährung, in der Versuchsstation Friedrich Harms in Dummerstorf durchgeführt. Die Schweine stammten vom Betrieb Gut Schweinezucht Alt-Gaarz/Blücherhof GmbH & Co. Landwirtschafts KG. Es handelte sich um Dänische Duroc Böрге im Alter von sechs Wochen am Tag der Ankunft. Die Schweine wurden vom Betrieb gegen Circoviren und Mykoplasmen (Kombi-Impfstoff von MSD Tiergesundheit) und gegen Shiga-Toxin geimpft. Bei der Ankunft in der Versuchsstation wurden die Tiere mittels Ohrmarke im rechten Ohr mit einer fortlaufenden Nummer gekennzeichnet.

Folgende Ohrmarkennummern wurden verwendet:

Tiere der Gruppe A: 4751, 4752, 4753, 4754, 4755, 4756, 4757

Tiere der Gruppe B: 4761, 4762, 4763, 4764, 4765, 4766, 4767

Tiere der Kontrollgruppe: 4758, 4759, 4760, 4768

Im Folgenden werden zur Vereinfachung die Tiere der Versuchsgruppe A mit A1-A7, die Tiere der Versuchsgruppe B mit B1-B7 und die Tiere der Kontrollgruppe K mit K1-K4 bezeichnet. Die Zuordnung der Tiere in die Gruppen erfolgte nach Körpermasse, sodass das mittlere Gewicht der Tiere in den Gruppen bei 13,2 bis 13,5 kg lag. Bei der Einstellung wurden die Tiere zur Ermittlung der Körpermasse gewogen (Waage: Defender™ 5000 der Firma Ohaus, Max. 150 kg, Min. 0,4 kg, e=20 g, Greifensee, Schweiz). Die Tiere wurden mehrmals täglich auf ihren Gesundheitszustand hin untersucht. Dabei wurde auf Symptome eines gestörten Allgemeinbefindens geachtet und diese bei Auftreten vermerkt.

#### **3.2.2. Haltung**

Die Aufstallung der Tiere erfolgte in Buchten mit Spaltenboden (Spaltenlänge 8,5 cm, Spaltenbreite 1 cm). Die Buchten wiesen folgende Abmessungen auf: 4 m (Versuchsgruppen A und B) bzw. 2 m (Kontrollgruppe K) in der Länge und 1,20 m in der Breite. Die eigentliche Lauffläche der Schweine befand sich in einer Höhe von 0,85 m (Abbildung 4).

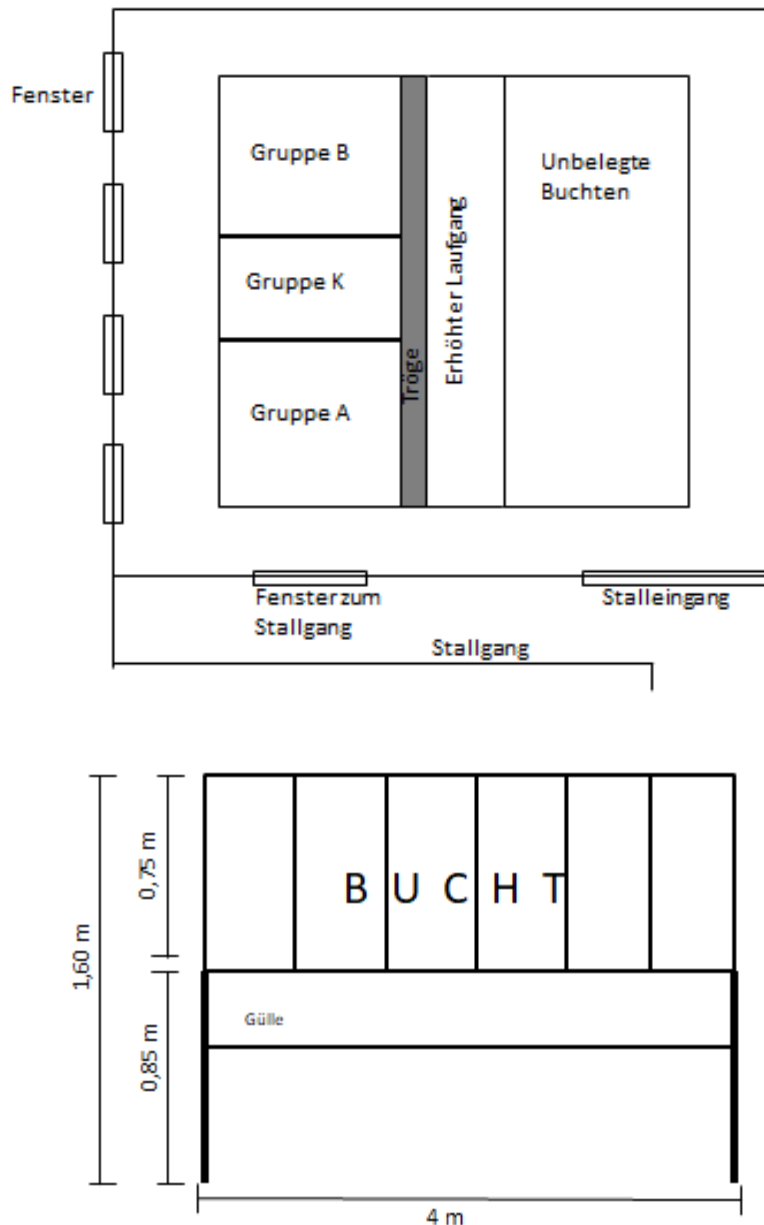


Abbildung 4: Schematische Darstellung des Stalles und der Buchten

In den Buchten der Versuchsgruppen A und B hingen als Beschäftigungsmaterial jeweils zwei Spielzeuge, in der Buchte der Kontrollgruppe K ein Spielzeug der Firma MS Schippers (Kerken, Deutschland) in Kreuzform. Jeden Morgen wurde der Spaltenboden mit Wasser gereinigt. Daraufhin wurden die Tröge kontrolliert und aufgefüllt. Der Stall war mit einem automatischen Beleuchtungssystem ausgestattet. Das Lichtregime war wie folgt eingestellt: Um 06:15 Uhr begann die Morgendämmerungsphase, die sich über 15 Minuten erstreckte. Um 06:30 Uhr war die volle Lichtstärke erreicht. Um 19:00 Uhr begann die Abenddämmerung, die 30 Minuten dauerte, bis um 19:30 Uhr das Licht ganz erlosch. Zudem befanden sich auf einer Stallseite vier Fenster, durch die die Tiere Tageslicht erhielten.

### 3.2.3. Fütterung

Die Tiere erhielten ein Alleinfuttermittel für Ferkel von ca. 15 bis 28 kg Körpermasse. Die Zusammensetzung des Alleinfuttermittels ist Abbildung 5 zu entnehmen.

<p style="text-align: center;"><b>ATR Porco Baby III NDS (12-28 kg LG)</b> <b>Ferkelaufzuchtfutter II.</b> <b>Alleinfutter für Ferkel von ca. 15-28 kg</b></p> <p><b>Analytische Bestandteile und Gehalte:</b> 17,0 % Rohprotein; 3,4 % Rohfett und -öle; 3,4 % Rohfaser; 5,5 % Rohasche, 0,80 % Kalzium; 0,54 % Phosphor; 0,24 % Natrium; 1,27 % Lysin; 0,45 % Methionin; 13,6 MJ ME</p> <p><b>Zusatzstoffe:</b> <b>Ernährungsphysiologische Zusatzstoffe:</b> 1600 I.E. Vitamin A aus E672 Vitamin A; 2000 I.E. Vitamin D3 aus E671 Vitamin D3; 100 mg Vitamin E; 150 mg Eisen aus E1 (Eisen-II-Sulfat 3bE1); 160 mg Kupfer aus E4 (Kupfer-(II)-Sulfat, Pentahydrat); 0,30 mg Selen aus E8 (Natriumselenit), 47 mg Mangan aus E5 (Mangan-(II)-Oxid); 1,25 mg Jod aus E2 (Kalziumjodat, wasserfrei); 101 mg Zink aus E6 (Zinkoxid) <b>Technologische Zusatzstoffe:</b> 0,20 mg BHT (E321), 0,31 mg BHA (Antioxidans) (E320); 0,31 mg Ethoxyquin (E324); Ammoniumpropionat; Zitronensäure (E330); Kalziumformiat (E238); Essigsäure (E260) <b>Zootechnische Zusatzstoffe:</b> 1100 VU Endo-1,4-Beta-Xylanase E4a1604i; 1500 VU Endo-1,3(4)-<math>\beta</math>-Glucanase (3.2.1.6) (E4a1604i); 450 FTU 3-Phytase (EC 3.1.3.8) (E1600) <b>Sensorische Zusatzstoffe:</b> Aromastoff</p> <p>Herstellung am 20.11.2015 Mindestens haltbar bis zum 20.03.2016 Nettomasse: 25 kg</p> <p><b>Zusammensetzung:</b> Weizen, Gerste, Sojaextraktionsschrotfutter<sup>1)</sup>, Extrudiertes Getreide (Keksmehl), Sojaöl, Monokalziumphosphat, Kalziumcarbonat, Süßmolkenpulver, Zuckerrübenmelasse, Viehsalz, Mais, Kartoffeleiweiß, Pflanzenfett (Palm, Sonne, Soja), Sojaproteinkonzentrat<sup>1)</sup></p> <p><sup>1)</sup> Aus genetisch veränderten Sojabohnen hergestellt.</p> <p>Werk Sollerup Sollerup-Mühle, 24852 Sollerup alpha DE SH 00006</p>
--

Abbildung 5: Futtermittelkennzeichnung des verfütterten Alleinfuttermittels

Die Tiere bekamen pro Gruppe täglich 10 kg (Versuchsgruppen A und B) bzw. 5 kg (Kontrollgruppe K) Futter, welches ihnen *ad libitum* zur Verfügung stand und bei Bedarf nachgelegt wurde. Jedem Tier stand ein Trog von 30 cm Länge zur Verfügung. Die beiden äußersten Tröge in den Buchten blieben unbenutzt, da die Tiere dort teilweise hinein koteten. In den Buchten der Versuchsgruppen A und B standen den Tieren elf Nippeltränken, in der Kontrollgruppe K sechs Nippeltränken zur Verfügung. Die Nippeltränken wurden über darüber angebrachte Wasserleitungen versorgt.

Die ersten 14 Tage nach der Ankunft dienten der Eingewöhnung. In dieser Zeit erhielten die Schweine auch einige bleifreie Wildbretportionen, um sich daran zu gewöhnen, Wild zu verzehren. In Tabelle 3 ist der Ablauf der ersten 13 Tage dargestellt.

Tabelle 3: Ablauf der ersten 13 Tage

Datum	Tag	Versuchs- gruppe A	Versuchs- gruppe B	Kontroll- gruppe K
Mi, 25.11.15	-14	Ankunft der Tiere Einteilung der Gruppen	Ankunft der Tiere Einteilung der Gruppen	Ankunft der Tiere Einteilung der Gruppen
Do, 26.11.15	-13	Gewöhnung der Tiere an das Handling Wiegen  Fütterung bleifreier Wildbretportionen zur Gewöhnung an den Tagen -9, -6 und -2		
Fr, 27.11.15	-12			
Sa, 28.11.15	-11			
So, 29.11.15	-10			
Mo, 30.11.15	-9			
Di, 01.12.15	-8			
Mi, 02.12.15	-7			
Do, 03.12.15	-6			
Fr, 04.12.15	-5			
Sa, 05.12.15	-4			
So, 06.12.15	-3			
Mo, 07.12.15	-2			

Gelb kennzeichnet die Zeitpunkte des Wiegens.

Orange kennzeichnet die Zeitpunkte der Fütterung bleifreier Wildbretportionen zur Gewöhnung.

Die erste Wildbretportion erhielten die Schweine nach der Reinigung der Buchten am Morgen des Tages -9. Die Portionen wurden am Abend des Vortages aus der Tiefkühlzelle genommen und bei Raumtemperatur aufgetaut. Jede Gruppe erhielt 100 g pro Tier, bei Versuchsgruppe A und B verteilt auf zwei Steintröge, bei Kontrollgruppe K in einem Steintrog.

An Tag -7 wurde das kommerzielle Futter aus den Trögen genommen und zurückgewogen. In jede Bucht wurde ein Trenngitter eingezogen und die Tiere einzeln herausgenommen und gewogen. Sie wurden nach dem Wiegen auf die andere Seite des Trenngitters zurückgesetzt. Nach dem Säubern der Buchten erhielten die Tiere ihr Futter. Am Abend des Tages -7 wurden die Portionen zur Eingewöhnung für den nächsten Tag aus der Tiefkühlzelle genommen und bei Raumtemperatur aufgetaut. An Tag -6 erhielten die Schweine nach dem Säubern der Buchten das bleifreie Wildbret zur Gewöhnung. Je Tier wurden 200 g (Versuchsgruppe A und Kontrollgruppe K) bzw. 250 g (Versuchsgruppe B) in zwei Steintröge (Versuchsgruppen A und B) bzw. einem Steintrog (Kontrollgruppe K) vorgelegt. An Tag -2 wurden morgens die Tröge geleert und die Rückwaagen des Alleinfuttermittels gruppenweise notiert. Daraufhin wurden die Tiere vereinzelt, indem in die Gruppenbuchten Trennwände eingeschoben wurden. Jedes Tier hatte einen Trog und eine Nippeltränke zur Verfügung. Die Tiere der Versuchsgruppe A und K erhielten je Tier 300 g Wildbretzubereitung. Die Tiere der Versuchsgruppe B erhielten 1000 g je Tier. Nach der Fütterung wurden die Trennwände wieder entfernt und die Buchten gesäubert. In Tabelle 4 sind die Portionsgrößen zur Gewöhnung und am Versuchstag dargestellt.

Tabelle 4: Portionsgröße für die Schweine der Versuchsgruppen A, B und der Kontrollgruppe K zur Gewöhnung an das Wildbret und Portionsgröße am Versuchstag

	<b>Tag -9</b> (zur Gewöhnung)	<b>Tag -6</b> (zur Gewöhnung)	<b>Tag -2</b> (zur Gewöhnung)	<b>Tag 0</b> (Versuchstag)
<b>Versuchsgruppe A</b>	100 g <sup>1)</sup>	200 g <sup>1)</sup>	300 g <sup>1)</sup>	355 g <sup>2)</sup>
<b>Versuchsgruppe B</b>	100 g <sup>1)</sup>	250 g <sup>1)</sup>	1000 g <sup>1)</sup>	1470 g <sup>3)</sup>
<b>Kontrollgruppe K</b>	100 g <sup>1)</sup>	200 g <sup>1)</sup>	300 g <sup>1)</sup>	450 g <sup>1)</sup>

1) mit einem Bleigehalt < 0,02 mg/kg

2) Bleigehalt des Wildbrets 2,17 mg/kg, resultiert bei vollständigem Verzehr in einer Bleiaufnahme von 0,77 mg

3) Bleigehalt des Wildbrets 0,54 mg/kg, resultiert bei vollständigem Verzehr in einer Bleiaufnahme von 0,79 mg

Die unterschiedlichen Portionsgrößen der Versuchsgruppen A und B begründen sich dadurch, dass die ermittelten Bleigehalte im homogenisierten Wildbret unterschiedlich

waren. Für das nicht gebeizte Wildbret der Versuchsgruppe A betrug der Bleigehalt 2,17 mg/kg, für das gebeizte Wildbret der Versuchsgruppe B 0,54 mg/kg. Damit alle Tiere der Versuchsgruppen A und B in etwa die gleiche Menge an Blei aufnehmen, wurde die Portionsgröße entsprechend angepasst, sodass jedes Tier täglich eine Bleimenge von 0,77 bis 0,79 mg Blei aufnahm.

An Tag 0 (Versuchstag) wurden die Tiere morgens vereinzelt. Jedes Tier der Versuchsgruppe A bekam etwa 355 g Wildbret mit einem Bleigehalt von 2,17 mg/kg, was einer täglichen Bleiaufnahme von 0,77 mg entsprach. Jedes Tier der Versuchsgruppe B bekam etwa 1470 g Wildbret mit einem Bleigehalt von 0,54 mg/kg, was einer täglichen Bleiaufnahme von 0,79 mg entsprach. Diese 1470 g wurden auf mehrere Portionen von jeweils etwa 300 bis 350 g aufgeteilt und nachgelegt, wenn der Trog leer war. In der Zwischenzeit wurde das Wildbret im Kühlschrank (+ 4,8°C) aufbewahrt. Die Tiere der Versuchsgruppe B hatten bis abends Zeit, ihre Portion aufzufressen, danach wurden die Tröge geleert und das verbleibende Wildbret zurückgewogen. Die Tiere verblieben bis abends in Einzelhaltung. Die Versuchsgruppe A und die Kontrollgruppe K erhielten nach der Blutentnahme ihr gewöhnliches Futter. Zudem wurden die Tiere gewogen.

#### **3.2.4. Blutentnahme**

An Tag -1 wurde die Nullprobe (NP) genommen, um die Hintergrundkontamination der Tiere mit Blei festzustellen. In jede Bucht wurde ein Trenngitter eingeschoben, um die Tiere nach Wiegen und Blutentnahme auf die andere Seite setzen zu können. Die Tiere wurden aus der Bucht genommen und gewogen. Danach erfolgte die Blutentnahme. Die Tiere wurden dazu durch eine Hilfsperson im Stehen fixiert, der Kopf wurde überstreckt und zeigte Richtung Stalldecke. Die Blutentnahme erfolgte aus der *Vena cava cranialis*. Dazu wurde eine Kanüle (WDT Einmalkanüle 18G x 1 ½; 1,2 x 40 mm, Garbsen, Deutschland) auf eine Einmalspritze (Henry Schein 10 ml Einmalspritze (Luer), Hamburg, Deutschland) aufgesetzt, eingestochen und unter Vakuum Blut entnommen. Das Blut aus der Einmalspritze wurde unverzüglich in ein Lithium-Heparin-Röhrchen (Sarstedt S-Monovette, 7,5 ml Lithium-Heparin 92 x 15 mm für die Metallanalytik, Fa. Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland) umgefüllt und entsprechend der Handhabungshinweise acht- bis zehnmal geschwenkt. Nach der Blutentnahme wurde das Tier in die Bucht zurückgesetzt. Die Blutproben wurden eine Stunde nach der Blutentnahme bei - 21°C tiefgefroren.

In Tabelle 5 sind die Zeitpunkte der Blutentnahmen dargestellt. An Tag 0 erfolgte die Blutentnahme bei allen Tieren zwei Stunden nach Beginn der Fütterung der Wildbretportionen. An den Tagen 1, 2, 3, 5 und 7 erfolgten weitere Blutentnahmen. Das Vorgehen und der Zeitpunkt der Entnahme entsprachen dem der vorangegangenen

Blutentnahme an Tag 0. Die Tage der Blutentnahme wurden mit NP für Nullprobe (Tag -1) und Tag 0, Tag 1, Tag 2, Tag 3, Tag 5 und Tag 7 gekennzeichnet.

Tabelle 5: Versuchsablauf ab Tag -1

Datum	Tag	Versuchsgruppe A	Versuchsgruppe B	Kontrollgruppe K
Di, 08.12.15	-1	Blutentnahme (NP)	Blutentnahme (NP)	Blutentnahme (NP)
Mi, 09.12.15	0	Einzelhaltung Fütterung des Wildbrets Blutentnahme nach 2 h	Einzelhaltung Fütterung des Wildbrets Blutentnahme nach 2 h	Einzelhaltung Fütterung des Wildbrets Blutentnahme nach 2 h
Do, 10.12.15	1	Blutentnahme	Blutentnahme	Blutentnahme
Fr, 11.12.15	2	Blutentnahme	Blutentnahme	Blutentnahme
Sa, 12.12.15	3	Blutentnahme	Blutentnahme	Blutentnahme
So, 13.12.15	4			
Mo, 14.12.15	5	Blutentnahme	Blutentnahme	Blutentnahme
Di, 15.12.15	6			
Mi, 16.12.15	7	Blutentnahme Schlachtung	Blutentnahme Schlachtung	Blutentnahme Schlachtung
Do, 17.12.15	8	Versendung der Proben		

NP = Nullprobe (Tag -1)



Die Schraffur kennzeichnet die Zeitpunkte des Wiegens.



### 3.2.5. Schlachtung

An Tag 7 wurden die Tiere geschlachtet. Die Tiere wurden am Morgen mit einem Transporter in die Schlachthalle des FBN (Leibniz-Institut für Nutztierbiologie) in Dummerstorf gebracht. Die Tiere wurden mittels Elektrozange (Betäubungsanlage der Firma Fuhrmann Elektrotechnik, dazu gehören Betäubungstrafo FBT 2000/03-B/C sowie die Betäubungszange EBZ; Anschaffung im Jahr 2005) betäubt. Zuerst erfolgte die Betäubung durch das Ansetzen der Zange am Hals, nach dem Niedergehen wurde die Zange erneut an Kopf und Brustwand angesetzt (vorgeschriebene Stromstärke 1,3 A mit mindestens 8 Sekunden Dauer). Beim Entbluten wurde eine weitere Blutprobe entnommen. Alle Proben wurden bei  $-21^{\circ}\text{C}$  tiefgefroren. Sämtliche Blutproben wurden an Tag 8 mit Kühllakus in Isolierboxen per Express zur Analyse an das Bayerische Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit (LGL) in München versendet. Die Blutprobenröhrchen wurden in Schutzgefäßen (126 x 30 mm) mit Saugeinlage und Verschluss (Fa. Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland) versendet.

### 3.2.6. Intravenöse Gabe von Bleiacetat

Der Versuch zur Ermittlung der Pharmakokinetik von intravenös verabreichtem Bleiacetat bei Schweinen wurde, wie der bereits vorangegangene Fütterungsversuch, in der Versuchsstation Friedrich Harms in Dummerstorf durchgeführt. Die praktische Durchführung des Versuchs an vier Schweinen begann am 21.03.2017. Die Tiere trugen die Ohrmarken mit den Nummern 7348, 7419, 7424, 7370. Die Tiere wurden über acht Tage in Einzelhaltung gehalten. Pro Tier und Tag wurde 1 kg Futter bereitgestellt. Es wurde das gleiche Futter verwendet wie zuvor im Fütterungsversuch (ATR Porco Baby III NDS, Abbildung 5). Wasser stand *ad libitum* zur Verfügung. Die Tiere hatten zu Beginn des Versuchs eine Körpermasse von  $16,9 \pm 0,4$  kg.

Die Applikation des Blei(II)-acetat Trihydrats (Carl Roth, Reinheit:  $> 99,5$  %, Karlsruhe, Deutschland) erfolgte über die Ohrvene. Hierzu wurden zunächst 65,8 mg Blei(II)-acetat in 250 ml physiologischer Kochsalzlösung gelöst, so dass sich rechnerisch eine Konzentration von 0,26 mg/ml ergab. Es wurde ein Applikationsvolumen von 3 ml gewählt, um jedem Schwein pro intravenöser Gabe 0,79 mg Bleiacetat zu verabreichen. Diese Menge an Bleiacetat war identisch mit der zuvor im Fütterungsversuch oral verabreichten Menge an Blei. Die Applikation erfolgte mit Hilfe einer Einmalkanüle (WDT Einmalkanüle 18G x 1 ½; 1,2 x 40 mm, Garbsen, Deutschland) und einer Einmalspritze (HSW Soft-Ject®, 3 ml, Luer, Tuttlingen, Deutschland). Vor Injektion des Bleiacetats wurde von jedem Tier eine Blutprobe entnommen, die als Nullprobe fungierte und die natürliche Hintergrundbelastung der Tiere mit Blei darstellt. Diese und alle weiteren Blutproben wurden wie im Fütterungsversuch aus

der *Vena cava cranialis* entnommen. Die Entnahme erfolgte mit Hilfe einer Safety-Kanüle für S-Monovetten (Sarstedt, Metallanalytik, 21G x 1 ½, Nümbrecht, Deutschland). Das Blut wurde in den dafür vorgesehenen S-Monovetten (7,5 ml, Lithium-Heparin flüssig; Metall-Analytik, 92x15 mm) aufgefangen und bis zum Versand der Proben bei +7°C im Kühlschrank gelagert. Ausgehend vom Zeitpunkt der Applikation wurden eine Stunde sowie 1, 2, 3, 5 und 7 Tage danach Blutproben entnommen, um den Verlauf der Bleikonzentration im Blut darzustellen. Diese Zeitpunkte waren identisch mit den Entnahmezeitpunkten im Rahmen des Fütterungsversuchs, so dass die Daten vergleichbar sind.

### **3.3. Analytik der Blutproben am LGL München**

Die Analyse der Bleigehalte im Blut der Schweine erfolgte, wie bereits bei den Proben des Wildbrets, im LGL, Sachgebiet Chemikaliensicherheit und Toxikologie in München.

Nach dem Auftauen waren die Blutproben aus dem Fütterungsversuch teilweise erheblich koaguliert. Aus diesem Grund konnte nicht mehr von einer homogenen Verteilung des Bleis in der Probe ausgegangen werden. Die im Labor des LGL validierte Methode für Humanblut wurde in einem ersten Versuch angewandt (1 ml Blut + 2 ml HNO<sub>3</sub> (67 %, LGC Standards GmbH, Nitric acid for trace analysis, Bleigehalt < 0,1 ppb, Wesel, Deutschland), Mikrowellenaufschluss). In einem zweiten Versuch wurde daraufhin das Koagulat vom Blut getrennt, gewogen und auf die gleiche Weise aufgearbeitet. Beim Mikrowellenaufschluss wurde maximal 1 ml Blut eingesetzt, weshalb die Blutprobe homogen sein musste.

Mit Humanblut wurde eine Aufarbeitungsmethode entwickelt, mit der sich das Blut bei Koagulation der Proben homogenisieren ließ. Dazu wurde die koagulierte Blutprobe der Schweine mit der doppelten Menge HNO<sub>3</sub> vermischt und über mehrere Stunden bei Raumtemperatur behandelt, da sich im ersten und zweiten Versuch deutliche Unterschiede im Bleigehalt zwischen flüssigem und koaguliertem Blut zeigten. Von dieser Lösung wurden 3 ml entnommen und in einem Mikrowellenverfahren aufgeschlossen. Die weitere Vorgehensweise entspricht der im LGL angewandten und validierten Methode.

Bei Schwein A1 wurde der Aufschluss dreimal wiederholt, allerdings standen nur noch die Reste des Probenmaterials der ersten Versuche zur Verfügung. Für die einzelnen Blutproben lagen die relativen Standardabweichungen bei drei Aufschlüssen nach dieser neuen Methode zwischen 1 und 13 %. Die restlichen Blutproben wurden nach dieser Methode behandelt und jeweils zwei Mikrowellenaufschlüsse durchgeführt. Jeder Aufschluss wurde jeweils zweimal mittels ICP-MS analysiert. Für das häufigste Bleisotop <sup>208</sup>Pb lag das Detektionslimit des ICP-MS bei 0,002 µg/l. Für die anderen Bleisotope lag das Detektionslimit noch darunter. Es konnte keine Bestimmungsgrenze in der Matrix Blut ermittelt werden, da keine Analyt-freie Matrix zur Verfügung stand. Für sogenannte

„Reinigungs-Aufschlüsse“ zwischen den einzelnen Probe-Aufschlüssen wurde ein Gemisch aus Wasser/HNO<sub>3</sub> (1 ml hochreines Wasser, Merck Milli-Q Integral 3 Water Purification System, Fa. Merck, Darmstadt, Deutschland und 2 ml konz. HNO<sub>3</sub>, 67 %, LGC Standards GmbH, Nitric acid for trace analysis, Bleigehalt < 0,1 ppb, Wesel, Deutschland) verwendet. In dieser Matrix lag der gemessene Leerwert (Blindwert) von Blei bei 0,004 (± 0,05) µg/l. Hieraus konnte eine Bestimmungsgrenze der eingesetzten analytischen Methode von 0,5 µg/l abgeleitet werden.

Als interner Standard für die Aufarbeitung wurde vor dem Mikrowellenaufschluss 0,1 µg Rhodium (100 µl Rhodiumlösung mit einer Konzentration von 1 mg/l, PerkinElmer Pure Plus Atomic Spectroscopy Standard, Waltham, Massachusetts, USA, 10 mg/l in 2 % HCl) hinzugefügt und der Aufschluss erfolgte in 30 ml Quarzgefäßen. Zur Qualitätskontrolle wurde mehrere Male eine Vollblut-Kontrolle (ClinChek-Control Level I, Fa. RECIPE, München, Deutschland) aufgeschlossen. Bei 18 Wiederholungen lagen die Wiederfindungsraten für Blei bei 88 ± 9 %.

Als interner Standard für die ICP-MS-Analyse wurde den aufgeschlossenen Blutproben 0,1 µg Rhenium (Inorganic Ventures, 1000 µg/ml in 3 % HNO<sub>3</sub>, Christiansburg, Virginia, USA, 100 µl Rheniumlösung mit einer Konzentration von 1 mg/l) zugegeben. Dies wurde auf 10 ml mit hochreinem Wasser aufgefüllt. Mehrmals täglich wurden zur Qualitätskontrolle ein NIST-Referenzmaterial (NIST 1640A) und eine zertifizierte Wasser-Kontrollprobe (SPS-SW1, Fa. Spectrapure Standards AS, Oslo, Norwegen) untersucht. Bei 134 Messungen lagen die Wiederfindungsraten bei 96 ± 3 %.

Für die Blutproben aus dem Versuch mit der intravenösen Bleiapplikation lagen die Wiederfindungsraten bei 102 ± 2 % bei 22 Messungen.

### 3.4. Statistik

Aus den jeweils zwei Mikrowellenaufschlüssen und den darauf folgenden je zwei Messungen mittels ICP-MS wurde der Mittelwert gebildet. Die statistische Auswertung der Daten aus dem Fütterungsversuch erfolgte mit dem Programmpaket RStudio Version 3.4.0 (2017-04-21, R Core Team). Für die Auswertung mit R wurden die Ergebnisse in Excel-Tabellen als .csv Datei gespeichert und in R geladen.

Da für die Ergebnisse keine Normalverteilungsannahmen getroffen werden können, wurden für die statistische Auswertung nichtparametrische Tests verwendet. Die empirische Strategie umfasste den Vergleich der Differenzen der Blutbleigehalte zwischen Nullprobe und den Tagen 0, 1, 2, 3, 5 und 7. Hierfür wurde ein Kruskal-Wallis-Test mit den Gruppen A, B und der Kontrollgruppe durchgeführt. Dieser testet, ob signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen bestehen. Für die statistische Auswertung lautete die Nullhypothese H<sub>0</sub>, dass

sich die Veränderung der Bleikonzentrationen im Blut zwischen den Gruppen nicht unterscheidet. Die Alternativhypothese  $H_1$  lautete, dass sich die Veränderung der Bleikonzentrationen im Blut zwischen den Gruppen unterscheidet. Ein Ergebnis wurde als signifikant gewertet, sobald der p-Wert  $\leq 0,05$  war.

Wenn es nach dem Kruskal-Wallis-Test Evidenz für signifikante Unterschiede gab, wurden im Anschluss paarweise Vergleiche mittels eines Post-hoc-Tests durchgeführt. Hier wurde als Post-hoc-Test der Dunn's Test angewendet. Bei diesem Test zeigte sich, welche Gruppen sich statistisch signifikant voneinander unterschieden. Für die Tage 5 und 7 wurde kein Dunn's Test durchgeführt, da für diese Tage kein abgesicherter Unterschied vorlag. Hierfür mussten im Programm RStudio die Packages „Dunn.test“ und „FNA“ installiert werden.

Für die Auswertung der Daten aus dem Versuch der intravenösen Bleiapplikation wurde die Fläche unter der Kurve (AUC) mit Hilfe der linearen Trapezmethode berechnet (Yeh und Kwan, 1978; Rescigno, 2000; Toutain und Bousquet-Mélou, 2004a, 2004b). Hierbei wird zwischen den gemessenen Zeitpunkten linear interpoliert und die Flächen der einzelnen Trapeze summiert:

$$AUC = \sum_{n=1}^N \frac{C_n + C_{n+1}}{2} (t_{n+1} - t_n)$$

Die absolute Bioverfügbarkeit  $f$  berechnet sich aus der dosisabhängigen AUC nach oraler Gabe von Blei in Form der Wildbretportionen, dividiert durch die dosisabhängige AUC nach intravenöser Applikation von Bleiacetat:

$$f = \frac{AUC_{post\ oral} * Dosis_{i.v.}}{AUC_{i.v.} * Dosis_{post\ oral}} * 100$$

Signifikante Unterschiede zwischen den Bleikonzentrationen im Blut hinsichtlich der unterschiedlichen Zubereitungsarten des Wildbrets wurden mit Hilfe des Statistikprogramms IBM SPSS Statistics 21 untersucht. Zunächst wurde die Normalverteilung der Daten anhand des Kolmogorov-Smirnov-Tests geprüft, um im Anschluss Unterschiede mit Hilfe eines T-Tests darstellen zu können. Das Signifikanzniveau lag bei  $p \leq 0,05$ . Unterschiede wurden untersucht in Bezug auf die Fütterungsgruppen (Gruppe), den zeitlichen Verlauf der Bleigehalte im Blut (Zeit), sowie hinsichtlich der Interaktion Gruppe\*Zeit. Die Ergebnisse sind in Form von Mittelwerten  $\pm$  Standardabweichung dargestellt.

Alle Grafiken wurden mit der Software Microsoft Office Excel 2010 angefertigt.

## 4. Ergebnisse

### 4.1. Ergebnisse der Wildbretgewinnung und -zubereitung

#### 4.1.1. Einfluss der wildbrethygienischen Versorgung auf die zu verfütternden Wildbretportionen

Nach 48-stündigem Auftauen der Rehe bei Zimmertemperatur (+ 20°C) wurden die Tiere gewogen und Fotos von Ein- und Ausschuss sowie vom Verlauf des Schusskanals angefertigt. Dazu wurde der Schusskanal mittels einer Aluminiumstange nachvollzogen und dies fotografisch dokumentiert. Etwaige Abweichungen von den Angaben im Probenbegleitschein wurden vermerkt. Von den aus der Decke geschlagenen Rehen wurden erneut Fotos von Ein- und Ausschuss sowie vom Verlauf des Schusskanals gemacht. Auf diesen Fotos wurde oftmals das Ausmaß der Zerstörung des Gewebes durch den Schuss deutlich.

Nach der Zerlegung wurden ebenfalls Fotos angefertigt. Von jedem Reh wurden folgende Teilstücke entnommen: Schulterfleisch (je nach Trefferlage wurde dieses Fleisch komplett oder zum Teil zu verzehrfähigem Fleisch aus Schusskanalnähe gezählt), Rückenfiletfleisch (je nach Trefferlage wurde dieses Fleisch komplett oder zum Teil zu verzehrfähigem Fleisch aus Schusskanalnähe gezählt), verzehrfähiges Fleisch aus Schusskanalnähe und Keulenfleisch. Mit Ausnahme des Rückenfiletfleisches wurden alle Teilstücke im weiteren Verlauf zubereitet, da die Menge des Rückenfilets nicht ausreichend für eine Fütterungsportion gewesen wäre. Das Wildbret wurde so behandelt und in verzehrs- und verkehrsfähige Portionen abgepackt wie es der Verbraucher auch im Handel erhält.

#### 4.1.2. Einfluss der küchenmäßigen Zubereitung auf die Fleischbeschaffenheit und Ergebnisse der Analyse der Bleigehalte im Wildbret

Vor der Zubereitung wurde der pH-Wert des Wildbrets gemessen. Da im anschließenden Fütterungsversuch nur das verzehrfähige Fleisch aus Schusskanalnähe verwendet wird, wird im Folgenden nur auf die Ergebnisse für dieses Fleisch eingegangen.

Für das verzehrfähige Fleisch aus Schusskanalnähe lag der mittlere pH-Wert in den Fleischportionen für Versuchsgruppe A bei 5,74 im rohen Fleisch. Nach dem Schmoren betrug der pH-Wert 6,40. Für das verzehrfähige Fleisch aus Schusskanalnähe für Versuchsgruppe B lag der mittlere pH-Wert bei 6,59 im rohen Fleisch. Der pH-Wert der Beize betrug vor dem Einlegen des Fleisches 4,15 und nach dem Einlegen des Fleisches 4,60. Der pH-Wert des Fleisches nach dem Beizen (roh) betrug 5,24 und nach dem Schmoren 5,66. Der pH-Wert des zubereiteten Wildbrets ist bei Versuchsgruppe B aufgrund des vorherigen Beizens mit 5,66 deutlich niedriger als bei Versuchsgruppe A mit 6,40. In

Tabelle 6 sind die Ergebnisse der pH-Wert-Messung im Wildbret dargestellt. Für das Wildbret der Versuchsgruppe B zeigt sich ein Abfall des pH-Werts nach der Behandlung mit einer sauren Beize.

Tabelle 6: Ergebnisse der pH-Wert-Messung im rohen und zubereiteten Wildbret

pH-Wert	Versuchsgruppe A	Versuchsgruppe B
<b>Schusskanal</b>		
roh	5,74	6,59
zubereitet	6,40	5,66
<b>Rücken</b>		
roh	5,70	6,45
zubereitet	6,64	5,51
<b>Schulter</b>		
roh	5,99	6,61
zubereitet	6,75	5,70
<b>Keule</b>		
roh	5,92	6,45
zubereitet	6,73	5,45

Aus dem homogenisierten Wildbret wurden 100 g zur Analyse entnommen. Für die Eingewöhnungsphase wurde aus bleifrei erlegten Rehen das Keulenfleisch analysiert. Dazu wurden drei Proben aus gebratenem und gebeiztem Keulenfleisch und eine Probe aus gebratenem und nicht gebeiztem Keulenfleisch analysiert. Für die Versuchsphase wurde für die Versuchsgruppe A jeweils eine Probe von bleihaltig erlegten Rehen aus Schusskanalnähe, Rücken, Schulter und Keule analysiert. Dieses Fleisch wurde zuvor gebraten und nicht gebeizt. Für die Versuchsphase wurde für die Versuchsgruppe B jeweils eine Probe von bleihaltig erlegten Rehen aus Schusskanalnähe, Rücken, Schulter und Keule analysiert. Dieses Fleisch wurde zuvor gebraten und gebeizt. Für die Versuchsphase wurde für die Kontrollgruppe K eine Probe von bleifrei erlegten Rehen aus dem Rücken analysiert. Dieses Fleisch wurde zuvor gebraten und gebeizt.

Tabelle 7: Ergebnisse der Analyse der Wildbretzubereitungen

	<b>Bleigehalt (mg/kg)</b>
<b>Zubereitung für Versuchsgruppe A (Versuchsphase)</b>	
Schusskanal, bleihaltig, gebraten, nicht gebeizt	2,17
Rücken, bleihaltig, gebraten, nicht gebeizt	< 0,02
Schulter, bleihaltig, gebraten, nicht gebeizt	< 0,02
Keule, bleihaltig, gebraten, nicht gebeizt	< 0,02
<b>Zubereitung für Versuchsgruppe B (Versuchsphase)</b>	
Schusskanal, bleihaltig, gebraten und gebeizt	0,54
Rücken, bleihaltig, gebraten und gebeizt	< 0,02
Schulter, bleihaltig, gebraten und gebeizt	< 0,02
Keule, bleihaltig, gebraten und gebeizt	0,21
<b>Zubereitung für Kontrollgruppe K (Versuchsphase)</b>	
Rücken, bleifrei, gebraten und gebeizt	< 0,02
<b>Zubereitung für die Eingewöhnungsphase</b>	
Keule-1, bleifrei, gebraten und gebeizt	0,024
Keule-2, bleifrei, gebraten und gebeizt	0,031
Keule-3, bleifrei, gebraten und gebeizt	0,029
Keule, bleifrei, gebraten, nicht gebeizt	< 0,02

Tabelle 7 zeigt, dass das schusskanalnahe Fleisch der bleihaltig erlegten Rehe die höchsten Bleigehalte aufweist. Das nicht gebeizte Fleisch für die Versuchsgruppe A hat den höchsten Bleigehalt mit 2,17 mg/kg. Den zweithöchsten Gehalt zeigt das gebratene und gebeizte Fleisch für Versuchsgruppe B mit 0,54 mg/kg. Die Bleigehalte in den Proben für Rücken, Schulter und Keule waren deutlich niedriger (0,21 bzw. < 0,02 mg/kg), so dass für die Wildbretportion an Tag 0 nur schusskanalnahes Fleisch verwendet wurde.

Das für die Eingewöhnung verwendete Fleisch (gebratenes, nicht gebeiztes Keulenfleisch von bleifrei erlegten Rehen für Versuchsgruppe A bzw. gebratenes, gebeiztes Rückenfleisch von bleifrei erlegten Rehen für Versuchsgruppe B) wies einen Bleigehalt von < 0,02 mg/kg auf.

Am Versuchstag (Tag 0) wurde den Tieren der Versuchsgruppen A und B jeweils das schusskanalnahe Fleisch gefüttert, welches von Rehen stammte, die mit bleihaltiger Munition

erlegt worden waren. Die Kontrollgruppe erhielt, wie schon in der Eingewöhnung, gebratenes, gebeiztes Rückenfleisch, welches von Rehen stammte, die mit bleifreier Munition erlegt worden waren.

## 4.2. Ergebnisse des Fütterungsversuchs mit Schweinen

### 4.2.1. Körpermasse und Tageszunahmen

Die mittlere Körpermasse der Schweine lag am Tag der Ankunft zwischen 13,3 und 13,5 kg. Am Versuchsende lag die mittlere Körpermasse bei 27,8 kg in der Versuchsgruppe A und der Kontrollgruppe K und bei 27,3 kg in Versuchsgruppe B. Die Schweine der Versuchsgruppe A nahmen während des Versuchs 14,4 kg zu, die Schweine der Versuchsgruppe B 13,8 kg und die Schweine der Kontrollgruppe 14,5 kg. Die mittlere Tageszunahme betrug damit 655 g/Tag in Versuchsgruppe A, 630 g/Tag in Versuchsgruppe B und 660 g/Tag in der Kontrollgruppe. Damit unterschied sie sich nicht zwischen den Gruppen. Die Entwicklung der mittleren Körpermasse der Versuchsgruppen A, B und der Kontrollgruppe K über den Versuchszeitraum ist in Tabelle 8 dargestellt.

Tabelle 8: Entwicklung der mittleren Körpermasse je Gruppe in kg: Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) und Standardabweichungen (SD)

Zeitpunkt	$\bar{x}$ der Körpermasse $\pm$ SD		
	Versuchsgruppe A (in kg)	Versuchsgruppe B (in kg)	Kontrollgruppe K (in kg)
25.11.2015	13,4 $\pm$ 0,75	13,5 $\pm$ 0,50	13,3 $\pm$ 0,67
02.12.2015	16,6 $\pm$ 1,12	16,6 $\pm$ 1,32	16,7 $\pm$ 1,55
08.12.2015	21,8 $\pm$ 1,56	20,9 $\pm$ 1,58	21,2 $\pm$ 1,91
09.12.2015	21,9 $\pm$ 1,72	21,2 $\pm$ 1,80	21,8 $\pm$ 2,03
10.12.2015	23,1 $\pm$ 1,72	22,8 $\pm$ 1,55	22,7 $\pm$ 2,04
11.12.2015	24,3 $\pm$ 1,73	23,9 $\pm$ 1,67	23,9 $\pm$ 2,06
12.12.2015	25,1 $\pm$ 1,90	24,6 $\pm$ 1,68	24,9 $\pm$ 2,28
14.12.2015	26,9 $\pm$ 1,78	26,4 $\pm$ 1,58	26,7 $\pm$ 2,49
16.12.2015	27,8 $\pm$ 1,95	27,3 $\pm$ 1,45	27,8 $\pm$ 2,49

Im Anhang sind die Einzeldaten der Körpermassen aller Versuchsschweine aufgeführt.



#### 4.2.2. Tiergesundheit

Während der Eingewöhnungsphase und des Fütterungsversuchs wurden bei den Schweinen weder in den Versuchsgruppen A und B noch in der Kontrollgruppe negative gesundheitliche Effekte beobachtet. Die Tiere wurden täglich auf ihren Gesundheitszustand hin untersucht und zeigten keine Verhaltensauffälligkeiten innerhalb der Gruppen. Die Bleiaufnahme ergibt sich aus dem Bleigehalt und der Menge des verfütterten Wildbrets und lag mit etwa 0,77 mg (Versuchsgruppe A) bzw. 0,65 mg (Versuchsgruppe B unter Berücksichtigung der Rückwaage, siehe auch Kapitel 4.2.3) am Versuchstag deutlich niedriger als die Dosis, bei der akute Symptome hätten auftreten können. Gesundheitliche Effekte von Blei werden im Allgemeinen nicht nach einer einmaligen Exposition erwartet und die oralen LD<sub>50</sub>-Werte für Bleisalze liegen bei über 2000 mg/kg KM und die niedrigsten tödlichen Dosen beim Tier, die nach mehrmaliger oraler Kurzzeitexposition gegenüber Bleiacetat, Bleichlorat, Bleinitrat, Bleioleat, Bleioxid oder Bleisulfat beobachtet wurden, liegen zwischen 300 und 4000 mg/kg Körpermasse (WHO, 2000; EFSA, 2010).

#### 4.2.3. Wildbret- und Bleiaufnahme

##### Akzeptanz und Verzehr der Wildbretportionen in der Eingewöhnungsphase (Tag -9 bis -1)

An Tag -9 verzehrten die Tiere der Versuchsgruppe B ihren Anteil innerhalb von zehn Minuten, die Tiere der Versuchsgruppe A und der Kontrollgruppe K innerhalb von 20 bzw. 30 Minuten. An Tag -6 hatten die Tiere der Versuchsgruppe A ihre Wildbretportion innerhalb von zehn Minuten verzehrt, die Tiere der Versuchsgruppe B und der Kontrollgruppe K innerhalb von 15 Minuten. Es fiel auf, dass die Tiere der Versuchsgruppe B (gebeiztes Wildbret) nach der Aufnahme des Wildbrets sofort an die Nippeltränken gingen und durstig waren. An Tag -2 hatten alle Tiere der Versuchsgruppe A nach 15 Minuten ihre Portion aufgefressen. Zwei Tiere der Kontrollgruppe K brauchten 30 Minuten, die anderen beiden Tiere ebenfalls 15 Minuten, um ihre Portion zu fressen. Die Portion der Versuchsgruppe B (1000 g) wurde in drei Teile aufgeteilt und jeweils nachgelegt, wenn der Teil zuvor aufgefressen war. Für die insgesamt 1000 g hatten die Schweine der Versuchsgruppe B zwei Stunden Zeit. Nach den zwei Stunden blieben pro Tier zwischen 200 und 500 g Wildbret übrig, welches verworfen wurde.

##### Akzeptanz und Verzehr der Wildbretportionen am Versuchstag (Tag 0)

An Tag 0 (Versuchstag) hatten die Tiere der Versuchsgruppe A und der Kontrollgruppe K ihre Portionen nach 20 Minuten aufgefressen (bis auf ein Tier, welches erst nach vier Stunden aufgefressen hatte). Die Wildbretportionen wurden nachgelegt, sobald der Trog leer gefressen war. Die Schweine der Versuchsgruppe A erhielten ca. 357 g Wildbret, die

Schweine der Versuchsgruppe B ca. 1471 g und die Schweine der Kontrollgruppe 450 g. Tabelle 9 zeigt, dass die Schweine der Versuchsgruppe A und der Kontrollgruppe die Wildbretportion vollständig aufgefressen haben. Bei ihnen betrug die Rückwaage 0 g. In Versuchsgruppe B hat lediglich das Schwein B4 die vollständige Portion gefressen, die anderen Schweine ließen im Mittel 308 g in den Trögen zurück (Maximum 740 g bei Schwein B6). Die Portionsgröße für die Schweine der Versuchsgruppe B scheint in der gegebenen Zeit nicht verzehrbar gewesen zu sein.

Tabelle 9: Ein- und Rückwaage der Wildbretportionen am Versuchstag (Tag 0)

<b>Tier</b>	<b>Einwaage (in g)</b>	<b>Rückwaage (in g)</b>
A1	357	0
A2	356	0
A3	359	0
A4	357	0
A5	356	0
A6	358	0
A7	355	0
B1	1471	207
B2	1470	166
B3	1470	85
B4	1471	0
B5	1470	301
B6	1474	740
B7	1471	348
K1	450	0
K2	450	0
K3	450	0
K4	450	0

#### Bleiaufnahme nach Verzehr der Wildbretportion am Versuchstag

Entsprechend der ermittelten Rückwaagen lässt sich für die Einzeltiere die aufgenommene Menge Wildbret und somit die mit dem Wildbret aufgenommene Menge Blei ermitteln (Tabelle 10). Im Mittel haben alle Schweine der Versuchsgruppe A ca. 0,77 mg Blei und die Schweine der Versuchsgruppe B ca. 0,65 mg Blei aufgenommen. Entsprechend der geringen Wildbretaufnahme von 734 g hat Schwein B6 lediglich ca. 0,40 mg Blei

aufgenommen. Ohne Schwein B6 hat die Versuchsgruppe B im Mittel ca. 0,69 mg Blei aufgenommen.

Tabelle 10: Wildbret- und Bleiaufnahme der Einzeltiere

<b>Tier</b>	<b>Aufnahme Wildbret an Tag 0 (in g)</b>	<b>Bleiaufnahme an Tag 0 (in mg)</b>
A1	357	0,77
A2	356	0,77
A3	359	0,78
A4	357	0,78
A5	356	0,77
A6	358	0,78
A7	355	0,77
B1	1264	0,68
B2	1304	0,70
B3	1385	0,75
B4	1471	0,79
B5	1169	0,63
B6	734	0,40
B7	1123	0,61
K1	450	0
K2	450	0
K3	450	0
K4	450	0

#### **4.2.4. Bleikonzentrationen im Blut der Schweine nach Aufnahme der bleihaltigen Wildbretportion**

In Abbildung 6 ist ersichtlich, dass bereits die Nullprobe der Tiere der Versuchsgruppe A an Tag -1 messbare Bleikonzentrationen im Blut aufweist.

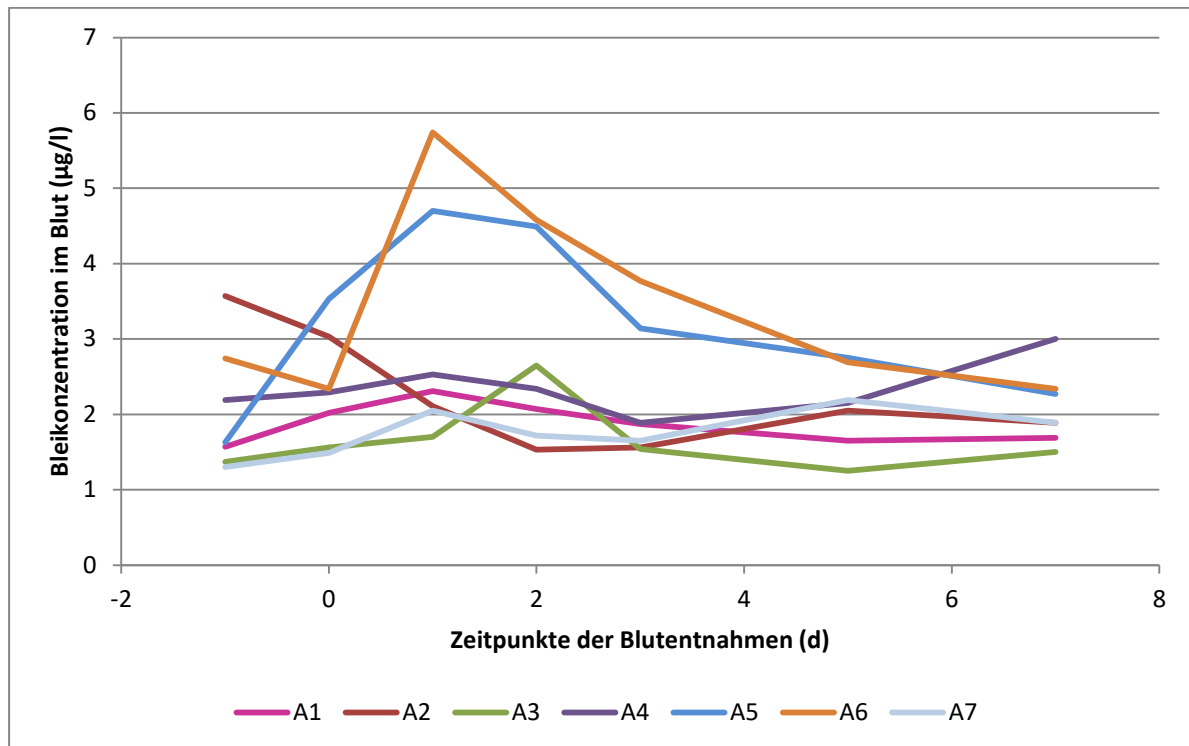


Abbildung 6: Mittlere Bleikonzentrationen im Blut der Schweine der Versuchsgruppe A grafisch dargestellt

Am Versuchstag 0 (Fütterung der bleihaltigen Wildbretportion) steigen die Bleikonzentrationen im Blut von fünf Schweinen an. Bei den Schweinen A2 und A6 fällt dagegen die Bleikonzentration im Blut an Tag 0 ab. Das Maximum liegt bei 3,53 µg/l bei Schwein A5, das Minimum bei 1,49 µg/l bei Schwein A7. Bei einigen Tieren steigt die Bleikonzentration im Blut auch am Tag 1 (wieder handelsübliches Alleinfuttermittel) weiter (bis auf Schwein A2). Den deutlichsten Anstieg der Bleikonzentration zeigen die Schweine A5 und A6. Das Maximum liegt bei 5,74 µg/l (Schwein A6) und das Minimum bei 1,7 µg/l (Schwein A3). Das Tier A2 zeigt an diesem Tag einen Abfall der Bleikonzentration im Blut von 3,03 µg/l (Tag 0) auf 2,11 µg/l (Tag 1). Ab Tag 2 sinken die Bleikonzentrationen im Blut der Schweine wieder ab (bis auf Schwein A3). Die maximale Bleikonzentration beträgt 4,58 µg/l (Schwein A5) und die minimale 1,53 µg/l (Schwein A2). An Tag 3 kann ein weiterer Abfall der Bleikonzentrationen im Blut beobachtet werden, wobei Schwein A2 eine leichte Erhöhung von 1,53 µg/l (Tag 2) auf 1,56 µg/l (Tag 3) zeigt.

Die Bleikonzentrationen im Blut sinken an den weiteren Versuchstagen weiter ab bis auf die Versuchstiere A2, A4 und A7 an Tag 5, die Versuchstiere A1 und A3 an Tag 7. Die maximale Bleikonzentration im Blut beträgt am letzten Tag (Tag 7) 3,0 µg/l (Schwein A4) und die minimale Bleikonzentration 1,5 µg/l (Schwein A3).

Die Tiere der Versuchsgruppe A haben ihre Wildbretportion am Versuchstag vollständig aufgefressen. Somit hat jedes Schwein dieser Gruppe ca. 0,77 mg Blei aufgenommen.

Nichtsdestotrotz zeigen sich zwischen den Tieren deutliche Unterschiede im Verlauf der Bleikonzentrationen.

Die Abbildung 7 zeigt, dass die Nullprobe der Tiere der Versuchsgruppe B an Tag -1 ebenso wie die Nullprobe der Tiere der Versuchsgruppe A messbare Bleikonzentrationen im Blut aufweist.

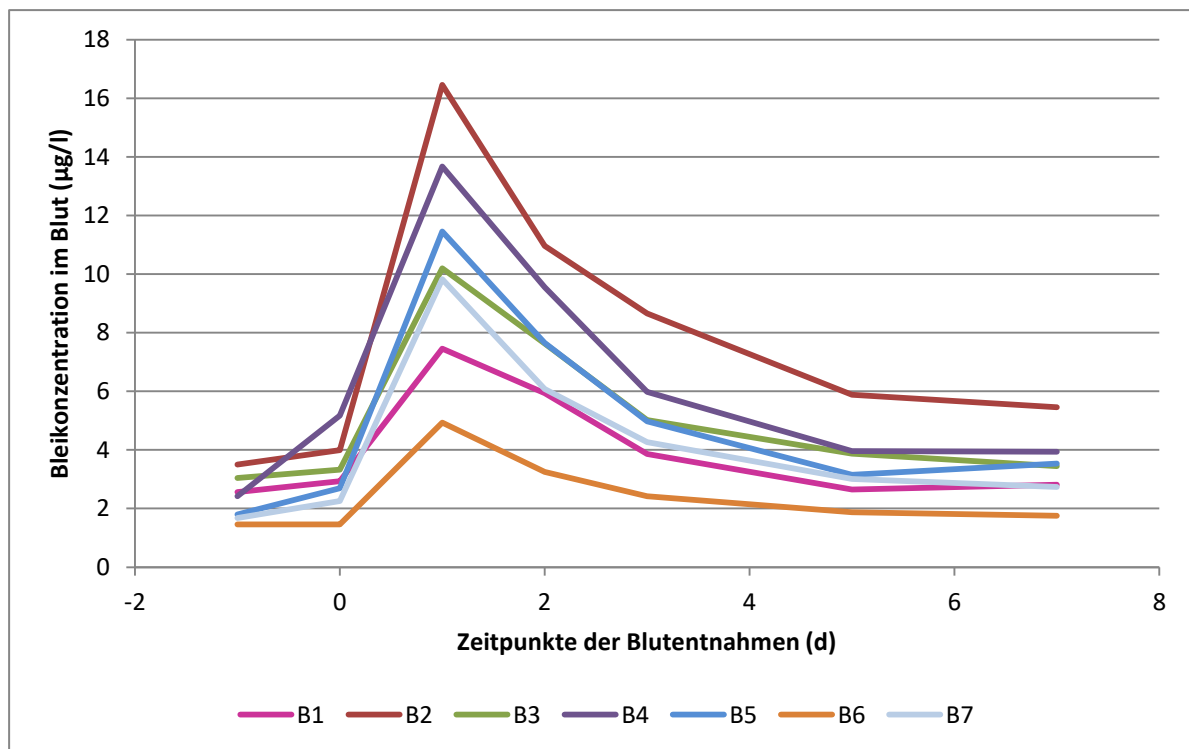


Abbildung 7: Mittlere Bleikonzentrationen im Blut der Schweine der Versuchsgruppe B grafisch dargestellt

Die maximale Bleikonzentration der Nullprobe liegt bei 3,50 µg/l für Schwein B2 und die minimale Bleikonzentration bei 1,46 µg/l für Schwein B6.

Am Versuchstag 0 (Fütterung der bleihaltigen Wildbretportion) steigen die Bleikonzentrationen im Blut der Schweine. Eine Ausnahme bildet Schwein B6, bei welchem die Bleikonzentration im Blut im Vergleich zum Vortag mit 1,46 µg/l konstant bleibt. Mit dieser Konzentration hat Schwein B6 für diesen Tag die minimale Bleikonzentration im Blut, während Schwein B4 mit 5,17 µg/l die maximale Bleikonzentration im Blut aufweist. An Tag 1 steigt die Bleikonzentration im Blut bei allen Schweinen weiter an. Die maximale Bleikonzentration für diesen Tag und für den gesamten Versuch beträgt 16,45 µg/l (Schwein B2), die minimale Bleikonzentration liegt mit 4,93 µg/l bei Schwein B6. Ab Tag 2 sinken die Bleikonzentrationen im Blut aller Schweine wieder ab. Schwein B2 weist weiterhin die maximale Bleikonzentration mit 10,96 µg/l auf und Schwein B6 weiterhin die minimale Bleikonzentration mit 3,25 µg/l.

Die Bleikonzentrationen im Blut sinken im Verlauf der Versuchsphase an den Tagen 3, 5 und 7 weiter stetig ab. Eine Ausnahme bilden die Schweine B1 und B5, deren Bleikonzentrationen im Blut an Tag 7 nochmals geringfügig ansteigen. Am letzten Versuchstag (Tag 7) liegt die maximale Bleikonzentration im Blut bei 5,46 µg/l (Schwein B2) und die minimale Bleikonzentration weiterhin bei Schwein B6 mit 1,75 µg/l.

Im Vergleich zu Versuchsgruppe A, haben einige Schweine der Versuchsgruppe B ihre Wildbretportion am Versuchstag nicht vollständig aufgefressen (Tabelle 9). Die Schweine der Versuchsgruppe B haben im Mittel nur etwa 0,65 mg Blei/Tag aufgenommen. Das Schwein B6 hatte am wenigsten gefressen und somit nur eine Bleiaufnahme von ca. 0,40 mg. Es zeigen sich deutliche tierindividuelle Unterschiede im Verlauf der Bleikonzentrationen im Blut. Die Bleiaufnahme scheint nicht in allen Fällen mit einem Anstieg der Bleikonzentration im Blut einherzugehen.

Im Vergleich zu Versuchsgruppe A zeigen alle Schweine der Versuchsgruppe B nach Aufnahme der Wildbretportion am Versuchstag 0 einen Anstieg der Bleikonzentrationen im Blut an Tag 1. Die maximale Bleikonzentration im Blut der Tiere in Versuchsgruppe B ist an Tag 1 um das ca. dreifache höher (16,45 µg/l) verglichen mit den maximalen Bleikonzentrationen im Blut der Tiere der Versuchsgruppe A (5,74 µg/l). Die Bleikonzentrationen im Blut der Tiere in Versuchsgruppe B sind generell numerisch höher als die Bleikonzentrationen im Blut der Tiere in Versuchsgruppe A.

In Abbildung 8 sind die mittleren Bleikonzentrationen im Blut der Schweine der Kontrollgruppe K grafisch dargestellt.

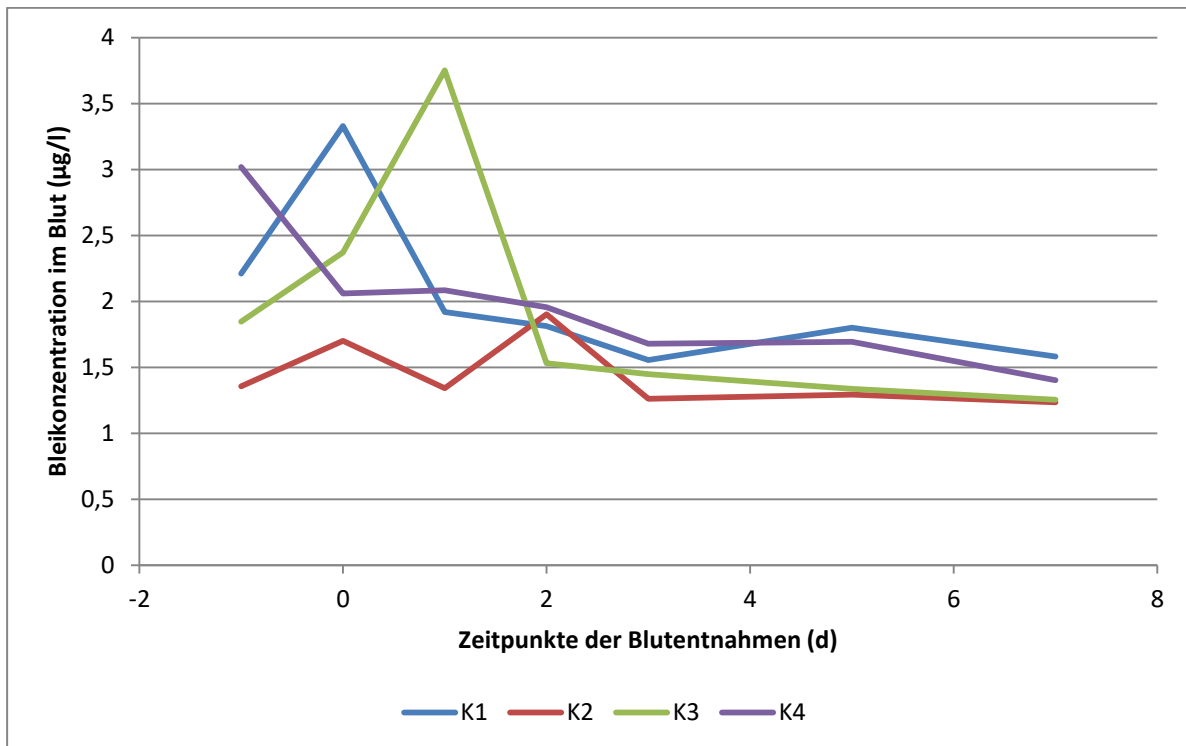


Abbildung 8: Mittlere Bleikonzentrationen im Blut der Schweine der Kontrollgruppe K grafisch dargestellt

Die Abbildung zeigt, dass die Nullprobe der Tiere der Kontrollgruppe K an Tag -1 ebenso wie die Nullprobe der Tiere der Versuchsgruppen A und B messbare Bleikonzentrationen im Blut aufweist. Schwein K4 weist dabei die höchste Bleikonzentration mit 3,02 µg/l auf. Danach zeigt sich bei den weiteren Blutproben ein unregelmäßiges Verhalten der Bleikonzentrationen im Blut. Die Bleikonzentrationen im Blut steigen und sinken individuell für die Tiere der Kontrollgruppe K. Das Maximum der Bleikonzentration im Blut wird an Tag 1 bei Schwein K3 mit 3,75 µg/l erreicht. Am letzten Tag der Blutentnahme (Tag 7) weisen die Schweine der Kontrollgruppe niedrigere Werte auf als die Schweine der Versuchsgruppen A und B. Im Vergleich zu den Versuchsgruppen A und B sind die ermittelten Bleikonzentrationen im Blut der Kontrolltiere zu allen Zeitpunkten niedriger.

Die Einzeldaten der Mikrowellenaufschlüsse für die Versuchsgruppen A und B sowie die Kontrollgruppe K sind im Anhang zu finden.

Tabelle 11 zeigt die mittleren Bleikonzentrationen im Blut ( $\pm$  SD), Mittelwerte der Differenz der Tage 0, 1, 2, 3, 5 und 7 zur Nullprobe (Tag -1) und den p-Wert nach der statistischen Auswertung mittels Kruskal-Wallis-Test für die Versuchsgruppen A und B und die Kontrollgruppe K.

Tabelle 11: Mittelwert ( $\bar{x}$ ), Standardabweichung (SD) und Mittelwert ( $\bar{x}$ ) der Differenz zur Nullprobe auf Gruppenebene zum jeweiligen Zeitpunkt für die Versuchsgruppen A und B und die Kontrollgruppe K

Zeitpunkt	$\bar{x} \pm SD$ Gruppe A ( $\mu\text{g/l}$ )	$\bar{x}$ der Differenz Gruppe A ( $\mu\text{g/l}$ )	$\bar{x} \pm SD$ Gruppe B ( $\mu\text{g/l}$ )	$\bar{x}$ der Differenz Gruppe B ( $\mu\text{g/l}$ )	$\bar{x} \pm SD$ Gruppe K ( $\mu\text{g/l}$ )	$\bar{x}$ der Differenz Gruppe K ( $\mu\text{g/l}$ )	p-Wert nach Kruskal- Wallis- Test
-1	2,05 $\pm$ 0,78	-	2,35 $\pm$ 0,70	-	2,11 $\pm$ 0,61	-	-
0	2,32 $\pm$ 0,69	0,54	3,12 $\pm$ 1,12	0,77	2,36 $\pm$ 0,61	0,74	0,460
1	3,02 $\pm$ 1,44	1,38	10,57 $\pm$ 3,53	8,22	2,27 $\pm$ 0,90	0,79	0,002
2	2,77 $\pm$ 1,17	1,30	7,29 $\pm$ 2,34	4,94	1,80 $\pm$ 0,16	0,58	0,004
3	2,20 $\pm$ 0,82	0,81	5,03 $\pm$ 1,81	2,68	1,49 $\pm$ 0,15	0,62	0,021
5	2,10 $\pm$ 0,49	0,55	3,48 $\pm$ 1,18	1,13	1,53 $\pm$ 0,22	0,58	0,204
7	2,08 $\pm$ 0,46	0,62	3,38 $\pm$ 1,07	1,03	1,37 $\pm$ 0,14	0,74	0,563

Rot hinterlegt sind die p-Werte, die  $\leq 0,05$  sind.

Die Daten zeigen, dass für die Versuchsgruppe A die höchsten Standardabweichungen bei 1,44  $\mu\text{g/l}$  an Tag 1 und bei 1,17  $\mu\text{g/l}$  an Tag 2 liegen. Für Versuchsgruppe B liegen die höchsten Standardabweichungen bei 3,53  $\mu\text{g/l}$  an Tag 1 und bei 2,34  $\mu\text{g/l}$  an Tag 2. Die Standardabweichung für die Tage 1 und 2 fällt hoch aus, da Schwein B6 seine Fütterungsportion nicht vollständig aufgenommen hat und die Bleikonzentration im Blut entsprechend niedriger im Vergleich zu den anderen Schweinen der Gruppe ist. Für die Kontrollgruppe K liegt die Standardabweichung für den gesamten Versuchszeitraum zwischen 0,14  $\mu\text{g/l}$  und 0,90  $\mu\text{g/l}$ .

Die Differenzen der einzelnen Tage der Blutentnahme zur Nullprobe an Tag -1 sind für Versuchsgruppe B numerisch höher als die für Versuchsgruppe A und die Kontrollgruppe. Versuchsgruppe B zeigt von Tag -1 zu Tag 1 einen Anstieg von 8,22  $\mu\text{g/l}$  im Vergleich zu Versuchsgruppe A, bei welcher die Bleikonzentration im Blut nur um 1,38  $\mu\text{g/l}$  anstieg. Der Kruskal-Wallis-Test zeigt für den Vergleich zwischen allen Gruppen einen signifikanten Unterschied für die Differenzen der Nullprobe (Tag -1) zu Tag 1, Tag 2 und Tag 3.

In Abbildung 9 sind die Bleikonzentrationen im Blut der Tiere aller drei Gruppen vergleichend dargestellt.



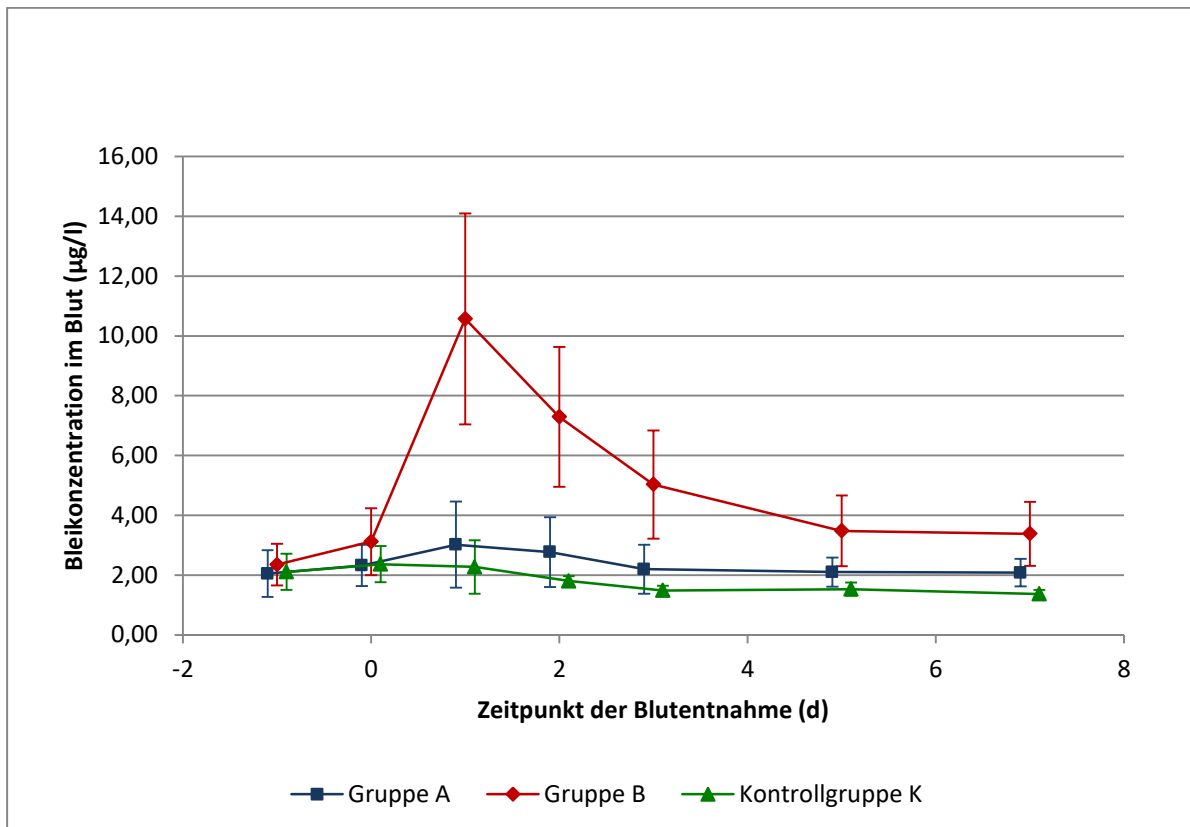


Abbildung 9: Bleikonzentrationen im Blut der Versuchsgruppen A, B und der Kontrollgruppe K ( $\bar{x} \pm SD$ ) grafisch dargestellt

Zur besseren Darstellung sind die Zeitpunkte der Blutentnahme leicht versetzt.

Die Nullprobe an Tag -1 weist für alle drei Gruppen annähernd die gleiche Hintergrundbelastung mit Blei auf (2,05 µg/l bzw. 2,35 µg/l bzw. 2,11 µg/l). Am Versuchstag 0 zeigt die Versuchsgruppe B einen deutlicheren Anstieg der Bleikonzentration im Blut als die Versuchsgruppe A und die Kontrollgruppe K. Die mittlere Bleikonzentration im Blut der Tiere der Versuchsgruppe B an Tag 1 ist mit 10,57 µg/l höher als die der Versuchsgruppe A (3,02 µg/l) und der Kontrollgruppe K (2,27 µg/l). Ab Tag 2 zeigt sich bei Versuchsgruppe B ein deutlicherer Abfall der Bleikonzentrationen im Blut als bei Versuchsgruppe A und Kontrollgruppe K. Die Kontrollgruppe K bleibt ab Tag 1 konstant auf einem niedrigeren Niveau (zwischen 1,49 und 2,27 µg/l) als die Versuchsgruppen A und B. Am letzten Tag (Tag 7) sind die Bleikonzentrationen im Blut aller Schweine wieder nahe am Ausgangswert des Tages -1.

Nach der Durchführung des Kruskal-Wallis-Tests folgte ein Dunn's Test. Dieser zeigte, dass, während sich die Gruppen nicht statistisch signifikant in der Veränderung der Bleikonzentration zwischen Tag -1 und Tag 0 unterscheiden, Versuchsgruppe B relativ zu Versuchsgruppe A für die Tage 1, 2 und 3 signifikant stärkere Zunahmen der Bleikonzentration aufweist. Für die Tage 1 und 2 weist Versuchsgruppe B relativ zur Kontrollgruppe K signifikant höhere Zunahmen der Bleikonzentration auf. Die

Bleikonzentration der Tiere in Versuchsgruppe B stieg am Tag 0 im Vergleich zu Tag -1 signifikant stärker an als bei Versuchsgruppe A und Kontrollgruppe K. Die küchenmäßige Zubereitung zeigt damit einen deutlichen und statistisch signifikanten Einfluss auf den Anstieg der Bleikonzentrationen im Blut der Schweine.

Die Ergebnisse aus R nach Durchführung des Dunn's Test sind im Anhang zu finden.

#### 4.2.5. Bioverfügbarkeit von Blei nach i.v.-Applikation von Bleiacetat und Vergleich mit den Ergebnissen des Fütterungsversuchs

Die ICP-MS-Messung der applizierten Konzentration der Bleiacetatlösung ergab einen Wert von nur 0,133 mg/ml statt der angestrebten 0,260 mg/ml. Somit ist davon auszugehen, dass bei dem applizierten Volumen von 3 ml jedem Schwein ca. 0,4 mg Bleiacetat intravenös verabreicht wurde. In Abbildung 10 ist der Verlauf der Bleikonzentration im Blut aller Gruppen dargestellt.

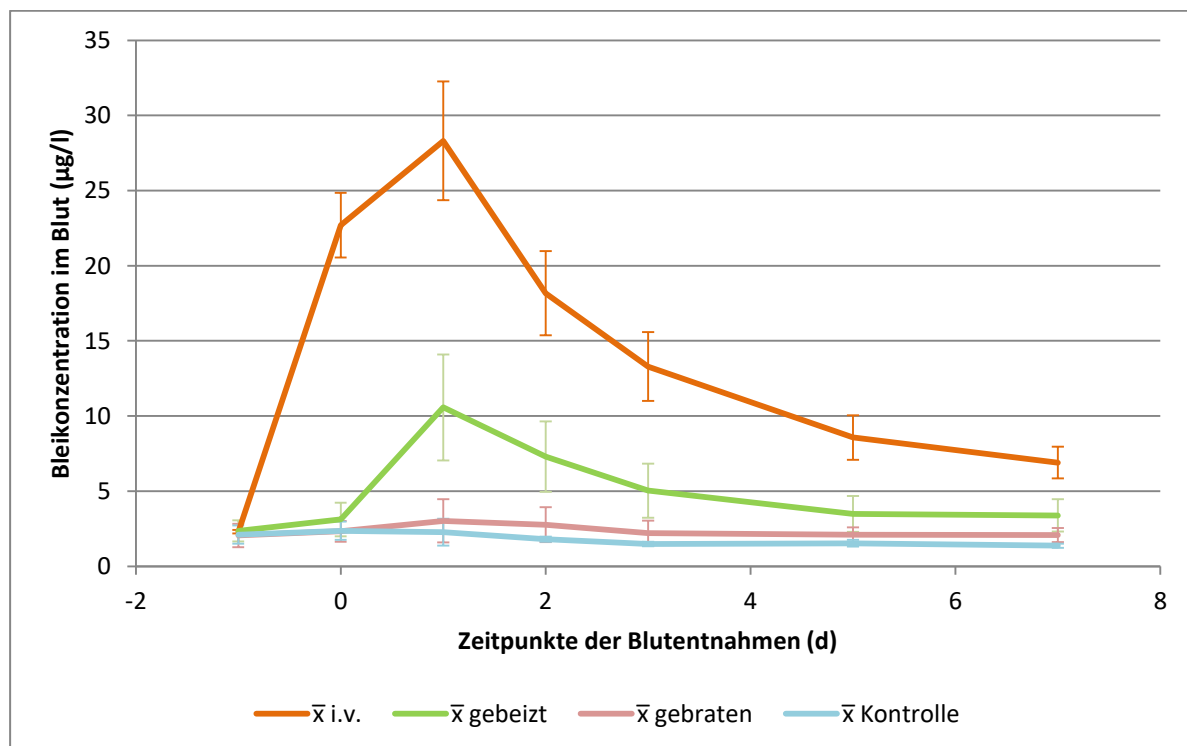


Abbildung 10: Darstellung der Bleikonzentrationen im Blut zwischen den Gruppen über den Versuchszeitraum von 7 Tagen ( $\bar{x} \pm SD$ )

Die höchste Konzentration an Blei wurde 24 Stunden nach der i.v.-Applikation gemessen (28,31 µg/l). Die Hintergrundbelastung (NP) im Blut der Tiere lag im Mittel bei 2,29 µg Blei/l. Dieser Wert wird auch sieben Tage nach der intravenösen Gabe noch nicht wieder erreicht (6,90 µg/l).

Zur Berechnung der AUC wurde bei den Versuchsgruppen A (gebratenes Wildbret) und B (gebeiztes und gebratenes Wildbret) sowie für die Tiere der i.v.-Applikation die durch die Entnahme der Nullprobe an Tag -1 (24 Stunden vor oraler bzw. i.v.-Gabe) ermittelte Hintergrundbelastung abgezogen.

Für die Gruppen wurde folgende AUC ( $\mu\text{g} \cdot \text{h/l}$ ) berechnet:

Versuchsgruppe A (gebratenes Wildbret):	52
Versuchsgruppe B (gebeiztes und gebratenes Wildbret):	501
i.v.-Gruppe:	2057

Aus den hier generierten Daten wurde die Bioverfügbarkeit berechnet. Für Blei, welches durch den Verzehr von gebratenem Wildbret aufgenommen wurde, konnte eine Bioverfügbarkeit von 1,31 % berechnet werden. Für Blei, welches durch den Verzehr von gebeiztem und gebratenem Wildbret aufgenommen wurde, lag die kalkulierte Bioverfügbarkeit bei 15,0 %.

## **5. Diskussion**

Die Nullhypothese dieser Arbeit lautete, dass sich die Veränderung der Bleikonzentrationen im Blut zwischen den Gruppen nicht unterscheidet. Die Ergebnisse zeigen, dass die küchenmäßige Zubereitung einen deutlichen und statistisch signifikanten Einfluss auf den Anstieg der Bleikonzentrationen im Blut der Schweine hatte. Versuchsgruppe B, die an Versuchstag 0 eine Wildbretportion erhalten hatte, die zuvor gebeizt und gebraten worden war, wies relativ zu Versuchsgruppe A für die Tage 1, 2 und 3 signifikant stärkere Zunahmen der Bleikonzentration im Blut auf. Versuchsgruppe A hatte an Versuchstag 0 eine Wildbretportion erhalten, die nur gebraten und nicht gebeizt worden war. Für die Tage 1 und 2 wies Versuchsgruppe B relativ zur Kontrollgruppe K signifikant höhere Zunahmen der Bleikonzentration im Blut auf. Die Bleikonzentration im Blut der Tiere in Versuchsgruppe B stieg an Tag 0 im Vergleich zu Tag -1 signifikant stärker an als bei der Versuchsgruppe A und der Kontrollgruppe K. Somit konnte die Alternativhypothese, dass sich die Veränderung der Bleikonzentrationen im Blut zwischen den Gruppen unterscheidet, bewiesen werden.

### **5.1. Bleigehalte im Wildbret**

Die Bleigehalte im Wildbret wurden in verschiedenen Studien untersucht. So wurden z. B. im Rahmen des Projektes „Lebensmittelsicherheit von jagdlich gewonnenem Wildbret“ (LEMISI) des Bundesministeriums für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL) und des Bundesinstituts für Risikobewertung (BfR) Proben von Reh-, Rot- und Schwarzwild, die mit bleihaltiger oder bleifreier Munition erlegt wurden, auf ihren Bleigehalt untersucht (BfR, 2014). Die Studienergebnisse zeigten einen erhöhten Bleigehalt in dem Wildfleisch, welches mit bleihaltiger Munition erlegt wurde. Tabelle 12 zeigt einen Vergleich der Ergebnisse aus der LEMISI-Studie mit den eigenen Ergebnissen des im Fütterungsversuch mit Schweinen verwendeten Wildbrets. Es sind die Bleigehalte der Wildbretportionen dargestellt, die aus mit bleihaltiger Munition erlegten Rehen gewonnen wurden.

Tabelle 12: Bleigehalte im Wildbret (mg/kg) aus dem LEMISI-Projekt und dem eigenen Fütterungsversuch

	<b>Mittelwert LEMISI (mg/kg)</b>	<b>Wildbret für Versuchsgruppe A (mg/kg)</b>	<b>Wildbret für Versuchsgruppe B (mg/kg)</b>
Keule	0,180	< 0,020	0,210
Rücken	1,025	< 0,020	< 0,020
Schusskanal- nähe	14,594	2,170	0,540

Die ermittelten Bleigehalte im zubereiteten Wildbret lagen in der eigenen Untersuchung für das Keulenfleisch zur Fütterung der Versuchsgruppe A sowie für das Rückenfleisch für beide Versuchsgruppen unter der Bestimmungsgrenze (< 0,020 mg Blei/kg). Der Bleigehalt im Keulenfleisch für die Versuchsgruppe B lag mit einem Wert von 0,21 mg Blei/kg im Bereich des Mittelwerts der im LEMISI-Projekt bestimmten Bleigehalte für dieses Teilstück (0,18 mg Blei/kg). Die höchsten Bleigehalte wurden sowohl im eigenen Versuch als auch im LEMISI-Projekt im schusskanalnahen, aber dennoch verkehrs- und verzehrsfähigen Fleisch der mit bleihaltiger Munition erlegten Rehe bestimmt (0,54 bis 14,6 mg Blei/kg). Die im eigenen Versuch ermittelten Bleigehalte waren sehr unterschiedlich und wichen teilweise deutlich von den Ergebnissen des LEMISI-Projekts ab. Im LEMISI-Projekt wurden wesentlich höhere Bleigehalte im schusskanalnahen Fleisch bestimmt (14,6 mg Blei/kg). Die Unterschiede in den bestimmten Bleigehalten sind vermutlich auf die Probenanzahl sowie eventuelle Unterschiede in Trefferlage und Geschosstyp zurückzuführen. Für das LEMISI-Projekt wurden etwa 300 bis 400 Proben je Teilstück (Keule, Rücken, schusskanalnahes Fleisch) analysiert. Im vorliegenden Versuch wurde lediglich eine homogenisierte Probe aus 24 Tieren (Poolprobe) untersucht, weshalb nur eine grobe Einordnung der Daten möglich ist.

Die weitere Einordnung der Ergebnisse der eigenen Studie zeigt, dass sie gut mit den in der Literatur beschriebenen Resultaten übereinstimmen, jedoch in einigen Studien auch wesentlich höhere Bleigehalte im Fleisch bestimmt wurden. So zeigen die Ergebnisse aus dem Lebensmittel-Monitoring im Jahr 2012 für Proben von Rehwild verschiedener Haltungsformen wesentlich höhere Maximalwerte (1843 mg Blei/kg und 5309 mg Blei/kg). In einer Studie von Dobrowolska und Melosik (2008) wurden für Wildbret vom Wildschwein ebenfalls höhere Bleigehalte analysiert (höchster Bleigehalt am Ein- bzw. Ausschuss 1095,9 mg/kg bzw. 736,0 mg/kg; niedrigster Bleigehalt 125,2 mg/kg bzw. 59,8 mg/kg). Dies

könnte damit zusammenhängen, dass beim Wildschwein der Widerstand aufgrund der Körpermasse größer ist und die Patrone im Wildtierkörper deswegen stärker aufpilzt oder zersplittert. Der Weg des Geschosses durch das tierische Gewebe ist länger als bei einem Reh, wodurch mehr Gewebe betroffen ist und mehr Energie aus dem Geschoss an den Wildtierkörper abgegeben wird. Damit ist die Bleibelastung höher als bei einem kleineren Wildtierkörper, wie z. B. dem des Rehwilds.

Drei Studien, deren Ergebnisse mit denen der eigenen Untersuchung vergleichbar sind, sind die Arbeiten von Morales et al. (2011), Lindboe et al. (2012) und Fachehoun et al. (2015). Morales et al. (2011) ermittelten den Bleigehalt im Wildbret vom Wildschwein und Rotwild und stellten fest, dass die Bleigehalte im Fleisch der Wildschweine höher waren als beim Rotwild. Die analysierten Bleigehalte lagen für das Fleisch vom Wildschwein im Mittel bei 1,29 mg/kg und für das Fleisch vom Rothirsch im Mittel bei 0,33 mg/kg (im Vergleich dazu Maximalwerte im eigenen Versuch im Fleisch aus Schusskanalnähe von 2,17 mg/kg bzw. 0,54 mg/kg). Dabei ist jedoch einschränkend zu sagen, dass die Autoren Morales et al. (2011) keine näheren Angaben machten, um welche Fleischteilstücke es sich bei ihren Untersuchungen handelte. In der Studie von Lindboe et al. (2012) wurden vergleichbare Bleigehalte im Hackfleisch vom Elch wie in der eigenen Untersuchung festgestellt (mittlerer Bleigehalt von  $5,6 \pm 20$  mg/kg, Median von 0,3 mg/kg, Maximum von 110 mg/kg). Fachehoun et al. (2015) bestimmten die Bleigehalte im Wildbret vom Weißwedelhirsch und vom Elch. Dabei wurden Hackfleisch und Steak untersucht, welches vermutlich nicht oder nicht nur aus Fleisch aus Schusskanalnähe stammte. Die Mittelwerte der analysierten Bleigehalte liegen im Bereich der Bleigehalte, die in der eigenen Untersuchung ermittelt wurden (Mittelwert für die Proben vom Weißwedelhirsch 0,28 mg/kg, Median 0,004 mg/kg; Mittelwert für die Proben vom Elch 0,17 mg/kg, Median 0,003 mg/kg).

Die Wildbrethygiene und die Lokalisation des Schusses bzw. des verzehrten Teilstückes sind somit wichtige Einflussfaktoren auf den Bleigehalt. Bei der Wildbrethygiene stellt insbesondere das Ausschärfen (Ausschneiden) des Schusskanals den wichtigsten Schritt zur Bleiminimierung im Wildtierkörper dar. Wie oben bereits beschrieben, sind die unterschiedlichen Bleigehalte im Wildbret, die in den verschiedenen Studien bestimmt wurden, vermutlich auf die unterschiedlichen Tierarten, die unterschiedliche Trefferlage, verschiedene Geschosstypen, die zum Teil unterschiedliche Handhabung des Ausschärfens und auf die Verwendung unterschiedlicher Fleischteilstücke zurückzuführen.

Die in der eigenen Studie durchgeführte Analyse der Bleigehalte im Wildbret stellt eine Momentaufnahme dar. Da es sich um partikuläre Bestandteile handelt, ist in den eigenen Untersuchungen trotz der Homogenisierung des Wildbrets nicht von einer gleichmäßigen Verteilung der Partikel auszugehen. Durch die Entnahme einer Probe für die Analyse aus der Gesamtheit spiegelt der ermittelte Bleigehalt diese eine Probe wieder, er ist aber nicht

aussagekräftig für die Gesamtheit und bleibt somit nur ein Näherungswert für die Bleimenge im verfütterten Wildbret. So ist auch im vorliegenden Versuch die berechnete Gesamtmenge an Blei, die die Schweine aufgenommen haben, eine Ableitung aus der analysierten Probe.

## **5.2. Körpermasse und Tageszunahmen**

Wichtige Indikatoren zur Beurteilung der Tiergesundheit sind die Körpermasse und die Tageszunahmen. Im eigenen Fütterungsversuch lag die mittlere Tageszunahme der Schweine bei 655 g/Tag in Versuchsgruppe A, 630 g/Tag in Versuchsgruppe B und 660 g/Tag in der Kontrollgruppe. Die Fütterung der Wildbretportion am Versuchstag sowie die Wildbretportionen zur Eingewöhnung hatten keinen Einfluss auf die Zunahme der Körpermasse. Bis zum Erreichen des Schlachtgewichts von 110 bis 120 kg beträgt die Tageszunahme eines Mastschweines 650 bis 850 g/Tag (Rodehutsord, 2008), unter Praxisbedingungen kann diese heute noch deutlich höher liegen (DLG Kompakt, 2010; Erzeugerring Westfalen, 2018/2019). Damit lagen die mittleren Tageszunahmen der Versuchstiere im unteren Bereich der zu erwartenden Tageszunahme, was vermutlich durch die Gewöhnung an eine neue Umgebung, das Wiegen und die Blutentnahmen verursacht wurde. In der Literatur sind keine Hinweise darauf zu finden, dass eine einmalige Exposition gegenüber Blei Auswirkungen auf die Körpermasse bzw. die Tageszunahme hat.

## **5.3. Bleikonzentrationen im Blut von Schweinen nach Verzehr einer bleihaltigen Wildbretportion**

Bereits zu Beginn des Versuchs und vor Fütterung des bleihaltigen Wildbrets konnte Blei im Blut der Schweine nachgewiesen werden. Diese Blutprobe diente zur Feststellung der Hintergrundbelastung, die sowohl beim Tier als auch beim Menschen durch die Nahrung und das Trinkwasser verursacht wird. Die Ergebnisse aus der eigenen Studie zeigen, dass alle Versuchsschweine zu Beginn des Fütterungsversuchs eine vergleichbare Hintergrundbelastung mit Blei im Blut aufwiesen (2,05 µg/l bei Versuchsgruppe A, 2,35 µg/l bei Versuchsgruppe B und 2,11 µg/l bei der Kontrollgruppe) und somit die weiteren Untersuchungen davon nicht negativ beeinflusst werden.

Ziel der Untersuchung war die Bestimmung der Zunahme der Bleikonzentration im Blut der Schweine nach der Verfütterung bleihaltigen Wildbrets, welches verschiedenartig zubereitet worden war. Im Fütterungsversuch mit Schweinen war ein direkter Zusammenhang zwischen der Bleikonzentration im Blut und der Art der küchenmäßigen Zubereitung festzustellen. Am Tag nach der Fütterung der bleihaltigen Wildbretportion (Tag 1) ist für Versuchsgruppe B (gebeiztes und gebratenes, bleihaltiges Wildbret) im Vergleich zur Versuchsgruppe A

(gebratenes, bleihaltiges Wildbret) und der Kontrollgruppe (gebeiztes und gebratenes, bleifreies Wildbret) eine signifikant höhere Zunahme der Bleikonzentration im Vergleich zur Nullprobe festzustellen. Die maximale Bleikonzentration im Blut lag bei Versuchsgruppe B für diesen Tag bei  $16,45 \mu\text{g/l}$ . Die mittlere Bleikonzentration lag bei  $10,57 \pm 3,53 \mu\text{g/l}$  und war um das 3,5-fache höher als die mittlere Bleikonzentration im Blut der Tiere in Versuchsgruppe A ( $3,02 \pm 1,44 \mu\text{g/l}$ ) und etwa 4,7-fach höher als der Wert der Kontrollgruppe ( $2,27 \pm 0,90 \mu\text{g/l}$ ). An den nachfolgenden Versuchstagen sank die Bleikonzentration im Blut der Tiere der Versuchsgruppen A und B. Bis einschließlich Tag 5 sank die Bleikonzentration im Blut in Versuchsgruppe B etwa um den Faktor 1,4. An Tag 7 entsprach die Bleikonzentration bei Versuchsgruppe A wieder annähernd dem Wert von Tag -1. Bei Versuchsgruppe B war die Bleikonzentration noch etwa um das 1,4-fache höher als der Ausgangswert an Tag -1.

Wie die Ergebnisse des durchgeführten Fütterungsversuchs zeigen, besteht ein direkter Zusammenhang zwischen der Bleiaufnahme mit der Wildbretportion und dem Anstieg der Bleikonzentration im Blut. Dabei ist die Art der küchenmäßigen Zubereitung von entscheidender Bedeutung. Die Schweine, die eine bleihaltige Portion Wildbret erhalten hatten, die zuvor gebeizt und gebraten worden war, wiesen einen signifikant höheren Anstieg der Bleikonzentration im Blut im Vergleich zur Nullprobe auf als die Schweine, die lediglich gebratenes bleihaltiges Wildbret erhalten hatten. Die Schweine der Versuchsgruppe A haben eine mittlere Bleimenge von  $0,77 \text{ mg}$  aufgenommen, die Schweine der Versuchsgruppe B  $0,65 \text{ mg}$ . Trotz geringfügig niedrigerer Bleiaufnahme resultieren daraus bei den Schweinen der Versuchsgruppe B höhere Bleikonzentrationen im Blut.

Hunt et al. (2009) führten einen vergleichbaren Versuch mit Schweinen durch, untersuchten dabei aber nicht den Einfluss der küchenmäßigen Zubereitung auf die Bioverfügbarkeit des Bleis im Wildbret. In diesem Versuch erhielt jedes Schwein zwischen  $1,3$  und  $1,5 \text{ kg}$  gebratenes Wildbret verteilt auf zwei Fütterungen (im Abstand von 24 Stunden). Der Bleigehalt des verfütterten Wildbrets war zuvor nicht ermittelt worden. In ihrer Untersuchung konnten Hunt et al. einen signifikanten Anstieg der Bleikonzentration im Blut der Versuchstiere durch die Fütterung von bleihaltigem Wildbret nachweisen. Abbildung 11 zeigt den Verlauf der Bleikonzentration im Blut für die Versuchstiere, die entweder Wildbret mit oder ohne Bleifragmenten erhalten hatten.



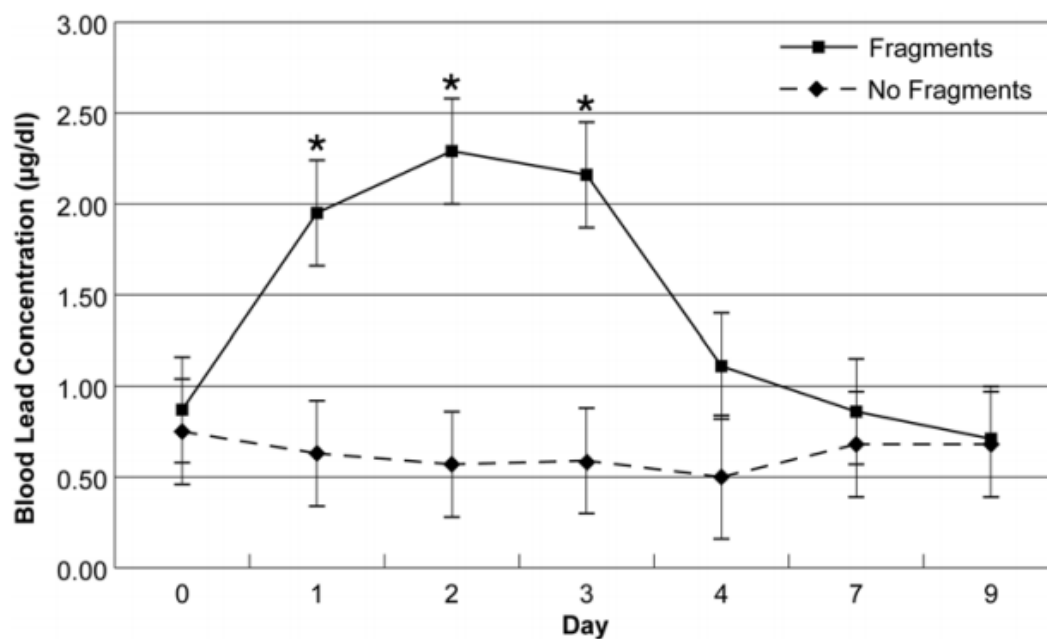


Abbildung 11: Mittlere Bleikonzentration im Blut  $\pm$  SD der vier Versuchsschweine im Vergleich zu den vier Kontrollschweinen im Versuch von Hunt et al. (2009)

Die Sternchen kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen Versuchs- und Kontrollgruppe.

Die maximale Bleikonzentration im Blut eines der Versuchstiere bei Hunt et al. (2009) lag bei 38  $\mu\text{g/l}$  und war damit um das etwa 2,3-fache höher als der im eigenen Versuch ermittelte maximale Einzelwert von 16,45  $\mu\text{g/l}$  (Schwein B2 an Tag 1). Die mittleren Bleikonzentrationen im Blut der Versuchstiere benennen die Autoren mit 23  $\mu\text{g/l}$  und 22  $\mu\text{g/l}$ . Diese liegen somit deutlich über den mittleren Bleikonzentrationen im Blut der Schweine im eigenen Versuch (3,02  $\mu\text{g/l}$  bzw. 2,77  $\mu\text{g/l}$  bei Versuchsgruppe A an den Tagen 1 bzw. 2 und 10,57  $\mu\text{g/l}$  bzw. 7,29  $\mu\text{g/l}$  bei Versuchsgruppe B an den Tagen 1 bzw. 2). Weitere Werte lassen sich anhand Abbildung 11 abschätzen. Wie in den eigenen Untersuchungen, haben auch bei Hunt et al. die Schweine am Ende des Versuchs nahezu die Bleikonzentration im Blut wie zu Beginn des Versuchs erreicht.

Es wird deutlich, dass die im eigenen Fütterungsversuch ermittelten Bleikonzentrationen im Blut (3,02  $\mu\text{g/l}$  für Versuchsgruppe A und 10,57  $\mu\text{g/l}$  für Versuchsgruppe B an Tag 1) deutlich niedriger sind als die in der Studie von Hunt et al. ermittelten Bleikonzentrationen. Eine mögliche Erklärung hierfür wäre, dass die Schweine in der Studie von Hunt et al. zwei Portionen Wildbret bekamen. Ein weiterer Grund könnte sein, dass die verfütterten Wildbretportionen höhere Bleigehalte aufwiesen. Da die Bleigehalte jedoch für das verfütterte Wildbret nicht bestimmt worden sind, kann ein abschließender Vergleich nicht durchgeführt werden. Es wird jedoch deutlich, dass auch im Versuch von Hunt et al. eine Erhöhung der Bleikonzentration im Blut der Versuchstiere ermittelt wurde, nachdem die Tiere bleihaltiges Wildbret erhalten hatten. Interessant ist jedoch, dass dies ohne den Einfluss des

Beizens erreicht wurde. In den eigenen Untersuchungen wurde gezeigt, dass das einfache Braten des Wildbrets vor der Verfütterung nicht zu einem signifikanten Anstieg der Bleikonzentration im Blut im Vergleich zur Kontrollgruppe führte.

Neben der Betrachtung der Gesamtergebnisse für die Versuchsgruppen ist auch ein tierindividueller Vergleich von Interesse, zeigt er doch die Maximal- und Minimalkonzentrationen der erreichbaren Bleikonzentrationen im Blut an und ermöglicht so eine Beurteilung der Variabilität der Bleiaufnahme sowie die Diskussion möglicher Einflussfaktoren auf die Bleiaufnahme. Dabei zeigt der Vergleich der Bleikonzentrationen im Blut der Versuchstiere insbesondere für Versuchsgruppe B deutliche Unterschiede in den Bleikonzentrationen im Blut der einzelnen Tiere. Dies kann zum Teil damit erklärt werden, dass die Tiere unterschiedlich große Mengen der verfütterten Wildbretportion aufgenommen haben. So zeigte Schwein B6 an Tag 1 und im gesamten Verlauf des Versuchs die niedrigsten Bleikonzentrationen (4,93 µg/l an Tag 1; 3,25 µg/l an Tag 2; 2,42 µg/l an Tag 3). Dieses Versuchstier hatte am Versuchstag (Tag 0) nur etwa die Hälfte seiner Wildbretportion gefressen und somit nur eine Bleimenge von ca. 0,40 mg im Vergleich zu einer mittleren Bleiaufnahme von 0,65 mg der Versuchsgruppe B aufgenommen. Es zeigten sich insgesamt deutliche tierindividuelle Unterschiede zwischen der Menge der Wildbretaufnahme und der Bleikonzentration im Blut der Schweine.

Neben Unterschieden in der aufgenommenen Menge an Wildbret können weitere Ursachen für die unterschiedlichen Bleikonzentrationen im Blut zugrunde liegen. So wäre eine mögliche Inhomogenität bzgl. der Bleikonzentration des verfütterten Wildbrets eine mögliche Erklärung. Weitere potentielle Ursachen wurden im Jahr 2010 durch die EFSA in einer Stellungnahme beschrieben. Sie zeigte auf, dass Absorption und Bioverfügbarkeit von Blei von physiologischen Faktoren des Individuums und physikochemischen Eigenschaften der Bleipartikel beeinflusst werden. Eine mögliche Ursache für die unterschiedlichen Bleikonzentrationen im Blut der Schweine könnte darin liegen, dass die Wildbretportionen unterschiedlich große Bleipartikel beinhaltet haben. Schweine, die eine Portion Wildbret mit kleinsten Bleipartikeln aufgenommen haben, könnten somit eine höhere Bleikonzentration im Blut aufweisen. Dies wird ebenfalls durch die Studienergebnisse von Barltrop und Meek (1979) belegt. Sie konnten am Beispiel von Ratten zeigen, dass die Aufnahme von kleineren Bleipartikeln zu höheren Bleikonzentrationen im Blut führte.

Ein weiterer Einflussfaktor für unterschiedliche Bleikonzentrationen im Blut könnten Nahrungsreste im Gastrointestinaltrakt der Versuchstiere sein (Rabinowitz et al., 1980; Heard und Chamberlain, 1982; Blake et al., 1983; James et al., 1985). Da am Abend des Vortages der Versuchsfütterung das Mastfutter der Schweine aus den Trögen entfernt wurde, ist auszuschließen, dass die Anwesenheit von Nahrungsresten im Gastrointestinaltrakt der Versuchsschweine die Absorption verringert hat. Neben

Nahrungsresten könnte ein Eisen- oder Kalziummangel eine weitere Erklärungsmöglichkeit für eine unterschiedliche Absorption von Blei sein. Eine Verbindung zwischen dem Eisengehalt der Nahrung und der Bleiabsorption scheint zu existieren. Eine geringe Eisenaufnahme soll mit erhöhten Bleikonzentrationen im Blut verbunden sein (Cheng et al., 1998). Bei Ratten führte ein Eisenmangel in der Nahrung zu einer erhöhten Retention des Bleis im Körper (Six und Goyer, 1972; Barton et al., 1978b; Morrison und Quarterman, 1987). Da die Schweine in der eigenen Fütterungsstudie bedarfsgerecht mit einem ihrem Alter entsprechenden Alleinfuttermittel gefüttert wurden, ist ein Eisenmangel als Erklärung für unterschiedliche Bleikonzentrationen allerdings auszuschließen. Gleiches gilt für die Möglichkeiten eines Kalziummangels. Ziegler et al. (1978) stellten fest, dass Kinder mit Kalziummangel mehr Blei absorbierten als Kinder mit einem Kalziumüberschuss. Weitere Studien an Ratten und Erwachsenen bestätigten diese Beobachtungen (Barton et al., 1978a; Heard und Chamberlain, 1982; Blake und Mann, 1983). Auch diese Ursache sollte durch die bedarfsgerechte Fütterung und eine entsprechend ausreichende Aufnahme von Kalzium auszuschließen sein.

#### **5.4. Einfluss der küchenmäßigen Zubereitung auf die Bioverfügbarkeit von Blei**

Die Zielsetzung der eigenen Studie war die Untersuchung des Einflusses der küchenmäßigen Zubereitung von Wildbret auf die Bioverfügbarkeit von Blei. Unter Bioverfügbarkeit ist der Anteil einer z. B. oral verabreichten Dosis eines Stoffes gemeint, der in den Kreislauf des Organismus gelangt und damit systemisch verfügbar ist (Graefe et al., 2011). Die Bioverfügbarkeit von Blei hängt davon ab, in welcher Form es dem aufnehmenden Organismus zur Verfügung gestellt wird. Elementares Blei wird nicht so gut absorbiert wie andere Bindungsformen. Es gibt verschiedene Vorgänge, die dazu führen, dass elementares Blei in andere Bindungsformen übergeht. So finden z. B. im Zuge der Fleischreifung Reaktionen des Bleis aus den Geschossfragmenten bzw. feinsten Bleisplittern mit dem Eiweiß des Muskelgewebes statt (Mateo et al., 2007; Mateo et al., 2011). Ein Teil des Bleis kann dadurch in andere Bindungsformen übergehen. Ein weiterer Vorgang, der vor allem für die Ergebnisse der hier vorgestellten Daten von Relevanz ist, ist das Beizen des Wildbrets vor der Zubereitung. Durch das Beizen bzw. Einlegen des Wildbrets in Wein- oder Essigbeize vor dem Braten sowie das anschließende Braten selbst wird eine Überführung eines Teils des Bleis aus der Munition in andere, vergleichsweise leicht lösliche Bleiverbindungen verursacht. Je saurer die Beize ist, desto mehr ist von einer Änderung der chemischen Bindungsverhältnisse an der Oberfläche der Bleisplitter und von einer potenziell höheren Bioverfügbarkeit des Bleis im Verdauungstrakt auszugehen (Hecht, 1984, 2000).

Wie bereits im vorangegangenen Kapitel beschrieben, besteht ein direkter Zusammenhang zwischen der Bleiaufnahme mit der Wildbretportion und dem Anstieg der Bleikonzentration im Blut. Dabei ist die Art der küchenmäßigen Zubereitung von entscheidender Bedeutung. Die Schweine, die eine bleihaltige Portion Wildbret erhalten haben, die zuvor gebeizt und gebraten wurde (Versuchsgruppe B), wiesen einen signifikant höheren Anstieg der Bleikonzentration im Blut von Tag -1 zu Tag 1 (Anstieg um 8,22 µg/l) auf als die Schweine, die lediglich gebratenes bleihaltiges Wildbret erhalten haben (Versuchsgruppe A, Anstieg um 1,38 µg/l). Die Schweine der Versuchsgruppe A hatten eine mittlere Bleimenge von 0,77 mg aufgenommen, die Schweine der Versuchsgruppe B 0,65 mg. Trotz der geringeren aufgenommenen Bleimenge in der Versuchsgruppe B waren die Bleikonzentrationen im Blut höher. Dies kann ein Beleg dafür sein, dass das Blei in den Wildbretportionen der Versuchsgruppe B eine höhere Bioverfügbarkeit aufweist und somit die Art der Zubereitung (Beizen) dabei eine wichtige Rolle spielt.

Das Beizen der Wildbretportion für Versuchsgruppe B führte zu einer Reduzierung des pH-Werts (pH-Wert von 5,66) im Vergleich zum Wildbret für Versuchsgruppe A (pH-Wert von 6,40). Eine erhöhte Bioverfügbarkeit bei niedrigerem pH-Wert wird auch durch die Studie von Mateo et al. (2007) belegt. Sie zeigten, dass der Übergang von Blei in Fleisch höher ist, wenn es mit Essig anstatt mit Wasser zubereitet wurde. Zusätzlich wurde auch die Zubereitungstemperatur als Einflussfaktor erkannt. Die Menge Blei, die an eine wässrige Lösung abgegeben wurde, war signifikant höher bei Anwesenheit von Essigsäure und hoher Temperatur.

In einer weiteren Studie zeigten Mateo et al. (2011), dass der Anteil an bioverfügbarem Blei in dem Fleisch höher war, welches mit Essig (Bioverfügbarkeit 6,75 %) und mit Wein (Bioverfügbarkeit 4,51 %) zubereitet war, im Vergleich zu rohem Fleisch (Bioverfügbarkeit 0,7 %). In beiden Studien von Mateo et al. wurde Bleischrot verwendet. Das in der eigenen Studie verwendete Wildbret stammte von Rehen, welche mit Büchsenmunition erlegt worden waren. Vergleichbare Studien mit bleihaltiger Büchsenmunition sind nicht bekannt. Auch wenn ein direkter Vergleich aufgrund der unterschiedlichen Munitionsarten schwierig ist, so lassen sich die Ergebnisse von Mateo et al. mit den in den eigenen Untersuchungen durchgeführten Berechnungen zur Bioverfügbarkeit bestätigen. Es ergab sich für die Versuchsgruppe A, welche gebratenes, bleihaltiges Wildbret erhalten hatte, eine Bioverfügbarkeit von Blei aus dem verzehrten Wildbret von 1,31 %. Für die Versuchsgruppe B, welche gebeiztes und gebratenes, bleihaltiges Wildbret erhalten hatte, ergab sich eine Bioverfügbarkeit von 15,0 %; diese war sogar höher als die in den Untersuchungen von Mateo et al. (2011) mit Bleischrot ermittelte Bioverfügbarkeit. Hunt et al. (2009), die einen vergleichbaren Versuch durchgeführt haben, konnten dagegen keine Aussage zum Ausmaß

der Bioverfügbarkeit bzw. zu Absorptionsraten machen, da die Bleigehalte des Wildbrets nicht bekannt waren.

Im eigenen Fütterungsversuch wird deutlich, dass durch die Art der Zubereitung die bioverfügbare Bleimenge im Wildbret beeinflusst wird und davon auszugehen ist, dass für den Verbraucher durch den Verzehr einer solchen Wildbretzubereitung die Exposition gegenüber Blei erhöht sein kann. Es ist daher zu empfehlen, bei der Zubereitung von Wildbret, welches von Rehen stammt, die mit bleihaltiger Munition erlegt wurden, auf das Beizen bzw. die Verwendung anderer saurer Zutaten wie z. B. Wein zu verzichten, um die Bioverfügbarkeit eventuell enthaltener Bleipartikel nicht zu erhöhen.

Des Weiteren sollten Jäger dafür sensibilisiert werden, dass die Bleibelastung des Wildbrets über das sichtbar zerstörte Gewebe hinausgeht und auch weiter vom Schusskanal entferntes Wildbret messbare Bleigehalte aufweisen kann.

## 6. Zusammenfassung

### Ermittlung des Einflusses küchenmäßiger Zubereitungen von Wildbret auf die Bioverfügbarkeit von Rückständen bleihaltiger Geschosse im Tierversuch am Modelltier Schwein

Die Zielsetzung der vorliegenden Studie war die Untersuchung der Beeinflussung der Bioverfügbarkeit von Blei durch die küchenmäßige Zubereitung von Wildbret, welches mit bleihaltiger Munition erlegt worden war. Die Nullhypothese dieser Arbeit lautet, dass sich die Veränderung der Bleikonzentrationen im Blut zwischen den Versuchsgruppen und der Kontrollgruppe nicht unterscheidet. Dazu wurde in einem Fütterungsversuch mit Schweinen einmalig eine Wildbretportion verfüttert, die von Rehen stammte, die mit bleihaltiger Munition erlegt worden waren. Versuchsgruppe A (sieben Tiere) erhielt eine Wildbretportion, die lediglich gebraten worden war. Diese Versuchsgruppe nahm eine Bleimenge von ca. 0,77 mg auf. Versuchsgruppe B (sieben Tiere) erhielt eine gebratene und gebeizte Wildbretportion und nahm eine Bleimenge von ca. 0,65 mg auf. Eine Kontrollgruppe (vier Tiere) erhielt eine gebratene und gebeizte Wildbretportion, welche von Rehen stammte, die mit bleifreier Munition erlegt worden waren. Die im weiteren Verlauf des Versuchs durchgeführten Blutentnahmen zeigten, dass die Bleikonzentration im Blut der Tiere in Versuchsgruppe B relativ zu Versuchsgruppe A für die auf die Fütterung folgenden drei Tage stärker anstieg. Versuchsgruppe A zeigte an Tag 1 eine Bleikonzentration im Blut von 3,02 µg/l, an Tag 2 von 2,77 µg/l und an Tag 3 von 2,20 µg/l. Bei Versuchsgruppe B lagen die Bleikonzentrationen im Blut bei 3,12 µg/l an Tag 1, 10,57 µg/l an Tag 2 und 7,29 µg/l an Tag 3. Versuchsgruppe B wies relativ zu Versuchsgruppe A für die Tage 1, 2 und 3 signifikant stärkere Zunahmen der Bleikonzentration im Blut auf. Für die Tage 1 und 2 wies Versuchsgruppe B relativ zur Kontrollgruppe K signifikant höhere Zunahmen der Bleikonzentration im Blut auf. Am Tag 0 stieg die Bleikonzentration im Blut der Tiere in Versuchsgruppe B im Vergleich zu Tag -1 signifikant stärker an als bei der Versuchsgruppe A und der Kontrollgruppe. Somit konnte die Alternativhypothese, dass sich die Veränderung der Bleikonzentrationen im Blut zwischen den Gruppen unterscheidet, bewiesen werden.

Der im Rahmen dieser Studie durchgeführte Fütterungsversuch zeigt, dass die küchenmäßige Zubereitung einen signifikanten Einfluss auf den Anstieg der Bleikonzentration im Blut der Schweine hatte. Durch die Zubereitung mit einer sauren Beize stieg die bioverfügbare Bleimenge an und es ist davon auszugehen, dass für den Verbraucher durch den Verzehr einer solchen Wildbretzubereitung die Exposition gegenüber Blei zunimmt. Die Bioverfügbarkeit von Blei in Wildbret nach Beizen und Braten lag im vorliegenden Versuch bei 15,0 % im Vergleich zu 1,3 %, wenn das Wildbret nur gebraten wurde.

## 7. Summary

### Investigation of the impact of the food preparation and cooking process of game meat on the bioavailability of residues of lead-containing ammunition in an animal experiment with pigs

The main objective of this study was to reveal the impact of the food preparation and cooking process on the bioavailability of lead in game meat. The null hypothesis of this study says that there is no difference in the change in the blood lead concentrations between the study groups and the control group. In this study a feeding trial was conducted, in which pigs were fed once with roe deer meat, which had been shot using lead-containing ammunition. Study group A (7 pigs) received a fried game meat serving and had a lead intake of about 0.77 mg. Study group B (7 pigs) received a marinated and fried wild game meat serving and had a lead intake of about 0.65 mg. The control group (4 pigs) received marinated and fried wild game meat, which had been shot using lead-free ammunition. Several subsequently performed blood collections demonstrated that the blood lead concentrations of the pigs in study group B were relatively higher compared to study group A for each of the three days following the wild game meat serving. Study group A showed blood lead concentrations of 3.02 µg/l at day 1, 2.77 µg/l at day 2 und 2.20 µg/l at day 3. Study group B had blood lead concentrations of 3.12 µg/l at day 1, 10.57 µg/l at day 2 and 7.29 µg/l at day 3. Study group B showed for the days 1, 2 and 3 a significantly higher increase of the lead concentration relatively to study group A. Study group A received on trial day 0 a wild game meat serving which was only fried and not marinated. For the days 1 and 2, the study group B showed significantly higher increases in the blood lead concentration relatively to the control group K. Compared to the groups A and K, the blood lead concentration of the animals in study group B increased significantly from day -1 to 0. Consequently, the alternative hypothesis, which says that the change of the blood lead concentration between the groups is different, has been proven.

This feeding trial shows that the preparation and cooking process has a significant influence on the blood lead concentrations of the pigs. The way of preparing and cooking can increase the bioavailable lead amount in the meat. Regarding the consumer, it can be assumed that the exposition to lead increases through consumption of such wild game meat servings. In this study the bioavailability of lead in wild game meat after marinating and frying was 15.0 % compared to 1.3 % after frying only.

## 8. Literaturverzeichnis

- AID (2012). Wild und Wilderzeugnisse. aid infodienst - Ernährung, Landwirtschaft, Verbraucherschutz e.V.
- Alexander, F.W., Clayton, B.E. und Delves, H.T. (1974). Mineral and Trace-metal Balances in Children Receiving Normal and Synthetic Diets. *Quarterly Journal of Medicine*, XLIII(169), 89-111.
- Aungst, B.J., Dolce, J.A. und Fung, H.-L. (1981). The effect of dose on the disposition of lead in rats after intravenous and oral administration. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 61(1), 48-57.
- Barltrop, D. und Meek, F. (1979). Effect of Particle Size on Lead Absorption from the Gut. *Archives of Environmental Health: An International Journal*, 34(4), 280-285.
- Barry, P.S. (1975). A comparison of concentrations of lead in human tissues. *British Journal of Industrial Medicine*, 32(2), 119-139.
- Bartels, A. ([s.a.]). Wildbret-Hygiene - Vorlesung Fleischhygiene. *Institut für Tierärztliche Nahrungsmittelkunde der Justus-Liebig Universität in Gießen*.
- Barton, J.C., Conrad, M.E., Harrison, L. und Nuby, S. (1978a). Effects of calcium on the absorption and retention of lead. *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 91(3), 366-376.
- Barton, J.C., Conrad, M.E., Nuby, S. und Harrison, L. (1978b). Effects of iron on the absorption and retention of lead. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 92(4), 536-547.
- Becker, K., Schroeter-Kermani, C., Seiwert, M., Rütger, M., Conrad, A., Schulz, C., Wilhelm, M., Wittsiepe, J., Günsel, A., Dobler, L. und Kolossa-Gehring, M. (2013). German health-related environmental monitoring: Assessing time trends of the general population's exposure to heavy metals. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 216(2013), 250-254.
- Bergdahl, I.A., Grubb, A., Schütz, A., Desnick, R.J., Wetmur, J.G., Sassa, S. und Skerfving, S. (1997). Lead Binding to  $\delta$ -Aminolevulinic Acid Dehydratase (ALAD) in Human Erythrocytes. *Pharmacology & Toxicology*, 81(4), 153-158.
- BfR (2006a). *Leitfaden für die sensorische Untersuchung und Beurteilung von Wild* (Stellungnahme Nr. 047/2006 des BfR vom 28.06.2006).
- BfR (2006b). *Tipps für Jäger zum Umgang mit Wildfleisch* (Information Nr. 01/2006 des BfR vom 02.01.2006).
- BfR (2010). *Bleibelastung von Wildbret durch Verwendung von Bleimunition bei der Jagd* (Stellungnahme Nr. 040/2011 des BfR vom 03.12.2010).
- BfR (2013). *Fachgespräch "Wildbrethygiene" am 20. März 2013* (Information des BfR vom 19.06.2013).
- BfR (2014). *"Wild - Gut erlegt?" BfR-Symposium zu Forschungsvorhaben zum Thema Wildbret. Tagungsband zum Symposium am 10. März 2014 in Berlin*.
- Blake, K.C.H., Barbezat, G.O. und Mann, M. (1983). Effect of dietary constituents on the gastrointestinal absorption of  $^{203}\text{Pb}$  in man. *Environmental Research*, 30(1), 182-187.
- Blake, K.C.H. und Mann, M. (1983). Effect of calcium and phosphorus on the gastrointestinal absorption of  $^{203}\text{Pb}$  in man. *Environmental Research*, 30(1), 188-194.
- Blume, K., Lindtner, O., Schneider, K., Schwarz, M. und Heinemeyer, G. (2010). Aufnahme von Umweltkontaminanten über Lebensmittel: Cadmium, Blei, Quecksilber, Dioxine und PCB - Ergebnisse des Forschungsprojektes LExUKon. Hrsg. BfR.
- Booker, D.V., Chamberlain, A.C., Newton, D. und Stott, A.N.B. (1969). Uptake of radioactive lead following inhalation and injection. *The British Journal of Radiology*, 42(498), 457-466.
- Bressler, J.P. und Goldstein, G.W. (1991). Mechanisms of lead neurotoxicity. *Biochemical Pharmacology*, 41(4), 479-484.



- Buenz, E.J. und Parry, G.J. (2017). Chronic Lead Intoxication From Eating Wild-Harvested Game. *The American Journal of Medicine - in press*.
- Burger, J. und Gochfeld, M. (2005). Effects of Lead on Learning in Herring Gulls: An Avian Wildlife Model for Neurobehavioral Deficits. *NeuroToxicology*, 26(4), 615-624.
- BVL (2013). Berichte zur Lebensmittelsicherheit - Monitoring 2012. BVL-Report 8.3.
- Byers, R.K. und Lord, E.E. (1943). Late effects of lead poisoning on mental development. *American Journal of Diseases of Children*, 66(5), 471-494.
- Calderón-Salinas, J.V., Quintanar-Escorcia, M.A., González-Martínez, M.T. und Hernández-Luna, C.E. (1999). Lead and calcium transport in human erythrocyte. *Human & Experimental Toxicology*, 18(5), 327-332.
- Canfield, R.L., Henderson, C.R., Cory-Slechta, D.A., Cox, C., Jusko, T.A. und Lanphear, B.P. (2003). Intellectual Impairment in Children with Blood Lead Concentrations below 10 µg per Deciliter. *New England Journal of Medicine*, 348(16), 1517-1526.
- Casteel, S.W., Cowart, R.P., Weis, C.P., Henningsen, G.M., Hoffman, E., Brattin, W.J., Guzman, R.E., Starost, M.F., Payne, J.T., Stockham, S.L., Becker, S.V., Drexler, J.W. und Turk, J.R. (1997). Bioavailability of Lead to Juvenile Swine Dosed with Soil from the Smuggler Mountain NPL Site of Aspen, Colorado. *Toxicological Sciences*, 36(2), 177-187.
- Casteel, S.W., Cowart, R.P., Weis, C.P., Henningsen, G.M., Hoffman, E., Brattin, W.J., Starost, M.F., Payne, J.T., Stockham, S.L., Becker, S.V. und Turk, J.R. (1996). A Swine Model for Determining the Bioavailability of Lead from Contaminated Media. In M. Tumbleson und L. Schook (Eds.), *In Advances in Swine in Biomedical Research* (pp. 637-646): Springer US.
- Castellino, N. und Aloj, S. (1964). Kinetics of the Distribution and Excretion of Lead in the Rat. *British Journal of Industrial Medicine*, 21(4), 308-314.
- ChemgaPedia. (2019). Toxikokinetik - Aufnahme, Verteilung und Speicherung von Fremdstoffen. Unter: [http://www.chemgapedia.de/vsengine/vlu/vsc/de/ch/11/toxikologie/kap\\_1/vlu/toxiko.vlu.html](http://www.chemgapedia.de/vsengine/vlu/vsc/de/ch/11/toxikologie/kap_1/vlu/toxiko.vlu.html) (abgerufen am 17.04.2019).
- Cheng, Y., Willett, W.C., Schwartz, J., Sparrow, D., Weiss, S. und Hu, H. (1998). Relation of Nutrition to Bone Lead and Blood Lead Levels in Middle-aged to Elderly Men: The Normative Aging Study. *American Journal of Epidemiology*, 147(12), 1162-1174.
- Cullen, M.R., Robins, J.M. und Eskenazi, B. (1983). Adult Inorganic Lead Intoxication: Presentation of 31 New Cases and a Review of Recent Advances in the Literature. *Medicine*, 62(4), 221-247.
- Davis, J.M. und Svendsgaard, D.J. (1987). Lead and child development. *Nature*, 329(6137), 297-300.
- Demayo, A., Taylor, M.C., Taylor, K.W., Hodson, P.V. und Hammond, P.B. (1982). Toxic effects of lead and lead compounds on human health, aquatic life, wildlife plants, and livestock. *CRC Critical Reviews in Environmental Control*, 12(4), 257-305.
- Deutz, A. ([s.a.]). Aus der Decke Schlagen und Zerwirken. *Burgenländischer Landesjagdverband Österreich*, [http://www.bljv.at/infoblaetter/infoblatt2012\\_04/Aus\\_der\\_Decke\\_schlagen\\_und\\_zerwirken.pdf](http://www.bljv.at/infoblaetter/infoblatt2012_04/Aus_der_Decke_schlagen_und_zerwirken.pdf).
- DFG (2006). DFG legt MAK- und BAT-Werte-Liste 2006 vor. *Pressemitteilung Nr. 34, 5. Juli 2006*, [http://www.dfg.de/service/presse/pressemitteilungen/2006/pressemitteilung\\_nr\\_34/index.html](http://www.dfg.de/service/presse/pressemitteilungen/2006/pressemitteilung_nr_34/index.html).
- Dietrich, K.N., Douglas, R.M., Succop, P.A., Berger, O.G. und Bornschein, R.L. (2001). Early exposure to lead and juvenile delinquency. *Neurotoxicology and Teratology*, 23(6), 511-518.
- DLG Kompakt (2010). *Erfolgreiche Mastschweinefütterung*
- Dobrowolska, A. und Melosik, M. (2008). Bullet-derived lead in tissues of the wild boar (*Sus scrofa*) and red deer (*Cervus elaphus*). *European Journal of Wildlife Research*, 54(2), 231-235.

- Drasch, G.A., Böhm, J. und Baur, C. (1987). Lead in human bones. Investigations on an occupationally non-exposed population in Southern Bavaria (F.R.G.) I. Adults. *Science of the Total Environment*, 64(3), 303-315.
- EFSA (2004). Opinion of the Scientific Panel on contaminants in the food chain [CONTAM] related to lead as undesirable substance in animal feed. *The EFSA Journal*, 71.
- EFSA (2010). Scientific Opinion on Lead in Food. *The EFSA Journal*, 8(4).
- Erzeugerring Westfalen. (2018/2019). Jahresbericht 2018. [https://www.erzeugerring.com/services/files/RZ\\_EZW\\_GB2018\\_ONLINEVERSION-1.pdf](https://www.erzeugerring.com/services/files/RZ_EZW_GB2018_ONLINEVERSION-1.pdf)
- Ettinger, A.S., Téllez-Rojo, M.M., Amarasiriwardena, C., Peterson, K.E., Schwartz, J., Aro, A., Hu, H. und Hernández-Avila, M. (2006). Influence of Maternal Bone Lead Burden and Calcium Intake on Levels of Lead in Breast Milk over the Course of Lactation. *American Journal of Epidemiology*, 163(1), 48-56.
- European Commission (2004). Reports on tasks for scientific cooperation (SCOOP): Assessment of the dietary exposure to arsenic, cadmium, lead and mercury of the population of the EU Member States. Directorate - General Health and Consumer Protection.
- Fachehoun, R.C., Lévesque, B., Dumas, P., St-Louis, A., Dubé, M. und Ayotte, P. (2015). Lead exposure through consumption of big game meat in Quebec, Canada: risk assessment and perception. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 1-11.
- Fleming, D.E., Boulay, D., Richard, N.S., Robin, J.P., Gordon, C.L., Webber, C.E. und Chettle, D.R. (1997). Accumulated body burden and endogenous release of lead in employees of a lead smelter. *Environmental health perspectives*, 105(2), 224-233.
- Forbes, G.B. und Reina, J.C. (1972). Effect of Age on Gastrointestinal Absorption (Fe, Sr, Pb) in the Rat. *The Journal of Nutrition*, 102(5), 647-652.
- Freeman, G.B., Johnson, J.D., Liao, S.C., Feder, P.I., Davis, A.O., Ruby, M.V., Schoof, R.A., Chaney, R.L. und Bergstrom, P.D. (1994). Absolute bioavailability of lead acetate and mining waste lead in rats. *Toxicology*, 91(2), 151-163.
- Fullerton, P.M. (1966). Chronic peripheral neuropathy produced by lead poisoning in guinea-pigs. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 25(2), 214-236.
- Goyer, R.A. (1990). Transplacental transport of lead. *Environmental health perspectives*, 89, 101-105.
- Graefe, K.H., Hahn, J.-M. und Lutz, W.K. (2011). 3.5 Klinische Pharmakokinetik. In *Duale Reihe: Pharmakologie und Toxikologie* (pp. 42-49): Georg Thieme Verlag.
- Grund, M.D., Cornicelli, L., Carlson, L.T. und Butler, E.A. (2010). Bullet fragmentation and lead deposition in white-tailed deer and domestic sheep. *Human-Wildlife Interactions*, 4(2), 257-265.
- Gulson, B.L., Jameson, C.W., Mahaffey, K.R., Mizon, K.J., Korsch, M.J. und Vimpani, G. (1997). Pregnancy increases mobilization of lead from maternal skeleton. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 130(1), 51-62.
- Gulson, B.L., Mizon, K.J., Korsch, M.J., Palmer, J.M. und Donnelly, J.B. (2003). Mobilization of lead from human bone tissue during pregnancy and lactation – a summary of long-term research. *Science of the Total Environment*, 303(1–2), 79-104.
- Haldimann, M., Baumgartner, A. und Zimmerli, B. (2002). Intake of lead from game meat – a risk to consumers' health? *European Food Research and Technology*, 215(5), 375-379.
- Heard, M.J. und Chamberlain, A.C. (1982). Effect of Minerals and Food on Uptake of Lead from the Gastrointestinal Tract in Humans. *Human & Experimental Toxicology*, 1(4), 411-415.
- Hecht, H. (1984). Untersuchung der Kontamination des Wildbrets an Blei und anderen Spurenelementen durch Schrot und absplitternde und dadurch weit im Tierkörper streuende Blei- bzw. Metallpartikel der modernen Hochleistungsgeschosse. Aufklärung des Verhaltens dieser Blei- bzw. Metallsplitter beim Abhängen, Kochen, Braten, Grillen und Gefrierlagern. *Abschlussbericht DFG Ha 517/23 und Ha 517/27-1-2-3*, 64.

- Hecht, H. (2000). Auswirkungen der Geschößwahl auf die Bleibelastung des Wildbrets. *Tagung für die Jägerschaft 15. und 16.02.2000. BAL Gumpenstein.*
- Hunt, W.G., Burnham, W., Parish, C.N., Burnham, K.K., Mutch, B. und Oaks, J.L. (2006). Bullet Fragments in Deer Remains: Implications for Lead Exposure in Avian Scavengers. *Wildlife Society Bulletin*, 34(1), 167-170.
- Hunt, W.G., Watson, R.T., Oaks, J.L., Parish, C.N., Burnham, K.K., Tucker, R.L., Belthoff, J.R. und Hart, G. (2009). Lead Bullet Fragments in Venison from Rifle-Killed Deer: Potential for Human Dietary Exposure. *PLoS ONE*, 4(4), e5330.
- IARC und WHO (2006). IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans: IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans - Inorganic and organic lead compounds. 87.
- Iqbal, S., Blumenthal, W., Kennedy, C., Yip, F.Y., Pickard, S., Flanders, W.D., Loring, K., Kruger, K., Caldwell, K.L. und Brown, M.J. (2009). Hunting with lead: Association between blood lead levels and wild game consumption. *Environmental Research*, 109(8), 952-959.
- Itter, H. und Pabel, U. (2013). *Risikobewertung von Blei, Kupfer und Zink im Wildbret.* Vortrag präsentiert bei "Alle(s) Wild?" - BfR-Symposium zu Forschungsvorhaben zum Thema Wildbret, Berlin am 18.-19. März 2013, Tagungsband Seite 21-23.
- James, H.M., Hilburn, M.E. und Blair, J.A. (1985). Effects of Meals and Meal Times on Uptake of Lead from the Gastrointestinal Tract in Humans. *Human & Experimental Toxicology*, 4(4), 401-407.
- Johansen, P., Asmund, G. und Riget, F. (2001). Lead contamination of seabirds harvested with lead shot — implications to human diet in Greenland. *Environmental Pollution*, 112(3), 501-504.
- Johansen, P., Asmund, G. und Riget, F. (2004). High human exposure to lead through consumption of birds hunted with lead shot. *Environmental Pollution*, 127(1), 125-129.
- Jusko, T.A., Henderson Jr, C.R., Lanphear, B.P., Cory-Slechta, D.A., Parsons, P.J. und Canfield, R.L. (2008). Blood lead concentrations < 10 µg/dL and child intelligence at 6 years of age. *Environmental health perspectives*, 116(2), 243-248.
- Kehoe, R.A. (1961). The metabolism of lead in man in health and disease. I. The normal metabolism of lead. *The Journal of the Royal Institute of Public Health and Hygiene*, 24, 81-97.
- Kehoe, R.A. (1987). Studies of lead administration and elimination in adult volunteers under natural and experimentally induced conditions over extended periods of time. *Food and Chemical Toxicology: an International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association*, 25(6), 425-453.
- Klein, M., Barbe, F., Pascal, V., Weryha, G. und Leclere, J. (1998). Lead poisoning secondary to hyperthyroidism: report of two cases. *European Journal of Endocrinology*, 138(2), 185-188.
- Knott, J., Gilbert, J., Hoccom, D.G. und Green, R.E. (2010). Implications for wildlife and humans of dietary exposure to lead from fragments of lead rifle bullets in deer shot in the UK. *Science of the Total Environment*, 409(1), 95-99.
- Kollander, B., Widemo, F., Ågren, E., Larsen, E.H. und Loeschner, K. (2017). Detection of lead nanoparticles in game meat by single particle ICP-MS following use of lead-containing bullets. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 409(7), 1877-1885.
- Kostial, K., Šimonović, I. und Pišonić, M. (1971). Lead Absorption from the Intestine in Newborn Rats. *Nature*, 233(5321), 564-564.
- Lagerkvist, B.J., Ekesrydh, S., Englyst, V., Nordberg, G.F., Söderberg, H.A. und Wiklund, D.E. (1996). Increased blood lead and decreased calcium levels during pregnancy: a prospective study of Swedish women living near a smelter. *American Journal of Public Health*, 86(9), 1247-1252.
- Landrigan, P.J. und Todd, A. (1994). Lead poisoning. *Western Journal of Medicine*, 161(2), 153-159.

- Landwirtschaftliches Zentrum Baden-Württemberg (LAZBW) (2011). *Wildbrethygiene - Begleitheft zur landeseinheitlichen Schulung "Kundige Person" nach EU-Recht*. Landwirtschaftliches Zentrum für Rinderhaltung, Grünlandwirtschaft, Milchwirtschaft, Wild und Fischerei Baden-Württemberg.
- Lanphear, B.P., Dietrich, K., Auinger, P. und Cox, C. (2000). Cognitive deficits associated with blood lead concentrations < 10 microg/dL in US children and adolescents. *Public health reports*, 115(6), 521-529.
- Lanphear, B.P., Hornung, R., Khoury, J., Yolton, K., Baghurst, P., Bellinger, D.C., Canfield, R.L., Dietrich, K.N., Bornschein, R., Greene, T., Rothenberg, S.J., Needleman, H.L., Schnaas, L., Wasserman, G., Graziano, J. und Roberts, R. (2005). Low-Level Environmental Lead Exposure and Children's Intellectual Function: An International Pooled Analysis. *Environmental health perspectives*, 113(7), 894-899.
- Lebensmittel- und Futtermittelgesetzbuch - LFGB Lebensmittel-, Bedarfsgegenstände- und Futtermittelgesetzbuch, in der Fassung der Bekanntmachung vom 3. Juni 2013 (BGBl. I S. 1426), das zuletzt durch Artikel 1 des Gesetzes vom 24. April 2019 (BGBl. I S. 498) geändert worden ist. <https://www.gesetze-im-internet.de/lfgb/LFGB.pdf>.
- Lebensmittelhygiene-Verordnung - LMHV Verordnung über Anforderungen an die Hygiene beim Herstellen, Behandeln und Inverkehrbringen von Lebensmitteln, Lebensmittelhygiene-Verordnung in der Fassung der Bekanntmachung vom 21. Juni 2016 (BGBl. I S. 1469), die durch Artikel 2 der Verordnung vom 3. Januar 2018 (BGBl. I S. 99) geändert worden ist. [https://www.gesetze-im-internet.de/lmhv\\_2007/LMHV.pdf](https://www.gesetze-im-internet.de/lmhv_2007/LMHV.pdf).
- Lévesque, B., Duchesne, J.-F., Gariépy, C., Rhainds, M., Dumas, P., Scheuhammer, A.M., Proulx, J.-F., Déry, S., Muckle, G., Dallaire, F. und Dewailly, É. (2003). Monitoring of umbilical cord blood lead levels and sources assessment among the Inuit. *Occupational and Environmental Medicine*, 60(9), 693-695.
- Lindboe, M., Henrichsen, E.N., Høgåsen, H.R. und Bernhoft, A. (2012). Lead concentration in meat from lead-killed moose and predicted human exposure using Monte Carlo simulation. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 29(7), 1052-1057.
- Loghman-Adham, M. (1997). Renal effects of environmental and occupational lead exposure. *Environmental health perspectives*, 105(9), 928-939.
- Mateo, R., Baos, A.R., Vidal, D., Camarero, P., Martinez-Haro, M. und Taggart, M.A. (2011). Bioaccessibility of Pb from Ammunition in Game Meat Is Affected by Cooking Treatment. *PLoS ONE*, 6(1).
- Mateo, R., Rodríguez-de la Cruz, M., Vidal, D., Reglero, M.M. und Camarero, P. (2007). Transfer of lead from shot pellets to game meat during cooking. *Science of the Total Environment*, 372(2-3), 480-485.
- McMichael, A.J., Vimpani, G.V., Robertson, E.F., Baghurst, P.A. und Clark, P.D. (1986). The Port Pirie cohort study: maternal blood lead and pregnancy outcome. *Journal of Epidemiology and Community Health*, 40(1), 18-25.
- Meltzer, H.M., Dahl, H., Brantsæter, A.L., Birgisdottir, B.E., Knutsen, H.K., Bernhoft, A., Oftedal, B., Lande, U.S., Alexander, J., Haugen, M. und Ydersbond, T.A. (2013). Consumption of lead-shot cervid meat and blood lead concentrations in a group of adult Norwegians. *Environmental Research*, 127(0), 29-39.
- Miller, E.R. und Ullrey, D.E. (1987). The pig as a model for human nutrition. *Annual review of nutrition*, 7(1), 361-382.
- Minnema, D.J., Greenland, R.D. und Michaelson, I.A. (1986). Effect of in vitro inorganic lead on dopamine release from superfused rat striatal synaptosomes. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 84(2), 400-11.
- Minnema, D.J. und Michaelson, I.A. (1986). Differential effects of inorganic lead and  $\delta$ -aminolevulinic acid in vitro on synaptosomal  $\gamma$ -aminobutyric acid release. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 86(3), 437-447.
- Minnema, D.J., Michaelson, I.A. und Cooper, G.P. (1988). Calcium efflux and neurotransmitter release from rat hippocampal synaptosomes exposed to lead. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 92(3), 351-357.

- Morales, J.S.S., Rojas, R.M., Pérez-Rodríguez, F., Casas, A.A. und López, M.A.A. (2011). Risk assessment of the lead intake by consumption of red deer and wild boar meat in Southern Spain. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 28(8), 1021-1033.
- Morgan, A., Holmes, A. und Evans, J. (1977). Retention, distribution, and excretion of lead by the rat after intravenous injection. *British Journal of Industrial Medicine*, 34(1), 37-42.
- Morrison, J.N. und Quarterman, J. (1987). The relationship between iron status and lead absorption in rats. *Biological trace element research*, 14(1-2), 115-126.
- Moughan, P.J., Birtles, M.J., Cranwell, P.D., Smith, W.C. und Pedraza, M. (1992). The piglet as a model animal for studying aspects of digestion and absorption in milk-fed human infants. *World review of nutrition and dietetics*, 67, 40-113.
- Nau, H., Steinberg, P. und Kietzmann, M. (2003). 1.5 Toxikokinetik und Metabolismus. In *Lebensmitteltoxikologie - Rückstände und Kontaminanten: Risiken und Verbraucherschutz* (pp. 20-36). Parey Buchverlag im Blackwell Verlag GmbH, Berlin.
- Nawrot, T.S., Thijs, L., Den Hond, E.M., Roels, H. und Staessen, J.A. (2002). An epidemiological re-appraisal of the association between blood pressure and blood lead: a meta-analysis. *Journal of Human Hypertension*, 16(2), 123-31.
- Needleman, H. (2004). Lead Poisoning. *Annual Review of Medicine*, 55, 209-222.
- Nevin, R. (2000). How Lead Exposure Relates to Temporal Changes in IQ, Violent Crime, and Unwed Pregnancy. *Environmental Research*, 83(1), 1-22.
- Niedersächsisches Landesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (LAVES) (2013). Fortbildung von Jägerinnen und Jägern zur Gewinnung von Lebensmitteln im Rahmen der Jagdausübung. [http://www.wildtiermanagement.com/fileadmin/dateien/ljn.de/jaegerschaften/osterode/Fortbildung\\_Teil\\_1.pdf](http://www.wildtiermanagement.com/fileadmin/dateien/ljn.de/jaegerschaften/osterode/Fortbildung_Teil_1.pdf).
- Norwegian Scientific Committee for Food Safety (VKM) (2013). Risk assessment of lead exposure from cervid meat in Norwegian consumers and in hunting dogs - Opinion of the Panel on Contaminants of the Norwegian Scientific Committee for Food Safety. Date: 18.06.2013. <http://www.vkm.no/dav/cbfe3b0544.pdf>.
- O'Flaherty, E.J., Hammond, P.B. und Lerner, S.I. (1982). Dependence of Apparent Blood Lead Half-Life on the Length of Previous Lead Exposure in Humans. *Toxicological Sciences*, 2(1), 49-54.
- Patrick, L. (2006). Lead toxicity, a review of the literature. Part 1: Exposure, evaluation, and treatment. *Alternative Medicine Review: a Journal of Clinical Therapeutic*, 11(1), 2-22.
- Pattee, O.H. und Pain, D.J. (2003). *Lead in the environment*. D.J. Hoffman, B.A. Rattner, J.G.A. Burton, und J.J. Cairns (Eds.), *Handbook of ecotoxicology. Second edition*. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, USA (pp. 373-408).
- Pirkle, J.L., Brody, D.J., Gunter, E.W., Kramer, R.A., Paschal, D.C., Flegal, K.M. und Matte, T.D. (1994). The decline in blood lead levels in the united states: The national health and nutrition examination surveys (nhanes). *JAMA*, 272(4), 284-291.
- Pokras, M.A. und Kneeland, M.R. (2009). Understanding lead uptake and effects across species lines: a conservation medicine based approach. *Ingestion of lead from spent ammunition: implications for wildlife and humans. The Peregrine Fund, Boise, Idaho, USA.*, 10, 7-22.
- Pond, W.G. und Houpt, K.A. (1978). *The biology of the pig*: Cornell University Press.
- Rabinowitz, M.B. (1991). Toxicokinetics of bone lead. *Environmental health perspectives*, 91, 33.
- Rabinowitz, M.B., Kopple, J.D. und Wetherill, G.W. (1980). Effect of food intake and fasting on gastrointestinal lead absorption in humans. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 33(8), 1784-8.
- Rabinowitz, M.B., Wetherill, G.W. und Kopple, J.D. (1976). Kinetic analysis of lead metabolism in healthy humans. *The Journal of Clinical Investigation*, 58(2), 260-270.
- Rescigno, A. (2000). Area under the curve and bioavailability. *Pharmacological Research*, 42(6), 539-540.

- Richtlinie 2002/32/EG des Europäischen Parlaments und des Rates vom 7. Mai 2002 über unerwünschte Stoffe in der Tierernährung. [https://eur-lex.europa.eu/resource.html?uri=cellar:aca28b8c-bf9d-444f-b470-268f71df28fb.0002.02/DOC\\_1&format=PDF](https://eur-lex.europa.eu/resource.html?uri=cellar:aca28b8c-bf9d-444f-b470-268f71df28fb.0002.02/DOC_1&format=PDF).
- Rodehutschord, M. (2008). Fütterung der Mastschweine. In H. Jeroch, W. Drochner, und O. Simon (Eds.), In *Ernährung landwirtschaftlicher Nutztiere - Ernährungsphysiologie, Futtermittelkunde, Fütterung* (2. Auflage, pp. 345-350). Eugen Ulmer Stuttgart.
- Sciarillo, W.G., Alexander, G. und Farrell, K.P. (1992). Lead exposure and child behavior. *American Journal of Public Health*, 82(10), 1356-1360.
- Scientific Committee on Food (SCF) (1992). Reports of the Scientific Committee for Food (Thirty-second series). [http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/reports/scf\\_reports\\_32.pdf](http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/reports/scf_reports_32.pdf).
- Silbergeld, E.K. (1986). Maternally mediated exposure of the fetus: in utero exposure to lead and other toxins. *NeuroToxicology*, 7(2), 557-568.
- Silbergeld, E.K. (1991). Lead in bone: implications for toxicology during pregnancy and lactation. *Environmental Health Perspect*, 91, 63-70.
- Silbergeld, E.K., Schwartz, J. und Mahaffey, K. (1988). Lead and osteoporosis: Mobilization of lead from bone in postmenopausal women. *Environmental Research*, 47(1), 79-94.
- Simons, T.J.B. (1986a). Passive transport and binding of lead by human red blood cells. *The Journal of Physiology*, 378(1), 267-286.
- Simons, T.J.B. (1986b). The role of anion transport in the passive movement of lead across the human red cell membrane. *The Journal of Physiology*, 378(1), 287-312.
- Simons, T.J.B. (1993). Lead transport and binding by human erythrocytes in vitro. *Pflügers Archiv*, 423(3-4), 307-313.
- Six, K.M. und Goyer, R.A. (1972). The influence of iron deficiency on tissue content and toxicity of ingested lead in the rat. *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 79(1), 128-136.
- Skerfving, S. und Bergdahl, I. (2007). Lead. In B. Nordberg, M. Fowler, und L. Nordberg (Eds.), In *Handbook on the toxicology of metals* (4, Vol. 2, pp. 599-643). Elsevier.
- Stauber, J.L., Florence, T.M., Gulson, B.L. und Dale, L.S. (1994). Percutaneous absorption of inorganic lead compounds. *Science of the Total Environment*, 145(1-2), 55-70.
- Stewart, C.M. und Veverka, N.B. (2011). The extent of lead fragmentation observed in deer culled by sharpshooting. *The Journal of Wildlife Management*, 75(6), 1462-1466.
- Stroud, R.K. und Hunt, W.G. (2009). Gunshot wounds: A source of lead in the environment. In Watson RT, Fuller M, Pokras M, und H. WG (Eds.), In *Ingestion of lead from spent ammunition: implications for wildlife and humans* (pp. 119-125). Boise, Idaho, USA: The Peregrine Fund.
- Toutain, P.L. und Bousquet-Mélou, A. (2004a). Plasma clearance. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 27(6), 415-425.
- Toutain, P.L. und Bousquet-Mélou, A. (2004b). Plasma terminal half-life. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 27(6), 427-439.
- Treble, R.G. und Thompson, T.S. (1997). Preliminary Results of a Survey of Lead Levels in Human Liver Tissue. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 59(5), 688-695.
- Trinkwasserverordnung (TrinkwV) (2001). [https://www.gesetze-im-internet.de/trinkwv\\_2001/TrinkwV\\_2001.pdf](https://www.gesetze-im-internet.de/trinkwv_2001/TrinkwV_2001.pdf).
- Tsuji, L.J.S., Wainman, B.C., Jayasinghe, R.K., Vanspronsen, E.P. und Liberda, E.N. (2009). Determining Tissue-Lead Levels in Large Game Mammals Harvested with Lead Bullets: Human Health Concerns. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 82(4), 435-439.
- Tsuji, L.J.S., Wainman, B.C., Martin, I.D., Sutherland, C., Weber, J.-P., Dumas, P. und Nieboer, E. (2008). The identification of lead ammunition as a source of lead exposure in First Nations: The use of lead isotope ratios. *Science of the Total Environment*, 393(2-3), 291-298.
- U.S. ATSDR (1988). The Nature and Extent of Lead Poisoning in children in the United States: a report to Congress

- U.S. ATSDR (2007). Toxicological Profile for lead. *US Department of Health and Human Services*, 1, 582.
- U.S. EPA (2004). Lead and compounds (inorganic) (CASRN 7439-92-1)  
<http://www.epa.gov/iris/subst/0277.htm>.
- UBA (Umweltbundesamt) (2013). *Trinkwasser wird bleifrei - Neuer Grenzwert für Blei im Trinkwasser ab 1. Dezember 2013*.  
[http://www.bmg.bund.de/fileadmin/dateien/Downloads/T/Trinkwasserverordnung/neuer\\_grenzwert\\_trinkwasser\\_wird\\_bleifrei\\_flyer.pdf](http://www.bmg.bund.de/fileadmin/dateien/Downloads/T/Trinkwasserverordnung/neuer_grenzwert_trinkwasser_wird_bleifrei_flyer.pdf).
- VO (EG) Nr. 178/2002 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 28. Januar 2002 zur Festlegung der allgemeinen Grundsätze und Anforderungen des Lebensmittelrechts, zur Errichtung der Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit und zur Festlegung von Verfahren zur Lebensmittelsicherheit.  
<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/DE/TXT/HTML/?uri=CELEX:32002R0178&from=DE>.
- VO (EG) Nr. 629/2008 der Kommission vom 2. Juli 2008 zur Änderung der Verordnung (EG) Nr. 1881/2006 zur Festsetzung der Höchstgehalte für bestimmte Kontaminanten in Lebensmitteln. <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2008:173:0006:0009:DE:PDF>.
- VO (EG) Nr. 852/2004 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 29. April 2004 über Lebensmittelhygiene. <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2004:139:0001:0054:de:PDF>.
- VO (EG) Nr. 853/2004 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 29. April 2004 mit spezifischen Hygienevorschriften für Lebensmittel tierischen Ursprungs. <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2004:139:0055:0205:DE:PDF>.
- VO (EG) Nr. 1069/2009 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 21. Oktober 2009 mit Hygienevorschriften für nicht für den menschlichen Verzehr bestimmte tierische Nebenprodukte und zur Aufhebung der Verordnung (EG) Nr. 1774/2002 (Verordnung über tierische Nebenprodukte). <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/DE/TXT/PDF/?uri=CELEX:32009R1069&from=DE>.
- VO (EG) Nr. 1881/2006 der Kommission vom 19. Dezember 2006 zur Festsetzung der Höchstgehalte für bestimmte Kontaminanten in Lebensmitteln. <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2006:364:0005:0024:DE:PDF>.
- VO (EU) 2015/1005 der Kommission vom 25. Juni 2015 zur Änderung der Verordnung (EG) Nr. 1881/2006 bezüglich der Höchstgehalte für Blei in bestimmten Lebensmitteln.  
<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/DE/TXT/PDF/?uri=CELEX%3A32015R1005>.
- VO (EU) Nr. 1275/2013 der Kommission vom 6. Dezember 2013 zur Änderung von Anhang I der Richtlinie 2002/32/EG des Europäischen Parlaments und des Rates hinsichtlich der Höchstgehalte für Arsen, Cadmium, Blei, Nitrite, flüchtiges Senföl und schädliche botanische Verunreinigungen.
- Weis, C.P. und Lavelle, J.M. (1991). Characteristics to Consider when Choosing an Animal Model for the Study of Lead Bioavailability. *Chemical Science and Bioavailability*, 3(3/4), 113-119.
- WHO (1972). Evaluation of Mercury, Lead, Cadmium and the Food Additives Amaranth, Diethylpyrocarbonate, and Octyl Gallate.  
<http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v004je03.htm>.
- WHO (1986). Lead (Evaluation of the health risk to infants and children).  
<http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v21je16.htm>.
- WHO (1993). Evaluation of certain food additives and contaminants (Forty-first report of the Joint FAO/WHO Expert Committee in Food Additives).
- WHO (2000). Safety evaluation of certain food additives and contaminants.  
<http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v44jec12.htm>.
- WHO (2010). Exposure to lead: A major public health concern.  
<http://www.who.int/ipcs/features/lead..pdf?ua=1>.
- Wilhelm, M., Welge, P., Rostek, U., Mielcarek, M., Gemmer, K., Sager, M., Hafner, D. und Idel, H. (1999). Toxikokinetik von bodengebundenen Metallen/Metalloiden im

- Minischwein. Programm Lebensgrundlage Umwelt und ihre Sicherung (BWPLUS) - Forschungsbericht FZKA-BWPLUS.
- Wittmers, L.E., Wallgren, J., Alich, A., Aufderheide, A.C. und Rapp, G. (1988). Lead in Bone. IV. Distribution of Lead in the Human Skeleton. *Archives of Environmental Health: An International Journal*, 43(6), 381-391.
- Yeh, K.C. und Kwan, K.C. (1978). A comparison of numerical integrating algorithms by trapezoidal, Lagrange, and spline approximation. *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics*, 6(1), 79-98.
- Ziegler, E.E., Edwards, B.B., Jensen, R.L., Mahaffey, K.R. und Fomon, S.J. (1978). Absorption and Retention of Lead by Infants. *Pediatric Research*, 12(1), 29-34.



## 9. Anhang

### 9.1. Körpermasse der Versuchstiere

Tabelle 13: Körpermasse der Schweine der Versuchsgruppe A

	<b>A1</b>	<b>A2</b>	<b>A3</b>	<b>A4</b>	<b>A5</b>	<b>A6</b>	<b>A7</b>	<b>Mittelwert</b>
	<b>(in kg)</b>	<b>(in kg)</b>	<b>(in kg)</b>	<b>(in kg)</b>	<b>(in kg)</b>	<b>(in kg)</b>	<b>(in kg)</b>	<b>(in kg)</b>
25.11.2015	13,24	14,68	13,94	12,74	12,36	12,90	13,82	13,383
02.12.2015	16,92	18,08	18,16	16,00	14,76	16,02	16,50	16,634
08.12.2015	22,64	23,98	23,58	20,36	19,82	20,22	21,92	21,789
09.12.2015	22,66	24,26	24,20	20,56	19,94	19,98	21,80	21,914
10.12.2015	23,78	25,30	25,44	22,02	20,98	21,06	22,88	23,066
11.12.2015	25,00	26,64	26,72	23,08	22,40	22,30	24,26	24,343
12.12.2015	25,76	27,50	27,66	24,00	22,60	22,86	25,06	25,063
14.12.2015	27,44	29,38	29,08	24,78	25,00	25,24	27,22	26,877
16.12.2015	28,40	30,50	30,30	25,70	25,60	26,00	28,10	27,8

Tabelle 14: Körpermasse der Schweine der Versuchsgruppe B

	<b>B1</b>	<b>B2</b>	<b>B3</b>	<b>B4</b>	<b>B5</b>	<b>B6</b>	<b>B7</b>	<b>Mittelwert</b>
	<b>(in kg)</b>	<b>(in kg)</b>	<b>(in kg)</b>	<b>(in kg)</b>	<b>(in kg)</b>	<b>(in kg)</b>	<b>(in kg)</b>	<b>(in kg)</b>
25.11.2015	13,20	14,36	13,68	13,76	13,48	12,76	13,00	13,463
02.12.2015	15,80	19,12	15,24	16,66	17,72	15,26	16,06	16,551
08.12.2015	19,74	23,24	19,82	21,20	23,18	19,02	20,12	20,903
09.12.2015	20,00	24,32	20,18	21,66	23,02	18,74	20,24	21,166
10.12.2015	22,20	25,20	21,60	22,84	25,08	21,12	21,74	22,826
11.12.2015	22,90	26,28	23,00	24,14	26,44	21,70	23,02	23,926
12.12.2015	23,64	27,16	23,44	24,94	26,82	22,34	23,78	24,589
14.12.2015	25,34	28,40	25,32	26,60	28,98	24,40	25,74	26,397
16.12.2015	26,50	29,40	26,50	26,90	29,50	25,40	26,70	27,27

Tabelle 15: Körpermasse der Schweine der Kontrollgruppe K

	<b>K1</b>	<b>K2</b>	<b>K3</b>	<b>K4</b>	<b>Mittelwert</b>
	<b>(in kg)</b>	<b>(in kg)</b>	<b>(in kg)</b>	<b>(in kg)</b>	<b>(in kg)</b>
25.11.2015	13,48	14,28	12,82	12,54	13,280
02.12.2015	17,32	18,86	14,96	15,44	16,645
08.12.2015	21,46	24,16	19,24	19,80	21,165
09.12.2015	21,90	25,04	19,70	20,56	21,800
10.12.2015	22,96	25,80	20,30	21,58	22,660
11.12.2015	24,18	27,12	21,56	22,90	23,940
12.12.2015	24,94	28,60	22,52	23,70	24,940
14.12.2015	26,42	30,86	24,48	25,14	26,725
16.12.2015	27,60	31,90	25,50	26,20	27,800

## 9.2. Bleikonzentrationen im Blut der Versuchstiere

Tabelle 16: Ergebnisse der ICP-MS Analyse der Blutproben der Schweine der Versuchsgruppe A

Tier	Tag der Probe- nahme	Mikrowellen- Aufschluss Nummer	ICP-MS Analyse 1 (µg/l)	ICP-MS Analyse 2 (µg/l)	ICP-MS Analyse 3 (µg/l)	Mittelwert (µg/l)
A1	NP	1	1,59	1,59	1,57	1,58
		2	1,58	1,61	1,56	1,58
		3	1,57	1,55	1,52	1,55
	0	1	2,06	2,04	1,99	2,03
		2	2,06	2,07	1,99	2,04
		3	2,03	2,00	1,97	2,00
	1	1	2,24	2,21	2,17	2,21
		2	2,58	2,56	2,50	2,55
		3	2,20	2,19	2,15	2,18
	2	1	2,25	2,24	2,21	2,23
		2	1,77	1,78	1,73	1,76
		3	2,27	2,21	2,16	2,21
	3	1	1,79	1,76	1,75	1,77
		2	2,11	2,04	2,05	2,07
		3	1,82	1,75	1,78	1,78
	5	1	1,81	1,76	1,75	1,77
		2	1,69	1,61	1,61	1,64
		3	1,59	1,52	1,54	1,55
	7	1	1,71	1,61	1,61	1,64
		2	1,80	1,68	1,67	1,72
		3	1,75	1,73	1,68	1,72
A2	NP	1	4,17	4,21	4,26	4,22
		2	2,90	2,93	2,93	2,92
	0	1	4,27	4,34	4,39	4,33
		2	1,70	1,73	1,77	1,73
	1	1	1,96	1,97	1,97	1,97
		2	2,22	2,27	2,26	2,25
	2	1	1,50	1,52	1,52	1,51
		2	1,51	1,55	1,56	1,54
	3	1	1,42	1,43	1,44	1,43
		2	1,68	1,68	1,70	1,69
	5	1	2,36	2,43	2,45	2,41
		2	1,66	1,68	1,71	1,69
	7	1	1,99	1,99	2,04	2,01
		2	1,76	1,75	1,79	1,77

Tabelle16 (Fortsetzung): Ergebnisse der ICP-MS Analyse der Blutproben der Schweine der Versuchsgruppe A

Tier	Tag der Probe-nahme	Mikrowellen-Aufschluss Nummer	ICP-MS Analyse 1 (µg/l)	ICP-MS Analyse 2 (µg/l)	ICP-MS Analyse 3 (µg/l)	Mittelwert (µg/l)
A3	NP	1	1,45	1,45	1,48	1,46
		2	1,27	1,30	1,29	1,29
	0	1	1,66	1,66	1,65	1,66
		2	1,44	1,48	1,48	1,47
	1	1	1,59	1,57	1,57	1,58
		2	1,80	1,83	1,84	1,82
	2	1	2,39	2,40	2,42	2,40
		2	2,89	2,90	2,91	2,90
	3	1	1,23	1,28	1,26	1,26
		2	1,80	1,83	1,86	1,83
	5	1	1,31	1,35	1,34	1,33
		2	1,15	1,17	1,18	1,17
	7	1	1,39	1,41	1,43	1,41
		2	1,56	1,60	1,58	1,58
A4	NP	1	2,18	2,10	2,13	2,14
		2	2,26	2,22	2,23	2,24
	0	1	2,28	2,25	2,23	2,25
		2	2,35	2,32	2,34	2,34
	1	1	2,56	2,55	2,54	2,55
		2	2,53	2,49	2,50	2,50
	2	1	2,62	2,56	2,59	2,59
		2	2,11	2,10	2,07	2,09
	3	1	1,97	1,93	1,94	1,95
		2	1,83	1,81	1,85	1,83
	5	1	2,14	2,11	2,10	2,11
		2	2,20	2,17	2,18	2,18
	7	1	3,28	3,26	3,24	3,26
		2	2,75	2,73	2,72	2,73
A5	NP	1	1,61	1,48	1,48	1,53
		2	1,74	1,73	1,72	1,73
	0	1	3,65	3,66	3,66	3,66
		2	3,43	3,40	3,39	3,40
	1	1	4,92	4,88	4,88	4,90
		2	4,52	4,44	4,53	4,50
	2	1	4,35	4,31	4,32	4,33
		2	4,66	4,65	4,67	4,66
	3	1	3,42	3,40	3,41	3,41
		2	2,89	2,86	2,87	2,87
	5	1	2,38	2,39	2,36	2,38
		2	3,12	3,12	3,12	3,12
	7	1	2,44	2,46	2,42	2,44
		2	2,10	2,11	2,09	2,10

Tabelle16 (Fortsetzung): Ergebnisse der ICP-MS Analyse der Blutproben der Schweine der Versuchsgruppe A

Tier	Tag der Probe-nahme	Mikrowellen-Aufschluss Nummer	ICP-MS Analyse 1 (µg/l)	ICP-MS Analyse 2 (µg/l)	ICP-MS Analyse 3 (µg/l)	Mittelwert (µg/l)	
A6	NP	1	2,43	2,07	2,11	2,21	
		2	3,25	3,28	3,28	3,27	
	0	1	2,26	2,24	2,30	2,27	
		2	2,42	2,40	2,42	2,41	
	1	1	4,78	4,75	4,92	4,82	
		2	6,64	6,62	6,73	6,66	
	2	1	4,48	4,47	4,62	4,52	
		2	4,61	4,65	4,65	4,64	
	3	1	3,52	3,55	3,58	3,55	
		2	3,99	3,99	4,02	4,00	
	5	1	2,71	2,69	2,75	2,72	
		2	2,65	2,63	2,67	2,65	
	7	1	2,29	2,27	2,31	2,29	
		2	2,38	2,37	2,40	2,39	
	A7	NP	1	1,24	1,24	1,22	1,24
			2	1,39	1,36	1,36	1,37
		0	1	1,54	1,53	1,51	1,53
			2	1,46	1,45	1,44	1,45
1		1	1,93	1,91	1,95	1,93	
		2	2,21	2,13	2,16	2,17	
2		1	1,72	1,68	1,68	1,69	
		2	1,78	1,73	1,73	1,75	
3		1	1,58	1,57	1,59	1,58	
		2	1,74	1,69	1,71	1,71	
5		1	2,77	2,70	2,72	2,73	
		2	1,69	1,64	1,63	1,65	
7		1	1,46	1,42	1,41	1,43	
		2	2,43	2,30	2,30	2,34	

Tabelle 17: Mittlere Bleikonzentrationen (µg/l) im Blut der Schweine der Gruppe A

Tag	Schwein						
	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7
-1	1,57	3,57	1,37	2,19	1,63	2,74	1,30
0	2,02	3,03	1,56	2,29	3,53	2,34	1,49
1	2,31	2,11	1,70	2,53	4,70	5,74	2,05
2	2,07	1,53	2,65	2,34	4,49	4,58	1,72
3	1,87	1,56	1,54	1,89	3,14	3,77	1,65
5	1,65	2,05	1,25	2,15	2,75	2,69	2,19
7	1,69	1,89	1,50	3,00	2,27	2,34	1,89

Tabelle 18: Ergebnisse der ICP-MS Analyse der Blutproben der Schweine der Versuchsgruppe B

Tier	Tag der Probe- nahme	Mikrowellen- Aufschluss Nummer	ICP-MS Analyse 1 (µg/l)	ICP-MS Analyse 2 (µg/l)	ICP-MS Analyse 3 (µg/l)	Mittelwert (µg/l)	
B1	NP	1	2,85	2,89	3,08	2,94	
		2	2,11	2,18	2,24	2,18	
	0	1	2,23	2,32	2,47	2,34	
		2	3,42	3,52	3,64	3,53	
	1	1	7,00	7,36	7,38	7,25	
		2	7,44	7,68	7,90	7,67	
	2	1	5,14	5,27	5,38	5,26	
		2	6,41	6,62	6,80	6,61	
	3	1	3,77	3,93	4,00	3,90	
		2	3,66	3,84	3,96	3,82	
	5	1	2,55	2,61	2,71	2,62	
		2	2,53	2,67	2,81	2,67	
	7	1	3,17	3,30	3,34	3,27	
		2	2,24	2,37	2,43	2,34	
	B2	NP	1	4,13	4,07	4,54	4,25
			2	2,66	2,63	2,98	2,76
0		1	4,02	3,97	4,43	4,14	
		2	3,48	3,47	4,58	3,84	
1		1	16,17	15,82	17,74	16,58	
		2	15,60	15,67	17,69	16,32	
2		1	10,53	10,37	11,75	10,88	
		2	10,52	10,65	11,95	11,04	
3		1	8,55	8,42	9,53	8,83	
		2	8,10	8,13	9,25	8,49	
5		1	5,51	5,53	6,23	5,76	
		2	5,66	5,69	6,68	6,01	
7		1	5,97	5,98	6,85	6,27	
		2	4,40	4,48	5,06	4,65	
B3		NP	1	2,90	3,95	2,93	3,26
			2	2,89	2,78	2,78	2,81
	0	1	3,15	3,49	3,07	3,24	
		2	3,45	3,43	3,40	3,43	
	1	1	10,14	10,49	10,03	10,22	
		2	10,09	10,25	10,19	10,18	
	2	1	7,65	7,95	7,38	7,66	
		2	7,57	7,62	7,61	7,60	
	3	1	5,08	5,24	4,85	5,06	
		2	5,01	4,99	4,96	4,99	
	5	1	4,15	3,74	3,82	3,90	
		2	3,88	3,81	3,80	3,83	
	7	1	3,41	3,21	3,41	3,34	
		2	3,61	3,57	3,51	3,56	

Tabelle 18 (Fortsetzung): Ergebnisse der ICP-MS Analyse der Blutproben der Schweine der Versuchsgruppe B

Tier	Tag der Probe- nahme	Mikrowellen- Aufschluss Nummer	ICP-MS Analyse 1 (µg/l)	ICP-MS Analyse 2 (µg/l)	ICP-MS Analyse 3 (µg/l)	Mittelwert (µg/l)	
<b>B4</b>	NP	1	2,34	2,35	2,49	2,39	
		2	2,36	2,47	2,52	2,45	
	0	1	4,43	5,61	4,59	4,88	
		2	5,31	5,48	5,57	5,46	
	1	1	13,24	13,46	13,52	13,41	
		2	13,69	13,98	14,16	13,94	
	2	1	8,90	8,99	9,14	9,01	
		2	9,89	10,08	10,29	10,09	
	3	1	5,74	5,98	6,02	5,91	
		2	5,92	6,09	6,15	6,05	
	5	1	3,76	3,95	3,97	3,89	
		2	3,92	4,11	4,08	4,04	
	7	1	3,70	3,82	3,91	3,81	
		2	3,92	4,11	4,14	4,06	
	<b>B5</b>	NP	1	1,61	1,71	1,59	1,63
			2	1,93	2,04	1,91	1,96
		0	1	2,71	2,72	2,66	2,70
			2	2,69	2,69	2,65	2,68
1		1	11,44	11,58	11,23	11,42	
		2	11,58	11,62	11,28	11,49	
2		1	7,85	7,92	7,63	7,80	
		2	7,56	7,53	7,40	7,49	
3		1	5,02	4,99	4,91	4,97	
		2	5,02	4,98	4,94	4,98	
5		1	3,29	3,25	3,19	3,24	
		2	3,09	3,08	3,00	3,06	
7		1	3,21	3,22	3,11	3,18	
		2	3,92	3,91	3,82	3,88	
<b>B6</b>		NP	1	1,33	1,31	1,34	1,33
			2	1,61	1,58	1,59	1,59
		0	1	1,41	1,41	1,40	1,41
			2	1,50	1,52	1,51	1,51
	1	1	4,83	4,83	4,85	4,84	
		2	5,01	5,00	5,03	5,01	
	2	1	3,30	3,32	3,27	3,30	
		2	3,18	3,24	3,21	3,21	
	3	1	2,41	2,43	2,44	2,43	
		2	2,41	2,44	2,42	2,42	
	5	1	1,76	1,76	1,77	1,76	
		2	1,98	1,99	1,96	1,97	
	7	1	1,54	1,54	1,53	1,54	
		2	1,98	1,95	1,94	1,96	

Tabelle 18 (Fortsetzung): Ergebnisse der ICP-MS Analyse der Blutproben der Schweine der Versuchsgruppe B

Tier	Tag der Probe- nahme	Mikrowellen- Aufschluss Nummer	ICP-MS Analyse 1 (µg/l)	ICP-MS Analyse 2 (µg/l)	ICP-MS Analyse 3 (µg/l)	Mittelwert (µg/l)
B7	NP	1	1,79	1,64	1,66	1,70
		2	1,66	1,67	1,67	1,67
	0	1	2,35	2,24	2,23	2,27
		2	2,28	2,21	2,23	2,24
	1	1	9,29	9,33	9,48	9,37
		2	10,33	10,15	10,34	10,27
	2	1	6,11	6,16	6,23	6,17
		2	6,03	5,94	6,00	5,99
	3	1	4,22	4,20	4,27	4,23
		2	4,34	4,24	4,35	4,31
	5	1	3,04	3,01	3,05	3,03
		2	2,99	2,96	2,99	2,98
	7	1	2,80	2,77	2,84	2,80
		2	2,69	2,65	2,70	2,68

Tabelle 19: Mittlere Bleikonzentrationen (µg/l) im Blut der Schweine der Gruppe B

Tag	Schwein						
	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7
-1	2,56	3,50	3,04	2,42	1,80	1,46	1,68
0	2,93	3,99	3,33	5,17	2,69	1,46	2,26
1	7,46	16,45	10,20	13,67	11,45	4,93	9,82
2	5,94	10,96	7,63	9,55	7,65	3,25	6,08
3	3,86	8,66	5,02	5,98	4,98	2,42	4,27
5	2,65	5,88	3,87	3,96	3,15	1,87	3,01
7	2,81	5,46	3,45	3,94	3,53	1,75	2,74

Tabelle 20: Ergebnisse der ICP-MS Analyse der Blutproben der Schweine der Kontrollgruppe K

Tier	Tag der Probe- nahme	Mikrowellen- Aufschluss Nummer	ICP-MS Analyse 1 (µg/l)	ICP-MS Analyse 2 (µg/l)	ICP-MS Analyse 3 (µg/l)	Mittelwert (µg/l)
K1	NP	1	2,49	2,40	2,43	2,44
		2	2,00	1,98	1,98	1,98
	0	1	2,10	2,01	2,03	2,05
		2	4,60	4,56	4,67	4,61
	1	1	1,99	1,97	1,99	1,98
		2	1,84	1,85	1,88	1,85
	2	1	1,70	1,68	1,71	1,69
		2	1,92	1,91	1,96	1,93
	3	1	1,54	1,52	1,56	1,54
		2	1,57	1,54	1,60	1,57
	5	1	1,45	1,41	1,45	1,44
		2	2,16	2,15	2,18	2,16
	7	1	1,59	1,55	1,56	1,57
		2	1,56	1,60	1,62	1,59
K2	NP	1	1,18	1,45	1,53	1,39
		2	1,33	1,31	1,32	1,32
	0	1	1,72	1,74	1,75	1,74
		2	1,69	1,63	1,66	1,66
	1	1	1,31	1,32	1,35	1,33
		2	1,37	1,34	1,37	1,36
	2	1	2,65	2,57	2,60	2,61
		2	1,22	1,18	1,20	1,20
	3	1	1,31	1,27	1,28	1,29
		2	1,24	1,22	1,25	1,24
	5	1	1,36	1,30	1,33	1,33
		2	1,27	1,25	1,25	1,25
	7	1	1,23	1,25	1,26	1,24
		2	1,18	1,25	1,24	1,22
K3	NP	1	2,32	2,07	2,28	2,22
		2	1,48	1,45	1,47	1,47
	0	1	1,47	1,49	1,50	1,49
		2	3,23	3,32	3,22	3,26
	1	1	5,83	6,02	6,01	5,95
		2	1,55	1,55	1,55	1,55
	2	1	1,51	1,54	1,50	1,52
		2	1,51	1,59	1,53	1,54
	3	1	1,50	1,54	1,48	1,51
		2	1,37	1,42	1,38	1,39
	5	1	1,27	1,32	1,26	1,28
		2	1,38	1,40	1,39	1,39
	7	1	1,22	1,26	1,23	1,24
		2	1,27	1,28	1,26	1,27



Tabelle 20 (Fortsetzung): Ergebnisse der ICP-MS Analyse der Blutproben der Schweine der Kontrollgruppe K

Tier	Tag der Probe- nahme	Mikrowellen- Aufschluss Nummer	ICP-MS Analyse 1 (µg/l)	ICP-MS Analyse 2 (µg/l)	ICP-MS Analyse 3 (µg/l)	Mittelwert (µg/l)
K4	NP	1	3,82	3,89	3,96	3,89
		2	2,09	2,17	2,18	2,14
	0	1	2,07	2,12	2,16	2,12
		2	1,98	1,99	2,04	2,00
	1	1	1,91	1,98	2,02	1,97
		2	2,14	2,21	2,23	2,19
	2	1	1,81	1,88	1,92	1,87
		2	1,98	2,06	2,07	2,04
	3	1	1,64	1,69	1,69	1,67
		2	1,66	1,69	1,71	1,69
	5	1	1,68	1,75	1,78	1,74
		2	1,63	1,66	1,67	1,65
	7	1	1,41	1,38	1,40	1,40
		2	1,39	1,42	1,41	1,41

Tabelle 21: Mittlere Bleikonzentrationen (µg/l ) im Blut der Schweine der Kontrollgruppe K

Tag	Schwein			
	K1	K2	K3	K4
-1	2,21	1,36	1,85	3,02
0	3,33	1,70	2,37	2,06
1	1,92	1,34	3,75	2,08
2	1,81	1,90	1,53	1,95
3	1,56	1,26	1,45	1,68
5	1,80	1,29	1,34	1,69
7	1,58	1,23	1,25	1,40

### 9.3. Differenzen der Bleikonzentrationen im Blut der Versuchstiere – Differenz zwischen den Versuchstagen und der Nullprobe für die Auswertung mittels R

Tabelle 22: Differenzen der Bleikonzentrationen im Blut

Schwein	Differenz NP – Tag 0 (µg/l)	Differenz NP – Tag 1 (µg/l)	Differenz NP – Tag 2 (µg/l)	Differenz NP – Tag 3 (µg/l)	Differenz NP – Tag 5 (µg/l)	Differenz NP – Tag 7 (µg/l)
<b>A1</b>	0,45276259	0,739629	0,49727069	0,30226899	0,08218544	0,12289766
<b>A2</b>	0,5341167	1,4569498	2,03957051	2,00744875	1,51608627	1,68036547
<b>A3</b>	0,18854161	0,32824844	1,27668831	0,16886017	0,12381877	0,12122929
<b>A4</b>	0,10583773	0,33698333	0,15452582	0,2991037	0,0407604	0,80852382
<b>A5</b>	1,90492299	3,07047876	2,86495367	1,51630441	1,12086363	0,64351494
<b>A6</b>	0,39623662	3,00211042	1,84389082	1,03859665	0,05035277	0,39956024
<b>A7</b>	0,18458067	0,74432587	0,41609606	0,34324069	0,88972308	0,58204388
<b>B1</b>	0,37621796	4,90175601	3,37717888	1,30330072	0,08700285	0,2480613
<b>B2</b>	0,48776434	12,9456035	7,45875715	5,15982373	2,38057338	1,95356745
<b>B3</b>	0,29612086	7,16107495	4,5923462	1,98585542	0,82916446	0,41695804
<b>B4</b>	2,74635847	11,2539174	7,12856739	3,5612704	1,54245903	1,51511848
<b>B5</b>	0,89023548	9,65583001	5,85063799	3,18139997	1,35189227	1,73398146
<b>B6</b>	0,00159998	3,46640684	1,79436812	0,96463383	0,40884324	0,2865604
<b>B7</b>	0,57658789	8,13873237	4,39902783	2,58905095	1,32578265	1,06200238
<b>K1</b>	1,11828209	0,29140745	0,39737192	0,65518522	0,41141617	0,63001007
<b>K2</b>	0,34358965	0,01389323	0,54595672	0,09417115	0,06379553	0,12262866
<b>K3</b>	0,52589798	1,90513046	0,31602966	0,39645558	0,50951062	0,59217205
<b>K4</b>	0,95900917	0,93514897	1,0640471	1,3389996	1,32506988	1,61595374

NP = Nullprobe (Tag -1)

#### 9.4. Ergebnisse des Dunn's Test

Tabelle 23: Darstellung des p-Wertes (adjustiert) für den Vergleich der Differenz zwischen Nullprobe (NP) (Tag -1) und Tag 1 für die Gruppen A - B, A - K und B - K

<b>NP - Tag 1</b>	
<b>Vergleich</b>	<b>p adj.</b>
<b>A - B</b>	0,011065850
<b>A - K</b>	1,000000000
<b>B - K</b>	0,006568154

Rot hinterlegt sind die p-Werte, die  $\leq 0,05$  sind.

Tabelle 24: Darstellung des p-Wertes (adjustiert) für den Vergleich der Differenz zwischen Nullprobe (NP) (Tag -1) und Tag 2 für die Gruppen A - B, A - K und B - K.

<b>NP - Tag 2</b>	
<b>Vergleich</b>	<b>p adj.</b>
<b>A - B</b>	0,032022054
<b>A - K</b>	1,000000000
<b>B - K</b>	0,007840145

Rot hinterlegt sind die p-Werte, die  $\leq 0,05$  sind.

Tabelle 25: Darstellung des p-Wertes (adjustiert) für den Vergleich der Differenz zwischen Nullprobe (NP) (Tag -1) und Tag 3 für die Gruppen A - B, A - K und B - K.

<b>NP - Tag 3</b>	
<b>Vergleich</b>	<b>p adj.</b>
<b>A - B</b>	0,04878281
<b>A - K</b>	1,000000000
<b>B - K</b>	0,06900062

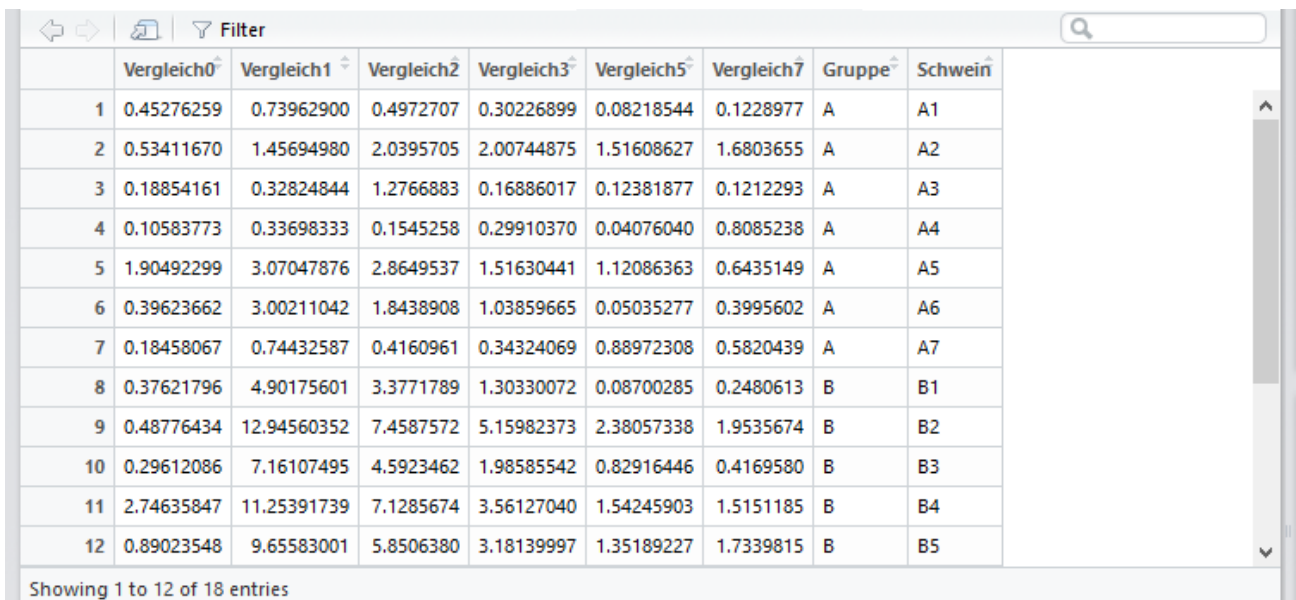
Rot hinterlegt sind die p-Werte, die  $\leq 0,05$  sind.

## 9.5. Statistische Auswertung – Skript für das Statistikprogramm RStudio

Folgende Packages müssen vorab installiert werden:

- Dunn.test
- FNA

Die Differenzen werden in eine Excel-Tabelle eingetragen und als .csv gespeichert. Diese Tabelle wird mittels des Buttons „Import Dataset“ in R geladen. Dabei kann man Modifizierungen vornehmen, z. B. wird die Gruppe als Faktor definiert (A, B, K), Delimiter: ;  
Locale: decimal mark ,



	Vergleich0	Vergleich1	Vergleich2	Vergleich3	Vergleich5	Vergleich7	Gruppe	Schwein
1	0.45276259	0.73962900	0.4972707	0.30226899	0.08218544	0.1228977	A	A1
2	0.53411670	1.45694980	2.0395705	2.00744875	1.51608627	1.6803655	A	A2
3	0.18854161	0.32824844	1.2766883	0.16886017	0.12381877	0.1212293	A	A3
4	0.10583773	0.33698333	0.1545258	0.29910370	0.04076040	0.8085238	A	A4
5	1.90492299	3.07047876	2.8649537	1.51630441	1.12086363	0.6435149	A	A5
6	0.39623662	3.00211042	1.8438908	1.03859665	0.05035277	0.3995602	A	A6
7	0.18458067	0.74432587	0.4160961	0.34324069	0.88972308	0.5820439	A	A7
8	0.37621796	4.90175601	3.3771789	1.30330072	0.08700285	0.2480613	B	B1
9	0.48776434	12.94560352	7.4587572	5.15982373	2.38057338	1.9535674	B	B2
10	0.29612086	7.16107495	4.5923462	1.98585542	0.82916446	0.4169580	B	B3
11	2.74635847	11.25391739	7.1285674	3.56127040	1.54245903	1.5151185	B	B4
12	0.89023548	9.65583001	5.8506380	3.18139997	1.35189227	1.7339815	B	B5

Showing 1 to 12 of 18 entries

Abbildung 12: In R eingespeiste Daten

Mit den folgenden Eingaben (blaue Schrift) werden der Kruskal-Wallis-Test und der Dunn's Test durchgeführt und die Ergebnisse angezeigt:

### Kruskal-Wallis-Test

```
> kruskal.test(Vergleich0 ~ Gruppe, data=Differenzen_2018_final)
```

```
      Kruskal-Wallis rank sum test
```

```
data: Vergleich0 by Gruppe
```

```
Kruskal-Wallis chi-squared = 1.5514, df = 2, p-value = 0.4604
```

---

```
> kruskal.test(Vergleich1 ~ Gruppe, data=Differenzen_2018_final)
```

```
    Kruskal-Wallis rank sum test
```

```
data: Vergleich1 by Gruppe
```

```
Kruskal-Wallis chi-squared = 12.503, df = 2, p-value = 0.001928
```

```
> kruskal.test(Vergleich2 ~ Gruppe, data=Differenzen_2018_final)
```

```
    Kruskal-Wallis rank sum test
```

```
data: Vergleich2 by Gruppe
```

```
Kruskal-Wallis chi-squared = 11.03, df = 2, p-value = 0.004026
```

```
> kruskal.test(Vergleich3 ~ Gruppe, data=Differenzen_2018_final)
```

```
    Kruskal-Wallis rank sum test
```

```
data: Vergleich3 by Gruppe
```

```
Kruskal-Wallis chi-squared = 7.6805, df = 2, p-value = 0.02149
```

```
> kruskal.test(Vergleich5 ~ Gruppe, data=Differenzen_2018_final)
```

```
    Kruskal-Wallis rank sum test
```

```
data: Vergleich5 by Gruppe
```

```
Kruskal-Wallis chi-squared = 3.1792, df = 2, p-value = 0.204
```

```
> kruskal.test(Vergleich7 ~ Gruppe, data=Differenzen_2018_final)
```

```
    Kruskal-Wallis rank sum test
```

```
data: Vergleich7 by Gruppe
```

```
Kruskal-Wallis chi-squared = 1.1504, df = 2, p-value = 0.5626
```

Dunn's Test

```
> dunnTest(Differenzen_2018_final$Vergleich1, Differenzen_2018_final$Gruppe, method="bonferroni")
```

Dunn (1964) Kruskal-Wallis multiple comparison

p-values adjusted with the Bonferroni method.

	Comparison	Z	P.unadj	P.adj
1	A - B	-2.9036318	0.003688617	0.011065850
2	A - K	0.5870362	0.557179378	1.000000000
3	B - K	3.0632618	0.002189385	0.006568154

```
> dunnTest(Differenzen_2018_final$Vergleich2, Differenzen_2018_final$Gruppe, method="bonferroni")
```

Dunn (1964) Kruskal-Wallis multiple comparison

p-values adjusted with the Bonferroni method.

	Comparison	Z	P.unadj	P.adj
1	A - B	-2.5531935	0.010674018	0.032022054
2	A - K	0.8325241	0.405113181	1.000000000
3	B - K	3.0098948	0.002613382	0.007840145

```
> dunnTest(Differenzen_2018_final$Vergleich3, Differenzen_2018_final$Gruppe, method="bonferroni")
```

Dunn (1964) Kruskal-Wallis multiple comparison

p-values adjusted with the Bonferroni method.

	Comparison	Z	P.unadj	P.adj
1	A - B	-2.4030056	0.01626094	0.04878281
2	A - K	0.2241411	0.82264751	1.000000000
3	B - K	2.2734312	0.02300021	0.06900062

## Publikationsverzeichnis

- „Blei im Wildbret: Planung von experimentellen Studien zur Bioverfügbarkeit“ – Präsentation im Rahmen des BfR-Seminars am 15.04.2015 in Berlin.
- „Ermittlung des Einflusses küchenmäßiger Zubereitungen auf die Bioverfügbarkeit von Rückständen bleihaltiger Geschosse im Tierversuch am Modelltier Schwein“ – Poster im Rahmen des VDLUFA-Kongresses vom 13.-16.09.2016 in Rostock.
- Schulz, K., Brenneis, F. et al. (2021). Marination increases the bioavailability of lead in game meat shot with lead ammunition. *Journal of Nutritional Science* 10.

## Danksagung

Mein besonderer Dank gilt

... dem BfR für die Überlassung meines Themas.

... der ganzen Fachgruppe 84, insbesondere Herrn PD Dr. Helmut Schafft, Frau Dr. Ellen Ulbig, Frau Dr. Antje Gerofke, Herrn Dr. Jorge Numata, Frau Dr. Kirsten Schulz und dem Rest der Kollegen. Herrn Dr. Markus Spolders möchte ich ganz besonders für sein stets offenes Ohr und die anregenden Diskussionen danken.

... Herrn Dirk Meyer für seine großartige Unterstützung bei der küchenmäßigen Zubereitung und viele spaßige Stunden.

... Herrn Dr. Carl Gremse für seine Unterstützung bei der Erlegung und Beschaffung der Rehe.

... dem LGL in München, insbesondere Herrn Prof. Dr. Hermann Fromme und seinen Mitarbeitern Frau Dr. Renate Habernegg und Herrn Dr. Richard Winterhalter für die Analyse der Proben.

... der Universität Rostock mit der Professur für Ernährungsphysiologie und Tierernährung, insbesondere Frau Prof. Dr. Petra Wolf, Dr. Luisa Borgelt und den Tierpflegern Frau Heike Riese und Herrn Heino Marx für die Ermöglichung des Fütterungsversuches, die Beseitigung aller Hindernisse und die tröstenden Worte nach der Schlachtung meiner Schweine.

... Herrn Prof. Dr. Zentek für die Betreuung meiner Doktorarbeit.

... Herrn Martin Rößler für seine Unterstützung.

... meinem Mann Robert für seine Motivation, seine Aufmunterungen und das Rückenstärken.

... natürlich meinen Eltern, die mich auf meinem Weg stets unterstützt haben und immer für mich da sind.



## **Selbstständigkeitserklärung**

Hiermit bestätige ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig angefertigt habe. Ich versichere, dass ich ausschließlich die angegebenen Quellen und Hilfen in Anspruch genommen habe.

29.03.2021  
Datum

Franziska Brenneis  
Name











**mbv**berlin mensch und buch verlag

49,90 Euro | ISBN: 978-3-96729-107-0