

Aus dem Department für Veterinärwissenschaften der Tierärztlichen
Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München

Arbeit angefertigt unter der Leitung von Prof. Dr. Ellen Kienzle

**Untersuchungen zum „Carry-over“ von
Perfluorierten Tensiden aus Futtermitteln und
Tränkwasser in tierische Lebensmittel am
Modell der Legewachtel**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde

der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität

München

von

Julia Karoline Dennhöfer

aus München

München 2011

Gedruckt mit der Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Braun

Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Kienzle

Korreferent: Priv.-Doz. Dr. Schalch

Tag der Promotion: 12. Februar 2011

Meinen Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

1.	EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG	1
2.	LITERATURÜBERSICHT	3
2.1	<i>Allgemeines zu Perfluorierten Tensiden.....</i>	<i>3</i>
2.1.1	Verwendung von Perfluorierten Tensiden	3
2.1.1.1	Perfluoroctansulfonat	3
2.1.1.2	Perfluoroctansäure	4
2.1.2	Identität, chemische und physikalische Stoffeigenschaften	5
2.1.2.1	Perfluoroctansulfonat	6
2.1.2.2	Perfluoroctansäure	7
2.1.3	Synthese.....	8
2.1.3.1	Elektrochemische Fluorierung	8
2.1.3.2	Fluortelomerisierung	8
2.2	<i>Vorkommen und Verteilung.....</i>	<i>9</i>
2.2.1	Daten zu Produktion und Emission	10
2.2.1.1	Perfluoroctansulfonat	10
2.2.1.1.1	Produktion	10
2.2.1.1.2	Emission	11
2.2.1.2	Perfluoroctansäure	12
2.2.1.2.1	Produktion	12
2.2.1.2.2	Emission	12
2.2.2	Verteilungsmechanismen.....	14
2.2.2.1	Verteilung in der Umwelt.....	14
2.2.2.2	Eintragswege in den menschlichen Organismus.....	15
2.2.3	Belastung von Gewässern	16
2.2.4	Auftreten in Nahrungsmitteln.....	17
2.2.5	Messdaten in der Bevölkerung	18
2.2.6	Messdaten in wildlebenden Tieren.....	20
2.3	<i>Toxikologie.....</i>	<i>21</i>
2.3.1	Subchronische und chronische Toxizität	21
2.3.1.1	Perfluoroctansulfonat	21
2.3.1.2	Perfluoroctansäure	22
2.3.2	Genotoxisches und kanzerogenes Potential	23
2.3.2.1	Perfluoroctansulfonat	23
2.3.2.2	Perfluoroctansäure	24
2.3.3	Reproduktionstoxizität.....	25
2.3.3.1	Perfluoroctansulfonat	25
2.3.3.2	Perfluoroctansäure	26

2.3.4	Toxikokinetik	27
2.3.5	Wirkmechanismus.....	28
2.3.5.1	Wirkung auf zellulärer und subzellulärer Ebene	29
2.3.5.2	Wirkung auf das endokrine System	31
2.4	<i>Risikobewertung</i>	32
2.4.1	Risikobewertung auf nationaler Ebene.....	33
2.4.2	Risikobewertung auf internationaler Ebene	35
3.	MATERIAL UND METHODEN	38
3.1	<i>Versuchstiere</i>	38
3.2	<i>Versuchstierhaltung</i>	39
3.3	<i>Herstellung des Versuchsfutters und des -tränkwassers</i>	40
3.3.1	Versuchsfutter	40
3.3.2	Versuchstränkwasser	42
3.4	<i>Versuchsdurchführung</i>	43
3.4.1	Fütterungsversuch	44
3.4.2	Regenerationsversuch.....	45
3.4.3	Tränkeversuch.....	46
3.5	<i>PFT-Analyse</i>	47
3.6	<i>Statistik</i>	48
4.	ERGEBNISSE	49
4.1	<i>Tierleistungsparameter</i>	49
4.1.1	Fütterungsversuch	49
4.1.2	Regenerationsversuch.....	52
4.1.3	Tränkeversuch.....	54
4.2	<i>Organgewichte</i>	57
4.2.1	Fütterungsversuch	57
4.2.2	Tränkeversuch.....	58
4.3	<i>PFT-Messwerte</i>	59
4.3.1	Eier	60
4.3.1.1	Fütterungsversuch	60
4.3.1.2	Regenerationsversuch.....	61
4.3.1.3	Tränkeversuch.....	63
4.3.2	Gewebe	64
4.3.2.1	Fütterungsversuch	64
4.3.2.2	Tränkeversuch.....	66

5.	DISKUSSION	69
5.1	<i>Tierleistungsparameter</i>	69
5.2	<i>Organgewichte</i>	80
5.3	<i>Tatsächliche Aufnahme von PFOS und PFOA.....</i>	83
5.3.1	Versuchsfutter	83
5.3.2	Tränkwasser	84
5.4	<i>Bestimmung von NOAELs und LOAELs.....</i>	85
5.5	<i>PFT Messwerte.....</i>	85
5.5.1	Eier	86
5.5.2	Organe	93
5.6	<i>Verteilungsmuster im Organismus</i>	98
6.	ZUSAMMENFASSUNG.....	104
7.	SUMMARY	106
8.	LITERATURVERZEICHNIS	108
9.	ANHANG	127
9.1	<i>Tabellenverzeichnis.....</i>	127
9.2	<i>Abbildungsverzeichnis</i>	128
9.3	<i>Danksagung.....</i>	130

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

AFFFs	Aqueous Fire Fighting Foams
APFO	Ammonium Perfluorooctanoat
BfR	Bundesinstitut für Risikobewertung
BMDL	Benchmark Dose Lower Confidence Limit
BVL	Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit
CAS	Chemical Abstracts Service
CoA	Coenzym A
EFSA	European Food Safety Authority
EG	Europäische Gemeinschaft
EPA	Environmental Protection Agency
EWG	Environmental Working Group
FOCs	Fluorinated Organic Compounds
GV-SOLAS	Gesellschaft für Versuchstierkunde - Society for Laboratory Animal Science
HMG	β -Hydroxy- β -methyl-glutarylsäure
i. p.	intra peritoneal
IgM	Immunglobulin M
KGW	Körpergewicht
LOAEL	Lowest Observed Adverse Effect Level
NADPH	Nikotinsäureamid-Adenin-Dinukleotid-Phosphat (protonierte Form)
NHANES	National Health And Nutrition Examination Survey
NOAEL	No Observed Adverse Effect Level
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development
OW	Office of Water
Pa	Pascal
PFA	Perfluorinated Fatty Acids
PFAAs	Perfluoroalkyl Acids
PFAS	Perfluorierte Alkylsulfonate
PFCA	Perfluorierte Alkylcarbonsäuren
PFCs	Perfluorinated Compounds
PFOA	Perfluorooctansäure
PFOS	Perfluorooctansulfonsäure

PFT	Perfluorierte Tenside
POP	Persistent Organic Pollutant
POSF	Perfluoroktansulfonylfluorid
PPAR	Peroxisomen-Proliferator-aktivierter-Rezeptor
TDI	Tolerable Daily Intake
TS	Trockensubstanz
US	Ursprüngliche Substanz
U.S. EPA	United States Environmental Protection Agency
v.	vena

1. Einleitung und Problemstellung

Perfluorierte Tenside (PFT) sind keine neue Stoffgruppe. Seit über 50 Jahren werden sie in der Industrie eingesetzt. Sie kommen unter natürlichen Bedingungen nicht vor, sondern werden seit den späten neunzehnhundertvierziger Jahren synthetisch hergestellt. Aufgrund ihrer besonderen Molekülstruktur besitzen sie neben wasserabweisenden Eigenschaften auch die Fähigkeit als Bestandteile von Oberflächenbeschichtungen vor Fetten und fetthaltigem Schmutz zu schützen. Sie sind sehr stabil und unempfindlich gegenüber chemischen und physikalischen Einflüssen. Diese Eigenschaften führten seit den neunzehnhundertsiebziger Jahren zu einem breiten Einsatz dieser Stoffgruppe. Neben Anwendungen in der Spezialindustrie wie der Photolithographie oder der Halbleiterherstellung, werden Perfluorierte Tenside auch in verbrauchernahen Produkten wie funktioneller Kleidung, Imprägniersprays für Möbel oder Kosmetika verwendet.

In Deutschland gerieten sie im Jahre 2006 durch den sogenannten „Düngemittelskandal“ in den Fokus des öffentlichen Interesses. In Wasserproben von mehreren Nebenflüssen des Rheins wurden erhöhte Gehalte verschiedener Perfluorierter Tenside nachgewiesen, nachdem falsch deklariertes kontaminierter Klärschlamm auf benachbarte landwirtschaftliche Flächen ausgebracht worden war (Stahl et al., 2007; Umweltbundesamt, 2009).

Abgesehen von punktuellen Quellen wie in diesem Beispiel, ist das Verständnis über die Eintragswege der Perfluorierten Tenside in die belebte und unbelebte Umwelt noch in den Anfängen. Es ist nicht klar, wie viele produzierende Werke weltweit existieren und auch über die Produktionsmenge liegen nur Schätzwerte vor. In welchem Umfang also PFT in die Umwelt gelangen und welche Mechanismen zu ihrer weltweiten Verbreitung beitragen ist bisher ebenso wenig abschließend geklärt, wie die Wege auf denen PFT in den Organismus gelangen und welche Wirkung sie in diesem entfalten. Toxische Auswirkungen traten im Tierversuch in der Regel erst bei Serumkonzentrationen auf, die in Blutproben der nicht beruflich exponierten Bevölkerung gemessene Werte deutlich übersteigen.

Dennoch gibt die Fähigkeit der Perfluorierten Tenside zur Bioakkumulation und Biomagnifikation Anlass zur Besorgnis.

In der vorliegenden Arbeit soll der Eintrag der Perfluorierten Tenside in die Nahrungskette näher beleuchtet werden. In der Vergangenheit standen vor allem zwei Vertreter dieser Stoffgruppe im Mittelpunkt des wissenschaftlichen Interesses. Perfluorooctansulfonat (PFOS) und Perfluorooctansäure (PFOA). Sie wurden unter den Perfluorierten Tensiden bisher am häufigsten und in den höchsten Konzentrationen in menschlichem und tierischem Probenmaterial nachgewiesen und stellen daher auch den Gegenstand der Untersuchung in dieser Arbeit dar.

Weiblichen japanischen Legewachteln, als Modell für ein lebensmittellieferndes Tier, wurden hierfür sechs Wochen lang eine definierte Menge von PFOS und PFOA über das Futter beziehungsweise das Tränkwasser verabreicht. Anschließend wurden die Gehalte an PFOS und PFOA in Fleisch und Eiern, sowie der Leber gemessen. Auf diese Weise sollen Informationen darüber gewonnen werden, in welchem Ausmaß PFOS und PFOA in der Lage sind aus Wasser und Nahrung in den tierischen Organismus über zu treten und somit in die menschliche Nahrungskette zu gelangen. Gerade im Hinblick auf eine Gefährdung des Verbrauchers sollen so auch Anhaltspunkte für die Bewertung von PFT-Gehalten in Futtermitteln gewonnen werden.

Eine systematische Untersuchung von Nahrungsmitteln auf PFT-Gehalte wird derzeit noch nicht durchgeführt. Die Erkenntnisse aus dieser Arbeit sollen jedoch für die Zukunft helfen, anhand der PFT-Gehalte in Nahrungsmitteln Rückschlüsse auf die regionale Umweltbelastung mit bestimmten Perfluorierten Tensiden zu ziehen.

2. Literaturübersicht

2.1 Allgemeines zu Perfluorierten Tensiden

Die Bezeichnungen für die Gruppe der Perfluorierten Tenside wurden in der Vergangenheit nicht einheitlich gehandhabt. So werden in der Literatur mehrere Begriffe verwendet, die synonym für PFT stehen. Dies sind unter anderem: FOCs (Fluorinated Organic Compounds), PFCs (Perfluorinated Compounds), PFAAs (Perfluoroalkyl Acids), PFAS (Perfluorinated Alkyl Substances) und PFA (Perfluorinated Fatty Acids).

2.1.1 Verwendung von Perfluorierten Tensiden

Die Anwendungen der PFT sind vielfältig. Es sind bis heute weder alle Produkte bekannt, die PFT enthalten, noch gibt es gesicherte Daten zu den weltweiten Produktionsmengen, oder über die genaue Anzahl der PFT-produzierenden Werke (Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD), 2002). Die äußerst nützlichen Eigenschaften der Perfluorierten Tenside führten zu einem breiten Einsatz nicht nur in der Spezialindustrie, wie der Halbleiterherstellung und der Photolithographie, sondern auch in einer Vielzahl von Verbraucherprodukten. In nahezu jedem Haushalt finden sich Artikel, die Perfluorierte Tenside enthalten oder unter deren Verwendung hergestellt werden. DuPonts Teflon®, 3Ms Scotchgard™ Reihe oder die Marke Gore-Tex® seien hier nur als einige der bekanntesten Vertreter angeführt (Environmental Working Group (EWG), 2003).

Wie eingangs beschrieben sind die bisher am besten untersuchten Vertreter dieser Stoffgruppe Perfluorooctansulfonat (PFOS) und Perfluorooctansäure (PFOA). Sie sind chemisch synthetisierte anionische Tenside, die in spezialisierten Chemiewerken hergestellt und zur weiteren Verarbeitung an die Produzenten der entsprechenden Verbraucherprodukte abgegeben werden.

2.1.1.1 Perfluorooctansulfonat

Nach Aussage des bisher größten Produzenten von PFOS wird dieses in der Regel nicht als Reinsubstanz verwendet, sondern stellt eine anteilmäßig kleine

Komponente in einem Gemisch sogenannter PFOS-verwandter Stoffe dar, die wiederum zu den fertigen Verbraucherprodukten und Spezialanwendungen weiterverarbeitet werden. Ausgangsstoff ist Perfluorooctansulfonylfluorid (POSF), das wiederum in N-Alkylsulfonamide überführt wird, die anschließend in den fertigen Produkten Anwendung finden (Olsen et al., 2007). Dieses sind zum Beispiel Produkte zur Versiegelung von Teppichen, Kleidung und Polstermöbeln. Die Papierindustrie nutzt PFOS-verwandte Stoffe unter anderem zur fettabweisenden Behandlung von Papier und Kartonagen zur Verpackung von Lebensmitteln. Aber auch spezialisierte Anwendungen von PFOS-verwandten Substanzen zum Beispiel in der Galvanotechnik, der Photolithographie, als Fließhilfsstoffe, als Surfactants bei der Ölgewinnung oder Zusätze zu Hydraulikflüssigkeiten stellen ein wichtiges Marktsegment dar (OECD, 2002). Ab den neunzehnhundertsiebziger Jahren gewannen PFOS-haltige Löschschäume (AFFFs, aqueous fire fighting foams) aufgrund ihrer Wirksamkeit, einfachen Anwendbarkeit und langen Haltbarkeit an Bedeutung (Paul et al., 2009).

2.1.1.2 Perfluorooctansäure

Die Natrium- und Ammoniumsalze von PFOA werden in der Hauptsache als Prozesshilfsstoffe in der Herstellung von Fluorpolymeren wie Polytetrafluorethylen (Teflon®) und Polyvinylidenfluorid verwendet. Sie dienen als Lösungsvermittler für Fluormonomere, um deren Polymerisation zu erleichtern. (Lehmler, 2005; Prevedouros et al., 2006). PFOA wird außerdem als Zwischenprodukt für die Herstellung von Fluorakrylestern, die Bestandteile von Industriefarben sind, verwendet (United States Environmental Protection Agency (U.S. EPA), 2002).

Prevedouros et al. (2006) erwähnten in ihrer Arbeit, dass weitere Anwendungen für Perfluorierte Alkylcarbonsäuren, zu denen unter anderem PFOA zählt, zum Patent angemeldet wurden. Darunter waren Tinten, Lacke, Bodenpolituren, Luftfrischer und sogar medizinische Inhalatoren. Ob diese jedoch in die Produktion gelangt sind, ist unklar.

Die Environmental Working Group, eine gemeinnützige Umweltorganisation, hat

den amerikanischen Markt nach Produkten durchsucht, die in der Liste ihrer Inhaltsstoffe bekanntermaßen PFT-haltige Marken wie Teflon®, Gore-Tex™, Scotchgard® oder direkt Perfluorierte Tenside aufführen. Dabei fanden sie so bekannte Namen wie Hugo Boss, Prada, Levi's, iMac und Produktgruppen wie Zahnseide, Verbandsscheren und Gitarrensaiten (EWG, 2003).

2.1.2 Identität, chemische und physikalische Stoffeigenschaften

Tenside sind chemische Verbindungen, die aus einer polaren, hydrophilen Kopfgruppe und einem unpolaren, lipophilen Anteil bestehen. Sie setzen die Oberflächenspannung von Wasser herab und unterstützen wegen ihres amphiphilen Charakters die Bildung von Emulsionen. Während die polare Gruppe sehr variabel sein kann, ist der unpolare Molekülteil meist eine Kohlenwasserstoffkette.

Die Perfluorierten Tenside zeichnen sich dadurch aus, dass sämtliche, Wasserstoffatome am Kohlenstoffgerüst durch Fluoratome substituiert sind. Sie werden nach der Art ihrer polaren Kopfgruppe in drei Stoffgruppen eingeteilt. Die Perfluorierten Alkylsulfonate (PFAS), die eine Sulfonat-Gruppe als polaren Rest tragen, die Perfluorierten Alkylcarbonsäuren (PFCA), deren polarer Rest eine Carbonsäure-Gruppe darstellt, und schließlich die Fluortelomeralkohole (FTOH), die eine Hydroxygruppe und außerdem zwei nicht fluorierte Kohlenstoffatome enthalten (Fricke, 2005). Im Folgenden soll auf die Fluortelomeralkohole nicht näher eingegangen werden, da die Datenlage zur toxikologischen Bedeutung dieser Stoffgruppe noch sehr unvollständig ist.

Da bei den Perfluorierten Tensiden (mit Ausnahme der Fluortelomeralkohole), im Unterschied zu den Kohlenwasserstofftensiden, sämtliche Wasserstoffatome am Kohlenstoffgerüst durch Fluoratome ersetzt sind, ist durch die starke Elektronegativität der Fluoratome die Kohlenstoff-Fluor-Bindung polar und die Azidität der PFT im Vergleich zu ihren analogen Kohlenwasserstofftensiden erhöht. Die freie Säure liegt daher in wässrigen Lösungen in der Regel deprotoniert vor. Die Kohlenstoff-Fluor-Bindung zählt zu den stabilsten Bindungen in der organischen Chemie, wodurch die PFT eine extreme

Widerstandsfähigkeit gegenüber biologischen, chemischen und physikalischen Einflüssen aufweisen (Fricke, 2005).

2.1.2.1 Perfluoroctansulfonat

Die Bezeichnung Perfluoractansulfonat beschreibt das Anion der Perfluoroctansäure. Da die freie Säure, wie weiter oben erwähnt, in wässrigen Lösungen deprotoniert vorliegt, wird die Bezeichnung Perfluoroctansulfonat häufig synonym für Säure und Anion verwendet. Gleiches gilt für das Akronym PFOS.

Für jede bekannte chemische Verbindung und alle ihre Isomere existiert eine einmalig vergebene CAS-Nummer (CAS = Chemical Abstracts Service). Da chemische Bezeichnungen oder Trivialnamen nicht immer einheitlich gebraucht werden, kann mit Hilfe der CAS-Nummer der entsprechende Stoff eindeutig identifiziert werden.

Die CAS-Nummer der freien Säure von PFOS lautet 1763-23-1.

Das Kohlenstoffgerüst von Perfluoroctansulfonat besteht aus acht Kohlenstoffatomen und trägt als polare Kopfgruppe einen Schwefelsäurerest. Die Summenformel von Perfluoroctansulfonat lautet $C_8F_{17}SO_3^-$.

Neben der freien Säure und ihrem Anion sind unter anderem das Kalium-, das Ammonium-, das Lithium- und das Diethanolamin-Salz beschrieben (OECD, 2002).

Tabelle 1 zeigt einige physikalische und chemische Größen des Kaliumsalzes von PFOS. Es hat einen sehr niedrigen Dampfdruck und scheint daher nicht flüchtig zu sein. Es ist sehr hitzestabil und mäßig gut wasserlöslich. In Octanol/Wasser bildet PFOS mehrere Schichten, was die Bestimmung des Octanol/Wasser-Verteilungskoeffizienten (K_{ow}), der bei der Beurteilung der Umwelttoxizität einer chemischen Verbindung von Bedeutung ist, unmöglich macht (European Food Safety Authority (EFSA), 2008).

Tabelle 1 Physikalische und chemische Größen des Kaliumsalzes von PFOS

Modifiziert nach OECD, 2002; EFSA, 2008	
PFOS, Kaliumsalz	
Schmelzpunkt	≥ 400 °C
Siedepunkt	Nicht bestimmbar
Dampfdruck (bei 20°C)	3,31 x 10 ⁻⁴ Pa
Löslichkeit in destilliertem Wasser	570 mg/L
Löslichkeit in Süßwasser	370 mg/L
Löslichkeit in Salzwasser	12,4 mg/L
Log K _{ow}	Nicht bestimmbar

2.1.2.2 Perfluorooctansäure

Die CAS-Nummer der freien Säure lautet: 335-67-1.

Das Kohlenstoffgerüst von PFOA besteht ebenfalls aus acht Kohlenstoffatomen. Es hat die Summenformel C₈HF₁₅O₂.

Neben der freien Säure werden häufig das Ammonium-, das Natrium-, das Kalium- und das Silbersalz verwendet.

In Wasser dissoziiert die Perfluorooctansäure und das entstehende Anion sammelt sich in einer Schicht am Übergang zwischen Luft und Wasser. Es wurde auch eine gute Wasserlöslichkeit für PFOA beschrieben, wobei unklar bleibt, ob die Beobachtungen auf echter Löslichkeit, oder der Bildung und Dispersion von Mizellen beruht (U.S. EPA, 2002).

Tabelle 2 zeigt einige physikalische und chemische Kenngrößen des Anions der Perfluorooctansäure. Es hat einen sehr geringen Dampfdruck und ist gut wasserlöslich. Der Octanol/Wasser-Verteilungskoeffizient ist aus den gleichen Gründen wie für PFOS nicht bestimmbar.

Tabelle 2 Physikalische und chemische Größen der freien Säure von PFOA

Modifiziert nach EFSA 2008; U.S. EPA, 2002	
PFOA, freie Säure	
Schmelzpunkt	45-50°C
Siedepunkt	189-192°C
Dampfdruck (bei 20°C)	0,1 kPa
Löslichkeit in destilliertem Wasser	3,4 g/L; 9,5 g/L bei 25°C
Log K _{ow}	Nicht bestimmbar

2.1.3 Synthese

Für die industrielle Herstellung von Perfluorierten Tensiden werden in der Hauptsache zwei Verfahren angewandt. Die elektrochemische Fluorierung nach Simons und die Fluortelomerisierung.

2.1.3.1 Elektrochemische Fluorierung

Bei der elektrochemischen Fluorierung wird eine elektrische Spannung an eine Lösung aus Tensiden und Fluorwasserstoff angelegt. Hierbei werden die Wasserstoffatome am Kohlenstoffgerüst des Tensids durch Fluoratome substituiert. Es entstehen verschiedene Zwischenprodukte die durch Hydrolyse und anschließende Ansäuerung in PFOS bzw. PFOA überführt werden (Fricke, 2005). Die U.S. EPA gibt den Gehalt an dem gewünschten linearen Zwischenprodukt bei der Synthese von PFOA mit 30-45% an. Neben dem gewünschten Endprodukt entstehen bei der elektrochemischen Fluorierung eine Vielzahl von Nebenprodukten, wie kürzer- oder längerkettige, verzweigt-kettige oder zyklische fluorierte organische Verbindungen. Trotz der relativ geringen Ausbeute ist dieses Verfahren eine einfache und kostengünstige Alternative und wurde nach Angaben der U.S. EPA vom weltweit größten Produzenten für PFOA, 3M (Minnesota Mining and Manufacturing), in der Hauptsache genutzt (U.S. EPA, 2002).

2.1.3.2 Fluortelomerisierung

Bei der Fluortelomerisierung reagiert ein Telogen wie Pentafluorethyljodid mit dem zu telomerisierenden Tetrafluorethylen. Das daraus entstandene

Telomeriodid reagiert über die Bildung von freien Radikalen mit Ethylen. Die so entstandene Iodidmischung enthält hauptsächlich unverzweigte Verbindungen konstanter Kettenlänge. Mittels Destillation können die gewünschten Substanzen isoliert werden (Fricke, 2005; U.S. EPA, 2002).

2.2 Vorkommen und Verteilung

Hinweise, dass Vertreter der Perfluorierten Tenside, sei es durch Freisetzung aus Verbraucherprodukten oder durch Industrieemissionen, in den menschlichen Organismus gelangen können, gibt es in der wissenschaftlichen Literatur schon seit Ende der neunzehnhundertsechziger Jahre. Der amerikanische Zahnmediziner Dr. Donald Taves (1968) stellte damals fest, dass bei der Veraschung von menschlichen Serumproben ein höherer Fluoridgehalt gemessen werden kann als bei der üblichen Methode zur Bestimmung des Serumfluoridspiegels ohne vorausgehende Veraschung. Da sich dieses „zusätzliche Fluorid“ gleichzeitig mit dem Serumalbumin aufkonzentrieren lässt und nicht ultrafiltrierbar war, schloss Taves daraus, dass es sich um ein großes, proteingebundenes Molekül handelt, das außerdem sehr stabil ist, da es durch Veraschung nicht zerstört wird. Er vermutete, dass es sich um eine fluorierte Kohlenstoffverbindung handelt und hatte damals schon gewisse Chemiewerke als Emissionsquellen in Verdacht.

Lange Zeit wurde der Stoffgruppe der Perfluorierten Tenside jedoch hinsichtlich ihrer ökologischen und toxikologischen Relevanz wenig Bedeutung beigemessen. Erst in den neunzehnhundertneunziger Jahren begann die U.S. amerikanische Umweltbehörde U.S. EPA mit der systematischen Sammlung und Auswertung von Daten über die Verbreitung und das Gefährdungspotential von PFOS. Dabei ergaben sich Hinweise, dass dieser Stoff bereits über den gesamten Planeten verteilt in der Natur auftritt, biologisch nicht abbaubar ist, sich außerdem in menschlichem und tierischem Gewebe anreichert und zur Bioakkumulation neigt. In tierexperimentellen Studien konnte zudem eine Reihe an toxischen Wirkungen gezeigt werden (s. Abschnitt 2.3). Diese besorgniserregenden Befunde veranlassten die Behörde, an den weltweit größten Produzenten von PFOS heran zu treten. Nach eigenen Angaben entschied sich der Konzern daraufhin, im Mai 2000 aus der Produktion von PFOS und PFOS-verwandten Substanzen

auszusteigen und hat dieses Vorhaben bis zum Jahre 2002 umgesetzt.

Anlässlich der Erkenntnisse über PFOS geriet auch ein zweiter Vertreter der Perfluorierten Tenside, PFOA, in den Fokus der Behörde. Im Jahre 2006 rief die U.S. EPA das 2010/2015 PFOA Stewardship Programm ins Leben und bat die acht größten Produzenten von PFOA um die Teilnahme. Die Firmen verpflichteten sich, auf der Basis ihrer Angaben für das Jahr 2000 eine 95%ige Reduktion ihrer Produktionsmengen bis zum Jahr 2010 einzuhalten und bis 2015 ganz aus der Produktion auszusteigen (Homepage der U.S. EPA).

In der Zwischenzeit wurden Perfluorierte Tenside in einer Vielzahl von Proben der belebten und unbelebten Umwelt nachgewiesen. Dabei zeigten sich zwar höhere Gehalte in der Nähe bewohnter und industriell genutzter Gebiete (Fromme et al., 2009), jedoch konnten Spuren von Perfluorierten Tensiden auch in entlegenen Regionen nachgewiesen werden. Die Verteilungsmechanismen sind bisher noch nicht in allen Einzelheiten aufgeklärt (s. Abschnitt 2.2.2).

2.2.1 Daten zu Produktion und Emission

2.2.1.1 Perfluorooctansulfonat

Paul et al. gaben im Jahr 2009 eine Bestandsaufnahme zur weltweiten Produktion und Emission von PFOS ab. Da ausführliche Angaben zu diesem Thema nicht vorliegen, schätzten die Autoren die weltweite Gesamtproduktion anhand der in der Literatur verfügbaren Angaben.

2.2.1.1.1 Produktion

Nach Aussage des weltweit größten Produzenten, wurde aus der Stoffgruppe der Perfluorierten Alkylsulfonate (PFAS) in ihren Werken hauptsächlich der Stoff Perfluorooctansulfonylfluorid (POSF) für den kommerziellen Gebrauch produziert. In Umweltproben wird jedoch in einem sehr viel größeren Ausmaß PFOS nachgewiesen, was die Vermutung nahe legt, dass POSF in einem gewissen Umfang zu PFOS umgewandelt wird. Darüber hinaus enthielten die kommerziell angebotenen POSF-Produkte zu einem Prozentsatz von 0,1-5% PFOS als Verunreinigung. Die Herstellung von PFAS durch den Konzern begann im Jahre

1949 und wurde in den Jahren 2000 bis 2002 auf das Einwirken der U.S. EPA hin eingestellt. Da vor den neunzehnhundertsiebziger Jahren nur geringe Mengen an PFAS produziert wurden, schätzten Paul et al. (2009) die Gesamtproduktion von POSF für den Zeitraum zwischen 1970 und 2002. Die Autoren kamen für diesen Zeitraum auf ein Produktionsvolumen von 96000 Tonnen POSF. Zusätzlich entstanden schätzungsweise 26500 Tonnen an Neben- und Abfallprodukten. Die Gesamtmenge an willentlich produziertem PFOS über diesen Zeitraum wird von den Autoren auf etwa 470 Tonnen geschätzt.

2.2.1.1.2 Emission

Paul et al. (2009) schätzen indirekte Emissionen über den Abbau von Vorläufer Substanzen oder Verunreinigungen anderer PFAS als die bedeutendste Quelle für POSF beziehungsweise PFOS ein. Der weltweit größte Produzent gibt den Anteil an der absoluten Menge an indirekten Emissionen für POSF für die Freisetzung aus Konsumprodukten mit 85% an. Lediglich 15% stammen direkt aus der Produktion. Da über den tatsächlichen Anteil der einzelnen Produktgruppen an der Produktionsmenge von Fluorchemikalien des Konzerns keine Informationen vorliegen, wurden diese Größen anhand verfügbarer Daten aus dem vereinigten Königreich und Kanada geschätzt. Hierüber ergaben sich für Teppiche 14-48%, für Bekleidung 43-48% und für Papier und Verpackungsmaterialien 15-28%. Auf Feuerlöschschäume entfallen lediglich 6-16% und auf andere Anwendungen 8-20%.

Während der Primärproduktion von POSF anfallende Abfall- und Nebenprodukte entstehen zu 90% als Feststoff und wurden in der Vergangenheit in der Regel über Deponierung entsorgt. Der Beitrag dieser Form der Beseitigung zur Gesamtbelastung der Umwelt ist unklar und wurde daher für die Schätzungen außer Acht gelassen. Für die Emissionen über Luft und Wasser schätzten Paul et al. (2009) Werte zwischen 435 und 575 Tonnen für Luft beziehungsweise zwischen 230 und 1450 Tonnen für Wasser für den Zeitraum zwischen 1970 und 2002.

Bei der Weiterverarbeitung zu Verbraucherprodukten für diesen Zeitraum entstandene Emissionen an POSF wurden von den Autoren auf 56 Tonnen für

Luft und auf 2570 Tonnen für Wasser geschätzt.

Die Freisetzung von POSF in Luft und Wasser aus den fertigen Verbraucherprodukten wurde auf 235 Tonnen beziehungsweise 42000 Tonnen geschätzt. Bei einem angenommenen Anteil an PFOS als Verunreinigung während der Produktion von POSF von 0,1 bis 5%, schätzten die Autoren eine Freisetzung von 45 bis 4900 Tonnen in Luft und Wasser. Eventuelle Umwandlungsprozesse von POSF in PFOS wurden hierbei vernachlässigt.

2.2.1.2 Perfluorooctansäure

Besser belegt sind Zahlen zur Produktion und Emission von Perfluorierten Alkylcarbonsäuren. Prevedouros et al. gaben im Jahre 2004 eine Schätzung der Gesamtmenge des Eintrags von PFCA im Allgemeinen und Perfluorooctanoat, dem Anion der Perfluorooctansäure im Besonderen ab. Ihre Annahmen beziehen sich dabei meist auf den Zeitraum zwischen 1960 und 2002, da hier der Großteil der Produktion stattfand.

2.2.1.2.1 Produktion

PFOA wird seit 1947 industriell hergestellt. Die geschätzte weltweite Produktionsmenge an APFO, dem Ammonium-Salz der Perfluorooctansäure, betrug für den Zeitraum zwischen 1951 bis 2004 zwischen 400 und 700 Tonnen. APFO dient in der Hauptsache als Prozesshilfsstoff bei der Herstellung von Fluorpolymeren. Prevedouros et al. (2004) geben an, dass im Jahr 2002 weltweit 33 Werke zur Herstellung von Fluorpolymeren in Betrieb waren. Die zur Erzeugung von Fluorpolymeren eingesetzte Menge an APFO wird zu etwa 62% durch thermische Einwirkungen zerstört und bleibt zu etwa 38% als Produktionsabfall erhalten.

2.2.1.2.2 Emission

Die Verteilung der bei der Herstellung von Fluorpolymeren anfallenden Restmengen an APFO erfolgte im Jahr 1999 zu 61% über Emissionen, 7% wurden zerstört, 14% wurden wieder verwendet und 7% blieben als Verunreinigung im Endprodukt zurück. Somit sind die Emissionen während der Herstellung von

Fluorpolymeren als die größte Eintragsquelle von PFOA, APFO und anderen Perfluorierten Alkylcarbonsäuren zu sehen. Bemühungen der Fluorpolymerhersteller, die anfallenden PFCA wieder in den Produktionsprozess einzubringen, hat die Umweltbelastung mit diesen Substanzen in den letzten Jahren deutlich verringert.

Aber auch bei der Herstellung von Perfluorierten Alkylcarbonsäuren selbst entstehen Emissionen. So geben Prevedouros et al. (2004) für das größte Werk in den USA an, dass im Jahr 2000 ca. 5-10% der Jahresproduktionsmenge (das entspricht ca. 20 Tonnen) als Emissionen in die Umwelt abgegeben wurden, davon 5% über Luft und 95% über Wasser.

Über den Einsatz von PFCA-haltigen Feuerlöschschäumen wurden etwa 50 bis 100 Tonnen an Perfluorierten Alkylcarbonsäuren in Ökosysteme eingebracht.

Die Gesamtmenge der aus Konsumprodukten freigesetzten PFCA liegt etwa im Bereich von 40 bis 200 Tonnen.

Neben den direkten Emissionen tragen auch die indirekten Emissionen über Verunreinigungen anderer PFT mit PFCA oder deren Abbau zu Perfluoralkylcarbonsäuren zur Umweltbelastung bei. Dies vermutet man für Vertreter der Perfluorierten Alkylsulfonsäuren und der Fluortelomeralkohole. So geben Prevedouros et al. (2004) eine mögliche Gesamtmenge von 30,3-350 Tonnen an PFCA an, die durch die POSF-Herstellung, POSF-haltige Verbraucherprodukte und Feuerlöschschäume, sowie die Herstellung von Fluortelomeralkoholen, oder unter deren Verwendung hergestellter Produkte in die Umwelt gelangt sein könnte.

Die historische Gesamtmenge an PFCA, die in die Natur abgegeben wurden, schätzen die Autoren auf 3200 bis 7300 Tonnen, wobei sie davon ausgehen, dass Perfluorooctansäure, die in der Umwelt sehr wahrscheinlich vollständig deprotoniert als Perfluorooctanoat vorliegt, etwa 85% dieser Menge ausmacht. Dies entspricht einer geschätzten Gesamtemission von 2700 bis 6200 Tonnen PFOA.

2.2.2 Verteilungsmechanismen

2.2.2.1 Verteilung in der Umwelt

Obwohl Perfluorierte Tenside, in der Hauptsache PFOS und PFOA, in Proben aus Umwelt und tierischen Geweben in der Nähe von dicht besiedelten Gebieten und Industriestandorten in deutlich höheren Konzentrationen gemessen wurden, wurden sie auch in Gebieten weitab von möglichen direkten Emissionsquellen nachgewiesen (Houde et al., 2006). Dieser Umstand legte die Vermutung nahe, dass Mechanismen existieren, über die Perfluorierte Tenside über lange Strecken hinweg transportiert werden können. Die Untersuchungen zu diesem Thema sind noch nicht abgeschlossen, jedoch gibt es Hinweise, dass der Transport über Wasser eine wichtige Rolle spielt (Stahl et al., 2007; EFSA, 2008).

Auch eine Verteilung über die Atmosphäre wird diskutiert. Dabei ist es nicht sehr wahrscheinlich, dass die in der Regel nicht flüchtigen Verbindungen PFOS und PFOA aus Lösungen selbst in die Atmosphäre übertreten und auf diesem Wege transportiert werden. Vielmehr wird angenommen, dass eine Verteilung über flüchtige Vorläufersubstanzen, wie die Fluortelomeralkohole, stattfindet (Renner, 2004). Für diese konnte gezeigt werden, dass sie unabhängig von der Anwesenheit von Hydroxyl-Radikalen bis zu 20 Tage stabil bleiben. Andere Mechanismen, die neben Hydroxyl-Radikalen zur Entfernung organischer Substanzen aus der Atmosphäre beitragen (Reaktion mit Chloratomen, Ozon, Photolyse, trockene und feuchte Deposition), zeigten sich als wenig bedeutsam im Falle der Fluortelomeralkohole (Ellis et al., 2003).

Zunächst erschien es unklar, auf welchem Weg die Fluortelomeralkohole in PFCA umgewandelt werden, da die durch Hydroxyl-Radikale in der Atmosphäre initiierte Reaktionskaskade schrittweise fluorierte Kohlenstoffatome eliminiert und so zu einer Zerstörung des FTOH-Moleküls und bekanntermaßen nicht zur Bildung von PFCA führt. Neuere Untersuchungen konnten jedoch zeigen, dass während dieses Prozesses Zwischenprodukte entstehen, die wiederum mit Peroxyl-Radikalen unter Bildung von PFCA reagieren können. Dieser Prozess kann jedoch nur in wenig besiedelten Regionen stattfinden, in denen die Gehalte

an Stickoxiden in der Atmosphäre geringer sind, da diese sonst die für die Reaktion benötigten Peroxyl-Radikale aufbrauchen (Ellis et al., 2004; Renner, 2004).

Andererseits wird auch vermutet, dass PFOS und PFOA direkt an Staubbestandteile gebunden mit der Atmosphäre verteilt werden (Nakayama et al., 2005; Moriwaki et al., 2003).

2.2.2.2 Eintragswege in den menschlichen Organismus

Als Eintragswege von PFOS und PFOA in den menschlichen Organismus werden mehrere Möglichkeiten diskutiert. Nicht nur die Aufnahme der Substanzen selbst, sondern auch gewisser Vorläufersubstanzen (unter anderem Fluortelomeralkohole, Perfluorooctansulfonylfluorid und N-Alkyl-Perfluorooctansulfonamide) müssen dabei berücksichtigt werden (Andersen et al., 2006). Es wird angenommen, dass die Aufnahme über Trinkwasser und Nahrungsmittel den Großteil der Exposition ausmacht. Dabei müssen im Falle von tierischen Lebensmitteln auch kontaminierte Futtermittel in Betracht gezogen werden (Tittlemier et al., 2006). Jedoch wird auch die Aufnahme über die Atemluft und die Ingestion von PFT-haltigem Hausstaub diskutiert (EFSA, 2008; BfR, 2009).

Die Konzentrationen verschiedener Perfluorierter Tenside in der Luft ist in Städten deutlich höher als in ländlichen Gebieten und auf der Nordhalbkugel deutlich höher als auf der Südhalbkugel. Außerdem ist an Wochenenden eine Absenkung der Belastung in der Umgebungsluft zu messen. In der Innenraumluft werden höhere Konzentrationen an Perfluorierten Tensiden gemessen als in der Außenluft (Fromme et al., 2009).

Für die Exposition über die Nahrung kommt neben an sich PFT-haltigen Nahrungsmitteln auch eine PFT-Belastung durch Migration aus Verpackungsmaterial in Frage (Tittlemier, 2006). PFOA wird als Hilfsstoff bei der Herstellung von Polytetrafluorethylen zur Beschichtung von Pfannen verwendet und kann als Verunreinigung im fertigen Endprodukt auftreten. Diese Mengen sind jedoch so gering, dass die Migration in Nahrungsmittel nicht von

Bedeutung ist. Anders verhält es sich bei PFOS-haltigen Verpackungen. So konnte im Fall von Mikrowellenpopcorn ein Übergang von PFOS in das Nahrungsmittel nachgewiesen werden (Begley et al., 2005).

2.2.3 Belastung von Gewässern

Nach dem Ausbringen eines mit Abwasserschlamm kontaminierten Düngers auf Felder im nordrhein-westfälischen Sauerlandkreis wurden in Ruhr und Möhne stark erhöhte Gehalte an Perfluorierten Tensiden gemessen. Während sich die Gehalte von PFOS im Vergleich zu Messungen in einer vorangegangenen Studie von Lange und Mitarbeitern aus dem Jahre 2004 nicht wesentlich verändert hatten (Bergmann, 2009, nach Lange et al., 2004), wurde ein deutlicher Anstieg der PFOA-Konzentrationen festgestellt. Die höchste Konzentration an PFOA wurde in der Möhne gemessen und betrug 3640 ng/L (Gesamtgehalt an PFT: 4385 ng/L). Das Gebiet, in dem die höchsten Gehalte an PFT gemessen wurden, wird durch die Oberläufe der Möhne drainiert (Hölzer et al., 2008). Der Gesamtgehalt der in der Ruhr gemessenen PFT betrug 446 ng/L mit einem Anteil von PFOA von 139 ng/L. Messungen im Trinkwasser des tributären Gebiets der betroffenen Flüsse ergaben einen Höchstwert von 519 ng/L für PFOA (Skutlarek et al., 2006). Es schlossen sich Dekontaminationsmaßnahmen und ein intensives Monitoring des gesamten Gewässernetzes Nordrhein-Westfalens an. Seit Ende 2008 wurde der gesundheitliche Orientierungswert des Umweltbundesamtes von 0,1 µg/L für den Gesamtgehalt an PFT nicht mehr überschritten (Bergmann, 2009; siehe dazu auch Abschnitt 2.4.1). Europaweite Messungen von PFOS und PFOA in Süßgewässern ergaben Konzentrationen von unter einem Nanogramm bis zu einem niedrigen zweistelligen Nanogrammbereich pro Liter. Der Anteil der Proben, in denen PFOS beziehungsweise PFOA unter der Nachweisgrenze lagen, waren 56% und 52% (EFSA, 2008). Abgesehen von den durch Einleitung von Industrieabwässern besonders stark belasteten Gebieten des Tennessee River oder der Bucht von Osaka (Hansen et al., 2002; Saito et al., 2004) lagen die Messwerte für Asien und den USA innerhalb dieses Bereiches, wobei die Werte aus Nordamerika aufgrund der geringen Probenzahl für nicht repräsentativ erachtet wurden (EFSA, 2008).

2.2.4 Auftreten in Nahrungsmitteln

Da europaweit bisher kaum repräsentative Daten zu den Gehalten von Perfluorierten Tensiden in Nahrungsmitteln und Trinkwasser vorliegen, diese aber bisher als die wichtigsten Expositionsquellen gelten, hat die Europäische Kommission am 17. März 2010 eine Empfehlung für die Mitgliedsstaaten herausgegeben. Demnach sollen perfluorierte Alkylsubstanzen in den Jahren 2010 und 2011 in einer möglichst großen Anzahl an Proben überwacht werden (Empfehlung 2010/161/EU). Außerdem wurde das europäische Forschungsvorhaben PERFOOD ins Leben gerufen, um zuverlässige Daten für die Risikobewertung von PFT-Gehalten in Lebensmitteln zu gewinnen (Kappenstein, 2010).

In einer deutschen Studie wurden über den Zeitraum von einer Woche Duplikate von Mahlzeiten und Getränken von 15 weiblichen und 16 männlichen Probanden analysiert. Es wurde jeweils in weniger als der Hälfte der Proben PFOS oder PFOA detektiert. Die durchschnittlichen Gehalte für PFOS lagen zwischen 0,025 und 1,03 ng/g ursprüngliche Substanz und für PFOA zwischen 0,025 und 118,29 ng/g ursprüngliche Substanz. Für die tägliche Aufnahme aus den betreffenden Portionen gaben die Autoren für PFOS einen Median von 1,4 ng/kg KGW und für PFOA von 2,9 ng/kg KGW an (Fromme et al., 2007b).

Das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) hat in seiner Stellungnahme 004/2009 vom 11. September 2008 die durch das Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit im Rahmen des Bundesweiten Überwachungsplans gesammelten Lebensmittelproben auf ihre Gehalte an PFT untersucht (siehe dazu auch Abschnitt 2.4.1). Die höchsten PFOS-Gehalte wurden in Innereien von Wild gemessen (172 µg/kg). Sie lagen um zwei Zehnerpotenzen höher als die Gehalte in der Muskulatur. Die mittleren PFOS-Gehalte in Süßwasserfischen lagen bei 23 µg/kg. Seefisch wies mittlere Gehalte von 9 µg/kg auf. Die Analysen anderer Nahrungsmittelgruppen ergaben keine oder nur sehr geringe PFOS-Gehalte. Auch PFOA wurde in den höchsten Konzentrationen (4,3 und 6,9 µg/kg, Lower-Bound und Upper-Bound Schätzung) in Wildinnereien gefunden. Die Gehalte in Süßwasserfischen waren auch bei PFOA höher als die in

Seefisch (2,0 µg/kg im Vergleich zu 1,3 µg/kg). Die Interpretation der Messergebnisse im Fischfleisch müssen mit Vorsicht beurteilt werden, da viele Süßwasserfischproben aus dem Gebiet des Mönesees stammen, der im Einzugsgebiet der durch Klärschlamm verunreinigten Felder in Nordrhein Westfalen liegt (BfR, 2008).

Im Rahmen der amerikanischen Multy City Study wurden im Jahre 2000 über 200 Proben von verschiedenen Lebensmitteln auf deren Gehalt an PFOS und PFOA analysiert. PFOS wurde nur in vier Vollmilch- und einer Hackfleischprobe (in Gehalten unter einem Nanogramm pro Gramm ursprüngliche Substanz) nachgewiesen. PFOA wurde bis zu einer Konzentration von 2,35 ng/g ursprüngliche Substanz in einigen Proben von Rindfleisch, Brot, Äpfeln und grünen Bohnen nachgewiesen (EFSA, 2008).

Weitere Studien zu diesem Thema liegen aus Kanada, dem Vereinigten Königreich und Schweden vor. Auch hier konnten in relativ wenigen der untersuchten Proben PFOS- oder PFOA-Gehalte über der Nachweisgrenze gemessen werden, die maximal im einstelligen Nanogrammbereich lagen (EFSA, 2008).

2.2.5 Messdaten in der Bevölkerung

Messungen in Blutproben aus der Allgemeinbevölkerung zeigten höhere Konzentrationen von PFOS und PFOA in Proben aus den USA und Kanada, als in Asien, Europa, oder Ländern der Südhalbkugel. PFOS wird dabei in der Regel in höheren Konzentrationen gemessen als PFOA (Houde et al., 2006). Bemerkenswert ist, dass in praktisch jeder der untersuchten Blutproben PFT nachgewiesen werden konnten (Fromme et al., 2007a; Midasch et al., 2007; Calafat et al., 2007a und b). Messungen in den USA ergaben für Erwachsene und Kinder in etwa gleich hohe Plasmakonzentrationen (Olsen et al., 2001a und b; 2005). Olsen et al. (2003; 2005) und Harada et al. (2004) stellten im Plasma von männlichen Probanden signifikant höhere Konzentrationen von PFOS und PFOA fest, als in dem von weiblichen.

In Japan und den USA wurde seit Ende der neunzehnhundertsiebziger Jahre ein

Anstieg der Plasmakonzentrationen von PFOS und PFOA in der Bevölkerung festgestellt (Harada et al., 2004; Olsen, 2005). Seit der Reduktion der Produktionsmengen von PFOS und PFOA Anfang des einundzwanzigsten Jahrhunderts wird in den letzten Jahren im Allgemeinen ein Rückgang der Belastung der Bevölkerung mit PFOS und PFOA beobachtet (Calafat et al., 2007b; Brede et al., 2010). Aktuelle Messwerte aus den USA liegen für PFOS bei 20,7 µg/L und für PFOA bei 3,9 µg/L (geometrischer Mittelwert) (Calafat et al., 2007b). In Deutschland werden 12µg/L (4,9-55 µg/L) PFOS und 5,3 µg/L (2,7-19,1 µg/L) PFOA in der Bevölkerung gefunden (Fromme et al., 2007a und c).

Untersuchungen an ehemaligen Mitarbeitern eines Fluorchemiewerks (24 männlich, 2 weiblich) ergaben geschlechtsunabhängig ein arithmetisches Mittel für die Serumhalbwertszeit von PFOS von 5,4 Jahren und für PFOA von 3,8 Jahren (Olsen et al., 2007). Eine deutsche Studie gibt die Serumhalbwertszeit für PFOA mit 3,26 Jahren an und liegt damit in der gleichen Größenordnung (Brede et al., 2010).

Die mittleren Plasmaspiegel von PFOS und PFOA der nicht beruflich exponierten Bevölkerung liegen unterhalb des Bereiches, der in tierexperimentellen Studien zu toxischen Wirkungen führt. Eine Reihe von Untersuchungen, die kürzlich von Olsen et al. (2007) zusammengefasst wurden, geben Hinweise auf eine entwicklungstoxische Wirkung von PFOS und PFOA. Sowohl PFOS als auch PFOA passieren die Blut-Plazenta-Schranke (Inoue et al., 2004; Midasch et al., 2007) und gehen auch in die Muttermilch über (Kärman et al., 2007). Apelberg et al. (2007) beobachteten eine schwach negative Korrelation zwischen der Serumkonzentration von PFOS und PFOA und dem Geburtsgewicht und der Größe der Neugeborenen, sowie dem Kopfumfang und dem Geburtsgewicht im Verhältnis zur Größe des Neugeborenen. Fei et al. (2008b) machten ähnliche Beobachtungen für PFOA, jedoch nicht für PFOS. Washino et al. (2009) fanden dagegen einen Zusammenhang zwischen den mütterlichen Serumkonzentrationen von PFOS und dem Geburtsgewicht, nicht jedoch für die Serumkonzentrationen von PFOA. Ein Einfluss von PFOS und PFOA auf die postnatale Entwicklung konnte bisher nicht nachgewiesen werden (Fei et al., 2008a).

2.2.6 Messdaten in wildlebenden Tieren

Die ubiquitäre Verteilung von Perfluorierten Tensiden spiegelt sich besonders deutlich in den zahlreichen Nachweisen in wildlebenden Tieren wider (Kannan et al., 2002; Hoff et al., 2004 und 2005; Olivero-Verbel et al., 2006; Dauwe et al., 2007; Yoo et al., 2008). Neben Exoten aus entlegenen Regionen finden sie sich auch in Tieren, die der menschlichen Nahrungsmittelgewinnung dienen. Eine besondere Rolle spielen dabei Süßwasser- und Seefische, die als Bestandteil traditioneller Nahrungsmittel in Entwicklungsländern einen Hauptbeitrag zu der Belastung des Menschen beitragen können (Houde et al., 2006).

Eine ausführliche Auflistung der bis zum Jahre 2008 in europäischen, asiatischen und amerikanischen Studien durchgeführten Messungen von PFOS und PFOA an diversen Arten von Salz- und Süßwasserfischen, sowie Mollusken und Crustaceen findet sich bei der Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit (2008). Es wurden in der Fischmuskulatur für PFOS Werte im zwei- bis dreistelligen Nanogrammbereich pro Gramm Muskel (ursprüngliche Substanz) gefunden, wobei Fische aus der Küstenregion höhere Werte aufwiesen als in offenen Gewässern gefangene Exemplare. In den Proben aus Europa konnte PFOA zum Großteil nicht nachgewiesen werden. Es wurden Werte von unter einem Nanogramm pro Gramm Fischmuskulatur (ursprüngliche Substanz) bis zu einem zweistelligen Nanogrammbereich pro Gramm Muskulatur gemessen (EFSA, 2008).

Giesy und Kannan (2001) untersuchten eine große Anzahl an Proben unterschiedlicher Tierarten, die über einen längeren Zeitraum von der Michigan-State University für frühere Monitoringprogramme gesammelt worden waren, auf ihren Gehalt an verschiedenen PFT. Darunter waren Proben von Seehunden, Robben, Ottern, Delphinen, verschiedenen Vogelarten, darunter einige Raubvögel, diversen Fischarten und einigen Amphibien. Die Proben stammten zum Teil aus den USA, aber auch aus Italien, der Ostsee, der Arktis und Teilen Asiens. PFOA konnte nur in wenigen Proben nachgewiesen werden. PFOS fand sich jedoch in den meisten Proben. Tiere aus stärker besiedelten Regionen waren höher belastet als Tiere wenig bewohnter Gegenden. Lebern von Eisbären aus

Alaska enthielten relativ hohe Gehalte an PFOS (im dreistelligen Nanogrammbereich pro Gramm ursprüngliche Substanz). Vergleichsweise sehr hohe Gehalte wurden in Blutplasma und Leber von Fisch fressenden Arten wie jungen Weißkopfsaadlern und Frettchen gemessen. Diese Befunde deuten darauf hin, dass PFOS sich innerhalb der Nahrungskette anreichert. Zahlreiche Analysen von Nahrungsketten bestätigen die Fähigkeit von PFOS und PFOA zur sogenannten Biomagnifikation (Houde et al., 2006). Auch in diversen Arten von Meeressäugern konnten in den meisten der untersuchten Proben Gehalte an PFOS gemessen werden. Eine altersabhängige Akkumulation konnte nicht gezeigt werden (Kannan et al., 2001).

2.3 Toxikologie

2.3.1 Subchronische und chronische Toxizität

Toxikologische Studien für PFOS und PFOA zeigen ein ähnliches Wirkprofil für beide Substanzen. Neben erhöhter Sterblichkeit unter den Versuchstieren wurden vor allem lebertoxische Effekte, ein Abfall des Serumcholesterol- und Serumtriglyceridspiegels und Gewichtsverlust im Zusammenhang mit verringerter Futteraufnahme beobachtet.

2.3.1.1 Perfluorooctansulfonat

PFOS über einen längeren Zeitraum an Ratten verabreicht führt zu Gewichtsverlust und reduzierter Futteraufnahme. Nach einem Monat konnte ein Anstieg des Serumharnstoffs und der Aktivität einiger Leberenzyme beobachtet werden. Nach drei Monaten zeigten die Tiere Anzeichen einer Anämie (EFSA, 2008).

In einer weiteren Studie zur subchronischen Toxizität von PFOS in Ratten konnte als erster Effekt eine Reduktion des Serumglucosespiegels und ein Anstieg der hepatischen Palmitoyl-CoA-Oxidase Aktivität (männliche Tiere) beziehungsweise ein Anstieg der Alaninaminotransferase im Serum (weibliche Tiere) beobachtet werden. Im weiteren Verlauf zeigten die Tiere ein erhöhtes absolutes und relatives Lebergewicht ohne einen Hinweis auf eine verstärkte Proliferation der

Hepatozyten, erniedrigte Serumcholesterolspiegel und Veränderungen im weißen Blutbild. PFOS reichert sich proportional zur verabreichten Dosis in Serum und Leber an (Seacat et al., 2003).

Rhesusaffen zeigten gastrointestinale und neuronale Symptome wie Meläna, Diarrhoe, schleimige Beimengungen in den Faeces und generalisierten Tremor (EFSA, 2008).

In einem Versuch an Javaneraffen wurden ebenfalls Gewichtsverlust, ein Abfall des Serumcholesterolspiegels, ein erhöhtes Lebergewicht in Verbindung mit einer zellulären Hypertrophie, aber wiederum ohne Hinweise auf eine Zunahme der Proliferation der Leberzellen und der Einlagerung von Fettvakuolen in den Hepatozyten, aber auch ein Abfall des Serumspiegels von Triiodthyronin und Östrogen bei den Versuchstieren beobachtet (Seacat et al., 2002). Daten aus dem amerikanischen Gesundheitsüberwachungsprogramm NHANES (National Health And Nutrition Examination Survey) geben Hinweise, dass auch für den Menschen eine Assoziation von Blutgehalten an PFOS und PFOA mit häufigen Schilddrüsenerkrankungen der amerikanischen Bevölkerung besteht (Melzer et al., 2010).

Auch Stockenten und Virginiawachteln reagierten auf PFOS-Gaben mit Gewichtsverlust und verringerter Futteraufnahme. Leichte aber statistisch nicht signifikante Effekte wurden auf Fertilität und Brutrate beobachtet (Newsted et al., 2007).

2.3.1.2 Perfluorooctansäure

Schon eine einmalige intra peritoneale Gabe von PFOA führte bei Ratten zu reversiblen Gewichtsverlust und einer reduzierten Futteraufnahme, sowie zu einem leicht erhöhten Lebergewicht (Olson und Andersen, 1983). In Langzeitstudien an Ratten zeigten sich Gewichtsverlust und eine Zunahme des Lebergewichtes in Verbindung mit zellulärer Hypertrophie und Leberzellnekrosen (U.S. EPA, 2002; Perkins et al., 2004).

Bei weiblichen Rhesusaffen wurden verringerte Gewichte von Herz und Gehirn gemessen. Ansonsten wurden gastrointestinale Symptome beobachtet (EFSA,

2008).

Javaneraffen zeigten Gewichtsverlust und eine verringerte Futteraufnahme, sowie erhöhte Lebergewichte als Folge von mitochondrialer Proliferation. Abgesehen davon konnten keine histopathologischen Befunde in der Leber gefunden werden (Butenhoff et al., 2002).

Yang et al. (2000; 2001) wiesen eine reversible Atrophie von Thymus und Milz als eine Folge einer Verringerung der Parenchymzellen nach PFOA-Gaben bei der Maus nach. Die Abnahme der Parenchymzellen war im Thymus deutlicher ausgeprägt als in der Milz und beruhte auf einer mangelnden Bildung und Ausreifung der Zellen infolge einer Störung des Zellzyklus. Da sich der Effekt in *in vitro* Versuchen nicht einstellte, vermuteten die Autoren einen sekundären Mechanismus und konnten später zeigen, dass der Effekt von der Aktivierung des PPAR α (Peroxisomen-Proliferator-aktivierter-Rezeptor- α) abhängt (Yang et al., 2002).

2.3.2 Genotoxisches und kanzerogenes Potential

Sowohl PFOS als auch PFOA führen bei Ratten zu einer erhöhten Tumorzinzidenz. Da für keine der beiden Substanzen bisher Genotoxizität nachgewiesen wurde, beruht die Tumorgenese wahrscheinlich auf epigenetischen Mechanismen. Es liegen Hinweise vor, dass eine Aktivierung des Peroxisomen-Proliferator-aktivierter-Rezeptor- α durch verschiedene PFT die Entstehung gewisser Tumoren begünstigt (siehe auch Abschnitt 2.3.5). Die Übertragbarkeit auf den Menschen ist nach heutigem Wissensstand fragwürdig. In einer relativ kleinen Population an ehemaligen Mitarbeitern eines Fluorchemiewerks konnte eine erhöhte Sterblichkeit an Blasenkarzinomen beobachtet werden. Da es sich aber nur um insgesamt drei Fälle aus einer relativ kleinen Grundgesamtheit handelte, konnte nicht ausgeschlossen werden, dass diese Beobachtung auf einem Zufall beruhte (Alexander et al., 2003).

2.3.2.1 Perfluoroctansulfonat

In einer Langzeitstudie an Ratten induzierte PFOS Tumoren der Leber, der Schilddrüse und der Mamma. Ratten wurde über zwei Jahre PFOS über das Futter

verabreicht. Eine Gruppe erhielt die höchste eingesetzte Dosierung (20 µg/kg Futter) für ein Jahr und wurde anschließend mit unbehandeltem Futter weiter gefüttert. Die männlichen Tiere entwickelten vermehrt Adenome der Leber. In der Regenerationsgruppe traten häufiger Adenome (signifikant) und kombinierte Adenome und Karzinome (nicht signifikant) der Follikelzellen der Schilddrüse auf. Bei den weiblichen Tieren wurde ebenfalls ein signifikanter Anstieg der Häufigkeit von Adenomen aber auch Karzinomen der Hepatozyten beobachtet. Auch kombinierte Adenome und Karzinome der Follikelzellen der Schilddrüse traten signifikant häufiger als in der Kontrolle auf. In allen Dosierungen wurden erhöhte Raten an gut- und bösartigen Tumoren der Mamma beobachtet.

Auf welchem Mechanismus die Kanzerogenität von PFOS bei Ratten beruht, ist nicht bekannt, scheint aber Folge von epigenetischen Wirkungen zu sein. In Mutagenitätstests konnte bisher keine genotoxische Wirkung nachgewiesen werden (OECD, 2002).

2.3.2.2 Perfluorooctansäure

In einer Langzeitstudie an Ratten wurde den Tieren über den Zeitraum von zwei Jahren PFOA über das Futter verabreicht. Es wurden gehäuft Tumoren der Leber, der Leydigzellen und der Mamma beobachtet. (EFSA, 2008). Es traten gegenüber der Kontrolle signifikant häufiger Adenome der Leydigzellen und Fibroadenome der Mamma auf. Da die Inzidenzen beider Tumorarten aber im Bereich der üblicherweise bei Ratten beschriebenen Häufigkeit lagen, wurden sie als nicht signifikant beurteilt. In einer zweiten Langzeitstudie traten neben Adenomen der Hepatozyten und der Leydigzellen Tumoren der azinösen Zellen der Bauchspeicheldrüse auf.

Der Mechanismus, auf dem die Kanzerogenität von PFOA bei Ratten beruht, ist ebenfalls noch nicht geklärt. In Mutagenitätstests konnte auch für PFOA bisher keine genotoxische Wirkung in Dosierungen unterhalb der Zytotoxizitätsgrenze nachgewiesen werden (OECD, 2002).

2.3.3 Reproduktionstoxizität

Studien zur Reproduktionstoxizität von PFOS und PFOA wurden bei Mäusen, Ratten und Kaninchen durchgeführt. Die Exposition gegenüber PFOS beziehungsweise PFOA in utero führt im Allgemeinen zu erhöhter Jungtiersterblichkeit, schlechter Gewichtszunahme und Entwicklungsverzögerungen. Auch für den Menschen gibt es Hinweise einer entwicklungstoxischen Wirkung dieser Stoffe (siehe dazu auch Abschnitt 2.2.5).

2.3.3.1 Perfluorooctansulfonat

In einer Studie an Ratten zeigte sich unter einer vierzehntägigen Behandlung mit PFOS (10 mg/kg KGW/Tag intra peritoneal verabreicht) eine Reduktion der Tiere mit regelmäßigem Zyklus um 58% im Vergleich zur Kontrollgruppe, während die Zahl der Tiere mit persistentem Diöstrus um 33% anstieg (Austin et al., 2003).

Während der Trächtigkeit führen PFOS-Gaben zu verkürzter Trächtigkeitsdauer, Gewichtsverlust und erniedrigten Serumspiegeln von T₃ und T₄ bei den Muttertieren und zu reduzierter Lebensfähigkeit der Jungtiere beziehungsweise zu erhöhter Jungtiersterblichkeit bis zu 100% (Lau et al., 2003; Thibodeaux et al., 2003; Luebker et al., 2005b). Die erhöhte Jungtiersterblichkeit tritt auch nach PFOS-Gaben vor der Trächtigkeit und anschließend erniedrigter Dosierung während der Trächtigkeit auf (Butenhoff et al., 2003). Es gibt Hinweise bei der Maus, dass das Auslösen von Stress während der Trächtigkeit die entwicklungstoxischen Wirkungen von PFOS verstärken kann (Fuentes et al., 2007).

Für die Ratte wurde als kritisches Fenster für eine erhöhte Jungtiersterblichkeit der Zeitraum zwischen dem 17. und 20. Trächtigkeitstag identifiziert und konnte später sogar auf den Zeitraum zwischen dem 19. und 20. Tag eingengt werden (Grasty et al., 2003 und 2005). Warum PFOS-Gaben in den letzten Tagen der Trächtigkeit (insgesamt 21 bis 23 Tage (Gesellschaft für Versuchstierkunde - Society for Laboratory Animal Science (GV-SOLAS), 1998)) zu verstärkter Jungtiersterblichkeit führen, ist bisher nicht geklärt. In dieser Phase finden hauptsächlich Vorgänge der Feindifferenzierung statt. Die Autoren sahen in

Hinweisen auf eine verzögerte Lungenreifung der exponierten Tiere eine mögliche Ursache für die erhöhten Verluste (Grasty et al., 2003), konnten dies in einer Folgestudie jedoch nicht bestätigen (Grasty et al., 2005). Yahia et al., (2008) stellten bei neugeborenen Mäusen breitflächig atelektatische Lungen und Aneurismen in Gehirngefäßen fest und sahen darin eine mögliche Ursache für die hohe Jungtiersterblichkeit. Durch Cross-Foster-Studien an Ratten und Mäusen konnte ein Defizit des Brutpflegeverhaltens der Muttertiere als Ursache ausgeschlossen werden (Luebker et al., 2005a; Lau et al., 2003). Eine teratogene Wirkung konnte für PFOS nicht bestätigt werden (Lau et al., 2004).

Bei der Maus zeigen die Würfe von mit PFOS behandelten Muttertieren eine verzögerte Entwicklung, die durch eine verringerte Gewichtszunahme, die verspätete Öffnung der Augen und einen erniedrigten Schilddrüsenhormonspiegel gekennzeichnet ist (Lau et al., 2003).

2.3.3.2 Perfluorooctansäure

Weibliche Ratten scheiden nach der Geschlechtsreife PFOA deutlich effektiver aus als männliche. Studien zur Reproduktionstoxizität an der Ratte müssen daher im Hinblick auf die Übertragbarkeit auf den Menschen vorsichtig beurteilt werden.

Bei der Ratte hat PFOA keinen Einfluss auf die Fruchtbarkeit (Butenhoff et al., 2004).

Unter Gaben von hohen Dosen von PFOA (40 mg/kg KGW) wurde bei Mäusen die Resorption ganzer Würfe beobachtet. Auch PFOA führt zu erhöhter Jungtiersterblichkeit, schlechter Gewichtszunahme und verzögerter Entwicklung der überlebenden Tiere (Lau et al., 2005). Bei der Ratte lassen sich diese Effekte reproduzieren (Butenhoff et al., 2004). Es ist nicht ausgeschlossen, dass eine Verzögerung in der Anbildung der Milchdrüse zu der Entwicklungsverzögerung der Nachkommen beiträgt (White et al., 2007). Das kritische Fenster für verzögertes Öffnen der Augen und Haarwachstum als Indikatoren einer verzögerten Entwicklung liegt bei der Maus zwischen Trächtigkeitstag sieben und 17 und somit ähnlich wie bei PFOS in der späten Phase der Trächtigkeit (Wolf et

al., 2007).

Auch für PFOA konnte keine teratogene Wirkung nachgewiesen werden (Lau et al., 2004).

2.3.4 Toxikokinetik

Perfluorierte Tenside werden nach oraler Aufnahme gut absorbiert und reichern sich im Organismus hauptsächlich in Blut und Organen an. Hauptzielorgan ist die Leber (Kudo et al., 2000; Olsen et al., 2005), in geringerem Maße auch die Niere und andere Organe, wie die Geschlechtsorgane und das Gehirn (U.S. EPA, 2002).

Im Blut liegen PFOS und PFOA zum überwiegenden Teil gebunden an Proteine, in der Hauptsache an Albumin, vor (Zhang et al., 2008; Han et al., 2003). Die intravenöse Injektion niedriger Dosen von PFOA führt bei Ratten zu einer proportional höheren Anreicherung in der Leber, während die Injektion hoher Dosen zu einer Anreicherung im Serum und anderen Geweben führt (Kudo et al., 2007).

Es gibt große speziesspezifische Unterschiede in den Serumhalbwertszeiten. In Tabelle 3 sind die Serumhalbwertszeiten von PFOS und PFOA für verschiedene Spezies vergleichend dargestellt.

Tabelle 3 Serumhalbwertszeiten von PFOS und PFOA bei verschiedenen Spezies

PFOS		
Ratte (männlich)		> 90 d (EFSA, 2008)
Javaneraffe		ca. 200 d (Seacat et al., 2002)
Mensch		5,4 a (Olsen et al., 2007)
Virginiawachtel		ca. 21 d (Newsted et al., 2007)
PFOA		
Ratte	männlich	4,4-9 d (EFSA, 2008)
	weiblich	1,9-24 h (EFSA, 2008)
Javaneraffe	männlich	21 d (Butenhoff et al., 2002)
	weiblich	30 d (Butenhoff et al., 2002)
Mensch		3,8 a (Olsen et al., 2007)

Die Ausscheidung erfolgt über die Niere und die Galle. Während bei Ratten die Ausscheidung über die Niere deutlich überwiegt, eliminieren Javaneraffen und der Mensch PFOS und PFOA hauptsächlich über die Galle (Andersen et al., 2007).

Eine Besonderheit gibt es in der Toxikokinetik von PFOA bei der Ratte. Weibliche Ratten eliminieren PFOA im Vergleich zu männlichen Tieren deutlich schneller. Während männliche Tiere PFOA sowohl mit dem Urin als auch den Faeces ausscheiden, dominiert bei den weiblichen Tieren die Ausscheidung über die Niere (Vanden Heuvel, 1991). Die Kastration der männlichen Tiere erhöht die Ausscheidung von PFOA über den Urin (Ylinen et al., 1989). Wird anschließend Testosteron in physiologischen Dosen substituiert, sinkt die Elimination von PFOA erneut. Bei weiblichen Tieren hat weder die Gabe von Testosteron noch eine Ovariectomie einen Einfluss auf die Ausscheidung von PFOA (Vanden Heuvel et al., 1992). Auf molekularer Ebene konnte der Organische Anionentransporter OAT2 und 3 als Ursache identifiziert werden (Kudo et al., 2002).

Clewell (2009) stellte ein pharmakokinetisches Modell für den Menschen vor, das eine Expositionsabschätzung anhand des gemessenen Serumspiegels ermöglicht. Es beruht auf einem zuvor für den Javaneraffen entwickelten Rechenmodell (Andersen et al., 2006) und geht davon aus, dass einem bestimmten PFOA-Serumspiegel in Nanogramm pro Milliliter eine Exposition von etwa dem 0,12-Fachen in Nanogramm pro Kilogramm Körpergewicht und Tag vorausgegangen ist. Für PFOS kann ein Faktor von 0,1 angesetzt werden.

2.3.5 Wirkmechanismus

Dass PFOS und PFOA eine toxikologische Wirkung im menschlichen und tierischen Organismus entfalten, ist, wie weiter oben beschrieben, durch eine Vielzahl von Studien belegt. Die Untersuchungen zu den Wirkungen dieser Stoffe auf molekularer und Zellebene sind jedoch noch nicht abgeschlossen. Da PFT nicht metabolisiert werden, beruht ihre Interaktion mit dem Organismus auf ihren chemischen und physikalischen Eigenschaften. Sie ähneln in ihrem Aufbau den Fettsäuren und wirken daher teilweise als Antagonisten an den entsprechenden Enzymsystemen. Dabei zeigt sich mitunter eine starke Abhängigkeit von ihrer Kettenlänge (Andersen et al., 2008).

2.3.5.1 Wirkung auf zellulärer und subzellulärer Ebene

Bei Ratten wurde während der Fütterung mit einer PFOS beziehungsweise PFOA enthaltenden Diät eine deutliche Reduktion des Serumcholesterols schon nach einem Tag und der Serumfettsäuren nach ein bis zwei Wochen beobachtet. Der Triacylglycerolgehalt in der Leber wurde allein durch PFOS erhöht. Dies weist darauf hin, dass PFOS in der Lage ist, deren Exkretion zu stören. Beide Substanzen reduzierten die Fett- und Cholesterolsynthese in der Leber. Es konnte gezeigt werden, dass PFOS und PFOA eine hemmende Wirkung auf eine Reihe von Enzymen der Fettsäure- und Cholesterol-, sowie der Cholesterinestersynthese entfalten. Darunter sind einige NADPH-generierende Enzyme wie die Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase, die HMG-CoA-Reductase und die Lecithin-Cholesterin-Acyltransferase (Haugom und Spydevold, 1992).

Die Fähigkeit von Perfluorierten Tensiden unterschiedlicher Kettenlängen, die peroxisomale β -Oxidation zu reduzieren, wurde am Model der Ratte untersucht. Dabei zeigten langkettige PFT einen stärkeren Einfluss auf die β -Oxidation, wobei bei männlichen Tieren Kettenlängen von mehr als acht Kohlenstoffatomen und bei weiblichen Tieren Kettenlängen von mehr als neun Kohlenstoffatomen den größten Effekt hatten. Für PFOA konnte bei den weiblichen Tieren keine Wirkung beobachtet werden (Kudo et al., 2000). Eine Anreicherung von Triacylglyceriden in der Leber konnte für PFT ab einer Kettenlänge von neun Kohlenstoffatomen bei männlichen Ratten und ab einer Kettenlänge von zehn Kohlenstoffatomen bei weiblichen Ratten nachgewiesen werden (Kudo und Kawashima, 2003). Kudo et al. (2006) zeigten, dass PFT sich umso effektiver in der Leber anreichern, je länger ihr Kohlenstoffgerüst ist. Einige PFT stören den mitochondrialen Stoffwechsel und greifen in die Atmungskette ein (Starkov und Wallace, 2002; O'Brien und Wallace, 2004).

Guruge et al. (2006) stellten nach der Behandlung von Ratten mit PFOA dosisabhängig eine Veränderung in der Expression von über 100 bis über 800 Genen fest. Hauptsächlich waren dies Gene des Lipidstoffwechsels, aber auch Gene des Proteinstoffwechsels waren betroffen. Daneben waren Gene betroffen, die für die Regulierung der Zellkommunikation, der Zelladhäsion und Apoptose

verantwortlich sind, sowie einige Gene zur hormonellen Regulation und der Immunantwort.

PFOS führt bei männlichen Mäusen zu einer erhöhten Aktivität der natürlichen Killerzellen. Bei weiblichen Tieren konnte dieser Effekt nicht nachgewiesen werden. Im Gegensatz zu den männlichen Tieren führte PFOS bei den weiblichen zu einer Erhöhung der Plasmalysozymaktivität. Die IGM-Synthese wurde bei beiden Geschlechtern signifikant erniedrigt. Dieser Effekt erwies sich als T-zellabhängig und war der sensitivste Parameter für den Einfluss von PFOS auf das Immunsystem. Er trat bereits bei PFOS-Plasmakonzentrationen auf, die im Bereich der Plasmakonzentrationen beruflich exponierter Personen und der höchsten beobachteten Werte nicht beruflich exponierter Personen lagen. Außerdem konnte eine Veränderung in der T-Zellpopulation der Milz und in geringerem Ausmaß im Thymus beobachtet werden (Peden-Adams et al., 2008; DeWitt et al., 2008).

Die unter Einfluss von PFOS und PFOA beobachtete Tumorgenese scheint auf einem nichtgenotoxischen epigenetischen Mechanismus zu beruhen. Da die Aufhebung der interzellulären Kommunikation ein wichtiger Punkt in der Tumorentstehung ist, wurde die Inhibition von Gap Junctions als möglicher Mechanismus für PFOS und PFOA diskutiert.

Sowohl PFOA als auch PFOS stören die interzelluläre Kommunikation über Gap Junctions, wobei diese Eigenschaft für PFOS ausgeprägter ist. Die Inhibition der Gap Junctions beginnt in der Zellkultur schon nach wenigen Minuten und hat nach zehn bis 30 Minuten ihr Maximum erreicht. Nach Entfernen der Testsubstanzen bildet sich der Effekt nach 60 bis 90 Minuten wieder zurück (Upham et al., 1994; Hu et al., 2002). Es zeigte sich, dass auch andere PFT in der Lage sind, Gap Junctions zu inhibieren, solange sie zwischen sieben und zehn Kohlenstoffatomen besitzen (Upham et al., 1994).

Bei der Ratte gilt Peroxisomenproliferation als ein nicht-genotoxischer Mechanismus für die Entstehung von Lebertumoren (Reddy et al., 1980). Die Aktivierung der PPA-Rezeptorfamilie ist ein Auslöser der Peroxisomen

proliferation auf subzellulärer Ebene (Diaz et al., 1994).

Einige PFT, darunter PFOS und PFOA, sind in der Lage bei Mensch, Ratte und Maus das PPAR α -System zu aktivieren (Shiple et al., 2004; Vanden Heuvel et al., 2006), wobei die Maus empfindlicher gegenüber diesem Effekt ist als der Mensch (Wolf et al., 2008). Allgemein steigt die Fähigkeit zur Aktivierung des PPAR α durch PFT mit deren Kettenlänge, und PFOA ist ein stärkerer Agonist als PFOS (Takacs und Abbott, 2007). Das PPAR α -System ist verantwortlich für eine verstärkte Transkription der Gene für den peroxisomalen und mitochondrialen Lipidmetabolismus und die Cholesterin- und Gallensäuresynthese (Andersen et al., 2008).

In Untersuchungen zu den Mechanismen für die Entwicklungstoxizität an der Maus konnte gezeigt werden, dass im Falle von PFOA die erhöhte Jungtiersterblichkeit, die im Vergleich zur Kontrolle schlechtere postnatale Gewichtszunahme und der verzögerte Zeitpunkt des Öffnens der Augen auf eine Aktivierung des PPAR α -Systems zurückzuführen ist. Eine erhöhte Rate an Frühaborten scheint jedoch unabhängig von diesem Mechanismus aufzutreten (Abbott et al., 2007). Die reproduktionstoxischen Wirkungen von PFOS beruhen nicht auf einer Aktivierung des PPAR α -Systems (Abbott et al., 2009).

Sowohl PFOS als auch PFOA waren bei Versuchen an männlichen Ratten in gewissem Umfang in der Lage, an L-FABP (liver fatty acid-binding protein) zu binden. Dies kann vorrangig zu einer Verdrängung von kurzkettigen Fettsäuren aus der Bindung an das Protein führen. Langkettige Fettsäuren mit mehr als 15 Kohlenstoffatomen binden jedoch deutlich stärker an L-FABP, sodass eine Verdrängung durch PFOS und PFOA unwahrscheinlich ist. Da einige Fettsäuren als natürliche Aktivatoren des PPAR α bekannt sind, ist es denkbar, dass die für PFOA nachgewiesene Fähigkeit zur Aktivierung dieses Enzymsystem auf einer verstärkten Freisetzung von Fettsäuren aus der Bindung an L-FABP beruht (Luebker et al., 2002).

2.3.5.2 Wirkung auf das endokrine System

Austin et al. (2003) konnten in einem Versuch an Ratten zeigen, dass PFOS, in

höheren Dosen verabreicht (10 mg/kg KGW/Tag i. p. über 14 Tage), den Noradrenalin Spiegel innerhalb des Nucleus paraventricularis des Hypothalamus erhöht. Hier gelegene Zellen sind in hohem Maße zur Synthese des Corticotropin-Releasing-Hormones befähigt. Dieser Umstand ist eine Erklärung für die erhöhten Blutkortisolspiegel, die auf einen erhöhten Stresspegel des Organismus hinweisen. Außerdem zeigte sich eine Abnahme des Blutspiegels von Leptin, einem Peptidhormon, das hauptsächlich in Fettzellen, aber auch in anderen Geweben synthetisiert wird und eine hemmende Wirkung auf das Hungergefühl hat. Dass trotz der niedrigen Leptinblutspiegel eine Reduktion der Nahrungsaufnahme festgestellt wurde, erklären die Autoren mit einer Entgleisung des leptinabhängigen Regulationssystems. Die Gewichtsreduktion unter PFOS-Behandlung scheint daher leptinunabhängig zu erfolgen, wobei die niedrigen Serumspiegel des Hormons wahrscheinlich auf die Reduktion von Fettgewebe, des Hauptproduktionsorts von Leptin, bei den Versuchstieren zurückzuführen sind.

Es wurde beobachtet, dass die Gabe von PFOA bei männlichen Ratten zu einer Reduktion des Serumtestosteronspiegels führt und gleichzeitig den Serumöstradiolspiegel erhöht. Diese Hormonimbalance wird als eine mögliche Ursache für die bei Ratten nach PFT-Gabe beobachteten Adenome der Leydigzellen diskutiert (Cook et al., 1992; Liu et al., 1996a). Das Verabreichen von PFOA über das Futter erhöht die Aktivität der Aromatase der Leber bis auf das Sechzehnfache. Die Aktivität der Aromatase der Hoden steigt dagegen nicht an. Die erhöhte Aromataseaktivität steht nach Aussage der Autoren mit einer Zunahme des Endoplasmatischen Reticulums, dem Organell, in dem sie gebildet wird, zusammen und ist verantwortlich für den Anstieg des Serumöstradiolspiegels (Liu et al., 1996b).

2.4 Risikobewertung

Es liegen zum heutigen Zeitpunkt Risikobewertungen für PFOS und PFOA sowohl für Deutschland, als auch für einige EU- und nicht-EU-Länder (zum Beispiel Großbritannien, Kanada und USA) und internationalen Organisationen

(EFSA, OECD) vor.

2.4.1 Risikobewertung auf nationaler Ebene

Das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) hat in seiner Stellungnahme Nummer 004/2009 vom 11. September 2008 eine Risikobewertung für PFT durchgeführt. Gegenstand der Analyse waren für die Gruppe der perfluorierten Alkylsulfonsäuren und die Gruppe der perfluorierten Alkylkarbonsäuren die jeweilige Leitsubstanz PFOS beziehungsweise PFOA. Auf eine Bewertung der Gruppe der Fluortelomeralkohole wurde aus Mangel an Untersuchungsmaterial und verwertbaren Angaben in der wissenschaftlichen Literatur verzichtet.

Auf Grundlage der in der Literatur angegebenen Werte für die lebenslang duldbare tägliche Aufnahme (tolerable daily intake, TDI) von 0,15 µg/kg KGW/Tag für PFOS beziehungsweise 1,5 µg/kg KGW/Tag für PFOA (EFSA, 2008), wurden die vom Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL) im Rahmen des bundesweiten Überwachungsplans in den Jahren 2007 und 2008 gesammelten Daten zu den Gehalten von PFOS und PFOA in Lebensmitteln auf dem deutschen Markt hinsichtlich ihres Gefahrenpotentials für den Verbraucher bewertet.

Als durchschnittliche Verzehrsmengen für die einzelnen Lebensmittel durch die deutsche Bevölkerung wurden die Angaben aus dem Ernährungssurvey des Robert Koch-Institutes aus dem Jahre 1998 herangezogen. Hierbei wurden 4030 Personen im Alter von 18 bis 79 Jahren zu ihren Verzehrsgewohnheiten befragt. Damit stellt der Ernährungssurvey die aktuellste repräsentative Datensammlung zu diesem Thema dar.

Entsprechend der Datenlage ergab sich ausgehend von einer durchschnittlichen Verzehrmenge und einem durchschnittlichen Gehalt an PFT im Lebensmittel für den deutschen Verbraucher eine durchschnittliche tägliche Aufnahme von 2,30-3,69 ng/kg KGW für PFOS und von 0,71-0,95 ng/kg KGW für PFOA. Somit würde der TDI im Falle von PFOS zu 1,5-2,5% und im Falle von PFOA nur zu 0,05-0,06% ausgeschöpft.

Ausgehend von der Aufnahme von Lebensmitteln mit hohen Gehalten an PFOS

beziehungsweise PFOA (95-tes Perzentil) durch Hochverzehrer (95-tes Perzentil) ergab sich eine tägliche Aufnahme von 24-26 ng/kg KGW für PFOS und von 13,03-13,11 ng/kg KGW für PFOA. Unter dieser Annahme ergibt sich eine Ausschöpfung des TDI im Falle von PFOS von 16-17% und im Falle von PFOA von circa 0,87%.

Hieraus schließt das BfR, dass ein gesundheitliches Risiko für den Verbraucher nach dem derzeitigen wissenschaftlichen Kenntnisstand und den aktuell gemessen Gehalten an PFT in Lebensmitteln unwahrscheinlich ist.

Nach eigenen Angaben ist diese Einschätzung jedoch aus einer Reihe von Gründen als vorläufig zu betrachten:

Die Studien zur Epidemiologie von Perfluorierten Tensiden beim Menschen liefern aufgrund methodischer Defizite bisher keine verlässliche Grundlage zur Ermittlung eines TDI. Es wurde deshalb auf Grundlage der in Tierexperimenten ermittelten NOAELs (No Observed Adverse Effect Level) unter Berücksichtigung von Unsicherheitsfaktoren für die Interspeziesvariabilität, die Intraspeziesvariabilität und die unterschiedlichen Halbwertszeiten im menschlichen und tierischen Organismus ein TDI ermittelt. Aufgrund der Unklarheiten über die Toxikokinetik von Perfluorierten Tensiden beim Menschen und die teilweise stark unterschiedlichen Halbwertszeiten von PFT im menschlichen im Vergleich zum tierischen Organismus ist dieser jedoch mit Unsicherheiten behaftet.

Die vom BVL auf ihren Gehalt an PFT untersuchten Lebensmittelproben rekrutierten sich zu einem großen Teil aus Plan- und Verdachtsproben und stellen somit keine repräsentativen Stichproben dar. Auch wurden sie nicht nach einem Warenkorbmodell ausgewählt. Durch die verstärkte Beprobung in einigen Bundesländern anlässlich zur damaligen Zeit aktueller PFT-Funde kam es zur Überrepräsentation der betroffenen Regionen.

Auch wenn das BfR anhand der aktuellen Datenlage eine Gefährdung des Verbrauchers durch Perfluorierte Tenside für unwahrscheinlich hält, betont es, dass aufgrund ihrer Umweltpersistenz und der Tendenz, sich im menschlichen

und tierischen Organismus anzureichern, das Vorhandensein von PFT in Nahrungsmitteln nicht geduldet werden kann.

Das Umweltbundesamt gibt einen Leitwert für Trinkwasser von 0,3 µg/l bezogen auf den Gesamtgehalt von PFOS und PFOA an. Das bedeutet, Gehalte bis zu dieser Höhe sind für alle Bevölkerungsgruppen bei einer angenommenen lebenslangen Aufnahme tolerierbar. Gleiches gilt für Grundwasser, Oberflächenwasser, Rohwasser und Abwasser aus Kläranlagen und Industrie.

Der gesundheitliche Orientierungswert als langfristige Zielgröße für den nachhaltigen Trinkwasserschutz wurde auf 0,1 µg/l, bezogen auf den Gesamtgehalt an PFOS, PFOA und anderen PFT, festgelegt (Umweltbundesamt, 2006).

2.4.2 Risikobewertung auf internationaler Ebene

Im Rahmen der Richtlinie 2006/122/EG des Europäischen Rates vom 12. Dezember 2006 gab der Wissenschaftliche Ausschuss „Gesundheits- und Umweltrisiken“ eine Stellungnahme zur toxikologischen Bedeutung von PFOS ab. Es wurde hierbei festgehalten, dass „PFOS den Kriterien für die Einstufung als sehr umweltsensibel, hochgradig bioakkumulierbar und toxisch genügen.“ In Verbindung mit dem Potenzial zur weiträumigen Verteilung und zu schädlichen Auswirkungen erfüllen sie die Kriterien zur Einordnung in die Gruppe der persistenten organischen Schadstoffe (POP, Persistent Organic Pollutant) im Sinne des Stockholmer Übereinkommens. Bis auf wenige Spezialanwendungen, für die es bisher keine alternativen Stoffe gibt (als Beschichtungen in der Fotolithographie und der Halbleiterherstellung, als Antischleiermittel bei der Verchromung, als Netzmittel in der Galvanotechnik oder in bestimmten Hydraulikflüssigkeiten), ist dadurch die Anwendung von PFOS in der EU verboten. Der Inhalt der Richtlinie ist in Deutschland mit der „elften Verordnung zur Änderung chemikalienrechtlicher Verordnungen“ in nationales Recht übernommen worden.

Das Gremium Kontaminanten in der Lebensmittelkette (CONTAM) der europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit EFSA (European Food Safety

Authority) hat im Jahre 2008 eine wissenschaftliche Beurteilung zu PFOS und PFOA abgegeben. Es kommt darin zu dem Schluss, dass die Exposition des Menschen gegenüber PFOS aus dem Trinkwasser etwa 0,5% der Gesamtexposition ausmacht, im Falle von PFOA 16%. Der Anteil der Exposition über Haushaltsgegenstände beträgt für PFOS etwa 2% und für PFOA bis zu 50%. Über die Nahrung werden täglich schätzungsweise 60 ng/kg KGW PFOS aufgenommen, von stark exponierten Personen bis zu 200 ng/kg KGW. Die tägliche alimentäre Aufnahme von PFOA beträgt etwa 2 ng/kg KGW, für stark exponierte Personen bis zu 6 ng/kg KGW. Sowohl See- als auch Süßwasserfisch werden als die am stärksten kontaminierten Nahrungsquellen angesehen.

Als TDI gibt das CONTAM-Gremium einen Wert von 150 ng/kg KGW für PFOS und 1,5 µg/kg KGW für PFOA an. Es kommt zu dem Schluss, dass die alimentäre Aufnahme normal exponierter Personen sowohl im Falle von PFOS, als auch von PFOA unterhalb des TDI liegen, wobei stark exponierte Personen den TDI für PFOS überschreiten können (EFSA, 2008).

Das Office of Water (OW) der U.S. EPA veröffentlichte Anfang Januar 2009 für PFOS und PFOA gesundheitliche Orientierungswerte für Trinkwasser. Es orientierte sich hierfür an den NOAEL beziehungsweise BMDL₁₀ (Benchmark Dose Lower Confidence Level) Werten aus den Studien zur subchronischen Toxizität von PFOA und PFOS an Mäusen von Lau et al. (2006) und an Javaneraffen von Seacat et al. (2002). Es wurden anhand der Serumhalbwertszeiten für beide Substanzen die Clearanceraten für Mensch und Versuchstierspezies bestimmt. Die Raten wurden ins Verhältnis zueinander gesetzt und so ein Extrapolationsfaktor für Speziesunterschiede in der Toxikokinetik ermittelt.

Nach der Formel:

$$\text{GOW} = \frac{(\text{NOAEL bzw. BMDL}_{10}) \times \text{KGW [kg]} \times \text{PFT-Freisetzung aus der Quelle}}{\text{Unsicherheitsfaktor} \times \text{Extrapolationsfaktor} \times \text{Wasseraufnahme}}$$

wurde anschließend der gesundheitliche Orientierungswert (GOW) für ein zehn Kilogramm schweres Kind bei einer angenommenen täglichen Wasseraufnahme von einem Liter bestimmt. Als Freisetzungsrate von PFT aus einer Quelle wurden in diesem Fall pauschal 20% angenommen. Ein Unsicherheitsfaktor wurde für den Ausgleich von Interspeziesvariabilität in die Berechnung mit einbezogen. Dieses Modell wurde gewählt, um sicher zu stellen, dass der errechnete Wert auch empfindliche Bevölkerungsgruppen schützt.

Das OW gibt nach dieser Formel einen gesundheitlichen Orientierungswert für PFOS von 0,2 µg/L und für PFOA von 0,4 µg/L an. Diese Werte liegen deutlich höher als der Trinkwasserleitwert des Umweltbundesamtes von 0,3 µg/L für den Gesamtgehalt an PFT im Trinkwasser, gelten aber nur für die kurzfristige Aufnahme (U.S. EPA, 2009).

3. Material und Methoden

Bisher geht man davon aus, dass die Aufnahme über Nahrung und Trinkwasser den bedeutendsten Eintragsweg von Perfluorierten Tensiden in den menschlichen Organismus darstellt (siehe dazu Abschnitt 2.2.2.2). Die Datenlage zu möglichen Eintragswegen der Perfluorierten Tenside in Nahrungsmittel ist bislang sehr unvollständig. Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, Hinweise auf das Anreicherungsverhalten und die Verteilung von PFOS und PFOA im tierischen Organismus zu erhalten. Zu diesem Zweck wurden beide Substanzen weiblichen japanischen Legewachteln zu gleichen Anteilen über das Futter beziehungsweise das Tränkwasser verabreicht. Auf diese Weise sollten Informationen über die Bedeutung tierischer Produkte als Eintragsweg in die menschliche Nahrungskette gewonnen werden. Hierfür wurden in zwei voneinander getrennten Versuchsdurchläufen weiblichen japanischen Legewachteln PFOS und PFOA in vier verschiedenen Dosierungen zunächst über das Futter und im zweiten Versuchsdurchlauf in zwei verschiedenen Dosierungen über das Tränkwasser verabreicht. Zusätzlich wurden einige Tiere aus dem Fütterungsversuch im Anschluss in einen Regenerationsversuch aufgenommen, um einen Überblick über die Ausscheidung der PFT aus dem Organismus bei dieser Tierart zu erhalten.

3.1 Versuchstiere

Die japanische Legewachtel (*coturnix coturnix japonica*) hat eine Brutdauer von 14 bis 16 Tagen bei einer Schlupfrate von 50 Prozent und einem Geschlechterverhältnis der Nachkommen von etwa 1:1. Im Alter von fünf bis sechs Wochen erreichen die Junghennen die Legereife und weisen anschließend eine Legeleistung von durchschnittlich über 75 Prozent auf, die sie bis zu einem Alter von sechs Monaten konstant halten.

Die im Rahmen der zwei Versuchsdurchläufe eingesetzten Tiere waren genetisch einheitliche Nachkommen aus dem institutseigenen Inzuchtstamm. Nach einer sechswöchigen Aufzuchtperiode in Bodenhaltung wurden die weiblichen Tiere

anhand der Färbung des Gefieders an Brust und Hals identifiziert und in die Versuchskäfige verbracht.

3.2 Versuchstierhaltung

Die Käfige befanden sich in einem 17,5 m² großen Dunkelraum mit Überdruckbelüftung. Die Temperaturregulierung erfolgte über eine Gasheizung bzw. die Zuleitung von Außenluft zur Kühlung und sollte eine konstante Innentemperatur von $22 \pm 2^\circ \text{C}$ gewährleisten.

Die Käfige selbst hatten eine Grundfläche von 114 mal 73 cm und eine Höhe von 45 cm. und waren auf vier Etagen in Reihen zu je vier Käfigen angebracht. Die Käfigreihen waren dabei so angeordnet, dass die Rückseiten der Käfige einer Reihe an die Rückseiten einer zweiten stießen.

Die Beleuchtung des Käfigstalls erfolgte über Leuchtstoffröhren mit UV-Anteil, die in den Gängen zwischen zwei Käfigdoppelreihen an der Raumdecke angebracht waren. Den Tieren wurde ein Lichtprogramm mit 12 Stunden Licht und 12 Stunden Dunkelheit vorgegeben.

Aufgrund der günstigeren Lichtverhältnisse wurden nur die obersten drei Käfigetagen mit Tieren belegt.

Die Fütterung erfolgte ad libitum mit Legemehl aus institutseigener Herstellung (Zusammensetzung siehe Tabelle 4, Abschnitt 3.3.1) über Futtertröge, die an der Käfigaußenseite angebracht waren. Wasser stand den Tieren über die gesamte Versuchsperiode zur freien Aufnahme zur Verfügung. Im ersten Versuchsdurchlauf kamen pro Käfig zwei Nippelselbsttränken zum Einsatz, die über Rohrleitungen kontinuierlich mit Wasser gespeist wurden. Im zweiten Durchlauf, in dem die PFT über das Tränkwasser verabreicht werden sollten, wurden die Nippeltränken durch Stülptränken, die manuell befüllt wurden, ersetzt. Auf diese Weise konnte der Wasserverbrauch und somit die Aufnahme an Perfluorierten Tensiden für jeden Käfig individuell erfasst werden.

Zur Anreicherung der Haltungsumgebung wurde den Tieren ein Sandbad pro Käfig angeboten.

3.3 Herstellung des Versuchsfutters und des -tränkwassers

3.3.1 Versuchsfutter

Auswahl der Testsubstanzen

In der Regel werden PFOS und PFOA in Serum- oder Plasmaproben von Mensch und Tier nicht isoliert nachgewiesen. Es findet sich meist ein Gemisch aus verschiedenen Vertretern der Perfluorierten Tenside, in dem PFOS, gefolgt von PFOA, bei weitem den größten Anteil ausmacht (Houde et al., 2006). Warum PFOS in höheren Konzentrationen nachgewiesen wird als PFOA, ob es sich effektiver im Organismus anreichert, oder in höheren Konzentrationen in der Umwelt vorkommt, ist noch nicht geklärt. Aus diesem Grund wurde ein Gemisch aus PFOS und PFOA zu gleichen Teilen, im Folgenden als PFT bezeichnet, für diesen Versuch gewählt. Es wurde jeweils die freie Säure, Perfluorooctansäure, mit der CAS-Nummer 335-67-1, beziehungsweise Perfluorooctansulfonsäure, mit der CAS-Nummer 1763-23-1 verwendet. Bezogen wurden die Substanzen als OEKANAL® Analysenstandards von der Sigma-Aldrich Laborchemikalien GmbH D-30918 Seelze. Die Reinheit der Verbindungen wurde vom Hersteller mit jeweils 98% angegeben.

Schätzung der benötigten Futtermenge

Als Versuchsfutter wurde Legehennenalleinfutter in Form von Legemehl aus institutseigener Herstellung verwendet (Zusammensetzung siehe Tabelle 4). Die Angaben für das durchschnittliche Körpergewicht und die durchschnittliche tägliche Futtermenge der Tiere wurden dem Informationsblatt „Fütterungskonzepte und -methoden in der Versuchstierhaltung und im Tierversuch, Wachtel“ der GV SOLAS aus dem Jahre 2006 entnommen. Das Informationsblatt gibt das Durchschnittsgewicht einer Wachtelhenne mit 120 bis 160 Gramm und die durchschnittliche tägliche Futtermenge mit 25 bis 50 Gramm an. Anhand dieser Daten wurde der zu erwartende Futterbedarf für jede Dosisgruppe über die geplante Versuchsdauer geschätzt. Es ergab sich eine

benötigte Menge von 50 Kilogramm Futter pro Gruppe.

Tabelle 4 Zusammensetzung des Legehennenalleinfutters

Futterkomponente	Anteil in %
Mais	37,23
Soja	44,00
Grünmehl	3,00
Bierhefe	1,80
Anilac	1,00
Sojaöl	4,00
Calciumcarbonat	6,60
Cefkaphos	1,35
Viehsalz	0,30
D1-Methionin	0,25
Vitaminvormischung	0,30
β-Carotin	0,02
Spurenelementvormischung	0,10
Zn-Sulfat + 7 H ₂ O	0,05

Dosierung

Die PFT sollten den Tieren in vier verschiedenen Dosierungen bezogen auf ihr Körpergewicht verabreicht werden. Als höchste Dosis wurden 1000 Mikrogramm PFT pro Kilogramm Körpergewicht gewählt. Es wurde jeweils durch den Faktor $\sqrt{3}$ geteilt, um die nächst niedrigere Dosis zu ermitteln. Sollten sich anschließend Beziehungen im Anreicherungsverhalten der Testsubstanzen in den tierischen Produkten zwischen den verschiedenen Gruppen ergeben, sollte der einheitliche Faktor deren Darstellung erleichtern. Auf diese Weise ergaben sich die vier Dosierungen von 1000, 580, 330 und 190 $\mu\text{g}/\text{kg KGW}$ (s. Tabelle 5). Ausgehend von den Angaben der GV SOLAS (2006) müssen bei einem mittleren Körpergewicht von 120 Gramm und einer durchschnittlichen täglichen Futteraufnahme von 30 Gramm pro Tier und Tag in 50 Kilogramm Futter 200, 116, 66, bzw. 38 Milligramm PFT enthalten sein, um die gewünschten Dosierungen von 1000, 580, 330 und 190 $\mu\text{g}/\text{kg KGW}/\text{Tag}$ zu erreichen. Dies entspricht jeweils einer Menge von 100, 58, 33 beziehungsweise 19 μg PFOS und PFOA in 50 Kilogramm Futter.

Tabelle 5 Gruppen des Fütterungsversuchs und die entsprechenden PFT-Dosierungen

	Dosierungen Fütterungsversuch				
	Dosis(μ g)/kg KGW	PFT(μ g)/Wachtel(120g)	PFT(μ g)/kg Futter	PFT(mg)/50kg Futter	Anteil PFOS bzw. PFOA(mg) in 50kg Futter
Gruppe 190	190	22,8	760	38	19
Gruppe 330	330	39,6	1320	66	33
Gruppe 580	580	69,6	2320	116	58
Gruppe 1000	1000	120,0	4000	200	100

Präparation des Versuchsfutters

Um eine gleichmäßige Verteilung dieser geringen Mengen an PFT zu erreichen, wurde die für 50 Kilogramm Futter benötigte Menge von PFOS und PFOA zunächst in Wasser gelöst und mit einer Komponente des Futters vermischt. Die Futtermischung enthält zu 37,34% Mais in Mehlform (siehe Tabelle 4). Das stärkereiche Maismehl weist günstige Wasserbindungseigenschaften auf und wurde deshalb als Trägerstoff gewählt. Um eine möglichst einheitliche Partikelgröße zu gewährleisten, wurden 500 Gramm Maismehl gesiebt und anschließend mit der PFT-Lösung vermischt. Das so behandelte Maismehl wurde in flachen Metallwannen über drei Tage unter einem Abzug getrocknet. In einem Futtermischer mit einer Kapazität von einem Kilogramm wurde das präparierte Maismehl auf ein Kilogramm hochgemischt, wobei zusätzlich bei der Trocknung verklumptes Mehl wieder fein zerkleinert wurde. Daraufhin konnte das Maismehl zu den übrigen Komponenten für 50 Kilogramm Futter in einen 100-Kilogramm-Mischer gegeben werden. Diese Prozedur wurde in aufsteigender Dosishöhe für die vier vorgesehenen Dosierungen in gleicher Weise wiederholt.

3.3.2 Versuchstränkwasser

Die Herstellung des Versuchstränkwassers erfolgte im Labor des Lehrstuhls für Tierernährung in Oberschleißheim. Um den Transport zur Außenstelle Oberwiesenfeld in der Schwere-Reiter-Straße in München, in der sich die Versuchstierhaltung befand, zu erleichtern, wurde zunächst eine Vormischung in zehn-Milliliter-Zentrifugenröhrchen hergestellt. Diese konnte dann bei Bedarf im Versuchsstall in verschließbaren Plastikflaschen mit einem Fassungsvermögen von vier Litern mit Leitungswasser verdünnt werden.

Dosierung

Für diesen Versuch sollten nur zwei Dosierungen in Höhe von 330 und 580 µg/kg KGW/Tag zum Einsatz kommen. Analog zur Herstellung des Versuchsfutters wurde auf die Angaben der GV SOLAS (2006) zurückgegriffen. Danach liegt der tägliche Wasserverbrauch einer Henne im Mittel bei 30 Millilitern. Um für durchschnittlich 120 Gramm schwere Tiere eine Dosierung von 330 beziehungsweise 580 µg/kg KGW/Tag zu erreichen, mussten die 10 Milliliter Vormischungen für die vier Liter Verdünnung 5,28 beziehungsweise 9,28 Milligramm PFT enthalten. Das entspricht wiederum einer Menge von jeweils 2,64 beziehungsweise 4,64 Milligramm PFOS und PFOA (s. Tabelle 6).

Tabelle 6 Gruppen des Tränkeversuchs und die entsprechenden PFT-Dosierungen

	Dosierungen Tränkeversuch				Anteil PFOS bzw. PFOA(mg) in 4l Wasser
	Dosis(µg)/kg KGW	PFT(µg)/Wachtel(120g)	PFT(µg)/l Wasser	PFT(mg)/4l Wasser	
Gruppe 330	330	39,6	1320	5,28	2,64
Gruppe 580	580	69,6	2320	9,28	4,64

Präparation des Versuchstränkwassers

Die für vier Liter benötigte Menge an PFOS und PFOA wurde in ein 50 ml Becherglas abgewogen und mit zehn Millilitern Leitungswasser aufgegossen. Die Mischung wurde auf einer Heizplatte bei Raumtemperatur für 30 Minuten mithilfe eines Rührfischchens verrührt, bis die PFT vollständig in Lösung gegangen waren. Wie oben beschrieben, konnten nun die zehn Milliliter Vormischung im Versuchsstall der Außenstelle Oberwiesenfeld in verschließbaren Plastikflaschen auf vier Liter hochgemischt werden.

3.4 Versuchsdurchführung

Nach einer vierwöchigen Eingewöhnungsphase, in der die Tiere sich nach dem Umsetzen in den Käfigstall akklimatisieren konnten, wurde mit der Versuchsdurchführung begonnen. Während der Versuchsdauer wurden die Tiere täglich visuell auf ihren Gesundheitszustand und eventuelle Verluste beurteilt.

3.4.1 Fütterungsversuch

Der Fütterungsversuch war als Legeversuch konzipiert und wurde über eine Dauer von 42 Tagen durchgeführt. Es kamen insgesamt fünf Versuchsgruppen zum Einsatz (Gruppe 0, 190, 330, 580 und 1000). Jede Gruppe bestand aus sechs Käfigen (fünf im Falle der Kontrollgruppe) zu je acht Tieren (s. Tabelle 7).

Tabelle 7 Versuchsdaten und untersuchte Parameter des Fütterungsversuchs

Daten und untersuchte Parameter des Fütterungsversuchs						
	Dosierung µg PFT/Kg KGW/Tag	Dosierung µg PFT/kg Futter	Anzahl Versuchstiere	Untersuchte Parameter	Versuchsdauer (d)	Versuchsablauf
Gruppe 0	0	0	40	Körpergewicht Futteraufnahme		Einsetzen in Versuchskäfige (d0: Wiegen)
Gruppe 190	190	760	48	Legeleistung Eigewicht PFT-Gehalt Ei		↓ Sammeln der Eier (d14: Wiegen)
Gruppe 330	330	1320	48	PFT-Gehalt Leber	42	↓ (d42: Wiegen)
Gruppe 580	580	2320	48	PFT-Gehalt Muskel		Euthanasie und Probengewinnung
Gruppe 1000	1000	4000	48	Gewicht Leber Gewicht Niere		↓ Erhalten von einem Tier pro Käfig für Regenerationsversuch

Die einzelnen Käfige einer Gruppe wurden möglichst gleichmäßig über die drei Käfigetagen verteilt. Das durchschnittliche Körpergewicht der Tiere wurde an Tag 0, Tag 14 und Tag 42 pro Käfig bestimmt. Während der Versuchsdauer wurden täglich die Eier gesammelt und zur späteren Analyse auf den Gehalt an Perfluorierten Tensiden auf drei Grad Celsius gekühlt eingelagert. Außerdem wurden täglich die Legeleistung und das durchschnittliche Eigewicht für jeden Käfig dokumentiert. Der Gesamtverbrauch an Futter wurde im Anschluss an den Versuch berechnet. Zu diesem Zweck wurde das Gewicht der ersten, sowie aller weiteren Futtergaben für jeden Käfig notiert und das nach Abschluss der Versuchsphase verbliebene Futter von dieser Menge abgezogen. Bei der Berechnung wurden veränderte Tierzahlen nach Verlusten berücksichtigt. Nach 42 Tagen wurde durch Punktion der V. jugularis bei drei bis vier Tieren pro Käfig Blut entnommen und als Sammelblutprobe zur Serumgewinnung zweimal für 15 Minuten bei 3000 Umdrehungen pro Minute in einer Heraeus Sepatech Labofuge

A zentrifugiert. Ein Tier pro Käfig wurde jeweils am Leben gelassen, sodass je sechs Tiere (im Falle der Kontrollgruppe nur fünf) aus jeder Dosisgruppe für einen anschließenden Regenerationsversuch zur Verfügung standen. Alle übrigen Tiere wurden durch Kopfschlag betäubt und durch Decapitation getötet. Es wurden anschließend Leber, Nieren und die Muskulatur von Brust und linkem Ständer entnommen und zur späteren Analyse auf die PFT-Gehalte in diesen Geweben bei -20°C eingefroren. Für jedes Tier wurde individuell das Frischgewicht von Leber und Nieren dokumentiert.

3.4.2 Regenerationsversuch

Die verbliebenen Wachteln aus dem Fütterungsversuch wurden anschließend entsprechend der zuvor erhaltenen PFT-Dosis wiederum zu fünf Gruppen zusammengefasst (Gruppe 0/0, 190/0, 330/0, 580/0 und 1000/0) und erhielten im weiteren Verlauf unbehandeltes Futter. Jede Gruppe bestand dabei aus nur einem Käfig zu je sechs Tieren. Der Regenerationsversuch war ebenfalls als Legeversuch konzipiert und wurde über 38 Tage durchgeführt. Das durchschnittliche Körpergewicht der Tiere in den einzelnen Käfigen wurde an Tag 0 und Tag 14 nach der Umstellung auf PFT-freies Futter bestimmt. Um die Elimination der Perfluorierten Tenside über tierische Produkte nach Beendigung der PFT-Gabe beurteilen zu können, wurden auch während dieser Phase täglich die Eier gesammelt und zur späteren Analyse auf Perfluorierte Tenside bei drei Grad Celsius eingelagert. Zusätzlich wurden die tägliche Legeleistung und das durchschnittliche Eigewicht, sowie die durchschnittliche Futterraufnahme in gleicher Weise wie für den Fütterungsversuch für jeden Käfig dokumentiert (s. Tabelle 8).

Tabelle 8 Versuchsdaten und untersuchte Parameter des Regenerationsversuchs

Daten und untersuchte Parameter des Regenerationsversuchs						
	Dosierung µg PFT/Kg KGW/Tag	Dosierung µg PFT/kg Futter	Anzahl Versuchstiere	Untersuchte Parameter	Versuchsdauer (d)	Versuchsablauf
Gruppe 0/0			5			Einsetzen in Versuchskäfige
Gruppe 190/0			6	Körpergewicht		(d0: Wiegen)
Gruppe 330/0	0	0	6	Futteraufnahme	38	↓ Sammeln der Eier
Gruppe 580/0			6	Eigewicht		(d14: Wiegen)
Gruppe 1000/0			6	PFT-Gehalt Ei		↓ Euthanasie

3.4.3 Tränkeversuch

Im dritten Versuchsdurchlauf wurden die Perfluorierten Tenside über das Tränkwasser verabreicht. Die Versuchstiere stammten wiederum aus der Nachzucht des institutseigenen Inzuchtstammes. Auch der Tränkeversuch war als Legeversuch konzipiert und wurde über 38 Tage durchgeführt. Es kamen für diesen Versuch drei Gruppen zum Einsatz (Gruppe 0, 330 und 580). Jede Gruppe umfasste fünf Käfige zu je acht Tieren (s. Tabelle 9). Da Wachteln dazu neigen, das Tränkwasser zu verspritzen, wurden diesmal, um Kontaminationen zu vermeiden, die Tiere der Kontrollgruppe in der obersten Käfigetage und die behandelten Tiere in aufsteigender Dosishöhe in den beiden Etagen darunter eingestallt. Für diesen Versuch kamen Plastikstülptränken mit einem Fassungsvermögen von 1000 Millilitern zum Einsatz. Es wurden sowohl das Volumen der ersten Füllung als auch alle weiteren Wassergaben dokumentiert. Der Inhalt des Tellers der Tränke wurde bei jeder neuen Füllung verworfen und anschließend unschädlich beseitigt. Das Volumen des verworfenen Wassers wurde gemessen und von demjenigen der neuen Füllung abgezogen. Zum Ende des Versuchs wurde die in der Tränke verbliebene Restmenge gewogen und dokumentiert, sodass sich der Wasserverbrauch über die gesamte Versuchsdauer berechnen ließ. Bei der Berechnung des Wasserverbrauchs wurde die entsprechend der Tierverluste veränderte Anzahl an Versuchstieren berücksichtigt.

Tabelle 9 Versuchsdaten und untersuchte Parameter des Tränkeversuchs

Daten und untersuchte Parameter des Tränkeversuchs						
	Dosierung µg PFT/Kg KGW/Tag	Dosierung µg PFT/l Wasser	Anzahl Versuchstiere	Untersuchte Parameter	Versuchsdauer (d)	Versuchsablauf
Gruppe 0	0	0	40	Körpergewicht Futteraufnahme Wasserverbrauch Legeleistung Eigewicht		Einsetzen in Versuchskäfige (d0: Wiegen) ↓
Gruppe 330	330	1320	40	PFT-Gehalt Ei PFT-Gehalt Leber	38	Sammeln der Eier (d14: Wiegen) ↓
Gruppe 580	580	2320	40	PFT-Gehalt Muskel Gewicht Leber Gewicht Niere		(d38: Wiegen) Euthanasie und Probengewinnung

Es wurden wiederum täglich die Eier gesammelt und bei drei Grad Celsius zur späteren Analyse eingelagert. Außerdem wurden die tägliche Legeleistung, sowie das durchschnittliche Eigewicht, die Futteraufnahme und der Wasserverbrauch für jeden Käfig dokumentiert. Nach 38 Tagen wurden analog zum Fütterungsversuch für jeden Käfig Serumproben gewonnen und anschließend gepoolt. Anschließend wurden die Tiere in der bereits beschriebenen Weise betäubt und getötet. Es wurden wiederum Leber, Nieren und Muskulatur von Brust und linkem Ständer entnommen und bei -20°C zur späteren Analyse auf deren PFT-Gehalt eingefroren. Außerdem wurde das Frischgewicht von Leber und Nieren für jedes Tier dokumentiert.

3.5 PFT-Analyse

Bei der Analyse der Gehalte an Perfluorierten Tensiden in tierischen Geweben handelt es sich um spezielle Verfahren, die eine entsprechende Laborausstattung voraussetzen. Aus diesem Grund wurde aus der Vielzahl der in beiden Versuchsdurchläufen gewonnenen Proben ein Volumen von 135 repräsentativen Proben zu je ca. 20 Gramm Probenmaterial ausgewählt und in Zusammenarbeit mit der Firma Eurofins GfA GmbH, Otto-Hahn-Straße 22, D-48161 Münster auf ihren PFT-Gehalt untersucht.

Die Analyse erfolgt unabhängig von der zu untersuchenden Matrix in den folgenden Schritten:

- Zunächst werden $^{13}\text{C}_8$ -PFOA, beziehungsweise $^{13}\text{C}_4$ -PFOS als markierte interne Standardsubstanzen dazugegeben.
- Im Falle von Feststoffen wird das Probenmaterial homogenisiert und mittels Methanol extrahiert. Flüssige Medien werden durch Solid Phase Extraction (SPE) angereichert.
- Anschließend wird $^{13}\text{C}_4$ -PFOA als Wiederfindungsstandard dazugegeben.
- Die Analyse wird mittels Flüssigkeitschromatographie gekoppelt mit Massenspektrometrie durchgeführt.
- Zuletzt wird die Testsubstanz anhand des internen Standards quantifiziert.

3.6 Statistik

Für den Vergleich zweier Gruppen in Bezug auf einen Parameter wurde die univariate Varianzanalyse (ANOVA) angewandt. Der Mehrfachvergleich zwischen unterschiedlichen Gruppen erfolgte mittels Bonferroni-Test und der Vergleich eines Parameters innerhalb derselben Gruppe unter verschiedenen Bedingungen mittels t-Test für verbundene Stichproben. Abhängigkeiten zwischen zwei Parametern wurden mit der Korrelation nach Pearson untersucht. Ein Ergebnis wurde als signifikant gewertet, sobald der p-Wert kleiner oder gleich 0,05 war. Bei einem p-Wert kleiner oder gleich 0,01 wurde das Ergebnis als hoch signifikant und ab einem p-Wert kleiner oder gleich 0,001 als höchst signifikant gewertet. Für die Analyse der Daten und die Erstellung von Boxplot Grafiken wurde die Software PASW Statistics 18 verwendet. Mittelwert und Standardabweichung, sowie Regressionen wurden mit der Software Microsoft Office Excel 2003 beziehungsweise 2007 errechnet.

4. Ergebnisse

4.1 Tierleistungsparameter

Als Parameter für die Tiergesundheit können Tierverluste, das durchschnittliche Körpergewicht der Tiere, die durchschnittliche tägliche Futteraufnahme, die durchschnittliche tägliche Legeleistung, sowie bei der täglichen visuellen Beurteilung der Tiere äußerlich erkennbare Veränderungen herangezogen werden.

4.1.1 Fütterungsversuch

Tierverluste

Tierverluste traten in jeder Dosisgruppe auf. In den Gruppen 0 und 190 starb jeweils ein Tier ohne erkennbare Ursache, in Gruppe 330 starben drei Tiere, in Gruppe 580 starben 2 Tiere und in Gruppe 1000 starben fünf Tiere ohne erkennbare Ursache.

Beurteilung der Tiergesundheit

Bei der täglichen visuellen Untersuchung zeigten die Tiere aller Gruppen eine mehr oder weniger starke Mauser. Diese führte bei den Tieren aus Gruppe 1000 zu fast vollständigem Federverlust im Bereich von Rücken, Brust und Hals. In allen anderen Gruppen zeigten die Tiere Federverluste hauptsächlich im caudalen Rumpfbereich. Darüber hinaus konnten in allen Gruppen vereinzelt Pickverletzungen beobachtet werden.

Körpergewicht

Das durchschnittliche Körpergewicht lag an Tag 0 für alle Gruppen im Mittel bei 167 ± 7 Gramm. An Tag 42 lag dieses bei 158 ± 11 Gramm. Für diesen Unterschied in den Werten für das durchschnittliche Körpergewicht sind Gewichtsverluste innerhalb der Gruppen 580 und 1000 verantwortlich. Die Tiere in Gruppe 580 waren an Tag 42 mit durchschnittlich 157 ± 9 Gramm 4,6%

leichter als an Tag 0 und 6,6% leichter als an Tag 14. Während bei Gruppe 580 frühestens an Tag 42 eine Gewichtsreduktion feststellbar war, trat diese bei Gruppe 1000 schon an Tag 14 auf. Mit einem durchschnittlichen Gewicht von 141 ± 4 Gramm waren die Tiere der Gruppe 1000 an Tag 14 im Mittel 17,3% und an Tag 42, mit einem durchschnittlichen Gewicht von 142 ± 2 Gramm, 16,4% leichter als an Tag 0. Im Vergleich zu Gruppe 0 weisen die Tiere aus Gruppe 580 an Tag 42 ein im Mittel um 4,9% geringeres Körpergewicht auf. Für Gruppe 1000 beträgt dieser Unterschied bereits an Tag 14 17,1% und 13,9% an Tag 42 (s. Tabelle 10).

Tabelle 10 Durchschnittliches Körpergewicht (g) der Versuchstiere des Fütterungsversuchs (Mittelwert und Standardabweichung pro Gruppe)

Körpergewicht (g) der Tiere des Fütterungsversuchs				
		Tag 0	Tag 14	Tag 42
	n	$\bar{x} \pm \sigma_{\bar{x}}$	$\bar{x} \pm \sigma_{\bar{x}}$	$\bar{x} \pm \sigma_{\bar{x}}$
Gruppe 0	40	168 \pm 2,1	170 \pm 3,5	165 \pm 7,8
Gruppe 190	48	167 \pm 6,4	170 \pm 4,2	164 \pm 3,7#
Gruppe 330	48	164 \pm 10,9	167 \pm 2,6	164 \pm 7,4
Gruppe 580	48	165 \pm 6,0	168 \pm 4,8	157 \pm 8,9#
Gruppe 1000	48	170 \pm 5,7	141 \pm 4,4*,#	142 \pm 2,2*

* Statistisch signifikanter Unterschied im Vergleich zu Gruppe 0 und allen anderen Gruppen ($p \leq 0,05$)
Statistisch signifikanter Unterschied im Vergleich zu vorangegangenem Messzeitpunkt innerhalb derselben Gruppe ($p \leq 0,01$)

Futteraufnahme

Die durchschnittliche tägliche Futteraufnahme betrug für alle Gruppen zusammengenommen im Mittel $25,0 \pm 3,1$ Gramm. Der geringste Wert wurde mit $20,4 \pm 1,4$ Gramm in Gruppe 1000 erreicht und der höchste Wert mit $27,1 \pm 2,4$ in Gruppe 330. Wird Gruppe 1000 bei der Berechnung nicht berücksichtigt, steigt der Wert für die durchschnittliche Futteraufnahme der übrigen Gruppen auf 26,2 Gramm. Dies bedeutet, dass die Futteraufnahme der Tiere in Gruppe 1000 im Mittel um 22,3% niedriger lag, als die der Tiere aller anderen Gruppen. Im Vergleich zu Gruppe 0 lag sie um 21,8% niedriger (s. Tabelle 11).

Tabelle 11 Durchschnittlicher tägliche Futterverbrauch (g) der einzelnen Dosisgruppen des Fütterungsversuchs (pro Käfig)

Futterverbrauch (g) der Tiere des Fütterungsversuchs								
Käfig	1	2	3	4	5	6	$\bar{X} \pm \sigma_{\bar{x}}$	n
Gruppe 0	26,4	27,0	27,7	23,3	26,0	-	26,1 ± 1,7	40
Gruppe 190	25,3	23,6	26,5	23,5	23,9	26,2	24,8 ± 1,3	48
Gruppe 330	28,6	24,1	24,2	29,4	26,9	29,2	27,1 ± 2,4	48
Gruppe 580	29,5	26,6	27,7	24,6	23,7	29,4	26,9 ± 2,4	48
Gruppe 1000	19,4	19,3	20,0	20,7	23,0	19,9	20,4 ± 1,4*	48

* Statistisch signifikanter Unterschied im Vergleich zu Gruppe 0 und zu allen anderen Gruppen ($p \leq 0,01$)

Legeleistung

Im Mittel lag die durchschnittliche Legeleistung der Tiere aller Gruppen über den gesamten Versuchszeitraum bei $78 \pm 19\%$. Den geringsten Wert erreichte Käfig sechs der Gruppe 1000 mit einer durchschnittlichen Legeleistung von 40%. Der höchste Wert mit einer Legeleistung von 94% wurde von Käfig 5 der Gruppe 0 und von Käfig 3 der Gruppe 580 erreicht. Innerhalb der Gruppe 1000 lag die durchschnittliche Legeleistung im Mittel bei $43 \pm 2\%$. Alle anderen Gruppen lagen in einem Bereich von 85 bis 88%. Wird Gruppe 1000 bei der Berechnung nicht berücksichtigt, steigt der Mittelwert für die durchschnittliche Legeleistung der restlichen Gruppen auf $87 \pm 5,3\%$. Damit erreichten die Tiere in Gruppe 1000 im Mittel 49,4% der durchschnittlichen Legeleistung der anderen Gruppen beziehungsweise 50% der Legeleistung von Gruppe 0 (s. Tabelle 12).

Tabelle 12 Durchschnittliche tägliche Legeleistung (%) der Gruppen des Fütterungsversuchs (pro Käfig)

Legeleistung (%) der Tiere des Fütterungsversuchs								
Käfig	1	2	3	4	5	6	$\bar{X} \pm \sigma_{\bar{x}}$	n
Gruppe 0	82	88	91	78	94	-	86 ± 6	40
Gruppe 190	90	89	90	84	91	84	88 ± 3	48
Gruppe 330	86	77	93	79	85	90	85 ± 6	48
Gruppe 580	91	91	94	81	78	88	87 ± 6	48
Gruppe 1000	42	42	46	44	44	40	43 ± 2***	48

*** Statistisch signifikanter Unterschied im Vergleich zu Gruppe 0 und zu allen anderen Gruppen ($p \leq 0,001$)

Betrachtet man die durchschnittlich aufgenommene Futtermenge pro Kilogramm Eimasse, liegt diese mit $4,5 \pm 0,3$ Kilogramm Futter pro Kilogramm Eimasse in Gruppe 1000 deutlich höher als bei den übrigen Gruppen. Deren Futteraufnahme

liegt zwischen $2,5 \pm 0,1$ und $2,7 \pm 0,2$ Kilogramm pro Kilogramm Eimasse (s. Tabelle 13).

Tabelle 13 Durchschnittlich aufgenommene Futtermenge pro Kilogramm Eimasse (Kilogramm Futter/ Kilogramm Eimasse) der Gruppen des Fütterungsversuchs

Aufgenommene Futtermenge pro Eimasse (kg/kg) der Tiere des Fütterungsversuchs								
Käfig	1	2	3	4	5	6	$\bar{x} \pm \sigma_{\bar{x}}$	n
Gruppe 0	2,9	3,0	2,6	2,7	2,5	-	$2,7 \pm 0,2$	40
Gruppe 190	2,5	2,3	2,4	2,5	2,4	2,6	$2,5 \pm 0,1$	48
Gruppe 330	2,5	2,9	2,5	3,0	2,6	2,7	$2,7 \pm 0,2$	48
Gruppe 580	2,6	2,5	2,7	2,7	2,7	2,8	$2,6 \pm 0,1$	48
Gruppe 1000	4,2	4,8	4,1	4,5	4,9	4,4	$4,5 \pm 0,3^{**}$	48

** Statistisch signifikanter Unterschied im Vergleich zu Gruppe 0 und allen anderen Gruppen ($p \leq 0,05$)

4.1.2 Regenerationsversuch

Tierverluste

Während der Versuchsdauer traten in keiner der Gruppen Verluste unter den Versuchstieren auf.

Beurteilung der Tiergesundheit

Die bei den Tieren aus Gruppe 1000 während des Fütterungsversuches beobachtete großflächige Mauser schritt bei den Tieren, die anschließend für den Regenerationsversuch in Gruppe 1000/0 zusammengesetzt wurden, nicht weiter fort. Es zeigte sich vielmehr schon innerhalb der ersten Woche nach der Umstellung auf PFT-freies Futter eine Bildung neuer Federkiele an den zuvor kahlen Stellen.

Futteraufnahme

Tabelle 14 zeigt die durchschnittliche Futteraufnahme und das durchschnittliche Körpergewicht der Tiere des Regenerationsversuchs an Tag 1 und Tag 14 nach der Umstellung auf PFT-freies Futter. Während die Futteraufnahme in den Gruppen 0/0 bis 580/0 in ähnlichen Bereichen liegt wie vor der Futterumstellung

(vgl. Tabelle 11), zeigt sich im Falle der Gruppe 1000/0 ein Anstieg von 23,6% im Vergleich zu der entsprechenden Gruppe des Fütterungsversuchs.

Tabelle 14 Durchschnittliche tägliche Futtermittelaufnahme (g) und durchschnittliches Körpergewicht (g) der Tiere des Regenerationsversuchs jeweils erfasst als Mittelwert eines Käfigs

Futtermittelaufnahme (g) und Körpergewicht (g) der Tiere des Regenerationsversuchs				
	n	Futtermittelaufnahme (g)	Körpergewicht (g)	
			Tag 1	Tag 14
Gruppe 0/0	5	28,16	171	160
Gruppe 190/0	6	26,90	157	158
Gruppe 330/0	6	25,18	163	161
Gruppe 580/0	6	26,89	159	150
Gruppe 1000/0	6	25,19	141	157

Körpergewicht

Ähnlich wie bei der Futtermittelaufnahme nähern sich innerhalb der Gruppe 1000/0 im Verlauf der Regenerationsphase auch die Werte für das durchschnittliche Körpergewicht dem Niveau der Kontrollgruppe an. So beträgt das Körpergewicht innerhalb der Gruppe 1000/0 an Tag 1 nach der Futterumstellung 141 Gramm und liegt 14 Tage später mit 157 Gramm bereits in einem vergleichbaren Bereich wie das der Kontrolltiere (160 Gramm).

Legeleistung

In der fünften Woche nach Umstellung auf PFT-freies Futter fielen mehrmals über Nacht die Nippeltränken der Gruppen 0/0, 330/0 und 1000/0 aus. Bei unzureichender Wasserversorgung sinkt die Legeleistung der Wachteln. Um die Werte für die durchschnittliche Legeleistung nicht zu verfälschen, wurden daher nur die ersten vier Wochen für die Berechnung herangezogen. Die niedrigste Legeleistung erreichte Gruppe 1000/0 mit 60% und die höchste Gruppe 580/0 mit 77%. Gruppe 0/0, Gruppe 190/0 und Gruppe 330/0 lagen mit 72%, 76% beziehungsweise 68% dazwischen.

Tabelle 15 zeigt die Werte für die tägliche Legeleistung der Gruppe 1000/0 in den ersten 21 Tagen nach der Umstellung auf PFT-freies Futter. An Tag 1 lag die Legeleistung bei 17%, an Tag 14 bei 75%. Ab Tag elf lag sie konstant über 50%.

Somit ist bereits innerhalb der ersten Woche nach der Futterumstellung ein deutlicher Anstieg der Legeleistung innerhalb der Gruppe 1000/0 zu verzeichnen.

Tabelle 15 Durchschnittliche tägliche Legeleistung der Gruppe 1000/0 des Regenerationsversuchs in den ersten 21 Tagen nach Umstellung auf PFT-freies Futter

Legeleistung (%) der Gruppe 1000/0	
Tage nach der Futterumstellung	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21
Legeleistung(%)	17 17 0 17 33 17 67 67 92 17 50 75 75 75 75 67 83 100 83 83 58

Die pro Kilogramm Eimasse aufgenommene Futtermenge ist bei Gruppe 1000/0 mit 4,5 Kilogramm pro Kilogramm Eimasse praktisch unverändert im Vergleich zu dem Wert der Gruppe 1000 des Fütterungsversuchs. Sie lag jedoch in ähnlichen Bereichen wie bei den anderen Gruppen des Regenerationsversuchs. Diese erreichten Werte zwischen 3,5 Kilogramm pro Kilogramm Eimasse (Gruppe 580/0) und 4,3 Kilogramm pro Kilogramm Eimasse (Gruppe 330/0).

4.1.3 Tränkeversuch

Tierverluste

Es starben drei Tiere aus Gruppe 0 und zwei Tiere aus Gruppe 330 aus unbekannter Ursache während der Versuchsdauer. Aus Gruppe 580 starben keine Tiere während des Versuchsverlaufs.

Auch die Tiere, die für den Tränkeversuch eingesetzt wurden, zeigten eine mehr oder weniger starke Mauser, ohne dass hierbei deutliche Unterschiede in der Ausprägung zwischen den einzelnen Gruppen erkennbar waren. Pickverletzungen traten in vergleichbarer Häufigkeit auf wie bei den Tieren aus dem Fütterungsversuch.

Körpergewicht

Das durchschnittliche Körpergewicht der Tiere aller Gruppen lag zum Zeitpunkt der ersten Messung im Mittel bei $160 \pm 4,4$ Gramm. Zu Versuchsende an Tag 38 lag dieses im Mittel bei $166 \pm 5,2$ Gramm. Gewichtsverluste konnten für keine der

Gruppen des Tränkeversuchs beobachtet werden. Das durchschnittliche Körpergewicht lag hier an Tag 42 bei allen Gruppen höher als an Tag 0 (s. Tabelle 16).

Tabelle 16 Durchschnittliches Körpergewicht (g) der Versuchstiere des Tränkeversuchs (Mittelwert und Standardabweichung pro Gruppe)

Körpergewicht (g) der Tiere des Tränkeversuchs				
		Tag 0	Tag 14	Tag 42
	n	$\bar{x} \pm \sigma_{\bar{x}}$	$\bar{x} \pm \sigma_{\bar{x}}$	$\bar{x} \pm \sigma_{\bar{x}}$
Gruppe 0	40	159 ± 6,2	159 ± 9,8	170 ± 6,5
Gruppe 330	40	161 ± 3,0	160 ± 4,2	164 ± 2,4
Gruppe 580	40	159 ± 4,1	157 ± 3,8	164 ± 2,4#

* Statistisch signifikanter Unterschied des Mittelwerts im Vergleich zu Gruppe 0 und allen anderen Gruppen
Statistisch signifikanter Unterschied des Mittelwerts im Vergleich zu vorangegangenen Messzeitpunkt innerhalb derselben Gruppe ($p \leq 0,01$)

Futteraufnahme und Wasserverbrauch

Die durchschnittliche tägliche Futteraufnahme lag für alle Gruppen zwischen $24,6 \pm 2,1$ (Gruppe 0) und $25,2 \pm 2,3$ Gramm (Gruppe 330). Deutliche Unterschiede zwischen den Gruppen waren somit für den Tränkeversuch nicht feststellbar (vgl. Tabelle 17).

Tabelle 17 Durchschnittlicher täglicher Futtermittelverbrauch (g) der einzelnen Dosisgruppen des Tränkeversuchs (pro Käfig)

Futtermittelverbrauch (g) der Tiere des Tränkeversuchs							
Käfig	1	2	3	4	5	$\bar{x} \pm \sigma_{\bar{x}}$	n
Gruppe 0	21,5	24,3	26,8	23,9	26,3	$24,6 \pm 2,1$	40
Gruppe 330	26,5	22,5	27,8	25,9	23,0	$25,2 \pm 2,3$	40
Gruppe 580	23,7	25,0	22,8	25,1	26,4	$24,6 \pm 1,4$	40

* Statistisch signifikanter Unterschied des Mittelwerts im Vergleich zu Gruppe 0 und zu allen anderen Gruppen

Die durchschnittlich aufgenommene Futtermenge pro Kilogramm Eimasse lag mit Werten zwischen $2,7 \pm 0,2$ Kilogramm pro Kilogramm Eimasse (Gruppe 330) und $3,2 \pm 0,2$ Kilogramm pro Ei (Gruppe 580) für alle Gruppen ebenfalls in vergleichbaren Bereichen (s. Tabelle 18).

Tabelle 18 Durchschnittlich aufgenommene Futtermenge pro Kilogramm Eimasse (Kilogramm Futter/ Kilogramm Eimasse) der Gruppen des Tränkeversuchs

Aufgenommene Futtermenge pro Eimasse (kg/kg) der Tiere des Tränkeversuchs							
Käfig	1	2	3	4	5	$\bar{x} \pm \sigma_{\bar{x}}$	n
Gruppe 0	3,6	2,5	3,0	2,9	3,1	$3,0 \pm 0,4$	40
Gruppe 330	2,6	2,5	3,0	2,7	2,9	$2,7 \pm 0,2$	40
Gruppe 580	3,5	2,9	3,1	3,1	3,4	$3,2 \pm 0,2$	40

* Statistisch signifikanter Unterschied im Vergleich zu Gruppe 0

In Tabelle 19 ist der durchschnittliche tägliche Wasserverbrauch der Tiere des Tränkeversuchs dargestellt. Dieser lag im Mittel für die Gruppen 330 und 580 mit $59,1 \pm 5,2$ Millilitern beziehungsweise $51,4 \pm 4,4$ Millilitern deutlich höher als für Gruppe 0 mit 46,72 Millilitern.

Tabelle 19 Durchschnittlicher täglicher Wasserverbrauch (ml) der Gruppen des Tränkeversuchs (pro Käfig)

Wasserverbrauch (ml) der Tiere des Tränkeversuchs							
Käfig	1	2	3	4	5	$\bar{x} \pm \sigma_{\bar{x}}$	n
Gruppe 0	40,2	48,9	53,5	43,3	47,7	$46,7 \pm 5,2$	40
Gruppe 330	64,7	64,3	54,8	57,8	54,1	$59,1 \pm 5,1^*$	40
Gruppe 580	53,8	56,7	44,9	50,5	51,0	$51,4 \pm 4,4$	40

* Statistisch signifikanter Unterschied des Mittelwerts im Vergleich zu Gruppe 0 ($p \leq 0,01$)

Legeleistung

In Tabelle 20 ist die Legeleistung der Tiere des Tränkeversuchs dargestellt. Es fällt auf, dass diese sich innerhalb der Gruppen 0 und 580 um Werte von etwa 70% bewegte. Im Gegensatz dazu zeigten die Tiere der Gruppe 330 mit einer mittleren Legeleistung von $81 \pm 7\%$ insgesamt eine deutlich bessere Leistung.

Tabelle 20 Durchschnittliche tägliche Legeleistung (%) der Gruppen des Tränkeversuchs (pro Käfig)

Legeleistung (%) der Tiere des Tränkeversuchs							
Käfig	1	2	3	4	5	$\bar{x} \pm \sigma_{\bar{x}}$	n
Gruppe 0	51	64	86	76	75	70 ± 1	40
Gruppe 330	87	86	80	84	69	81 ± 7	40
Gruppe 580	57	74	65	73	69	68 ± 7	40

* Statistisch signifikanter Unterschied des Mittelwerts im Vergleich zu Gruppe 0

4.2 Organgewichte

Um Hinweise für eine organotoxische Wirkung von PFOS und PFOA auf die Versuchstiere zu erhalten, wurde von den Tieren des Fütterungs-, sowie des Tränkeversuchs individuell das absolute und relative Gewicht von Leber und beiden Nieren erfasst.

4.2.1 Fütterungsversuch

Tabelle 21 gibt einen Überblick über das absolute und das relative Nierengewicht der Tiere aus dem Fütterungsversuch.

Tabelle 21 Absolutes (g) und relatives (% der Körpermasse) Nierengewicht der Tiere des Fütterungsversuchs als Mittelwert und Standardabweichung pro Käfig

Absolutes (g) und relatives (%) Nierengewicht der Tiere des Fütterungsversuchs									
	Käfig	1	2	3	4	5	6	Gesamt	n
		$\bar{x} \pm \sigma_{\bar{x}}$	$\bar{x} \pm \sigma_{\bar{x}}$	$\bar{x} \pm \sigma_{\bar{x}}$	$\bar{x} \pm \sigma_{\bar{x}}$	$\bar{x} \pm \sigma_{\bar{x}}$	$\bar{x} \pm \sigma_{\bar{x}}$		
Gruppe 0	absolut (g)	1,3 ± 0,3	1,2 ± 0,7	1,4 ± 0,3	1,3 ± 0,3	1,1 ± 0,3	-	1,3 ± 0,1	34
	relativ (%)	0,9 ± 0,2	0,7 ± 0,4	0,8 ± 0,2	0,8 ± 0,2	0,6 ± 0,2	-	0,8 ± 0,1	
Gruppe 190	absolut (g)	1,4 ± 0,2	1,5 ± 0,2	1,4 ± 0,3	1,3 ± 0,5	1,5 ± 0,3	1,5 ± 0,2	1,5 ± 0,1	41
	relativ (%)	0,9 ± 0,1	0,9 ± 0,1	0,8 ± 0,1	0,8 ± 0,3	0,9 ± 0,2	0,9 ± 0,1	0,9 ± 0,1	
Gruppe 330	absolut (g)	1,8 ± 0,2	1,1 ± 0,8	1,3 ± 0,4	1,6 ± 0,3	1,3 ± 0,3	1,5 ± 0,6	1,4 ± 0,2	39
	relativ (%)	1,1 ± 0,1	0,7 ± 0,2	0,8 ± 0,2	0,9 ± 0,1	0,8 ± 0,2	0,9 ± 0,4	0,9 ± 0,1	
Gruppe 580	absolut (g)	1,4 ± 0,3	1,5 ± 0,5	1,6 ± 0,2	1,3 ± 0,2	1,5 ± 0,4	1,5 ± 0,3	1,5 ± 0,0	40
	relativ (%)	1,0 ± 0,1	1,0 ± 0,2	0,9 ± 0,1	0,8 ± 0,2	1,0 ± 0,2	1,0 ± 0,2	0,9 ± 0,1	
Gruppe 1000	absolut (g)	1,3 ± 0,3	1,3 ± 0,6	1,6 ± 0,4	1,5 ± 0,4	1,4 ± 0,2	1,4 ± 0,7	1,4 ± 0,1	37
	relativ (%)	0,9 ± 0,2	0,9 ± 0,4	1,1 ± 0,2	1,1 ± 0,2	1,0 ± 0,1	1,0 ± 0,5	1,0 ± 0,1*	

* Statistisch signifikanter Unterschied des Mittelwerts im Vergleich zu Gruppe 0 ($p \leq 0,01$)

Im Mittel lag das absolute Gewicht der Niere in Gruppe 0 bei $1,3 \pm 0,1$ Gramm. Mit Werten zwischen 1,4 und 1,5 Gramm lagen alle anderen Gruppen darüber. Ähnlich verhält es sich bei den Werten für das relative Nierengewicht. Dieses lag bei Gruppe 0 im Mittel bei 0,8% des Körpergewichts. Während die Gruppen 190 bis 580 mit durchschnittlich 0,9% konstant über diesem Wert lagen, erreichte das relative Nierengewicht innerhalb der Gruppe 1000 im Mittel sogar 1,0% des Körpergewichts (vgl. Tabelle 21).

Das absolute Lebergewicht der Tiere des Fütterungsversuchs ist in Tabelle 22

dargestellt. Während es für die Gruppen 0 bis 580 im Mittel zwischen 4,5 und 4,7 Gramm erreichte, wiesen die Tiere in Gruppe 1000 mit durchschnittlich $3,9 \pm 0,3$ Gramm ein merklich geringeres Lebergewicht auf. Die durchschnittlichen Werte für das relative Lebergewicht lagen jedoch mit Werten zwischen 2,8 und 2,9% des Körpergewichts für alle Gruppen des Fütterungsversuchs sehr nahe beieinander.

Tabelle 22 *Absolutes (g) und relatives (% der Körpermasse) Lebergewicht der Tiere des Fütterungsversuchs als Mittelwert und Standardabweichung pro Käfig*

Absolutes (g) und relatives (%) Lebergewicht der Tiere des Fütterungsversuchs									
	Käfig							Gesamt	n
		1	2	3	4	5	6		
		$\bar{x} \pm \sigma_{\bar{x}}$	$\bar{x} \pm \sigma_{\bar{x}}$	$\bar{x} \pm \sigma_{\bar{x}}$	$\bar{x} \pm \sigma_{\bar{x}}$	$\bar{x} \pm \sigma_{\bar{x}}$	$\bar{x} \pm \sigma_{\bar{x}}$	$\bar{x} \pm \sigma_{\bar{x}}$	
Gruppe 0	absolut (g)	$4,7 \pm 1,3$	$4,6 \pm 0,7$	$4,5 \pm 0,6$	$4,6 \pm 0,7$	$4,5 \pm 0,4$	-	$4,6 \pm 0,1$	34
	relativ (%)	$3,2 \pm 0,7$	$2,7 \pm 0,4$	$2,7 \pm 0,5$	$2,7 \pm 0,3$	$2,7 \pm 0,3$	-	$2,8 \pm 0,2$	
Gruppe 190	absolut (g)	$4,1 \pm 0,5$	$4,4 \pm 0,4$	$4,9 \pm 0,8$	$4,7 \pm 0,5$	$4,7 \pm 0,6$	$4,4 \pm 0,5$	$4,5 \pm 0,3$	41
	relativ (%)	$2,5 \pm 0,3$	$2,7 \pm 0,3$	$2,8 \pm 0,4$	$2,9 \pm 0,3$	$2,9 \pm 0,5$	$2,7 \pm 0,2$	$2,8 \pm 0,1$	
Gruppe 330	absolut (g)	$5,0 \pm 0,7$	$4,2 \pm 0,5$	$4,1 \pm 0,6$	$5,1 \pm 0,5$	$4,3 \pm 0,6$	$5,3 \pm 0,5$	$4,7 \pm 0,5^{**}$	39
	relativ (%)	$2,9 \pm 0,1$	$2,6 \pm 0,2$	$2,7 \pm 0,3$	$3,0 \pm 0,4$	$2,8 \pm 0,1$	$3,2 \pm 0,2$	$2,9 \pm 0,2$	
Gruppe 580	absolut (g)	$3,4 \pm 1,0$	$4,7 \pm 0,2$	$4,6 \pm 0,7$	$4,8 \pm 1,2$	$4,9 \pm 1,0$	$4,6 \pm 0,9$	$4,5 \pm 0,5$	40
	relativ (%)	$2,4 \pm 0,4$	$3,0 \pm 0,2$	$2,7 \pm 0,4$	$3,1 \pm 0,4$	$3,0 \pm 0,6$	$2,9 \pm 0,6$	$2,9 \pm 0,3$	
Gruppe 1000	absolut (g)	$4,2 \pm 0,5$	$4,1 \pm 0,6$	$3,5 \pm 0,3$	$3,7 \pm 0,5$	$4,1 \pm 0,7$	$4,1 \pm 0,9$	$3,9 \pm 0,3^{**}$	37
	relativ (%)	$2,9 \pm 0,5$	$2,8 \pm 0,4$	$2,5 \pm 0,1$	$2,6 \pm 0,3$	$2,9 \pm 0,2$	$2,9 \pm 0,6$	$2,8 \pm 0,2$	

** Statistisch signifikanter Unterschied des Mittelwerts im Vergleich zwischen den Gruppen ($p \leq 0,05$)

4.2.2 Tränkeversuch

Im Falle der Tiere des Tränkeversuchs lagen alle Gruppen sowohl für das absolute als auch das relative Gewicht der Nieren mit Werten zwischen 1,4 bis 1,5 Gramm beziehungsweise 0,8 bis 0,9% in einem sehr engen Bereich. (s. Tabelle 23).

Tabelle 23 Absolutes (g) und relatives (% der Körpermasse) Nierengewicht der Tiere des Tränkeversuchs als Mittelwert und Standardabweichung pro Käfig

Absolutes (g) und relatives (%) Nierengewicht der Tiere des Tränkeversuchs								
	Käfig	1	2	3	4	5	Gesamt	
		$\bar{x} \pm \sigma_{\bar{x}}$	$\bar{x} \pm \sigma_{\bar{x}}$	$\bar{x} \pm \sigma_{\bar{x}}$	$\bar{x} \pm \sigma_{\bar{x}}$	$\bar{x} \pm \sigma_{\bar{x}}$		$\bar{x} \pm \sigma_{\bar{x}}$
Gruppe 0	absolut (g)	1,4 ± 0,2	1,6 ± 0,1	1,7 ± 0,3	1,5 ± 0,1	1,5 ± 0,2	1,5 ± 0,1	37
	relativ (%)	0,9 ± 0,1	1,0 ± 0,1	0,9 ± 0,1	0,9 ± 0,0	0,9 ± 0,1	0,9 ± 0,0	
Gruppe 330	absolut (g)	1,4 ± 0,4	1,1 ± 0,6	1,4 ± 0,3	1,4 ± 0,2	1,5 ± 0,3	1,4 ± 0,2	38
	relativ (%)	0,8 ± 0,2	0,7 ± 0,4	0,9 ± 0,2	0,9 ± 0,1	1,0 ± 0,2	0,8 ± 0,1	
Gruppe 580	absolut (g)	1,5 ± 0,4	1,4 ± 0,3	1,4 ± 0,2	1,5 ± 0,2	1,5 ± 0,3	1,5 ± 0,1	40
	relativ (%)	0,9 ± 0,2	0,9 ± 0,2	0,9 ± 0,2	0,9 ± 0,2	0,9 ± 0,1	0,9 ± 0,0	

* Statistisch signifikanter Unterschied im Vergleich zu Gruppe 0

Dies gilt auch für das absolute beziehungsweise relative Lebergewicht der Tiere des Tränkeversuchs. Während für die Gruppen 0 bis 580 mit einem mittleren absoluten Lebergewicht zwischen 4,5 und 4,7 Gramm nur geringe Unterschiede bestehen, ist der Mittelwert des relativen Lebergewichtes für alle Gruppen nahezu identisch (s. Tabelle 24).

Tabelle 24 Absolutes (g) und relatives (% der Körpermasse) Lebergewicht der Tiere des Tränkeversuchs als Mittelwert und Standardabweichung pro Käfig

Absolutes (g) und relatives (%) Lebergewicht der Tiere des Tränkeversuchs								
	Käfig	1	2	3	4	5	Gesamt	
		$\bar{x} \pm \sigma_{\bar{x}}$	$\bar{x} \pm \sigma_{\bar{x}}$	$\bar{x} \pm \sigma_{\bar{x}}$	$\bar{x} \pm \sigma_{\bar{x}}$	$\bar{x} \pm \sigma_{\bar{x}}$		$\bar{x} \pm \sigma_{\bar{x}}$
Gruppe 0	absolut (g)	4,5 ± 0,5	4,5 ± 0,6	5,3 ± 0,8	4,5 ± 0,4	4,6 ± 1,0	4,7 ± 0,3	37
	relativ (%)	2,8 ± 0,2	3,0 ± 0,4	2,9 ± 0,3	2,7 ± 0,3	2,7 ± 0,5	2,8 ± 0,1	
Gruppe 330	absolut (g)	4,6 ± 0,8	4,4 ± 0,3	5,1 ± 1,4	4,5 ± 0,4	4,7 ± 0,3	4,7 ± 0,3	38
	relativ (%)	2,7 ± 0,4	2,8 ± 0,1	3,1 ± 0,7	2,7 ± 0,2	2,9 ± 0,2	2,8 ± 0,2	
Gruppe 580	absolut (g)	5,1 ± 0,4	4,5 ± 0,6	4,1 ± 0,7	4,3 ± 0,4	4,5 ± 0,3	4,5 ± 0,3	40
	relativ (%)	3,0 ± 0,2	2,7 ± 0,3	2,6 ± 0,6	2,7 ± 0,2	2,8 ± 0,2	2,8 ± 0,2	

* Statistisch signifikanter Unterschied des Mittelwerts im Vergleich zu Gruppe 0

4.3 PFT-Messwerte

Um Hinweise auf die Anreicherung von PFOA und PFOS in tierischem Gewebe beziehungsweise die Ausscheidung in tierischen Produkten wie dem Ei zu erhalten, wurden für Fütterungs-, Regenerations- und Tränkeversuch die Gehalte von PFOA und PFOS in den Eiern und für den Fütterungs- und den

Tränkeversuch in der Muskulatur und der Leber der jeweils eingesetzten Tiere bestimmt.

4.3.1 Eier

4.3.1.1 Fütterungsversuch

Die Bestimmung der PFT-Gehalte im Vollei wurde für je drei Käfige pro Gruppe zu drei verschiedenen Zeitpunkten durchgeführt. Die Eier eines Käfigs wurden hierfür gepoolt analysiert.

Tabelle 25 zeigt die gemessenen Konzentrationen von PFOA und PFOS als Mittelwert und dazugehörige Standardabweichung der drei untersuchten Käfige.

Es ist bemerkenswert, dass innerhalb der Gruppe 0, die keine PFT über das Futter verabreicht bekam, PFOA dennoch nach 14 Tagen in den Eiern eines Käfigs und nach 35 Tagen in den Eiern von zwei Käfigen nachweisbar war. Nach 35 Tagen waren zudem messbare Konzentrationen von PFOS in den Eiern der Gruppe 0 enthalten.

Bei einem Vergleich der übrigen Gruppen untereinander wird deutlich erkennbar, dass sich beide Testsubstanzen in dosisabhängiger Weise im Eimaterial anreichern. Die gemessenen Konzentrationen liegen dabei pro Kilogramm Trockensubstanz, je nach Testsubstanz und Dosierung, im ein- bis zweistelligen Milligrammbereich.

Während zwischen den Gruppen sowohl für PFOA, als auch für PFOS ein deutlicher Unterschied in den Konzentrationen erkennbar ist, sind die Unterschiede zwischen Tag 14 und Tag 35 innerhalb derselben Gruppe weniger deutlich ausgeprägt.

Wie in Abschnitt 3.3.1 beschrieben, waren die Konzentrationen von PFOA und PFOS im Futter innerhalb der jeweiligen Dosisgruppe identisch. Im Eimaterial wurde PFOS jedoch konstant in deutlich höheren Konzentrationen gemessen als PFOA. Das Verhältnis von PFOS zu PFOA lag für die Gruppen 190 bis 1000 ab Tag 14 zwischen 1,8:1 und 2,5:1. Im Mittel lag es für die genannten Gruppen zu den beiden Zeitpunkten bei $2,1 \pm 0,2:1$.

Tabelle 25 Konzentration ($\mu\text{g/kg TS}$) von PFOA und PFOS in den Eiern der Tiere des Fütterungsversuchs an Tag 0, 14 und 35 nach der Umstellung auf das Versuchsfutter. Dargestellt sind der Mittelwert und die dazugehörige Standardabweichung der Messwerte in den Eiern von je 3 Käfigen pro Gruppe und Zeitpunkt.

PFT Konzentrationen ($\mu\text{g/kg TS}$) in den Eiern des Fütterungsversuchs				
		Tag 0	Tag 14	Tag 35
		$\bar{x} \pm \sigma_{\bar{x}}$	$\bar{x} \pm \sigma_{\bar{x}}$	$\bar{x} \pm \sigma_{\bar{x}}$
Gruppe 0	PFOA	< 1	1 \pm 0,6	1 \pm 0,4
	PFOS	< 1	< 1	3 \pm 2
Gruppe 190	PFOA	1 \pm 0,1	1470 \pm 155	1597 \pm 213
	PFOS	< 1	3260 \pm 171	3315 \pm 54
Gruppe 330	PFOA	< 1	2820 \pm 305	3438 \pm 234
	PFOS	< 1	5487 \pm 488	6591 \pm 1016
Gruppe 580	PFOA	< 1	4010 \pm 675**	4880 \pm 1210**
	PFOS	< 1	8443 \pm 808**	8983 \pm 2133**
Gruppe 1000	PFOA	< 1	11691 \pm 2550**,x	11963 \pm 3119**,x
	PFOS	< 1	25686 \pm 4141**,x	29762 \pm 5988**,x

** Statistisch signifikanter Unterschied des Mittelwerts im Vergleich zu Gruppe 0 ($p \leq 0,05$)
x Statistisch signifikanter Unterschied des Mittelwerts im Vergleich zu Gruppe 0 und zu allen anderen Gruppen ($p \leq 0,01$)

In Tabelle 26 sind die Mittelwerte des Eigewichts für die Käfige aufgeführt, deren Eier auf die enthaltene PFT-Konzentration untersucht wurden. Dieses liegt für alle Gruppen zu den aufgeführten Zeitpunkten in relativ konstanten Bereichen, ohne dass dosisabhängige Veränderungen für diesen Parameter erkennbar werden.

Tabelle 26 Durchschnittliches Eigewicht (g) der Tiere des Fütterungsversuchs (pro Käfig)

Eigewicht (g) der Tiere aus dem Fütterungsversuch			
	Tag 0	Tag 14	Tag 35
	$\bar{x} \pm \sigma_{\bar{x}}$	$\bar{x} \pm \sigma_{\bar{x}}$	$\bar{x} \pm \sigma_{\bar{x}}$
Gruppe 0	11,1 \pm 0,4	11,4 \pm 0,4	11,3 \pm 0,5
Gruppe 190	11,4 \pm 0,3	11,7 \pm 0,1	11,4 \pm 0,4
Gruppe 330	11,2 \pm 0,3	11,6 \pm 0,0	11,3 \pm 0,2
Gruppe 580	10,8 \pm 0,4	11,3 \pm 0,3	11,1 \pm 0,1
Gruppe 1000	11,7 \pm 0,5	11,0 \pm 1,0	11,1 \pm 1,4

* Statistisch signifikanter Unterschied des Mittelwerts im Vergleich zu Gruppe 0

4.3.1.2 Regenerationsversuch

Auch in den Eiern des Regenerationsversuchs waren die Konzentrationen von PFOS an Tag 0 höher als die von PFOA. Zu diesem Zeitpunkt war auch hier im Vergleich zwischen den Gruppen eine deutliche dosisabhängige Anreicherung für

beide Testsubstanzen im Ei erkennbar. An Tag 21 waren noch messbare Gehalte beider Testsubstanzen in den Eiern aller Gruppen enthalten. Konzentrationsunterschiede zwischen den Gruppen waren zu diesem Zeitpunkt nicht mehr erkennbar (s. Tabelle 27).

Gleichzeitig nähern sich auch innerhalb der Gruppen die Werte von PFOS und PFOA einander an. So lag das Verhältnis von PFOS zu PFOA für die Gruppen 190/0 bis 1000/0 an Tag 0 noch bei Werten zwischen 1,5:1 und 2,3:1. Im Mittel betrug es $1,8 \pm 0,4:1$. An Tag 21 war das Verhältnis von PFOS zu PFOA mit Werten zwischen 0,7:1 und 0,9:1 für die Gruppen 190/0 bis 580/0 zugunsten von PFOA verschoben. Für die Gruppe 1000/0 betrug es zu diesem Zeitpunkt noch 2,6:1.

Auch an Tag 42 waren noch in allen getesteten Eiern Spuren von beiden Testsubstanzen enthalten.

Es fällt auf, dass in den Eiern der Gruppe 0/0 zu allen Zeitpunkten messbare Gehalte an PFOS und PFOA enthalten waren.

Tabelle 27 Konzentration ($\mu\text{g}/\text{kg}$ TS) von PFOA und PFOS in den Eiern der Tiere des Regenerationsversuchs an Tag 0, 21 und 42 nach der Umstellung auf PFT-freies Futter. Dargestellt ist der Messwert aus der gepoolten Eiprobe eines Käfigs

PFT Konzentrationen ($\mu\text{g}/\text{kg}$ TS) in den Eiern des Regenerationsversuchs				
		Tag 0	Tag 21	Tag 42
Gruppe 0/0	PFOA	2	2	2
	PFOS	2	6	4
Gruppe 190/0	PFOA	1960	13	3
	PFOS	3290	10	3
Gruppe 330/0	PFOA	3030	34	4
	PFOS	5020	23	5
Gruppe 580/0	PFOA	7440	26	5
	PFOS	11300	24	13
Gruppe 1000/0	PFOA	11839	55	3
	PFOS	27626	142	11

* Statistisch signifikanter Unterschied des Mittelwerts im Vergleich zu Gruppe 0/0

In Tabelle 28 ist für die entsprechenden Zeitpunkte das durchschnittliche Eigewicht für die Gruppen des Regenerationsversuchs dargestellt.

Dieses schwankt für alle Gruppen zu allen Zeitpunkten zwischen 10,5 und 12,0 Gramm, ohne dass ein deutlicher Trend erkennbar wird.

Tabelle 28 Durchschnittliches Eigewicht (g) der Tiere des Regenerationsversuchs

Eigewicht (g) der Tiere des Regenerationsversuchs			
	Tag 0	Tag 21	Tag 42
Gruppe 0/0	11,8	11,2	12,0
Gruppe 190/0	10,8	10,6	11,2
Gruppe 330/0	10,5	10,6	10,8
Gruppe 580/0	11,2	10,6	11,2
Gruppe 1000/0	11,0	10,8	11,3

* Statistisch signifikanter Unterschied des Mittelwerts im Vergleich zu Gruppe 0

4.3.1.3 Tränkeversuch

Bei der Untersuchung der Eier des Tränkeversuchs wurde genauso verfahren wie für den Fütterungsversuch. Auch hier wurden drei Zeitpunkte (Tag 0, 14 und 35 nach der Umstellung auf das präparierte Tränkwasser) gewählt und die Eier von je drei Käfigen pro Gruppe auf die enthaltenen PFT-Konzentrationen analysiert.

Tabelle 29 zeigt für jede Gruppe den Mittelwert und die entsprechende Standardabweichung dieser drei Käfige zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten.

Auch hier wird im Vergleich der Gruppen untereinander erkennbar, dass sich beide Testsubstanzen dosisabhängig im Eimaterial anreichern. Wiederum war hierbei der Unterschied zwischen den Gruppen stärker ausgeprägt als zwischen den verschiedenen Messzeitpunkten innerhalb derselben Gruppe.

PFOS war auch im Eimaterial der Tiere des Tränkeversuchs in höheren Konzentrationen enthalten als PFOA. Das Verhältnis von PFOS zu PFOA schwankte für die Gruppen 330 und 580 an Tag 14 und 35 zwischen 1,7:1 und 2,8:1. Im Mittel betrug es $2,3 \pm 0,5:1$ und lag damit sehr nahe an den entsprechenden Werten des Fütterungsversuchs.

PFOS konnte hier bereits an Tag 0 in den Eiern aller drei untersuchten Käfige der Gruppe 0 des Tränkeversuchs nachgewiesen werden. Ab Tag 14 waren auch messbare Konzentrationen von PFOA enthalten.

Tabelle 29 Konzentration ($\mu\text{g/kg TS}$) von PFOA und PFOS in den Eiern der Tiere des Tränkeversuchs an Tag 0, 14 und 35 nach der Umstellung auf das präparierte Tränkwasser. Dargestellt sind der Mittelwert und die dazugehörige Standardabweichung der Messwerte in den Eiern von je 3 Käfigen pro Gruppe und Zeitpunkt.

PFT Konzentrationen ($\mu\text{g/kg TS}$) in den Eiern des Tränkeversuchs				
		Tag 0	Tag 14	Tag 35
		$\bar{x} \pm \sigma_{\bar{x}}$	$\bar{x} \pm \sigma_{\bar{x}}$	$\bar{x} \pm \sigma_{\bar{x}}$
Gruppe 0	PFOA	<1	1 \pm 0,3	2 \pm 1
	PFOS	2 \pm 0,7	2 \pm 1	1 \pm 0,3
Gruppe 330	PFOA	<1	5727 \pm 2273**	6428 \pm 452**
	PFOS	1 \pm 0,2	16135 \pm 1882**	11050 \pm 3620**
Gruppe 580	PFOA	<1	11753 \pm 1863**,xx	11469 \pm 595**,xx
	PFOS	2 \pm 1,2	30349 \pm 5588**,xx	23643 \pm 3071**,xx

** Statistisch signifikanter Unterschied des Mittelwerts im Vergleich zu Gruppe 0 ($p \leq 0,05$)
 xx Statistisch signifikanter Unterschied des Mittelwerts im Vergleich zu Gruppe 0 und zu allen anderen Gruppen ($p \leq 0,05$)

In Tabelle 30 ist der Mittelwert des Eigewichts der drei Käfige pro Gruppe, deren Eier auf ihren PFT-Gehalt analysiert wurden, aufgeführt. Ein Einfluss der verabreichten PFT-Dosis auf das Eigewicht ist hier jedoch nicht erkennbar.

Tabelle 30 Durchschnittliches Eigewicht der (g) Tiere des Tränkeversuchs

Eigewicht (g) der Tiere des Tränkeversuchs				
		Tag 0	Tag 14	Tag 35
		$\bar{x} \pm \sigma_{\bar{x}}$	$\bar{x} \pm \sigma_{\bar{x}}$	$\bar{x} \pm \sigma_{\bar{x}}$
Gruppe 0		10,4 \pm 0,3	11,4 \pm 0,3	11,4 \pm 0,3
Gruppe 330		10,2 \pm 0,3	11,1 \pm 0,3	11,1 \pm 0,3
Gruppe 580		11,5 \pm 0,5	10,9 \pm 0,3	11,1 \pm 0,3

* Statistisch signifikanter Unterschied des Mittelwerts im Vergleich zu Gruppe 0

4.3.2 Gewebe

4.3.2.1 Fütterungsversuch

Tabelle 31 zeigt die Gehalte von PFOS und PFOA im Muskelgewebe der Tiere des Fütterungsversuchs.

Auch hier ist für beide Testsubstanzen eine dosisabhängige Anreicherung erkennbar. Insbesondere für PFOS unterscheiden sich die Konzentrationen zwischen Gruppe 330 und 580 jedoch kaum.

Im Vergleich zu den Gehalten von PFOS beziehungsweise PFOA im Ei waren die Konzentrationen im Muskelgewebe innerhalb derselben Dosisgruppe deutlich niedriger.

Anders als im Eimaterial war in der Muskulatur PFOA in höheren Konzentrationen enthalten als PFOS. Das Verhältnis von PFOS zu PFOA betrug hier für alle Gruppen zwischen 1:1 und 2,3:1. Im Mittel lag es bei $1,8 \pm 0,4:1$.

Auch in Gruppe 0, die keine PFT über das Futter erhielt, konnte PFOA in einer und PFOS in zwei der untersuchten Proben nachgewiesen werden.

Tabelle 31 Konzentration ($\mu\text{g/kg TS}$) von PFOA und PFOS im Muskelgewebe der Tiere des Fütterungsversuchs (untersucht wurden je 20 g US gepoolte Gewebeproben pro Käfig)

PFT Konzentrationen ($\mu\text{g/kg TS}$) im Muskelgewebe der Tiere des Fütterungsversuchs					
	Käfig	1	2	3	$\bar{x} \pm \sigma_{\bar{x}}$
Gruppe 0	PFOA	< 1	< 1	2	$1 \pm 0,5$
	PFOS	1	< 1	3	$2 \pm 0,8$
Gruppe 190	PFOA	198	221	191	203 ± 16
	PFOS	102	99	107	103 ± 4
Gruppe 330	PFOA	294	362	270	309 ± 48
	PFOS	137	209	118	155 ± 48
Gruppe 580	PFOA	137	393	368	299 ± 141
	PFOS	144	259	209	204 ± 58
Gruppe 1000	PFOA	1570	986	1050	$1202 \pm 320^{**}$
	PFOS	1010	614	630	$751 \pm 224^{**}$

** Statistisch signifikanter Unterschied im Vergleich zu Gruppe 0 und zu allen anderen Gruppen ($p \leq 0,05$)

Auch das Lebergewebe wurde von den Tieren aus je drei Käfigen pro Gruppe auf die enthaltenen Konzentrationen von PFOS und PFOA analysiert.

Hierbei ist ebenfalls ein dosisabhängiger Anstieg der Konzentrationen beider Testsubstanzen im Vergleich der Gruppen untereinander erkennbar. Im Vergleich zu den Messwerten aus der Muskulatur erscheinen die Unterschiede zwischen den Gruppen für die PFT-Konzentrationen ausgeprägter. Auch lagen die Gehalte beider Testsubstanzen im Lebergewebe höher als im Muskelgewebe.

Tabelle 32 Konzentration ($\mu\text{g/kg TS}$) von PFOS und PFOA im Lebergewebe der Tiere des Fütterungsversuchs (untersucht wurden je 20 g US gepoolte Gewebeproben pro Käfig)

PFT Konzentration ($\mu\text{g/kg TS}$) im Lebergewebe der Tiere des Fütterungsversuchs					
	Käfig	1	2	3	$\bar{x} \pm \sigma_{\bar{x}}$
Gruppe 0	PFOA	4	< 1	4	3 ± 2
	PFOS	4	< 1	5	3 ± 2
Gruppe 190	PFOA	1600	1020	1110	1243 ± 312
	PFOS	820	498	724	681 ± 165
Gruppe 330	PFOA	2380	2945	1740	2355 ± 603
	PFOS	1042	6056	992	2697 ± 2909
Gruppe 580	PFOA	4450	3580	3000	3677 ± 730
	PFOS	2100	2040	2090	2077 ± 32
Gruppe 1000	PFOA	10300	12400	8860	$10520 \pm 1780^{**}$
	PFOS	8830	8040	5620	$7497 \pm 1673^{**}$

** Statistisch signifikanter Unterschied im Vergleich zu Gruppe 0 und zu allen anderen Gruppen ($p \leq 0,05$)

Genau wie im Muskelgewebe war auch im Lebergewebe die Konzentration von PFOA in der Regel höher als die von PFOS. Lässt man Käfig 2 der Gruppe 330 außer Betracht, lag das Verhältnis von PFOA zu PFOS im Lebergewebe der Tiere des Fütterungsversuchs zwischen 1,2:1 und 2,3:1, im Mittel bei $1,6 \pm 0,5:1$. Für Käfig 2 der Gruppe 330 lag es dagegen mit 0,5:1 deutlich auf Seiten von PFOS.

In den untersuchten Leberproben der Tiere aus Gruppe 0 konnten wiederum in zwei von drei Fällen messbare Konzentrationen von PFOS beziehungsweise PFOA nachgewiesen werden.

4.3.2.2 Tränkeversuch

Tabelle 33 enthält die Konzentrationen von PFOA und PFOS im Muskelgewebe der Tiere des Tränkeversuchs.

Es ist wiederum ein dosisabhängiger Konzentrationsanstieg für beide Testsubstanzen erkennbar, wobei wiederum die Gehalte an PFOA innerhalb einer Gruppe höher liegen als die von PFOS.

Bestimmt man auch hier das Verhältnis von PFOA zu PFOS liegt, es für die Gruppen 330 und 580 zwischen 2,0:1 und 2,5:1. Im Mittel liegt es für beide Gruppen bei $2,3 \pm 0,1:1$.

Auch in der Muskulatur der Tiere aus Gruppe 0 des Tränkeversuchs, die unbehandeltes Tränkwasser bekamen, konnten in einem von drei Fällen PFOA und PFOS nachgewiesen werden.

Tabelle 33 Konzentration ($\mu\text{g}/\text{kg TS}$) von PFOS und PFOA im Muskelgewebe der Tiere des Tränkeversuchs (untersucht wurden je 20g US gepoolte Gewebeproben pro Käfig)

PFT Konzentrationen ($\mu\text{g}/\text{kg TS}$) im Muskelgewebe der Tiere des Tränkeversuchs					
	Käfig	1	2	3	$\bar{x} \pm \sigma_{\bar{x}}$
Gruppe 0	PFOA	<1	<1	3	2 ± 1
	PFOS	<1	<1	3	2 ± 1
Gruppe 330	PFOA	850	908	921	$893 \pm 38^*$
	PFOS	346	443	380	$390 \pm 49^*$
Gruppe 580	PFOA	1810	1310	1130	$1417 \pm 352^*$
	PFOS	802	569	506	$626 \pm 156^*$

* Statistisch signifikanter Unterschied im Vergleich zu Gruppe 0 ($p \leq 0,01$)

Im Lebergewebe der Tiere des Tränkeversuchs konnte ebenfalls ein dosisabhängiger Anstieg für die Konzentrationen von PFOS beziehungsweise PFOA festgestellt werden. Die Gehalte beider Testsubstanzen lagen im Lebergewebe wiederum höher als im Muskelgewebe.

Auch hier war PFOA in der Regel in einer höheren Konzentration enthalten als PFOS. Wird Käfig 2 der Gruppe 580 nicht miteinbezogen, lag das Verhältnis beider Substanzen zueinander für die Gruppen 330 und 580 zwischen 1,3:1 und 2,0:1, im Mittel bei $1,4 \pm 0,5:1$. Im Falle des Käfigs 2 der Gruppe 580 lag es bei 0,5:1.

Innerhalb der Gruppe 0 des Tränkeversuchs konnten in allen untersuchten Proben Gehalte von PFOS und PFOA nachgewiesen werden.

Tabelle 34 Konzentration ($\mu\text{g}/\text{kg TS}$) von PFOS und PFOA im Lebergewebe der Tiere des Tränkeversuchs (untersucht wurden je 20 g US gepoolte Gewebeproben pro Käfig)

PFT Konzentrationen ($\mu\text{g}/\text{kg TS}$) im Lebergewebe der Tiere des Tränkeversuchs					
	Käfig	1	2	3	$\bar{x} \pm \sigma\bar{x}$
Gruppe 0	PFOA	5,3	4,4	6,1	5 \pm 1
	PFOS	2,7	2,6	4,8	3 \pm 1
Gruppe 330	PFOA	4790	3930	4420	4380 \pm 431*
	PFOS	2370	2400	3240	2670 \pm 494*
Gruppe 580	PFOA	6850	4144	7680	6225 \pm 1849*
	PFOS	5410	8867	5430	6569 \pm 1990*,**

* Statistisch signifikanter Unterschied im Vergleich zu Gruppe 0 ($p \leq 0,01$)
 ** Statistisch signifikanter unterschied im Vergleich zu Gruppe 330 ($p \leq 0,05$)

5. Diskussion

5.1 Tierleistungsparameter

Der im Vergleich zur Legehenne geringe Platzbedarf, die schnelle Generationsfolge und ihre vergleichsweise hohe Legeleistung zeichnen die japanische Legewachtel als Versuchstier aus und waren die Grundlage für die Entscheidung, sie in der vorliegenden Arbeit als Modell eines lebensmittelliefernden Tieres heranzuziehen.

Tierverluste

Schon während der Eingewöhnungsphase, die den Tieren vor Beginn des Fütterungs- und auch des Tränkeversuchs zur Akklimatisierung an die Bedingungen des Versuchsstalls gewährt wurde, traten über alle Käfige verteilt vereinzelt Todesfälle auf. Die pathologisch-anatomische und histologische Untersuchung einiger frisch euthanasierter Tiere ergab keine Hinweise auf das Vorliegen systemischer oder organspezifischer Krankheiten.

Da mehrfach Tiere mit Verletzungen beobachtet wurden, die durch aggressives Verhalten von Artgenossen herrührten, wurde die Tierzahl pro Käfig von ursprünglich zehn auf acht reduziert. Diese Maßnahme führte zu einem Rückgang aber nicht zum vollständigen Ausbleiben von Tierverlusten.

Für die Bildung der Gruppen des Regenerationsversuchs aus Tieren des Fütterungsversuchs wurde je ein Tier pro Käfig von der Euthanasie zu Versuchsende ausgenommen. So standen pro Dosisgruppe sechs (im Falle der Kontrollgruppe fünf) Tiere zur Verfügung, die anschließend in je einen Käfig pro Gruppe zusammengesetzt wurden. Nach dieser erneuten Reduzierung von acht Tieren pro Käfig auf sechs traten unter diesen Tieren keine weiteren Verluste auf.

Da auch die Todesfälle, die unter den Versuchstieren während des Fütterungsbeziehungsweise des Tränkversuchs auftraten, in keinem Zusammenhang mit der erhaltenen Dosis an PFT standen, wurden sie als allgemeine Folge von Stress

beurteilt.

Newsted et al. (2005 und 2006) führten Studien zur Toxizität von PFOS an jungen Enten und Virginiawachteln durch. Dosisabhängige Todesfälle unter den Wachteln traten dabei erst ab einer Konzentration von 141 mg PFOS pro Kilogramm Futter auf. Das no observed adverse effect level (NOAEL), also die Konzentration von PFOS im Futter, bis zu der noch keine dosisabhängigen Todesfälle auftraten, wurde von den Autoren somit für die nächst niedrigere eingesetzte Dosis von 70,3 mg PFOS pro Kilogramm Futter, beziehungsweise 24 mg/kg Körpergewicht festgelegt. Diese Dosierung übersteigt die höchste in der vorliegenden Arbeit eingesetzte Gesamtkonzentration an PFT (4 mg PFT pro Kilogramm Futter, beziehungsweise 1 mg/kg Körpergewicht und Tag) bei weitem, wurde jedoch nur über einen sehr kurzen Zeitraum (fünf Tage) verabreicht. In einer Studie zur chronischen Toxizität von PFOS bestimmten Newsted et al. (2005) ein lowest observed adverse effect level (LOAEL) für die Mortalität der Versuchstiere von 50 mg/kg Futter beziehungsweise 2,64 mg PFOS pro Kilogramm Körpergewicht pro Tag. Das heißt, ab dieser Dosierung traten erstmals Todesfälle unter den Versuchstieren auf. Dieser Wert für PFOS liegt etwa um das eineinhalbfache höher als die höchste in diesem Versuch eingesetzte Gesamtdosis an PFT von 1 mg/kg KGW pro Tag.

Beurteilung der Tiergesundheit

In der Arbeit von Newsted et al. (2006) wurden auch Vergiftungserscheinungen erstmals in der Gruppe beobachtet, die PFOS in einer Dosierung von 141 mg/kg Futter erhielten. Diese äußerten sich in reduziertem Allgemeinbefinden, Hängenlassen der Flügel, reduzierter Reaktion auf akustische und visuelle Stimuli, einem Verlust des Koordinationsvermögens und einer Schwäche der hinteren Gliedmaßen.

Derartige Erscheinungen traten weder bei den Tieren des Fütterungs- noch des Tränkeversuchs in einer der eingesetzten Dosierungen auf.

Die Teilmauser unter den Versuchstieren zeigte sich am ausgeprägtesten in der

Gruppe 1000 des Fütterungsversuchs, trat aber auch unter den Tieren der Kontrollgruppe (Gruppe 0) und aller anderen Gruppen auf. Austin et al. (2003) konnten an Ratten zeigen, dass PFOS-Gaben zu einer Veränderung des Hormonmilieus des Hypothalamus und als Folge zu einem erhöhten Blutkortisolspiegel führen. Die Autoren werteten dies als Anzeichen für einen gesteigerten Stresszustand des Organismus. Vor dem Hintergrund dieser Angaben kann die während der zwei Versuchsdurchläufe beobachtete Mauser der Tiere ebenfalls als stressbedingte Erscheinung, verstärkt durch die PFT-Gaben, gedeutet werden.

Körpergewicht

In mehreren toxikologischen Studien an verschiedenen Spezies wurden sowohl für PFOS als auch PFOA dosisabhängige Gewichtsabnahmen bei den Versuchstieren beobachtet (u. a. Olson et al., 2003; Luebker et al., 2005; EFSA, 2008). Unterschiede in Studiendesign und Applikationsform machen einen Vergleich jedoch schwierig. Dennoch scheint es hier zwischen verschiedenen Spezies Unterschiede in der Sensibilität zu geben. Gewichtsverluste traten zum Beispiel bei Javaneraffen bei Dosierungen von 0,75 mg PFOS/kg KGW/Tag beziehungsweise 20 mg PFOA/kg KGW/Tag auf (Seacat et al., 2002a und b; Butenhoff et al., 2002). Bei Ratten traten Gewichtsverluste erstmals ab einer Dosierung von 20 mg PFOS/kg Futter auf (Seacat et al. 2003).

Zu Versuchsende unterschieden sich die Tiere der Gruppe 1000 des Fütterungsversuchs in Bezug auf das durchschnittliche Körpergewicht signifikant von den Tieren der anderen Gruppen. Zwischen den Gruppen 0 bis 580 konnten jedoch keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden.

Vergleicht man das durchschnittliche Körpergewicht der Tiere der Gruppe 1000 zwischen den verschiedenen Messzeitpunkten, gibt es signifikante Unterschiede zwischen Tag 14 und Tag 0, sowie Tag 42 und Tag 0.

Auch das durchschnittliche Körpergewicht der Tiere in Gruppe 190 und 580 des Fütterungsversuchs unterscheidet sich an Tag 42 signifikant von dem an

Tag 14. Im Vergleich zu den Tieren der anderen Gruppen an Tag 42 gibt es jedoch keine statistisch belegbaren Unterschiede.

Die Tiere der Gruppe 1000 sind im Gegensatz dazu bereits an Tag 14 deutlich leichter als an Tag 0 und zu Versuchsende leichter als die Tiere aller anderen Gruppen. Somit kann der Gewichtsverlust in diesem Fall als dosisabhängig angesehen werden (s. Abbildung 1).

Innerhalb des Tränkeversuchs konnten am letzten Versuchstag keine statistisch nachweisbaren Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen in Bezug auf das Körpergewicht beobachtet werden.

Auch gibt es innerhalb der Gruppen zu keinem Zeitpunkt relevante Gewichtsabnahmen im Vergleich zu Tag 0. Die Tiere aus Gruppe 580 zeigen vielmehr eine leichte Gewichtszunahme zwischen dem vierzehnten und dem letzten Versuchstag (s. Abbildung 2).

Insgesamt waren jedoch sowohl für den Fütterungs- als auch für den Tränkeversuch die PFT-Gehalte in den Organen und das durchschnittliche Körpergewicht der Tiere in den einzelnen Gruppen zu Versuchsende mittel- bis hochsignifikant negativ korreliert.

Relevante Gewichtsverluste im Vergleich zur Kontrolle traten also innerhalb der ersten 14 Tage bei einer Dosierung von 1000 µg PFT/kg KGW/Tag auf. Dies entspricht einer Gesamtmenge an PFT von 4 mg/kg Futter pro Tag. In einer Studie an ausgewachsenen Stockenten und Virginiawachteln beobachteten Newsted et al. (2007) bei den Virginiawachteln nach zwei Wochen dosisabhängige Gewichtsabnahmen ab einer Dosierung von 50 mg PFOS pro Kilogramm Futter (entsprechend 2,64 mg PFOS pro Kilogramm Körpergewicht pro Tag), nicht jedoch bei der nächst niedrigeren Dosierung von 10 mg PFOS pro Kilogramm Futter. Geht man davon aus, dass dies einer durchschnittlichen täglichen PFOS-Aufnahme von etwa 0,5 mg pro Kilogramm Körpergewicht entspricht, liegt die Dosierung bezogen auf das Körpergewicht, bei der zuerst Gewichtsverluste auftraten, in ähnlichen Bereichen wie bei Gruppe 1000 in der vorliegenden Arbeit.

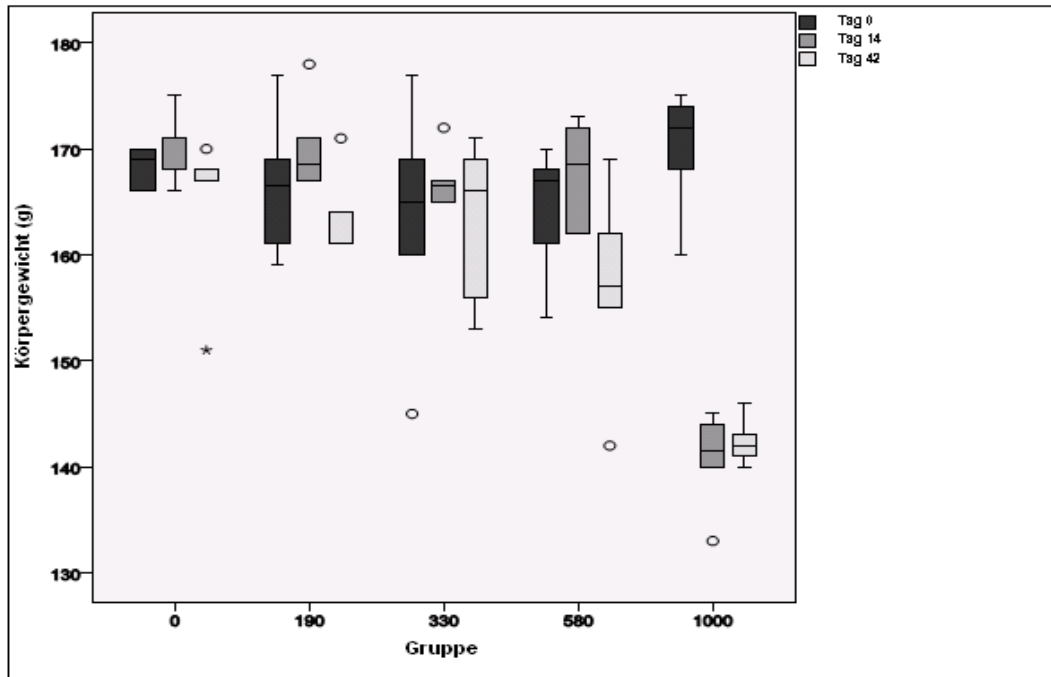


Abbildung 1: Durchschnittliches Körpergewicht der Tiere aus dem Fütterungsversuch an Tag 0, Tag 14 und Tag 42 nach Umstellung auf das Versuchsfutter

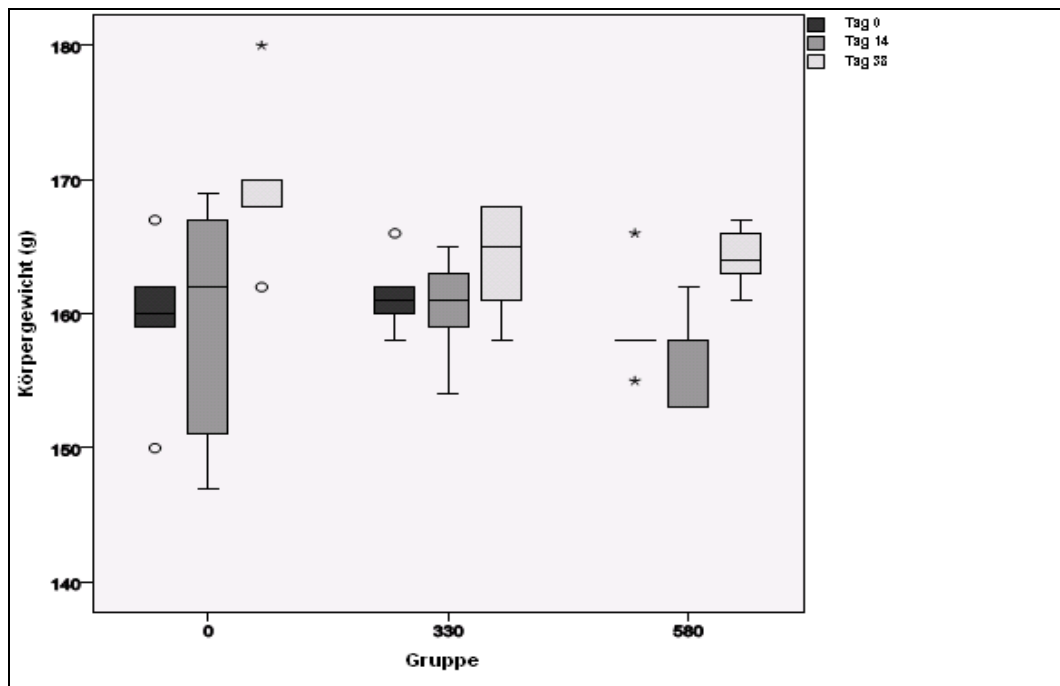


Abbildung 2: Durchschnittliches Körpergewicht der Tiere aus dem Tränkeversuch an Tag 0, Tag 14 und Tag 38 nach Umstellung auf das präparierte Tränkwasser

Auch die Tiere der Gruppe 1000/0 sind an Tag eins nach der Umstellung auf PFT-freies Futter deutlich leichter als die Tiere der anderen Gruppen. Bis zum Zeitpunkt der zweiten Messung an Tag 14 haben sich jedoch alle Gruppen hinsichtlich ihres Körpergewichts einander angenähert. Die Tiere der Gruppe 1000/0 sind zu diesem Zeitpunkt fast 20 Gramm schwerer als an Tag eins und liegen damit in einem vergleichbaren Bereich wie die Tiere der anderen Gruppen. Dies deutet darauf hin, dass es in der Zwischenzeit zu einer Eliminierung der PFT aus dem Organismus gekommen ist und sich dieser von den Auswirkungen der Substanzen erholt hat (s. Abbildung 3).

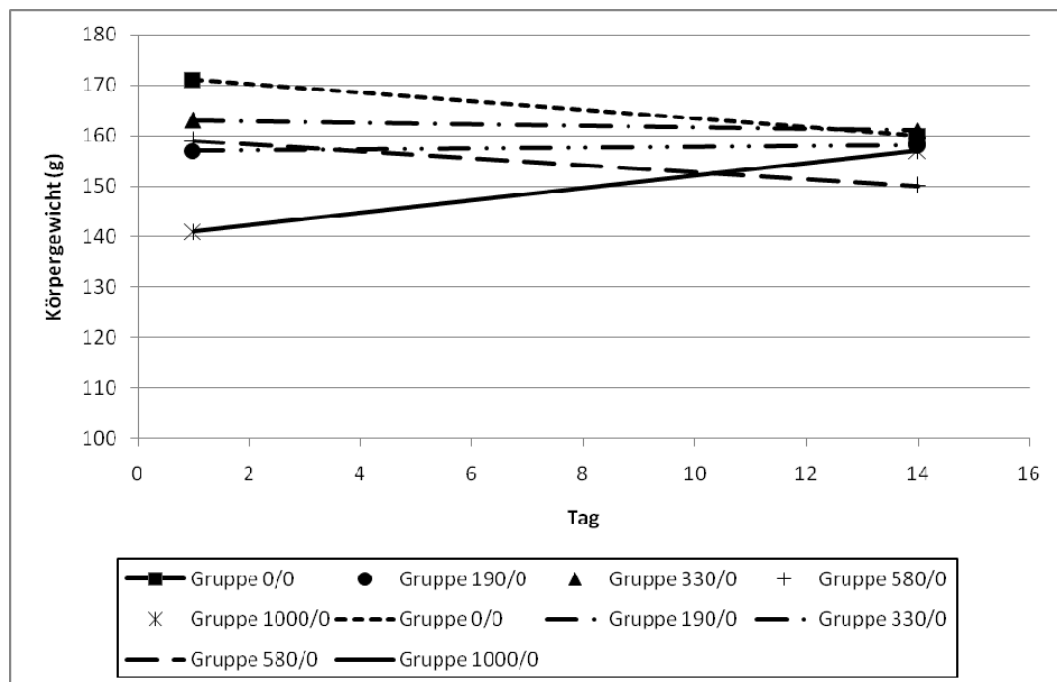


Abbildung 3: Durchschnittliches Körpergewicht der Tiere aus dem Regenerationsversuch an Tag 1 und Tag 14 nach der Umstellung auf PFT-freies Futter

Futtermaufnahme

Im Zusammenhang mit Gewichtsabnahmen bei den Versuchstieren wurde in toxikologischen Studien vielfach eine im Vergleich zu Kontrolltieren verminderte Futtermaufnahme beobachtet (Olson et al., 1983; Luebker et al., 2005; Butenhoff et

al., 2002). Olson et al. (1983) konnten zeigen, dass die Gewichtsverluste bei Ratten aus Kontrollgruppen weniger stark ausgeprägt waren als bei Tieren, die PFOA über das Futter erhielten, auch wenn die Ration der Kontrolltiere auf die gleiche Menge wie im Falle der dosierten Tiere reduziert wurde.

Auch im Falle der Tiere aus dem Fütterungsversuch zeigte sich bei Dosierungen von 580 und 1000 µg PFT/kg KGW/Tag ab Tag 14 ein negativer Zusammenhang zwischen Futtermittelaufnahme und Körpergewicht, auch wenn dieser statistisch nicht belegbar war. Im Gegensatz dazu zeigten Futtermittelaufnahme und Körpergewicht der Tiere der übrigen Gruppen erwartungsgemäß einen signifikant positiven Zusammenhang.

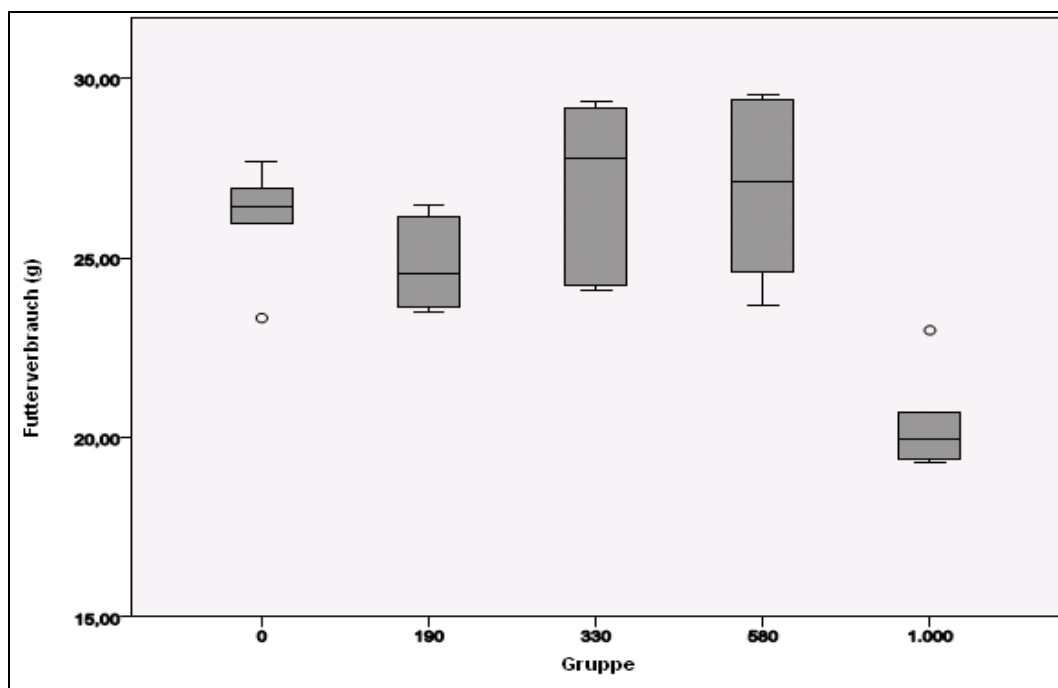


Abbildung 4: Durchschnittliche Futtermittelaufnahme der Tiere aus dem Fütterungsversuch

Im Übrigen war die Futtermittelaufnahme der Tiere der Gruppe 1000 signifikant niedriger als die der anderen Gruppen. Die Werte für die Futtermittelaufnahme innerhalb der anderen Gruppen unterschieden sich dagegen statistisch nicht (s. Abbildung 4).

Unter Umständen ist für die im Vergleich zur Kontrolle verminderte Futtermittelaufnahme ein Einfluss der Testsubstanzen auf regulative Stoffwechselfvorgänge verantwortlich. Vor diesem Hintergrund wird auch die vergleichsweise hohe Futtermittelaufnahme pro Kilogramm Eimasse von durchschnittlich $4,5 \pm 0,3$ Kilogramm bei einer Dosierung von $1000 \mu\text{g PFT/kg KGW/Tag}$ verständlich. Dagegen lagen die Werte der übrigen Gruppen des Fütterungsversuchs mit 2,5 bis 2,7 kg/kg in einem Bereich, der auch den Beobachtungen von Köhler (2008) entspricht (circa 3,2 kg/kg).

Die Mechanismen auf molekularer Ebene, über die verschiedene Perfluorierte Tenside zu einer Verminderung des Appetits bei den Versuchstieren führen, sind bisher unbekannt. Austin et al. (2003) konnten zeigen, dass PFOS-Gaben bei Ratten zu einem reduzierten Serumspiegel des Peptidhormones Leptin führen. Dieses wird in verschiedenen Organen, hauptsächlich aber im Fettgewebe produziert und ist für die Hemmung des Hungergefühls verantwortlich. Die Autoren konnten nicht erklären, warum eine Abnahme des Serumleptinspiegels zu reduziertem Appetit führt, vermuteten aber eine Entgleisung des leptinabhängigen Regulationssystems als Ursache dieses Phänomens. Guruge et al. (2006) stellten nach der Verabreichung von PFOA an Ratten zahlreiche Veränderungen in der Expression von Genen aus verschiedenen Bereichen der Stoffwechselaktivität des Organismus fest. Betroffen waren hiervon unter anderem auch Gene, die für Enzyme des Lipid- und des Proteinstoffwechsels codieren. Möglicherweise führen die Eingriffe in die Genregulierung mehrerer am Stoffwechsel beteiligter Enzymsysteme auch zu einer Beeinträchtigung des Hungergefühls. Inwieweit diese Beeinträchtigungen im Enzymhaushalt eine Rolle bei der Minderung des Appetits der Versuchstiere spielen kann, muss jedoch noch weitergehend untersucht werden.

Die Futtermittelaufnahme der Gruppe 1000/0, die nach Beendigung des Versuchs anhand des über diesen Zeitraum verbrauchten Futters errechnet wurde, betrug im Mittel 25,2 Gramm pro Tier und Tag und lag somit circa fünf Gramm höher als der durchschnittliche Futtermittelverbrauch der Gruppe 1000 des Fütterungsversuchs und in vergleichbaren Bereichen wie die Futtermittelaufnahme der anderen Gruppen des

Regenerationsversuchs (25,2 Gramm pro Tier und Tag für Gruppe 330/0 bis 28,2 Gramm pro Tier und Tag für Gruppe 0/0). Das heißt, es hat in einem relativ kurzen Zeitraum nach der Futterumstellung für diesen Parameter eine vollständige Erholung stattgefunden, was darauf hindeutet, dass mögliche Eingriffe durch PFOS und PFOA in Mechanismen des Stoffwechsels reversibel sind.

Legeleistung

Sowohl in tierexperimentellen Studien, als auch in Untersuchungen am Menschen erwiesen sich PFOS und PFOA als reproduktionstoxisch. Unter den jeweils untersuchten Fruchtbarkeitsparametern erstreckten sich ihre Auswirkungen jedoch hauptsächlich auf die postnatale Überlebensfähigkeit, beziehungsweise Entwicklung der Jungtiere, während die Fruchtbarkeitsparameter der Elterntiere in der Regel nicht beeinträchtigt wurden (s. Abschnitt 3.3 und 2.5).

Austin et al. (2003) stellten jedoch nach Gaben von PFOS eine deutliche Beeinträchtigung des Sexualzyklus bei weiblichen Ratten fest. Sowohl Tiere, die einen unregelmäßigen Zyklus zeigten, als auch völlig azyklische Tiere traten im Vergleich zu den Tieren der Kontrollgruppe deutlich häufiger auf.

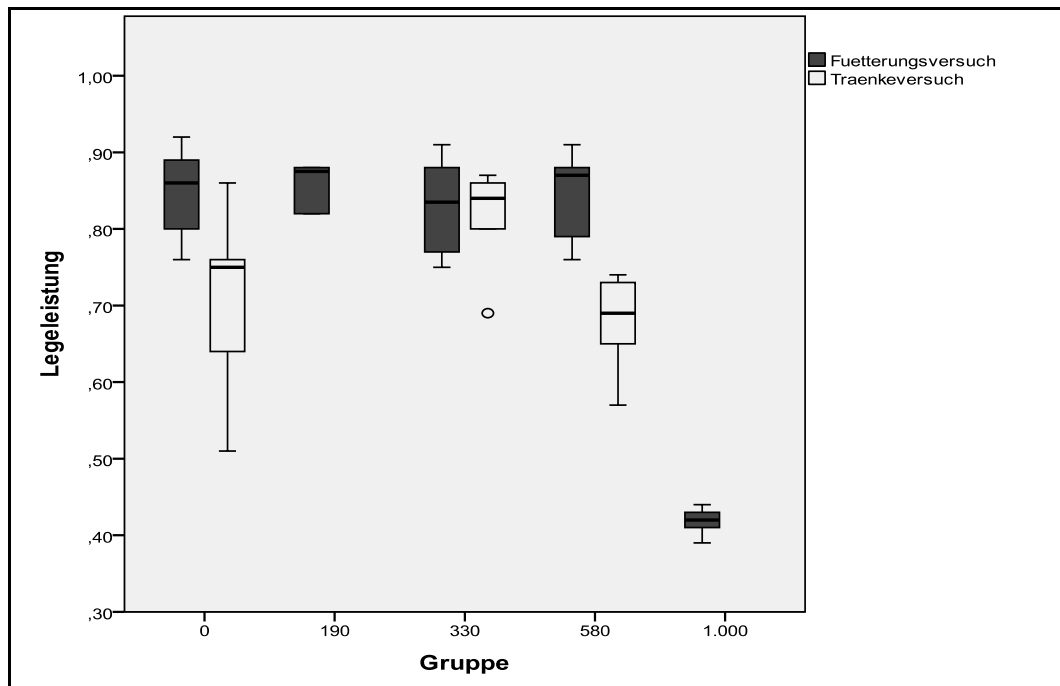


Abbildung 5: Durchschnittliche Legeleistung der Tiere aus dem Fütterungs- und Tränkeversuch

Die durchschnittliche tägliche Legeleistung stellt für die Legewachtel einen leicht zu überprüfenden Parameter für die Reproduktionsfähigkeit der weiblichen Tiere dar. Ab einer Dosierung von 1000 μg PFT/kg KGW/Tag lag die Legeleistung signifikant niedriger als bei den Tieren der niedriger dosierten Gruppen. Die übrigen Dosierungen unterscheiden sich untereinander kaum in Bezug auf die Legeleistung der betroffenen Tiere. Für die einzelnen Gruppen des Tränkeversuchs lagen ebenfalls keine nachweisbaren Unterschiede im Bezug auf die Legeleistung vor. Somit konnte in diesem Fall ein deutlich negativer Einfluss von PFOS und PFOA auf Parameter der Fruchtbarkeit ab einer Dosierung von 1000 μg PFT/kg KGW/Tag des Fütterungsversuches festgestellt werden (s. Abbildung 5).

Newsted et al. (2007) konnten in ihren Studien trotz chronischer PFOS-Gaben von bis zu 150 mg/kg Futter keine Auswirkungen auf die Legeleistung der Virginiawachteln beobachten. In diesem Punkt scheint also die Legewachtel deutlich sensibler zu reagieren als die Virginiawachtel. Die Virginiawachtel gehört zu den saisonal diöstrischen Tieren. Reproduktionsaktive Phasen sind also

von einer gewissen Zeitspanne unterbrochen, in der keine Eier gelegt werden. Auch Newsted et al. (2007) gaben die Legeperiode für ihren Versuch mit 93 Tagen gegenüber einer Versuchsdauer von insgesamt 21 Wochen an. Möglicherweise ist also die Virginiawachtel durch eine Phase, in der die Reproduktionsorgane natürlicherweise inaktiv sind, gegenüber Einflüssen auf dieses Organsystem weniger empfindlich als die japanische Legewachtel, die über das ganze Jahr hinweg ohne Unterbrechung legt.

Die Legeleistung der Gruppe 1000/0 des Regenerationsversuchs liegt unmittelbar nach der Umstellung auf PFT-freies Futter bei 17%, erreicht aber bereits nach einer Woche Werte von 67%. Nach einem erneuten Einbruch an Tag zehn liegen die Werte in vergleichbaren Bereichen wie bei allen anderen Gruppen (s. Abbildung 6). Dies spricht zum einen wiederum für eine rasche Eliminierung der PFT aus den Organen und zum anderen für eine schnelle Regeneration des Organismus, nachdem keine weitere Zufuhr mehr erfolgt.

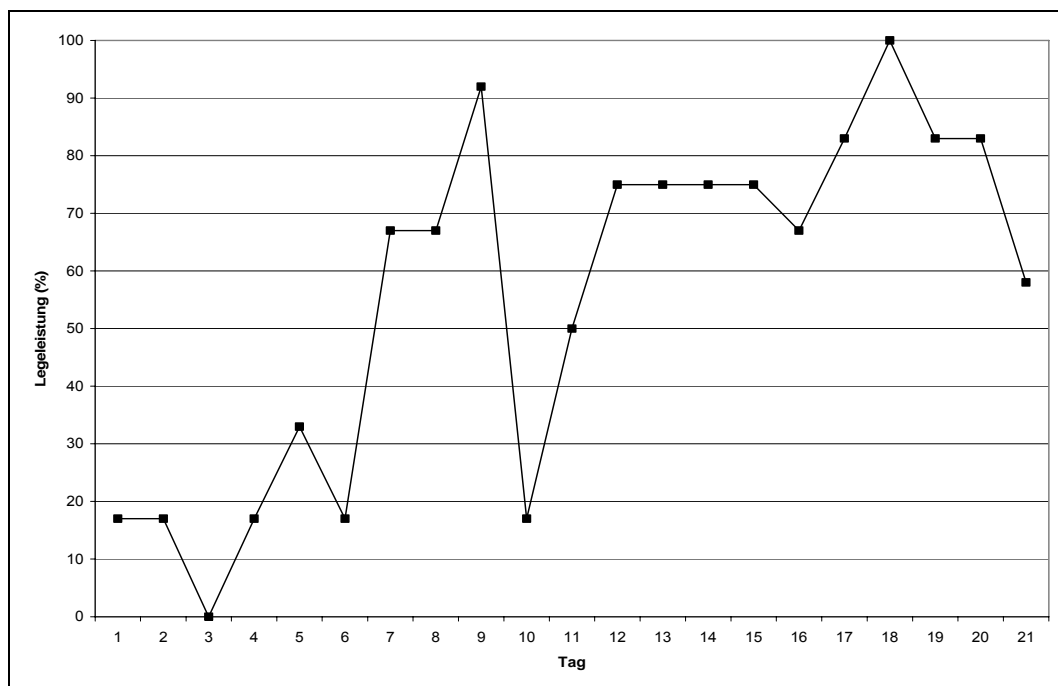


Abbildung 6: Legelleistung der Gruppe 1000/0 des Regenerationsversuchs in den ersten drei Wochen nach der Umstellung auf PFT-freies Futter

Wasserverbrauch

In den Gruppen, die Perfluorierte Tenside in einer Dosierung von 330, beziehungsweise 580 µg/kg KGW/Tag erhielten, lag der durchschnittliche Wasserverbrauch deutlich über dem der Kontrolle. Statistisch nachweisbar ist dieser Unterschied jedoch nur zwischen Gruppe 0 und Gruppe 330.

Ein gesteigerter Wasserverbrauch als Wirkung der PFT-Gaben erscheint in diesem Zusammenhang jedoch als eher unwahrscheinlich. Allerdings waren die Werte für die Wasseraufnahme und die Legeleistung der Tiere aller Gruppen aus dem Tränkeversuch hoch signifikant korreliert. In den Gruppen 330 und 580 lag die Legeleistung (statistisch nicht nachweisbar) höher als in der Kontrollgruppe, was mit einem vergleichsweise höheren Wasserbedarf einhergegangen sein könnte. Die Tiere der Gruppe 0 waren, um Kontaminationen mit dem Tränkwasser der anderen Gruppen zu vermeiden, in der obersten Käfigreihe eingestallt. Zur Zeit des Tränkeversuchs herrschten sehr niedrige Außentemperaturen, die durch die Stallheizung nicht vollständig kompensiert wurden. Die ungünstigsten klimatischen Bedingungen herrschten in der obersten Käfigreihe. Die Gruppen 330 und 580 waren diesen Einflüssen weniger stark ausgesetzt als Gruppe 0 und erbrachten vermutlich deswegen eine höhere Legeleistung. Eine weitere Ursache für einen erhöhten Wasserverbrauch ab einer Dosis von 330 µg PFT/kg KGW/Tag könnte in Geschmacksabweichungen des Wassers durch die eingemischten Tenside liegen. Eine Beeinträchtigung des Geschmacks könnte die Tiere dazu veranlasst haben, mehr Wasser zu verspritzen als die Tiere der Kontrolle.

5.2 Organgewichte

Betrachtet man das Gewicht der Nieren, fällt auf, dass sowohl das absolute als auch das relative Nierengewicht in den Gruppen des Fütterungsversuchs ab einer Dosierung von 190 µg PFT/kg KGW/Tag signifikant höher liegt als das der Kontrolltiere (s. Abbildung 7). Allerdings erscheint es unwahrscheinlich, dass eine Hypertrophie der Niere als Manifestation eines toxischen Nierenschadens schon ab einer Dosierung von 190 µg PFT/kg KGW/Tag auftritt, während andere

toxische Erscheinungen frühestens ab 1000 µg PFT/kg KGW/Tag zu beobachten sind. Vermutlich handelt es sich hierbei um ein Artefakt durch die schwierige Präparation der dreiteiligen Vogelniere aus dem Becken beziehungsweise Synsacrum.

Die Werte für das absolute Lebergewicht liegen für die Gruppe 1000 signifikant niedriger als für alle anderen Gruppen (s. Abbildung 8). In Bezug auf das relative Lebergewicht gibt es jedoch keine Unterschiede. Als Ausdruck der lebertoxischen Wirkung von PFOS und PFOA wurde dagegen vielfach ein erhöhtes Lebergewicht infolge Hypertrophie der Hepatozyten beschrieben (Olson und Andersen, 1983; Seacat et al., 2002 und 2003; U.S. EPA, 2002; Perkins et al., 2004).

Da im Falle der Tiere aus Gruppe 1000 nur das absolute nicht jedoch das relative Lebergewicht niedriger lag als bei den anderen Gruppen, ist es sehr wahrscheinlich, dass aufgrund des allgemein niedrigeren Körpergewichts der Tiere dieser Gruppe, auch die Leber im Vergleich zu den Tieren der anderen Gruppen leichter war. Das Verhältnis von Leber- zu Körpergewicht ist jedoch konstant geblieben. Somit konnte in der vorliegenden Arbeit für das Lebergewicht kein Einfluss der Perfluorierten Tenside beobachtet werden.

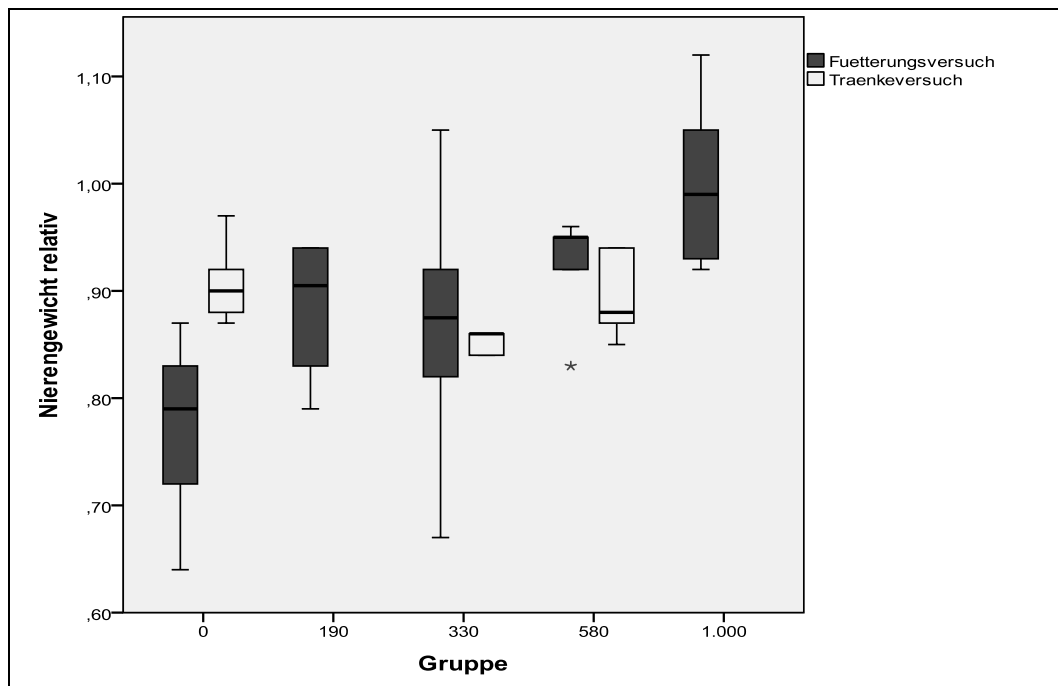


Abbildung 7: Relatives Nierengewicht der Tiere aus dem Fütterungs- und Tränkeversuch

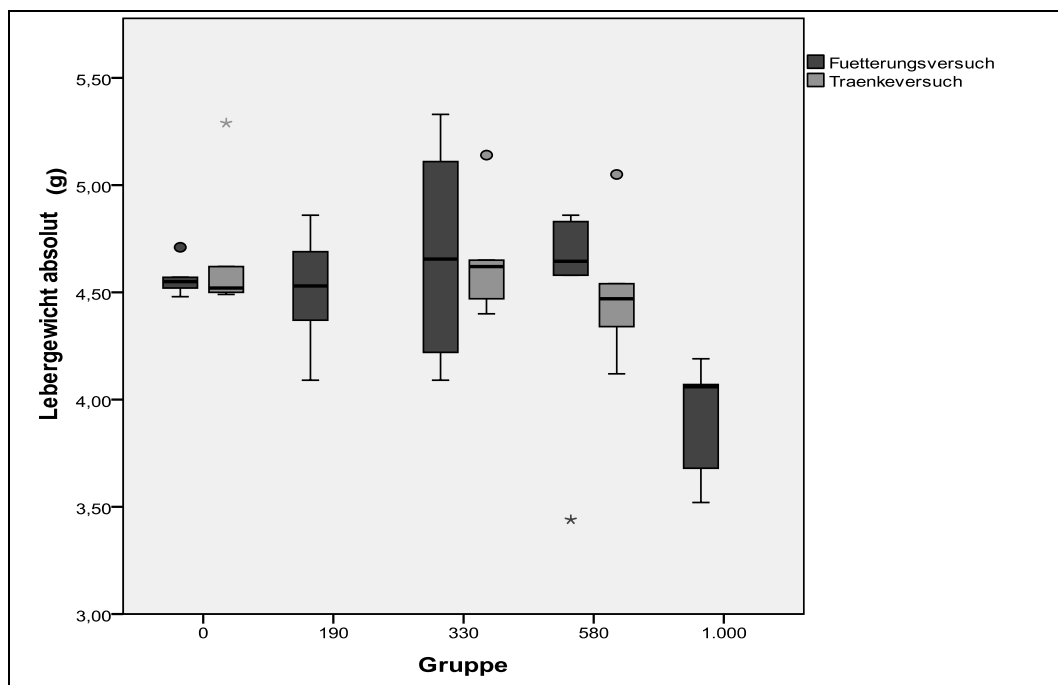


Abbildung 8: Absolutes Lebergewicht der Tiere aus dem Fütterungs- und Tränkeversuch

5.3 Tatsächliche Aufnahme von PFOS und PFOA

5.3.1 Versuchsfutter

Wie in Abschnitt 3.3.1 beschrieben, wurde bei der Herstellung der Dosierungen für das Versuchsfutter von den Angaben der GV SOLAS ausgegangen. Diese gibt in ihrer Veröffentlichung zum Thema Versuchstierfütterung im Falle der Legewachtel für weibliche Tiere ein Gewicht von 120 bis 160 Gramm bei einer täglichen Futteraufnahme von 25 bis 50 Gramm an. Da für die hier beschriebenen Versuche junge Tiere zu Beginn der Legereife eingesetzt werden sollten, wurde von der unteren Gewichtsgrenze von 120 Gramm als zu erwartendes durchschnittliches Körpergewicht der Versuchstiere ausgegangen. Entsprechend wurde auch für die Futteraufnahme ein Wert nahe der unteren von der GV SOLAS angegebenen Grenze von 30 Gramm pro Tag herangezogen. Dieser deckt sich auch mit den früheren Erfahrungen mit den Tieren des eingesetzten Versuchstierstammes.

Aus den Angaben in Tabelle 10 und Tabelle 11 des Abschnittes 4.1.1 geht hervor, dass hierdurch das tatsächliche Körpergewicht der Tiere während des Versuchs unterschätzt, die Futteraufnahme hingegen überschätzt wurde.

Bestimmt man anhand der drei Messzeitpunkte das mittlere Körpergewicht der Tiere der einzelnen Dosisgruppen über den gesamten Versuchszeitraum, so liegt dies für die Gruppen 190 bis 1000 bei 166,9, 164,7, 163,1 beziehungsweise 151,1 Gramm. Die durchschnittliche Futteraufnahme pro Tier lag in den entsprechenden Gruppen bei 24,8, 27,1, 26,9 beziehungsweise 20,4 Gramm. Die Gehalte von PFOS im Futter lagen für die einzelnen Gruppen bei 0,38, 0,66, 1,16 beziehungsweise 2,00 µg pro Kilogramm Futter. Gleiches gilt für PFOA.

Nach folgender Formel lassen sich die durchschnittlichen tatsächlich aufgenommenen Mengen PFOS beziehungsweise PFOA pro Kilogramm Körpergewicht für jede Gruppe berechnen:

$$\text{Aufnahme}_{\text{PFOA/PFOS}} [\mu\text{g}/\text{kg}] = \frac{\text{Futteraufnahme} [\text{kg}] \times \text{Gehalt PFOS bzw. PFOA im Futter} [\mu\text{g}/\text{kg}]}{\text{Körpergewicht} [\text{kg}]}$$

Dies sind für Gruppe 190 56,51 μg PFOS bzw. PFOA/kg KGW/Tag (113,01 μg PFT gesamt), für Gruppe 330 108,48 μg PFOS bzw. PFOA/kg KGW/Tag (216,96 μg PFT gesamt), für Gruppe 580 191,50 μg PFOS bzw. PFOA/kg KGW/Tag (383,00 μg PFT gesamt) und für Gruppe 1000 269,69 μg PFOS bzw. PFOA/kg KGW/Tag (539,38 μg PFT gesamt).

5.3.2 Tränkwasser

Im Falle der Tiere des Tränkeversuchs wurden bei der Herstellung der Dosierungen für das Tränkwasser sowohl das Körpergewicht der Tiere als auch der tägliche Wasserverbrauch pro Tier unterschätzt.

Bestimmt man wiederum das durchschnittliche Körpergewicht der Tiere in den einzelnen Gruppen über den gesamten Versuchszeitraum, ergibt sich für Gruppe 330 ein Wert von 161,6 Gramm und für Gruppe 580 von 160,0 Gramm anstelle der ursprünglich angenommenen 120 Gramm.

Analog zur tatsächlichen PFT-Aufnahme über das Futter kann über die Gehalte von PFOS beziehungsweise PFOA im Wasser die tatsächliche PFT-Aufnahme über das Tränkwasser errechnet werden. Für Gruppe 330 lag dieser Wert bei 240,96 μg /PFOS bzw. PFOA/kg KGW/Tag (481,92 μg PFT gesamt) und für Gruppe 580 bei 372,36 μg /PFOS bzw. PFOA/kg KGW/Tag (744,72 μg PFT gesamt).

5.4 Bestimmung von NOAELs und LOAELs

Anhand der errechneten täglichen PFT-Aufnahmen lassen sich für die in Abschnitt 2.3 beziehungsweise 4 beschriebenen toxischen Erscheinungen die entsprechenden NOAELs und LOAELs bestimmen. Alle beobachteten Beeinträchtigungen der Tierleistungsparameter traten allein bei einer Dosierung von 1000 µg PFT/kg KGW/Tag innerhalb des Fütterungsversuchs auf. Somit kann anhand der Angaben in Abschnitt 5.3.1 für die Parameter Gewichtsverlust, reduzierte Futtermittelaufnahme und reduzierte Legeleistung ein NOAEL von 383 µg PFT/kg KGW/Tag (Gruppe 580) und ein LOAEL von 539 µg PFT/kg KGW/Tag (Gruppe 1000) für die japanische Legewachtel bei der Aufnahme über das Futter angegeben werden. Für einen Anstieg des Lebergewichts, dosisabhängige Todesfälle oder allgemeine Anzeichen einer toxischen Wirkung konnten kein LOAEL und somit auch kein NOAEL bestimmt werden.

5.5 PFT Messwerte

Bemerkenswert ist, dass sowohl in den Eiern als auch den Organen der Tiere der Gruppe 0 sowohl des Fütterungs-, als auch des Tränkeversuchs messbare Konzentrationen von PFOS und PFOA vorhanden waren. Auch die Eier der Gruppe 0/0 des Regenerationsversuchs enthielten zu allen Messzeitpunkten Werte von PFOS und PFOA oberhalb der Nachweisgrenze. Sehr wahrscheinlich kamen die Tiere der Kontrollgruppen über kontaminierten Stallstaub mit den Perfluorierten Tensiden in Kontakt. PFOS und PFOA gelten bisher als nicht flüchtige Substanzen. Es wurde daher angenommen, dass flüchtige Vertreter der Perfluorierten Tenside, wie die Fluortelomeralkohole, in der Atmosphäre vorhanden sein und in PFOS beziehungsweise PFOA umgewandelt werden können. Diese Möglichkeit ist jedoch für den vorliegenden Fall auszuschließen. Es muss sich daher tatsächlich um die Verbreitung von PFOS und PFOA mit den Teilchen des Stallstaubes gehandelt haben. Es wurde bisher mehrfach gezeigt, dass diese Art der Verteilung für Vertreter der Perfluorierten Tenside über mittlere Strecken eine Rolle spielt (Nakayama et al., 2005; Moriwaki et al., 2003). Dass im Falle der Wachteln der Kontrollgruppen hierdurch messbare Werte in Eiern und

Organen zustande kommen, deutet darauf hin, dass die Verbreitung von PFOS und PFOA mit Staubpartikeln und ihre Aufnahme über die Atemluft durchaus nicht unterschätzt werden dürfen.

5.5.1 Eier

Bereits die Messwerte an Tag 14 zeigen im Vergleich zwischen den Gruppen einen signifikanten Anstieg in Bezug auf die PFT-Gehalte in den Eiern. Diese sind im Falle von PFOA festzustellen zwischen Gruppe 580 und der Kontrollgruppe und zwischen Gruppe 1000 und allen anderen Gruppen. Gleiches gilt für PFOS. Diese Unterschiede zwischen den Gruppen setzen sich an Tag 35 sowohl für PFOA als auch für PFOS in gleicher Weise fort.

In Abbildung 9 und 10 sind die Gehalte von PFOA beziehungsweise PFOS in den Eiern der Tiere des Fütterungsversuches an Tag 0, 14 und 35 dargestellt. Aus den Abbildungen ist erkennbar, dass PFOS in deutlich höherem Maße über das Ei ausgeschieden wird als PFOA. Auch sind die Unterschiede zwischen den Gruppen ausgeprägter, und die Trendlinien der einzelnen Gruppen steigen steiler an. Somit kann davon ausgegangen werden, dass PFOS im Vergleich zu PFOA deutlich effektiver über das Ei eliminiert wird. Dies deckt sich mit den Beobachtungen von Yoo et al. (2008), die Eier verschiedener einheimischer Vogelspezies aus der Region des Shihwa Sees in Korea auf ihre PFT-Gehalte untersucht haben. Im Eigelb der Tiere war PFOS im Mittel in Konzentrationen zwischen 180 und 314 $\mu\text{g}/\text{kg}$ US nachweisbar, die Konzentrationen von PFOA lagen um das Hundertfache niedriger. Auch Holmström und Berger (2008) konnten in den Eiern der Trottellumme aus Gebieten um die Ostsee PFOS in einer mittleren Konzentration von 325 $\mu\text{g}/\text{kg}$ US nachweisen. PFOA lag dagegen in keiner der Proben über der Nachweisgrenze.

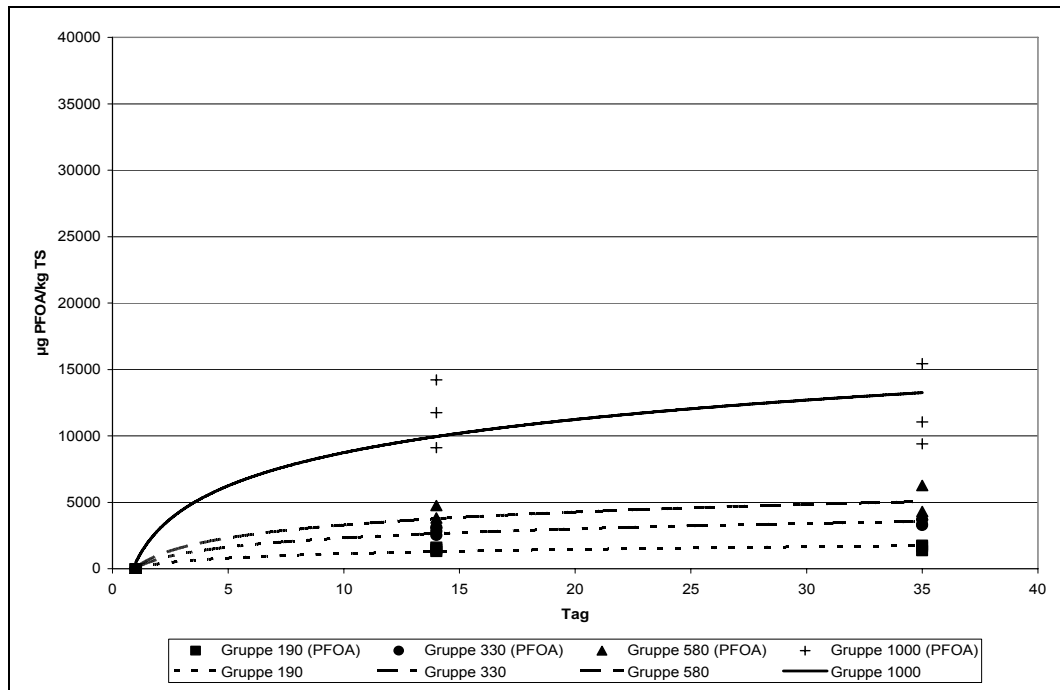


Abbildung 9: Gehalte von PFOA in den Eiern der Tiere der verschiedenen Dosisgruppen des Fütterungsversuchs an Tag 0, Tag 14 und Tag 35 nach der Umstellung auf das Versuchsfutter

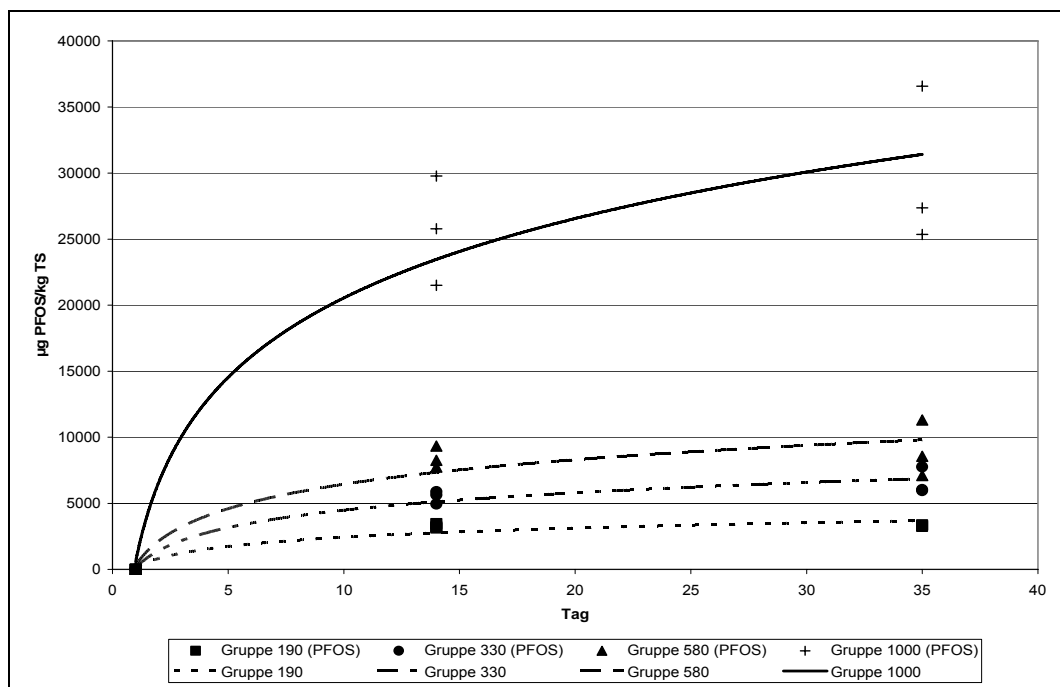


Abbildung 10: Gehalte von PFOS in den Eiern der Tiere der verschiedenen Dosisgruppen des Fütterungsversuchs an Tag 0, Tag 14 und Tag 35 nach der Umstellung auf das Versuchsfutter

Es lagen jeweils keine Daten zu eventuellen PFT-Quellen in der Nähe des Lebensraumes der Tiere vor und, auch das Muster der in der Region vorhandenen Perfluorierten Tenside war nicht bekannt. Die Autoren vermuteten daher, dass die Unterschiede in den Konzentrationen von PFOS und PFOA in den Eiern dadurch zustande kamen, dass die Tiere eine Verbindung aufgrund höherer Umweltkonzentrationen in einem höheren Maße aufgenommen hatten als die andere. In der vorliegenden Arbeit erhielten die Tiere PFOS und PFOA in gleich hoher Konzentration über das Futter beziehungsweise Wasser verabreicht. Die Unterschiede in den Gehalten von PFOS und PFOA in den Eiern sind demnach im vorliegenden Fall rein auf Unterschiede in der Anreicherung zurückzuführen. Wird eine geringere Konzentration von PFOA im Vergleich zu PFOS in den Eiern von Wildvögeln gemessen, kann demnach nicht automatisch darauf geschlossen werden, dass auch eine geringere Umweltbelastung mit diesem Stoff vorliegt. Yoo et al. (2008) stellten außerdem einen Zusammenhang zwischen der Höhe der PFT-Konzentrationen im Eigelb und der Eilänge fest. Auch in der vorliegenden Arbeit konnte eine signifikant negative Korrelation ($p < 0,05$) zwischen PFT-Konzentration und Eigewicht beobachtet werden. Was dies für die Fruchtbarkeit der Tiere bedeutet, ist jedoch unklar.

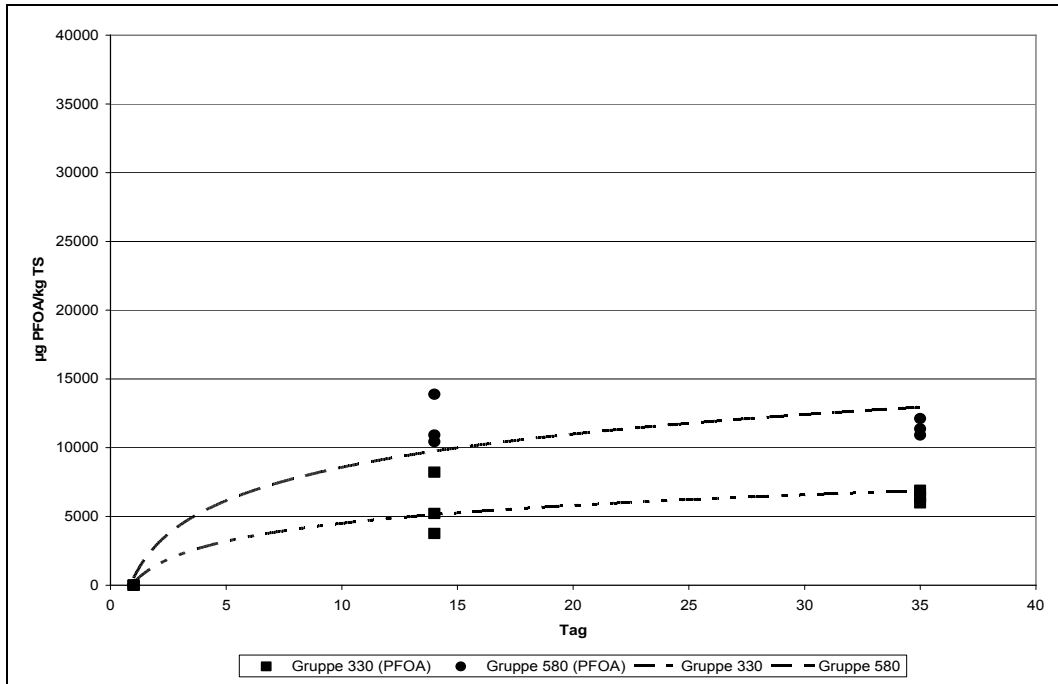


Abbildung 11: Gehalte von PFOA in den Eiern der Tiere der verschiedenen Dosisgruppen des Tränkeversuchs an Tag 0, Tag 14 und Tag 35 nach Umstellung auf das präparierte Tränkwasser

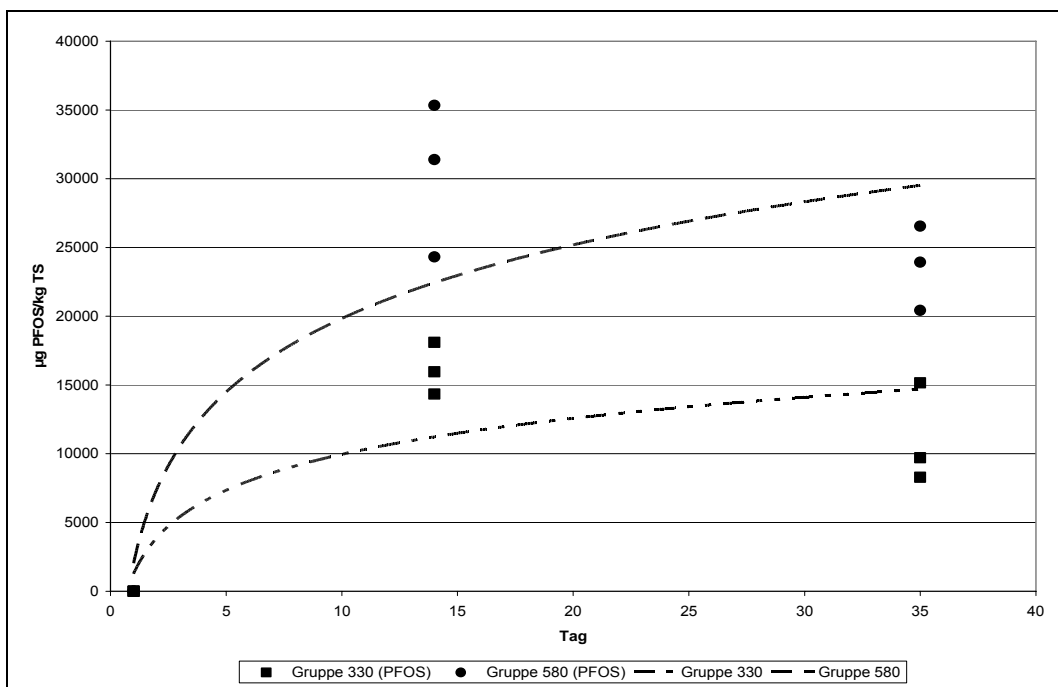


Abbildung 12: Gehalte von PFOS in den Eiern der Tiere der verschiedenen Dosisgruppen des Tränkeversuchs an Tag 0, Tag 14 und Tag 35 nach Umstellung auf das präparierte Tränkwasser

Abbildung 11 und 12 zeigen die Ausscheidung von PFOA beziehungsweise PFOS der Tiere aus dem Tränkeversuch an Tag 0, Tag 14 und Tag 35 über das Ei. Im Vergleich zur Aufnahme von PFOA beziehungsweise PFOS mit dem Futter, scheint die Aufnahme über das Wasser zu einer schnelleren Anreicherung der Substanzen im Organismus und entsprechend früher auch zu einer höheren Ausscheidung zu führen. Bei der Interpretation der Grafiken im Vergleich mit denen des Fütterungsversuchs ist jedoch Vorsicht geboten. Wie in Abschnitt 5.3 näher ausgeführt, entspricht die tatsächliche Aufnahme von PFOA und PFOS nicht den angenommenen Werten. Die tatsächliche tägliche Aufnahme lag für die Tiere der Gruppen 330 und 580 des Tränkeversuchs höher als bei den entsprechenden Gruppen des Fütterungsversuchs. Vergleicht man dagegen die Gehalte von PFOA und PFOS in den Eiern der Gruppen des Tränkeversuchs untereinander, fällt wiederum auf, dass PFOS in deutlich höheren Konzentrationen enthalten ist als PFOA.

Wie in Abschnitt 4.3.1 beschrieben, liegt das Verhältnis von PFOS zu PFOA in den Eiern der Tiere des Fütterungsversuchs für alle Gruppen von Fütterungs- und Tränkeversuch zwischen 1,7:1 und 2,8:1, im Mittel lag es bei 2,1:1 für den Fütterungsversuch und bei 2,3:1 für den Tränkeversuch. Das heißt, dass der Übergang von PFOS und PFOA, unabhängig von der Applikationsart oder der eingesetzten Dosierung, in einem sehr konstanten Verhältnis erfolgt.

Wie bereits in Abschnitt 4.3.1.1 erwähnt wurde, scheint für beide Testsubstanzen die Höhe der Dosis einen stärkeren Einfluss auf die Ausscheidung über das Ei zu haben, als die Dauer der Exposition. Dies deutet auf die Existenz von passiven oder aktiven Mechanismen hin, die eine Anpassung der Ausscheidung bei hohen Dosen ermöglichen. Eine hohe akute Dosis scheint hierbei wirksamer zu sein als die Höhe der kumulativen Dosis nach länger andauernder Exposition.

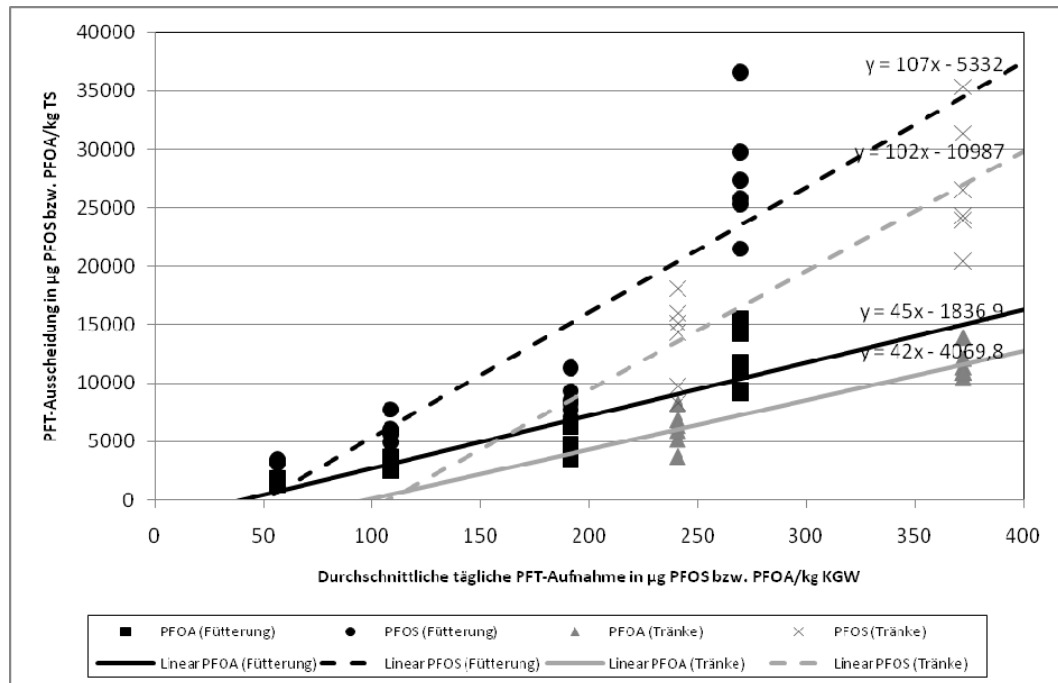


Abbildung 13: Ausscheidung von PFOA bzw. PFOS über das Ei im Vergleich zwischen Fütterungs- und Tränkeversuch, aufgetragen gegen die durchschnittliche tägliche Aufnahme

In Abbildung 13 ist die in Abschnitt 5.3 errechnete durchschnittliche tägliche PFT-Aufnahme gegen die Ausscheidung über das Ei für Fütterungs- und Tränkeversuch im Vergleich aufgetragen. Hierbei wird erkennbar, dass die Werte für die PFT-Ausscheidung pro Kilogramm Trockensubstanz Ei im Falle der Tiere des Tränkeversuchs tatsächlich unterhalb derer des Fütterungsversuches liegen. Die Werte für die Steigung der linearen Regressionsgleichung sind für die jeweilige Substanz im Vergleich zwischen Fütterungs- und Tränkeversuch nahezu identisch. Sie unterscheiden sich lediglich in ihrem y-Achsenabschnitt. Für beide Varianten der PFT-Aufnahme zeigt sich, dass PFOS sehr viel effektiver in das Ei übergeht als PFOA.

Die Abbildungen 14 und 15 zeigen die Eliminierung von PFOA beziehungsweise PFOS aus dem Organismus der Tiere des Regenerationsversuchs. Auch hier wird deutlich, dass dies im Falle von PFOS erheblich schneller abläuft als in dem von PFOA. Obwohl von deutlich höheren Ausgangskonzentrationen ausgehend, ist auch PFOS zum Zeitpunkt der zweiten Messung an Tag 21 nur noch in Spuren nachweisbar.

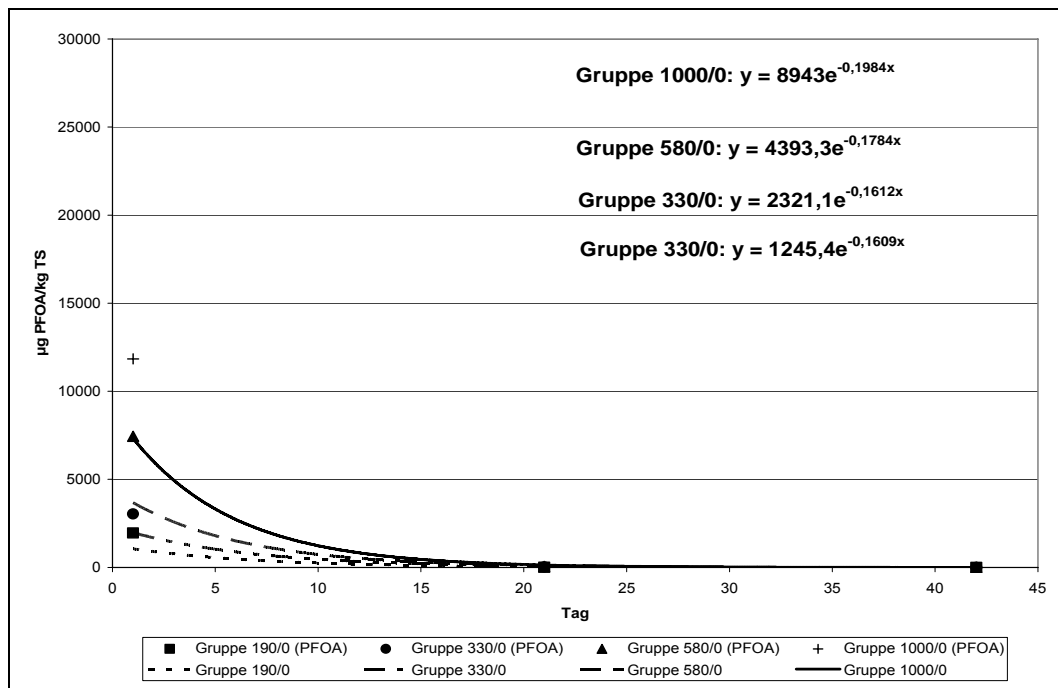


Abbildung 14: Gehalte von PFOA in den Eiern der Tiere des Regenerationsversuchs an Tag 0, 21 und 35 nach der Umstellung auf PFT-freies Futter

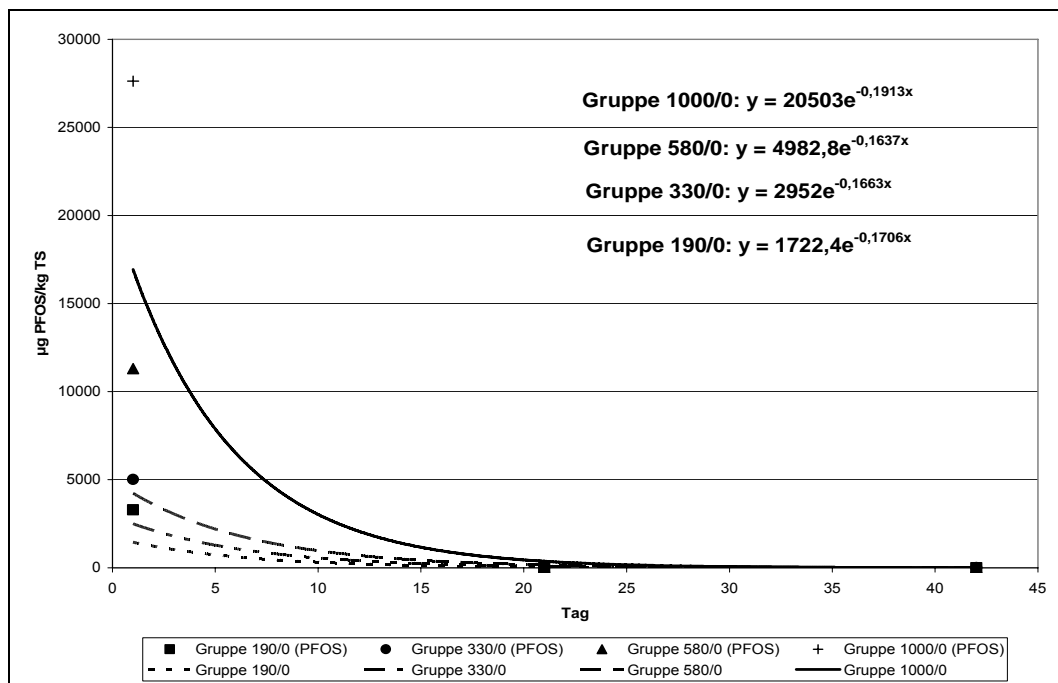


Abbildung 15: Gehalte von PFOS in den Eiern der Tiere aus dem Regenerationsversuch an Tag 0, 21 und 35 nach der Umstellung auf PFT-freies Futter

5.5.2 Organe

In den Abbildungen 16 bis 19 sind jeweils die Konzentrationen von PFOA und PFOS im Leber- beziehungsweise Muskelgewebe der Tiere aus beiden Versuchsdurchläufen dargestellt. Im Gegensatz zu den Gehalten im Ei war diesmal PFOA in höheren Konzentrationen nachweisbar als PFOS, wobei dieser Effekt im Muskelgewebe deutlicher ausgeprägt scheint als im Lebergewebe. Das Verhältnis der Konzentrationen von PFOA zu denen von PFOS in der Muskulatur lag für die unterschiedlichen Gruppen beider Versuche im Mittel bei 1,8:1 (Fütterungsversuch) beziehungsweise 2,3:1 (Tränkeversuch). Im Lebergewebe war PFOA im Vergleich zu PFOS im Mittel zwischen 1,6:1 (Fütterungsversuch) und 1,4:1 (Tränkeversuch) messbar. Somit erfolgt die Anreicherung beider Testsubstanzen auch in den untersuchten Geweben in einem sehr konstanten Verhältnis, wobei dieses in der Leber enger war als in der Muskulatur.

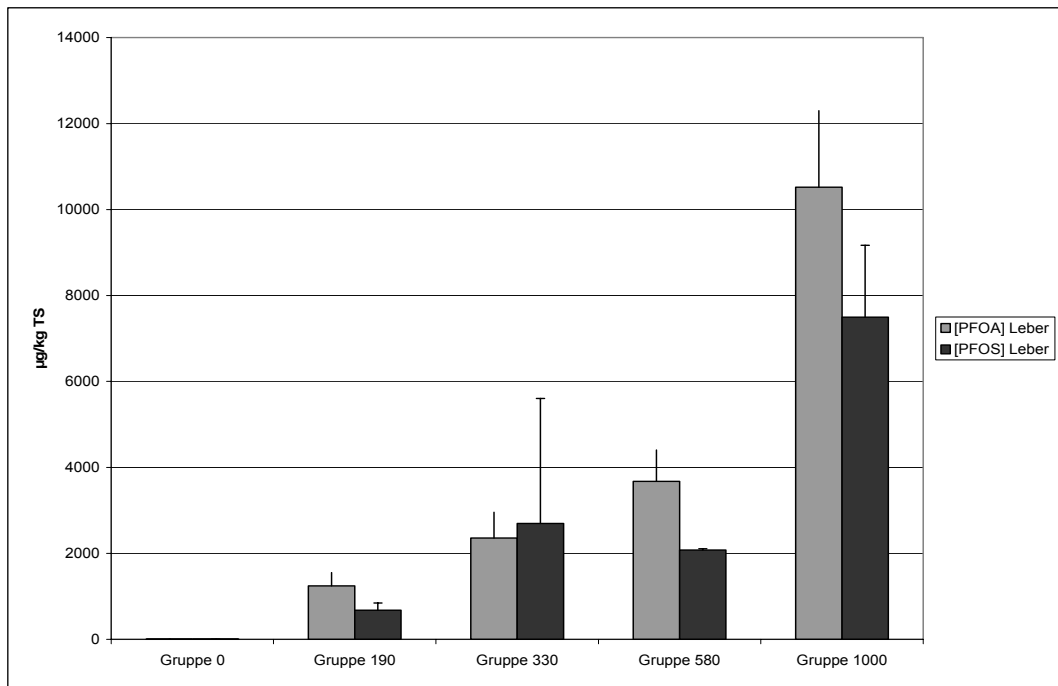


Abbildung 16: Gehalte von PFOA und PFOS im Lebergewebe der Tiere aus dem Fütterungsversuch

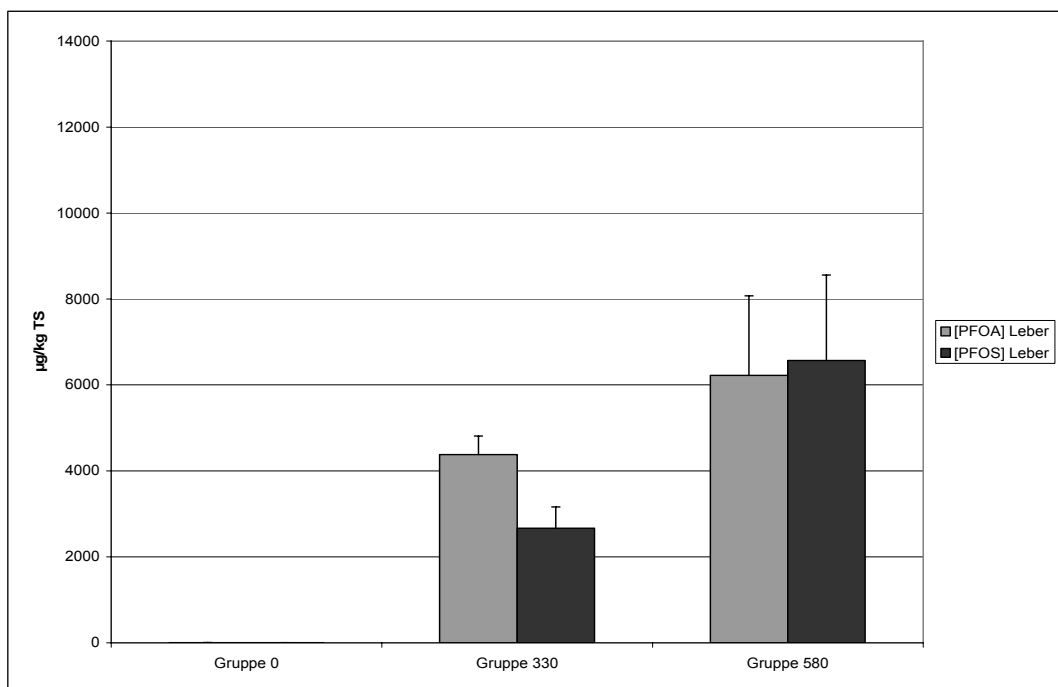


Abbildung 17: Gehalte von PFOA und PFOS im Lebergewebe der Tiere aus dem Tränkeversuch

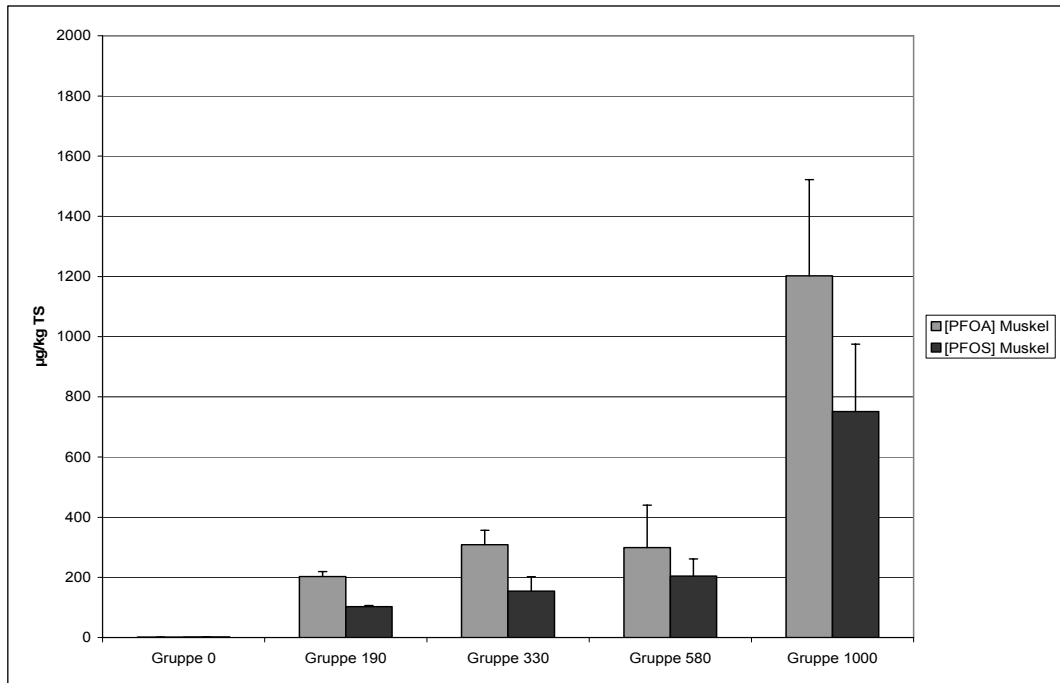


Abbildung 18: Gehalte von PFOA und PFOS im Muskelgewebe der Tiere aus dem Fütterungsversuch

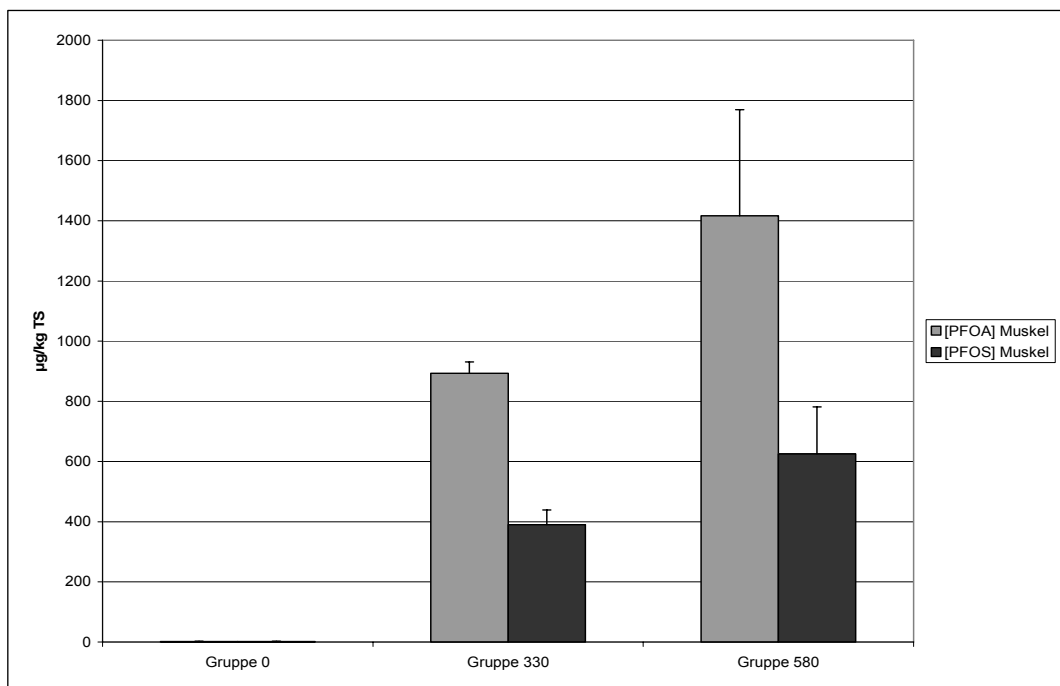


Abbildung 19: Gehalte von PFOA und PFOS im Muskelgewebe der Tiere aus dem Tränkeversuch

Beide Substanzen waren wiederum bei den Tieren des Tränkeversuchs in höheren Konzentrationen nachweisbar als bei den entsprechenden Gruppen des Fütterungsversuchs. Auch hier ist zu beachten, dass die tatsächliche tägliche PFOA-Aufnahme bei den Tieren in Gruppe 330 und 580 des Tränkeversuchs höher lag als im Falle der entsprechenden Gruppen des Fütterungsversuchs.

Abbildung 20 und 21 zeigen jeweils die Konzentrationen von PFOA und PFOS in Leber und Muskulatur der Tiere beider Versuchsdurchläufe, aufgetragen gegen die tatsächliche tägliche Aufnahme. Es zeigt sich wieder eine vergleichbare Steigung für die lineare Regressionsgleichung der Werte von PFOA in der Muskulatur im Vergleich zwischen Fütterungs- und Tränkeversuch und von PFOS im Lebergewebe. Wieder unterscheiden sich die Geraden lediglich in ihrem y-Achsenabschnitt. Im Vergleich dazu ist für die Regressionsgleichungen der Konzentrationen von PFOA im Lebergewebe, beziehungsweise PFOS in der Muskulatur keine Beziehung zwischen Fütterungs- und Tränkeversuch herzustellen. Vermutlich liegt dies jedoch eher an einem Artefakt bedingt durch die geringen Probenzahlen, als an einem tatsächlich unterschiedlichen Anreicherungsverhalten der entsprechenden Substanz nach der Zufuhr über das Futter oder das Tränkwasser. Es ist jedoch auch hier deutlich zu erkennen, dass sich PFOA in beiden Organsystemen effektiver anreichert, als PFOS und beide Substanzen im Lebergewebe besser als in der Muskulatur.

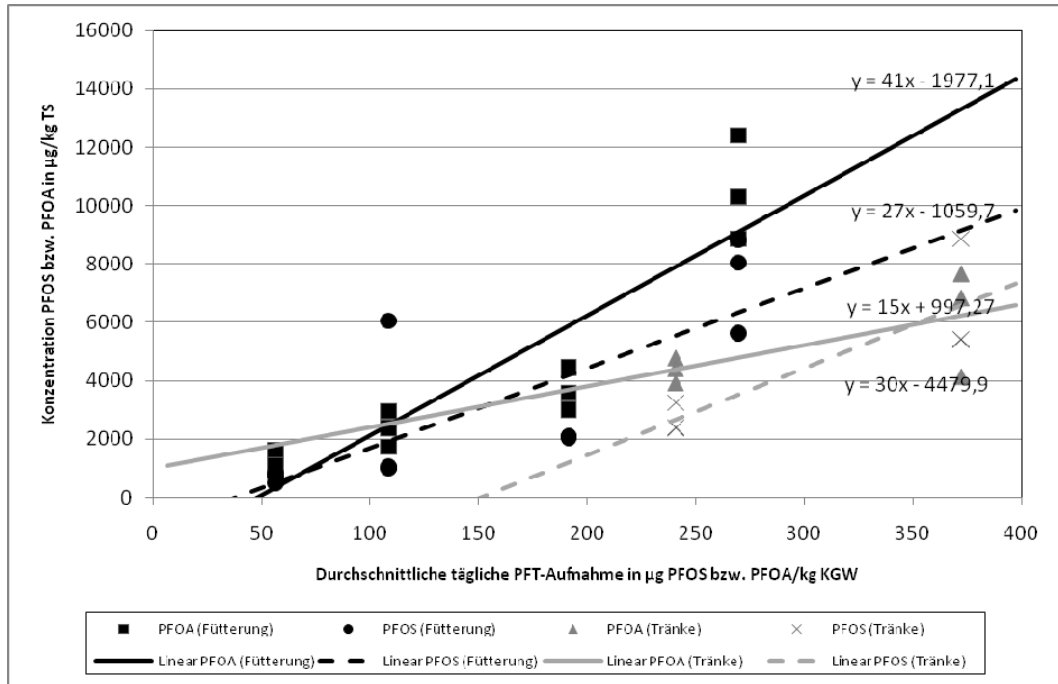


Abbildung 20: Konzentration von PFOA beziehungsweise PFOS im Lebergewebe der Tiere aus dem Fütterungs- und Tränkeversuch im Vergleich, aufgetragen gegen die durchschnittliche tägliche Aufnahme

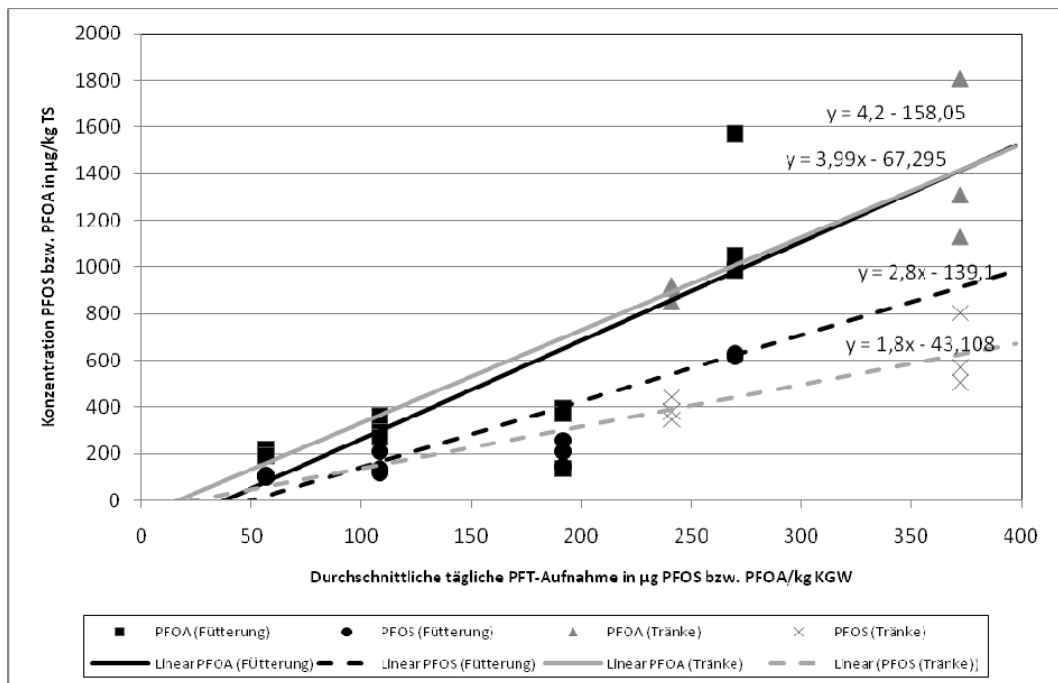


Abbildung 21: Konzentration von PFOA beziehungsweise PFOS im Muskelgewebe der Tiere aus dem Fütterungs- und Tränkeversuch im Vergleich, aufgetragen gegen die durchschnittliche tägliche Aufnahme

Zusammenfassend kann also festgehalten werden, dass im Vergleich der Ausscheidung von PFOS beziehungsweise PFOA über das Ei mit der Anreicherung in den Organen PFOS in höherem Maße in das Ei übergeht, während PFOA eher dazu neigt, sich im Organismus anzureichern.

5.6 Verteilungsmuster im Organismus

In den Abbildungen 22 bis 25 sind die gemessenen Konzentrationen von PFOA beziehungsweise PFOS in den Organsystemen anteilig dargestellt. Der weitaus größte Anteil entfällt im Falle von PFOS auf das Ei. Er macht für beide Versuche etwa 80% der Gesamtmenge in den drei untersuchten Kompartimenten aus. Die gemessenen Gehalte von PFOA hingegen lagen nur zwischen 50 und 60% bei den Eiern. Der restliche Anteil fand sich hauptsächlich in der Leber. Im Hinblick auf die Exposition des Menschen ist somit die größte Belastung im Falle beider Verbindungen durch den Konsum von Eiern zu erwarten. Hierbei ist die Belastung durch PFOS bei einer anteilig gleich hohen Aufnahme durch das Tier höher als die durch PFOA. Im Vergleich zu den übrigen Organsystemen ist die Gefahr der PFT-Aufnahme durch den Konsum einer gleichen Menge von Fleisch sehr viel geringer. Hierbei ist von einer höheren Belastung mit PFOA auszugehen. Im mittleren Bereich liegt die Exposition des Verbrauchers bei Verzehr von Leber.

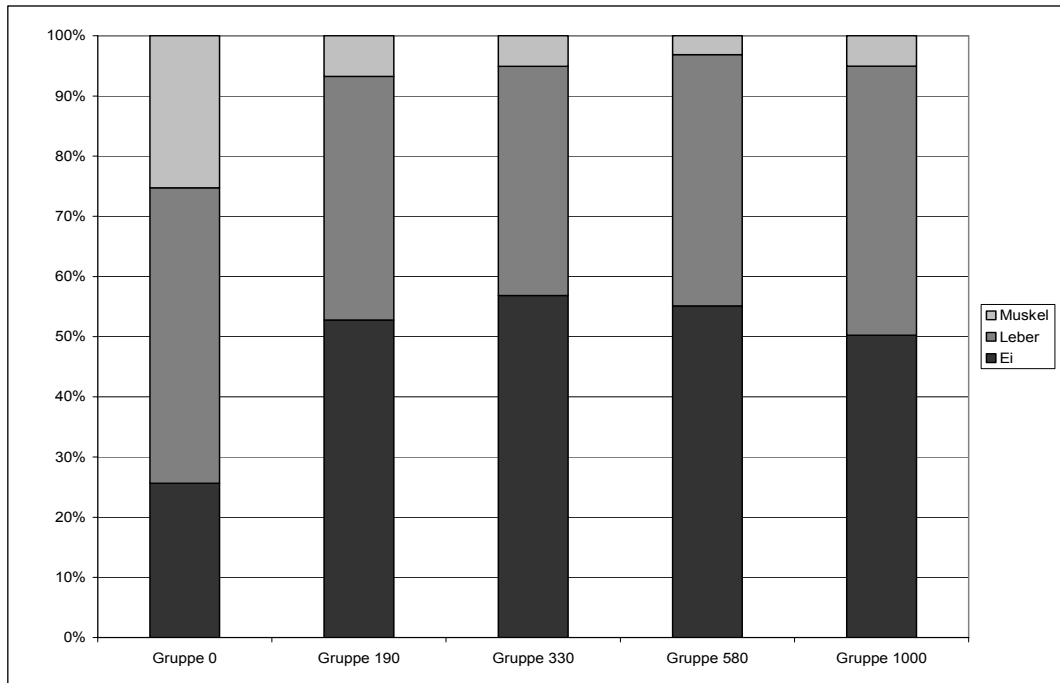


Abbildung 22: Verteilung der mittleren gemessenen Konzentrationen von PFOA auf die drei untersuchten Gewebe (Fütterungsversuch)

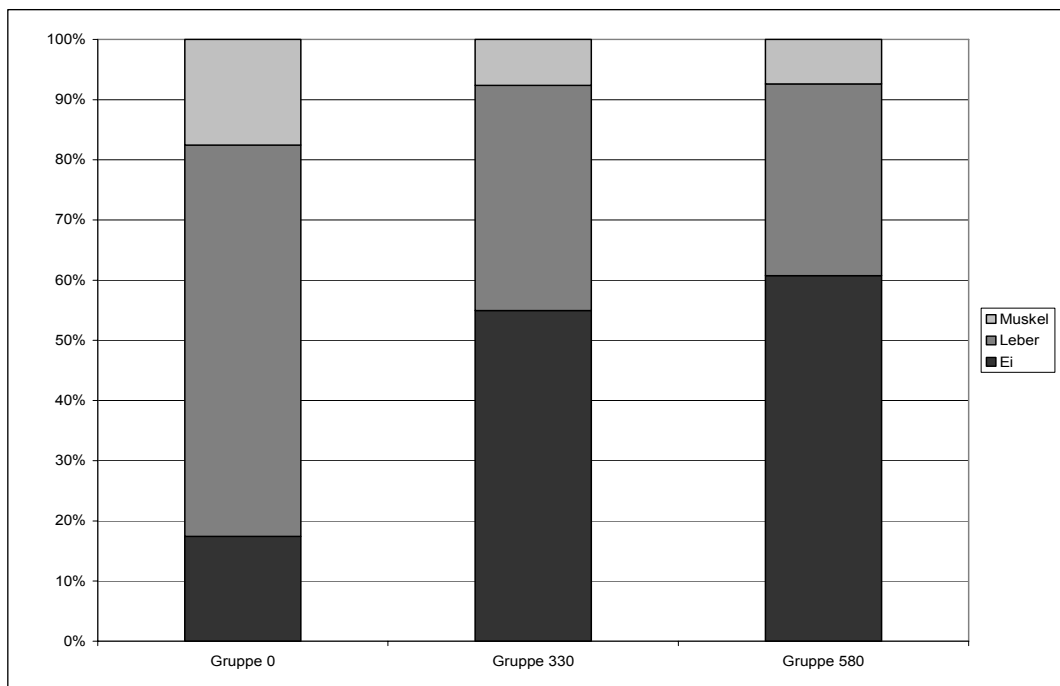


Abbildung 23: Verteilung der mittleren gemessenen Konzentrationen von PFOA auf die drei untersuchten Gewebe (Tränkeversuch)

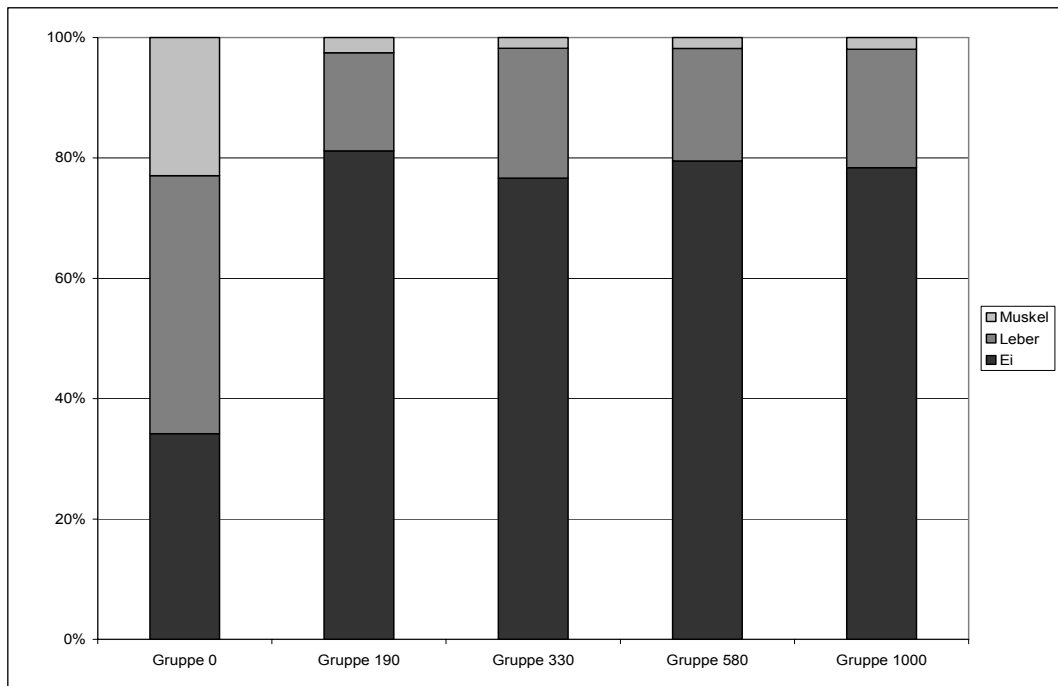


Abbildung 24: Verteilung der mittleren gemessenen Konzentrationen von PFOS auf die drei untersuchten Gewebe (Fütterungsversuch)

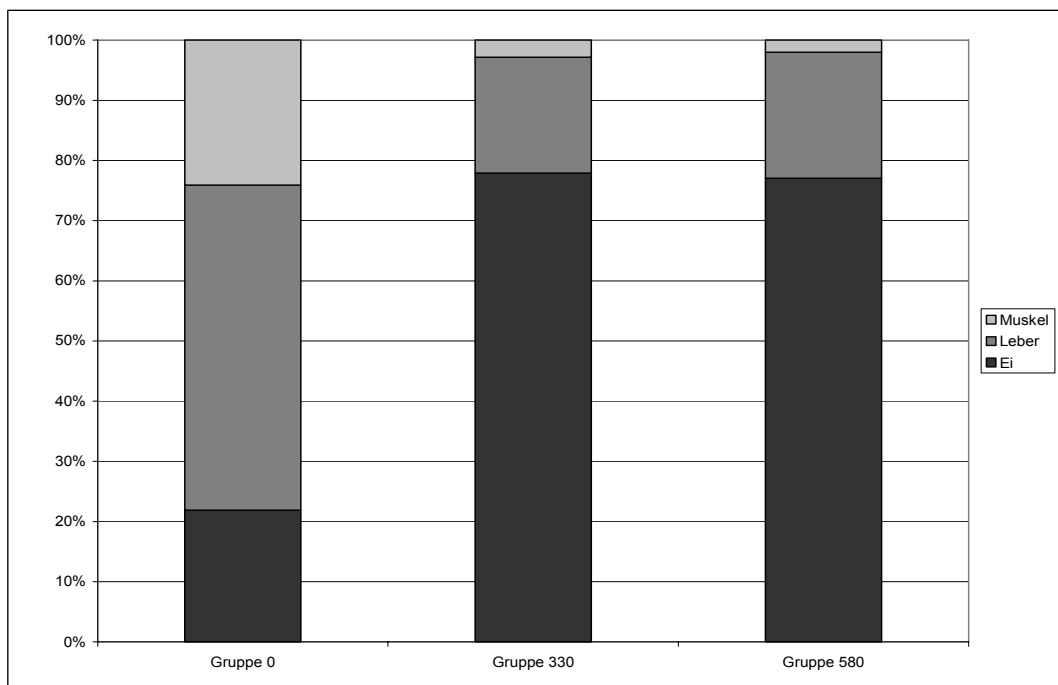


Abbildung 25: Verteilung der mittleren gemessenen Konzentrationen von PFOS auf die drei untersuchten Gewebe (Tränkeversuch)

Ausgehend von der errechneten täglichen PFT-Aufnahme kann die durchschnittliche kumulative Gesamtdosis für die Versuchstiere zu verschiedenen Zeitpunkten bestimmt werden. Die Konzentrationen von PFOA und PFOS in den Eiern und verschiedenen Geweben sind in $\mu\text{g}/\text{kg}$ TS angegeben. Ein Wachtelei wiegt ohne Schale circa sieben Gramm und hat einen Trockensubstanzanteil von durchschnittlich 26% (Deutsches Ernährungsberatungs- und Informationsnetz DEBInet, Angabe für Hühnererei). Auf der Grundlage dieser Angaben kann der Anteil für PFOA beziehungsweise PFOS in den Eiern der einzelnen Gruppen an der kumulativen Dosis für Tag 14 und 35 errechnet werden. Dieser liegt für PFOA in den Eiern der Tiere des Fütterungsversuchs an Tag 14 im Mittel zwischen 1,7 und 2,1% für die Gruppen 190 bis 580 und bei 3,6% für Gruppe 1000. An Tag 35 liegt er bei 0,8 bis 1% für die Gruppen 190 bis 580 und bei 1,5% für Gruppe 1000. Es scheint, als würde sich der über das Ei ausgeschiedene Anteil mit steigender Expositionsdauer und folglich steigender kumulativer Gesamtdosis um einen Wert von 1% einpendeln. Seacat et al. (2003) stellten bei Untersuchungen zur chronischen Toxizität von PFOS bei Ratten fest, dass die Serum-PFOS-Konzentration proportional zur kumulativen Dosis anstieg und relativ konstant zwischen 4,3 und 6,8% lag. Diese Beobachtungen legen die Vermutung nahe, dass die Serumkonzentration einer Sättigung unterliegt. Geht man davon aus, dass der Übertritt der Perfluorierten Tenside in das Ei abhängig von der Höhe der Serumkonzentration stattfindet, lässt sich das relativ konstante Verhältnis von PFOS-Konzentration im Ei und kumulativer Gesamtdosis erklären. Im Falle des Tränkeversuchs lag der Anteil der kumulativen Gesamtdosis von PFOA, der über das Ei ausgeschieden wurde, an Tag 14 bei 5% für beide Gruppen und an Tag 35 bei 2%. Dieser Unterschied im Vergleich zu den Werten des Fütterungsversuchs liegt vermutlich an der deutlich höheren täglichen Dosis, die womöglich zunächst zu einer Überlastung von Speicher- beziehungsweise Ausscheidungsmechanismen geführt hat. Zum Zeitpunkt der zweiten Messung an Tag 35 nähern sich auch hier die Werte denen des Fütterungsversuchs an. Die entsprechenden Anteile von PFOS an der kumulativen Gesamtdosis betragen an Tag 14 für die Gruppen 190 bis 580 des Fütterungsversuchs zwischen 3,5 und 4,5% und für Gruppe 1000 bei 8%. An Tag 35 lagen die Werte für die Gruppen 190 bis 580 zwischen 1,5 und

1,9% und für Gruppe 1000 bei 3,7%. Für Gruppe 330 des Tränkeversuchs lag der Anteil von PFOS im Ei im Mittel bei 13% und für Gruppe 580 bei 14%, an Tag 35 waren dies entsprechend 3 beziehungsweise 4%. Somit scheint der Übergang von PFOS ins Ei einer vergleichbaren Kinetik zu unterliegen wie PFOA.

In Tabelle 22 und Tabelle 24 des Abschnittes 4.2 ist das durchschnittliche Lebergewicht der Gruppen beider Versuche dargestellt. Ausgehend von einem durchschnittlichen Trockensubstanzgehalt von etwa 30% (Kampheus et al., 2004, Angabe für Säugetier) lässt sich auch hier der Anteil der PFOA- und PFOS-Gehalte in der Leber an der kumulativen Gesamtdosis errechnen. Für PFOS lag dieser bei den einzelnen Gruppen des Fütterungsversuchs zwischen 0,2 und 0,5% und bei den Gruppen des Tränkeversuchs bei 0,6 (Gruppe 330) beziehungsweise 0,8% (Gruppe 580). PFOA fand sich zu 0,4% in der Leber der Tiere der Gruppen 190 bis 580. Der Anteil in Gruppe 1000 lag bei 0,7%. Im Fall der Tiere des Tränkeversuchs waren in der Leber 0,6 (Gruppe 330) beziehungsweise 0,8% (Gruppe 580) der kumulativen Dosis nachweisbar. Beide Verbindungen werden demnach mit steigender Gesamtdosis verstärkt in der Leber angereichert.

Der Anteil des Schlachtkörpers am Gesamtgewicht der Wachtel beträgt etwa 60% (Köhler, 2008). Bei einem Trockensubstanzgehalt von 26% (Kampheus et al., 2004) lässt sich der Anteil der PFT-Gehalte in der Muskulatur an der kumulativen Dosis bestimmen. Für PFOA beträgt dieser bei den Gruppen des Fütterungsversuchs zwischen 0,6 und 1,6% und bei den Gruppen des Tränkeversuchs 3,6 (Gruppe 330) beziehungsweise 3,2% (Gruppe 580). Die durchschnittliche tägliche Dosis lag zwar für die Gruppen 330 und 580 höher als bei den entsprechenden Gruppen des Fütterungsversuchs, bedingt durch die kürzere Versuchsdauer lag die kumulative Dosis zu Versuchsende jedoch in ähnlichen Bereichen. PFOA scheint also nach Aufnahme über das Tränkwasser tatsächlich effektiver in die Muskulatur über zu gehen als nach Aufnahme über das Futter. Der Anteil von PFOS erreichte bei den Gruppen des Fütterungsversuchs Werte zwischen 0,4 und 1% und für die des Tränkeversuchs zwischen 1,4 (Gruppe 330) und 1,6% (Gruppe 580). Im Falle von PFOS sind demnach kaum Unterschiede zwischen der Aufnahme über die Tränke

beziehungsweise das Futter festzustellen.

Aus technischen Gründen wurde auf die Sammlung und Analyse der Ausscheidungen der Tiere verzichtet. Die oben beschriebene anteilige Verteilung der Perfluorierten Tenside innerhalb der untersuchten Organsysteme deutet jedoch darauf hin, dass der weitaus größte Teil der aufgenommenen Gesamtdosis mit den Exkrementen ausgeschieden wird und nicht in tierische Lebensmittel gelangt.

6. Zusammenfassung

Weiblichen japanischen Legewachteln (*Coturnix coturnix japonica*) wurde über sechs Wochen ein Gemisch von Perfluorooctansulfonat (PFOS) und Perfluorooctansäure (PFOA) in gleichem Verhältnis über das Futter (190, 330, 580 oder 1000 µg PFT/kg KGW/Tag) oder fünf Wochen lang über das Tränkwasser (330 oder 580 µg PFT/kg KGW/Tag) verabreicht. Es wurden anschließend an Tag 0, 14 und 35 die Konzentrationen von PFOS beziehungsweise PFOA in den Eiern und nach Versuchsende in Leber- und Muskelgewebe bestimmt. Beide Verbindungen reichert sich dosisabhängig in Ei und Organen an. PFOS wurde in höheren Konzentrationen über das Ei ausgeschieden als PFOA. Für die Gruppen 190 bis 1000 des Fütterungsversuchs lagen diese Werte an Tag 35 bei 1597 ± 213 , 3438 ± 234 , 4880 ± 1210 beziehungsweise 11963 ± 3119 µg/kg TS für PFOA und bei 3315 ± 54 , 6591 ± 1016 , 8983 ± 2133 beziehungsweise 29762 ± 5988 µg/kg TS für PFOS. Im Falle der Gruppen 330 und 580 des Tränkeversuchs lagen die Werte für PFOA bei 6428 ± 452 beziehungsweise 11469 ± 595 µg/kg TS und für PFOS bei 11050 ± 3620 beziehungsweise 23643 ± 3071 µg/kg TS. Das Verhältnis lag konstant über alle Dosisgruppen und alle Messzeitpunkte bei etwa 2:1. In Muskel- und Lebergewebe wurde dagegen PFOA in höheren Konzentrationen gemessen. In der Muskulatur lag das Verhältnis von PFOA zu PFOS zwischen 1,5:1 und 2,3:1 und im Lebergewebe zwischen 0,9:1 und 1,8:1. Der Anteil an der kumulativen Dosis von PFOA, der mit dem Ei ausgeschieden wurde, lag an Tag 14 bei Werten zwischen 1,7 und 5% und an Tag 35 bei 0,8 bis 3%. PFOS war an Tag 14 zu 3,5 bis 14% der kumulativen Dosis im Ei enthalten und an Tag 35 zu 1,5 bis 4%. In der Leber konnten 0,4 bis 0,8% der kumulativen Dosis von PFOA und 0,2 bis 0,8% der Gesamtdosis von PFOS nachgewiesen werden. Im Fleisch eines Tieres fanden sich durchschnittlich 0,4 bis 1,6% der kumulativen Dosis an PFOS. Allein im Falle der Anreicherung von PFOA im Muskelgewebe konnte ein Unterschied zwischen der Aufnahme mit dem Futter und der über das Tränkwasser beobachtet werden. Hier lag der Anteil an der kumulativen Dosis bei 0,6 bis 1,6% bei den Tieren des Fütterungsversuchs und bei 3,2 bis 3,6% bei den Tieren des

Tränkeversuchs.

Toxische Auswirkungen der PFT-Gabe manifestierten sich als Gewichtsverlust, verminderte Futteraufnahme und verminderte Legeleistung und traten allein bei einer Dosierung von 1000 µg PFT/kg KGW/Tag (entspricht einer rechnerisch ermittelten tatsächlichen täglichen PFT-Aufnahme von 540 µg/kg KGW) auf und waren nach Absetzen der PFT-Gaben voll reversibel. Andere Beeinträchtigungen der Tiergesundheit konnten nicht festgestellt werden.

7. Summary

Female Japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*) were dosed for a period of six weeks with an equal amount of perfluorooctane sulfonate (PFOS) and perfluorooctanoate (PFOA) through feed (190, 330, 580 or 1000 μg PFT/kg bw/d) or for a period of five weeks through drinking water (330 or 580 μg PFT/kg bw/d). Concentrations of PFOS and PFOA in eggs have been determined on day 0, 14 and 35 and those in liver and muscle tissue subsequently to the experimental period. Both compounds were accumulating in eggs and tissue probes in a dose related manner. In comparison to PFOA, PFOS was more effectively eliminated through the egg. Concentrations of PFOA measured on day 35 in eggs from the feed trial were 1597 ± 213 , 3438 ± 234 , 4880 ± 1210 and 11963 ± 3119 $\mu\text{g}/\text{kg}$ dw respectively for dose groups 190 to 1000 and concentrations of PFOS were 3315 ± 54 , 6591 ± 1016 , 8983 ± 2133 and 29762 ± 5988 $\mu\text{g}/\text{kg}$ dw respectively. Concentrations of PFOA measured in eggs of dose group 330 and 580 from the water trial were 6428 ± 452 and 11469 ± 595 $\mu\text{g}/\text{kg}$ dw respectively and concentrations of PFOS were 11050 ± 3620 and 23643 ± 3071 $\mu\text{g}/\text{kg}$ dw respectively. The PFOS:PFOA ratio has been nearly constant at a value of 2:1 through all dosing groups on day 14 and 35. In contrast, PFOA was more effectively accumulating in liver and muscle tissue than PFOS. The PFOA:PFOS ratio in muscle and liver tissue ranged from 1.5:1 to 2.3:1 and 0.9:1 to 1.8:1 respectively. The proportion of the total cumulative dose ranged from 1.7 to 5% for the concentration of PFOA in eggs on day 14 and from 0.8 to 3% on day 35. For PFOS the proportion of the total cumulative dose ranged from 3.5 to 14% on day 14 and from 1.5 to 4% on day 35 respectively. In the liver 0.4 to 0.8% of the total dose were found for PFOA and 0.2 to 0.8 for PFOS. The muscle tissue contained 0.4 to 1.6% of the total cumulative dose of PFOS. In contrast to eggs and liver tissue there has been a remarkable difference in accumulation of PFOA in muscle tissue concerning the uptake route. It ranged from 0.6 to 1.6% for admission through feed and from 3.2 to 3.6% for admission through drinking water.

Toxic effects were remarkable in dose group 1000 only and were displayed as

weight loss, reduced feed consumption and reduced egg production. All toxic effects were completely reversible after cessation of dosing.

8. Literaturverzeichnis

Abbott B. D., Wolf C. J., Schmid J. E., Das K. P., Zehr R. D., Helfant L., Nakayama S., Lindstrom A. B., Strynar M. J., Lau C. 2007. Perfluorooctanoic Acid-Induced Developmental Toxicity in the Mouse is Dependent on Expression of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-alpha. *Toxicological Science* 98 (2), 571-581.

Abbott B. D., Wolf C.J., Das K. P., Zehr R. D., Schmid J. E., Lindstrom A. B., Strynar M. J., Lau C. 2009. Developmental toxicity of perfluorooctane sulfonate (PFOS) is not dependent on peroxisome proliferation activated receptor-alpha (PPAR α) in the mouse. *Reproductive Toxicology* 29, 258-265.

Alexander B. H., Olsen G. W., Burriss J. M., Mandel J. H., Mandel J. S. 2003. Mortality of employees of a perfluorooctanesulphonyl fluoride manufacturing facility. *Occup Environ Med* 60, 722-729.

Andersen M. E., Clewell H.J., III., Tan Y.-M., Butenhoff J. L., Olsen G. W. 2006. Pharmacokinetic modeling of saturable, renal resorption of perfluoroalkylacids in monkeys – Probing the determinants of long plasma half-lives. *Toxicology* 227, 156-164.

Andersen M. E., Butenhoff J. L., Chang S.-C., Farrar D. G., Kennedy G. L. Jr., Lau C., Olsen G. W., Seed J., Wallace K. B. 2008. Perfluoroalkyl Acids and Related Chemistries – Toxicokinetics and Modes of Action. *Tox Sci* 102 (1), 3-14.

Apelberg B. J., Witter F. R., Herbstman J. B., Calafat J. M., Halden R. U., Needham L. L., Goldman L. R. 2007. Cord Serum Concentrations of Perfluorooctane Sulfonate (PFOS) and Perfluorooctanoate (PFOA) in Relation to Weight and Size at Birth. *Environ Health Perspect* 115 (11),

1670-1676.

Austin M. E., Kasturi B. S., Barber M., Kannan K., MohanKumar P. S., MohanKumar S. M. J. 2003. Neuroendokrine Effects of Perfluorooctane Sulfonate in Rats. *Environ Health Perspect* 111 (12), 1485-1489

Begley T. H., White K., Honogfort P., Twaroski M. L., Neches R., Walker R. A. 2005. Perfluorochemicals: Potential sources of and migration from food packaging. *Food Additives and Contaminants* 22 (10), 1023-1031.

Bergmann S. 2009. Gesamtüberblick über die PFC-Untersuchungen in NRW. Fachgespräch des MUNLV und UBA zu Polyfluorierten organischen Verbindungen (PFC) – am 19. Juni in der Landesvertretung Nordrhein Westfalen in Berlin. http://www.umweltbundesamt.de/wasser-und-gewaesserschutz/publikationen/fgpfc/gesamtueberblick_ueber_pfc-untersuchungen_in_nrw-bergmann.pdf

BfR (Bundesinstitut für Risikobewertung), 2009. Gesundheitliche Risiken durch PFOS und PFOA in Lebensmitteln sind nach dem derzeitigen wissenschaftlichen Kenntnisstand unwahrscheinlich. Stellungnahme Nr. 004/2009 des BfR vom 11. September 2008.

Brede E., Wilhelm M., Göen T., Müller J., Rauchfuss K. Kraft M., Hölzer J. 2010. Two-year follow-up biomonitoring pilot study of residents' and controls' plasma levels after PFOA reduction in public water system in Arnsberg, Germany. *Int J Hyg Environ Health*, Epub ahead of print.

Butenhoff J. L., York R., Seacat A., Luebker D. 2002. Perfluorooctanesulfonate-Induced Perinatal Mortality in Rat Pups is Associated with a Steep Dose-Response. *Toxicologist* 66, 25.

- Butenhoff J. L., Costa G., Elcombe C., Farrar D., Hansen K., Iwai H., Jung R., Kennedy G. Jr., Lieder P., Olsen G., Thomford P. 2002. Toxicity in Male Cynomolgus Monkeys after Oral Dosing for 6 Months. *Tox Sci* 69, 244-257.
- Butenhoff J. L., Kennedy G. L. Jr., Frame S. R., P'Connor J. C., York R. G. 2004. The Reproductive Toxicology of Ammonium Perfluorooctanoate (APFO) in the Rat. *Toxicology* 196, 95-116.
- Calafat A. M., Kuklennyik Z., Reidy J. A., Caudill S. P., Tully J. S., Needham L. L. 2007a. Serum Concentration of 11 Polyfluoroalkyl Compounds in the U.S. Population: Data from the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 1999-2000. *Environ Sci Technol.* 41, 2237-2242.
- Calafat A. M., Wong L. Y., Kuklennyik Z., Reidy J., Needham L. 2007b. Perfluoroalkyl Chemicals in the U.S. Population: Data from the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2003-2004 and Comparisons with NHANES 1999-2000. *Environ Health Perspect* 115 (11), 1596-1602.
- Clewell H. 2009. Pharmacokinetic Modeling of PFOA and PFOS. The Hamner Institutes for Health Sciences. Research Triangle Park, NC. <http://www.epa.gov/oppt/pfoa/pubs/PBPK%20Modeling-%20Clewell.pdf>
- Cook C. L., Murray S. M., Frame S. R., Hurtt M. E. 1992. Induction of Leydig cell adenomas by ammonium perfluorooctanoate: A possible endocrine-related mechanism *Toxicol Appl Pharmacol* 113, 209-217.
- Dauwe T., Van de Vijver K., De Coen V., Eens M. 2007. PFOS levels in the blood and liver of a small insectivorous song bird near a fluorochemical plant. *Environment International* 33, 357-361.

- DeWitt J. C., Copeland C. B., Strynar M. J., Luebke R. W. 2008. Perfluorooctanoic Acid-Induced Immunomodulation in Adult C56BL/6J or C57BL/6N Female Mice. *Environ Health Perspect* 116 (5), 644-650.
- Diaz M. J., Chinje E., Kentish P., Jarnot B., George M., Gibson G. 1994. Induction of cytochrome P4504A by the peroxisome proliferator perfluoro-*n*-octanoic acid. *Toxicology* 86, 109-122.
- EFSA (European Food Safety Agency). 2008. Perfluorooctanesulfonate (PFOS), perfluorooctanoic acid (PFOA) and their salts, Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food chain. *The EFSA Journal* 653, 1-131.
- Ellis D. A., Marti J. W., Mabury S. A., Hurley M. D., Sulbaek Andersen M. P., Wallington T. J. 2003. Atmospheric Lifetime of Fluorotelomer Alcohols. *Environ Sci Technol* 37, 3816-3820.
- Ellis D. A., Martin J. W., De Silva A. O., Mabury, Hurley M. D., Sulbaek Andersen M. P., Wallington T. J. 2004. Degradation of Fluorotelomer Alcohols: A Likely Atmospheric Source of Perfluorinated Carboxylic Acids. *Environ Sci Technol* 38, 3316-3321.
- Empfehlung der Kommission vom 17. März 2010 zur Überwachung von perfluorierten Alkylsubstanzen in Lebensmitteln.
- EWG (Environmental Working Group). 2003. PFCs: Global Contaminants. Consumers instantly recognize them as household miracles of modern chemistry – Teflon, Scotchgard, Stainmaster, Gore-Tex. Internet: <http://www.ewg.org/node/8625>
- Fei C., McLaughlin J. K., Lipworth L., Olsen J. 2008a. Prenatal Exposure to

- Perfluorooctanoate (PFOA) and Perfluorooctanesulfonate (PFOS) and Maternally Reported Milestones in Infancy. *Environ Health Perspect* 116 (10) 1391-1395.
- Fei C., McLaughlin J. K., Tarone R. E., Olsen J. 2008b. Fetal Growth Indicators and Perfluorinated Chemicals: A Study in the Danish National Birth Cohort. *Am J Epidemiol* 168 (1), 66-72.
- Fricke M., Lahl U. 2005. Risikobewertung von Perfluortensiden als Beitrag zur aktuellen Diskussion zum REACH-Dossier der EU-Kommission. *Z Umweltchem Ökotox* 17 (1), 36-49
- Fromme H., Midasch O., Twardella D., Angerer J., Boehmer S., Liebl B. 2007a. Occurrence of perfluorinated substances in an adult German population in southern Bavaria. *Int Arch Occup Environ Health* 80, 313-319.
- Fromme H., Schlummer M., Möller A., Gruber L., Wolz G., Ungewiß J., Böhmer S., Dekant W., 2007b. Exposure of an adult population to perfluorinated substances using duplicate diet portions and biomonitoring data. *Environ Sci Technol* 41, 7928-7933.
- Fromme H., Albrecht M., Angerer J., Drexler H., Gruber R., Schlummer M., Parlar H., Körner W., Wanner A., Heitmann D., Roscher E., Bolte G. 2007c. Integrated Exposure Assessment Survey (INES) Exposure to persistent and bioaccumulative chemicals in Bavaria, Germany. *Int J Hyg Environ-Health* 210, 345-349.
- Fromme H., Tittlemier S. A., Völkel W., Wilhelm M., Twardella D. 2009. Perfluorinated compounds – Exposure assessment for the general

population in western countries. *Int J Hyg Environ Health* 212, 239-270.

Fuentes S., Colomina M. T., Vicens P., Franco-Pons N., Domingo J. L. 2007. Concurrent Exposure to Perfluorooctane Sulfonate and Restraint Stress during Pregnancy in Mice: Effects on Postnatal Development and Behavior of the Offspring. *Tox Sci* 98 (2), 589-598.

Giesy J. P., Kannan K. 2001. Global distribution of perfluorooctane sulfonate in wildlife. *Environ Sci Technol* 35, 1339-1342.

Grasty R. C., Grey B. E., Lau C., Rogers J. M. 2003. Prenatal Window Of Susceptibility to Perfluorooctane Sulfonate-Induced Neonatal Mortality in the Sprague Dawley Rat. *Birth Defect Res (Part B)* 68, 465-471.

Grasty R. C., Bjork J. A., Wallace K. B., Wolf D. C., Lau C. S., Rogers J. M. 2005. Effects of Prenatal Perfluorooctane Sulfonate (PFOS) Exposure on Lung Maturation in the Perinatal Rat. *Birth Defect Res (Part B)* 74, 405-416.

Guruge K., Leung L. W. Y., Yamanaka N., Miyazuki S., Lam P. K. S., Giesy J. P., Jones P. D., Nobuyoshi Y. 2006. Gene Expression Profiles in Rat Liver Treated With Perfluorooctanoic Acid (PFOA). *Tox Sci* 89 (1), 93-107.

GV-SOLAS (Gesellschaft für Versuchstierkunde, Society for Laboratory Animal Science), Ausschluß für Ernährung der Versuchstiere. 1998. Fütterungskonzepte und –methoden in der Versuchstierhaltung und im Tierversuch, Ratte.

GV-SOLAS (Gesellschaft für Versuchstierkunde, Society for Laboratory Animal Science), Ausschuss für Ernährung der Versuchstiere. 2006. Fütterungskonzepte und -methoden in der Versuchstierhaltung und im Tierversuch, Wachtel.

<http://www.epa.gov/oppt/pfoa/pubs/stewardship/index.html>

<http://www.ernaehrung.de/lebensmittel/de/E111111/Huehnerei-Vollei-frisch.php>

http://solutions.3m.com/wps/portal/3M/en_US/PFOS/PFOA/Information/Action/#phaseout

Han X., Snow T. A., Kemper R. A., Jepson G. W. 2003. Binding of Perfluorooctanoic Acid to Rat and Human Plasma Proteins. *Chem Res Toxicol* 16, 175-181.

Hansen K. J., Johnson H. O., Eldridge J. S., Butenhoff J. L., Dick L. A. 2002. Quantitative Characterisation of Trace Levels of PFOS and PFOA in the Tennessee River. *Environ Sci Technol* 36, 1681-1685.

Harada K., Saito N, Inoue K., Yoshinaga T., Watanabe T., Sasaki S., Kamiyama S., Koizumi A. 2004. The Influence of Time, Sex and Geographic Factors on Levels of Perfluorooctane Sulfonate and Perfluorooctanoate in Human Serum over the last 25 Years. *J Occup Health* 46, 141-146.

Haughom B., Spydevold O. 1992. The mechanism underlying the hypolipemic effect of perfluorooctanoic acid (PFOA), perfluorooctane sulfonic acid

(PFOSA) and clofibrilic acid. *Biochemica et Biophysica Acta* 1128, 65-72.

Hölzer J., Midasch O., Rauchfuss K., Kraft M., Reupert R., Angerer J., Kleeschulte P., Marschall N., Wilhelm M. 2008. Biomonitoring of Perfluorinated Compounds in Children and Adults Exposed to Perfluorooctanoate-Contaminated drinking water. *Environ Health Perspect* 116 (5), 651-657.

Hoff P. T., Scheirs J., Van De Vijver K., Dongen W. V., Esmans E. L., Blust R., De Coen W. 2004. Biochemical Effect Evaluation of Perfluorooctane Sulfonic Acid-Contaminated Wood Mice (*Apodemus sylvaticus*). *Environ Health Perspect* 112 (6), 681-686.

Hoff P. T., Van de Vijver K., Dauwe T., Covaci A., Maervoet J., Marcel., Eens M., Blust R., De Coen V. 2005. Evaluation of biochemical effects related to perfluorooctane sulfonic acid exposure in organohalogen-contaminated great tit (*Parus major*) and blue tit (*Parus caeruleus*) nestlings. *Chemosphere* 61, 1558-1569.

Houde M., Martin J. W., Letcher R. J., Solomon K. R., Muir D. C. G. 2006. Biological Monitoring of Perfluoroalkyl Substances: A Review. *Environ Sci Technol* 40 (11), 3463-3473.

Holmström K. E., Berger U. 2008. Tissue Distribution of Perfluorinated Surfactants in Common Guillemot (*Uria aalge*) from the Baltic Sea. *Environ Sci Technol* 42, 5879-5884.

Hu W., Jones D., Upham B. L., Trosko J. L., Lau C., Giesy J.P. 2002. Inhibition of Gap Junctional Intercellular Communication by Perfluorinated Compounds in Rat Liver and Dolphin Kidney Epithelial Cell Lines in Vitro and Sprague-Dawley Rats in Vivo. *Toxicological Science* 68, 429-436.

- Inoue K, Okada F., Ito R., Kato S., Sasaki S., Nakajima S., Uno A., Saijo Y., Sata F., Yoshimura Y., Kishi R., Nakzawa H. 2004. Perfluorooctane Sulfonate (PFOS) and Related Perfluorinated Compounds in Human Maternal Cord Blood Samples: Assessment of PFOS Exposure in an Susceptible Population during Pregnancy. *Environ Health Perspect* 112 (11), 1204-1207.
- Kampheus J., Coenen M., Kienzle E., Pallauf J., Simon O., Zentek J. (Hrsg.). 2004. *Supplemente zu Vorlesungen und Übungen in der Tierernährung*. 10., überarbeitete Auflage. M & H Schaper Verlag.
- Kannan K., Koistinen J., Beckmen K., Evans T., Gorzelany J. F., Jansen K. J., Jones P. D., Helle E., Nyman M., Giesy J. P. 2001. Accumulation of Perfluorooctanesulfonat in Marine Mammals. *Environ Sci Technol* 35, 1593-1598.
- Kannan K., Choi J.-W., Iseki N., Senthilkumar K., Kim D. H., Masunaga S., Giesy J. P. 2002. Concentrations of perfluorinated acids in livers of birds from Japan and Korea. *Chemosphere* 49, 225-231.
- Kärman A., Ericson I., van Bavel B., Darnerud P. O., Aune M., Glynn A., Lignell S., Lindström G. 2007. Exposure of Perfluorinated Chemicals through Lactation: Levels of Matched Human Milk and Serum and a Temporal Trend. *Environ Health Perspect* 115 (2), 226-230.
- Kappenstein O. 2010. Vorstellung des europäischen Forschungsvorhabens PERFOOD (PERFluorinated Organics in Our Diet). PFC-Kolloquium, Fachgespräch zur Risikobewertung von Lebensmitteln und Futtermitteln am 29.März 2010 in Düsseldorf.
- Köhler D. 2008. *Wachtelhaltung*. Oertel & Spörer.

- Kudo N., Bandai N., Suzuki E., Katakura M., Kawashima Y. 2000. Induction by perfluorinated acids with different carbon chain length of peroxisomal β -oxidation in the liver of rats. *Chemico-Biological Interactions* 124, 119-132.
- Kudo N., Katakura M., Sato Y., Kawashima Y. 2002. Sex Hormone-Regulated Renal Transport of Perfluorooctanoic Acid. *Chem Biol Interact* 139, 301-316.
- Kudo N. und Kawashima Y. 2003. Induction of Triglyceride Accumulation in the Liver of Rats by Perfluorinated Fatty Acids with different Carbon Chain Lengths: Comparison with Induction of Peroxisomal β -Oxidation. *Biol Pharm Bull* 26 (1), 47-51.
- Kudo N., Suzuki-Nakajima E., Mitsumoto A., Kawashima Y. 2006. Responses of the Liver to Perfluorinated Fatty Acids with Different Carbon Chain Length in Male and Female Mice: In Relation to Induction of Hepatomegaly, Peroxisomal β -Oxidation and Microsomal 1-Acylglycerophosphocholine Acyltransferase. *Biol Pharm Bull* 29 (9) 1952-1957.
- Kudo N., Sakai A., Mitsumoto A., Hibino Y., Tsuda T., Kawashima Y. 2007. Tissue Distribution and Hepatic Subcellular Distribution of Perfluorooctanoic Acid at Low Dose Are different from Those at High Dose in Rats. *Biol Pharm Bull* 30, 1535-1540.
- Lau C., Thibodeaux J. R., Hanson R. G., Rogers J. M., Grey B. E., Stanton M. E., Butenhoff J. L., Stevenson L. A. 2003. Exposure to Perfluorooctane Sulfonate during Pregnancy in Rat and Mouse. II: Postnatal Evaluation. *Tox Sci* 74, 382-392.

- Lau C., Butenhoff J. L., Rogers J. M. 2004. The developmental toxicity of perfluoroalkyl acids and their derivatives. *Toxicol Appl Pharmacol* 198, 231-241.
- Lau C., Thibodeaux J.R., Hanson R.G., Narotsky M. G., Rogers J. M., Lindstrom A. B., Strynar M. J. 2006. Effects of Perfluorooctanoic Acid exposure during Pregnancy in the Mouse. *Toxicol Sci* 90 (2), 510-518.
- Lehmler H.-J. 2005. Synthesis of Environmentally Relevant Fluorinated Surfactants – A Review. *Chemosphere* 58 (11), 1471-1496.
- Liu R. C., Hurtt M. E., Cook J. C., Biegel L. B. 1996a. Effect of the Peroxisome Proliferator Ammonium Perfluorooctanoate (C8), on Hepatic Aromatase Activity in Adult Male Crl:CD BR (CD) Rats. *Fundam Appl Toxicol* 30, 220-228.
- Liu R. C., Hahn C., Hurtt M. E. 1996b. The Direct Effect of Hepatic Peroxisome Proliferators on Rat Leydig Cell Function in *Vitro*. *Fund Appl Toxicol* 30, 102-108.
- Luebker D. J., Hansen K. J., Bass N. M., Butenhoff J. L., Seacat A. M. 2002. Interactions of fluorchemicals with rat liver fatty acid-binding protein. *Toxicology* 176, 175-185.
- Luebker D. J., Case M. T., York R. G., Moore J. A., Hansen K. J., Butenhoff J. L. 2005a. Two-generation reproduction and cross-foster studies of perfluorooctanesulfonate (PFOS) in rats. *Toxicology* 215, 126-148.
- Luebker D. J., York R. G., Hansen K. J., Moore J. K., Butenhoff J. L. 2005b. Neonatal mortality of in utero exposure to perfluorooctanesulfonate (PFOS) in Sprague-Dawley rats: Dose-response and biochemical and pharmacokinetic parameters. *Toxicology* 215, 149-169.

- Midasch O., Drexler H., Hart N., Beckmann M. W., Angerer J. 2007. Transplacental exposure of neonates to perfluorooctanesulfonate and perfluorooctanoate: A pilot study. *Int Arch Occup Environ Health* 80, 643-648.
- Melzer D., Rice N., Depledge M. H., Henley W. E., Galloway T. S. 2010. Association between Perfluorooctanoic Acid (PFOA) and Thyroid Disease in the U.S. National Health and Nutrition Examination Survey. *Environ Health Perspect* 118 (5), 686-692.
- Moriwaki H., Takata Y., Arakawa R. 2003. Concentrations of perfluorooctanesulfonate (PFOS) and perfluorooctanoic acid (PFOA) in vacuum cleaner dust collected in Japanese homes. *J Environ Monit* 5, 753-757.
- Nakayama S., Harada K., Inoue K., Sasaki K., Seery B., Saito N., Koizumi A. 2005. Distributions of perfluorooctanoic acid (PFOA) and perfluorooctane sulfonate (PFOS) in Japan and their toxicities. *Environmental Science* 12 (6), 293-313.
- Newsted J. L., Jones P. D., Coay K., Giesy J. P. 2005. Avian Toxicity Reference Values for Perfluorooctane Sulfonate. *Environ Sci Technol* 39, 9357-9362.
- Newsted J. L., Beach S. A., Gallagher S. P., Giesy J. P. 2006. Pharmacokinetics and Acute Lethality of Perfluorooctanesulfonate (PFOS) to Juvenile Mallard and Northern Bobwhite Quail. *Arch Environ Contam Toxicol* 50, 411-420.
- Newsted J. L., Coady K. K., Beach S. A., Butenhoff J. L., Gallagher S., Giesy J. P. 2007. Effects of perfluorooctane sulfonate on mallard and northern bobwhite quail exposed chronically via the diet. *Environ Tox Pharmacol* 23, 1-9.

- O'Brien T. M., Wallace K. B., Mitochondrial Permeability Transition as the Critical Target of N-Acetyl Perfluorooctane Sulfonamide Toxicity *in Vitro*. Toxicological Science 82, 333-340.
- OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development). 2002. Hazard Assessment of Perfluorooctane Sulfonate (PFOS) and its Salts. November 21. ENV/JM/RD(2002)17/FINAL.
- Olivero-Verbel J., Tao L., Johnson-Restrepo B., Guette-Fernandez J., Baldiris-Avila R., O'byrne-Hoyos I., Kannan K. 2006. Environmental Pollution 142, 167-372.
- Olsen G. W., Burriss J. M., Lundberg J. K., Hansen K. J., Mandel J. H., Zobel L. R. 2001a. Interim report: Identification of fluorochemicals in human sera. I. American Red Cross blood adult donors. USEPA public docket AR-226.
- Olsen G. W., Hansen K. J., Burriss J. M., Lundberg J. K., Mandel J. H., Zobel L. R. 2001b. Interim report: Identification of fluorchemicals in sera of children in the United States. USEPA public docket A-226.
- Olsen G. W., Curch T. R., Miller J. P., Burriss J. M., Hansen K. J., Lundberg J. K., Armitage J. B., Herron R. M., Medhdizahdekashi Z., Nobiletti J. B., O'Neill E. M., Mandel J. H., Zobel L. R. 2003. Perfluorooctane Sulfonate and other Fluorochemicals in the Serum of American Adult Red Cross Blood Donors. Environ Health Perspect 111 (16), 1892-1901.
- Olsen G. W., Huang H. Y., Helzlsouer K. J., Hansen K. J., Butenhoff J. L., Mandel J. H. 2005. Historical Comparison of Perfluorooctanesulfonate, Perfluorooctanoate and other Fluorochemicals in Human Blood. Environ Health Perspect 113 (5), 539-545.

- Olsen G. W., Burris J. M., Ehresman D. J., Froehlich J. W., Seacat A. M., Butenhoff J. L., Zobel L. R. 2007. Half-Life of Serum Elimination of Perfluorooctanesulfonate, Perfluorohexanesulfonate and Perfluorooctanoate in Retired Fluorchemical Production Workers. *Environ Health Perspect* 115, 1298-1305.
- Olsen G. W., Butenhoff J. L., Zobel L. R. 2009. Perfluoralkylchemicals and human development: An epidemiologic review with clinical and toxicological perspectives. *Reproductive Toxicology* 27, 212-230.
- Olson C. T., Andersen M. E. 1983. The Acute Toxicity of Perfluorooctanoic and Perfluorodecanoic Acids in Male Rats and Effects on Tissue Fatty Acids. *Toxicol Appl Pharmacol* 70, 362-372.
- Paul A. G., Jones K. C., Sweetman A. J. 2009. First Global Production, Emission and Environmental Inventory for Perfluorooctane Sulfonate. *Environ Sci Tech* 43, 386-392.
- Peden-Adams M. M., Keller J. M., Eudaly J. G., Berger J., Gilkeson G. S., Keil D. E. 2008. Suppression of Humoral Immunity in Mice following Exposure to Perfluorooctane Sulfonate. *Toxicological Science* 104 (1), 144-154.
- Perkins R. G., Butenhoff J. L., Kennedy G. L., Palazzolo M. 2004. 13-week dietary toxicity study of ammonium perfluorooctanoate (APFO) in male rats. *Drug Chem Toxicol* 27, 361-378.
- Prevedouros K., Cousins I. T., Buck R. C., Korzeniovski S. H. 2006. Sources, Fate and Transport of Perfluorocarboxylates. *Environ Sci Technol.* 40, 32-44.

- Reddy J. K., Azarnoff D. L., Hignite C. E. 1980. Carcinogenesis by hepatic peroxisome proliferators form a novel class of chemical carcinogens. Nature 283, 397.
- Renner R. 2004. Arctic Chemistry may explain perfluorinated mystery. Environ Sci Technol. 38, 215A-216A.
- Richtlinie 2006/122/EG des Europäischen Rates vom 12. Dezember 2006 zur dreißigsten Änderung der Richtlinie 76/769/EWG des Rates zur Angleichung der Rechts- und Verwaltungsvorschriften der Mitgliedsstaaten für Beschränkungen des Inverkehrbringens und der Verwendung gewisser gefährlicher Stoffe und Zubereitungen (Perfluotoctansulfonate).
- Saito N., Harada K., Inoue K., Sasaki K., Yoshinaga T., Koizumi A. 2004. Perfluorooctanoate and Perfluorooctane sulfonate concentrations in surface waters in Japan. J Occup Health 46, 49-59.
- Seacat A. M., Thomford P. J., Hansen K. J., Olsen G. W., Case M. T., Butenhoff J. L. 2002. Subchronic Toxicity Studies on Perfluorooctanesulfonate Potassium Salt in Cynomolgus Monkeys. Toxicol Sci 68, 249-264.
- Seacat A. M., Thomford., Hansen K. J., Clemen L. A., Eldridge S. R., Elcombe C. R., Butenhoff J. L. 2003. Sub-chronic toxicity of potassium-perfluorooctansulfonate in rats. Toxicology 185, 117-131.
- Shiple J. M., Hurst C. H., Tanaka S. S., DeRoos F. L., Butenhoff J. L., Seacat A. M., Waxman D. J. *trans*-Activation of PPAR α and Induction of PPAR α Target Genes by Perfluorooctane-Based Chemicals. 2004. Tox Sci 80, 151-160.
- Skutlarek D., Exner M., Färber H. 2006. Perfluorinated Surfactants in Surface

and Drinking Waters. Environ Sci Pollut Res 13 (5), 299-307

Stahl T., Ackmann R., Georgii S., Wohlfahrt R., Brunn H. 2007. Perfluorierte Tenside Verwendung, Vorkommen und Aufnahme mit Trinkwasser und Nahrung. Ernährung 1, 27-35.

Starkov A. A., Wallace K. B. 2002. Structural Determinant of Fluorochemical-Induced Mitochondrial Dysfunction. Toxicological Science 66, 244-252.

Stellungnahme der Trinkwasserkommission des Bundesministeriums für Gesundheit (BMG) beim Umweltbundesamt vom 21.06.06 überarbeitet am 13.07.06. Vorläufige Bewertung von Perfluorierten Tensiden (PFT) im Trinkwasser am Beispiel ihrer Leitsubstanzen Perfluorooctansäure (PFOA) und Perfluorooctansulfonsäure (PFOS). Internet: <http://www.umweltbundesamt.de/uba-info-presse/hintergrund/pft-im-trinkwasser.pdf>

Takacs M. L., Abbott B. D., Activation of Mouse and Human Peroxisome Proliferator-Activated Receptors (α , β/δ , γ) by Perfluorooctanoic Acid and Perfluorooctane Sulfonate. Tox Sci 95 (1), 108-117.

Taves, D. R. 1968. Evidence that there are Two Forms of Fluoride in Human Serum. Nature 217, 1050-1051.

Thibodeaux J. R., Hanson R. G., Rogers J. M., Grey B. E., Barbee B. D., Richards J. H., Butenhoff J. L., Stevenson L. H., Lau C. 2003. Exposure to Perfluorooctane Sulfonate during Pregnancy in Rat and Mouse. I: Maternal and Prenatal Evaluations. Tox Sci 74, 369-381.

Tittlemier S. A., Pepper K., Edwards L. 2006. Concentrations of Perfluorooctanesulfonamides in Canadian Total Diet Study Composite Food Samples collected between 1992-2004. J Agric Food Chem 54,

8385-8389.

Umweltbundesamt. 2006. Vorläufige Bewertung von Perfluorierten Tensiden (PFT) im Trinkwasser am Beispiel ihrer Leitsubstanzen Perfluorooctansäure (PFOA) und Perfluorooctansulfonsäure (PFOS). Stellungnahme der Trinkwasserkommission des Bundesministeriums für Gesundheit (BMG) beim Umweltbundesamt vom 21.06.06, überarbeitet am 13.07.06.

Umweltbundesamt. 2009. Per- und Polyfluorierte Chemikalien, Einträge vermeiden – Umwelt schützen. Umweltbundesamt, Pressestelle.

Upham D. L., Deocampo N. D., Wurl B., Trosko J. E. 1998. Inhibition of gap junctional communication by perfluorinated fatty acids is dependent on the chain length of the tail. *Int J Cancer* 78, 491-495.

U.S. EPA (United States Environmental Protection Agency), 2002. Revised draft hazard assessment of perfluorooctanoic acid and its salts. U.S. Environmental Protection Agency, Office of Pollution Prevention and Toxics Risk Assessment Division. Washington DC, USA

U.S. EPA (United States Environmental Protection Agency), 2009. Provisional Health Advisories for Perfluorooctanoic Acid (PFOA) and Perfluorooctane Sulfonate (PFOS). U.S. Environmental Protection Agency, Office of Water. Washington DC, USA.

Vanden Heuvel J. P., Kuslikis B. I., Van Rafelghem M. L., Peterson R. E., 1991. Tissue Distribution, Metabolism, and Elimination of Perfluorooctanoic Acid in Male and Female Rats. *J Biochem Toxicol* 6 (2), 83-92.

Vanden Heuvel J. P., Davis J. W., Sommers R., Peterson R. E. 1992. Renal Excretion of Perfluorooctanoic Acid in Male Rats: Inhibitory Effect of Testosterone. *J Biochem Toxicol* 7 (1) 31-36.

- Vanden Heuvel J. P., Thompson J. P., Frame S. R., Gillies P. J. 2006. Differential Activation of Nuclear Receptors by Perfluorinated Fatty Acid Analogs and natural Fatty Acids: A Comparison of Human, Mouse and Rat Peroxisome Proliferator-Activated-Receptor- α , - β and - γ , Liver X Receptor- β and Retinoid X Receptor- α . *Toxicological Science* 92 (2), 476-498.
- Washino N., Saijo Y., Sasaki S., Kato S., Ban S., Konishi K., Ito R., Nakata R., Iwasaki Y., Saito K., Nakazawa H., Kishi R. 2009. Correlation between Prenatal Exposure to Perfluorinated Chemicals and Reduced Fetal Growth. *Environ Health Perspect* 117 (4), 660-667.
- White S. S., Calafat A. M., Kuklennyik Z., Villanueva L., Zehr R. D., Helfant L., Strynar M. J., Lindstrom A. B., Thibodeaux J. R., Wood C., Fenton S. E. 2007. Gestational PFOA Exposure of Mice is Associated with Altered Mammary Gland Development in Dams and Female Offspring. *Toxicological Science* 96 (2), 133-144.
- Wolf C. J., Fenton S. E., Schmid J. E., Calafat A. M., Kuklennyik Z., Bryant X. A., Thibodeaux J. R., Das K. P., White S. S., Lau C. S., Abbott B. D. 2007. Developmental Toxicity of Perfluorooctanoic Acid in the CD-1 Mouse after Cross-Foster and Restricted Gestational Exposure. *Toxicological Science* 95 (2), 462-473.
- Wolf C. J., Takacs. M. L., Schmid J. E., Lau C., Abbott B. D. 2008. Activation of Mouse and Human Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Alpha by Perfluoroalkyl Acids of Different Functional Groups and Chain Lengths. *Toxicological Science* 106 (1), 162-171.
- Yahia D., Tsukuba C., Yoshida M., Sato I., Tsuda S. 2008. Neonatal death of mice treated with perfluorooctane sulfonate. *J Tox Sci* 33 (2), 219-226.

- Yang Q., Xie Y., DePierre J. W. 200. Effects of peroxisome proliferators on the thymus and spleen of mice. *Clin Exp Immunol* 122, 219-226.
- Yang Q., Xie Y., Messing Eriksson A., Nelson B. D., DePierre J. W. 2001. Further evidence of the involvement of inhibition of cell proliferation and development in thymic and splenic atrophy induced by the peroxisome proliferator perfluorooctanoic acid in mice. *Biochem Pharmacol* 62, 1133-1140.
- Yang Q., Xie Y., Alexson S. E. H., Nelson B. D., DePierre J. W. 2002. Involvement of the peroxisome proliferator-activated receptor alpha in the immunomodulation caused by peroxisome proliferators in mice. *Biochem Pharmacol* 63, 1893-1900.
- Ylinen M., Hanhijarvi H., Jaakonaho I., Peura P. 1989. Stimulation by Estradiol of the Urinary Excretion of Perfluorooctanoic acid in the Male Rat. *Pharmacol Toxicol* 65, 274-277.
- Yoo H., Kannan K., Kim S. K., Lee K. T., Newsted J. L., Giesy J. P., Perfluoroalkyl Acids in the Egg Yolk of Birds from Lake Shihwa, Korea. 2008. *Environ Sci Technol* 42, 5821-5827.
- Zhang X., Chen L., Fei X.-C., Ma Y.-S., Gao H.-W. 2008. Binding of PFOS to serum albumin and DNA: insight into the molecular toxicity of perfluorchemicals. *BMC Molecular Biology*, 10:16.

9. Anhang

9.1 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 <i>Physikalische und chemische Größen des Kaliumsalzes von PFOS</i>	7
Tabelle 2 <i>Physikalische und chemische Größen der freien Säure von PFOA</i>	8
Tabelle 3 <i>Serumhalbwertszeiten von PFOS und PFOA bei verschiedenen Spezies</i>	27
Tabelle 4 <i>Zusammensetzung des Legehennenalleinfutters</i>	41
Tabelle 5 <i>Gruppen des Fütterungsversuchs und die entsprechenden PFT-Dosierungen</i>	42
Tabelle 6 <i>Gruppen des Tränkeversuchs und die entsprechenden PFT-Dosierungen</i>	43
Tabelle 7 <i>Versuchsdaten und untersuchte Parameter des Fütterungsversuchs</i>	44
Tabelle 8 <i>Versuchsdaten und untersuchte Parameter des Regenerationsversuchs</i>	46
Tabelle 9 <i>Versuchsdaten und untersuchte Parameter des Tränkeversuchs</i>	47
Tabelle 10 <i>Durchschnittliches Körpergewicht (g) der Versuchstiere des Fütterungsversuchs (Mittelwert und Standardabweichung pro Gruppe)</i>	50
Tabelle 11 <i>Durchschnittlicher tägliche Futtermittelverbrauch (g) der einzelnen Dosisgruppen des Fütterungsversuchs (pro Käfig)</i>	51
Tabelle 12 <i>Durchschnittliche tägliche Legeleistung (%) der Gruppen des Fütterungsversuchs (pro Käfig)</i>	51
Tabelle 13 <i>Durchschnittlich aufgenommene Futtermenge pro Kilogramm Eimasse (Kilogramm Futter/ Kilogramm Eimasse) der Gruppen des Fütterungsversuchs</i>	52
Tabelle 14 <i>Durchschnittliche tägliche Futteraufnahme (g) und durchschnittliches Körpergewicht (g) der Tiere des Regenerationsversuchs jeweils erfasst als Mittelwert eines Käfigs</i>	53
Tabelle 15 <i>Durchschnittliche tägliche Legeleistung der Gruppe 1000/0 des Regenerationsversuchs in den ersten 21 Tagen nach Umstellung auf PFT-freies Futter</i>	54
Tabelle 16 <i>Durchschnittliches Körpergewicht (g) der Versuchstiere des Tränkeversuchs (Mittelwert und Standardabweichung pro Gruppe)</i>	55
Tabelle 17 <i>Durchschnittlicher täglicher Futtermittelverbrauch (g) der einzelnen Dosisgruppen des Tränkeversuchs (pro Käfig)</i>	55
Tabelle 18 <i>Durchschnittlich aufgenommene Futtermenge pro Kilogramm Eimasse (Kilogramm Futter/ Kilogramm Eimasse) der Gruppen des Tränkeversuchs</i>	56
Tabelle 19 <i>Durchschnittlicher täglicher Wasserverbrauch (ml) der Gruppen des Tränkeversuchs (pro Käfig)</i>	56
Tabelle 20 <i>Durchschnittliche tägliche Legeleistung (%) der Gruppen des Tränkeversuchs (pro Käfig)</i>	56
Tabelle 21 <i>Absolutes (g) und relatives (% der Körpermasse) Nierengewicht der Tiere des Fütterungsversuchs als Mittelwert und Standardabweichung pro Käfig</i>	57

Tabelle 22	<i>Absolutes (g) und relatives (% der Körpermasse) Lebergewicht der Tiere des Fütterungsversuchs als Mittelwert und Standardabweichung pro Käfig</i>	58
Tabelle 23	<i>Absolutes (g) und relatives (% der Körpermasse) Nierengewicht der Tiere des Tränkeversuchs als Mittelwert und Standardabweichung pro Käfig</i>	59
Tabelle 24	<i>Absolutes (g) und relatives (% der Körpermasse) Lebergewicht der Tiere des Tränkeversuchs als Mittelwert und Standardabweichung pro Käfig</i>	59
Tabelle 25	<i>Konzentration ($\mu\text{g}/\text{kg}$ TS) von PFOA und PFOS in den Eiern der Tiere des Fütterungsversuchs an Tag 0, 14 und 35 nach der Umstellung auf das Versuchsfutter. Dargestellt sind der Mittelwert und die dazugehörige Standardabweichung der Messwerte in den Eiern von je 3 Käfigen pro Gruppe und Zeitpunkt.</i>	61
Tabelle 26	<i>Durchschnittliches Eigewicht (g) der Tiere des Fütterungsversuchs (pro Käfig)</i>	61
Tabelle 27	<i>Konzentration ($\mu\text{g}/\text{kg}$ TS) von PFOA und PFOS in den Eiern der Tiere des Regenerationsversuchs an Tag 0, 21 und 42 nach der Umstellung auf PFT-freies Futter. Dargestellt ist der Messwert aus der gepoolten Eiprobe eines Käfigs</i>	62
Tabelle 28	<i>Durchschnittliches Eigewicht (g) der Tiere des Regenerationsversuchs</i>	63
Tabelle 29	<i>Konzentration ($\mu\text{g}/\text{kg}$ TS) von PFOA und PFOS in den Eiern der Tiere des Tränkeversuchs an Tag 0, 14 und 35 nach der Umstellung auf das präparierte Tränkwasser. Dargestellt sind der Mittelwert und die dazugehörige Standardabweichung der Messwerte in den Eiern von je 3 Käfigen pro Gruppe und Zeitpunkt</i>	64
Tabelle 30	<i>Durchschnittliches Eigewicht der (g) Tiere des Tränkeversuchs</i>	64
Tabelle 31	<i>Konzentration ($\mu\text{g}/\text{kg}$ TS) von PFOA und PFOS im Muskelgewebe der Tiere des Fütterungsversuchs (untersucht wurden je 20 g US gepoolte Gewebeproben pro Käfig)</i>	65
Tabelle 32	<i>Konzentration ($\mu\text{g}/\text{kg}$ TS) von PFOS und PFOA im Lebergewebe der Tiere des Fütterungsversuchs (untersucht wurden je 20 g US gepoolte Gewebeproben pro Käfig)</i>	66
Tabelle 33	<i>Konzentration ($\mu\text{g}/\text{kg}$ TS) von PFOS und PFOA im Muskelgewebe der Tiere des Tränkeversuchs (untersucht wurden je 20g US gepoolte Gewebeproben pro Käfig)</i>	67
Tabelle 34	<i>Konzentration ($\mu\text{g}/\text{kg}$ TS) von PFOS und PFOA im Lebergewebe der Tiere des Tränkeversuchs (untersucht wurden je 20 g US gepoolte Gewebeproben pro Käfig)</i>	68

9.2 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Durchschnittliches Körpergewicht der Tiere aus dem Fütterungsversuch an Tag 0, Tag 14 und Tag 42 nach Umstellung auf das Versuchsfutter	73
Abbildung 2:	Durchschnittliches Körpergewicht der Tiere aus dem Tränkeversuch an Tag 0, Tag 14 und Tag 38 nach Umstellung auf das präparierte Tränkwasser	73
Abbildung 3:	Durchschnittliches Körpergewicht der Tiere aus dem Regenerationsversuch an Tag 1 und Tag 14 nach der Umstellung auf PFT-freies Futter	74
Abbildung 4:	Durchschnittliche Futterraufnahme der Tiere aus dem Fütterungsversuch.....	75
Abbildung 5:	Durchschnittliche Legeleistung der Tiere aus dem Fütterungs- und Tränkeversuch.	78
Abbildung 6:	Legeleistung der Gruppe 1000/0 des Regenerationsversuchs in den ersten drei	

Wochen nach der Umstellung auf PFT-freies Futter	79
Abbildung 7: Relatives Nierengewicht der Tiere aus dem Fütterungs- und Tränkeversuch	82
Abbildung 8: Absolutes Lebergewicht der Tiere aus dem Fütterungs- und Tränkeversuch	82
Abbildung 9: Gehalte von PFOA in den Eiern der Tiere der verschiedenen Dosisgruppen des Fütterungsversuchs an Tag 0, Tag 14 und Tag 35 nach der Umstellung auf das Versuchsfutter	87
Abbildung 10: Gehalte von PFOS in den Eiern der Tiere der verschiedenen Dosisgruppen des Fütterungsversuchs an Tag 0, Tag 14 und Tag 35 nach der Umstellung auf das Versuchsfutter	87
Abbildung 11: Gehalte von PFOA in den Eiern der Tiere der verschiedenen Dosisgruppen des Tränkeversuchs an Tag 0, Tag 14 und Tag 35 nach Umstellung auf das präparierte Tränkwasser	89
Abbildung 12: Gehalte von PFOS in den Eiern der Tiere der verschiedenen Dosisgruppen des Tränkeversuchs an Tag 0, Tag 14 und Tag 35 nach Umstellung auf das präparierte Tränkwasser	89
Abbildung 13: Ausscheidung von PFOA bzw. PFOS über das Ei im Vergleich zwischen Fütterungs- und Tränkeversuch, aufgetragen gegen die durchschnittliche tägliche Aufnahme	91
Abbildung 14: Gehalte von PFOA in den Eiern der Tiere des Regenerationsversuchs an Tag 0, 21 und 35 nach der Umstellung auf PFT-freies Futter.....	92
Abbildung 15: Gehalte von PFOS in den Eiern der Tiere aus dem Regenerationsversuch an Tag 0, 21 und 35 nach der Umstellung auf PFT-freies Futter.....	92
Abbildung 16: Gehalte von PFOA und PFOS im Lebergewebe der Tiere aus dem Fütterungsversuch	94
Abbildung 17: Gehalte von PFOA und PFOS im Lebergewebe der Tiere aus dem Tränkeversuch	94
Abbildung 18: Gehalte von PFOA und PFOS im Muskelgewebe der Tiere aus dem Fütterungsversuch	95
Abbildung 19: Gehalte von PFOA und PFOS im Muskelgewebe der Tiere aus dem Tränkeversuch	95
Abbildung 20: Konzentration von PFOA beziehungsweise PFOS im Lebergewebe der Tiere aus dem Fütterungs- und Tränkeversuch im Vergleich, aufgetragen gegen die durchschnittliche tägliche Aufnahme.....	97
Abbildung 21: Konzentration von PFOA beziehungsweise PFOS im Muskelgewebe der Tiere aus dem Fütterungs- und Tränkeversuch im Vergleich, aufgetragen gegen die durchschnittliche tägliche Aufnahme.....	97
Abbildung 22: Verteilung der mittleren gemessenen Konzentrationen von PFOA auf die drei untersuchten Gewebe (Fütterungsversuch).....	99
Abbildung 23: Verteilung der mittleren gemessenen Konzentrationen von PFOA auf die drei untersuchten Gewebe (Tränkeversuch)	99
Abbildung 24: Verteilung der mittleren gemessenen Konzentrationen von PFOS auf die drei untersuchten Gewebe (Fütterungsversuch).....	100
Abbildung 25: Verteilung der mittleren gemessenen Konzentrationen von PFOS auf die drei untersuchten Gewebe (Tränkeversuch)	100

9.3 Danksagung

Frau Prof. Dr. Ellen Kienzle danke ich für die Überlassung des Themas und Ihren fachlichen Rat. Ohne ihr Engagement und ihre Unterstützung wäre die rasche Durchführung der Promotion nicht möglich gewesen.

Dem Staatsministerium für Umwelt und Gesundheit danke ich für die Bereitstellung von finanziellen Mitteln für dieses Kooperationsprojekt.

Dank gilt auch Herrn Dr. Andreas Zapf für die Zusammenarbeit und die Möglichkeit, Einrichtungen des Bayerischen Landesamtes für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit zu nutzen.

Mein besonderer Dank gebührt Herrn Dr. Ulrich Wehr und Frau Dr. Sylvia von Rosenberg, auf deren fachliche und moralische Unterstützung und umfassende Betreuung ich mich zu jedem Zeitpunkt verlassen konnte. Ihr Rat und ihre Denkanstöße waren eine unschätzbare Hilfe bei der Erstellung dieser Arbeit.

Herrn Prof. Dr. Rüdiger Korbel und dem Team der Klinik für Vögel der Ludwig-Maximilians-Universität München danke ich für die unkomplizierte Zusammenarbeit und die fachliche Beratung, sowie die Möglichkeit, Einrichtungen der Klinik für Vögel zu nutzen.

Den Mitarbeitern des Lehrstuhls für Tierernährung und Diätetik, Außenstelle Oberwiesenfeld und insbesondere Herrn Steffen Mitschke, danke ich für die engagierte Unterstützung bei der Durchführung der Versuche und die stets freundschaftliche und fruchtbare Zusammenarbeit.

Frau Katharina Schneider danke ich ganz herzlich für ihre unermüdliche Unterstützung bei der Bewältigung der Datenflut.

Nicht zuletzt möchte ich meiner Familie für ihr Vertrauen und ihre Unterstützung in jeder Hinsicht und speziell meiner Cousine Anna für ihren heroischen Kampf für Rechtschreibung und Grammatik von Herzen danken.