

Projectnr.: 71.927.01
Overdrachtsstudie van contaminanten in landbouwhuisdieren

Projectleider: W.A. Traag

Rapport 2005.013

december 2005

Opname van Nicotine door kippen en overdracht naar eieren bij toepassing van Nicotine tegen bloedluis

W.A. Traag, T.C. de Rijk, P. Zomer, A. Vos van Avezathe, K. Kan (ASG), M. Zeilmaker (RIVM),
L.A.P. Hoogenboom

Business Unit: Analyse & Ontwikkeling
Cluster: Bestrijdingsmiddelen en Contaminanten

RIKILT - Instituut voor Voedselveiligheid
Bornsesteeg 45, 6708 PD Wageningen
Postbus 230, 6700 AE Wageningen
Tel: 0317-475422
Fax: 0317-417717
Internet: www.rikilt.wur.nl

Copyright 2005, RIKILT - Instituut voor Voedselveiligheid.

Het is de opdrachtgever toegestaan dit rapport integraal openbaar te maken en ter inzage te geven aan derden. Zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van RIKILT - Instituut voor Voedselveiligheid is het niet toegestaan:

- a) dit door RIKILT - Instituut voor Voedselveiligheid uitgebracht rapport gedeeltelijk te publiceren of op andere wijze gedeeltelijk openbaar te maken;*
- b) dit door RIKILT - Instituut voor Voedselveiligheid uitgebracht rapport, c.q. de naam van het rapport of RIKILT - Instituut voor Voedselveiligheid, geheel of gedeeltelijk te doen gebruiken ten behoeve van het instellen van claims, voor het voeren van gerechtelijke procedures, voor reclame of antireclame en ten behoeve van werving in meer algemene zin;*
- c) de naam van RIKILT - Instituut voor Voedselveiligheid te gebruiken in andere zin dan als auteur van dit rapport.*

VERZENDLIJST

EXTERN:

Voedsel en Waren Autoriteit (Dr. M. Mengelers)

Ministerie van Landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit, Directie VD (Dr. R. Theelen)

INHOUDSOPGAVE	blz
SAMENVATTING	3
1 INLEIDING	5
2 MATERIAAL EN METHODE	6
2.1 Dierproef	6
2.2 Analysemethode	6
3 RESULTATEN	8
3.1 Eieren	8
3.2 Resultaat vlees, lever, vet en serum	9
3.3 Voer	11
4 DISCUSSIE	12
4.1 Chemische analyse	12
4.2 Kinetiek	12
5 CONCLUSIES	13

BIJLAGEN

BIJLAGE 1: Projectvoorstel

BIJLAGE 2: Analysemethode

BIJLAGE 3: Compleet overzicht resultaten

SAMENVATTING

Uit onderzoek van de AID blijkt nicotine gebruikt te worden voor de bestrijding van bloedluis bij kippen. Dit levert mogelijk gezondheidsrisico's op voor de consument van het kippenvlees of de eieren. Omdat niet duidelijk is of het nicotine na de bestrijding van bloedluis in het vlees of eieren achterblijft is, in opdracht van LNV/VD, een verkennende overdrachtstudie gedaan om na te gaan in hoeverre nicotine en twee bekende metabolieten, cotinine en 3-hydroxycotinine, worden overgedragen naar eieren, organen en weefsels van de kip. Uit deze studie kan geconcludeerd worden dat het nicotine niet kan worden aangetoond in eieren na vernevelen van nicotine in de kippenstal, dit in tegenstelling tot de twee metabolieten, die zelfs na twee weken nog aanwezig waren. In serum en vet van kip werd een hoeveelheid nicotine wel lang aangetoond, maar gezien de resultaten in kippen, die als controle dienden (dag -1) kan een achtergrondbesmetting of kruisbesmetting tijdens de analyse niet worden uitgesloten. De twee onderzochte metabolieten werden in alle onderzochte matrices, bemonsterd één dag na de toepassing, aangetoond. Na dag 1 namen de gehalten ook weer zeer snel af maar kwamen binnen de gevolgde periode van 13 dagen niet helemaal meer op de beginwaarde terug. De conclusie is dat nicotine niet of slecht wordt overgedragen naar eieren en dus geen goede marker is voor het illegale gebruik, dit in tegenstelling tot de metabolieten van nicotine, cotinine en 3-hydroxy-cotinine. De beoordeling van mogelijke gezondheidsrisico's voor consumenten van kippenvlees en eieren zou zich dus met name moeten richten op deze twee metabolieten.

1 INLEIDING

In het voorjaar van 2005 is door de AID een actie uitgevoerd in de pluimveesector waarbij jerrycans met een donkerbruine vloeistof in beslag genomen zijn. Uit metingen door het RIKILT is gebleken dat er in de sector bij de bestrijding van bloedluis onder andere gebruik gemaakt wordt van het illegale/niet toegelaten bestrijdingsmiddel nicotine. Nicotine is een acuut toxische stof en het toepassen van nicotine zal in de eerste plaats een gevaar opleveren voor diegene die het middel toepast. Daarnaast zou er een gevaar voor de consument kunnen bestaan wanneer er na toepassen residuen achterblijven in het kippenvlees en/of de eieren.

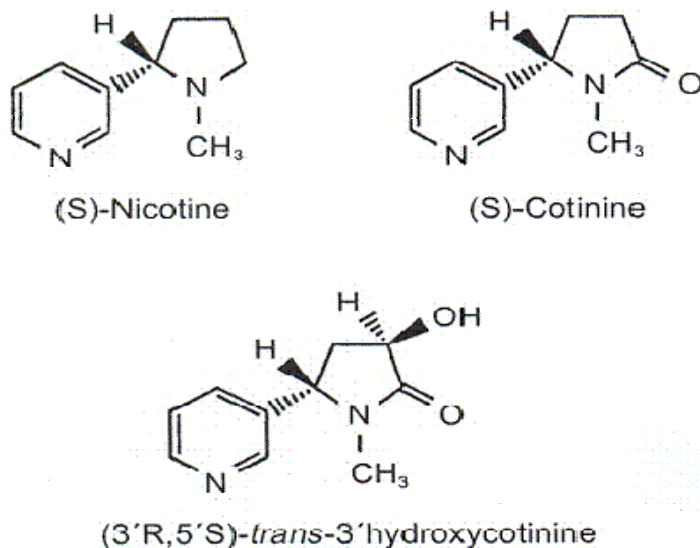
Voor wat betreft de opname door de kip en overdracht naar eieren was er beperkte informatie beschikbaar. In 1996 is in Duitsland onderzoek gedaan naar nicotine in eieren nadat men geconstateerd had dat dit bij de bestrijding van bloedluis gebruikt was. Daarbij zouden gehalten zijn gevonden variërend van 10 tot 300 µg/kg (bron: RIVM-RIKILT front office voedselveiligheid).

Daarom werd in opdracht van LNV/VD besloten om een "pilotstudy" uit te voeren waarbij een aantal leghennen blootgesteld werden aan nicotine onder "normale" gebruiksomstandigheden. Het onderzoek richt zich enkel op de vraag welke of er opname cq overdracht is en zo ja, in welke orde van grootte.

Het doel van het onderzoek is de hier onderstaande vragen te beantwoorden.

- Is er sprake van opname door de kip?
- Zo ja, welke niveaus worden in ei aangetroffen en hoe is het verloop in de tijd?
- Vindt er na opname overdracht plaats naar het ei?
- Zo ja, welke niveaus worden aangetroffen in ei en hoe is het verloop in de tijd?
- Worden er metabolieten (zie figuur 1) gevormd en zo ja welke?
- Kan nicotine of één van de metabolieten dienen als marker voor het aantonen van illegaal gebruik?

N. L. Benowitz & P. Jacob, III



Figuur 1: Nicotine en twee belangrijke metabolieten

2 MATERIAAL EN METHODE

2.1 Dierproef

Het onderzoek werd uitgevoerd met één koppel kippen ($n = 8$). Daar het hier louter een oriënterende proef betrof werd er geen blanco groep meegenomen. De ruimte werd behandeld conform de “standaard toepassing”; d.w.z. dat de illegaal toegepaste praktijk zo goed mogelijk werd nagebootst. De ruimte werd behandeld door via een vernevelaar een oplossing van nicotine in water te vernevelen. Zowel de dieren, de kooien als het aanwezige voer werden dus blootgesteld. Verneveld werd een waterige oplossing van nicotine met een concentratie van circa 1% en wel 75 ml per m^3 . Er werd daarbij gebruik gemaakt van door de AID aangeleverde preparaten. Uitgaande van een bij ASG beschikbare stal van circa $100 m^3$ werd 175 ml van een circa 45% oplossing verdund met 6 liter water. Deze hoeveelheid werd in z'n geheel in de stal verneveld door middel van een op afstand te bedienen vernevelsysteem "atomist".

Voordat de behandeling plaats vond (dag -1) werden eieren verzameld. Voorafgaande aan de behandeling werd één kip geslacht. Van deze kip werden serum, buikvet, borstvlies, lever, veren en huid verzameld. Op dag 0 werd de toepassing in de stal uitgevoerd en één dag na deze toepassing werd wederom één kip geslacht en bemonsterd (serum, vet, vlees, lever, veren en huid). Vervolgens werden vanaf dag 1 gedurende 2 weken dagelijks eieren verzameld. Na één week werd nogmaals één kip geslacht en bemonsterd. Na twee weken werden de resterende kippen geslacht en bemonsterd. Monsters werden na twee weken (eerste fase) naar het RIKILT verzonden en onderzocht. Om elke vorm van kruisbesmetting zoveel mogelijk te voorkomen werd de voor de behandeling benodigde oplossing van nicotine bij ASG afgeleverd nadat de monsters van dag -1 verzameld waren. Bovendien werd de gehele studie uitgevoerd door niet rokers (zowel bij ASG als bij RIKILT).

2.2 Analysemethode

Door RIKILT is een methode ontwikkeld waarbij na extractie met dichloormethaan (gemodificeerd met triethylamine) opzuivering plaats vindt met behulp van GPC. Vervolgens wordt het opgezuiverde extract geconcentreerd en geanalyseerd met behulp van GC-TOF-MS. Om een voldoende lage detectiegrens te halen (gestreefd is naar 10-25 ppb) is uitgegaan van 10-25 gram heel ei of vlees. De monsters zijn direct na aankomst op het RIKILT in bewerking genomen. Naast nicotine zijn ook de metabolieten 3-OH-Cotinine en Cotinine gekwantificeerd

Eieren

Van alle eieren welke gelegd zijn op dag -1, 0, 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 is per dag één mengmonster gemaakt. De overige eieren zijn in zijn geheel in de koeling bewaard. Van de aldus bereide mengmonsters is 12 gram in bewerking genomen volgens bijlage 2. Daarnaast zijn de eieren van dag 4 individueel met dezelfde methode onderzocht. De eieren van dag 2 zijn gesplitst in eigeel en eiwitfracties en beide fracties zijn apart onderzocht.

Dieren

Op dag 0 (vóór de toepassing), 1 en 7 is telkens één dier geslacht. De overige dieren werden op dag 13 geslacht en bemonsterd. Van ieder dier is het vlees, het bloed (serum), de lever en het vet onderzocht.

Vet

Van de monsters vet is 1,2 gram in bewerking genomen conform de in bijlage 2 beschreven methode.

Vlees

Van de monsters vlees is 12 gram in bewerking genomen conform de in bijlage 2 beschreven methode.

Lever

Van de monsters lever is 12 gram in bewerking genomen conform de in bijlage 2 beschreven methode.

Serum

Van de monsters serum is 2 gram in bewerking genomen conform de in bijlage 2 beschreven methode met onderstaande aanpassingen

- Spiken met nicotine D3 en cotinine D3 (60 µl met een concentratie van 10 µg/ml)
- Extractie gedurende 30 minuten met 4 ml iso-propanol en 10 ml dichloormethaan (0,01 % triethylamine)
- De dichloormethaanfase is ingedampt tot circa 0,5 ml. De in bijlage 2 beschreven methode is vervolgens gevolgd vanaf punt 4

Voer

12 gram voer is in bewerking genomen en volgens de in bijlage 2 beschreven methode geanalyseerd.

3 RESULTATEN

Het experiment is gestart op 14 april 2005. Dag 0 is de dag van het toepassen van de Nicotine. De monsters gecodeerd met dag 0 zijn genomen vlak voor het toepassen van nicotine. Hieronder zijn de resultaten van de metingen in eieren en een aantal weefsels en organen weergegeven. Zie voor een overzicht van alle resultaten bijlage 3

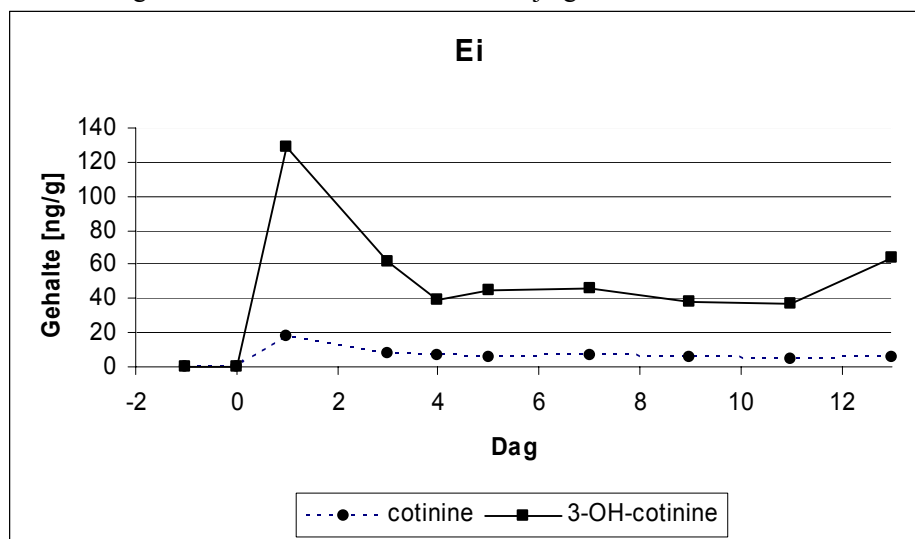
3.1 Eieren

De resultaten van het onderzoek in de mengmonsters ei zijn gegeven in Tabel 1. Nicotine werd niet aangetroffen in de eieren, dit in tegenstelling tot de twee metaboliëten. In Figuur 2 zijn de resultaten voor cotinine en 3-OH-cotinine grafische weergegeven.

Tabel 1: Resultaten mengmonsters ei.

Dag	Nicotine ng/g	Cotinine ng/g	3-OH-Cotinine ng/g
-1	< 25	< 2.5	< 5.0
0	< 25	< 2.5	< 5.0
1	< 25	17.7	129.2
3	< 25	7.4	61.4
4 *	<25*	7.0*	39.2*
5	< 25	5.8	45.0
7	< 25	6.8	46.1
9	< 25	5.6	37.7
11	< 25	4.0	37.0
13	< 25	6.0	63.7

* Dit is een gemiddelde waarde van 6 afzonderlijk gemeten eieren



Figuur 2: Gehalten cotinine en 3-OH-cotinine in mengmonsters ei

Naast het onderzoek op een aantal van te voren vastgestelde dagen in mengmonsters ei zijn de monsters van dag 4 individueel onderzocht, het betrof zes eieren. In Tabel 2 staan de resultaten van dit onderzoek vermeld.

Tabel 2: Resultaten in zes losse eieren bemonsterd op dag 4

	Gemiddeld gehalte ng/g	Std Dev ng/g
Nicotine	<25	-
Cotinine	7.0	3.0
3-OH-Cotinine	39.2	23.9

Naast de vraag of nicotine of de eventuele gevormde metabolieten in eieren na behandeling aanwezig zijn, speelt de vraag in welke fractie van het ei deze stoffen zich bevinden. Om dit na te gaan zijn de eieren van dag 2 gesplitst en zijn de eigeel- en de eiwitfracties separaat onderzocht. Zoals uit Tabel 3 blijkt werden beide metabolieten in zowel eigeel als eiwit aangetroffen, maar cotinine lijkt met name in het eiwit voor te komen.

Tabel 3: Analyse van eigeel en eiwit afzonderlijk dag 2

	Nicotine ng/g	Cotinine ng/g	3-OH-Cotinine ng/g
Eiwit	*	31.8	67.2
Eigeel	*	11.0	46.8

* door problemen met de analyse geen resultaten voor nicotine

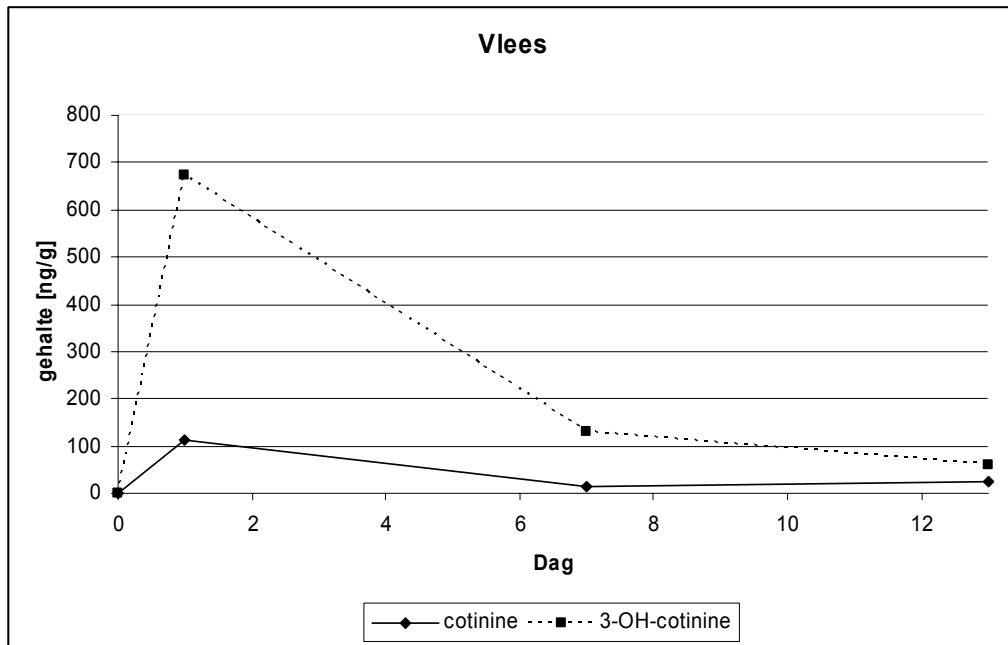
3.2 Resultaat vlees, lever, vet en serum

Van de kippen die op vooraf vastgestelde dagen geslacht zijn, is onderzoek uitgevoerd in vlees, lever, serum en vet. De resultaten zijn in Tabel 4 en de figuren 3 t/m 6 samengevat.

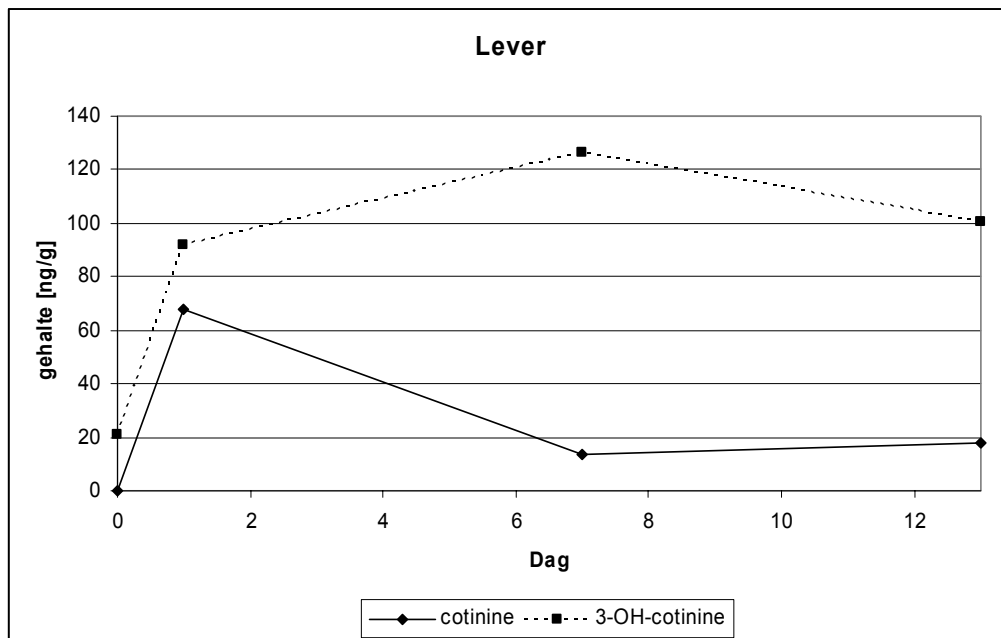
Tabel 4: Resultaten verschillende matrices uit de kippen.

Matrix	Dag	Nicotine ng/g	Cotinine ng/g	3-OH-Cotinine ng/g
Vlees [Borst]	0	< 25	< 5	< 15
	1	< 25	114	672
	7	< 25	14.3	129
	13	< 25	24.8	61.4
Lever	0	*	*	21.0
	1	*	67.6	91.6
	7	*	13.4	126.3
	13	*	18.0	100.4
Serum	0	7.6	6.4	<150
	1	3.7	137.2	<150
	7	11.7	12.3	<150
	13	8.2	48.0	<150
Vet	0	45.9	10.5	<150
	1	61.7	12.0	<150
	7	68.3	8.1	<150
	13	78.5	12.4	<150

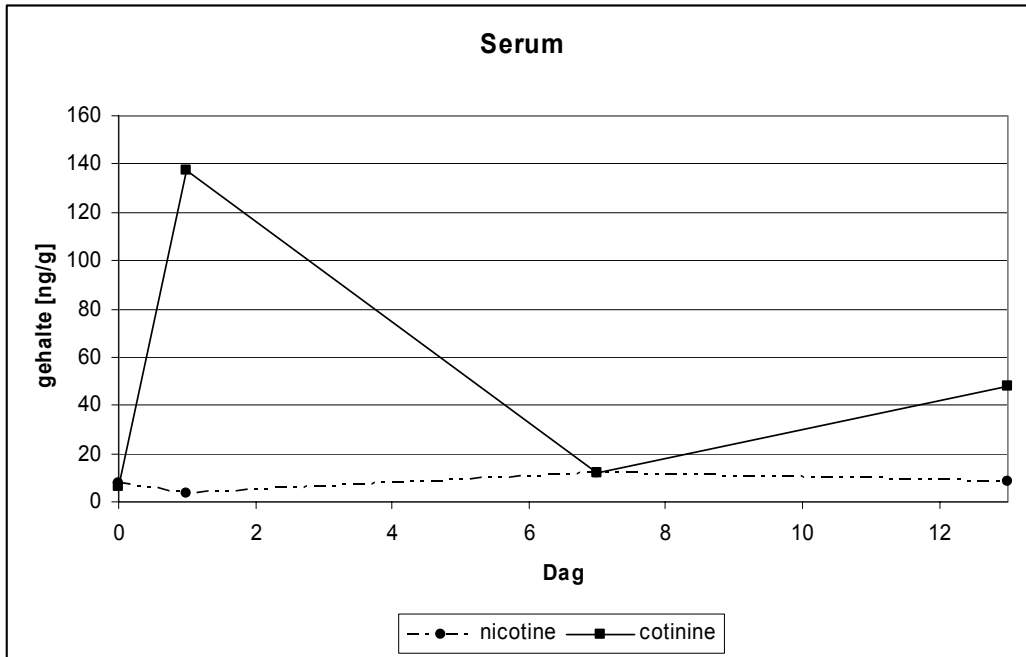
* Zowel gelabeld als natief nicotine niet teruggevonden, mogelijk veroorzaakt door hoge vetgehalte van lever waardoor de chromatografie verstoord werd.



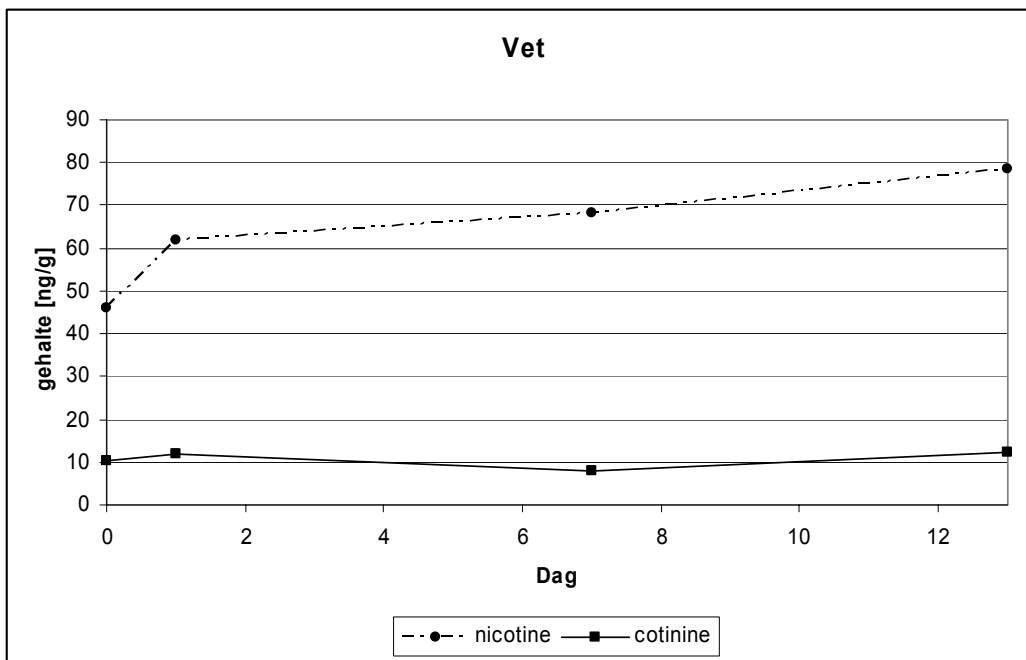
Figuur 3: Gehalten cotinine en 3-OH-cotinine in vlees.



Figuur 4: Gehalten cotinine en 3-OH-cotinine in lever.



Figuur 5: Gehalten nicotine en cotinine in serum.



Figuur 6: Gehalten nicotine en cotinine in vet.

3.3 Voer

De methode voor dierlijk materiaal bleek niet te werken voor diervoeder, dit wordt mogelijk veroorzaakt door de aanwezigheid van storende componenten. Het toepasbaar maken van de methode voor diervoeder lijkt binnen het kader van deze studie niet relevant.

4 DISCUSSIE

4.1 Chemische analyse

Uit deze pilotstudie blijkt dat in geen van de onderzochte monsters ei nicotine aangetoond kon worden. Opgemerkt moet worden dat de detectiegrens voor nicotine relatief hoog is, namelijk 25 ppb versus 2,5 ppb voor cotinine en 5 ppb voor 3-OH cotinine. Deze hogere detectiegrens wordt veroorzaakt door een globale achtergrondbesmetting. Op beperkte schaal is onderzoek naar deze achtergrondbesmetting uitgevoerd. De conclusie hiervan is dat de hoge detectiegrens slechts gedeeltelijk veroorzaakt wordt door een laboratoriumbesmetting en dat een variabele besmetting van de monsters niet uitgesloten is hetgeen ook aan deze hoge detectiegrens bijdraagt. Uit de blanco bleek dat de laboratoriumbesmetting in de orde van grootte van 5 tot 10 ppb lag.

Voor de metabolieten speelde dit probleem niet. Aangezien op dag 1 er een gehalte aan 3-OH-Cotinine werd gemeten van circa 130 ppb moeten de kippen toch een redelijke hoeveelheid aan nicotine opgenomen en vervolgens omgezet hebben. Uit het onderzoek in individuele eieren van dag 4 met een range van 14,6 tot 76,2 ppb voor 3-OH-cotinine, blijkt dat de variabiliteit binnen de groep redelijk groot is. Dit kan veroorzaakt zijn door individuele verschillen in zowel de opname als het metabolisme.

4.2 Kinetiek

Opvallend is de snelle afname van het gehalte aan de gevormde metabolieten, maar aan de andere kant het feit dat beide metabolieten na twee weken nog steeds goed aantoonbaar zijn. Dit kan veroorzaakt worden door opslag in bepaalde weefsels, maar daarnaast moet opgemerkt worden dat er ook na dag 0 nog sprake kan zijn van blootstelling door besmetting van de omgeving.

Uit het onderzoek uitgevoerd in zowel het eigeel als in het eiwit blijkt dat het eiwit absoluut gezien circa zesmaal zoveel cotinine en 3OH-cotinine bevat als het eigeel, ervan uitgaand dat een gemiddeld ei bestaat uit circa 40 gram eiwit en 20 gram eigeel.

Het onderzoek in vlees geeft globaal hetzelfde beeld als de eieren met wederom geen nicotine maar wel de twee metabolieten. Gehalten aan beiden metabolieten is circa vijfmaal hoger dan in de eieren. Ook hier geldt een zeer snelle afname

Het onderzoek in serum, vet en lever verliep analytisch nogal problematisch. Problemen worden veroorzaakt door een hoge blanco bijdrage (zie dag 0) en doordat de toegepaste methode niet geschikt is om deze vetrijke producten goed kwantitatief te analyseren. Wel wordt met name in serum voor cotinine hetzelfde beeld aangetroffen als voor eieren. In lever lijkt het alsof zowel cotinine als 3-OH-cotinine langer op hoge niveaus aanwezig blijven dan in andere matrices.

5 CONCLUSIES

- In geen van de onderzochte matrices kon nicotine aangetoond worden.
- In alle matrices konden de beide onderzochte metabolieten, te weten cotinine en 3-OH-Cotinine aangetoond worden.
- In eieren worden de hoogste waarden op de eerste dag na toepassing gevonden.
- Eliminatie van de onderzochte metabolieten verloopt zeer snel.
- Uit het uitgevoerde onderzoek kan geconcludeerd worden dat nicotine slecht wordt overgedragen naar eieren en dus geen goede marker is voor het illegale gebruik, dit in tegenstelling tot cotinine en 3-hydroxy-cotinine.

BIJLAGE 1: Projectvoorstel

Te onderzoeken monsters

Na afloop van de tweede week (eerste fase) worden de monsters door het RIKILT kwantitatief onderzocht op de aanwezigheid van nicotine en de, bij de mens belangrijkste metabooliet cotinine. De eventuele aanwezigheid van andere mogelijk aanwezige metaboolieten wordt kwalitatief onderzocht. Het betreft de volgende monsters:

Vlees, serum, buikvet en lever van kip dag -1

Eieren dag -1 (mengmonster)

Vlees, serum, buikvet en lever van kip dag 0

Eieren dag 1 (mengmonster)

Eieren dag 3 (mengmonster)

Eieren dag 5 (mengmonster)

Eieren dag 7 (mengmonster)

Vlees, buikvet en lever van kip dag 7

Eieren dag 9 (mengmonster)

Eieren dag 11 (mengmonster)

Eieren dag 14 (mengmonster)

Vlees, serum en buikvet en lever van resterende kippen dag 14 (eerste instantie in één dier de metingen uitvoeren)

Overige monsters bewaren en afhankelijk van resultaten van de eerste fase eventueel aanvullend onderzoek uitvoeren. Totaal in eerste fase te onderzoeken monsters is 20. Deze monsters worden in één serie onderzocht. Afhankelijk van het resultaat van de eerste fase kunnen eventueel monsters van tussenliggende dagen gemeten worden, dit ter beantwoording van de volgende twee vragen

Wat is de spreiding binnen de groep

Bevindt nicotine of metabooliet(en) zich in het eigeel of in het eiwit

Werkschema nicotine proef RIKILT 221.13780

Proefopzet

Leghennen (8) nu gehuisvest in SE overbrengen naar Pluimveestal. Huisvesting (individueel) in batterij wagens in stal 160 afdeling 13

Alle dagen eieren per dier per dag verzamelen en koel bewaren

Ruimte (ca 100 m³) behandelen met 175 ml nicotine oplossing in 6 l water via atomizer (aanzetten via ontsmettingsstopcontact)

Duur ca 15 minuten

Dan normale ventilatie hervatten (1000 m³/uur)

Op dag -1, +1, +7 één dier bemonsteren en op dag +14 resterende dieren

Monstername

Eieren per dier per dag beschrijven

Dieren: hartpunctie (voor serum), elektrocutie en verzamelen van veren (zoveel mogelijk), huid (borst zijde) borstvlees, buikvet en lever per dier apart verzamelen.

Serum bereiden en per dier in een buisje overbrengen.

Alle monsters labelen met opgave projectnummer, monstertype, behandelingsdag en datum

Invriezen van alle diermonsters op -20°C en transport naar RIKILT.

Beschrijving van verloop proef en lijsten met verzamelde monsters beschikbaar stellen van RIKILT.

Tijdschema

Datum	Dag nr	Werkzaamheden	Bijzonderheden
11 april	-3	Dieren overbrengen naar 160/13.	Start proef
13 april	-1	Bemonsteren 1 dier (blanco; dag -1)	
14 april	0	Ca 15.00 toepassing nicotine 175 ml in 6 l water via atomizer duur ca 15 minuten, Daarna normale ventilatie (1000 m ³ /uur)	Na toepassing niet meer in ruimte komen
15 april	1	Bemonsteren 1 dier (dag +1)	
21 april	7	Bemonsteren 1 dier (dag +7)	
28 april	14	Bemonsteren resterende dieren (dag + 14)	Einde proef

Veiligheidseisen

Door ASG wordt een op afstand te bedienen systeem gebruikt voor het vernevelen. De te gebruiken oplossing dient in een zuurkast bereid te worden waarbij de dienstdoende medewerker de gebruikelijke beschermende maatregelen neemt.

BIJLAGE 2: Analysemethode

Opwerking:

1. Weeg monster af in plastic bakje
2. Voeg 60 µl spike oplossing (Nicotine-D3 en Cotinine-D3 10 µg/ml) toe
3. Voeg ongeveer 30 g natriumsulfaat toe
4. Meng natriumsulfaat en monster totdat er een droog mengsel ontstaat
5. Breng mengsel over in 250 ml glazen fles
6. Voeg 150 ml DCM met 0,01 % triethylamine toe
7. Schud gedurende 1 uur head-over-head
8. Filtreer het extract over een trechter met glaswol en natriumsulfaat
9. Damp het filtraat in op Turbovap tot 1-2 ml (40°C; 0,5 bar N₂)
10. Vul het extract aan met ethylacetaat:cyclohexaan 1:1 tot 15 ml
11. Injecteer 12,5 ml op GPC systeem, uitvangwindow pesticiden
12. Damp eluaat in op Turbovap (40°C; 0,5 bar N₂) tot < 1ml
13. Voeg 50 µl PCB 198 opl. (10 µg/ml) toe
14. Breng volume op 1,0 ml met ethylacetaat:cyclohexaan 1:1
15. Injecteer µl op GC-MS systeem

GC-MS Analyse:

- GC-Kolom: Restek CLPesticides (30mm x 0,25mm ID;0,25 µm FD)
- Flow: 1,3 ml/min Helium (Constant Flow)
- Temperatuur programma oven: (50° 2 min; 10°/min naar 200°; 8°/min 290; 13 minuten)

BIJLAGE 3: Compleet overzicht resultaten

Tabel A: Resultaten mengmonsters eieren

Rikilt no.	Datum	Dag	Product	Nicotine ng/g	Cotinine ng/g	3-OH- Cotinine ng/g	Aantal eieren in bewerking
146133	13-4-2005	-1	meng ei	< 25	< 2,5	< 5,0	6
146134	14-4-2005	0	meng ei	< 25	< 2,5	< 5,0	8
146135	15-4-2005	1	meng ei	< 25	17.7	129.2	7
146137	17-4-2005	3	meng ei	< 25	7.4	61.4	5
146139	19-4-2005	5	meng ei	< 25	5.8	45.0	6
146141	21-4-2005	7	meng ei	< 25	6.8	46.1	6
146143	23-4-2005	9	meng ei	< 25	5.6	37.7	5
146145	25-4-2005	11	meng ei	< 25	4.0	37.0	5
146147	27-4-2005	13	meng ei	< 25	6.0	63.7	5

Tabel B: Resultaten Eigeel/Eiwit Dag 2

Rikilt no.	Datum	Dag	Product	Nicotine ng/g	Cotinine ng/g	3-OH- Cotinine ng/g
146136	16-4-2005	2	eiwit	heranalyse	31.8	67.2
146136	16-4-2005	2	eigeel	heranalyse	11.9	46.8

Tabel C: Resultaten Individuele Eieren Dag 4

Rikilt no.	Datum	Dag	Product	Nicotine ng/g	Cotinine ng/g	3-OH- Cotinine ng/g
146138 ei 3	18-4-2005	4	Ei	<25	10.5	49.2
146138 ei 4	18-4-2005	4	Ei	<25	9.6	76.2
146138 ei 5	18-4-2005	4	Ei	<25	6.2	52.0
146138 ei 6	18-4-2005	4	Ei	<25	<2.5	14.6
146138 ei 7	18-4-2005	4	Ei	<25	5.0	21.5
146138 ei 8	18-4-2005	4	Ei	<25	3.6	21.8

Tabel D: Resultaten Vlees

Rikilt no.	Datum	Dag	Product	Nicotine ng/g	Cotinine ng/g	3-OH- Cotinine ng/g
146124	13-4-2005	0	dier 1	< 25	<5	<15
146125	14-4-2005	1	dier 2	< 25	114	672
146126	21-4-2005	7	dier 3	< 25	14.3	129.2
146131	27-4-2005	13	dier 8	< 25	24.8	61.4

Tabel E: Resultaten Lever

Rikilt no.	Datum	Dag	Product	Nicotine ng/g	Cotinine ng/g	3-OH- Cotinine ng/g
146124	13-4-2005	0	dier 1	*	*	21.0
146125	14-4-2005	1	dier 2	*	67.6	91.6
146126	21-4-2005	7	dier 3	*	13.4	126.3
146131	27-4-2005	13	dier 8	*	18	100.4

Tabel F: Resultaten Serum

Rikilt no.	Datum	Dag	Product	Nicotine ng/g	Cotinine ng/g	3-OH- Cotinine ng/g
146124	13-4-2005	0	dier 1	7.6	6.4	*
146125	14-4-2005	1	dier 2	3.7	137.2	*
146126	21-4-2005	7	dier 3	11.7	12.3	*
146131	27-4-2005	13	dier 8	8.2	48.0	*

Tabel G: Resultaten Vet

Rikilt no.	Datum	Dag	Product	Nicotine ng/g	Cotinine ng/g	3-OH- Cotinine ng/g
146124	13-4-2005	0	dier 1	45.9	10.5	*
146125	14-4-2005	1	dier 2	61.7	12.0	*
146126	21-4-2005	7	dier 3	68.3	8.1	*
146131	27-4-2005	13	dier 8	78.5	12.4	*