

2<sup>e</sup> Concept

Afdeling SERH                      Datum: 1983-07-18  
RAPPORT 83.5                      Pr.nr. 505.0620

Onderwerp: Vergelijkend onderzoek DES  
in 50 monsters urine, mei 1982.  
Werkgroep EVATH. Rapport 3

Verzendlijst: BCO (Schmidt), CIVO (Van den Berg, Ten Noever de Brauw),  
KUN (Benraad), RIKILT (Heuver, Buizer, Herstel, De Ruig,  
Tuinstra), RIV (Freudenthal, Ruitenbergh, Engel,  
Stephany, Vos, Schuller, Jansen), directie VKA, VD, VHI,  
VZ, RUU-VVDO (Ruiter), KvW Utrecht, KvW Groningen, KvW  
Nijmegen



Projekt: Ontwikkeling methoden voor het aantonen en bepalen van hormonen.

Onderwerp: Vergelijkend onderzoek DES in 50 monsters urine, mei 1982.

---

Op initiatief van de werkgroep EVATH is een ringonderzoek op DES uitgevoerd aan 50 monsters door 5 instituten, t.w. BCO, CIVO, KUN, RIKILT en RIV, met in totaal 5 verschillende methoden, nl.: radio-immunoassay met voorzuivering, radio immuno assay zonder voorzuivering, dunnelaagchromatografie, electrochemische detectie en gaschromatografiemassaspectrometrie.

Doel:

Een beter inzicht verkrijgen in:

- de mate van overeenstemming in resultaten van de verschillende instituten, vooral v.w.b. de GCMS als bevestigingstechniek
- de mate van betrouwbaarheid van en overeenstemming in de verschillende analysetechnieken.

Samenvatting:

De resultaten zijn vermeld in tabel 1 - 5.

Conclusies:

- Bij de RIA met voorzuivering, die door alle vijf instituten uitgevoerd is, is er een fraaie overeenstemming zowel binnen als tussen de instituten.
- Bij geen van de toegepaste technieken werden urines zonder stilbenen als "positief" aangemerkt: geen "vals positieve" resultaten.
- De conclusies uit de GCMS resultaten van BCO en RIKILT stemmen goed overeen, die van het RIV wijken door het hanteren van andere criteria nogal af. Hierover is nog nader overleg nodig.

- Voor de andere technieken kan ruwweg gesteld worden:
  - beneden 0,5 µg/l: geen detectie
  - 0,5 - 1 µg/l: "grijs gebied": soms wel, soms niet gedetecteerd
  - boven 1 µg/l: detectie mogelijk.Aangezien er vrijwel geen monsters boven 1,2 µg/l bij waren, geeft dit ringonderzoek geen informatie over hogere gehalten.
- Monsters waaraan dienestrol (DE) of hexestrol (HEX) toegevoegd waren (de laatste 6 resultaten in de tabellen) werden met RIA positief gevonden, overeenkomstig de verwachting. Met de HPLC-RIA van het RIV werd het monster met 5 ppb HEX negatief bevonden, in het monster met 20 ppb DE werd een geringe hoeveelheid als DES geregistreerd.
- Met geen van de andere technieken (DLC, LCEC, GCMS) werden de twee monsters die uitsluitend DE resp. HEX bevatten, positief op DES bevonden.
- De celite-RIA bepalingen zoals uitgevoerd door BCO en RIKILT geven op het 1 ppb niveau gelijke resultaten binnen de bekende spreiding van de methode.
- De resultaten van het GCMS onderzoek geven de indruk dat
  - boven 1 ppb overeenstemmende identificatie onder routineomstandigheden mogelijk is
  - beneden 0,3 ppb geen identificatie mogelijk is
  - tussen 0,3 en 1 ppb identificatie soms wel en soms niet haalbaar is
  - aanwezigheid van de DE of HEX geen aanleiding geeft tot valspositieve identificatie van DES.

Aangezien het GCMS onderzoek niet optimaal verlopen is, is een nader nauwkeurig beschreven onderzoek gewenst en inmiddels uitgevoerd, zie EVATH rapport 2.

Coordinator onderzoek: dr R.W. Stephany

Samensteller rapport : dr W.G. de Ruig

Verantwoordelijk voor de analyseresultaten

BCO : drs N.A. Schmidt  
CIVO RIA : dr H. van den Berg  
GCMS : ir M.C. ten Noever de Brauw  
KUN : prof. dr Th.J. Benraad  
RIKILT RIA, DLC, LCEC: dr W.G. de Ruig  
GCMS : ir L.G.M.Th. Tuinstra  
RIV : dr R.W. Stephany

Medewerkers

BCO :  
CIVO :  
KUN :  
RIKILT : M.C.J. Bergmans, H. Hooyerink, Th.H.G. Polman,  
T.B.D. van der Struijs, J.M. Weseman  
RIV :

INHOUD

Blz.

1. Inleiding	1
2. Uitvoering ringonderzoek	2
3. Resultaten	3
4. Bespreking van de afzonderlijke analysetechnieken	4
4.1 RIA met voorzuivering	4
4.2 RIA zonder voorzuivering	6
4.3 Dunnelaagchromatografie	6
4.4 LCEC	7
4.5 GCMS	7
5. Conclusie	9

## 1. Inleiding.

Op initiatief van de werkgroep EVATH is een ringonderzoek met 50 monsters urine uitgevoerd voor het aantonen en bepalen van DES, het zg. "Eerste EVATH ringonderzoek".

Aan dit onderzoek hebben de volgende instituten meegedaan met de daarbij vermelde onderzoekstechnieken:

BCO : Celite-RIA, GCMS  
CIVO-TNO : Celite-RIA, GCMS  
KUN : Papierchromatografie-RIA  
RIKILT : Celite-RIA, RIA direct, DLC, LCEC, GCMS  
RIV : HPLC-RIA, RIA direct, DLC, GCMS.

Het doel van het ringonderzoek in het algemeen is, een beter inzicht te verkrijgen in

- de mate van overeenstemming in analyseresultaten van de verschillende instituten
- de mate van betrouwbaarheid van een overeenstemming in de verschillende bovengenoemde analysetechnieken.

Voor de ambtelijke controle op het gebruik van DES zijn van belang de resultaten van de in Nederland inzake DES gebruik bij de keuring, herkeuring en contra-expertise betrokken instituten, te weten het RIV, het RIKILT en het CIVO-TNO. Concreet omvat dit de volgende analysemethoden:

BCO : Celite-RIA  
CIVO-TNO : GCMS  
RIKILT : Celite-RIA, GCMS  
RIV : HPLC-RIA, GCMS.

Er dienden uit dit ringonderzoek antwoorden te worden verkregen op de volgende vragen:

1. Leveren de celite-RIA bepalingen zoals uitgevoerd door het RIKILT en de BCO gelijke resultaten binnen de bekende spreiding van de methode op het beslissingsniveau van 1 ppb?
2. Tot welk "stilbeen" gehalte zoals bepaald via de celite-RIA (en berekend als DES-equivalent) is het mogelijk met HPLC-GCMS via RIA aangetoonde "DES" te identificeren onder routine omstandigheden?

3. Is het CIVO-TNO met de HPLC-GCMS (RIV, II) methode in staat gelijkwaardige kwalitatieve resultaten te verkrijgen als het RIV?  
Dit geldt voor het aspect van "fout positieve" resultaten, maar in het bijzonder ook voor "fout negatieve" resultaten.
4. Zijn beide principieel verschillende HPLC-GCMS methodieken, - multi-ion detectie versus single-ion detectie plus exacte massameting -, zoals toegepast door het RIKILT enerzijds en het RIV en het CIVO-TNO anderzijds, in de praktijk in verschillende mate gevoelig voor interferentie door storende urinecomponenten waaronder dieneestrol en hexestrol, hetgeen kan leiden tot "fout negatieve" resultaten?

## 2. Uitvoering ringonderzoek.

Het ringonderzoek is uitgevoerd aan 50 representatieve monsters runderurine. Deze zijn door het RIV bereid, en wel op de volgende wijze:

1. Uit een honderdtal monsters urine afkomstig van runderen van proefboerderijen en vergelijkbare instellingen werden 50 mengmonsters DES-vrije "nulurine" samengesteld. Deze monsters vertoonden in de celite-RIA (BCO) géén "stilbeen"-responsie.
2. De mengmonsters werden tendele verrijkt met een berekende hoeveelheid urinair DES bevattende stiere-urine afkomstig uit de RIV-IVVO "stiere-proef", zodanig, dat de 50 mengmonsters een gehalte aan urinair DES zouden vertonen tussen 0 en 5 µg/l (ppb), zoals bepaalbaar via de celite-RIA (BCO).
3. Een aantal van de mengmonsters werd ook verrijkt met standaard (α-) dieneestrol (DE) en/of (meso-)hexestrol (HEX).
4. Voor het onderzoek werden per techniek series van 50 monsters separaat verpakt. Het monstervolume bedroeg voor RIA met voorzuivering: 5 ml, RIA zonder voorzuivering: 5 ml, DLC: 50 ml, LC-EC: 25 ml en GCMS: 30 ml.
5. Alle monsters werden per serie "ad random" gecodeerd en aan de onderzoekers tegen ontvangstbewijs ter beschikking gesteld.

De voorschriften voor het uitvoeren van de RIA bepaling, volgens brief RIV nr. U 1431/82 Endo Ja/cq van 1982-05-21 luiden (voor de andere technieken golden overeenkomstige instructies):



"De te verwachten gehalten aan DES liggen tussen 0-4 µg DES per liter urine". Het DES gehalte dient voor alle 50 monsters volgens eenzelfde procedure bepaald te worden via onafhankelijke duplo's. Indien de monsters niet direct in bereiding genomen kunnen worden, dienen zij bij +4°C bewaard te worden. De resultaten van het onderzoek dienen uiterlijk 3 weken na ontvangst schriftelijk gerapporteerd te worden aan het RIV. Van elk monster dienen de individuele duplogehalten en het gemiddelde gehalte gerapporteerd te worden. De gehalten dienen voor opwerkingsverliezen gecorrigeerd te zijn! Eveneens dienen de waarden van het terugwinningspercentage gerapporteerd te worden."

Aan 6 van de 50 monsters was dienestrol of hexestrol toegevoegd - de deelnemers waren hier niet van op de hoogte - en wel als volgt:

monster nr. 2	20 µg/1 DE	+	0,0 µg/1 DES
monster nr. 6	20 µg/1 DE	+	0,4 µg/1 DES
monster nr. 45	20 µg/1 DE	+	1,3 µg/1 DES
monster nr. 16	5 µg/1 HEX	+	0,0 µg/1 DES
monster nr. 37	5 µg/1 HEX	+	0,8 µg/1 DES
monster nr. 43	5 µg/1 HEX	+	1,1 µg/1 DES

### 3. Resultaten.

De resultaten zijn weergegeven in de tabellen 1 t/m 5.

Tabel 1 RIA met chromatografische voorzuivering.

Tabel 2 RIA zonder voorzuivering.

Tabel 3 DLC.

Tabel 4 LCEC.

Tabel 5 GCMS.

Hierbij is het gemiddelde van de uitslagen van de RIA met voorzuivering (tabel 1) van de vijf instituten als een soort referentie aangehouden (zonder hiermee te suggereren dat deze waarden de beste benadering van de werkelijke gehalten vormen).

Deze gemiddelden zijn ook in de andere tabellen mede vermeld.

In alle tabellen zijn de uitslagen gerangschikt naar opklimmend gehalte van deze gemiddelden.

Er is bovendien met stippellijnen een verdeling gemaakt in:

- monsters waaraan geen DES was toegevoegd
- monsters > 0 maar < 1 µg/l (gem. RIA met voorzuivering)
- monsters > 1 µg/l.

Volgens de opzet van deze ringtest zijn de monsters in duplo geanalyseerd (behalve met GCMS); de aldus verkregen uitkomsten zijn hier gerapporteerd. Dit is dus anders als bij normaal monsteronderzoek, waarbij men gewoonlijk analyseert tot twee "overeenstemmende duplo's" verkregen zijn.

#### 4. Bespreking van de afzonderlijke analysetechnieken.

##### 4.1 RIA met voorzuivering

Enige technische informatie over de proefomstandigheden bij de diverse laboratoria is verzameld in onderstaand staatje.

Instituut	BCO	CIVO	KUN	RIKILT	RIV
RIA methode	celite	chromosorb	papier	celite	HPLC
Antiserum	RIV	RIV	RU 254	RIV	RIV
Duplo's in intra of interassay	inter	intra	intra	inter	inter
Gemiddelde terugvinding	52,5	63,0	58,0	36,0	40,1
Standaardafwijking	3,9	4,0	6,7	5,2	4,0

Sommige instituten hebben hun resultaten opgegeven in een decimaal, andere in twee decimalen. In tabel 1 zijn alle resultaten overzichtelijkheidshalve afgerond op één decimaal.

De gevonden gehalten kloppen in het algemeen zeer redelijk, zowel tussen de duplowaarden van één instituut als voor de instituten onderling. In ander verband werd op het RIKILT voor de herhaalbaarheid van een enkelvoudige bepaling op 1 ppb niveau een variatiecoëfficiënt van 20% gevonden, m.a.w. "1 ppb" betekent een waarde die met 95% waarschijnlijkheid ligt tussen 0,6 en 1,4 ppb.

De 8 monsters die samengesteld zijn uit urines zonder stilbenen zijn door alle instituten negatief bevonden, m.a.w. er zijn geen vals positieve uitslagen bij. Van deze monsters werden zeer lage gehalten geregistreerd, die niet uitkomen boven de "ruis" van de bepaling. Fraai is ook dat deze 8 monsters bovenaan de ranglijst zijn gekomen bij de rangschikking volgens opklimmend gehalte. Dat wil zeggen monsters waarin "iets" DES aanwezig is, zijn inderdaad hoger gevonden dan de blanco urines. De "ruis" van de bepaling, d.w.z. de resultaten die gevonden liggen voor blanco urines liggen voor alle instituten bij 0,1 à 0,2 µg/l. Alle monsters die DES bevatten komen boven deze ruis uit.

Houden wij de grens van 1 ppb aan, dan werden de volgende aantallen "positieve" uitslagen gevonden:

	44 monsters <u>zonder DE of HEX</u>	3 monsters <u>met DE</u>	3 monsters <u>met HEX</u>
BCO	13	3	3
CIVO	14	3	3
KUN	4	1	0
RIKILT	10	3	2
RIV	8	1	1

Aangezien een serie monsters op één dag in één assay bepaald is, vormen de resultaten een momentopname, waaruit geen vergaande conclusies getrokken mogen worden.

Belangrijker dan de absolute gehalten is de teneur die uit dit onderzoek blijkt: blanco urines worden negatief gevonden, als DES aanwezig is, vinden alle instituten overeenkomstige toenames in gehaltenes.

Aangezien het bekend is dat DE en HEX een kruisreactie geven met de gebruikte DES-antilichamen is het in overeenstemming met de verwachting dat bij de uitslagen van BCO, CIVO, KUN en RIKILT monsters, waaraan DE of HEX was toegevoegd, aanwezigheid van DES geconstateerd wordt. De juiste opgave van het meetresultaat zou ook niet moeten luiden: "... µg/l DES", maar "... µg/l stilbenen, uitgedrukt in DES". Alleen bij een HPLC-RIA methode als van het RIV, waar tevoren DE en HEX van DES gescheiden worden, worden deze bij de detectie niet waargenomen (voor HEX) of vrijwel niet (voor DE).

Op de resultaten van RIA na voorzuivering is een lineaire regressie-analyse uitgevoerd. De resultaten zijn als volgt:

Lineaire regressie,

$$y = A + B x$$

	<u>BCO</u>	<u>CIVO</u>	<u>KUN</u>	<u>RIKILT</u>	<u>RIV</u>
Aantal waarnemingen	44	44	44	44	44
Asafsnede A	-0,012	0,113	0,157	-0,184	-0,062
Standaardafwijking A	0,023	0,025	0,027	-0,036	0,024
Helling B	1,268	1,028	0,513	1,224	0,960
Standaardafwijking B	0,026	0,028	0,031	0,040	0,263
Standaardafwijking y.x	0,100	0,107	0,117	0,152	0,100
Correlatiecoëfficiënt	0,991	0,985	0,933	0,979	0,985

De bijbehorende regressielijnen zijn opgenomen achter in dit rapport.

#### 4.2 RIA zonder voorzuivering

Deze methode is toegepast door RIV en RIKILT. De uitslagen van het RIV stemmen verrassend goed overeen met die van de RIA's met chromatografische voorzuivering; waar er afwijkingen zijn, liggen ze zelfs vaak iets lager. Bij het RIKILT zijn de resultaten bij deze serie monsters over de hele lijn iets hoger dan van de RIA's met voorzuivering.

Een en ander komt tot uiting in het aantal monsters > 1 ppb:

RIA met voorzuivering, gem : 10  
RIA zonder voorzuivering, RIV : 5  
RIA zonder voorzuivering, RIKILT: 15.

Ook hierbij geldt, dat in alle positief geregistreerde gevallen inderdaad DES aanwezig was, ook hier zijn er dus geen vals-positieve resultaten. Uiteraard worden ook hier DE en HEX mede gemeten.

#### 4.3 Dunnelaagchromatografie

Ook deze methode is toegepast door RIV en RIKILT.

Bij de uitslagen van het RIV is er een duidelijke lijn: boven 1,2 ppb (volgens gemiddelde RIA met voorzuivering) beide duplo's steeds positief, beneden 0,4 ppb negatief, tussen 0,4 en 1,2 ppb soms wel, soms geen DES aangetoond.

Bij het RIKILT begint de aantoonbaarheid iets eerder, maar is in sommige monsters met hogere gehalten toch geen DES aangetoond. Dit laatste bleek teruggevoerd te kunnen worden tot het opvangen van verkeerde fracties; dit is intussen nader onderzocht en verbeterd.

Alle monsters zonder DES zijn ook inderdaad negatief bevonden, dit geldt ook voor de monsters waar DE of HEX aan toegevoegd was: geen vals positieven, ook niet door DE of HEX.

De monsters met DE of HEX en bovendien DES zijn soms wel, soms niet positief verklaard, zie de tabel. Het geringe aantal monsters verbiedt enige verdere conclusie.

#### 4.4 LCEC

Deze detectiemethode is alleen uitgevoerd door het RIKILT. De in de tabel gehanteerde classificatie is gebaseerd op de vraag: in welke gevallen kan de aanwezigheid van DES onomstotelijk aangetoond geacht worden? Hierbij is rekening gehouden met de plaats, de grootte en de vorm van de piek in het voltamochromatogram.

De gehalten zijn gecorrigeerd voor terugvinding; vooral bij de lagere gehalten zijn deze waarden niet of nauwelijks kwantitatief te interpreteren.

Evenals bij de DLC, kunnen ook hier door het opvangen van verkeerde fracties monsters ten onrechte niet als positief geïnterpreteerd zijn. Bij de monsters met DE en HEX stoorde de aanwezigheid hiervan niet. Ook hier zijn geen vals positieve uitkomsten verkregen.

#### 4.5 GCMS

Er is verschil in deze methode tussen de verschillende instituten. Bij het RIV wordt na voorafgaande HPLC voorzuivering eerst geïdentificeerd met laag oplossend vermogen "electron impact" GCMS op het molecuul ion ( $m/z$  496).

Bij positief resultaat ook met hoog oplossend vermogen GCMS door exacte massameting van  $m/z$  412, 2254 via "peak matching".

Het CIVO werkt op overeenkomstige wijze.

Bij het RIKILT vindt na voorafgaande HPLC voorzuivering identificatie plaats met laag oplossend vermogen, "multiple ion" "electron impact" GCMS, door meting van m/z 341, 447, 631 en 660.

BCO gebruikt hetzelfde type apparaat als het RIKILT, nl. quadropool. De werkwijze van derivatisering, ionisatie en detectie verschilt. BCO derivatiseert met pentafluorfenyldimethylsilyl (FLOP), past negatieve chemische ionisatie toe en meet de isotoopverhoudingen

717/716 =  $47 \pm 2\%$ , 718/716 =  $19 \pm 2\%$  en

719/716 =  $5 \pm 0,5\%$ . GC retentietijd  $19 \pm 0,05$  min.

De methodes van RIV, CIVO en RIKILT zijn getoetst door de EVATH ad hoc sub werkgroep van MS deskundigen, en beschreven in het EVATH rapport, juli 1982.

Door allerlei organisatorische, technische en beleidsproblemen heeft het CIVO niet goed aan het GCMS onderzoek mee kunnen doen. De resultaten van RIV, RIKILT en BCO zijn verzameld in tabel 5.

Toelichting op de tabel:

Voor RIV en RIKILT

- DES niet identificeerbaar volgens EVATH normen
- + urinaire responsie als DES geïdentificeerd volgens EVATH normen
- : urinaire responsie in laagoplossend vermogen, echter slechts overeenkomend met een DES-gehalte  $< 1$  ppb volgens GCMS bepaling. Géén "peak-match" uitgevoerd.

Voor BCO

Onder "class" is aangegeven wat het resultaat zou zijn, als een RIA uitslag van  $0,5 \mu\text{g/l}$  als screeningscriterium zou worden aangehouden.

- < RIA  $< 0,5 \mu\text{g/l}$  dus geen GCMS bevestiging uitgevoerd
- GCMS bevestiging negatief volgens eerdergenoemde BCO criteria
- GCMS bevestiging positief volgens eerdergenoemde BCO criteria.

Opmerkingen bij de resultaten.

Voor de GCMS methoden betekent "positief" dat trans-DES ondubbelzinnig geïdentificeerd was als aanwezig in de urine. De criteria hiervoor zijn vermeld in het EVATH rapport, juli 1982, blz. 29-31.

De monsters zonder DES zijn in alle gevallen als negatief geïdentificeerd, ook als DE of HEX aanwezig was: geen vals-negatieve uitslagen. De aanwezigheid van DE of HEX stoort niet. Mede door verschil in classificatienormen is er verschil in de positief verklaarde monsters. De opgegeven gehalten mogen niet meer dan semi-kwantitatief geïnterpreteerd worden.

#### 5. Conclusies

- Bij de RIA met voorzuivering, die door alle vijf instituten uitgevoerd is, is er een fraaie overeenstemming zowel binnen als tussen de instituten.
- Bij geen van de toegepaste technieken werden urines zonder DES als "positief" aangemerkt: geen "vals positieve" resultaten.
- Voor de RIA met voorzuivering is de "ruis" 0,1 à 0,2 µg/l. Gehalten direct daarboven worden al geregistreerd.
- Voor de andere technieken kan ruwweg gesteld worden:
  - beneden 0,5 µg/l: geen detectie
  - 0,5 - 1 µg/l: "grijs gebied": soms wel, soms niet gedetecteerd
  - boven 1 µg/l: detectie mogelijk.Aangezien er vrijwel geen monsters boven 1,2 µg/l bij waren, geeft dit ringonderzoek geen informatie over hogere gehalten.
- Monsters waaraan dienestrol (DE) of hexestrol (HEX) toegevoegd waren (de laatste 6 resultaten in de tabellen) werden met RIA (m.u.v. HPLC-RIA van RIV) positief gevonden, overeenkomstig de verwachting. Met de HPLC-RIA van RIV werd geen HEX en een zeer gering gedeelte van DE in de RIA-DES meegemeten.
- Met geen van de andere technieken (DLC, LCEC, GCMS) werden de twee monsters die uitsluitend DE resp. HEX bevatten, positief bevonden.
- De celite-RIA bepalingen zoals uitgevoerd door BCo en RIKILT geven op het 1 ppb niveau gelijke resultaten binnen de bekende spreiding van de methode.

- De resultaten van het GCMS onderzoek geven de indruk dat
  - boven 1 ppb overeenstemmende identificatie onder routineomstandigheden mogelijk is
  - beneden 0,3 ppb geen identificatie mogelijk is
  - tussen 0,3 en 1 ppb identificatie soms wel en soms niet haalbaar is
  - aanwezigheid van de DE of HEX geen aanleiding geeft tot valspositieve identificatie van DES.

Aangezien het GCMS onderzoek niet optimaal verlopen is, is een nader nauwkeurig beschreven onderzoek gewenst en inmiddels uitgevoerd



Tabel 1 RIA met chromatografische voorzuivering ( $\mu\text{g}/\text{l}$ )

Nr.	BCO		CIVO		KUN		RIKILT		RIV	Chrom.	
	RIA gem.		RIA gem.		RIA gem.		RIA gem.			RIA gem.	
44 )	0,0	0,0	0,1	0,2	0,1	0,1	0,0	0,0		0,05	
49 )	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,0	0,0		0,06	
20 )	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,0	0,0		0,07	
34 )	0,0	(0,3)	0,1	0,1	0,1	0,1	0,0	0,0		0,07	
50 )	0,2	0,0	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	0,0		0,08	Blanco
9 )	0,1	0,1	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	0,0		0,09	
31 )	0,1	0,0	0,3	0,3	0,1	0,1	0,1	0,0		0,10	
25 )	0,1	0,2	0,1	0,2	0,6	0,6	0,1	0,0		0,20	
3	0,2	(0,4)	0,4	0,4	0,3	0,3	0,2	0,1		0,27	
1	0,3	0,5	0,3	0,4	0,3	0,3	0,2	0,3		0,33	
14	0,5	0,3	0,5	0,5	0,3	0,3	0,3	0,2		0,33	
41	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,2	0,2		0,34	
13	0,5	0,6	0,5	0,5	0,4	0,3	0,2	0,0		0,35	
32	0,5	0,5	0,5	0,5	0,3	0,4	0,4	0,2		0,36	
4	0,4	0,4	0,4	0,5	0,3	0,3	0,5	0,5		0,38	
30	0,5	0,5	0,4	0,4	0,4	0,3	0,3	0,4		0,38	
7	0,6	0,5	0,4	0,4	0,4	0,5	0,2	0,3		0,41	0 < RIA gem.
33	0,5	0,5	0,4	0,4	0,3	0,4	0,4	0,3		0,41	< 1 $\mu\text{g}/\text{l}$
15	0,6	0,7	0,6	0,7	0,0	0,1	0,4	0,5		0,45	
35	0,7	0,6	0,6	0,6	0,4	0,5	0,4	0,4		0,50	
10	0,8	0,8	0,5	0,6	0,4	0,4	0,5	0,4		0,53	
42	0,6	0,7	0,6	0,6	0,5	0,5	0,6	0,6		0,55	
5	0,6	0,6	0,9	0,9	0,4	0,5	0,5	0,5		0,57	
8	0,6	0,8	0,8	0,9	0,5	0,4	0,5	0,4		0,58	
23	1,0	0,9	0,8	0,9	0,4	0,5	0,0	0,4		0,61	
19	0,7	0,7	0,8	0,9	0,6	0,6	0,4	0,6		0,64	
21	0,9	1,1	0,7	0,8	0,6	0,6	0,8	0,4		0,68	
17	0,8	0,7	0,9	1,1+	0,8	0,6	0,5	0,5		0,70	
26	0,9	0,8	0,8	0,8	0,6	0,7	0,4	0,7		0,70	
18	0,9	0,9	1,1	1,3+	0,5	0,7	1,0	0,4		0,84	
27	(1,0)	1,2+	0,7	0,8	0,7	0,8	0,8	0,7		0,85	
36	0,9	0,9	1,0	1,2+	0,7	0,7	0,6	0,7		0,87	
11	(1,2)	1,1+	1,0	1,0	0,7	0,9	1,0	0,8		0,91	
40	1,2	1,2+	1,1	1,2+	0,6	0,5	1,1	1,0+		0,94	
38	1,2	1,3+	1,0	1,6	0,7	1,0	1,0	0,9		1,06	
12	1,4	1,3+	1,5	1,5+	0,7	0,8	1,0	1,0+		1,09	
22	1,1	1,3+	1,2	1,3+	0,8	0,7	1,2	1,2+		1,10	
39	1,4	1,6+	1,2	1,3+	0,8	0,6	1,1	1,0+		1,11	
28	1,4	1,4+	1,3	1,3+	0,9	0,8	1,3	1,1+		1,18	
24	1,2	1,4+	1,3	1,4+	0,8	0,8	1,1	1,3+		1,20	RIA gem. > 1 $\mu\text{g}/\text{l}$
29	2,3	2,1+	1,7	1,8+	1,2	1,0+	1,7	1,8+		1,57	
47	2,4	2,3+	1,6	1,7+	1,0	0,9	1,8	2,2+		1,71	
46	3,1	3,1+	2,6	2,7+	1,7	1,3+	2,8	2,4+		2,46	
48	3,3	3,5+	2,7	2,9+	1,1	1,1+	5,0	2,4+		2,69	
2 )	1,6	1,6+	1,3	1,4+	0,8	0,9	1,3	0,8+		1,04	(20 DE)
6	2,2	2,3+	1,6	1,7+	1,1	1,4+	1,3	1,2+		1,47	(20 DE + 0,4 DES)
45	3,5	3,5+	2,6	2,7+	1,0	0,8	2,9	1,5+		2,10	(20 DE + 1,3 DES)
16 )	1,8	1,7+	1,4	1,6+	0,7	0,6+	0,9	0,9		0,96	(5 HEX)
37	2,8	2,7+	2,3	2,3+	1,0	0,8	1,7	1,8+		1,73	(5 HEX + 0,8 DES)
43	3,3	3,1+	2,9	2,9+	0,8	1,0	4,0	3,1+		2,32	(5 HEX + 1,1 DES)

+ = gemiddelde > 1  $\mu\text{g}/\text{l}$

) = monsters zonder DES

Tabel 2 RIA zonder chromatografische voorzuivering ( $\mu\text{g}/\text{l}$ )

Nr.	RIV			RIKILT			Chrom.
	1	2	gem.	1	2	gem.	RIA gem.
44 )	0,0	0,0	0,0	0,2	0,2	0,2	0,05
49 )	0,0	0,0	0,0	0,2	0,3	0,3	0,06
20 )	0,1	0,1	0,1	1,0	0,7	0,8	0,07
34 )	0,0	0,0	0,0	0,3	0,2	0,2	0,07
50 )	0,2	0,1	0,1	0,9	0,7	0,8	0,08
9 )	0,2	0,3	0,2	0,4	0,4	0,4	0,09
31 )	0,0	0,0	0,0	0,5	0,3	0,4	0,1
25 )	0,0	0,0	0,0	0,3	0,3	0,3	0,2
3	0,1	0,1	0,1	0,5	0,2	0,4	0,3
1	0,1	0,1	0,1	0,8	0,4	0,6	0,3
14	0,3	0,4	0,4	0,6	0,7	0,6	0,3
41	0,0	0,0	0,0	0,3	0,3	0,3	0,3
13	0,3	0,4	0,3	0,9	0,9	0,9	0,4
32	0,0	0,1	0,1	1,0	0,9	1,0	0,4
4	1,0	0,4	0,7	0,6	0,5	0,6	0,4
30	0,2	0,4	0,3	0,7	0,7	0,7	0,4
7	0,5	0,6	0,6	1,1	0,9	1,0+	0,4
33	0,4	0,5	0,4	0,6	0,7	0,7	0,4
15	0,3	0,2	0,3	0,9	0,6	0,7	0,4
35	0,8	0,4	0,6	1,0	0,7	0,9	0,5
10	0,3	0,5	0,4	1,0	0,9	1,0	0,5
42	0,1	0,5	0,3	0,9	0,4	0,7	0,5
5	0,4	0,5	0,4	1,0	0,7	0,8	0,6
8	0,9	0,6	0,7	0,9	1,1	1,0	0,6
23	0,3	0,3	0,3	0,8	0,8	0,8	0,6
19	0,9	0,6	0,8	1,2	1,2	1,2+	0,6
21	0,5	0,6	0,6	1,1	0,6	0,9	0,7
17	0,8	0,6	0,7	1,1	1,4	1,2+	0,7
26	0,5	0,5	0,5	1,2	1,0	1,1	0,7
18	0,7	0,8	0,8	1,8	1,8	1,8+	0,8
27	0,7	0,7	0,7	1,2	1,1	1,2+	0,8
36	0,8	0,5	0,6	1,7	1,3	1,5+	0,9
11	0,5	0,5	0,5	1,2	1,1	1,2+	0,9
40	0,4	0,5	0,4	1,1	0,8	1,0	0,9
38	0,8	1,1	1,0	1,8	1,1	1,4+	1,1+
12	1,0	1,2	1,1+	1,5	1,4	1,4	1,1+
22	0,3	0,7	0,5	1,6	0,8	1,2+	1,1+
39	0,7	0,6	0,7	1,4	1,0	1,2+	1,1+
28	0,8	0,7	0,8	2,0	1,9	1,9+	1,2+
24	0,5	0,4	0,5	0,9	0,8	0,9	1,2+
29	1,2	1,2	1,2+	1,4	1,4	1,4+	1,6+
47	1,4	1,6	1,5+	2,2	1,7	2,0+	1,7+
46	4,3	4,1	4,2+	1,6	1,3	1,4+	2,5+
48	2,3	2,1	2,2+	3,2	2,2	2,7+	2,7+
2 )	1,0	0,9	1,0	1,2	1,0	1,1+	1,0+ (20 DE)
6	1,1	1,5	1,3+	1,2	1,9	1,5+	1,5+ (20 DE + 0,4 DES)
45	1,9	1,8	1,8+	4,2	2,8	3,5+	2,1+ (20 DE + 1,3 DES)
16 )	0,9	1,1	1,0+	1,6	1,5	1,6+	1,0+ (5 HEX)
37	2,0	2,2	2,1+	3,2	2,4	2,8+	1,7+ (5 HEX + 0,8 DES)
43	1,9	1,9	1,9+	3,1	2,6	2,9+	2,3+ (5 HEX + 1,1 DES)

0 < RIA gem.  
< 1  $\mu\text{g}/\text{l}$

RIA gem.  
> 1  $\mu\text{g}/\text{l}$

+ = gemiddelde > 1  $\mu\text{g}/\text{l}$

) = monsters zonder DES

Tabel 3 Dunnelaagchromatografie

Nr.	RIV		RIKILT		Chrom. RIA gem.	
44 )	-	-	-	-	0,05	
49 )	-	-	-	-	0,06	
20 )	-	-	-	-	0,07	
34 )	-	-	-	-	0,07	
50 )	-	-	-	-	0,08	
9 )	-	-	-	-	0,09	Blanco
31 )	-	-	-	-	0,1	
25 )	-	-	-	-	0,2	
3	-	-	a	-	0,3	
1	-	-	a	+	0,3	
14	-	-	+	a	0,3	
41	-	+	-	-	0,3	
13	-	-	a	a	0,4	
32	-	-	-	-	0,4	
4	-	-	-	a	0,4	
30	-	-	-	-	0,4	
7	-	-	+c	+c	0,4	
33	-	-	+	+	0,4	
15	-	+	a	a	0,4	
35	-	+	a	a	0,5	
10	-	+	-	-	0,5	0 < RIA gem. < 1 µg/l
42	-	+	+c	a	0,5	
5	-	-	a	+	0,6	
8	-	+	-	a	0,6	
23	-	+	+c	+c	0,6	
19	-	+	a	-	0,6	
21	-	+	a	a	0,7	
17	-	-	+c	+	0,7	
26	+	+	+	-	0,7	
18	-	-	+c	+c	0,8	
27	+	-	+	+	0,8	
36	-	-	+c	+c	0,9	
11	+	-	a	a	0,9	
40	-	-	+c	+	0,9	
38	-	+	-	+c	1,1	
12	-	-	a	-	1,1	
22	+	-	-	a	1,1	
39	-	+	-	-	1,1	
28	+	+	-	+c	1,2	
24	+	+	-	+c	1,2	RIA gem. > 1 µg/l
29	+	+	-	-	1,6	
47	+	+	+	+	1,7	
46	+	+	+c	-	2,5	
48	+	+	-	-	2,7	
2 )	-	-	-	-	1,0 (20 DE)	
6	-	-	-	-	1,5 (20 DE + 0,4 DES)	
45	-	+	+c	+c	2,1 (20 DE + 1,3 DES)	
16 )	-	-	-	-	1,0 (5 HEX)	
37	+	-	-	a	1,7 (5 HEX + 0,8 DES)	
43	-	+	-	-	2,3 (5 HEX + 1,1 DES)	

RIKILT resultaten:  
 Waarneembaarheid DLC  
 vlekken:  
 - = niet  
     waarneembaar  
 a = nauwelijks  
     waarneembaar  
 + = duidelijk  
     waarneembaar  
 c = ook cis-vlek  
     waarneembaar  
 ) = monsters zonder DES

Tabel 4 LCEC (µg/l)

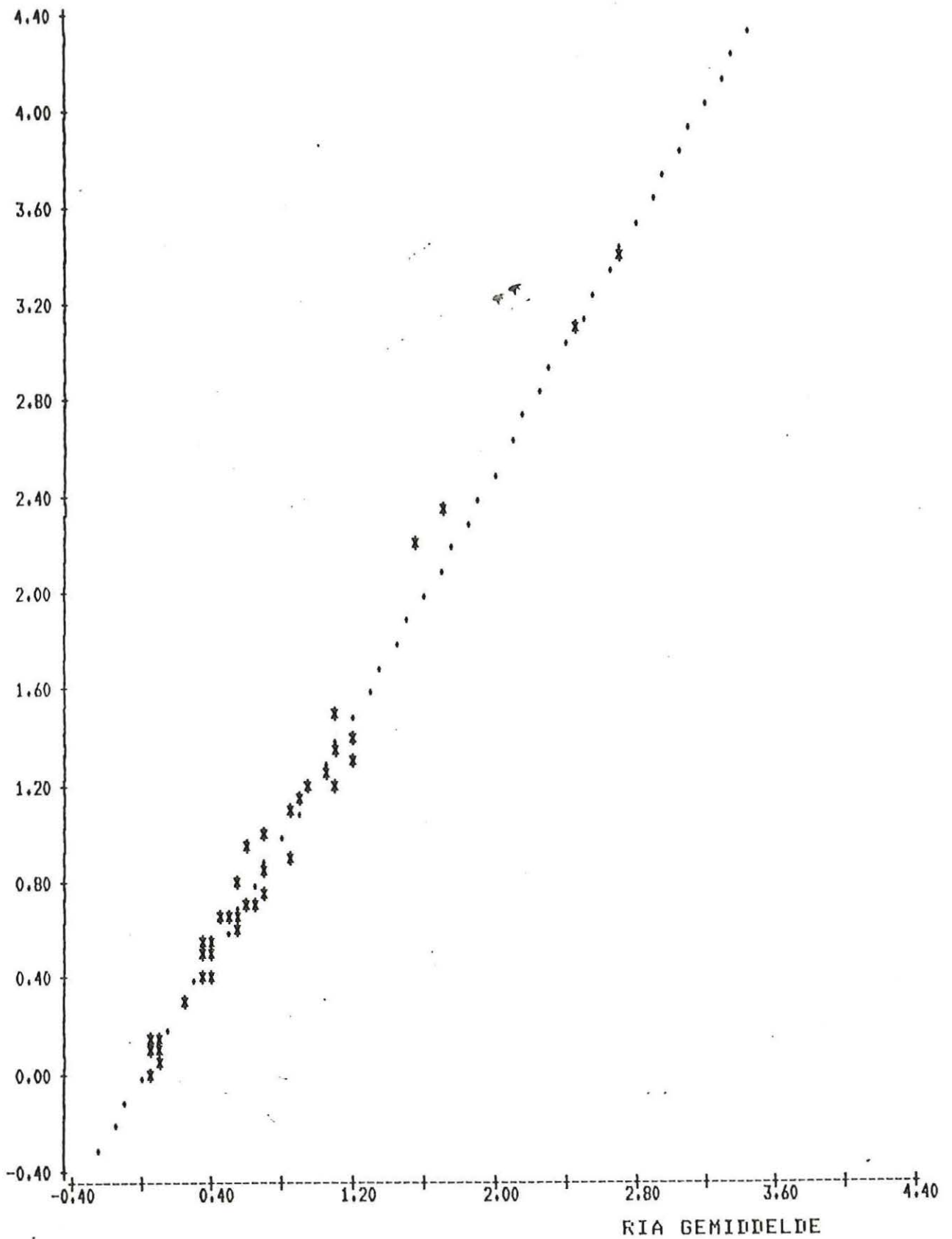
Nr.	RIKILT			Class.	Chrom. RIA gem.	
	1	2	3			
44 )	0,6	0,5		-	0,05	
49 )	<	<		-	0,06	) = monsters zonder DES
20 )	1,1	<	1,2	-	0,07	
34 )	<	<		-	0,07 Blanco	< = <0,5
50 )	<	<		-	0,08	
9 )	2,5	<		-	0,09	* = chromatogram niet te interpreteren
31 )	<	<		-	0,1	
25 )	<	1,1	<	-	0,2	** = flesje gebroken
3	<	<		-	0,3	
1	2,7	3,2		+	0,3	Classificatie, rekening houdend met plaats, grootte en vorm van de piek: - = kon niet als DES worden geïnterpreteerd
14	1,2	1,8		+	0,3	
41	1,0	0,6		-	0,3	
13	<	<		-	0,4	
32	<	<		-	0,4	
4	<	<		-	0,4	
30	3,5	0,7	<	-	0,4	+ = kon als DES worden geïnterpreteerd
7	<	<		-	0,4	
33	1,3	<	<	-	0,4	+/- = interpretatie wisselend
15	**				0,4	
35	<	0,8		-	0,5	
10	<	1,1	<	-	0,5	
42	<	3,1	1,6	+	0,5	0 < RIA gem. < 1 µg/l
5	0,8	0,7		+/-	0,6	
8	0,7	<		-	0,6	
23	0,7	1,2	0,7	+/-	0,6	
19	<	<		-	0,6	
21	<	<		-	0,7	
17	0,6	<		-	0,7	
26	<	<		-	0,7	
18	1,2	5,6	2,2	+	0,8	
27	<	<	<	-	0,8	
36	<	<		-	0,9	
11	<	<		-	0,9	
40	1,0	<	0,9	+/-	0,9	
38	0,6	1,1	<	+/-	1,1	
12	0,6	-		-	1,1	
22	2,4	<	<	+/-	1,1	
39	0,9	0,9		+	1,1	
28	1,7	<	0,7	+	1,2	
24	<	2,1	1,0	+	1,2	RIA gem. > 1 µg/l
29	1,1	2,0		+	1,6	
47	<	<		+/-	1,7	
46	2,2	1,6		+	2,5	
48	2,0	<		+/-	2,7	
2 )	<	0,5		-	1,0 (20 DE)	
6	0,7	<		-	1,5 (20 DE + 0,4 DES)	
45	*	2,2		+/-	2,1 (20 DE + 1,3 DES)	
16 )	<	<		-	1,0 (5 HEX)	
37	0,8	0,8		-	1,7 (5 HEX + 0,8 DES)	
43	<	1,0	<	-	2,3 (5 HEX + 1,1 DES)	

Tabel.4

Tabel 5 GCMS

Nr.	RIV		RIKILT		BCO		Chrom.
	$\mu\text{g}/1$	class.	$\mu\text{g}/1$	class.	$\mu\text{g}/1$	class.	RIA gem.
44 *	<0,35	-	<0,5	-	<0,5	<	0,05
49 *	0,2	:	<0,5	-	<0,5	<	0,06
20 *	<0,1	-	<0,5	-	<0,5	<	0,07
34 *	<0,1	-	<0,5	-	<0,5	<	0,07
50 *	0,3	:	<0,5	-	0,8	<	0,08
9 *	<0,1	-	<0,5	-	<0,5	<	0,09
31 *	<0,35	-	<0,5	-	<0,5	<	0,1
25 *	<0,1	-	<0,5	-	<0,5	<	0,2
3	<0,1	-	<0,5	-	0,6	<	0,3
1	<0,35	-	<0,5	-	geen analyse		0,3
14	<0,35	-	geen analyse		<0,5	<	0,3
41	0,4	:	0,8	+	0,8	<	0,3
13	<0,3	-	<0,5	-	<0,5	+	0,4
32	0,35	:	<0,5	-	<0,5	+	0,4
4	<0,35	-	0,6	+	<0,5	<	0,4
30	<0,35	-	<0,5	-	0,6	+ sp.DE	0,4
7	1,9	:	0,8	+	<0,5	+	0,4
33	<0,35	-	<0,5	-	<0,5	-	0,4
15	0,35	:	0,9	+	0,6	+	0,4
35	0,6	:	1,1	+	0,9	+	0,5
10	<0,1	-	<0,5	-	0,6	+	0,5
42	0,5	:	<0,5	-	0,7	+	0,5
5	0,35	-	<0,5	-	0,8	+	0,6
8	<0,1	-	0,9	+	0,7	+	0,6
23	0,35	-	0,8	+	1,5	+	0,6
19	<0,1	-	0,8	+	<0,5	-?	0,6
21	0,35	:	1,4	+	0,8	+	0,7
17	<0,1	-	1,0	+	0,8	+	0,7
26	0,8	:	1,4	+	0,9	+	0,7
18	0,3	:	<0,5	-	0,6	+	0,8
27	0,5	:	<0,5	-	1,1	+	0,8
36	0,3	:	1,4	+	1,9	+	0,9
11	<0,1	-	<0,5	-	0,7	+	0,9
40	0,7	-	1,3	+	0,9	+	0,9
38	0,9	:	0,9	+	0,7	+	1,1
12	0,6	:	1,9	+	0,9	+	1,1
22	0,75	:	1,5	+	0,9	+	1,1
39	0,5	:	1,3	+	1,1	+	1,1
28	0,6	:	<0,5	-	1,8	+	1,2
24	0,7	:	1,1	+	1,1	+	1,2
		:					RIA gem. > 1 $\mu\text{g}/1$
29	1,1	+	1,5	+	1,7	+	1,6
47	0,9	:	2,1	+	2,1	+	1,7
46	2,6	+	1,5	+	>4	+	2,5
48	2,6	+	1,5	+	3,8	+	2,7
2 *	0,8	:	<0,5	-	<0,5	- DE+	1,0 (20 $\mu\text{g}/1$ )
6	<0,1	-	<0,5	-	<0,5	+ DE+	1,5 (20 + 0,4 DES)
45	0,2	:	<0,5	-	0,8	+ DE+	2,1 (20 + 1,3 DES)
16 *	<0,1	-	<0,5	-	<0,5	sp, HEX+	1,0 (5 $\mu\text{g}/1$ )
37	0,8	:	<0,5	-	0,9	+ HEX+	1,7 (5 + 0,8 DES)
43	0,4	:	2,4	+	0,8	+ HEX+	2,3 (5 + 1,1 DES)

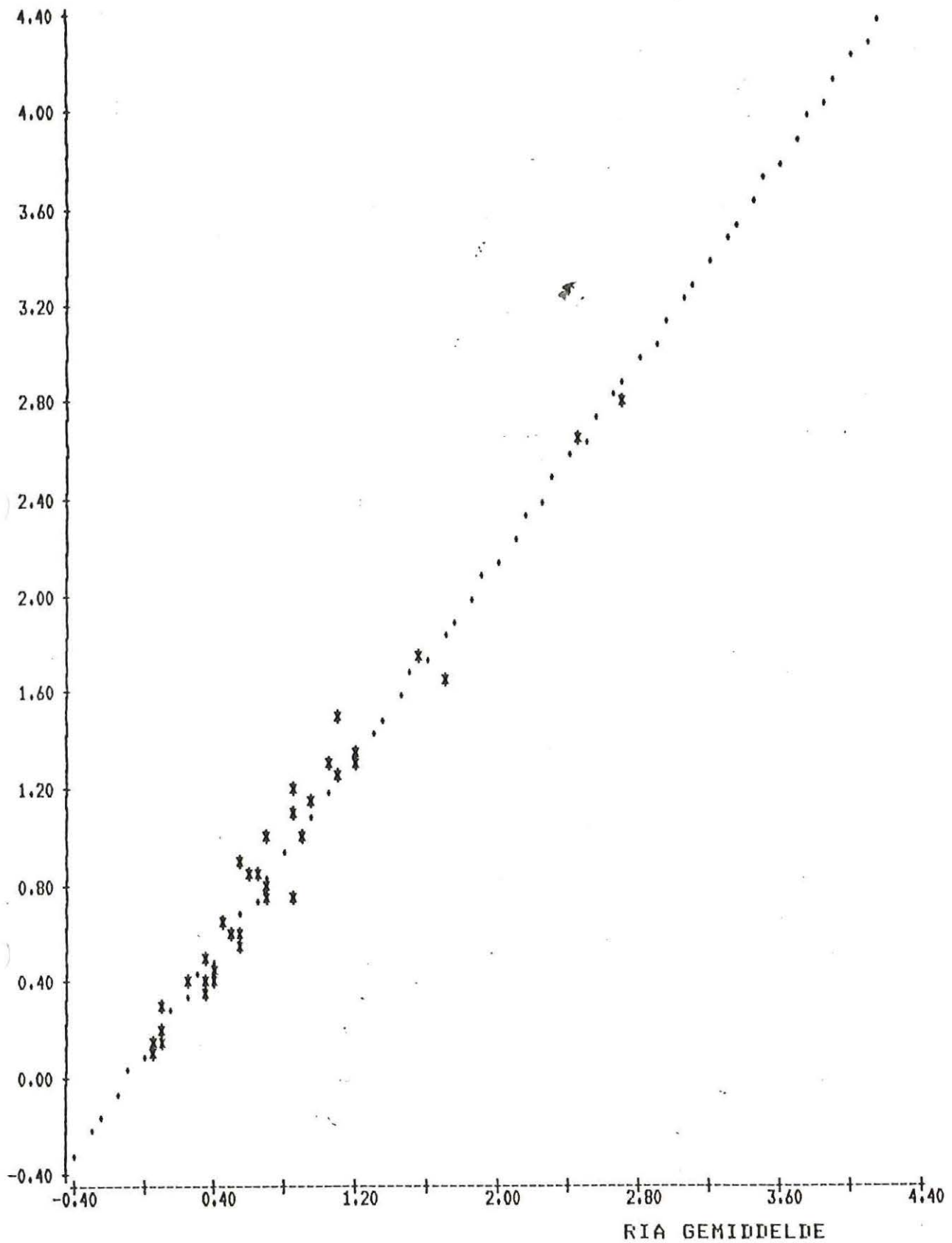
BCD



RINGONDERZOEK DES-RIA JUNI 1982

\*\*\*\*\*:SUBS. 1

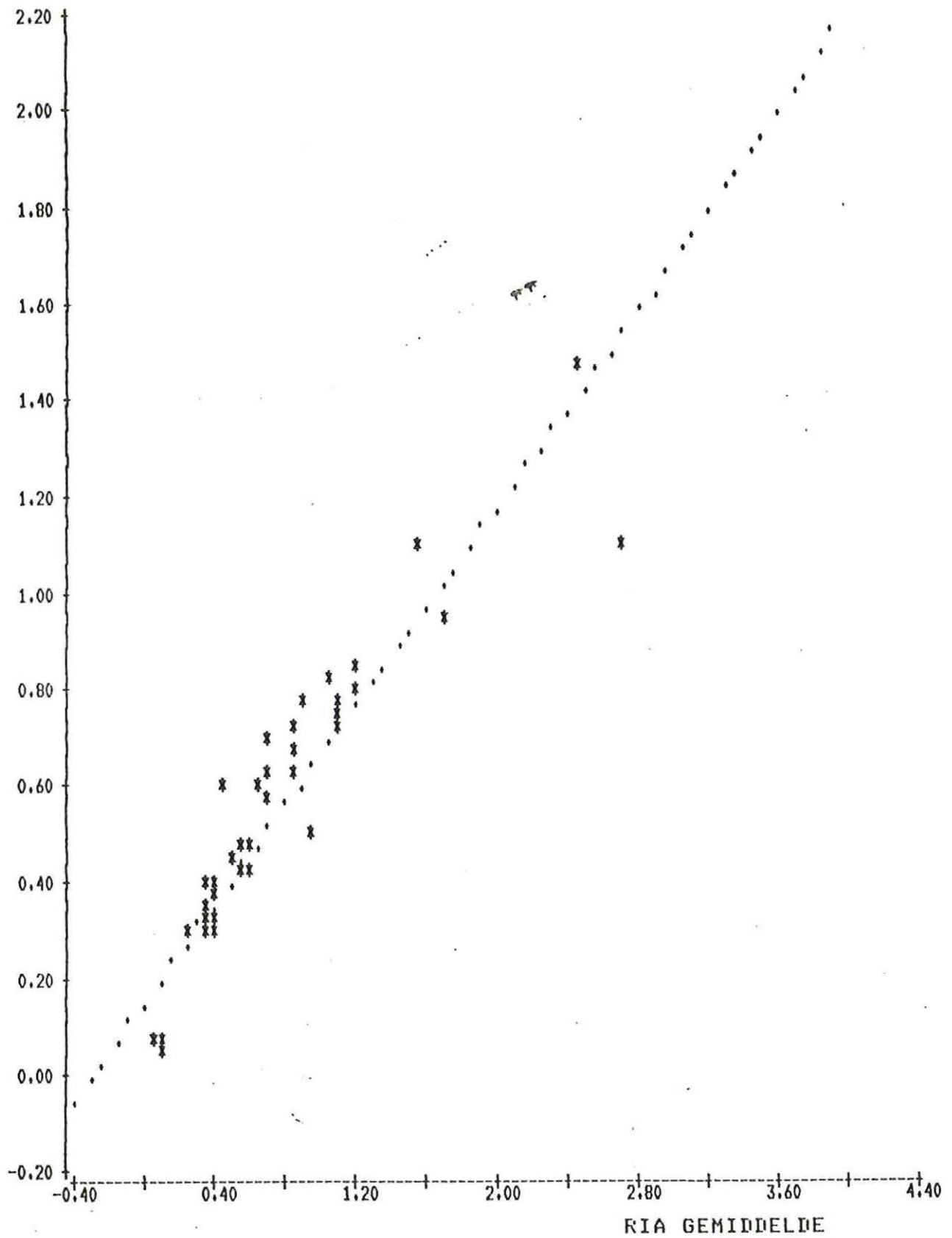
CIVD



RINGONDERZOEK DES-RIA JUNI 1982

\*\*\*\*\*:SUBS. 1

KUN

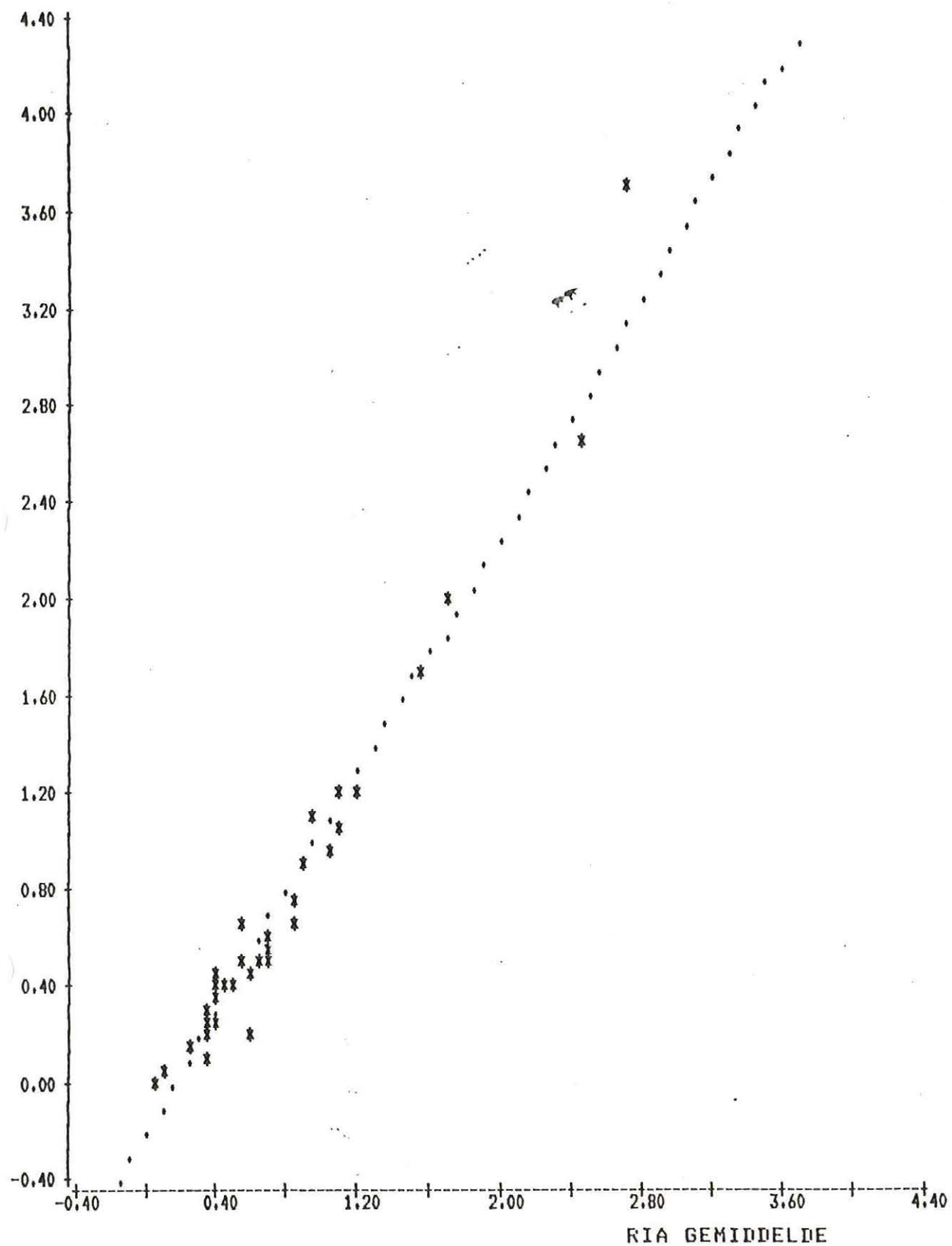


RINGONDERZOEK DES-RIA JUNI 1982

\*\*\*\*\*:SUBS. 1



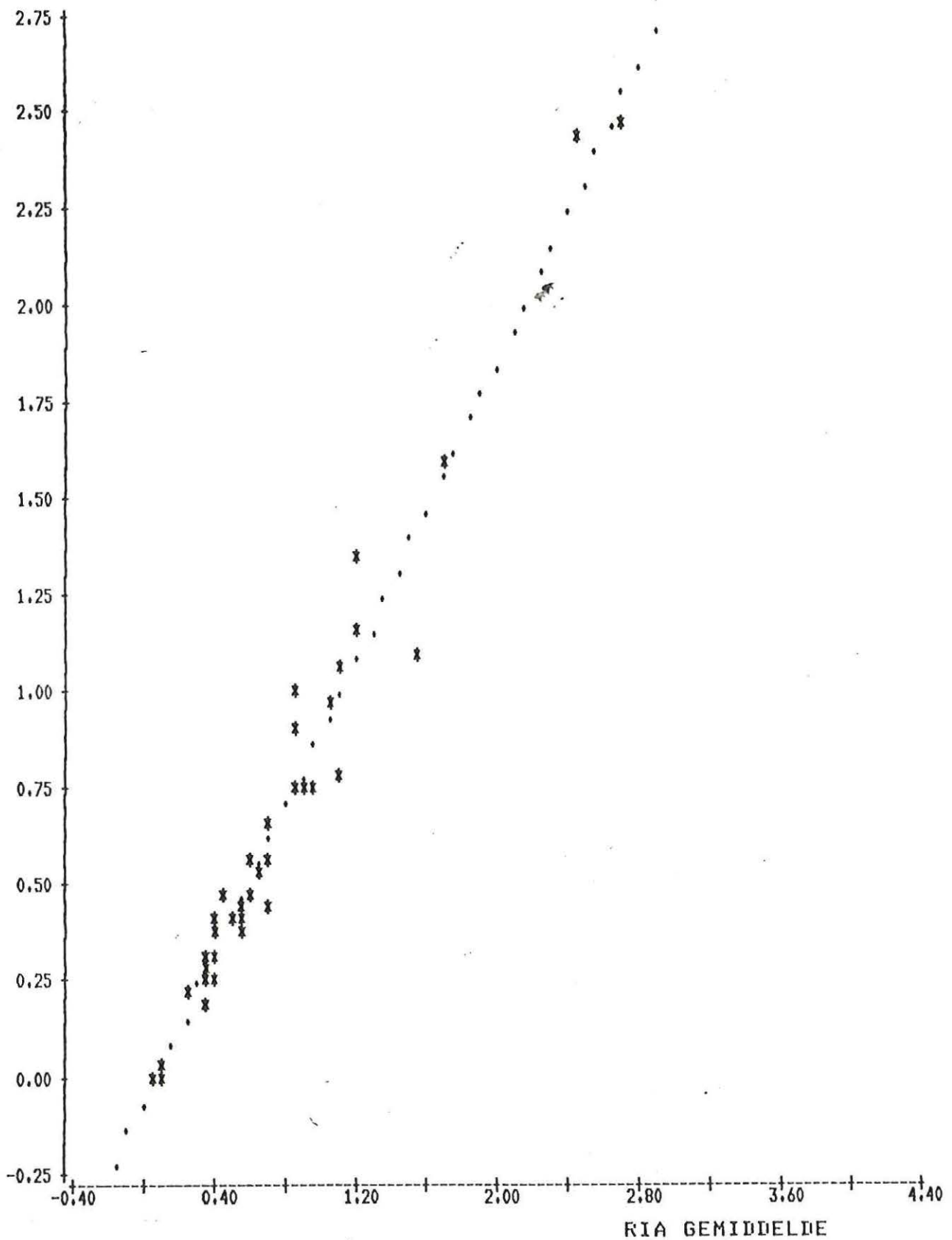
RIKILT



RINGONDERZOEK DES-RIA JUNI 1982

\*\*\*\*\*:SUBS. 1

RIV



RINGONDERZOEK DES-RIA JUNI 1982

\*\*\*\*\*:SUBS. 1