

Lab. Additieven

1981-05-18

VERSLAG 81.44 (81 G 3)

Pr.nr. 404.7920

Onderwerp: Onderzoek naar het voorkomen
van DES in vlees.

Verzendlijst: Directeur, sektorhoofd (3x), dir. VKA, afd. Additieven,
De Ruig, Normalisatie, Projectbeheer, Tuinstra, AID, VD
(Den Haag), VD (Den Bosch), Vleeskuringsdienst Breda
(t.a.v. dhr. Pliva).

Lab. Additieven

1981-05-18

VERSLAG 81.44 (81 G 3)

Pr.nr. 404 7920

Project: Inventariserend onderzoek naar het voorkomen van hormonen in vlees, organen en urine.

Onderwerp: Onderzoek naar het voorkomen van DES in vlees.

Doel:

Onderzoek naar het gebruik van DES als groeibevorderend middel bij het mesten van runderen.

Samenvatting:

Door de Veterinaire Dienst te 's-Hertogenbosch zijn monsters rundvlees genomen op het Openbaar Slachthuis te Breda.

Deze monsters zijn op het RIKILT onderzocht met LC-EC, en in een aantal gevallen met GC-MS.

Conclusie:

In geen van de monsters kon DES worden aangetoond.

Verantwoordelijk: dr W.G. de Ruig

Medewerkers: T.D.B. van der Struijs, M.C.J. Berghmans, H. Hooyerink

ir L.G.M.Th. Tuinstra, W. Traag, W. Beek, Mw Visser-Meijer

8144.0

1. INLEIDING

Op 1981-02-13 heeft de directeur VKA aan De Ruig de opdracht gegeven diethylstilbestrol (DES) te gaan bepalen in vleesmonsters met de bestaande LC-EC methode, en aan Tuinstra om dit onderzoek zo veel mogelijk te steunen, vooral d.m.v. GC-MS.

De afdeling Additieven van De Ruig had toen enige ervaring met de LC-EC techniek en wel vooral gericht op het aantonen en bepalen van verschillende hormonen naast elkaar. Er was weinig ervaring met vlees. Op de afdeling Diergeneesmiddelen had men enige ervaring met een methode voor kalfsvlees en voor babyvoeding als voorbehandeling voor de GC-MS (RIKILT interne analysemethode F 58).

Deze methode bleek niet zonder meer bruikbaar voor rundvlees. De in dit verslag gerapporteerde analyses zijn uitgevoerd met een gemodificeerde methode F 58 voorbehandeling, gevolgd door meting met LC-EC. Een aantal verdachte monsters is tevens geanalyseerd met GC-MS.

2. METHODEN VAN ONDERZOEK

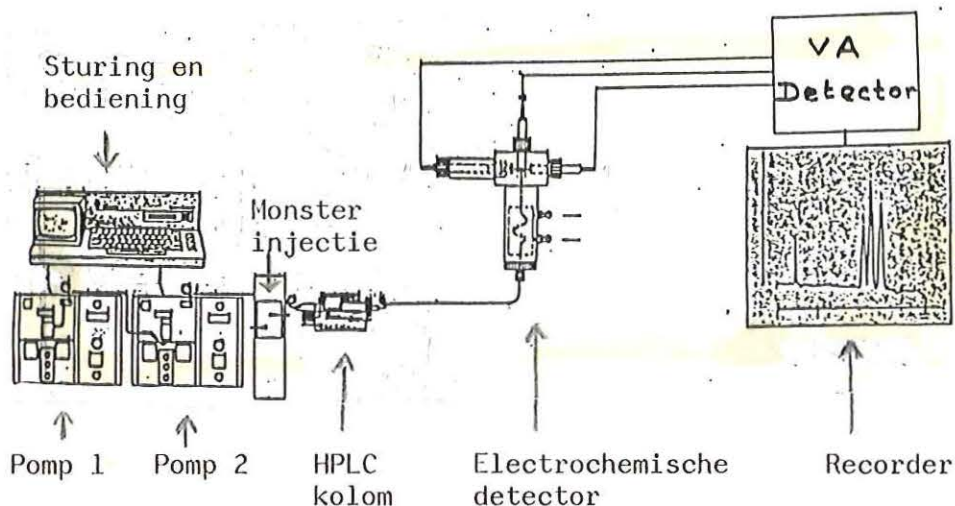
Monstervoorbereiding

10 g vlees wordt gemalen, hieruit wordt DES geïsoleerd door behandeling met achtereenvolgens tetrahydrofuran, methanol, acetonitril, hexaan, chloroform, natriumhydroxide, zoutzuur, ether. Elke stap omvat een scheiding door filtreren of centrifugeren, terwijl tijdens de analysegang vier keer het oplosmiddel afgedampt wordt door middel van een rotatieverdamer.

Voor de GC-MS bepaling is nog een clean-up stap nodig d.m.v. een silicagelkolom, en een derivatisering om DES om te zetten in een voldoende vluchtige verbinding.

LC-EC bepaling

Deze bepaling berust op een scheiding van aanwezige componenten door middel van hoge-drukvloeistofchromatografie (HPLC), direct "on line" - gevolgd door meting met electrochemie, zie schema.



Met deze methode is een concentratie van 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (1 ppb) DES, toegevoegd aan vlees, en daarna volgens de procedure geëxtraheerd nog aan te tonen.

Bij elke serie extracties wordt een monster met toegevoegd DES mee geanalyseerd voor de opbrengstbepaling.

GC-MS

Van het extract wordt 5 μl massaspectrometrisch geanalyseerd, na scheiding op een "fused silica" capillaire kolom gecoat met een apolaire fase CP-SIL 5.

De massa-spectrometrische detectie wordt in eerste instantie uitgevoerd in de electron impact mode, waarbij slechts voor het DES-derivaat specifieke M/e worden gemeten (nl.: M/e 303, 341, 342, 447, 660 en 661).

Bij een positief resultaat wordt een tweede meting uitgevoerd waarbij gebruik wordt gemaakt van chemische ionisatie met methaan als reactiegas.

De detectiegrens bedraagt ca. 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$.

De recovery bedraagt op het 5 ppb niveau ten minste 80%.

3. ANALYSERESULTATEN

Door de Veterinaire Dienst te 's-Hertogenbosch zijn monsters rundvlees genomen op het Openbare Slachthuis Breda. Deze zijn afkomstig van Nederlandse bedrijven in de omgeving van Breda. De monsters zijn op de bovenbeschreven wijze geanalyseerd. De resultaten van het onderzoek zijn vermeld in de tabel.

Tabel. Onderzoek naar de aanwezigheid van DES in rundvlees

slachtdatum	RIKILT-nr.	identificatie rund (oormerknummer volgnummer)	Analyseresultaat	
			LC-EC	GC-MS
1981-02-17	12974	16/1 - 65652	negatief	-
1981-02-17	12975	16/2 - 65654	"	-
1981-02-17	12976	16/3 - 65655	"	-
1981-02-17	12977	16/4 - 65656	"	-
1981-02-17	12978	16/5 - 65657	"	-
1981-02-17	12979	16/6 - 65658	"	-
1981-02-17	12980	16/7 - 65660	"	-
1981-02-17	12981	16/8 - 65661	"	-
1981-02-17	12982	16/9 - 65662	"	-
1981-02-17	12983	16/10 - 65664	"	-
1981-02-17	12984	16/11 - 98716	"	-
1981-02-17	12985	16/12 - 0003	"	-
1981-02-17	12986	16/13 - 00048	"	-
1981-02-17	12987	16/14 - 00047	"	-
1981-02-17	12988	16/15 - 13244	"	-

- = niet geanalyseerd.

slachtdatum	RIKILT-nr.	identificatie rund (oormerknummer volgnummer)	Analyseresultaat	
			LC-EC	GC-MS
1981-02-23	13400	16 - 6654	negatief	-
1981-02-23	13401	17 - 6358	"	-
1981-02-23	13402	18 - 6339	"	-
1981-02-23	13403	19 - 6337	"	-
1981-02-23	13404	20 - 6351	"	-
1981-02-23	13405	21 - 98534	"	-
1981-02-23	13406	22 - 6343	"	-
1981-02-23	13407	23 - 6359	"	-
1981-02-23	13408	24 - 6349	"	-
1981-02-23	13409	25 - 98523	"	-
1981-02-23	13410	26 - 98524	"	-
1981-02-23	13411	27 - 98533	"	-
1981-02-23	13412	28 - 98525	"	-
1981-02-23	13413	29 - 98530	"	-
1981-02-23	13414	30 - 98526	verdacht	negatief
1981-03-03	14185	31 - 6496	verdacht	negatief
1981-03-03	14186	32 - 98571	negatief	-
1981-03-03	14187	33 - 98569	verdacht	negatief
1981-03-03	14188	34 - 6493	negatief	-
1981-03-03	14189	35 - 98567	"	-
1981-03-03	14190	36 - 98574	"	-
1981-03-03	14191	37 - 98564	"	-
1981-03-03	14192	38 - 98565	"	-
1981-03-03	14193	39 - 98576	"	-
1981-03-03	14194	40 - 98573	"	-
1981-03-03	14195	41 - 98572	"	-
1981-03-03	14196	42 - 98570	"	-
1981-03-03	14197	43 - 98566	"	-
1981-03-03	14198	44 - 98575	"	-
1981-03-03	14199	45 - 98568	"	-

slachtdatum	RIKILT-nr.	identificatie rund (oormerknnummer volgnummer)	Analyseresultaat	
			LC-EC	GC-MS
1981-03-09	14675	46 - 6558	negatief	-
1981-03-09	14676	47 - 6545	"	-
1981-03-09	14677	48 - 6545	"	-
1981-03-09	14678	49 - 6550	"	-
1981-03-09	14679	50 - 6551	"	-
1981-03-09	14680	51 - 6552	"	-
1981-03-09	14681	52 - 6547	"	-
1981-03-09	14682	53 - 98608	"	-
1981-03-09	14683	54 - 98604	"	-
1981-03-09	14684	55 - 98601	"	-
1981-03-09	14685	56 - 98605	"	-
1981-03-09	14686	57 - 98609	"	-
1981-03-09	14687	58 - 98607	"	-
1981-03-09	14688	59 - 98612	"	-
1981-03-09	14689	60 - 98610	"	-
1981-03-16	15088	61 - 6727	negatief	-
1981-03-16	15089	62 - 6744	"	-
1981-03-16	15090	63 - 6726	"	-
1981-03-16	15091	64 - 6729	"	-
1981-03-16	15092	65 - 6747	"	-
1981-03-16	15093	66 - 6732	"	-
1981-03-16	15094	67 - 6751	"	-
1981-03-16	15095	68 - 6745	"	-
1981-03-16	15096	69 - 6731	"	-
1981-03-16	15097	70 - 6750	"	-
1981-03-16	15098	71 - 6739	"	-
1981-03-16	15099	72 - 98670	"	-
1981-03-16	15100	73 - 98671	"	-
1981-03-16	15101	74 - 98674	"	-
1981-03-16	15102	75 - 98668	"	-

slachtdatum	RIKILT-nr.	identificatie rund (oormerknummer volgnummer)	Analyseresultaat	
			LC-EC	GC-MS
1981-03-23	15626	76 - 6932	negatief	-
1981-03-23	15627	77 - 98723	"	-
1981-03-23	15628	78 - 98714	"	-
1981-03-23	15629	79 - 98713	"	-
1981-03-23	15630	80 - 6933	"	-
1981-03-23	15631	81 - 98720	"	-
1981-03-23	15632	82 - 98175	"	-
1981-03-23	15633	83 - 98718	"	-
1981-03-23	15634	84 - 6930	"	-
1981-03-23	15635	85 - 98721	"	-
1981-03-23	15636	86 - 98719	"	-
1981-03-23	15637	87 - 6936	"	-
1981-03-23	15638	88 - 98722	"	-
1981-03-23	15639	89 - 6928	"	-
1981-03-23	15640	90 - 6927	"	-
1981-03-30	16395	91 - 6628	negatief	-
1981-03-30	16396	92 - 6651	"	-
1981-03-30	16397	93 - 6625	"	-
1981-03-30	16398	94 - 6996	"	-
1981-03-30	16399	95 - 6620	"	-
1981-03-30	16400	96 - 7000	"	-
1981-03-30	16401	97 - 6621	"	-
1981-03-30	16402	98 - 6998	"	-
1981-03-30	16403	99 - 6999	"	-
1981-03-30	16404	100 - 6619	"	-
1981-03-30	16405	101 - 6995	"	-
1981-03-30	16406	102 - 6997	"	-
1981-03-30	16407	103 - 6617	"	-
1981-03-30	16408	104 - 0001	"	-
1981-03-30	16409	105 - 64261	"	-

slachtdatum	RIKILT-nr.	identificatie rund (oormerknummer volgnummer)	Analyseresultaat	
			LC-EC	GC-MS
1981-04-06	16969	106-6778	negatief	-
1981-04-06	16970	107-6777	"	-
1981-04-06	16971	108-98561	"	-
1981-04-06	16972	109-6805	"	-
1981-04-06	16973	110-6806	"	-
1981-04-06	16974	111-98568	"	-