

Project 505.0070

Ontwikkeling van methoden voor onderzoek voor het verrichten van identificaties c.q. confirmatie

Projectleider: W.A. Traag

Rapport 89.36

April 1989

Evalueren van het Massaspectrometrisch
onderzoek naar Androstenon in varkensvet

W.A. Traag



Medewerkers: E.O. van Bennekom

Goedgekeurd door: ir L.G.M.Th. Tuinstra ✓

Rijks-Kwaliteitsinstituut voor land- en tuinbouwprodukten (RIKILT)

Bornsesteeg 45, 6708 PD Wageningen

Postbus 230, 6700 AE Wageningen

Telefoon 08370-19110

Telex 75180 RIKIL

Telefax 08370-17717

Copyright 1989, Rijks-Kwaliteitsinstituut voor land- en tuinbouw-
produkten.

Overname van de inhoud is toegestaan, mits met duidelijke bronvermel-
ding.

VERZENDLIJST

INTERN:

directeur

sectorhoofden

produktcoördinator vlees

afdeling Biofarmaceutische Analyse (4x)

afdeling Organische Contaminanten (6x)

programmabeheer en informatieverzorging

drs P.H.U. de Vries

INHOUD	<u>blz</u>
1 INLEIDING	3
2 PRINCIPE VAN DE METHODE	3
3 PROBLEEMSTELLING	5
4 DATA GEBRUIK VAN INTERPRETATIE RESULTATEN RINGONDERZOEK	5
5 ALTERNATIEVE WIJZE VAN EXTRACTEREN VAN SPECTRA	7
6 RESULTATEN EN DISCUSSIE	8
7 CONCLUSIES	11
8 AANBEVELINGEN	12
LITERATUUR	12

1 INLEIDING

Vanweg het ontstaan van een onplezierige geur bij de bereiding van varkensvlees afkomstig van beren is het binnen de EEG niet toegestaan om vlees van beren te exporteren naar lidstaten en is in de Bondsrepubliek Duitsland de handel in vlees van beren, met een karkasgewicht van meer dan 40 kg verboden (1). Aangetoond is dat onder andere androstenon, een steroidhormoon, correleerd met het voorkomen van deze geur (2.3.4).

Om te controleren of varkensvlees afkomstig is van beren ouder dan 6 maanden wordt androstenon dan ook gebruikt als parameter. Indien in het vet meer dan 300 µg/kg, androstenon wordt aangetoond, wordt bewezen geacht dat het monster afkomstig is van een beer. Om de controle ook in Nederland te kunnen uitvoeren is door het RIKILT een methode voor het bepalen van androstenon ontwikkeld, gebaseerd op gaschromatografie-massaspectrometrie (5).

De ontwikkelde methode is uitvoerig getest en toegepast bij onderzoek naar het androstenongehalte in spekmonsters van beren, borgen, zeugen, binnenberen en tweeslachtigen (6).

Ook is de methode toegepast voor keuringsdoeleinden en bij de uitvoering van een ringonderzoek (6). Bij controle na verschijnen van het rapport (6), van de analyseresultaten van het ringonderzoek bleek dat circa 20% tot 40% van de positief gerapporteerde monsters niet voldeden aan de in het voorschrift gestelde criteria.

2 PRINCIPE VAN DE METHODE

Het te onderzoeken monster varkensvet wordt gemalen en geëxtraheerd met ethylacetaat. Na afdampen van de ethylacetaat wordt 1.0 gram vet opgelost in een mengsel van cyclohexaan en ethylacetaat waaraan androstenon, een op androstenon gelijkende verbinding, als interne standaard wordt toegevoegd. Het eventueel aanwezige androstenon en androstanon wordt met behulp van gelpermeatie chromatografie gescheiden van het vet. De androstenon en androstanon bevattende fractie wordt drooggedampt en het residu wordt gederivatiseerd met methoxylamine (MOX-HCL). De ketogroep in androstenon en in androstanon wordt omgezet tot minder polaire en meer vluchtige metoxim derivaten.

Na opnieuw droogdampen wordt het residu opgenomen in 25 μ l ethylacetaat, waaraan 2 μ g/ml HCB is toegevoegd en een aliquot wordt geanalyseerd met behulp van gaschromatografie-massaspectrometrie waarbij in de "Multiple Ion Detection" mode voor androstenon de volgende ionen gemeten worden: m/z 301; 286; 270; 254 en voor de interne standaard androstanon: m/z 303; 288; 272; 256 van de interne standaard hexachloorbenzeen wordt alleen het molecuulion M^+ 284 gemeten. De methode is beschreven in intern analyse voorschrift A 530 (5)

De analyse resultaten worden getoetst op de hieronder beschreven criteria (overgenomen uit 5).

Bij de GC-scheiding van zowel androstenon- als het androstanonderivaat worden per component twee pieken waargenomen welke afkomstig zijn van de syn- en antivorm van het derivaat.

I- Controleer of de beide pieken van androstenon in de (controle) monsters aan de criteria voor de retentietijden voldoen: +/- 5 seconden ten opzichte van de androstenon standaard.

II- Controleer bij de (controle) monsters of van beide androstenonpieken de intensiteitsverhoudingen van de gemeten ionen (m/e 301; 270 en 254) ten opzichte van het meest intense ion (m/e 286) overeenkomen met de verhouding als gemeten bij beide pieken van de androstenonstandaard met een maximale variatie van + 10%.

In het monster wordt androstenon gevonden indien aan bovenstaande criteria wordt voldaan.

III- De HCB-piek (m/e 284) dient alleen ter controle van de injectie op de GCMS. Het oppervlak van de HCB-piek in de (controle) monsters dient groter te zijn dan 50% van het gemiddelde oppervlak van de HCB-piek in de standaarden. Indien hieraan niet wordt voldaan dient de injectie opnieuw te worden uitgevoerd.

IV - De som van het oppervlak van beide androstenonpieken (I.S.; m/e 303) in de (controle) monsters dient groter te zijn dan 50% van het gemiddelde van de som van het oppervlak van beide androstenonpieken in de vijf standaarden.

Indien hieraan niet wordt voldaan, en wel aan het criterium vermeld bij III, dient het betreffende (controle) monster opnieuw in bewerking te worden genomen.

3 PROBLEEMSTELLING

Naar aanleiding van tegenstrijdige resultaten verkregen bij herkeuringsonderzoek, waarbij in de Bondsrepubliek Duitsland, met een immunochemische methode, in van Nederland afkomstige varkens hoge gehalten aan androstenon werd gevonden, welke monsters aan het RIKILT, herhaaldelijk, negatief bevonden werden is een ringonderzoek uitgevoerd. De resultaten van dit onderzoek zijn vastgelegd in RIKILT rapport 88.67 (6). Bij een controle achteraf na verschijnen van het rapport (6) bleek dat een aantal monsters uit de ringtest welke in eerste instantie positief waren gerapporteerd, niet voldeden aan de criteria zoals beschreven in het interne voorschrift (A 530 (5)). Nader onderzoek leerde dat ook in andere series in de onderzoeksperiode van de ringtest monster positief waren afgegeven terwijl niet voldaan was aan de gestelde criteria. Om na te gaan wat de consequenties waren van deze, mogelijk onterecht, positief afgegeven monsters is nader onderzoek uitgevoerd waarbij de analyseresultaten van het hierboven genoemde ringonderzoek zijn gebruikt. In eerste instantie is nagegaan welke en hoeveel monsters ten onrechte positief waren gerapporteerd en wat de afwijkingen waren ten opzichte van de criteria en/of één en ander afhankelijk is van het gehalte. Aansluitend is nagegaan of voldaan kan worden aan de criteria wanneer spectra op een andere wijze, dan tot nu toe, worden gegenereerd.

4 DATA GEBRUIK VAN INTERPRETATIE RESULTATEN RINGONDERZOEK

Het betreffende ringonderzoek omvatte 60 monsters spek en 5 controle labmonsters. Het ringonderzoek is uitgevoerd in 5 series. Van de onderzochte monsters werden 21 monsters positief gerapporteerd en wel met een gehalte variërend van 160 tot 1780 ppb. Zoals al vermeld bij controle achteraf, bleek dat van deze positief gerapporteerde monsters er een groot aantal niet voldeden aan de gestelde criteria.

Het bleek dat de relatieve intensiteit van de fragmentionen meer afweek dan volgens de criteria in het interne voorschrift toegestaan (10% criteria). Bij "globale" controle van de eerder geanalyseerde andere series voorafgaand aan de ringtest bleek ca. 20 tot 40% van de positief gerapporteerde monsters ook niet te voldoen aan de gestelde criteria. Met name monsters met een gehalte lager dan 200 ppb gaven nogal aanleiding tot afwijkingen. Opvallend was dat ook de standaardreeks welke voor iedere serie monsters werd geanalyseerd nogal afweek. Deze standaardenreeks, concentraties, overeenkomend met 50, 100, 200, 300, 400 en 500 ppb androstenon op vetbasis vertoonde afwijkingen ten opzichte van de criteria vooral wat betreft de relatieve intensiteit, althans vooral de standaarden op een niveau lager dan 200 ppb. Van de 5 gemeten series uit de ringtest zijn twee series bestudeerd. De verkregen gegevens van de positief gerapporteerde monsters zoals retentietijd, piek oppervlak en relatieve intensiteit van de fragmention zijn ingevoerd in een spreadsheet (lotus 123). Ook de gegevens van de interne standaarden hexachloorbenzeen en androstanon zijn opgenomen in de spreadsheet; dit om de reproduceerbaarheid van de HP-MSD respectievelijk van de totale bepaling te kunnen berekenen. De spectrale gegevens zijn op de volgende wijze verkregen.

Van het totale ionen stroom chromatogram wordt het ion op de hoogste intensiteit geëxtracteerd (M^+ 301). Dit ionprofiel werd geïntegreerd en hieraan worden een aantal grootheden, van belang voor de criteria, ontleend. Eén van deze grootheden is de retentietijd op de top van de piek. Daarna werd het spectrum op deze retentietijd genomen (zie fig. 1) en gebruikt voor kwalitatieve doeleinden. De relatieve intensiteit van de ionen werd berekend door de intensiteit van deze ionen uit te drukken als fractie van het meest intensieve ion (M^+ 301).

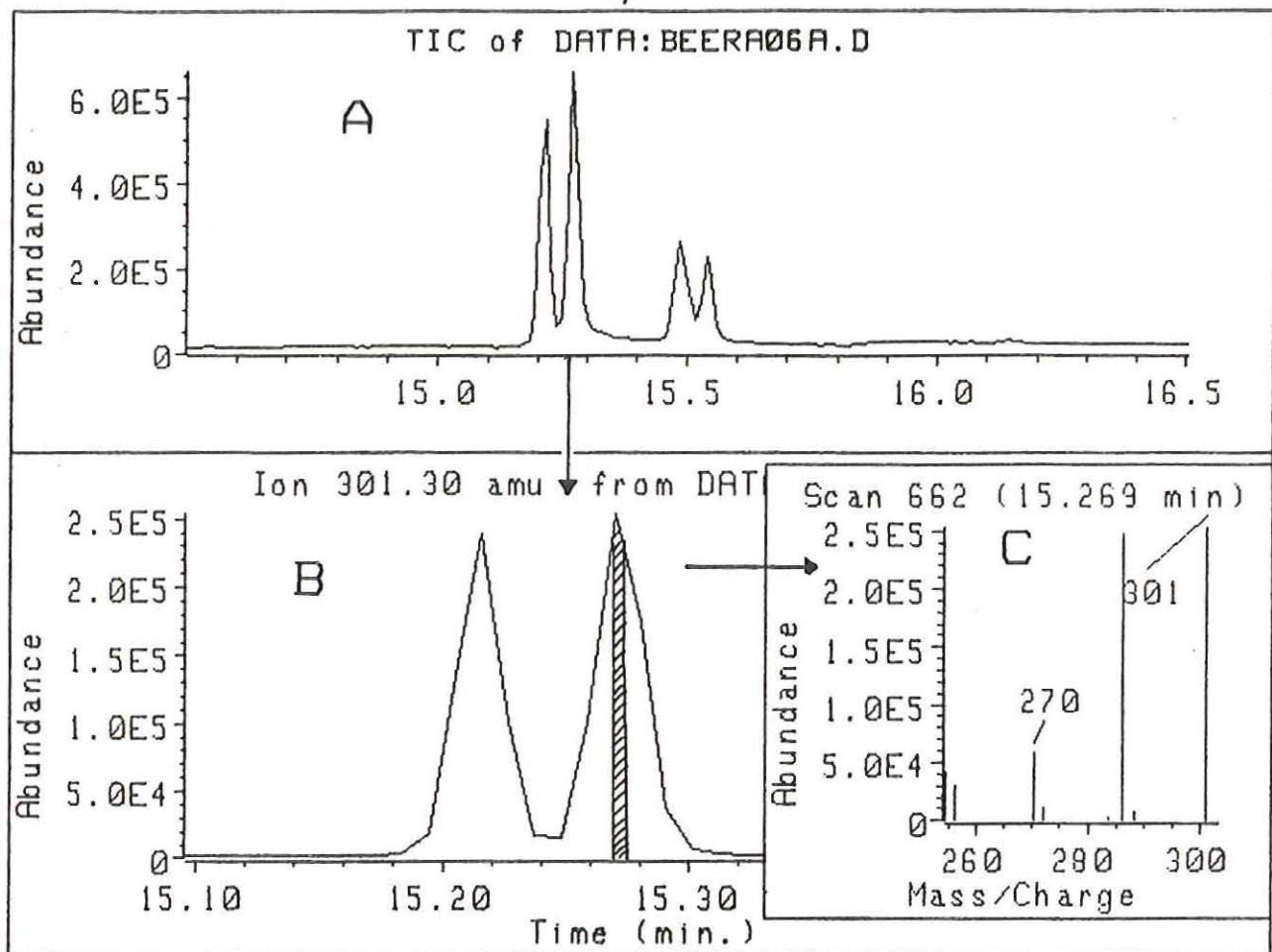


Fig. 1: Schematische weergave voor het verkrijgen van een spectrum op de top van de chromatografische piek

- A) Totaal ionenstroom
- B) Geëxtraheerd ion profiel
- C) Spectrum op de top van de piek

5 ALTERNATIEVE WIJZE VAN EXTRACTEREN VAN SPECTRA

Nadat de gegevens van de twee series monsters op de hierboven genoemde wijze verkregen en ingevoerd waren in de spreadsheet is het volgende gedaan.

Van de te onderzoeken component androstenon zijn de voor confirmatie doeleinden geselecteerde fragmentionen m/z 254, 270, 286 en het molecuul ion M^+ 301 geëxtraheerd. Van elk geëxtraheerd ionprofiel is het piekoppervlak gemeten via een automatische integratie procedure (zie fig. 2). Deze oppervlakten zijn uitgedrukt als fractie van het oppervlak van het molecuulion (M^+ 301) (zijnde het meest intense ion). Deze relatieve oppervlakten zijn eveneens in de spreadsheet opgenomen.

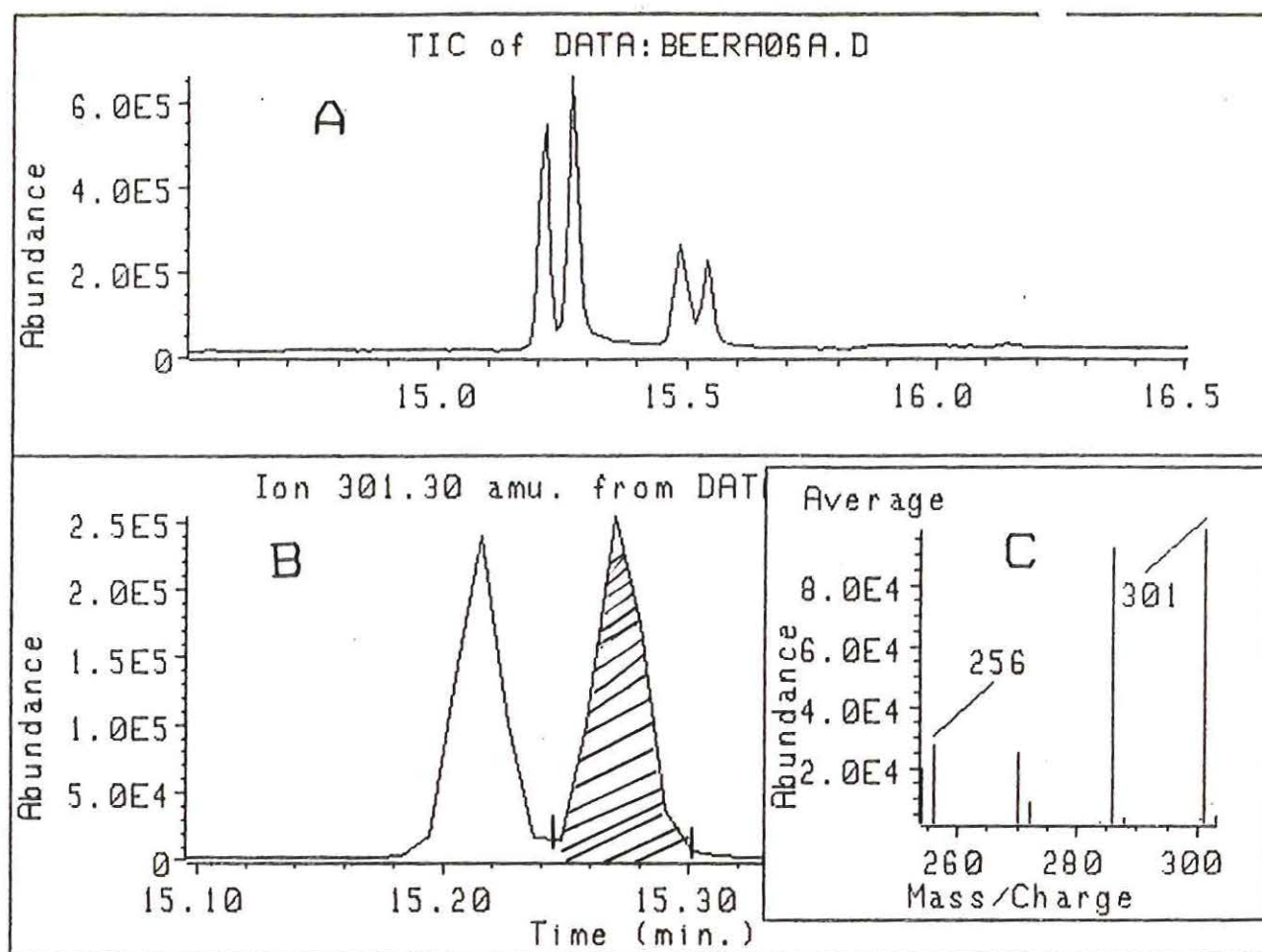


Fig.2 Schematische weergave voor het verkrijgen van een spectrum over de gehele chromatografische piek.

- A Totaal ionenstroom
- B Geëxtraheerd ion profiel
- C Spectrum over de gehele piek

6 RESULTATEN EN DISCUSSIE

Een gedeelte van de bestudeerde resultaten zijn weergegeven in dit rapport. De uitgebreide tabellen (zoals gebruikt voor de berekening zijn aanwezig op de afdeling OCON).

Zoals reeds vermeld zijn de gegevens van de twee ringtest series ingevoerd in het Lotus 123 programma waarna statistische berekeningen uitgevoerd zijn.

De ingevoerde gegevens zijn:

- Retentietijd van hexachloorbifenyyl, androstenon (comp 1 en 2) en androstanon (comp 1 en 2).
- Oppervlak meest intensieve ion van iedere component.
- Relatieve intensiteit fragmentionen op de top van de piek.
- Relatieve intensiteit fragmentionen over de gehele piek.

Met deze ingevoerde gegevens zijn de volgende statistische berekeningen uitgevoerd:

- Gemiddelde
- Standaarddeviatie
- Variatiecoëfficiënt
- Gemiddelde + 10% en gemiddelde - 10%

In eerste instantie zijn de berekeningen uitgevoerd met alle data uit de twee series waarna een opsplitsing is gemaakt die hieronder besproken wordt.

De resultaten van de gebruikte interne standaarden (hexachloorbenzeen en androstanon) zijn per meetserie vermeld in tabel 1. Vanwege de overzichtelijkheid zijn alleen de resultaten vermeld van hexachloorbenzeen en voor de eerste component van androstanon (component 2 vertoont eenzelfde beeld). Opvallend is dat de absolute respons van de eerste standaardenreeks van de standaarden, overeenkomend met 50, 100 en 300 ppb, erg laag was. De waarde van deze standaarden zijn dan ook weggelaten. Ook opvallend in deze tabel is de grote spreiding van de relatieve intensiteit van fragmention m/z 256 in androstanon (zowel component 1 als 2). De oorzaak van deze spreiding is niet duidelijk. Wel kan geconcludeerd worden dat dit ion niet geschikt is voor kwalitatieve en kwantitatieve doeleinden. De variatiecoëfficiënt van het oppervlak van M^+ 303 is in de monsters ongeveer tweemaal groter dan in de standaarden. Dit kan te wijten zijn aan een slechte reproduceerbaarheid van de opwerking of aan een slechte reproduceerbaarheid van de derivatisering in aanwezigheid van matrix.

De reproduceerbaarheid van de massaspectrometer is goed gezien de resultaten voor hexachloorbenzeen.

In tabel 2 zijn de resultaten van de eerste meetserie gegeven voor alleen component 1 van androstenon. Naast deze retentietijd van deze component is ook het oppervlak van het molecuulion (M^+ 303) gegeven alsmede spectrale informatie verkregen op de twee hierboven beschreven methoden. De standaarden waarvan het spectrum, verkregen via de tweede methode, afweek zijn weggelaten. Uit tabel 2 blijkt:

- De variatie coëfficiënt van de relatieve intensiteit van de fragmentionen is meestal lager wanneer het spectrum over de gehele piek wordt genomen dan op de top van
- Het fragmention m/z 270 heeft altijd een hogere variatiecoëfficiënt.

Bij de eerste serie (Beer) is de variatiecoëfficiënt voor m/z 270 > 5% zodat niet aan het gestelde criterium (zie voorschrift (5)) kan worden voldaan. Opgemerkt dient te worden dat de variatiecoëfficiënt verkregen is door standaarden van de verschillende concentraties te analyseren. Een verklaring van deze grote spreiding kon niet gevonden worden, waarbij bedacht moet worden dat uitbijters in deze tabel al weggelaten zijn en dat de reproduceerbaarheid van de oorspronkelijke data nog slechter was. Gesteld kan worden dat de eerste serie van het ringonderzoek, gezien de spreiding van de relatieve intensiteit van de fragmentionen van de standaard in z'n geheel opnieuw geanalyseerd had moeten worden. De indruk bestaat dat de relatieve intensiteit van enkele fragmentionen in de monsters hoger is dan in de standaarden.

De tweede serie (Bees) vertoont voor de standaarden zonder meer betere resultaten. De variatiecoëfficiënt van de relatieve intensiteit van de fragmentionen (spectrum over de gehele piek) is voor alle ionen beter dan 5%.

Aan de hand van deze serie is dan ook nagegaan wat de interpretatie van de resultaten van de tweede serie ringtestmonsters had moeten zijn. Eerst is gekeken naar de spectra verkregen op de top van de piek. Van de vijftien positief gerapporteerde monsters voldoen acht monsters niet aan de criteria.

Wanneer we kijken naar de spectra over de gehele piek dan blijkt dat een ongeveer even groot aantal monsters (niet altijd dezelfde) eveneens negatief te zijn.

De hierboven beschreven procedure voor component 1 voor androstenon is ook uitgevoerd voor component 2 met een ongeveer gelijklopend resultaat.

7 CONCLUSIE

- * Het extraheren van spectra uit een totaal ionenstroom chromatogram levert een lagere variatie coëfficiënt op wanneer de relatieve intensiteit berekend wordt uitgaande van het oppervlak van elk ion dan wanneer spectra genomen worden op de top van de piek.
- * Het niveau vanaf waar voldaan kan worden aan de gestelde criteria ligt voor de bepaling van androstenon in varkensvet op ongeveer 200 ppb.
- * De indruk bestaat dat de relatieve intensiteit van enkele fragmentionen in de monsters hoger is dan in de standaarden.
- * Uitgaande van de EEG criteria dat de relatieve intensiteit van de fragmentionen van de piek in het monster (uiteraard in het juiste retentietijd window) gelijk moet zijn aan de relatieve intensiteit van de overeenkomstige fragmentionen van de standaard met een toegelaten spreiding van $\pm 10\%$ en dat vier ionen gemeten moeten worden (RIKILT voorschrift) kan geconcludeerd worden dat een groot aantal monsters, in de voorbereidende fase en monsters uit de uitgevoerde ringtest ten onrechte positief gerapporteerd zijn).
- * De eertijds verkregen analyse resultaten zijn niet zorgvuldig op de juiste wijze geïnterpreteerd en de resultaten zouden dan ook herroepen moeten worden.

8 AANBEVELINGEN

- * Voor het berekenen van de relatieve intensiteit van de gemeten fragmenten moet uitgegaan worden van het totale oppervlak van elk van de, voor confirmatie doeleinden, geselecteerde ionen.
- * Aangezien het bepalingniveau voor de confirmatie van androstenon ca. 200 ppb en hoger is, dient de methodiek getoetst te worden aan de hand van standaarden en monsters en het interne analyse voorschrift dient daarna aangepast te worden.
- * Alvorens een serie monsters geanalyseerd kan worden dient een standaardreeks geanalyseerd en zorgvuldig geïnterpreteerd te worden, waarbij de variatiecoëfficiënt <5% moet zijn en voldoende respons verkregen moet worden. Bij geconstateerde afwijkingen dienen adequate maatregelen getroffen te worden bijvoorbeeld onderhoud massaspectrometer, bereiden van nieuwe derivaten etcetera.
- * De interpretatie van de analyse resultaten dient direct na de analyse met de juiste zorgvuldigheid te worden uitgevoerd zodat de eventueel afwijkende resultaten kan leiden tot herhaald onderzoek van het desbetreffende monster, onder verantwoording van de groep confirmatie/identificatie van de afdeling OCON.

9 LITERATUUR

1. Claus R., Mahler G. en Münster E., Archiv für Lebensmittelhyg. 39 (1988) 87-90
2. Patterson R.L.S., J. Sci. Fd Agric 19 (1968) 31-38
3. Walstra P. en Maarse H. - IVO-Rapport C-147 en Rapport no. 2, Researchgroep voor vlees en vleeswaren TNO (1970)
4. Walstra P., Engel B. en Mateman G., Proceedings of the European Meeting for Meat Research Winters 32 (1986) 29-29
5. Intern Analyse Voorschrift A 530 dd. 20-09-1988:
Varkenspek- De bepaling van Androstenon - GCMS
6. RIKILT Rapport 88.67: de bepaling van androstenon in varkensvet in het kader van de controle op berevlees

INTERNE STANDAARD COMP 1

MONSTER INFO		RT HCB	AREA	RT	AREA	REL INT % GENRELE PEEK			
PPB			M/Z 284	COMP 1	M/Z 303	303	288	272	256
=====									
ST3	200	11.02	10831221	15.49	1708027	100.0	26.6	44.7	12.1
ST5	400	11.02	10470414	15.49	1751479	100.0	26.1	44.9	9.6
ST6	500	11.02	10469806	15.49	1766674	100.0	26.0	43.8	11.8
avg		11.02	10590414	15.49	1742060	100.0	26.2	44.4	11.2
std		0.0005	170277	0.0005	24852		0.2	0.5	1.1
v.c(%)		0.0043	1.61	0.0030	1.43		0.9	1.0	9.9
avg-10%		9.91	9531372	13.94	1567854	90.0	23.6	40.0	10.1
avg+10%		12.12	11649455	17.03	1916266	110.0	28.8	48.9	12.3
+	200	11.02	10560735	15.49	2271674	100.0	26.2	43.5	27.6
M2	200	11.02	10452758	15.48	1667304	100.0	26.2	46.0	32.1
M3	200	11.02	10554270	15.48	1626796	100.0	27.2	47.9	26.2
M8		11.01	11079615	15.49	2695808	100.0	26.0	46.8	28.2
M9		11.01	10798768	15.49	3591418	100.0	26.0	45.2	17.8
M10		11.02	10939807	15.48	3333021	100.0	26.8	46.9	25.0
M13		11.01	10538802	15.49	3357083	100.0	27.0	50.0	16.3
M21		11.01	10560260	15.49	2356502	100.0	26.6	48.2	28.8
M22		11.02	10290461	15.48	3536106	100.0	26.2	49.3	20.2
M23		11.02	10370922	15.49	1659298	100.0	26.7	46.2	32.9
M26		11.02	10542335	15.49	3226610	100.0	26.0	48.7	11.5
M27		11.02	10484513	15.49	3820103	100.0	25.8	27.8	10.4
avg		11.01	10597771	15.48	2761810	100.0	26.4	45.5	23.1
std		0.0023	219951	0.0014	786079		0.4	5.6	7.4
v.c(%)		0.0210	2.08	0.0093	28.46		1.6	12.3	31.9
avg-10%		9.91	9537993	13.94	2485629	90.0	23.7	41.0	20.8
avg+10%		12.12	11657548	17.03	3037991	110.0	29.0	50.1	25.4
ST1	50	11.02	9918737	15.49	1903564	100.0	25.8	47.2	12.1
ST2	100	11.02	9781479	15.49	1781242	100.0	26.4	47.3	13.5
ST3	200	11.02	10113956	15.48	1981307	100.0	27.5	47.5	13.8
ST4	300	11.02	9432370	15.48	2098096	100.0	26.3	47.0	12.1
ST5	400	11.02	10217006	15.48	2449512	100.0	26.1	47.2	10.8
ST6	500	11.02	10875412	15.48	2492475	100.0	26.8	47.5	12.0
avg		11.02	10056493	15.48	2117699	100.0	26.5	47.3	12.4
std		0.0005	444191	0.0021	267270		0.5	0.2	1.0
v.c(%)		0.0045	4.42	0.0133	12.62		2.0	0.4	8.2
avg-10%		9.91	9050844	13.93	1905929	90.0	23.8	42.6	11.2
avg+10%		12.12	11062143	17.03	2329469	110.0	29.1	52.0	13.6

TABEL 2: REPRODUCTIEBAARHEID SPECTRUM ANDROSTENON

GC-MS ONDERZOEK ANDROSTENON

COMP 1 ANDROSTENON

SERIE ...BREER

120988 D1 1-28

MONSTER	INFO PPB	RT COMP 1	AREA M/Z 301	REL INT % OF TOP				REL INT % GEHELE PEAK			
				301	286	270	254	301	286	270	254
ST3	200	15.22	671507	100.0	78.3	23.7	17.2	100.0	87.3	31.6	22.9
ST4	300	15.22	941694	100.0	81.2	19.9	15.0	100.0	89.5	27.2	21.8
ST5	400	15.22	2436674	100.0	79.6	18.7	15.4	100.0	86.3	23.8	22.4
ST6	500	15.22	3266612	100.0	80.7	17.7	15.2	100.0	86.2	22.5	22.0
avg		15.22		100.0	80.0	20.0	15.7	100.0	87.3	26.3	22.3
std		0.0004			1.1	2.3	0.9		1.3	3.5	0.4
v.c(%)		0.0028			1.4	11.4	5.6		1.5	13.3	1.8
avg-10%		13.69		90.0	72.0	18.0	14.1	90.0	78.6	23.6	20.0
avg+10%		16.74		110.0	87.9	22.0	17.3	110.0	96.0	28.9	24.5
BL+	200	15.22	2411152	100.0	94.5	29.4	17.8	92.6	100.0	32.8	20.6
M2	200	15.21	1639384	100.0	95.5	33.6	24.4	100.0	99.6	36.2	21.8
M3	200	15.21	1587706	99.7	100.0	35.2	24.9	100.0	98.5	36.9	21.6
M8		15.21	2165288	100.0	90.0	27.0	14.8	90.0	100.0	38.7	19.6
M9		15.21	4387380	99.2	100.0	32.3	26.9	100.0	98.8	30.2	22.7
M10		15.21	3986084	100.0	80.1	19.0	13.0	100.0	95.5	28.5	22.7
M13		15.21	13845871	100.0	80.5	18.4	14.2	100.0	89.9	25.8	24.0
M21		15.21	4318109	100.0	97.6	30.0	25.8	100.0	98.0	29.2	22.8
M22		15.21	6661173	100.0	94.0	27.3	24.9	100.0	92.5	26.0	22.5
M23		15.22	6888877	100.0	84.3	20.6	15.5	100.0	94.1	26.9	22.5
M26		15.21	2552367	100.0	99.5	31.9	27.6	100.0	99.8	30.6	22.5
M27		15.21	2373020	95.0	100.0	32.0	24.6	95.1	100.0	31.2	20.8
avg		15.21		99.5	93.0	28.1	21.2	98.1	97.2	31.1	22.0
std		0.0028		1.4	7.2	5.5	5.4	3.4	3.3	4.1	1.1
v.c(%)		0.0183		1.4	7.8	19.7	25.3	3.4	3.4	13.2	5.2
avg-10%		13.69		89.5	83.7	25.3	19.1	88.3	87.5	28.0	19.8
avg+10%		16.73		109.4	102.3	30.9	23.3	108.0	106.9	34.2	24.2
ST1	50	15.21	428295	100.0	79.8	23.4	19.8	100.0	90.0	28.5	21.1
ST2	100	15.21	792239	100.0	79.0	17.9	15.5	100.0	88.6	23.6	22.0
ST3	200	15.21	1840305	100.0	94.5	27.5	26.0	100.0	87.9	23.5	21.8
ST4	300	15.21	2833316	100.0	94.5	27.2	26.0	100.0	87.0	23.1	22.2
ST5	400	15.21	4431362	100.0	87.1	22.7	20.8	100.0	86.6	22.9	22.1
ST6	500	15.21	5776687	100.0	89.0	24.6	23.6	100.0	86.5	23.4	22.6
avg		15.21		100.0	87.3	23.9	22.0	100.0	87.8	24.2	22.0
std		0.0025			6.2	3.2	3.7		1.2	1.9	0.5
v.c(%)		0.0163			7.1	13.5	17.0		1.4	8.0	2.1
avg-10%		13.69		90.0	78.6	21.5	19.8	90.0	79.0	21.7	19.8
avg+10%		16.73		110.0	96.0	26.3	24.1	110.0	96.5	26.6	24.1

VERVOLG TABEL 2

GC-MS ONDERZOEK ANDROSTENON
SERIE ...BEES

130988 D2 1-27

COMP 1 ANDROSTENON

MONSTER	INFO	RT	AREA	REL INT % OP TOP				REL INT % GEHELE PEAK					
				COMP 1	M/Z 301	301	286	270	254	301	286	270	254
	PPB												
	PPB	COMP 1	M/Z 301	301	286	270	254	301	286	270	254		
ST2	100	15.21	1529961	100.0	81.4	23.4	19.3	100.0	85.0	25.1	20.6		
ST3	200	15.21	3239202	100.0	82.7	20.6	17.5	100.0	84.9	23.9	22.0		
ST4	300	15.21	4484166	100.0	83.6	21.1	19.5	100.0	86.5	23.0	22.3		
ST5	400	15.21	6840925	100.0	82.1	20.2	17.7	100.0	84.7	22.6	22.5		
ST6	500	15.21	7069636	100.0	82.7	20.2	17.6	100.0	85.5	22.8	22.6		
z		15.21		100.0	82.5	21.1	18.3	100.0	85.3	23.5	22.0		
std		0.0006			0.7	1.2	0.9	0.0	0.6	0.9	0.7		
v.c(%)		0.0042			0.9	5.7	4.8	0.0	0.7	3.9	3.4		
avg-10%		13.69		90.0	74.3	19.0	16.5	90.0	76.8	21.1	19.8		
avg+10%		16.73		110.0	90.8	23.2	20.2	110.0	93.9	25.8	24.2		
BL+	200	15.20	3846609	100.0	85.2	22.6	16.7	100.0	93.6	28.0	21.8		
M2	200	15.21	2859129	100.0	95.3	26.6	21.4	100.0	99.3	26.6	22.1		
M3	200	15.21	2455780	100.0	90.0	26.1	18.3	99.3	100.0	33.5	21.5		
M4		15.21	2288398	100.0	91.7	26.4	20.0	99.4	100.0	31.5	21.6		
M5		15.21	2584284	100.0	86.2	23.1	18.4	100.0	92.6	28.6	21.9		
M6		15.21	9898773	100.0	86.2	22.5	20.2	100.0	88.3	25.1	23.6		
M7		15.21	10574888	100.0	87.6	24.5	22.4	100.0	89.1	25.2	23.9		
M10		15.21	6431584	100.0	83.9	20.2	15.8	100.0	92.1	26.4	22.5		
M11		15.21	6330704	100.0	83.4	20.4	16.7	100.0	89.4	25.7	22.1		
M14		15.21	17310843	100.0	85.9	22.1	19.1	100.0	88.3	25.0	24.5		
M15		15.21	20499937	100.0	87.1	23.7	21.3	100.0	87.1	25.2	24.5		
M16		15.21	4191547	100.0	85.7	21.6	16.5	100.0	97.8	28.0	22.2		
7		15.21	3333260	100.0	88.0	23.7	16.6	97.3	100.0	30.5	21.5		
M18		15.21	3158862	100.0	91.7	25.3	18.4	95.3	100.0	30.2	20.8		
M19		15.21	4511988	100.0	86.2	21.8	16.5	100.0	95.7	27.4	22.3		
avg		15.21		100.0	87.6	23.4	18.6	99.4	94.2	27.8	22.4		
std		0.0009			3.1	2.0	2.0	1.3	4.8	2.5	1.1		
v.c(%)		0.0057			3.6	8.5	11.0	1.3	5.1	9.1	4.9		
avg-10%		13.69		90.0	78.8	21.0	16.7	89.5	84.8	25.0	20.2		
avg+10%		16.73		110.0	96.4	25.7	20.4	109.4	103.6	30.6	24.7		