

Projectnr.: 71.469.01  
Surveillance-proef dioxines in diervoeders

Projectleider: W.A. Traag en L.A.P. Hoogenboom

Rapport 2001. 004

Maart 2001

## Validatie en toepassing van de CALUX-bioassay voor diervoeders

W.A. Traag en L.A.P. Hoogenboom

Afdeling: Natuurlijke Inhoudstoffen en Contaminanten (NRC)  
Veiligheid en Gezondheid van Voedsel (VGV)

Medewerkers: L. Portier, Th.H.G. Polman, C. Onstenk, G.D. van Bruchem, G. van der Weg,  
W.A. Traag, L.A.P. Hoogenboom

Opdrachtgever: LNV directie Landbouw, ir. H. Wellen

Rijks-Kwaliteitsinstituut voor land- en tuinbouwproducten (RIKILT)  
Bornsesteeg 45, 6708 PD Wageningen  
Postbus 230, 6700 AE Wageningen  
Telefoon 0317-475400  
Telefax 0317-41771

Copyright 2001, Rijks-Kwaliteitsinstituut voor land- en tuinbouwprodukten (RIKILT).  
Overname van de inhoud is toegestaan mits met duidelijke bronvermelding.

## VERZENDLIJST

### INTERN:

directeur

auteur(s)

programmaleiders (4x)

in- en externe communicatie (2x)

bibliotheek (3x)

### EXTERN:

Ministerie LNV, Directie Landbouw, ir. H. Wellen

Leden werkgroep Dioxines

Prof. dr. A. Brouwer, Instituut voor Milieuvraagstukken, Vrije Universiteit, Amsterdam

	blz.
INHOUD	1
SAMENVATTING	3
1 DOELSTELLING	5
2 INLEIDING	5
3 MATERIAAL EN METHODEN	5
3.1 Voermonsters	5
3.2 CALUX-bioassay	5
3.2.1 Extractie en blootstelling	5
3.2.2 Testinterpretatie	6
3.3 GC/MS analyse	6
3.3.1 Monstervoorbehandeling en Meting	6
3.3.2 Identificatie en kwantificering	7
4 RESULTATEN	7
4.1 Validatie CALUX-assay	7
4.2 Onderzoek van veevoedermonsters	9
4.2.1 CALUX	9
4.2.2 GC/MS	10
5 CONCLUSIES	11
BIJLAGEN	
A	Resultaten van de referentiemonsters citruspulp in de verschillende extractie (CADIOX) en test (H4Luc) series
B	Citruspulp, vergelijking GC/MS versus CALUX data
C	Rapportage veevoerders
D	GC/MS resultaten van dioxines en non-ortho PCB's in 12 diervoeders

## SAMENVATTING

In opdracht van het ministerie van LNV en in nauwe samenwerking met het Produktschap voor diervoeders, is onderzoek verricht naar de mogelijke aanwezigheid van dioxines in veevoeder. Voor dit onderzoek werd gebruik gemaakt van de CALUX-bioassay gebaseerd op een verhoogde aanmaak van luciferase door speciaal hiervoor gemaakte H4IIE cellen na blootstelling aan dioxines. Monsters werden geëxtraheerd, waarna het extract werd opgewerkt met zure silica kolommen.

De test werd m.b.v. citrus pulp monsters in de range van 0-2000 pg i-TEQ/kg gevalideerd. Daarnaast werd een serie van 71 verschillende citruspulp monsters onderzocht waarvan het gehalte met GC/MS bepaald was. Op basis van deze validatie kan geconcludeerd worden dat de test uitermate geschikt is voor de detectie van dioxines in veevoeders, met een verwaarloosbare kans op vals-negatieve resultaten en een kleine kans op vals-positieve resultaten (7%).

Onderzoek op 108 veevoedermonsters, verzameld over 5 verschillende kwartalen in 1998 en 1999, leverde uiteindelijk twee verdachte monsters op met een licht verhoogd signaal t.o.v. de referentiemonsters citruspulp. Vier andere monsters die in eerste instantie in juni 1999 als licht verhoogd zijn gemeld, gaven bij nieuwe analyse een negatief CALUX-resultaat.

Samen met 8 andere, negatief bevonden monsters, geselecteerd op basis van een relatief hoog signaal, werden de twee verdachte monsters onderzocht met GC/MS. De twee in de CALUX verdachte monsters, afkomstig uit het vierde kwartaal van 1998, gaven een verhoogd gehalte te zien in de range van 500-2000 pg i-TEQ/kg en hoger dan de recent vastgestelde norm voor diervoeders van 765 pg TEQ/kg voor alleen dioxines. De resterende 8 monsters bevatten geen aantoonbare gehalten aan dioxines of dioxine-achtige PCB's.

Op basis van deze resultaten kan geconcludeerd worden dat de CALUX-bioassay in combinatie met een zure silica clean-up procedure uitstekend geschikt is voor het screenen van veevoeders op aanwezigheid van dioxines boven de voor veevoeders geldende tolerantie van 750 pg i-TEQ/kg.

## 1 DOELSTELLING

Validatie van de CALUX-bioassay voor citruspulp als model voor veevoeders, gevolgd door het screenen van een serie veevoeders op de mogelijke aanwezigheid van dioxines. De CALUX-assay wordt ondersteund door GC/MS analyses op verdachte monsters en een beperkt aantal negatieve monsters.

## 2. INLEIDING

Monitoring van monsters op aanwezigheid van dioxines wordt ernstig bemoeilijkt door de complexiteit, de tijdsduur en met name de kosten van de analyse, die gebaseerd is op een intensieve clean-up en detectie met hoog-resolutie massa-spectrometrie. In samenwerking met de Universiteit Wageningen en de University of California in Davis (USA), heeft het RIKILT daarom gewerkt aan de ontwikkeling en toepassing van een bioassay waarmee dioxine-achtige stoffen kunnen worden aangetoond. De assay berust op het gebruik van een speciaal ontwikkelde ratten hepatoma cellijn, die in reactie op de binding van dioxines aan de zogenaamde Ah-receptor, overgaat tot het aanmaken van het enzym luciferase. Naarmate de concentratie aan dioxines in het monsterextract hoger is, wordt er door de cellen meer luciferase aangemaakt. Daarbij is de respons van de cellen op de diverse dioxines en dioxine-achtige PCB's conform de verschillen in toxiciteit zoals die tot uiting komen in de zogenaamde toxische equivalentie factoren of TEF-waardes.

In combinatie met een zure silica clean-up procedure, is de test inmiddels gevalideerd voor melkvet (Bovee *et al.* 1998), waarbij de test goed in staat bleek om melkmonsters met een verhoogd dioxine-gehalte aan te wijzen. Begin 1998 is de test voor het eerst in de praktijk toegepast op Braziliaanse citruspulp nadat deze verontreinigd bleek met dioxines. Eind 1998 is besloten om de test officieel te valideren voor veevoeders en veevoedergrondstoffen en vervolgens over te gaan op het screenen van vier series mengvoeders, verzameld over vier kwartalen. Resultaten van het onderzoek bij de eerste twee series zijn reeds in juni 1999 gerapporteerd aan LNV.

## 3. MATERIAAL EN METHODE

### 3.1 Voermonsters

Voermonsters werden aangeleverd door de KDD, waarbij gestreefd werd naar 25 monsters per kwartaal, te beginnen met het vierde kwartaal van 1998 en eindigend met het vierde kwartaal van 1999.

### 3.2 CALUX-bioassay

#### 3.2.1. Extractie en blootstelling

Monsters werden onderzocht in de CALUX-bioassay volgens RSV's A0877 en A0880. Daarbij werd 5 gram monster twee maal geëxtraheerd met hexaan/diethylether (97/3). Het extract werd ingedampt tot een klein volume en vervolgens gezuiverd op een 10 grams zure silica kolom. Het eluaat werd in een Speedvac ingedampt tot klein volume, gemengd met 20 µl dimethylsulfoxide

DMSO) en verder drooggedampt onder stikstof. Na toevoeging van nogmaals 20 µl DMSO werden de extracten bewaard bij -20°C.

Na ontdooien werden de extracten 10 minuten behandeld in een ultrasoon trilbad en vervolgens gecentrifugeerd gedurende 10 minuten. Het extract in DMSO werd vervolgens overgebracht naar 2 ml kweekmedium. Van deze oplossing werd 250 µl in drievoud toegevoegd aan een 48 wells plaat waarin zich de H4IIE cellen bevonden met reeds 250 µl medium per well. De cellen werden vervolgens gedurende 20 uur blootgesteld bij 37°C. Bij elke test werd een concentratiereeks TCDD, oplopend van 0,5 tot 500 pM meegenomen ter controle van de cellen.

Monsters werden opgewerkt in series van maximaal 26. In elke serie werden een aantal referentiemonsters citruspulp meegenomen, waarin eerder het dioxinegehalte m.b.v. de GC/MS referentiemethode was vastgesteld. Series werden uniek genummerd (CADIOXxxx). Experimenten (incubaties) werden uniek genummerd (H4Lucxxx). In principe kunnen er meerdere extractieseries (CADIOX) in één incubatieexperiment (H4Luc) getest worden.

Na afloop werden de cellen gecontroleerd op afwezigheid van toxische effecten van de extracten en vervolgens gewassen en gelyseerd. Na centrifugatie werd van het lysaat 20 µl overgebracht in een witte 96-wells plaat. Het luciferase-gehalte in de lysaten werd bepaald in een luminometer waarbij door het apparaat eerst 100 µl reagens werd toegevoegd en vervolgens de lichtproductie werd gemeten.

### 3.2.2. Testinterpretatie

Bij de interpretatie van de test werd het signaal verkregen met het monster vergeleken met dat van een referentiemonster waarin het gehalte rond de residu limiet voor citruspulp lag (500 pg i-TEQ/kg). In de praktijk werd daartoe eerst het gemiddelde van de drie metingen (wells) berekend ( $X_r$ ) en gecorrigeerd voor het signaal verkregen met blanco citruspulp ( $X_b$ ). Vervolgens werd de ratio bepaald van het netto signaal van het monster en dat van de referentie ( $(X_m - X_b)/(X_r - X_m)$ ). Een ratio kleiner dan 1 betekent dat het signaal van het monster lager is dan dat van de referentie en dat het monster negatief is. Een ratio groter dan 1 wijst op de aanwezigheid van dioxines waardoor het monster als verdacht wordt afgegeven.

Ter controle van de test werd de ijklijn verkregen met TCDD beoordeeld, waarbij een minimale inductie van 20 maal het achtergrondsignaal moest worden verkregen. Bovendien moest er een duidelijk verhoogde respons zijn van het laagste referentiemonster t.o.v. het blancomonster.

## 3.3. GC/MS analyse

### 3.3.1. Monster voorbehandeling en meting

Van het gehomogeniseerde monster werd 60 gram opgewerkt en gemeten volgens voorschriften RSV A0560; A0561; A0562; A0563; A0565 and A0601.

Na extractie werd het extract geconcentreerd en opgenomen in 15 ml ethylacetate/cyclohexane (1:1 V/V). Hiervan werd 12.5 ml geïnjecteerd op een gelpermeatie kolom waarbij een scheiding verkregen wordt tussen dioxinen, PCBs and matrix componenten zoals vet en kleurstoffen. De dioxinen en PCB bevattende fractie werd opgevangen en verder gezuiverd over een  $Al_2O_3$  kolom. Vervolgens werden de dioxinen gescheiden van de PCB's door middel van een koolkolom (porous carbon column). De dioxinen bevattende fractie werd drooggedampt en opgenomen in 10 µl toluen en gemeten met behulp van gaschromatografie-hoge resolutie massaspectrometrie. Een aliquot (2 µl) van het extract werd geïnjecteerd in een gaschromatografisch systeem voorzien van een capillaire kolom gecoat met een apolaire fase (J&W DB-5-MS, l=60 m, ID=0.25

mm) in de splitless mode, welke gekoppeld was aan de massaspectrometer. De resolutie van de massaspectrometer was afgeregeld op 10.000 en meting vond plaats in "Selected Ion Recording" (SIR) mode.

### 3.3.2 Identificatie en kwantificering.

De dioxinen en planaire chloorbifenyyl congenen (PCB's 77, 126 en 169) werden geïdentificeerd op basis van de volgende twee karakteristieke parameters conform RSV A0565:

- retentie tijd
- ion verhouding van de belangrijkste twee ionen

Het gehalte werd berekend door interpolatie van de gemeten respons in het monster ten opzichte van een vijfpunts calibratie curve. Vervolgens zijn de gemeten gehalten omgerekend naar het gehalte aan 2,3,7,8-TCDD met behulp van de Toxische Equivalentie Factoren (TEF) en aansluitend gesommeerd.

## 4. RESULTATEN

### 4.1. Validatie CALUX-assay

Bij de CALUX bioassay werd 5 gram monster geëxtraheerd en uiteindelijk in 2 ml kweekmedium opgenomen, waarvan 0,25 ml werd toegevoegd met een well met daarin de cellen en 0,25 ml blanco medium. Omgerekend betekent dit dat per well het extract van 0,625 gram voer werd getest in 0,5 ml medium. Wanneer wordt uitgegaan van een verhoogd signaal vanaf een concentratie van 0,5 pM TCDD (ofwel 80 fg/well), dan zou reeds een verhoogd signaal gemeten kunnen worden bij 128 pg i-TEQ/kg voer, dus ruim onder de grens van 500 pg i-TEQ/kg. Geconcludeerd kan worden dat de test in principe gevoelig genoeg is voor het testen van voermonsters.

De test werd vervolgens gevalideerd voor citruspulp. In 1998 is begonnen met het screenen van citruspulp en pulpbevattende veevoeders op de aanwezigheid van dioxines. De procedure is inmiddels geoptimaliseerd en verder aangepast aan het screeningskarakter van de test. Monsters worden daarbij vergeleken met een referentiemonster citruspulp van ongeveer 400 pg i-TEQ/kg, d.w.z. iets lager dan de grens van 500 pg i-TEQ/kg. Tabel 1 toont de resultaten van een experiment (H4Luc173) waarin vier verschillende monsters (0, 400, 1000 en 2000 pg i-TEQ/kg) in zesvoudig gemeten zijn. Er is een duidelijke dosis-gerelateerde toename in de respons, waarbij de monsters van 1000 en 2000 in alle gevallen een hogere respons gaven dan het referentiemonster van 400. Tabel 1 toont ook dezelfde extracten na vijfvoudige verdunning (H4Luc183). Duidelijk is dat de verhoogde monsters nog steeds een duidelijk verhoogd signaal geven t.o.v. het referentiemonster, maar dat het onderscheid tussen referentie en blanco erg klein wordt. Wel lijkt het onderscheid tussen de twee hoogste monsters duidelijker; in alle gevallen ligt de respons van het monster van 2000 hoger dan dat van het monster van 1000.

Tabel 1 Herhaalbaarheid van de analyse bij meting in zesvoud van citruspulpmonsters van 0, 400, 1000 en 2000 pg i-TEQ/kg in één extractieserie.

Concentratie (pg i-TEQ/kg)	Respons (RLUs)						Gemiddelde ± SD	CV (%)
	1	2	3	4	5	6		
0	653	708	742	639	788	935	695 ± 63	9
400	940	1018	892	882	1105	1078	913 ± 39	4
1000	1557	1625	1225	1620	1638	1480	1424 ± 91	6
2000	1689	1760	1402	1943	1807	1596	1643 ± 138	8
vijf maal verdunde extracten* *								
0	47	44	53	47	55	49	49 ± 4	9
400	63	49	67	57	64	55	59 ± 7	11
1000	104	106	133	111	138	124	120 ± 15	12
2000	175	196	170	162	187	183	179 ± 12	7

\* Voor het experiment is gebruik gemaakt van referentiemonsters 98/4482 (blanco), 98/4467 (400 pg/kg), 99/21353 (1000 pg/kg) en 99/21354 (2000 pg/kg).

\*\* Na opname van het extract in medium, werden deze oplossingen nog vijf maal verdund met vers medium.

Bijlage A toont de resultaten verkregen met referentiemonsters citruspulp in 51 verschillende extractieseries. In alle series gaf het referentiemonster van 300-400 pg i-TEQ/kg een verhoogde respons t.o.v. de blanco, en de monsters van 1000 en 2000 pg i-TEQ/kg een verhoogde respons t.o.v. de monsters van 300-400 pg i-TEQ/kg. Slechts in drie gevallen was de respons van het hoogste monster (2000 pg i-TEQ/kg) lager dan die van het monster van 1000 pg i-TEQ/kg. Dit wordt mogelijk veroorzaakt doordat de respons dichtbij de maximale respons ligt en verdere verdunning vereist is voor een betere differentiatie op dit niveau. In praktijk is dit echter niet van belang en gaat het er slechts om of de verhoogde monsters een hogere respons geven dan de lage referentie van 400 pg i-TEQ/kg.

Voor verdere validatie is gebruik gemaakt van 71 citruspulpmonsters en pulpbevattende veevoedermonsters, die tevens met de GC/MS geanalyseerd zijn. Daarbij zijn alleen monsters in de range 0-7000 pg i-TEQ/kg getest. Bijlage 2 laat de resultaten zien van een aantal (71) citruspulp- en citruspulp bevattende voermonsters die zijn gescreend met de geoptimaliseerde test. Van de 41 monsters met een GC/MS bepaald gehalte kleiner of gelijk aan 500 pg i-TEQ/kg gaven er 38 (93%) een negatief resultaat en waren er drie (7%) verdacht (zie Tabel 2). Hierbij betrof het monsters met een licht verhoogd (>250 pg i-TEQ/kg) dioxine-gehalte. Van de 30 monsters met een gehalte hoger dan 500 pg i-TEQ/kg waren er 3 cytotoxisch en gaven 27 een verhoogde respons. Na vijfvoudige verdunning gaven de drie toxische monsters alsnog een verhoogde respons te zien. Uit deze set gegevens kan geconcludeerd worden dat de kans op vals-negatieve resultaten vrijwel uitgesloten lijkt, en dat er een kleine kans is op vals-positieve resultaten.



Tabel 2. Evaluatie van praktijkmonsters citruspulp en pulp bevattende veevoeders\*\* gemeten met GC/MS en CALUX (gegevens in bijlage B).

Gehalte (pg i-TEQ/kg)	Totaal	Negatief	Verdacht
500 of lager	41	38	3
Hoger dan 500	30*	0	27

- \* 3 monsters veroorzaakten een cytotoxisch effect en konden dus niet beoordeeld worden. Na vijfvoudige verdunning gaven deze monsters alsnog een verhoogde respons te zien.
- \*\* Deze serie bevatte 10 pulpbevattende voeders, drie lage en 7 verhoogde monsters. Van de drie lage monsters was er 1 verdacht.

## 4.2 Onderzoek van veevoedermonsters

### 4.2.1. CALUX-analyses

Er zijn 108 monsters voer onderzocht waarvan de rapportages zijn opgenomen in bijlage C. In de tabellen is de gemiddelde respons in de test weergegeven in "relative light units" (RLU's), evenals dat van de referentiemonsters citruspulp. In totaal werden de monsters in 7 verschillende series getest waarvan er één een herhaling was. Door omstandigheden zijn in de eerste twee series citruspulp monsters van respectievelijk 2000 en 1000 pg i-TEQ/kg als referentie gebruikt, in alle andere series de monsters van 400 of 320 pg i-TEQ/kg. Dit betekent dat in de eerste twee series de monsters met een signaal dat iets lager was dan dat van de referentiemonsters als potentieel verdacht moeten worden beschouwd. Deze resultaten zijn in een eerste rapportage aan LNV vermeld, waarbij de qualificatie licht verhoogd is gebruikt om aan te geven dat het hier zeker niet om zwaar besmette voeders ging zoals in België. Ter vergelijking, het monster voer dat de aanleiding was tot de Belgische crisis bevatte ongeveer 1.000.000 pg TEQ/kg, dus 500x hoger dan de hoogste referentie. De monsters met de hoogste respons zijn in een later stadium wel opnieuw getest (serie 5).

In de eerste serie zijn 25 monsters getest waarvan er 2 een hogere respons gaven dan de referentie van 2000 pg i-TEQ/kg. Daarnaast gaven een aantal monsters een respons, die dicht tegen deze referentie aanzat en waarvan er één als verhoogd is beschouwd. In de tweede serie van 19 monsters gaf 1 monster een respons hoger dan die van de referentie 1000 pg i-TEQ/kg en 2 een respons net onder die van de referentie en deze werden daarom als verdacht beschouwd. De 18 monsters met de hoogste respons werden opnieuw getest in serie 5, ditmaal met de laagste referentie van 320 pg i-TEQ/kg. Twee monsters, die ook in de eerste serie een vrij hoog signaal gaven, waren verhoogd t.o.v. de referentie van 320 en zijn later onderzocht met GC/MS. De vier andere als licht verhoogd gerapporteerde monsters werden bij hertesten negatief bevonden.

In de derde serie zijn 12 monsters gestest waarvan er 1 een toxisch effect gaf en de rest negatief was. In serie 4 gaven alle monsters een negatief resultaat. In serie 6 zijn 39 monsters getest die allen negatief waren. Hetzelfde geldt voor de 10 monsters getest in serie 7.

Samenvattend kan geconcludeerd worden dat in de CALUX-bioassay van de 108 monsters er 2 verdacht waren en 1 niet beoordeeld kon worden op basis van cytotoxiciteit.

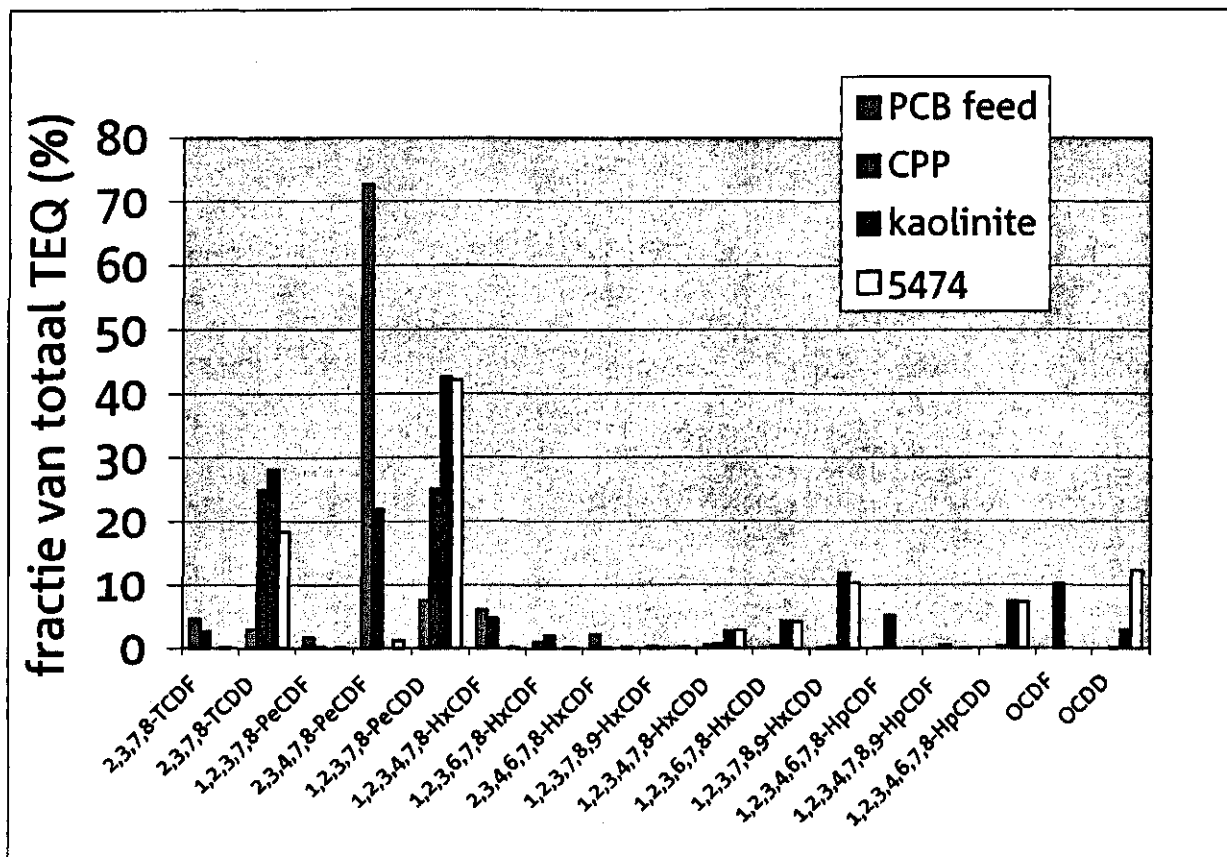
#### 4.2.2 GC/MS analyse

Op basis van de CALUX resultaten zijn er 10 monsters geselecteerd en onderzocht met GC/MS (Tabel 3, bijlage D). Van deze 10 monsters gaven er twee een verhoogde uitslag te zien. Bij deze twee monsters met RIKILT-nummers 99/5474 en 99/5487 was er sprake van een lichte verhoging (1532 en 892 pg i-TEQ/kg). Deze twee monsters waren ook de 2 die een verhoogde respons gaven in CALUX-assay.

Tabel 3. Resultaten GC/MS voor dioxines en non-ortho PCB's in 10 veevoeder monsters.

Monster RIKILT-nummer	CALUX-resultaat	GC/MS resultaat (pg i-TEQ/kg)	
		dioxines	PCB's
99/5467	negatief	< 250	< 250
99/5470	negatief	< 250	< 250
99/5474	<b>verdacht</b>	1532	< 250
99/5487	<b>verdacht</b>	892	< 250
99/5480	negatief	< 250	< 250
99/8845	negatief	< 250	< 250
00/2243	negatief	< 250	< 250
00/2250	negatief	< 250	< 250
00/2251	negatief	< 250	< 250
00/2252	negatief	< 250	< 250

Bij monster 99/5474, afkomstig uit het vierde kwartaal van 1998, is er duidelijk sprake van een PCDD (dibenzodioxine) patroon en dragen de furanen niet bij aan het dioxine-gehalte. In een later stadium (augustus 1999) bleek dat kaoliniet afkomstig uit Duitsland verontreinigd kon zijn met dioxines. Het patroon van de in de kaoliniet aangetroffen dioxines is vrij specifiek en vertoont grote overeenkomsten met de patronen aangetroffen in monster 99/5474 (figuur 1). Opgemerkt moet worden dat het hier een monster betreft uit 1998, dus voordat bekend werd dat kaoliniet besmet kon zijn met dioxines.



Figuur 1. Vergelijking van patronen van dioxinecongeneren in voer nr 98/5474 met het Belgische veevoer, Braziliaanse citruspulp en kaoliniet klei. Vergelijking gebeurt op basis van de relatieve bijdrage van de congenen aan het totale TEQ gehalte.

Bij monster 99/5487 dragen beide groepen ongeveer gelijk bij aan het gehalte. Bij geen van beide monsters lijkt het patroon op dat uit de Belgische affaire, waar sprake was van vooral bizenzofuranen, naast hoge gehalten dioxine-achtige PCB's.

## 5. CONCLUSIES

Het onderzoek toont duidelijk de voordelen aan van het gebruik van de CALUX-assay voor screening van veevoerders. Grote series veevoedermonsters kunnen in korte tijd worden gescreend op het target niveau tegen een relatief lage prijs. Eventueel verdachte monsters kunnen vervolgens worden onderzocht met GC/MS waardoor een beeld wordt verkregen omtrent de mogelijke herkomst van de dioxinebesmetting.

Uit het onderzoek met de CALUX test van 108 veevoeder monsters, verzameld over 5 verschillende kwartalen in 1998 en 1999 bleek dat twee monsters een licht verhoogd signaal gaven t.o.v. de referentiemonsters citruspulp. Deze monsters zijn dan ook geclassificeerd als zijnde verdacht. Uit het aanvullende onderzoek met behulp van de GC-HRMS referentie methode bleek dat er inderdaad sprake was van een lichte verhoging ten opzichte van de achtergrond.

In het monster varkensvoer (rikilt nr 99/5474) afkomstig uit het 4<sup>e</sup> kwartaal van 1998 werd dioxinen aangetoond. Het gehalte bedroeg 1532 pg i-TEQ/kg. Het patroon vertoonde grote overeenstemming met het patroon zoals later aangetroffen werd in kaoliniet uit Duitsland

In het monster rundveebrok (RIKILT nr. 99/5487) afkomstig uit het 4<sup>e</sup> kwartaal van 1998 werd dioxinen aangetoond. Het gehalte bedroeg 892 pg i-TEQ/kg. Het patroon wijst op een lichte verontreiniging ten gevolge van emissie van b.v een vuilverbrandingsinstallatie

De patronen in beide monsters vertonen geen overeenkomst met het patroon zoals verkregen in veevoeder wat verontreinigd is met vet afkomstig van de Belgische dioxinen crisis. Ook de afwezigheid van PCB's sluit een relatie met bovengenoemde crisis uit.

**Bijlage A. Resultaten van de referentiemonsters citruspulp in de verschillende extractie (CADIOX) en test (H4Luc) series. Resultaten in RLU's, gemiddelde  $\pm$  SD (n=3).**

CADIOX	H4Luc	98/4482 <250	21356 320	98/4467 400	21353 950	21354 2000
7	136	775 $\pm$ 69			1444 $\pm$ 134	1985 $\pm$ 284
14	143	312 $\pm$ 27		752 $\pm$ 94	1431 $\pm$ 99	1693 $\pm$ 279
40	155	1050 $\pm$ 33		1452 $\pm$ 127	2240 $\pm$ 199	2848 $\pm$ 130
48	158	726 $\pm$ 50		1357 $\pm$ 149	2011 $\pm$ 245	2452 $\pm$ 401
52	161	546 $\pm$ 39		622 $\pm$ 88	1258 $\pm$ 125	1208 $\pm$ 115
57	163	316 $\pm$ 8		413 $\pm$ 33	774 $\pm$ 33	1222 $\pm$ 125
58	165	549 $\pm$ 38		811 $\pm$ 83	1399 $\pm$ 94	1858 $\pm$ 286
61	167	301 $\pm$ 18		438 $\pm$ 14	897 $\pm$ 86	1069 $\pm$ 139
63	169	606 $\pm$ 6		755 $\pm$ 12	1073 $\pm$ 73	1268 $\pm$ 98
67	170	400 $\pm$ 34		662 $\pm$ 128	1122 $\pm$ 279	1352 $\pm$ 304
69	172	431 $\pm$ 55		600 $\pm$ 77	1140 $\pm$ 272	1091 $\pm$ 260
71	173	785 $\pm$ 37		1025 $\pm$ 55	1578 $\pm$ 232	1880 $\pm$ 274
73	174	112 $\pm$ 8		146 $\pm$ 20	190 $\pm$ 8	251 $\pm$ 20
		130 $\pm$ 7		173 $\pm$ 10	201 $\pm$ 10	215 $\pm$ 8
73hh	178	248 $\pm$ 14		426 $\pm$ 64	955 $\pm$ 125	920 $\pm$ 132
		286 $\pm$ 34		451 $\pm$ 61	795 $\pm$ 112	823 $\pm$ 134
74	175	475 $\pm$ 45	858 $\pm$ 86	637 $\pm$ 71	1078 $\pm$ 157	1399 $\pm$ 115
		503 $\pm$ 31	840 $\pm$ 102	636 $\pm$ 105	1071 $\pm$ 111	1468 $\pm$ 193
76	177	119 $\pm$ 4	225 $\pm$ 5	174 $\pm$ 8	359 $\pm$ 63	521 $\pm$ 49
		124 $\pm$ 7	204 $\pm$ 7	177 $\pm$ 16	338 $\pm$ 61	472 $\pm$ 17
77	177	136 $\pm$ 22	268 $\pm$ 42		407 $\pm$ 50	
		186 $\pm$ 17	314 $\pm$ 20		458 $\pm$ 67	
79	179	128 $\pm$ 10	280 $\pm$ 12		389 $\pm$ 62	502 $\pm$ 56
		92 $\pm$ 6	299 $\pm$ 28		402 $\pm$ 65	475 $\pm$ 28
80	180	639 $\pm$ 156	1173 $\pm$ 228		1560 $\pm$ 287	2206 $\pm$ 90
81	180	433 $\pm$ 13	910 $\pm$ 80		1053 $\pm$ 103	1609 $\pm$ 277
82	180	422 $\pm$ 19	574 $\pm$ 46		918 $\pm$ 38	1268 $\pm$ 133
84	181	220 $\pm$ 21	429 $\pm$ 55		710 $\pm$ 119	1172 $\pm$ 100
86	182	301 $\pm$ 55	506 $\pm$ 119		804 $\pm$ 36	922 $\pm$ 96
88	183	272 $\pm$ 11	502 $\pm$ 12		532 $\pm$ 150	746 $\pm$ 49
87	183	213 $\pm$ 13	373 $\pm$ 87		542 $\pm$ 74	672 $\pm$ 155
89	184	472 $\pm$ 60	1206 $\pm$ 72		1257 $\pm$ 207	1887 $\pm$ 161
91	184	632 $\pm$ 70	1072 $\pm$ 271		1437 $\pm$ 212	1637 $\pm$ 323
93	185	680 $\pm$ 29	1141 $\pm$ 141		1478 $\pm$ 235	1895 $\pm$ 211
95	186	561 $\pm$ 70	867 $\pm$ 116		1200 $\pm$ 193	1430 $\pm$ 278
97	187	482 $\pm$ 31	801 $\pm$ 123	698 $\pm$ 121	1177 $\pm$ 225	
100	188	632 $\pm$ 84	958 $\pm$ 53	782 $\pm$ 113	1357 $\pm$ 227	
101	189	239 $\pm$ 21	435 $\pm$ 49	446 $\pm$ 47	634 $\pm$ 96	
102	189	238 $\pm$ 23	473 $\pm$ 63		669 $\pm$ 59	849 $\pm$ 25
103	190	273 $\pm$ 22	698 $\pm$ 149		1071 $\pm$ 213	1186 $\pm$ 222
109	195	162 $\pm$ 7	365 $\pm$ 26		454 $\pm$ 20	768 $\pm$ 67
110	196	237 $\pm$ 14	466 $\pm$ 25		660 $\pm$ 28	880 $\pm$ 83
112	197	233 $\pm$ 20	435 $\pm$ 21		558 $\pm$ 98	1032 $\pm$ 85
116	199	480 $\pm$ 21	827 $\pm$ 72		1068 $\pm$ 121	1266 $\pm$ 124
119	202	1199 $\pm$ 36	1746 $\pm$ 193		2118 $\pm$ 118	
124	205	897 $\pm$ 86	1423 $\pm$ 139		1759 $\pm$ 191	2015 $\pm$ 240
126	207	619 $\pm$ 57	800 $\pm$ 90		1156 $\pm$ 97	1329 $\pm$ 112

**vervolg bijlage A**

CADIOX	H4Luc	98/4482 <250	21356 320	98/4467 400	21353 950	21354 2000
132	210	442 ± 35	792 ± 52		997 ± 183	1457 ± 324
133	210	1096 ± 57	1108 ± 119		1236 ± 205	1749 ± 234
135	211	1282 ± 93	1438 ± 230		2189 ± 155	2596 ± 293
139	212	794 ± 54	1041 ± 48		1452 ± 47	2044 ± 56
143	213	1115 ± 97	1584 ± 143		2191 ± 174	2781 ± 189
146	215	1045 ± 7	1624 ± 128		1800 ± 64	2676 ± 162
160	227	328 ± 1	533 ± 56		642 ± 65	998 ± 80
165	231	623 ± 16	890 ± 31		1220 ± 37	1460 ± 42
166	235	270 ± 7	438 ± 25		656 ± 50	904 ± 63
169	236	233 ± 7	484 ± 24		654 ± 54	1097 ± 176
174	239	452 ± 9	764 ± 55		1195 ± 64	1476 ± 106

## Bijlage B: citruspulp, vergelijking GC/MS versus CALUX data

RIKILT Nummer	Matrix	GC/MS (pg i-TEQ/kg)	CALUX
98/5397	citruspulp	< 250	negatief
98/5413	citruspulp	< 250	negatief
98/5419	voer	< 250	negatief
98/5420	citruspulp	< 250	negatief
98/5616	voer	< 250	negatief
98/8215	citruspulp	< 250	negatief
98/8216	citruspulp	< 250	negatief
98/8217	citruspulp	< 250	negatief
98/8219	citruspulp	< 250	negatief
98/8778	citruspulp	< 250	negatief
98/8781	citruspulp	< 250	negatief
98/8782	citruspulp	< 250	negatief
98/8783	citruspulp	< 250	negatief
98/9404	citruspulp	< 250	negatief
98/10810	citruspulp	< 250	negatief
98/15182	citruspulp	< 250	negatief
99/15436	citruspulp	< 250	negatief
99/15437	citruspulp	< 250	negatief
99/15438	citruspulp	< 250	negatief
99/20656	citruspulp	< 250	negatief
99/20857	citruspulp	< 250	negatief
99/21009	citruspulp	< 250	negatief
99/21010	citruspulp	< 250	negatief
99/21364	citruspulp	< 250	negatief
99/21562	citruspulp	< 250	negatief
99/21563	citruspulp	< 250	negatief
99/21812	citruspulp	< 250	negatief
99/21813	citruspulp	< 250	negatief
98/21814	citruspulp	< 250	negatief
99/21815	citruspulp	< 250	negatief
99/21816	citruspulp	< 250	negatief
99/22513	citruspulp	< 250	negatief
99/22903	citruspulp	< 250	negatief
99/24913	citruspulp	< 250	negatief
99/25041	citruspulp	< 250	negatief
98/4467	citruspulp	400	negatief
98/5490	citruspulp	400	verdacht
98/9050	citruspulp	474	negatief
98/5423	voer	500	verdacht
98/5553	citruspulp	500	negatief
98/5418	citruspulp	500	verdacht

## vervolg bijlage B

RIKILT nummer	Matrix	GC/MS (pg i-TEQ/kg)	CALUX
98/9289	citruspulp	512	<b>cytotoxisch</b>
98/5494	citruspulp	800	verdacht
98/5408	voer	900	verdacht
98/4465	citruspulp	900	verdacht
98/5399	voer	1100	verdacht
98/5361	citruspulp	1200	verdacht
98/5467	voer	1800	verdacht
98/5588	voer	1800	verdacht
98/5469	voer	1800	verdacht
98/5406	voer	1800	verdacht
98/5421	voer	2300	verdacht
98/5401	citruspulp	2700	verdacht
98/5409	citruspulp	2700	verdacht
98/5407	citruspulp	2800	<b>cytotoxisch</b>
98/5394	citruspulp	3100	verdacht
98/8779	citruspulp	3225	verdacht
98/5422	citruspulp	3300	verdacht
98/5395	citruspulp	3500	verdacht
98/5390	citruspulp	4700	verdacht
98/5486	citruspulp	4700	verdacht
98/5460	citruspulp	4800	<b>cytotoxisch</b>
98/5463	citruspulp	5200	verdacht
98/5566	citruspulp	5400	verdacht
98/5484	citruspulp	5800	verdacht
98/5393	citruspulp	5900	verdacht
98/5615	citruspulp	6300	verdacht
98/5461	citruspulp	6500	verdacht
98/5360	citruspulp	6600	verdacht
98/4457	citruspulp	6700	verdacht
98/5466	citruspulp	6800	verdacht

Monsters werden als negatief afgegeven wanneer het signaal in de CALUX lager was dan dat van het referentiemonster met 320 pg i-TEQ/kg, en als verdacht wanneer het signaal hoger was.



## Bijlage C. Rapportage veevoeders

Monsters: LNV/KDD vierde kwartaal 1998  
 Test: CALUX-bioassay voor dioxines  
 Datum: 9-6-99  
 Serie CADIOX5\H4Luc137

serie 1

RIKILT-nummer	Produkt	Opdrachtgeversnr.	respons (RLU's)	Conclusie
98/21354	Citruspulp 2000 pg i-TEQ/kg		889	
99/5463*	Varkensbrok	KDD24634/124824	642	negatief
99/5464*	Rundveebroek	KDD21974/124904	613	negatief
99/6465*	Legkruimel	KDD27282/221840	655	negatief
99/5466*	Biggengroei	KDD27291/221945	639	negatief
99/5467*	RV brok	KDD23316/222605	943	verhoogd
99/5468	Biggengroei	KDD21796/222649	552	negatief
99/5469	Rundveebroek	KDD21767/222650	434	negatief
99/5470*	Legmeel	KDD21776/222679	689	negatief
99/5471	Rundvee fermentatiestop	KDD11909/222683	553	negatief
99/5472*	Vleesveebroek	KDD11906/222684	454	negatief
99/5473*	Rundveebroek	KDD20899/223370	580	negatief
99/5474*	Pickletpellets	KDD27313/223371	1123	verhoogd
99/5475	Biva-plus	KDD19299/223385	535	negatief
99/5476	Startkorrel	KDD21952/223487	438	negatief
99/5477	Afmest	KDD24825/223652	405	negatief
99/5478	Sikma a	KDD24810/223654	465	negatief
99/5479	Rundveevoer	KDD24834/223655	462	negatief
99/5480*	Stierenmestbrok	KDD21964/223656	736	negatief
99/5481	Rulac 90	KDD19290/224085	484	negatief
99/5482	Slachtkuikenkorrel	KDD19283/224086	510	negatief
99/5483*	Legmeel	KDD27350/224329	528	negatief
99/5484	Rundvee ster	KDD11991/224498	469	negatief
99/5485	trend startkorrel	KDD11984/224499	400	negatief
99/5486	legmeel	KDD21999/224677	425	negatief
99/5487*	rundvee brok	KDD11996/224897	767	verhoogd**

Het monster wordt als negatief afgegeven als het signaal in de test lager is dan dat van een referentiemonster citruspulp waarin m.b.v. de GC/MS referentiemethode 2000 pg i-TEQ/kg is aangetoond

\* deze monsters zijn opnieuw getest in H4Luc189 (serie 5)

\*\* vanwege het relatief hoge signaal t.o.v. de referentie van 2000 is dit monster toch als verdacht afgegeven

## vervolg bijlage C

Monsters: LNV/KDD eerste kwartaal 1999  
 Test: CALUX-bioassay voor dioxines  
 Datum: 8-6-99  
 Serie CADIOX7\H4Luc136 serie 2

RIKILT-nummer	Produkt	Opdrachtgeversnr.	respons (RLU's)	Conclusie
98/4482	citruspulp blanco		775	
99/21353	citruspulp 1000 pg i-TEQ/kg		1444	
99/21354	citruspulp 2000 pg i-TEQ/kg		1985	
99/8843	legkorrel	227266	835	negatief
99/8844	vooledig pluimveekorrel	227436	752	negatief
99/8845*	legvoer NN	225671	1703	<b>verhoogd</b>
99/8846*	melkveebrok extramix	227684	1312	<b>verhoogd**</b>
99/8847	rundveemestbrok	226316	883	negatief
99/8848	rulac 105	225775	984	negatief
99/8849*	vleesvarkensvoer	226926	896	negatief
99/8850	varkensbrok run forte	225464	715	negatief
99/8851*	foktoommeel	227064	1268	<b>verhoogd**</b>
99/8852	rundveebrok A105	226990	735	negatief
99/8853	vleesvarkenskorrel	227546	869	negatief
99/8854*	biggenspeenkorrel	225465	874	negatief
99/8855	rundvee A16	226991	717	negatief
99/8856	rundveebrok A no.2003	127738	950	negatief
99/8857	opti E norm big (1020)	225468	749	negatief
99/8858	rundveebrok A	127743	866	negatief
99/8859	rundveebrok B	227619	816	negatief

Het monster wordt als negatief afgegeven als het signaal in de test lager is dan dat van een referentiemonster citruspulp waarin m.b.v. de GC/MS referentiemethode 1000 pg i-TEQ/kg is aangetoond

\* deze monsters zijn opnieuw getest in H4Luc189 (serie 5)

\*\* vanwege de relatief hoge respons t.o.v. de referentie van 1000 zijn deze monsters toch als verdacht opgegeven

## Vervolg bijlage C

Monsters: LNV/KDD  
Test: CALUX-bioassay voor dioxines  
Datum: 30-7-99  
Serie CADIOX63\H4Luc169 serie 3

RIK-nr	Produkt	Opdr. nr.	respons (RLU's)	Conclusie
98/4482	citruspulp blanco		606	
98/4467	citruspulp 400 pg i-TEQ/kg		755	
99/21353	citruspulp 1000 pg i-TEQ/kg		1073	
99/21354	citruspulp 2000 pg i-TEQ/kg		1268	
99/16785	rundvee koolhydraat zomer	228718	514	negatief
99/16786	maisbrok	KDD23184/230178	518	negatief
99/16787	RV brok A 90	KDD11176/230714	529	negatief
99/16788	rundveebrok Rennink 177	KDD21390/228017	511	negatief
99/16789	4 rundveebrok B 18	KDD27489/229385	561	negatief
99/16790	32322 vleesveekorrel Hoppenreijjs	KDD27484/229028		heranalyse
99/16791	kalverkorrel 3156 RVK 3	KDD15934/227616	509	negatief
99/16792	superstartkorrel 2407	KDD15575/229076	609	negatief
99/16793	varkensbrok super 1726	KDD21376/227779	416	negatief
99/16794	vleesvarkensbrok Power Finish (2524)	KDD11213/227299	645	negatief
99/16795	144 zeugenbronnst 108	KDD27493/229386	564	negatief
99/16796	foktoomvoer i speciaal (763)	KDD11467/229428	529	negatief

Het monster wordt als negatief afgegeven als de respons in de test lager is dan die van een referentiemonster citruspulp waarin m.b.v. de GC/MS referentiemethode 400 pg i-TEQ/kg is aangetoond

## Vervolg bijlage C

Monsters: KDD  
 Test: CALUX-bioassay voor dioxines  
 Datum: 30-8-99  
 Serie: CADIOX76\H4Luc177 serie 4

RIKILT-nummer	Produkt	Opdr.nr.	respons (RLU's)	conclusie
98/4482	citruspulp pellets blanco		119	
98/4482	citruspulp pellets blanco		124	
99/21355	citruspulp pellets blanco		132	
99/21355	citruspulp pellets blanco		87	
99/21356	citruspulp pellets 320 pg i-TEQ/kg		225	
99/21356	citruspulp pellets 320 pg i-TEQ/kg		204	
98/4467	citruspulp pellets 400 pg i-TEQ/kg		174	
98/4467	citruspulp pellets 400 pg i-TEQ/kg		177	
99/21353	citruspulp pellets 1000 pg i-TEQ/kg		359	
99/21353	citruspulp pellets 1000 pg i-TEQ/kg		338	
99/21354	citruspulp pellets 2000 pg i-TEQ/kg		521	
99/21354	citruspulp pellets 2000 pg i-TEQ/kg		472	
99/21359	zeugenkorrel	KDD20074/1000680	133	negatief
99/21360	foktoom 2	KDD20077/1000678	78	negatief
99/21361	tarmix II	KDD20080/1000677	90	negatief
99/21362	legmeel extra	KDD20083/1000679	93	negatief
99/21363	vleesvarkenbrok	KDD22820/1000681	86	negatief

Het monster wordt als negatief afgegeven als de respons in de test lager is dan die van een referentiemonster citruspulp waarin m.b.v. de GC/MS referentiemethode 400 pg i-TEQ/kg is aangetoond

## vervolg bijlage C

Monsters: LNV/KDD  
Test: CALUX-bioassay voor dioxines herhaling  
Datum: 22-10-99  
Serie CADIOX102\H4Luc189 serie 5

RIKILT-nummer	Produkt	Opdr.nr.	respons (RLU's)	Conclusie
98/4482	citruspulp blanco		238	
99/21356	citruspulp 320 pg i-TEQ/kg		473	
99/21353	citruspulp 1000 pg i-TEQ/kg		669	
99/21354	citruspulp 2000 pg i-TEQ/kg		849	
99/5463	varkensbrok	KDD24634/124824	339	negatief
99/5464	rundveebroek	KDD21974/124904	174	negatief
99/5465	legkruimel	KDD27282/221840	211	negatief
99/5466	biggengroei	KDD27291/221945	206	negatief
99/5467	RV brok	KDD23316/222605	185	negatief
99/5470	legmeel	KDD21776/222679	194	negatief
99/5472	vleesveebroek	KDD11906/222684	195	negatief
99/5473	rundveebroek	KDD20899/223370	192	negatief
99/5474	pickletpellets	KDD27313/223371	655	verdacht
99/5480	stierenmestbrok	KDD21964/223656	184	negatief
99/5483	legmeel	KDD27350/224329	313	negatief
99/5487	rundvee brok	KDD11996/224897	531	verdacht
99/8845	melkveebroek extramix	227684	181	negatief
99/8846	rundveemestbrok	226316	189	negatief
99/8849	vleesvarkensvoer	226926	221	negatief
99/8851	foktoommeel	227064	272	negatief
99/8854	biggenspeenkorrel	225465	300	negatief

Het monster wordt als negatief afgegeven als de respons in de test lager is dan die van een referentiemonster citruspulp waarin m.b.v. de GC/MS referentiemethode 400 pg i-TEQ/kg is aangetoond

## Vervolg bijlage C

Monsters: KDD derde en vierde kwartaal 1999

Test: CALUX-bioassay voor dioxines

Datum: 25-2-00

Serie CADIOX132+133\H4Luc210

serie 6

RIKILT-nr	Produkt	Opdr.nr.	respons (RLU's)	conclusie
99/21355	citruspulp blanco		442	
99/21356	citruspulp 320 pg i-TEQ/kg		792	
99/21353	citruspulp 1000 pg i-TEQ/kg		997	
99/21354	citruspulp 2000 pg i-TEQ/kg		1457	
2000/2219	RV st. A	KDD11765/232555	397	negatief
2000/2220	RV brok A 15(5903)	KDD11899/133700	431	negatief
2000/2221	Rundveebrok A	KDD22473/133962	425	negatief
2000/2222	Stierenbrok 2135	KDD12011/234423	373	negatief
2000/2223	Rundveebrok A	KDD11833/234139	332	negatief
2000/2224	Rundveekorrel bestendig 225-61	KDD13103/135414	332	negatief
2000/2225	Rundveekorrel A Weidebrok 51061	KDD13024/235715	352	negatief
2000/2226	Rundveebrok A 2230	KDD22594/235027	321	negatief
2000/2227	Rundveebrok productie no. 213	KDD22603/235586	389	negatief
2000/2228	4. Productiebrok 100-200	KDD24193/235838	402	negatief
2000/2229	Vleesvarkenskorrel HE 310 Japan. st.	KDD13212/232808	368	negatief
2000/2230	Dragende zeugenkorrel RC 2422	KDD13215/232372	413	negatief
2000/2231	402 bivakorrel super	KDD27694/234372	387	negatief
2000/2232	Zeugenbrok lacto 1.07	KDD22558/234495	429	negatief
2000/2233	Biva 108 JPS	KDD13143/134066	354	negatief
2000/2234	Legmeel ZDP Vervoort	232311	330	negatief
2000/2235	Bio legmeel Eskoldsen	232312	444	negatief
2000/2236	Vleeskorrel 1 (150)	KDD11871/133804	351	negatief
2000/2237	Vleeskuikens Groe. No. 2213	KDD22496/134001	396	negatief
2000/2238	Legvoer Kippen	KDD11853/134964	362	negatief
2000/2239	Volledig legmeel	KDD11435/235549	446	negatief
2000/2240	Legmeel gezakt	KDD11432/235548	465	negatief
2000/2241	Legmeel D2 (108)	KDD11423/236016	406	negatief
2000/2242	Rundveebrok B	KDD22630/236014	419	negatief
2000/2243	Rundvee a brok	KDD24200/236605	640	negatief
2000/2244	Selectbrok A	KDD12193/137030	384	negatief
2000/2245	RV brok SP brok Ter Maten (271)	KDD11408/236655	362	negatief
2000/2246	Rundveekorrel standaard extra 1080	KDD13359/237434	460	negatief
2000/2247	5003 Rundveebrok A extra	KDD27831/238064	526	negatief
2000/2248	Rundveebrok Euro geel 5065	KDD21191/237518	477	negatief
2000/2249	Rundveebrok Optilacto 95 (2)	KDD20462/237834	502	negatief
2000/2250	Rundveebrok Eco 95, Soede	KDD20465/237836	654	negatief
2000/2251	Rundveebrok eiwitrijk no. 2054	KDD20468/237835	673	negatief
2000/2252	553 Eko biggenstart 105	KDD27803/236653	654	negatief
2000/2253	Dragende zeugenvoer+B236	KDD12190/137031	412	negatief
2000/2254	Biggenkorrel 33	KDD13362/237287	503	negatief
2000/2255	68 Zeugenkorrel D/G 0,97	KDD27818/238067	455	negatief
2000/2256	Vleesvarkenskorrel 108 econ	KDD21295/238349	581	negatief
2000/2257	Legkruimel 1051	KDD21174236652	573	negatief

Het monster wordt als negatief afgegeven als de respons lager is dan die van een referentie-monster citruspulp waarin m.b.v. de GC/MS referentiemethode 400 pg i-TEQ/kg is aangetoond

## Vervolg bijlage C

Monsters: KDD/LabCo  
Test: CALUX-bioassay voor dioxines  
Datum: 2-3-00  
Serie: CADIOX135\H4Luc211 serie 7

RIKILT-nr	Produkt	Opdrachtgeversnr.	respons (RLU's)	conclusie
99/21355	citruspulp blanco		1282	
99/21356	citruspulp 320 pg i-TEQ/kg		1438	
99/21353	citruspulp 1000 pg i-TEQ/kg		2189	
99/21354	citruspulp 2000 pg i-TEQ/kg		2596	
2000/3764	Braadkuikenkern afmest	KDD13382/137028	783	negatief
2000/3763	Vleesvarkensbrok 105,	KDD22638/136597	874	negatief
2000/3767	PLV VO2 2737	KDD12166/237701	822	negatief
2000/3765	Legkruimel	KDD21172/236652	765	negatief
2000/3766	Biggengroeikruimel 2	KDD21198/237516	847	negatief
2000/3768	Aanv. Legvoeder	KDD20474/237866	661	negatief
2000/3769	11111 Overganskorrel	KDD27821/238065	871	negatief
2000/3770	356 Kroon 2 CCM Kruim	KDD27903/238541	610	negatief
2000/3771	Eendeeindkorrel HD	KDD22403/238709	728	negatief
2000/3772	105 BKK Groei	KDD27825/238066	715	negatief

Het monster wordt als negatief afgegeven als de respons in de test lager is dan die van een referentiemonster citruspulp waarin m.b.v. de GC/MS referentiemethode 400 pg i-TEQ/kg is aangetoond

## Bijlage D GC/MS resultaten van dioxines en non-ortho PCB's in 12 diervoeders

Tabel 1a: Resultaat van dioxine analyse in veevoer  
Gehalte in pg/kg

Naam	RIKILT nr											
	99/5467	99/5470	99/5474	99/5487	99/5480	99/8845	NR OPDRACHTGEVER					
2,3,7,8-TCDF	< 50	< 50	< 50	326	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50
1,2,3,7,8-PeCDF	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100
2,3,4,7,8-PeCDF	< 100	< 100	< 100	279	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100
1,2,3,4,7,8-HxCDF	< 100	< 100	< 100	505	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100
1,2,3,6,7,8-HxCDF	< 100	< 100	< 100	255	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100
2,3,4,6,7,8-HxCDF	< 100	< 100	< 100	911	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100
1,2,3,7,8,9-HxCDF	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	< 250	< 250	< 250	2940	< 250	< 250	< 250	< 250	< 250	< 250	< 250	< 250
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	< 250	< 250	< 250	339	< 250	< 250	< 250	< 250	< 250	< 250	< 250	< 250
OCDF	< 500	< 500	< 500	28900	< 500	< 500	< 500	< 500	< 500	< 500	< 500	< 500
2,3,7,8-TCDD	< 50	< 50	364	321	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50
1,2,3,7,8-PeCDD	< 100	< 100	836	296	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100
1,2,3,4,7,8-HxCDD	< 100	< 100	566	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100
1,2,3,6,7,8-HxCDD	< 100	< 100	852	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100
1,2,3,7,8,9-HxCDD	< 100	< 100	2050	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	< 250	531	14400	824	< 250	< 250	< 250	< 250	< 250	< 250	< 250	264
OCDD	2650	10700	243000	9930	1400	1400	1400	1400	1400	1400	1400	2860
<b>Totaal gehalte in pg i-TEQ/kg</b>	< 250	< 250	<b>1532</b>	<b>892</b>	< 250	< 250	< 250	< 250	< 250	< 250	< 250	< 250
<b>Totaal gehalte in pg TEQ/kg *1</b>	< 250	< 250	<b>1731</b>	<b>1005</b>	< 250	< 250	< 250	< 250	< 250	< 250	< 250	< 250

\*1 TEF waarden volgens WHO 1998



**Tabel 1b: Resultaat van de analyse van planaire PCB's in veevoer**

**Gehalte in pg/kg**

Naam	RIKILT nr	99/5467	99/5470	99/5474	99/5487	99/5480	99/8845
	NR OPDRACHTGEVER						
3,4-3',4'-PCB (CB 77)		741	709	1182	3782	674	1060
3,4-3',4',5'-PCB (CB 126)		165	172	< 50	1728	< 50	201
3,4,5-3',4',5'-PCB (CB 169)		< 50	56	< 50	128	< 50	68
<b>Totaal gehalte in pg i-TEQ/kg</b>		<b>&lt;250</b>	<b>&lt;250</b>	<b>&lt;250</b>	<b>&lt;250</b>	<b>&lt;250</b>	<b>&lt;250</b>
<b>Totaal gehalte in pg TEQ/kg</b>		<b>&lt;250</b>	<b>&lt;250</b>	<b>&lt;250</b>	<b>&lt;250</b>	<b>&lt;250</b>	<b>&lt;250</b>
<b>*1</b>							

\*1 TEF waarden volgens WHO 1998

**Tabel 2a: Resultaat van dioxine analyse in veevoer**  
**Gehalte in pg/kg**

Naam	RIKILT nr		NR OPDRACHTGEVER	
	2243	2250	237836	237835
	2251	2252	236605	236653
2,3,7,8-TCDF	< 50	< 50	< 50	< 50
1,2,3,7,8-PeCDF	< 100	< 100	< 100	< 100
2,3,4,7,8-PeCDF	< 100	< 100	< 100	< 100
1,2,3,4,7,8-HxCDF	< 100	< 100	< 100	< 100
1,2,3,6,7,8-HxCDF	< 100	< 100	< 100	< 100
2,3,4,6,7,8-HxCDF	< 100	< 100	< 100	< 100
1,2,3,7,8,9-HxCDF	< 100	< 100	< 100	< 100
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	< 250	< 250	< 250	< 250
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	< 250	< 250	< 250	< 250
OCDF	< 500	< 500	1030	< 500
2,3,7,8-TCDD	< 50	< 50	< 50	< 50
1,2,3,7,8-PeCDD	< 100	< 100	< 100	< 100
1,2,3,4,7,8-HxCDD	< 100	< 100	< 100	< 100
1,2,3,6,7,8-HxCDD	< 100	< 100	< 100	< 100
1,2,3,7,8,9-HxCDD	< 100	< 100	< 100	110
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	575	372	992	852
OCDD	9310	4130	15600	9370
<b>Totaal gehalte in pg i-TEQ/kg</b>	<b>&lt; 250</b>	<b>&lt; 250</b>	<b>&lt; 250</b>	<b>&lt; 250</b>
<b>Totaal gehalte in pg TEQ/kg *1</b>	<b>&lt; 250</b>	<b>&lt; 250</b>	<b>&lt; 250</b>	<b>&lt; 250</b>

\*1 TEF waarden volgens WHO 1998

**Tabel 2b: Resultaat van de analyse van planaire PCB's in veevoer**  
**Gehalte in pg/kg**

Naam	RIKILT nr		2250		2251		2252	
	NR		237836	237835	237835	236605	237835	236653
	OPDRACHTGEVER							
3,4-3',4'-PCB (CB 77)	967	2770	1691	979				
3,4-3',4',5'-PCB (CB 126)	120	100	218	101				
3,4,5-3',4',5'-PCB (CB 169)	< 50	< 50	< 50	< 50				
<b>Totaal gehalte in pg i-TEQ/kg</b>	<b>&lt; 250</b>	<b>&lt; 250</b>	<b>&lt; 250</b>	<b>&lt; 250</b>				
<b>Totaal gehalte in pg TEQ/kg *1</b>	<b>&lt; 250</b>	<b>&lt; 250</b>	<b>&lt; 250</b>	<b>&lt; 250</b>				

\*1 TEF waarden volgens WHO 1998