

## Festphasen-Extraktion und GC/MS-Bestimmung von Diethylstilbestrol aus Wasser

### Einleitung

Stilbenderivate besitzen hormonartige Wirkung. Diethylstilbestrol (DES) war das erste kommerzielle orale Estrogenpräparat. Auf Grund der anabolen Wirkung wurde DES bis Anfang der 1980er-Jahre in der Rinder- und Schweinemast als Masthilfsmittel eingesetzt. Allerdings ist DES krebserregend. Deshalb ist die Anwendung von DES und deren Derivaten bei Tieren, die der Lebensmittelgewinnung dienen, in der EU verboten.

Steroidale und nichtsteroidale Hormone spielen in der Tiermast, speziell der Rindermast, zur Fleischertragssteigerung trotz gesetzlichen EU-weiten Verbots eine nicht unwesentliche Rolle. Hieraus ergibt sich die Notwendigkeit einer wirksamen Überwachungsmöglichkeit der zum Einsatz kommende Futtermittel sowie Körperflüssigkeiten verdächtiger Tiere. Ebenso ist eine einfache und robuste Routineanalytik unumgänglich.

### Material

- BEKolut® CN Kartuschen, 500mg/3mL (B03-900-A050)
- Diethylether z.A.
- Hexan z.A.
- Dichlormethan z.A.
- MSTFA
- Diethylstilbestrol
- Diethylstilbestrol-D6

### Methode

5mL Wasser werden mit 5 mL Diethylether für 5 Minuten auf dem Rundschtüttler extrahiert. Das Gemisch wird zur Phasentrennung zentrifugiert (5 Minuten / 3000g / 10 °C). Die organische Phase wird in ein einmal Reagenzglas überführt und die Flüssig/Flüssigextraktion einmal wiederholt.

Die vereinten organischen Phasen werden im Metallblockthermostaten bei 50 °C im Stickstoffstrom eingengt.

Der Rückstand wird in 2 mL Dichlormethan : Hexan (4 : 6) gelöst. Hierzu wird für 30 sec. gevortext.

### Festphasen-Extraktion

Waschen	3 mL Diethylether
Konditionieren	3 mL Hexan
	3 mL Dichlormethan : Hexan (4 : 6)

Die Kartusche darf nach dem Konditionieren nicht trocken laufen,

Probe aufgeben	komplett aufgeben
Waschen	3 mL Dichlormethan : Hexan (4 : 6)
Trocknen	Kartusche kurz trockensaugen
Eluieren	3 mL Diethylether



Das Eluat wird bei 50 °C im Stickstoffstrom eingedampft und der Rückstand mit 100µL MSTFA aufgenommen. Die MSTFA Lösung wird direkt in den GC injiziert

## GC/MS-Messbedingungen

Trennsäule	: Varian FactorFour 5MS 30m x 0,25mm; 25µm FD
Trärgas	: Helium; 1,0 mL/min. constant flow
Temperaturprogramm	: 150 °C (1,0 min.) => 20 °C/min. =>300 °C (5,0 min.)
Injektortemperatur	: 250 °C
Injektionsvolumen	: 1µL Probe
Detektion	: MSMS Detektion / SRM Modus
Hexestrol	: 207,1 => 163,1 und 179,1
Dienestrol	: 410,2 => 381,3 und 395,4
Diethylstilbestrol	: 412,2 => 217,2 und 383,4
Diethylstilbestrol-D6	: 418,2 => 220,2 und 386,5

## Ergebnis

Mit der angewandten Methodik wird eine sehr gute Aufreinigung aus der Matrix Wasser erreicht. Eine Identifizierung und Quantifizierung ist problemlos möglich. Die Analyten werden als Trimethylsilyl Derivate vermessen.

Es sind keine störenden Matrixeinflüsse zu erkennen.

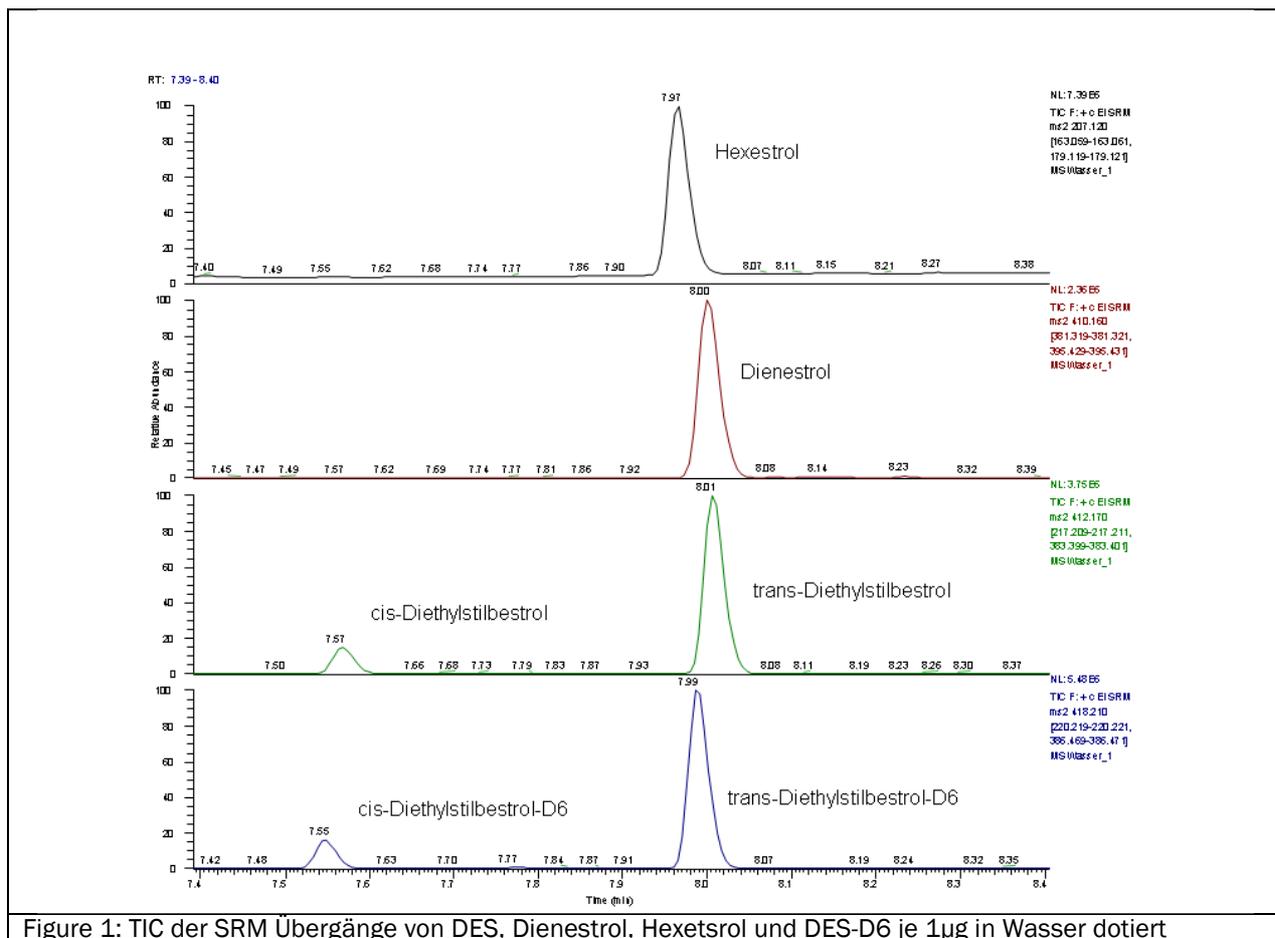


Figure 1: TIC der SRM Übergänge von DES, Dienestrol, Hexetsrol und DES-D6 je 1µg in Wasser dotiert

## **Zusammenfassung**

Durch den Einsatz eines isopenmarkierten internen Standards ist eine sehr gute Linearität und Wiederfindung gegeben.

Die angewandte Methode ist auch für die analogen Verbindungen Hexestrol und Dienestrol geeignet.

Die vorgestellte Methodik kann, mit geringen Modifikationen, auch auf andere strukturanaloge Analyten und Matrices (z.B. Abwasser) angewandt werden.

Gegebenenfalls ist eine Anpassung der Waschschritte oder der gaschromatographischen Trennbedingungen erforderlich.

