Versuche zur raschen Reinigung pestizidhaltiger Extrakte mittels Hochdruckflüssigkeitschromatographie : Organochlorpestizide in fetthaltigen Lebensmitteln

Autor(en): **Zimmerli, B. / Marek, B. / Blaser, O.**

Objekttyp: **Article**

Zeitschrift: **Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène**

Band (Jahr): **66 (1975)**

Heft 3

PDF erstellt am: **05.06.2024**

Persistenter Link: https://doi.org/10.5169/seals-982677

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.
Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.
Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Ein Dienst der *ETH-Bibliothek*
ETH Zürich, Rämistrasse 101, 8092 Zürich, Schweiz, www.library.ethz.ch

http://www.e-periodica.ch

Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. **66**, 362—378 (1975)
Eingegangen 9. Juli 1975. Angenommen 31. Juli 1975

Versuche zur raschen Reinigung pestizidhaltiger Extrakte mittels Hochdruckflüssigkeitschromatographie

Organochlorpestizide in fetthaltigen Lebensmitteln

B. Zimmerli und *B. Marek**
Eidgenössisches Gesundheitsamt, Bern
Technische Assistenz: O. Blaser

Einleitung

Die Rückstandsanalytik von Organochlorpestiziden in fetthaltigen Lebensmitteln wird dadurch kompliziert, daß die Herstellung der für die Gaschromatographie geeigneten Extrakte oft sehr mühsam und zeitraubend ist. Fast alle Verfahren zur Abtrennung der Pestizide von den Lipiden basieren auf den folgenden fünf Prinzipien: a) Flüssig-flüssig-Verteilung; b) Adsorptionschromatographie; c) Verdampfung (1, 2, 3); d) Gelchromatographie (4, 5, 6, 7, 8, 9); e) Ausfrieren der Lipide (10, 11). Die Verfahren a) und b) werden entweder nacheinander (12, 13, 14) oder kombiniert in einem Arbeitsgang (15, 16) angewendet. Oft gelingt es allein mit der Adsorptionschromatographie, für die Gaschromatographie genügend reine Extrakte zu erhalten (17, 18). Zur ökonomischen Durchführung der Adsorptionschromatographie werden für gewisse Extrakte auch Mikrokolonnen empfohlen (19, 20, 21, 22).

Ueber die direkte Anwendung der Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) zur Bestimmung von Rückständen thermisch instabiler oder schwerflüchtiger Pestizide sind bereits zahlreiche Arbeiten erschienen (23, 24, 25, 26, 27). Auch auf den möglichen präparativen Einsatz der HPLC zur Reinigung von Extrakten wurde bereits hingewiesen: Organochlorpestizide in Gemüse und Fischen (28), polychlorierte Biphenyle in Papier (29, 30). In einer kürzlich publizierten Arbeit wird die HPLC als zusätzliches Reinigungsverfahren bei der Bestimmung von Lindanrückständen in Wasser- und Fischproben eingesetzt (31). Während bei der klassischen Säulenchromatographie mit rund 0,02 Trennstufen pro Sekunde gerechnet werden kann, lassen sich mit der HPLC rund 100 und mehr Trennstufen pro Sekunde erzielen (32).

In der vorliegenden Arbeit soll untersucht werden, inwieweit sich die HPLC für die Reinigung von pestizidhaltigen Extrakten eignet. Es soll abgeklärt werden, ob sich mit dieser Technik eine rasche, für Kontrollzwecke geeignete Analysenmethode für Rückstände von Organochlorpestiziden in fetthaltigen Lebens-

* Chef der Sektion Pestizidrückstände und Kontaminationen.

mitteln entwickeln läßt. Die Identifizierung und Bestimmung der Organochlorpestizide in den HPLC-gereinigten Extrakten soll gaschromatographisch mit dem Elektroneneinfangdetektor erfolgen. Vorversuche zeigten, daß mit den flüssig-flüssig-Systemen β, β'-Oxydipropionitril-Hexan und Carbowax 400-Hexan das β-Isomere von Hexachlorcyclohexan nicht von den Lipiden getrennt werden kann.

Im Umkehrphasensystem Bondapak C-18/Corasil-Acetonitril/Wasser (30, 33) erhielten wir mit dem Elutionsmittel Acetonitril/Wasser 2 : 1 (v/v) befriedigende Rückgewinnungen aller Organochlorpestizide. Auf eine 60-cm-Säule (i. D. 2,3 mm), gepackt mit 3,7 g Bondapak C-18/Corasil, konnten bis auf 200 mg Oel dosiert werden. Die aufgefangene Pestizidfraktion enthält nach der Aufarbeitung (Zusatz von Wasser, Extraktion mit Hexan) noch ca. 0,2 mg Lipide. Da zur gaschromatographischen Bestimmung der Organochlorpestizide diese aus der wäßrigen in eine organische Phase überführt werden müssen, was mit einem gewissen manuellen Aufwand verbunden ist, wurden die Arbeiten mit dem Umkehrphasensystem nicht weitergeführt.

Den Angaben in der Literatur folgend (6) untersuchten wir den Reinigungseffekt der Gelchromatographie am System Bio Beads SX2-Cyclohexan. Bei der Reinigung pflanzlicher Fette fanden wir in den entsprechenden Gaschromatogrammen im Bereich von Hexachlorbenzol (HCB) und der Hexachlorcyclohexan-(HCH-)Isomere so starke Interferenzen, daß die Auswertung unmöglich war. Ueber ähnliche Schwierigkeiten bei der Bestimmung von HCB in gelchromatographisch gereinigten Fischextrakten wird auch in der Literatur berichtet (36).

Im weiteren Verlauf unserer Arbeiten beschränkten wir uns auf das für die HPLC entwickelte Adsorbens Porasil A (Waters Ass.)[1]. Bei diesem Material handelt es sich um ein poröses Silikagel mit kugelförmigem Korn, einem mittleren Korndurchmesser von 37—50 μm, einer spezifischen Oberfläche von 400 m^2/g und einem mittleren Porendurchmesser von 80 Å (38). Silikagele haben sich zur Abtrennung der Lipide sowie zur stufenweise Elution der Organochlorpestizide gut bewährt (19, 20, 21, 22, 34), obwohl das Rückhaltevermögen für Lipide eher etwas kleiner zu sein scheint als bei den Adsorbentien auf Aluminiumoxidbasis (19, 34). Als Elutionsmittel wählten wir das Gemisch Hexan/Methylenchlorid. Für das Adsorbens Florisil wurde mit diesem Elutionsmittel eine bessere Trennung der Organochlorpestizide von den Lipiden beobachtet als mit dem Elutionsmittel Aethyläther in Petroläther (35).

Experimentelles

Hochdruckflüssigkeitschromatographie

Für die HPLC verwendeten wir teilweise das kommerzielle Gerät, Typ ALC 201, der Firma Waters Ass. (Milford, USA) wie auch das Pumpensystem Mo-

Vertretung für die Schweiz:
[1] B. Brechbühler AG, 8902 Urdorf.

dell 6000 der gleichen Firma. Das Elutionsmittel wurde durch einen Teflonschlauch und eine 5-µm-Fritte von der Pumpe angesogen. Zur Kontrolle der Fettelution dienten als Detektoren entweder das Differentialrefraktometer Typ R 401 (Waters Ass.) oder der UV-Monitor Modell 1285 (254 nm) der Firma Laboratory Data Control (Riviera Beach, Florida, USA)[1]. Das Differentialrefraktometer wurde in der Regel thermostatisiert. Zur Registrierung der Detektorsignale diente ein Zweikanalschreiber (Typ 3047) der Firma Yokogawa Electric Works (Tokio, Japan)[2].

Die benützten Stahlkolonnen (Waters Ass.) waren 60 cm lang, die Innendurchmesser betrugen 2,3 mm für die analytische und 7,8 mm für die präparative Säule. Als Kolonnenabschluß dienten Swagelockreduziereinheiten aus rostfreiem Stahl mit eingebauten 5-µm-Stahlfritten. Der Septumeinspritzblock (Cat. Nr. 26927), die Kolonnen sowie das im Zusammenhang mit der Probeschleife (20 ml) verwendete Ventil (Cat. Nr. 26930) wurden von der Firma Waters Ass. geliefert. Es wurden die Viton A (Cat. Nr. 19491) sowie die WSR-Septa (Cat. Nr. 27288) der Firma Waters Ass. verwendet.

Die Kolonnen wurden vor der Füllung durch das mehrmalige Hin- und Herstoßen eines mit Detergentien getränkten Wattebausches gereinigt. Anschließend wurden sie mit destilliertem Wasser, mit Aethylalkohol, mit Aceton und zuletzt mit Petroläther gespült und mit einem Stickstoffstrom getrocknet. Das Kolonnenmaterial wurde mittels einer Spritze portionenweise (ca. 100 µl) in die senkrechtstehende Kolonne eingefüllt. Nach jeder Zugabe wurde die Kolonne leicht auf den Boden geklopft und anschließend auf der jeweiligen Füllhöhe leicht vibriert. Das Porasil A (Waters Ass.) wurde vor der Füllung mit 10% Wasser desaktiviert (39). Unter Berücksichtigung der zugegebenen Menge Wasser resultierte dadurch ein um ca. 10% besserer Kolonnenfüllungsgrad. Der Kolonneninhalt der analytischen Säulen lag bei 1,2 g Porasil A mit 10% Wasser und bei 12 g bei der präparativen Säule. Die gefüllten Kolonnen wurden durch das Durchpumpen des Elutionsmittels Hexan/Methylenchlorid 9 : 1 (v/v) aktiviert. Der Kolonnenkopf wurde mit silylierter Glaswatte (Analabs, North Haven USA)[3] verschlossen. Die Proben wurden mittels selbst geeichter Hochdruckspritzen (Precision Sampling, Serie B-110 0—100 µl, Serie B 0—50 µl und 0—25 µl) bei abgestellter Pumpe auf die Glaswatte am Kolonnenanfang gespritzt. Zur quantitativen Aufgabe von reinen Oelen oder geschmolzenen Fetten wurde die Spritze vor und nach der Einspritzung gewogen. Nach ca. 30 Einspritzungen wurde das Septum und die Glaswatte ersetzt. Die maximal aufgetretenen Drucke lagen bei 24 bar.

Nach einer Oelaufgabe auf die Porasil-A-Säule genügten 20 ml Methylenchlorid, die mittels der Probeschleife dosiert wurden, sowie das anschließende

Vertretungen für die Schweiz:

[1] Comptronix AG, 8810 Horgen.

[2] Omni Ray AG, 8008 Zürich.

Vertretung für Europa:

[3] Nen Chemicals, D-6072 Dreieichenhain (BRD).

Durchpumpen von 30 ml Hexan/Methylenchlorid-Mischung 9 : 1 (v/v), um die Kolonne zu regenerieren. Zur Kolonnenregenerierung wurde die normalerweise verwendete Pumpgeschwindigkeit von 2 ml/min verdoppelt. Die auf einer neuen, konditionierten Porasil-A-Säule gemessenen Retentionsvolumina von p,p'-DDE und p,p'-TDE waren vor und nach der Regenerierung, innerhalb der Fehlergrenze, gleich groß. Nach der Dosierung eines mit Organochlorpestiziden im ppm-Bereich versetzten Oeles konnten in dem der Regenerierung der HPLC-Säule folgenden Eluat keine Organochlorpestizide nachgewiesen werden (Nachweisgrenze 1—5 ppb[1] je nach Pestizid).

Die interessierenden Porasil-A-Eluate wurden mittels der früher erwähnten (37) Spezialreagenzgläser aufgefangen. Zur Konzentrierung der Eluate wurde nach dem beschriebenen Verfahren (37) vorgegangen: Zusatz von 200 µl Heptan, Einleiten von Stickstoff (15 ml/min) in die erwärmte Lösung (Heizbad 84°C). Die Eindampfoperation benötigte bis zur genauen Volumeneinstellung ca. 25 Minuten.

Hexan (Merck, zur Synthese) und Heptan (Fluka, purum) wurden über Natrium destilliert. Methylenchlorid (Merck, p. a.) wurde in einer Glasapparatur destilliert. Hexan und Methylenchlorid wurden einzeln entgast: Einstündiges Erwärmen auf eine Temperatur von 10—20°C unterhalb des Siedepunktes unter gleichzeitigem Rühren (Magnetrührer mit Heizplatte). Alle Elutionsmittel wurden nach 100—200facher Konzentrierung gaschromatographisch (Elektroneneinfangdetektor) bezüglich Interferenzen getestet. Als Modellmischung diente vorwiegend ein mit den entsprechenden Organochlorpestiziden versetztes Sonnenblumenöl.

Gaschromatographie

Der verwendete Zweisäulen-Gaschromatograph (Hewlett-Packard Mod. 5713 A) verfügte über einen linearen Elektroneneinfangdetektor (^{63}Ni). Als Trägergas diente Argon (Reinheit 99,99 Vol.-%) mit 10% Methan (Reinheit 99,5 Vol.-%), geliefert von den Sauerstoff- und Wasserstoffwerken Luzern. Die zwei Glassäulen (Länge 1,5 m, Innendurchmesser 3,8 mm) wurden zusammen über ein T-Stück an den Detektor angeschlossen. Dosiert wurde direkt auf den Kolonnenanfang, der mit silylierter Glaswatte (Analabs, North Haven USA) verschlossen war. Die Detektortemperatur wurde auf 350°C und die Kolonnentemperatur auf 185°C gehalten. In der Regel verwendeten wir folgende Kolonnen:

— 4,6% OV-210 zusammen mit 0,2% SE-30 auf Gaschrom Q 80/100 mesh, hergestellt nach der Rotationsverdampfertechnik (Lösungsmittel: Methylenchlorid/Aceton 9 : 1 (v/v) Trägergasfluß 37 ml/min (bei Zimmertemperatur gemessen);
— 4% SE-30 auf Chromosorb W, HP 80/100 mesh, hergestellt nach dem Filtrationsverfahren (Lösungsmittel Methylenchlorid), Trägergasfluß 23 ml/min (bei Zimmertemperatur gemessen),

[1] In dieser Arbeit bedeutet 1 ppb = 0,001 ppm.

Zur Registrierung der Detektorsignale diente ein Zweikanalschreiber (Yokogawa Typ 3047), wobei der erste Kanal einen 1-mV-Meßbereich und der zweite Kanal, der parallel geschaltet war, einen Meßbereich von 5 mV aufwies.

Resultate

Mit dem Adsorbens Porasil A und dem Elutionsmittel Hexan/Methylenchlorid 9 : 1 (v/v) ergibt sich für die Organochlorpestizide folgende Elutionsreihenfolge, geordnet nach zunehmendem Retentionsvolumen:

HCB, p,p'-DDE, p,p'-TDE, p,p'-DDT, α-HCH, γ-HCH, β-HCH, Endrin, Dieldrin. Die in Tabelle 1 aufgeführten typischen Daten zeigen den Einfluß der eingespritzten Oelmenge auf die Elution der drei Organochlorpestizide HCB, β-HCH und Dieldrin. Für Dieldrin lassen sich als Funktion der eingespritzten Oelmenge folgende Kapazitätsfaktoren abschätzen: 5,1 (0 mg Oel), 4,5 (20 mg Oel) und 2,2 (50 mg Oel). Die für Dieldrin auf der analytischen HPLC-Säule (0,7 ml/min) bestimmte theoretische Bodenzahl vermindert sich bei gleichzeitiger Aufgabe von 50 mg Oel von 1000/m auf 500/m.

Tabelle 1

*Einfluß der Oelmenge auf die Elution der Organochlorpestizide von Porasil A**

Pestizid	Pestizidhaltiges Eluat (ml)		
	Hexanlösung (ohne Oel)	20 mg Oel	50 mg Oel
HCB	1,5— 4	2— 3	2 —3
β-HCH	4 — 6	3— 6	3 —4,5
Dieldrin	9 —14	7—10	4,5—7

* Porasil A (1,2 g), Hexan/CH_2Cl_2 9 : 1 (v/v).

Werden 20 mg Oel auf die analytische HPLC-Säule dosiert, so enthalten in der Regel die ersten 6—7 ml Eluat HCB, HCH- und DDT-Gruppe sowie polychlorierte Biphenyle. Das folgende Eluat vom Umfang 4—6 ml enthält Dieldrin und Endrin. Die Organochlorpestizide lassen sich somit in zwei Gruppen aufteilen. Bei der Aufteilung in zwei Fraktionen wird so verfahren, daß in der ersten Fraktion alles β-HCH, jedoch kein Endrin und in der zweiten Fraktion alles Dieldrin und Endrin eluiert wird. Bei Verwendung verschiedener Porasil-A- und Elutionsmittelchargen beobachteten wir Verschiebungen in den aufzufangenden Fraktionen von maximal 1,5 ml. Um sicher alles Dieldrin zu eluieren, wurden in der Regel ca. 2 ml mehr Eluat aufgefangen. Enthält das Elutionsmittel nur 5 statt 10 Vol.-% Methylenchlorid, so ergeben sich für die Organochlorpestizide rund doppelt so hohe Elutionsvolumina. Mit 20 Vol.-% Methylenchlorid in Hexan gelingt eine Abtrennung der Organochlorpestizide von den Lipiden nicht mehr.

Prinzipiell ähnliche Ergebnisse erhielten wir auch mit dem Säulenmaterial Corasil II (Waters Ass.) und dem Elutionsmittel Hexan/Methylenchlorid 49 : 1 (v/v). In diesem System konnte jedoch, entsprechend der gegenüber Porasil A geringeren spezifischen Oberfläche, bedeutend weniger Oel aufgearbeitet werden.

In einem Belastungsversuch wurden 50mal je 18 mg Oel (60 µl Lösung, 3 g mit Organochlorpestiziden versetztes Sonnenblumenöl mit Hexan auf 10 ml aufgefüllt) auf die Porasil-A-Säule (i. D. 2,3 mm) dosiert. Die zwei entsprechenden Fraktionen (0—7,5 ml und 7,5—13 ml) jeder zehnten Dosierung wurden einzeln auf 200 µl eingeengt und gaschromatographisch auf zwei Säulen (OV-210 und SE-30) untersucht. Auch nach der fünfzigsten Oeleinspritzung und jeweiligen Regeneration der Porasil-A-Säule zeigten sich in den entsprechenden Gaschromatogrammen keine zusätzlichen Interferenzen und die Rückgewinnung der Organochlorpestizide betrug, wie bei den ersten Oeldosierungen, 80—90%. Im weiteren Verlauf unserer Arbeiten wurden die Porasil-A-Säulen jeweils nach 200 Oeleinspritzungen neu gefüllt.

Tabelle 2. Rückgewinnung von Organochlorpestiziden aus Oel

Pestizid	Gehalt (ppb)	Rückgewinnung (%)								
		20 mg Oel[1]			50 mg Oel[1]			500 mg Oel[2]		
		N	$\bar{x}$	s	N	$\bar{x}$	s	N	$\bar{x}$	s
HCB	39	15	80,1	5,47	11	83,4*	2,72	8	77,9*	3,11
α-HCH	22	15	82,4	7,12	13	86,3	4,81	8	84,1	4,94
β-HCH	216	15	84,1	4,85	14	87,1	5,05	8	89,0	2,33
γ-HCH	97	15	86,4	6,96	13	92,5	4,73	8	87,6	4,56
p,p'-DDE	111	15	82,2	6,97	14	85,5	6,51	8	85,2	3,31
p,p'TDE	103	11	89,4	7,10	14	91,7	4,75	8	95,5	4,02
p,p'DDT	443	15	87,7*	8,96	14	99,4*	8,06	8	96,4	3,57
Dieldrin	113	15	84,0	6,76	8	84,3	6,08	7	86,0	2,45
Endrin	134	15	89,7*	7,75	12	86,4	6,04	8	80,4*	3,76

1 2,3 mm i. D. Säule mit 1,2 g Porasil A, Hexan/CH_2Cl_2 9 : 1 (v/v) 2 ml/min, Eluate zur GC-Messung (OV-210) auf 200 µl konzentriert.

2 7,8 mm i. D. Säule mit 11,7 g Porasil A, Hexan/CH_2Cl_2 9 : 1 (v/v) 8 ml/min, Eluate zur GC-Messung (OV-210) auf 1 ml konzentriert.

* Signifikant verschiedene Mittelwerte bei verschiedenen Oelmengen ($t_{expm} \geqslant t$ [99%]), vgl. Text.

N = Anzahl Versuche.

$\bar{x}$ = Mittelwert der Rückgewinnung.

s = Wiederholstandardabweichung.

In Tabelle 2 sind die Resultate von Rückgewinnungsversuchen zusammengestellt. Es handelt sich dabei um von den Ausreißern (Nalimov-Test, $r_{expm} \geqslant r\,[99\%]$) befreites, homogenes Zahlenmaterial. Es wurde so vorgegangen, daß zuerst mit Hilfe des pestizidhaltigen Oeles die aufzufangenden Fraktionen bestimmt und anschließend jeweils mindestens 15 Proben hintereinander aufgearbeitet wurden. Die mit der analytischen Säule (i. D. 2,3 mm, 1,2 g Porasil A) ermittelten Rückgewinnungen für Oeldosierungen von 20 mg und 50 mg ergaben nur für p,p'-DDT signifikant verschiedene Werte. Die Wiederholstandardabweichungen zeigten keine signifikanten Unterschiede (F-Test, $F_{expm.} \leqslant F\,[99\%]$). Die Standardabweichungen und mittleren Rückgewinnungen für die Aufarbeitung von 20 mg und 50 mg Oel wurden daher kombiniert und in Tabelle 3 zusammen mit den Wiederholstreubereichen (gleicher Mitarbeiter, gleiche Apparatur, gleiches Substrat) aufgeführt. Versuche, bei denen 20 mg Oel direkt sowie in Form einer Lösung (Hexan) auf die Porasil-A-Säule aufgegeben wurden, ergaben in den Rückgewinnungen und im Volumen der aufzufangenden Fraktionen keine Unterschiede. Rückgewinnungen mit 20 mg des gleichen Oeles, die von einem zweiten Mitarbeiter ermittelt wurden, lieferten für HCB, α-HCH, β-HCH und γ-HCH signifikant tiefere Rückgewinnungen: 65,2%, 77,0%, 76,1% bzw. 69,8%. Bei den Standardabweichungen ließen sich keine signifikanten Unterschiede (F-Test, $F_{exmp.} \leqslant F\,[99\%]$) feststellen.

Tabelle 3

Zusammenstellung der Rückgewinnungen und der Wiederholstreubereiche

(Zusammenfassung der Daten aus Tabelle 2)

Pestizid	Verstärkung (ppb)	N	$\bar{x}$ (%)	s (%)	s · t (95%) (%)
HCB	39	26	81,5	4,7	9,8
α-HCH	22	28	84,2	6,4	13,1
β-HCH	216	29	85,5	5,2	10,6
γ-HCH	97	28	89,2	6,7	13,7
p,p'-DDE	111	29	83,6	6,8	13,9
p,p'TDE	103	25	90,7	5,9	12,2
Dieldrin	113	21	84,1	6,4	13,4
Endrin	134	27	88,2	7,1	14,6

N = Anzahl Versuche 20 mg und 50 mg Oel dosiert (Porasil A-Säule 2,3 mm i. D.).

$\bar{x}$ = Mittlere Rückgewinnung 20 und 50 mg Oel dosiert.

s = Wiederholstandardabweichung.

s · t (95%) = Wiederholstreubereich.

Mit dem gleichen Elutionsmittel, jedoch bei Verwendung der präparativen Porasil-A-Säule und der Aufgabe von 500 mg Oel erhielten wir prinzipiell gleiche Resultate (vgl. Tabelle 2). Während sich bei den Standardabweichungen keine signifikanten Unterschiede gegenüber den Aufarbeitungen von 20 mg und 50 mg feststellen ließen, wurden für HCB und Endrin gegenüber der Aufarbeitung von 50 mg bzw. 20 mg signifikant tiefere Rückgewinnungen gefunden. Die zwei aufgefangenen Fraktionen betrugen 0—60 ml und 60—120 ml.

Tabelle 4. Vergleich der AOAC-Methode mit der Reinigung an Porasil A

Pestizid	Sonnenblumenöl		Schweinefett		Butterfett	
	AOAC[1] (ppb)	Porasil A[2] (ppb)	AOAC[1] (ppb)	Porasil[2] (ppb)	AOAC[1] (ppb)	Porasil A[2] (ppb)
HCB	nn	nn	8	10	39	58
α-HCH	nn	nn	7	6	56	58
β-HCH	nn	nn	5	6	7	8
γ-HCH	4	4	3	5	12	13
p,p'-DDE	nn	nn	24	26	18	22
p,p'-DDT	14	18	8	6	nn	nn
Dieldrin	nn	nn	20	18	18	18

nn nicht nachweisbar, d. h. < 1—3 ppb

1 nicht korrigiert für Ausbeute

2 korrigiert für Ausbeute (gemäß Tabelle 2, Daten für 50 mg Oel).

In Tabelle 4 sind die Resultate von Einzelanalysen dreier Fettproben, welche nach der hier beschriebenen Methodik sowie nach der AOAC-Methode (12) erhalten wurden, zusammengestellt. Die Ergebnisse mit Porasil A wurden mit den in der Tabelle 2 für 50 mg Oel aufgeführten Rückgewinnungen korrigiert. Die entsprechenden Gaschromatogramme sind in den Abbildungen 1 bis 3 dargestellt. Für die AOAC-Methode wurden je 3 g und für die Reinigung an Porasil A je 50 mg Fett eingesetzt. Die an Porasil A gereinigten Extrakte wurden auf 200 µl und diejenigen nach der AOAC-Methode auf 10 ml konzentriert. Die in den Gaschromatogrammen (Abb. 1 bis 3) der Porasil-A-Eluate vor dem HCB erscheinenden Peaks entsprechen Verunreinigungen und stammen aus den verwendeten Lösungsmitteln (Hexan, Methylenchlorid, Heptan).

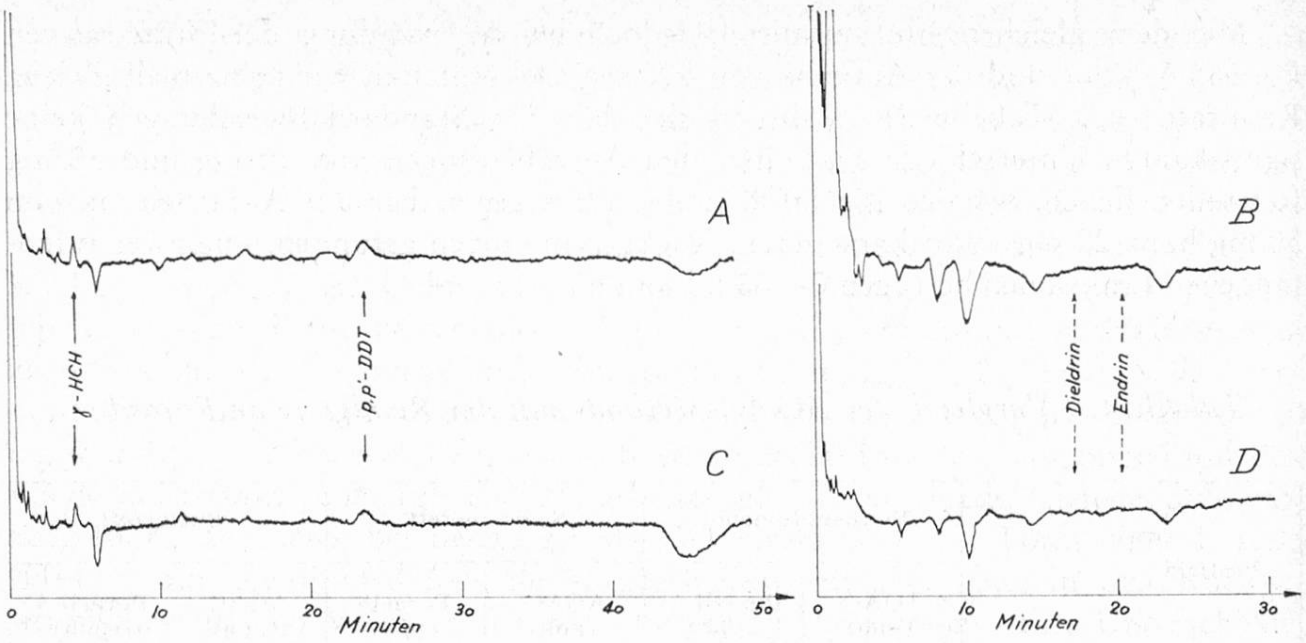

Abb. 1. Gaschromatogramme von an Porasil A bzw. nach der AOAC-Methode gereinigtem **Sonnenblumenöl** (Resultate vgl. Tabelle 4).
AOAC-Methode: je 3 μl dosiert, entspricht 0,92 mg Oel; Chromatogramm **A** entspricht dem 6% Aether-Petroläther und Chromatogramm **B** dem 15% Aether-Petroläther-Florisileluat.
Porasil A: je 3 μl eingespritzt, entspricht 0,75 mg Oel; Chromatogramm **C** entspricht dem Eluat von 0—6 ml und Chromatogramm **D** dem Eluat von 6—10 ml.
GC-Bedingungen: ECD, Kolonne OV-210, 185°C.

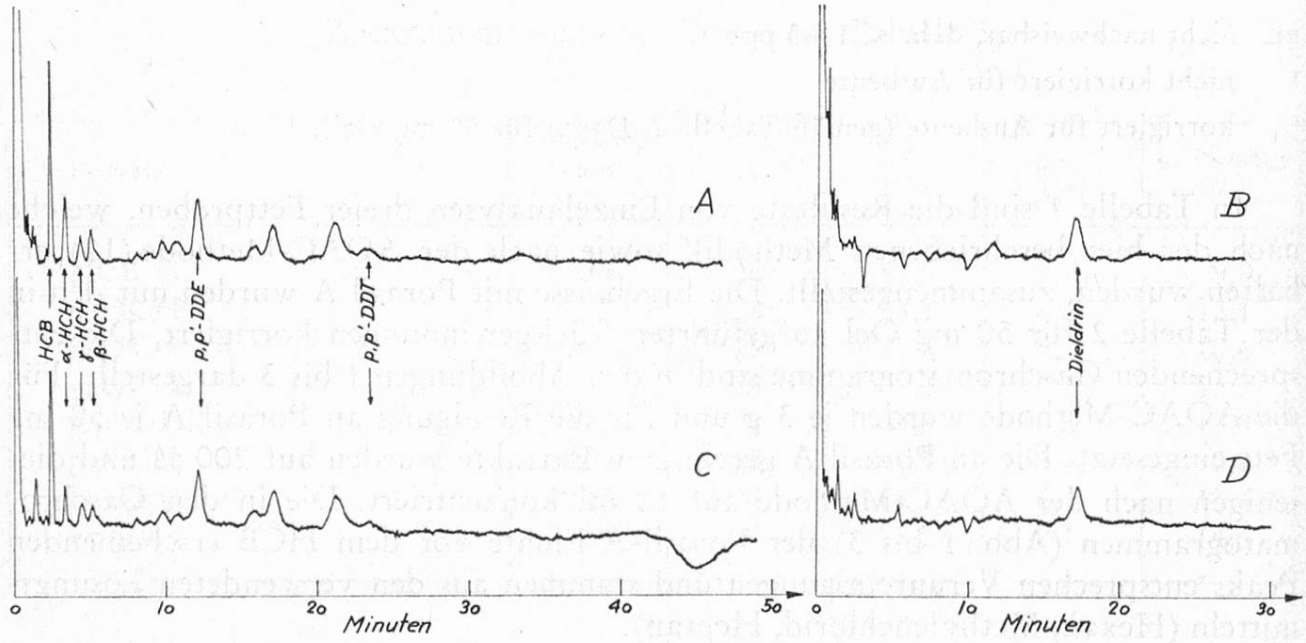

Abb. 2. Gaschromatogramme von an Porasil A bzw. nach der AOAC-Methode gereinigtem **Schweinefett** (Resultate vgl. Tabelle 4).
AOAC-Methode: je 3 μl eingespritzt, entspricht 0,89 mg Fett; Chromatogramm **A** entspricht dem 6% Aether-Petroläther und Chromatogramm **B** dem 15% Aether-Petroläther-Florisileluat.
Porasil A: je 3 μl eingespritzt, entspricht 0,71 mg Fett; Chromatogramm **C** entspricht dem Eluat von 0—6 ml und Chromatogramm **D** dem Eluat von 6—10 ml.
GC-Bedingungen: ECD, Kolonne OV-210, 185°C.

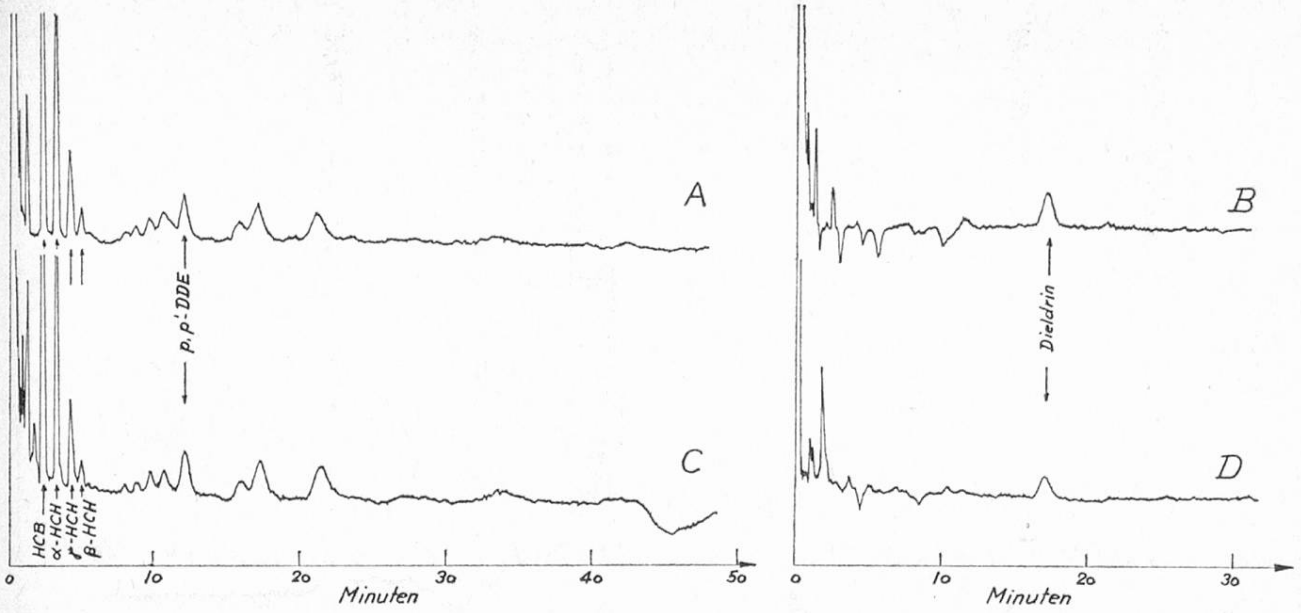

Abb. 3. Gaschromatogramme von an Porasil A bzw. nach der AOAC-Methode gereinigtem **Butterfett** (Resultate vgl. Tabelle 4).
AOAC-Methode: je 3 μl eingespritzt, entspricht 0,90 mg Fett; Chromatogramm **A** entspricht dem 6% Aether-Petroläther und Chromatogramm **B** dem 15% Aether-Petroläther-Florisileluat.
Porasil A: je 3 μl eingespritzt, entspricht 0,72 mg Fett; Chromatogramm **C** entspricht dem Eluat von 0—6 ml und Chromatogramm **D** dem Eluat von 6—10 ml.
GC-**Bedingungen:** ECD, Kolonne OV-210, 185°C.

Wie aus den in den Abbildungen 4 und 5 dargestellten Gaschromatogrammen hervorgeht, liefert das hier beschriebene Verfahren auch bei Cerealienextrakten und Eilipiden für die Gaschromatographie geeignete Extrakte. Zur Herstellung des Weizenextraktes wurden 20 g gemahlener Weizen während 3 Stunden mit Hexan im Soxhlet extrahiert, der Rohextrakt getrocknet, unter Zusatz von 1,5 ml Heptan am Rotationsverdampfer eingeengt und das Volumen anschließend mit Heptan auf 2 ml eingestellt. 90 μl dieses Rohextraktes wurden auf die Porasil-A-Säule (i. D. 2,3 mm) gespritzt. Bei einem Lipidgehalt des Weizens von ca. 2% entspricht dies rund 18 mg Lipide. Die beiden Porasil-A-Eluate wurden zur gaschromatographischen Messung (vgl. Abb. 4) auf ein Volumen von 9 ml eingestellt. Die aus einem rohen Hühnerei mit der AOAC-Methode (12) isolierten Lipide (9,1%) wurden direkt auf die Porasil-A-Säule gespritzt (21 mg.) Die entsprechenden Eluate wurden für die gaschromatographische Messung (vgl. Abb. 5) auf 200 μl konzentriert. Gegenüber dem Modellsubstrat Sonnenblumenöl konnten in diesen Versuchen keine Verschiebungen in den aufzufangenden Fraktionen festgestellt werden.

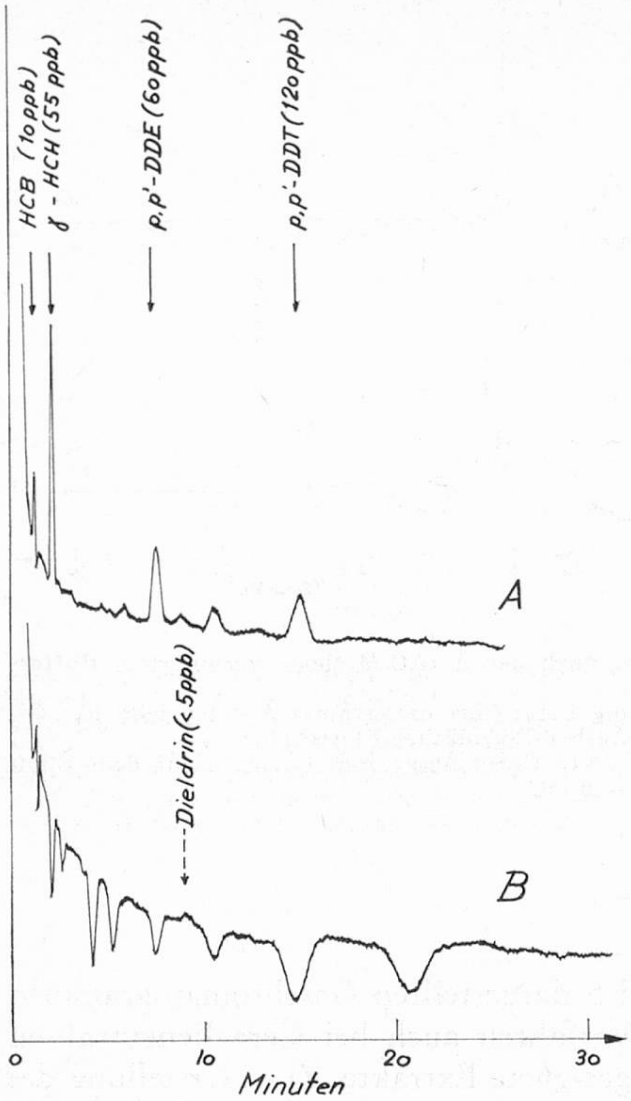

Abb. 4. Gaschromatogramme eines an Porasil A gereinigten **Weizenextraktes** (Herstellung vgl. Text), eingespritzte Menge je 2 μl, entspricht 0,2 mg Weizen. Chromatogramm **A** 0—7,5 ml Eluat, Chromatogramm **B** 7,5—13 ml Eluat.
GC-Bedingungen: ECD, OV-17/QF-1-Mischkolonne (Phasenverhältnis = 1,33), 180°C.

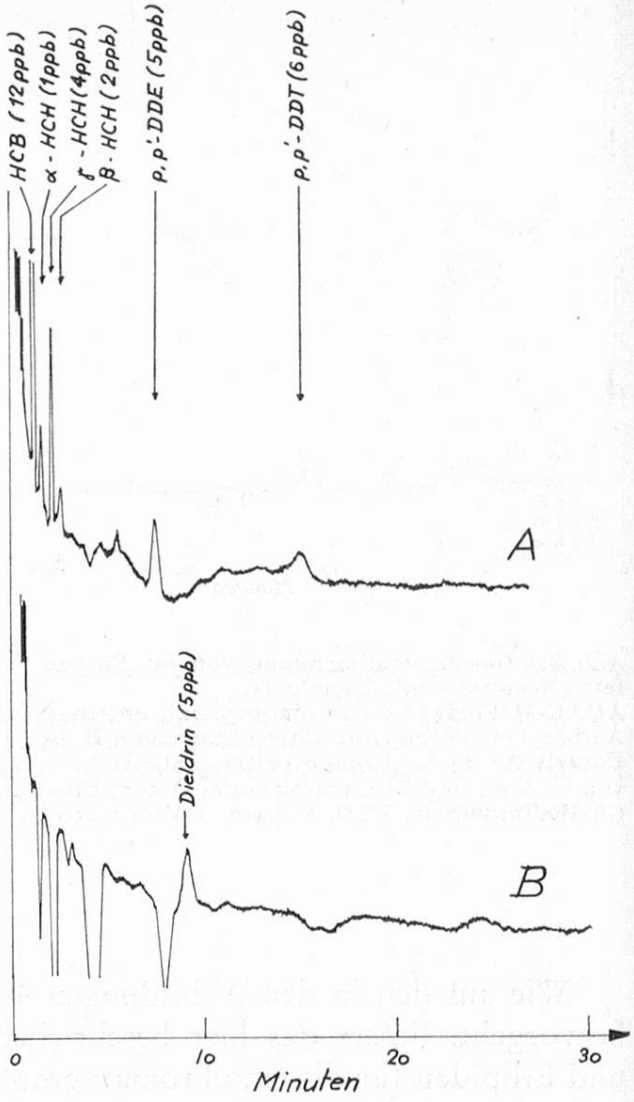

Abb. 5. Gaschromatogramme eines an Porasil A gereinigten **Eiextraktes** (Herstellung vgl. Text), eingespritzte Menge je 2 μl, entspricht 2,3 mg Vollei. Chromatogramm **A** 0—7,5 ml Eluat, Chromatogramm **B** 7,5—13 ml Eluat.
GC-Bedingungen: ECD, OV-17/QF-1-Mischkolonne (Phasenverhältnis = 1,33), 180°C.

In Tabelle 5 sind die Reinigungseffekte der verschiedenen untersuchten Verfahren zusammengestellt. Als Vergleichsmaßstab dient dabei der gravimetrisch bestimmte Lipidgehalt der für die Gaschromatographie verwendeten Eluate.

Diskussion und Schlußfolgerungen

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, daß das Silikagel Porasil A, das für die Hochdruckflüssigkeitschromatographie entwickelt wurde, sich sehr gut zur Abtrennung der Organochlorpestizide von den Lipiden eignet. Die Organochlor-

Tabelle 5. Wirksamkeit verschiedener Reinigungsverfahren

Verfahren	Sonnenblumenöl		Butterfett	
	Dosierte Menge (mg)	Lipide in Pestizidfraktion (%)	Dosierte Menge (mg)	Lipide in Pestizidfraktion (%)
AOAC-Methode inkl. Verteilung (6%- und 15% Aether-Petroläther-fraktion)	3000	0,02	3000	0,1
Gelchromatographie[1]	890	0,9	890	1,0
Gelchromatographie[1]	2660	1,6	2660	2,2
Bondapak C18/Corasil[2] CH_3CN/H_2O 4 : 1 (v/v)	200	0,14	—	—
Bondapak C18/Corasil[2] CH_3CN/H_2O 2 : 1 (v/v)	200	0,07	—	—
Porasil A[3] Hexan/CH_2Cl_2 9 : 1 (v/v)	20	0,8	—	—
Porasil A[3] Hexan/CH_2Cl_2 9 : 1 (v/v)	50	0,8	—	—
Porasil A[4] Hexan/CH_2Cl_2 9 : 1 (v/v)	500	0,6	—	—

— nicht gemessen
1 Bio Beads SX2, 80 g, Säulenbett 42 cm, i. D. 2,5 cm, 5 ml/min Cyclohexan
2 Bondapak C18/Corasil, 3,9 g, Säule 60 cm, i. D. 2,3 mm, 2 ml/min
3 Porasil A, 1,2 g, Säule 60 cm, i. D. 2,3 mm, 2 ml/min
4 Porasil A, 11,7 g, Säule 60 cm, i. D. 7,8 mm, 8 ml/min

pestizide werden vor den Lipiden eluiert. Die Lipide können mit Methylenchlorid vollständig aus der Säule entfernt werden. Die pestizidhaltigen Fraktionen werden aufgefangen, nach Bedarf konzentriert und anschließend gaschromatographisch mit dem Elektroneneinfangdetektor untersucht. Pro Gramm Porasil A können bis zu 50 mg Fette oder Oele direkt oder in Hexan gelöst auf die Säule gespritzt werden. Die Tatsache, daß die HPLC-Säule dabei stark überladen und die Trennleistung somit ebenfalls stark reduziert wird, spielt im vorliegenden Fall eine untergeordnete Rolle. Da die k'-Werte der Organochlorpestizide im beschriebenen System viel kleiner sind als die der Lipide, kann auch mit der relativ bescheidenen Trennleistung der überladenen HPLC-Säule (ca. 0,2 theoretische Böden/sec) eine ausreichende Trennung der Organochlorpestizide von den Lipiden erreicht werden.

Wie aus den Abbildungen 1 bis 3 hervorgeht, sind die mit dem beschriebenen Verfahren erhaltenen Gaschromatogramme bezüglich Interferenzen gut vergleich-

bar mit denjenigen, die nach der AOAC-Methode erhalten werden. Auch die quantitative Auswertung zeigt, trotz den relativ geringen Gehalten, eine gute Uebereinstimmung zwischen den beiden Verfahren (Tabelle 4). Aus den in Tabelle 5 aufgeführten Daten geht andererseits hervor, daß die AOAC-Methode, mindestens bezüglich Lipidrückständen in den pestizidhaltigen Eluaten, bessere Resultate liefert als die Porasil-A-Reinigung. Trotz dieser Tatsache konnte, auch nach der Einspritzung mehrerer hundert porasil-A-gereinigter Extrakte, keine nachteilige Beeinflussung der gaschromatographischen Kolonnen oder des Detektors festgestellt werden.

Werden 50 mg Fett auf eine Porasil-A-Säule von rund 1 g Inhalt aufgegeben und die entsprechenden Fraktionen auf 200 µl konzentriert, so können Organochlorpestizidrückstände in Fetten und Oelen noch im Bereich von 1—5 ppb, je nach Pestizid, einwandfrei und rasch bestimmt werden. Die Rückgewinnungen des ganzen Verfahrens liegen bei 80—90% und die dazugehörigen Wiederholstreubereiche (s · t [95%]) betragen rund 13%, was für Spurenanalysen akzeptabel erscheint. Der Zeitaufwand beträgt rund 5 Minuten für die Abtrennung der Organochlorpestizide von den Lipiden, ca. 20 Minuten für die Regeneration der Porasil-A-Säule, 20—30 Minuten für die Konzentrierung und nochmals 30—40 Minuten für die Aufnahme der Gaschromatogramme: Totaler Zeitbedarf für eine komplette Analyse beträgt somit höchstens 1—1,5 Stunden, bei einem maximalen Verbrauch an hochreinen Lösungsmitteln von 50 ml. Mit einer Porasil-A-Säule können bis zu 200 fetthaltige Extrakte aufgearbeitet werden. Bei Verwendung einer präparativen Säule (i. D. 7,8 mm) ergeben sich prinzipiell ähnliche Resultate. Allerdings ist der Elutionsmittelverbrauch rund 10mal größer.

Die Rückgewinnungsversuche mit zwei verschiedenen Mitarbeitern zeigen, daß die mittleren Rückgewinnungen von HCB, α-HCH, β-HCH und γ-HCH vom ausführenden Mitarbeiter abhängen. Für die schwerer flüchtigen Pestizide p,p'-DDE, p,p'-DDT und Dieldrin sind die mittleren Rückgewinnungen unabhängig vom jeweiligen Mitarbeiter. Die Unterschiede im Fall der leichter flüchtigen Pestizide HCB und HCH-Isomere lassen sich der offenbar unterschiedlichen Durchführung der Eindampfoperation durch die beiden Mitarbeiter zuschreiben. Die in separaten Eindampfversuchen von reinen Pestizidlösungen gefundenen Rückgewinnungen stimmen, innerhalb der Fehlergrenze, mit den in Tabelle 2 aufgeführten Werten für das ganze Analysenverfahren überein. Dies zeigt, daß auch die von 100% verschiedenen Rückgewinnungen (Tabelle 2) größtenteils der Eindampfoperation zuzuschreiben sind. Werden daher nach dem beschriebenen Verfahren Fettproben mit Pestizidgehalten im ppm-Bereich analysiert, so sind, entsprechend den kleineren Eindampfverlusten, höhere Rückgewinnungen zu erwarten.

Wird zur gaschromatographischen Untersuchung der gereinigten Extrakte anstelle des Elektroneneinfangdetektors beispielsweise ein Massenspektrometer eingesetzt oder sollen polare Pestizide wie z. B. Phosphorsäureester bestimmt werden, so empfiehlt sich eine Extraktvorreinigung mit einem Umkehrphasensystem, z. B. Bondapak C 18/Corasil (vgl. Tabelle 5).

Obwohl im Rahmen der vorliegenden Arbeit noch nicht alle Vorteile der HPLC, wie z. B. die hohe erreichbare Trennleistung mit den modernen HPLC-

Säulen (poröse, 5—10 μm große Teilchen), voll ausgenützt werden, weisen unsere Ergebnisse darauf hin, daß sich mit dieser leicht automatisierbaren Technik etliche Extraktreinigungsprobleme der Pestizidrückstandsanalytik einfacher, rascher und zum Teil auch besser lösen lassen als mit der konventionellen Säulenchromatographie oder der Dünnschichtchromatographie. Zu ähnlichen Schlußfolgerungen gelangen auch die Autoren (40) einer kürzlich erschienenen Arbeit über die Isolierung und Reinigung von Metaboliten des Herbizids Chlorpropham.

Zusammenfassung

Die Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) wird zur Abtrennung der Organochlorpestizide von Lipiden eingesetzt. Im System Porasil A (Silikagel)-Hexan/Methylenchlorid 9 : 1 (v/v) können pro Gramm Absorbens bis zu 50 mg Lipide auf die HPLC-Säule aufgegeben werden. Die entsprechenden Fraktionen, die die Organochlorpestizide enthalten, werden aufgefangen, konzentriert und gaschromatographisch mit dem Elektroneneinfangdetektor untersucht. Die resultierenden Gaschromatogramme sind praktisch gleich wie diejenigen von Extrakten, die nach der AOAC-Methode aufgearbeitet werden. Die Porasil-A-Säule wird mit Methylenchlorid regeneriert. Sie kann für mindestens 200 Fettdosierungen verwendet werden. Werden analytische HPLC-Säulen mit ca. 1 g Porasil A Inhalt verwendet und die aufgefangenen Eluate auf 200 μl konzentriert, so ergeben sich für das ganze Analysenverfahren Rückgewinnungen der Organochlorpestizide von 80—90% und Wiederholstreubereiche (s · t [95%]) von rund 13%. Die erreichbaren Nachweisgrenzen betragen, je nach Pestizid, 1—5 ppb.

Résumé

La chromatographie en phase liquide sous haute pression (HPLC) est appliquée pour séparer les pesticides organochlorés des lipides. Dans le système Porasil A (silicagel)-hexane/chlorure de méthylène 9 : 1 (v/v) on peut introduire dans la colonne HPLC jusqu'à 50 mg de lipides par g d'adsorbant. Les fractions correspondantes, contenant les pesticides organochlorés, sont concentrées et anlysées par GLC avec détecteur à capture d'électrons. Les chromatogrammes obtenus sont pratiquement identiques à ceux des extraits préparés par la méthode AOAC. La colonne de Porasil A est régénérée par le chlorure de méthylène. Elle peut être utilisée pour au moins 200 séparations de graisse. Si l'on se sert de colonnes analytiques HPLC contenant environ 1 g de Porasil A, et si les éluats sont concentrés à 200 μl, on obtient une récupération des pesticides organochlorés de 80—90%. Les résultats sont reproductibles, le domaine de dispersion (s · t [95%]) étant d'environ 13% et la limite de détection de 1—5 ppb, suivant le pesticide.

Summary

The application of high pressure liquid chromatography (HPLC) to the separation of organochlorine pesticides from lipids is described. In the system Porasil A (silicagel)-hexane/methylene chloride 9 : 1 (v/v) up to 50 mg of the lipids per g of adsorbent can be applied to the HPLC column. The eluates collected are concentrated and analyzed by gas liquid chromatography with an electron capture detector. The resulting chro-

matograms are practically identical with those from extracts obtained according to the AOAC method. The Porasil A column regenerated with methylene chloride, can be used for at least 200 separations. With analytical HPLC columns containing about 1 g of Porasil A, and eluates concentrated to 200 μl, recoveries of the organochlorine pesticides of 80—90% (s·t [95%] = 13%) have been obtained. Detection limits of 1—5 ppb, depending on the type of the pesticide, are attainable.

Literatur

1. *Storherr, R. W., Murray, E. J., Klein, I.* and *Rosenberg, L. A.:* Swepp co-distillation clean-up of fortified edible oils for determination of organophosphate and chlorinated hydrocarbon pesticides. J. Assoc. Offic. Analyt. Chemists **50**, 605—615 (1967).
2. *Malone, B.* and *Burke, J. A.:* Collaborative study of the sweep co-distillation clean-up for chlorinated pesticide residues in edible fats and oils. J. Assoc. Offic. Analyt. Chemists **52**, 790—797 (1970).
3. *Gay, L.* and *Cerny, M.:* Sweep Co-Destillation als Reinigungsverfahren zur routinemäßigen Bestimmung der Organochlorpestizidrückstände in fetthaltigen Lebensmitteln. Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. **66**, 225—237 (1975).
4. *Aker, N. L., Schanderl, S. H.* and *Leeling, N. C.:* Gel permeation clean-up for malathion in wheat, using a non-ionic, cross-linked polystyrene polymer. J. Assoc. Offic. Analyt. Chemists **51**, 888—892 (1968).
5. *Stalling, D. L., Tindle, R. C.* and *Johnson, J. L.:* Clean-up of pesticide and polychlorinated biphenyl residues in fish extracts by gel permeation chromatography. J. Assoc. Offic. Analyt. Chemists **55**, 32—88 (1972).
6. *Griffitt, K. R.* and *Craun, J. C.:* Gelpermeation chromatographic system: an evaluation. J. Assoc. Offic. Analyt. Chemists **57**, 168—172 (1974).
7. *Masud, Z., Bátora, V.* and *Kovačičová, J.:* Gel filtration clean-up for multiresidues of organophosphorus pesticides in rice. Pest. Sci. **4**, 131—136 (1973).
8. *Gorbach, S. G., Winkler, S.,* und *Gaudernack, E.:* Beitrag zur Anwendung der Gel-Chromatographie in der Rückstandsanalyse, insbesondere am Beispiel der Bestimmung Triazophos und Pyrazophos. Z. anal. Chem. **267**, 173—181 (1973).
9. *Pflugmacher, J.* und *Ebing, W.:* Reinigung von Phosphorsäureinsektizidrückständen in Gemüseextrakten durch Gelchromatographie an Sephadex LH-20. J. Chromatog. **93**, 457—463 (1974).
10. *McCully, K. A.* and *McKinley, W. P.:* Determination of chlorinated pesticide residues in fat by electron capture gas chromatography. J. Assoc. Offic. Agr. Chemists **47**, 652—659 (1964).
11. *McLeod, H. A.* and *Wales, P. J.:* A low temperature clean-up procedure for pesticides and their metabolites in biological samples. J. Agr. Food Chem. **20**, 624—627 (1972).
12. Pesticide Analytical Manual, Vol. 1 und Vol. 3. Food and Drug Administration, Washington DC, USA (1973).
13. *Eidelman, M.:* Determination of micro-quantities of some chlorinated organic pesticide residues in edible fats and oils. J. Assoc. Offic. Agr. Chemists **46**, 182—186 (1963).
14. *De Faubert Maunder, Egan, M. J., Godly, H., Hammond, E. W., Roburn, J.* and *Thomson, J.:* Clean-up of animal fat and dairy products for the analysis of chlorinated pesticide residues. Analyst **89**, 168—174 (1964).
15. *Wood, N. F.:* Extraction and clean-up of organochlorine pesticide residues by column chromatography. Analyst **94**, 399—405 (1969).

16. *Hadorn, H.* und *Zürcher, K.:* Säulenchromatographische Aufarbeitung chlorhaltiger Insektizid-Rückstände aus Käsefett und quantitative GC-Analyse. Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. **61**, 141—170 (1970).
17. *Langlois, B. E., Stemp, A. R.* and *Liska, B. J.:* Rapid clean-up of dairy products for analysis of chlorinated insecticide residues by electron capture gas chromatography. J. Agr. Food Chem. **12**, 243—245 (1964).
18. *Stijve, T.* and *Cardinale, E.:* Rapid determination of chlorinated pesticides, polychlorinated biphenyls and a number of phosphated insecticides in fatty foods. Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. **65**, 147—166 (1974).
19. *Holden, A. V.* and *Marsden, K.:* Single-stage clean-up of animal tissue extracts for organochlorine residue analysis. J. Chromatog. **44**, 481—492 (1969).
20. *Law, L. M.* and *Goerlitz, D. F.:* Microcolumn chromatographic clean-up for analysis of pesticides in water. J. Assoc. Offic. Analyt. Chemists **53**, 1276—1286 (1970).
21. *Leoni, V.:* The separation of fifty pesticides and related compounds and polychlorobiphenyls into four groups by silica gel microcolumn chromatography. J. Chromatog. **62**, 63—71 (1971).
22. *Kadoum, A. M.:* A rapid micromethod of sample clean-up for gas chromatographic analysis of insecticidal residues in plant, animal, soil, and surface and ground water extracts. Bull. Environ. Contam. Toxicol. **2**, 264—273 (1967).
23. *Eisenbeiß, T.* and *Sieper, H.:* The potential use of high-performance liquid chromatography in residue analysis. J. Chromatog. **83**, 439—446 (1973).
24. *Henry, R. A., Schmit, J. A., Dieckman, J. F.* and *Murphey, F. J.:* Combined high speed liquid chromatography and bioassay for evaluation and analysis of an organophosphorus larvicide. Anal. Chem. **43**, 1053—1057 (1971).
25. *Schmit, J. A., Henry, R. A., Williams, R. C.* and *Dieckman, J. F.:* Application of high-speed reserved phase liquid chromatography. J. Chrom. Sci. **9**, 645—651 (1971).
26. *Ramsteiner, K. A.* and *Hörmann, W. D.:* Coupling high-pressure liquid chromatography with cholinesterase inhibition auto-analyser for the determination of organophosphate and carbamate insecticides. J. Chromatog. **104**, 438—442 (1975).
27. *Frei, R. W., Lawrence, J. F., Hope, J.* and *Cassidy, R. M.:* Analysis of carbamate insecticides by fluorigenic labelling and high-speed liquid chromatography. J. Chrom. Sci. **12**, 40—44 (1974).
28. *Horgan Jr., D. F., Dark, W. A.* and *Bombaugh, K. J.:* Analytical liquid chromatography, the useful approach to pesticide analysis. Bulletin Nr. 19531 B, Waters Associates Inc. Framingham, Mass. USA (1970).
29. *Dark, W. A.:* (Waters Ass.) private Mitteilung 1972.
30. *Waters Associates Inc.:* Application Highlights Nr. 24, Polychlorinated biphenyls.
31. *Larose, R. H.:* High-speed liquid chromatographic clean-up of environmental samples prior to the gas chromatographic determination of lindane. J. Assoc. Offic. Analyt. Chemists **57**, 1046—1049 (1974).
32. *Karger, B. L.:* The relationship of theory to practice in high-speed liquid chromatography. In: Modern practice of liquid chromatography, J. J. Kirkland (Ed.), S. 47. Wiley-Interscience, New York 1971.
33. *Waters Associates Inc.:* Application Highlights Nr. 17, Antioxidants in cooking oils.
34. *Claeys, R. R.* and *Inman, R. D.:* Adsorption chromatographic separation of chlorinated hydrocarbons from lipids. J. Assoc. Offic. Analyt. Chemists. **57**, 399—404 (1974).
35. *Mills, P. A., Bong, B. A., Kamps, L. R.* and *Burke, J. A.:* Elution solvent systems for Florisil column cleanup in organochlorine pesticide residue analyses. J. Assoc. Offic. Analyt. Chemists, **55**, 39—43 (1970).

36. *Johnson, J. L., Stalling, D. L.* and *Hogan, J. W.:* Hexachlorobenzene (HCB) residues in fish. Bull. Environ. Contam. Toxicol. **11**, 393—398 (1974).
37. *Zimmerli, B.:* Erfahrungen bei der Konzentrierung pestizidhaltiger Extrakte. Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. **64**, 528—532 (1973).
38. *Unger, K.:* Trägermaterialien für die Säulenflüssigchromatographie — ein Ueberblick über den heutigen Stand. Chimia **28**, 679—689 (1974).
39. *Snyder, L. R.:* The practice of liquid-solid chromatography. In: Modern practice of liquid chromatography, J. J. Kirkland (Ed.), S. 205—236. Wiley-Interscience, New York 1971.
40. *Still, G. G.* and *Mansager, E. R.:* High performance liquid and gas liquid chromatography applied to the purification of pesticide plant and animal metabolites. Chromatographia **8**, 129—135 (1975).

Dr. B. Zimmerli
Dr. B. Marek
Eidg. Gesundheitsamt
Abt. Lebensmittelkontrolle
Sektion Pestizidrückstände
und Kontaminationen
Haslerstraße 16
CH - 3008 Bern