

Bestimmung von Chloramphenicol in tierischen Lebensmitteln = Determination of chloramphenicol in food samples of animal origin

Autor(en): **Bécheiraz, M. / Haldemann, A. / Etter, R.**

Objektyp: **Article**

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

Band (Jahr): **74 (1983)**

Heft 2

PDF erstellt am: **09.08.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-983008>

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.

Bestimmung von Chloramphenicol in tierischen Lebensmitteln

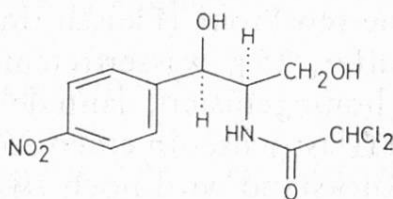
Determination of Chloramphenicol in Food Samples of Animal Origin

M. Bécheiraz, A. Haldemann und R. Etter
Kantonales Laboratorium, Zürich
(Direktor: Dr. E. Romann)

Einleitung

Wurde Chloramphenicol, das erste synthetisch hergestellte Breitband-Antibiotikum, dank seines großen Wirkungsspektrums früher häufig eingesetzt, wird es heute in der Humanmedizin wegen seiner toxischen Nebenwirkungen nur noch zurückhaltend verwendet.

In der Veterinärmedizin wird Chloramphenicol jedoch nach wie vor in großem Umfang angewandt, insbesondere als Therapeutikum in der Kälbermast und als Bestandteil verschiedener Präparate zur Mastitisbekämpfung bei Milchkühen, obwohl außer den in der Humanmedizin beobachteten toxischen Effekten auch die Resistenzbildung bei Salmonellen (1) zur Vorsicht mahnt. Von der FAO/WHO und von verschiedenen Ländern sind Nulltoleranzen für Chloramphenicol-Rückstände gefordert worden; in den USA ist Chloramphenicol für Mastitisbehandlungen nicht zugelassen.



Die üblicherweise zum Antibiotikanachweis angewandten mikrobiologischen Methoden sind nicht in der Lage, Chloramphenicol in den relevanten Größenordnungen zu erfassen. Verschiedene chromatographische Bestimmungsmethoden sind für klinische Anwendungen beschrieben worden (2–7), sie sind aber meist zu wenig empfindlich und beschränken sich auf die Untersuchung von Blut- und Urinproben. Die für die Lebensmitteluntersuchungen veröffentlichten Vorschriften (8–17) erfordern einen großen Zeitaufwand und haben sich für Routinekontrollen bisher nicht durchgesetzt, insbesondere ist für gaschromatographische Verfahren eine Derivatisierung (18) der Wirksubstanz unumgänglich.

Die nachfolgend beschriebene HPLC-Methode erlaubt eine rasche, zuverlässige Bestimmung von Chloramphenicol in Milch, Eiern, Fleisch und Fisch.

Methoden

Reagenzien und Geräte

1 m Acetatpuffer: 1 m Natriumacetat/1 m Essigsäure 1 + 1; Chloramphenicol: Fluka, purum; Natriumsulfat wasserfrei: Siegfried, rein; n-Pentan: Fluka, für UV-Spektroskopie; Petrolether: Siegfried, rein; übrige Chemikalien und Lösungsmittel: Merck, zur Analyse.

Fleischwolf; Hochfrequenzhomogenisator: Polytron PT 20 N; Zentrifuge: 4000 U/min; Zentrifugengläser mit teflonbeschichtetem Schraubdeckel.

HPLC-System: Pumpe: Waters M-45
Injektor: Waters U6K mit 2 ml-Probenschleife
Säule: Glassäule 4 x 100 mm, gepackt mit Hypersil H 5 ODS als Suspension in Aceton
Detektor: Perkin-Elmer LC-75
Schreiber: W + W 1100

Extraktion

Milch

50 ml Milch werden in einem 250-ml-Scheidetrichter mit 25 ml gesättigter Kochsalzlösung und 150 ml Ethylacetat geschüttelt. Man fügt 8 g festes Natriumchlorid zu und schüttelt mehrmals intensiv. Die wässrige Phase wird abgetrennt und verworfen.

Eier, Fleisch und Fisch

10 g einer vorhomogenisierten Probe (Fleisch und Fisch gewolft) werden zusammen mit 2 ml Acetatpuffer, 25 g wasserfreiem Natriumsulfat und 100 ml Ethylacetat mittels Polytron homogenisiert, dann dekantiert und durch einen mit Sand und Watte beschickten Glastrichter in einen 250-ml-Scheidetrichter filtriert (evtl. unter Vakuum). Der Rückstand wird noch zweimal mit 50 ml Ethylacetat extrahiert und die Extrakte ebenfalls in den Scheidetrichter filtriert.

Reinigung der Extrakte

Der Extrakt wird nacheinander gewaschen mit:

1. 25 ml ges. Kochsalzlösung + 1 ml 1 m Natronlauge,
2. 25 ml ges. Kochsalzlösung + 1 ml 1 m Acetatpuffer.

Die wässrigen Phasen werden jeweils verworfen, ebenso die bei Milch- und Fischuntersuchungen auftretende flockig-gelatinöse Schicht an der Phasengrenze.

Die organische Phase wird in einem Erlenmeyer-Kolben über Natriumsulfat getrocknet, durch Watte in einen 250-ml-Rundkolben filtriert, Trocknungsmittel und Erlenmeyer mit wenig Ethylacetat nachgespült und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer bei 50 °C abdestilliert. Ethylacetatreste werden anschließend direkt am Wasserstrahlvakuum entfernt.

Der Rückstand (evtl. leicht erwärmt) wird soweit möglich ohne Lösungsmittel in ein 12-ml-Zentrifugenglas pipettiert und der Kolben mit gesamthaft 7 ml Petrolether gut nachgespült. Zur Lösung im Zentrifugenglas gibt man 1 ml Wasser/Acetonitril 4 + 1, mischt intensiv und zentrifugiert. Die organische Phase wird abgesaugt und verworfen. Man gibt 5 ml Pentan ins Zentrifugenglas, schüttelt, zentrifugiert und saugt anschließend die Pentanphase ab. Durch kurzes Erwärmen der Wasserphase (Wasserbad, ca. 50 °C) werden Pentanreste entfernt. Man filtriert die Lösung durch ein «Mikrofilter» (Pasteurpipette mit Watte/Celite/Watte) und setzt die klare Lösung direkt für HPLC ein.

Chromatographische Bedingungen

Säule:	4 x 100 mm, Hypersil H 5 ODS
Mobile Phase:	Wasser/Acetonitril/Acetatpuffer 80 + 20 + 1
Fluß:	1 ml/min
Injektionsvolumen:	Probe: 100 µl Externer Standard: 100 µl Chloramphenicol 0,5 µg/ml in 20% Acetonitril
Empfindlichkeit:	0,02 A. u. f. s.
Retentionszeit:	ca. 9 min
Nachweisgrenze:	ca. 5 ng

Resultate und Diskussion

Die Extraktion von zugesetztem Chloramphenicol aus der Matrix mit Ethylacetat gelingt bei sämtlichen untersuchten Lebensmitteln nahezu quantitativ. Die Sättigung der Waschwässer mit Kochsalz erleichtert die Phasentrennung im Scheidetrichter und unterdrückt Verluste am relativ gut wasserlöslichen Wirkstoff.

Die Hauptmenge der Begleitsubstanzen, insbesondere Fett, wird in der zweiten Flüssig-flüssig-Verteilung entfernt. Die Verwendung nur geringer Lösungsmittelmengen auf dieser Stufe gestattet einerseits die bequeme parallele Aufarbeitung mehrerer Proben, andererseits kann die wässrige Phase ohne Aufkonzentrieren direkt für die chromatographische Bestimmung eingesetzt werden.

Chloramphenicol ist in reinem Petrolether nahezu unlöslich (< 5 µg/l). Trotzdem hat sich die Übertragung der Hauptmenge des eingedampften Essigesterextraktes ins Zentrifugenglas und Nachspülen des Kolbens direkt mit Petrolether

ohne weitere Lösungsmittel bewährt. Die Wiederfindungsraten waren höher als in Vorversuchen, bei denen der Rückstand in Ether oder Dichlormethan aufgenommen, ins Zentrifugenglas transferiert und dann sehr zeitraubend durch Abblasen im Stickstoffstrom vom Lösungsmittel wieder befreit worden war. Scheinbar wird die Löslichkeit von Chloramphenicol durch die große Menge an Begleitsubstanzen genügend erhöht. Eine solche Steigerung der Löslichkeit durch Begleitsubstanzen in der organischen Phase und dadurch Erniedrigung des Verteilungskoeffizienten zwischen Wasser/Acetonitril 4 + 1 und Petrolether ist vermutlich auch für die deutlich geringere Wiederfindungsrate bei der Untersuchung von Eiern verantwortlich, wenn von 30 g statt von 10 g Probenmaterial ausgegangen wird (vgl. Tabelle 1).

Die Extraktion mit 1 ml Laufmittel ergibt gegenüber der Probe eine 10- bis 50fache Anreicherung des Arzneimittels. Die erreichbare Nachweisgrenze hängt vorwiegend von der eingesetzten Probemenge ab. Während sich diese von anfänglich 10 g bei der Untersuchung von Milch und Eiern ohne weiteres erhöhen ließ, ist dies bei Fleischuntersuchungen schlecht durchführbar. Eine Steigerung der Empfindlichkeit wäre auch durch Erhöhung des Injektionsvolumens oder durch stärkeres Aufkonzentrieren denkbar. Da die Vergrößerung des Injektionsvolumens von üblicherweise 100 μ l ($1/10$ des Extraktes) aus chromatographischen Gründen ungünstig ist, wurden einige Versuche mit einem Extraktionsvolumen von 0,5 ml angestellt. Diese ergaben aber deutlich erniedrigte Wiederfindungsraten.

Die Quantifizierung erfolgt durch Vergleich mit einem externen Standard unter Annahme von 1 ml Endvolumen, ohne Berücksichtigung von Verlusten an Lösungsmittel bei der Extraktion oder durch Verdunstung.

Milch

Das in verschiedenen, zum Teil häufig eingesetzten Präparaten zur Mastitis-Therapie bei Milchkühen enthaltene, intramammär applizierte Chloramphenicol dürfte zum größten Teil unverändert mit der Milch ausgeschieden werden, ohne in den Stoffwechsel des Tieres zu gelangen. Da Chloramphenicol mit den in der Milchwirtschaft routinemäßig durchgeführten mikrobiologischen Antibiotikatests nicht erfaßt wird, liegen bisher keine Angaben über Rückstände in der Milch vor.

Die bei Analysen ausgehend von 50 ml Milch praktisch erreichte Nachweisgrenze liegt bei 2 ppb. Die in Versuchen mit Zusätzen von 2 ppb gefundene Peakhöhe liegt in der für eine quantitative Wiederfindung erwarteten Größe, wenn auch die Meßgenauigkeit für eine Festlegung der Wiederfindungsraten nicht ausreicht. Die Wiederfindungsrate bei 10 ppb Zusatz beträgt $92 \pm 5\%$ (9 Bestimmungen).

Für Routinekontrollen mit einer angestrebten Nachweisgrenze von 10 ppb erwies sich die gemeinsame Untersuchung von 5 Proben zu 10 ml als sinnvoll. Dadurch wird die Analyse von 40 Milchproben pro Tag durch eine Arbeitskraft oh-

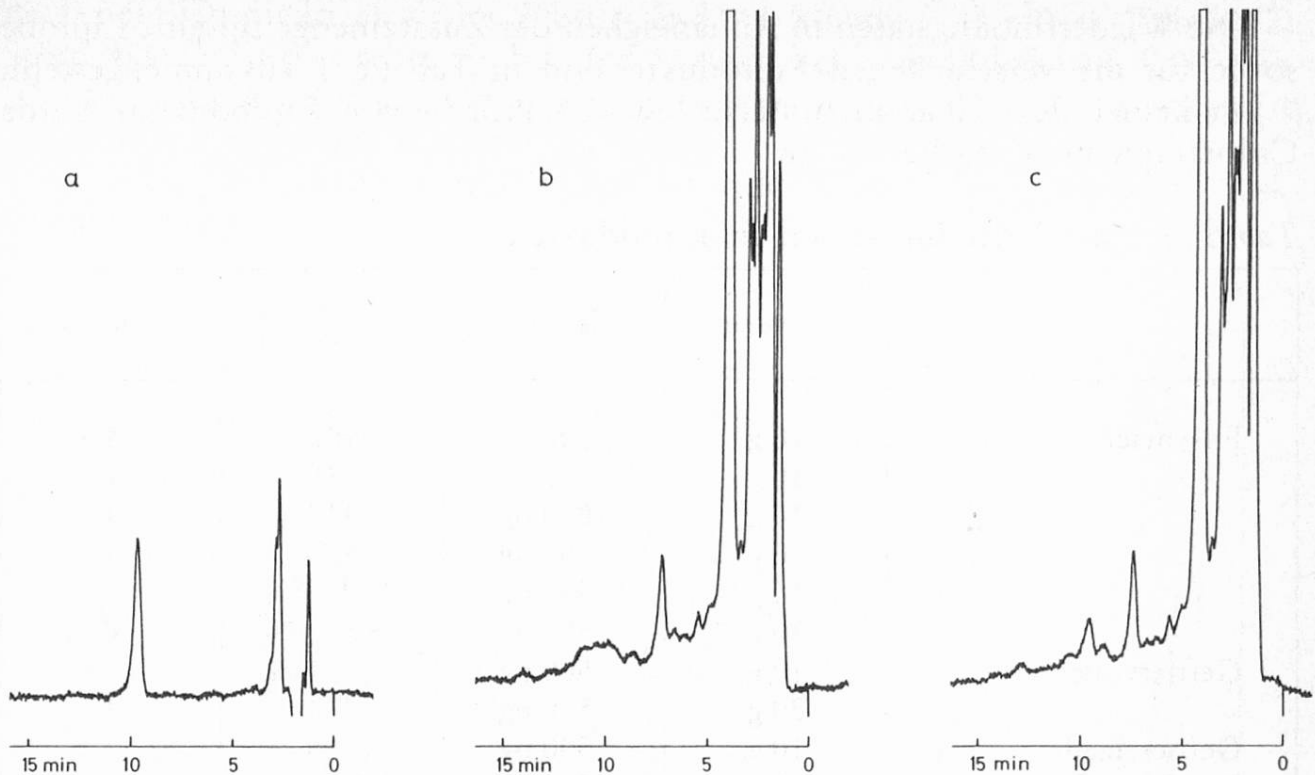


Abb. 1. Chromatogramm von Chloramphenicol in Milch

- a = Chloramphenicol Standard (100 μ l, 0,5 ppm in 20% Acetonitril)
- b = Extrakt aus 50 ml Rohmilch ohne Zusatz
- c = gleiche Probe mit Zusatz von 2 ppb Chloramphenicol

ne weiteres möglich. Abbildung 1 zeigt die Chromatogramme ausgehend von 50 ml Milch (5 Proben zu 10 ml) ohne und mit Zusatz von 100 ng Chloramphenicol, entsprechend 10 ppb auf 10 ml (d. h. auf eine Einzelprobe) bezogen.

In einer der bis anhin untersuchten 240 Milchproben wurde 35 ppb Chloramphenicol gefunden. Dieser Befund konnte durch GC/MS bestätigt werden.

Eier

Bei der Untersuchung von Eiern und Eiprodukten auf Chloramphenicol wird ausgehend von einer 10-g-Einwaage eine Nachweisgrenze von ca. 10 ppb erreicht. Für Routineuntersuchungen wird vorteilhaft eine Mischung von 3 Proben zu 10 g zur Analyse eingesetzt. Dabei ist die Natriumsulfatmenge zu verdreifachen und das Ethylacetatvolumen zu verdoppeln. Die Erhöhung der Probemenge bot bei den untersuchten Proben von Vollei und Gefriervollei von der Aufarbeitung her keine Probleme, und Störpeaks, die mehr als ca. 5 ppb Chloramphenicol (auf eine Probe zu 10 g bezogen) entsprechen würden, traten nicht auf. Gefriereigelb wurde genau nach Vorschrift aufgearbeitet, für die Untersuchung von Trockenvollei wurden 5 g Untersuchungsmaterial und 10 g Natriumsulfat verwendet. Bei der Untersuchung von frischem Eiklar und Trockeneiweiß traten Störpeaks auf, die eine Bestimmung verhinderten.

Die Wiederfindungsraten in Abhängigkeit der Zusatzmenge für eine Eiprobe sowie für die verschiedenen Eiprodukte sind in Tabelle 1 zusammengestellt.

In keiner der bis anhin untersuchten 24 Proben von Eiprodukten wurde Chloramphenicol nachgewiesen.

Tabelle 1. Wiederfindungsraten in Eiprodukten

	Probemenge	Zusatz	Wiederfindungsrate	Versuchszahl
Frischeier	10 g	200 ng	98%	1
	10 g	500 ng	98%	1
	10 g	1000 ng	94%	1
	10 g	2000 ng	92%	1
	10 g	500 ng	96 ± 5%	3
	30 g	500 ng	76 ± 5%	6
Gefriervollei	10 g	500 ng	91 ± 11%	3
	30 g	500 ng	77%	1
Gefriereigelb	10 g	500 ng	84%	1
Trockenvollei	5 g	500 ng	83%	1

Fleisch

Chloramphenicol wird renal hauptsächlich als Glucuronid (bis zu 90%) ausgeschieden (19). Für die Bestimmung in Niere oder Harn muß deshalb der Wirkstoff erst durch enzymatische Hydrolyse freigesetzt werden. Eine neue Untersuchung an Schweinen zeigte, daß Chloramphenicol im Blutserum ungefähr zu gleichen Teilen frei und als Konjugat vorliegt (15). Entsprechende Angaben für Muskelfleisch fehlen. Eine starke Verschiebung dieses Verhältnisses zu Ungunsten des freien Chloramphenicols ist aber kaum wahrscheinlich. Wir beschränkten uns bisher auf den Nachweis von ungebundenem Chloramphenicol.

Die in Fleischuntersuchungen problemlos erreichbare Nachweisgrenze liegt bei ca. 10 ppb. In den bis anhin analysierten Proben von Kalb- und Rindfleisch lagen die im Bereich von Chloramphenicol auftretenden, unspezifischen Störpeaks stets deutlich unter dem angegebenen Grenzwert. Typische Chromatogramme von Fleischextrakten ohne und mit 50 ppb Zusatz zeigt Abbildung 2. Die Wiederfindungsraten sind in Tabelle 2 zusammengestellt.

Fisch

Die Untersuchung von Forellen unterscheidet sich methodisch nicht von derjenigen von Fleisch. Für die Analyse werden nur die eßbaren Anteile verwendet. Die Nachweisgrenze liegt ebenfalls ca. 10 ppb, die Wiederfindungsraten sind je-

doch deutlich niedriger als bei Fleisch und die Streuung ist größer (Tabelle 2). Störpeaks sind i. a. stärker als bei den übrigen Lebensmittelproben. Sie beeinträchtigen die Auswertung jedoch nur unbedeutend, sofern die Fische in gutem Frischezustand untersucht werden.

In den bisher untersuchten 12 Forellen wurden keine Chloramphenicol-Rückstände gefunden.

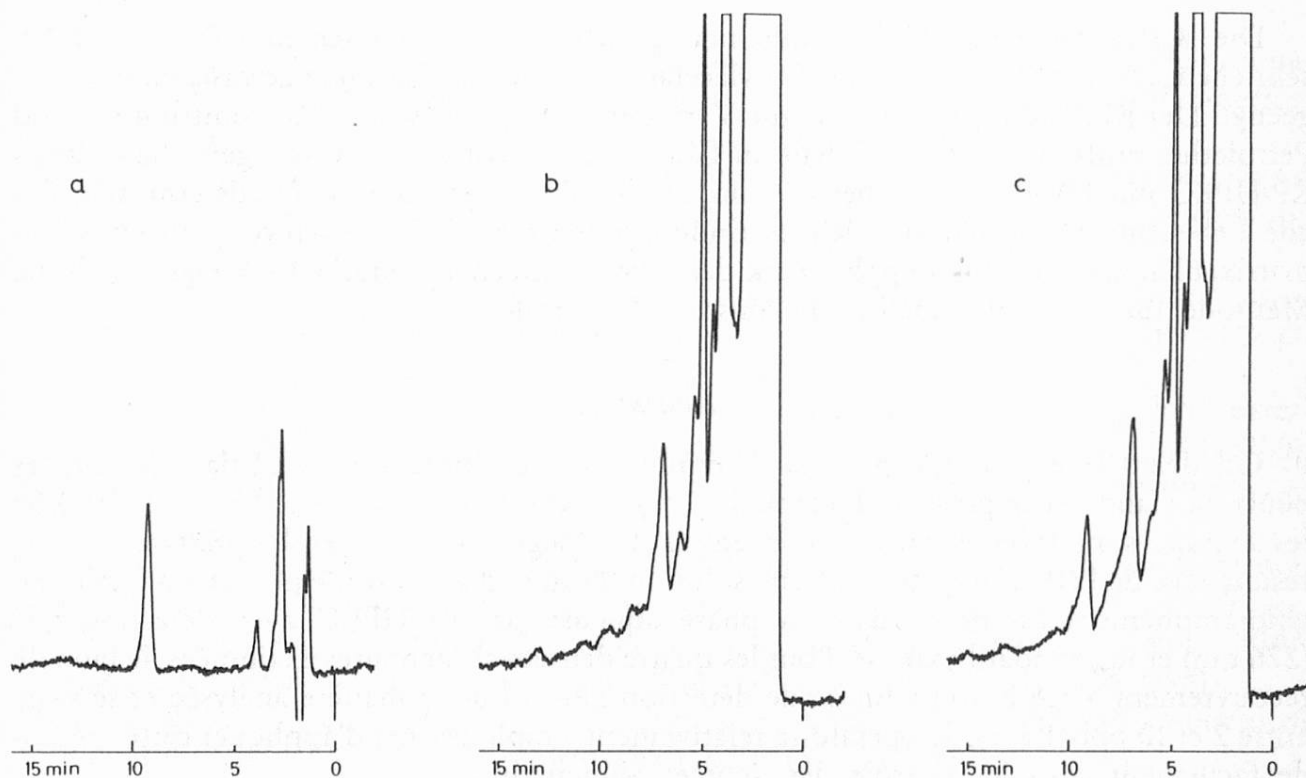


Abb. 2. Chromatogramme von Chloramphenicol in Fleisch

a = Chloramphenicol Standard (100 μ l, 0,5 ppm in 20% Acetonitril)

b = Extrakt aus 10 g Rindfleisch ohne Zusatz

c = gleiche Probe mit 50 ppb Zusatz Chloramphenicol

Tabelle 2. Wiederfindungsraten in Fleisch und Fisch

	Probemenge	Zusatz	Wiederfindungsrate	Versuchszahl
Fleisch	10 g	200 ng	79%	1
	10 g	500 ng	76%	1
	10 g	1000 ng	85%	1
	10 g	2000 ng	88%	1
	10 g	500 ng	88 \pm 4%	6
Fisch	10 g	500 ng	76%	2
	10 g	500 ng	62 \pm 12%	8

Dank

Herrn Dr. *R. Battaglia* danken wir für die anregenden Diskussionen und wertvollen Hinweise sowie für die Durchsicht des Manuskriptes. Herrn *Th. Brack* sei für die experimentelle Mitarbeit zu Beginn dieser Untersuchungen und Herrn *D. Fröblich* für die Bereitstellung der HPLC-Säulen gedankt.

Zusammenfassung

Die Bestimmung von Chloramphenicol in Milch, Eiern, Fleisch und Fisch wird beschrieben. Die Proben werden mit Ethylacetat extrahiert, die Extrakte gewaschen und eingengt. Der Rückstand wird durch eine Verteilung zwischen Wasser/Acetonitril 4 + 1 und Petrolether entfettet und der Gehalt an Chloramphenicol in der wässrigen Phase durch RP-HPLC mit UV-Detektion bei 276 nm anhand eines externen Standards ermittelt. Für alle Lebensmittel werden gute Wiederfindungsraten erzielt. Die Nachweisgrenzen liegen matrixabhängig bei 2 bis 10 ppb. Dank der relativ einfachen Aufarbeitung eignet sich die Methode für die routinemäßige Lebensmittelkontrolle.

Résumé

On décrit une méthode pour la détermination du chloramphénicol dans le lait, les oeufs, la viande et le poisson. L'extraction des échantillons se fait avec l'acétate d'éthyle; les extraits sont lavés et ensuite concentrés. On dégraisse et reprend simultanément le résidu avec de l'éther de pétrole et une solution d'eau et d'acétonitrile (4 + 1). La teneur en chloramphénicol est dosée dans la phase aqueuse par RP-HPLC avec détection UV (276 nm) et un standard externe. Pour les quatre denrées alimentaires examinées, le taux de recouvrement a été bon. La limite de détection dépend de la matière analysée et se situe entre 2 et 10 ppb. Le mode opératoire relativement simple permet d'appliquer cette méthode facilement dans le contrôle des denrées alimentaires.

Summary

A method for the determination of chloramphenicol in milk, eggs, meat, and fish is presented. The food samples are extracted with ethyl acetate, the extracts are washed, dried and evaporated. The residue is depleted of fat by partition between petroleum ether and water/acetonitrile 4 + 1, and the chloramphenicol content is determined in the aqueous layer by RP-HPLC with UV-detection at 276 nm by comparison with an external standard. Good recoveries are obtained for all food samples. Detection limits are at 2 to 10 ppb, depending on the sample. The method is well suited for routine food analysis due to the simple work-up procedure.

Literatur

1. *Linton, A. H., Timoney, J. F. and Hinton, M.*: The ecology of chloramphenicol-resistance in *Salmonella thyphimurium* and *Escherichia coli* in calves with endemic *Salmonella* infection. *J. Appl. Bact.* **50**, 115–129 (1981).
2. *Wal, J. M., Peleran, J. C. et Bories, G.*: Dosage sensible et rapide du chloramphenicol dans le serum par chromatographie liquide haute pression. *J. Chromatogr.* **145**, 502–506 (1978).
3. *Crechiolo, J. and Hill, R. E.*: Determination of serum chloramphenicol by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.* **162**, 480–484 (1979).

4. Gal, J., Marcell, P. D. and Tarascio, C. M.: High-performance liquid chromatographic micro-assay for chloramphenicol in human blood plasma and cerebrospinal fluid. *J. Chromatogr.* **181**, 123–126 (1980).
5. Aravind, M. K., Miceli, J. N., Kauffman, R. E., Strebel, L. E. and Done, A. K.: Simultaneous measurement of chloramphenicol and chloramphenicol succinate by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.* **221**, 176–181 (1980).
6. Ferrell, W. J., Szuba, M. P., Miluk, P. R. and McClatchey, K. D.: Determination of serum chloramphenicol by high performance liquid chromatography. *J. Liq. Chromatogr.* **4**, 171–176 (1981).
7. Velagapudi, R., Smith, R. V., Ludden, Th. M. and Sagraves, R.: Simultaneous determination of chloramphenicol and chloramphenicol succinate in plasma using high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.* **228**, 423–428 (1982).
8. Hamann, J., Tolle, A., Blüthgen, A. und Heeschen, W.: Untersuchungen über Nachweis, Isolierung und Identifizierung von Antibiotikarückständen in der Milch. 2. Mitteilung: Chloramphenicol. *Milchwissenschaft* **30**, 68–75 (1975).
9. Wal, J. M., Peleran, J. C. and Bories, G.: Electron-capture detection of chloramphenicol using a heptafluorobutyrate derivative. Application to residues in milk. *J. Chromatogr.* **168**, 179–185 (1979).
10. Wal, J. M., Peleran, J. C. and Bories, G. F.: High-performance liquid chromatographic determination of chloramphenicol in milk. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **63**, 1044–1048 (1980).
11. Karocha, I.: (Detection of chloramphenicol residues in eggs). *Roczniki Panstwowego Zakladu Higieny* **30**, 43–45 (1979) (FSTA 12: 3Q44, 1980).
12. Rüssel, H. A.: Über die Bestimmung von Chloramphenicol in tierischen Geweben durch HPLC. *Chromatographia* **11**, 341–343 (1978).
13. Hollstein, E., Laue, W. und Zapff, G.: Gaschromatographische Bestimmung von Chloramphenicol-Rückständen in tierischem Material. *Nahrung* **25**, 143–149 (1981).
14. Kutter, R., Jahr, D. und Stritzinger, H.: Nachweis und Bestimmung von Chloramphenicol mit HPLC und GC/MS. *Fleischwirtschaft* **62**, 515–516 (1982).
15. Johannes, B., Körfer, K.-H., Schad, J. und Ulbrich, I.: Bestimmung von Chloramphenicol-Rückständen in eßbaren Geweben. *Arch. Lebensmittelhyg.* **34**, 1–7 (1983).
16. Sasaki, K., Takeda, M. and Uchiyama, M.: Gas-liquid chromatographic determination of chloramphenicol in agricultural crops. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **59**, 1118–1121 (1976).
17. Jürgens U.: Zur hochdruckflüssigchromatographischen Analyse von Arzneimittelrückständen in Honig. II. Chloramphenicol und Sulfathiazol. *Z. Lebensm.-Unters. Forsch.* **174**, 208–210 (1982).
18. Janssen, G. and Vanderhaeghe, H.: Preparation of trimethylsilyl derivatives of chloramphenicol for gas-liquid chromatography. *J. Chromatogr.* **82**, 297–306 (1973).
19. Nouws, J. F. M.: Tolerances and detection of antimicrobial residues in slaughtered animals. *Arch. Lebensmittelhyg.* **32**, 103–110 (1981).

M. Bécheiraz
A. Haldemann
Dr. R. Etter
Kantonales Laboratorium Zürich
Postfach
CH-8030 Zürich