

# Säulenchromatographische Aufarbeitung chlorhaltiger Insektizid-Rückstände aus Käsefett und quantitative GC-Analyse

Autor(en): **Hadorn, H. / Zürcher, K.**

Objektyp: **Article**

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

Band (Jahr): **61 (1970)**

Heft 2

PDF erstellt am: **22.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-983238>

## **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.

# Säulenchromatographische Aufarbeitung chlorhaltiger Insektizid-Rückstände aus Käsefett und quantitative GC-Analyse

H. Hadorn und K. Zürcher

Aus dem Zentrallaboratorium der Coop Schweiz, Basel

Durch unsachgemäße Anwendung von Schädlingsbekämpfungsmitteln können von den Kühen größere Mengen von chlorierten Kohlenwasserstoffen aufgenommen und in der Milch wieder ausgeschieden werden. Seit dem Bekanntwerden dieser Tatsache müssen in der Schweiz laufend zahlreiche Proben von Milch, Butter und Käse auf Insektizid-Rückstände geprüft werden.

In den amtlichen Laboratorien wird fast durchwegs nach der AOAC-Vorschrift (1) oder einer modifizierten Form derselben gearbeitet. Die Methode ist recht umständlich und zeitraubend. Wie Ringversuche gezeigt haben, liefert sie oft schwankende Resultate. Die AOAC-Methode besitzt verschiedene Mängel und ist anfällig auf Störungen.

In einem ersten Arbeitsgang wird das Fett aus Käse oder Milch mit Aether-Petroläther gewonnen. Aus dem Fett werden die Insektizide im Scheidetrichter nach der Acetonitril-Verteilung isoliert. Durch das wiederholte Hin- und Hergießen größerer Mengen von Lösungen, die nur Spuren von Insektiziden enthalten, können leicht Verluste auftreten. Nach der Acetonitril-Verteilung folgt noch eine chromatographische Reinigung der Lösungen an einer Florisil- oder Aluminiumoxid-Säule. Eine Trennung der Insektizide in verschiedene Gruppen, durch sogenanntes fraktioniertes Eluieren aus einer Florisil-Säule, wie es die AOAC-Methode vorschreibt, hat sich nicht bewährt, weil die Eigenschaften der Florisil-Säule zu wenig genau reproduzierbar sind. Die gereinigten Extrakte werden schließlich durch Abdestillieren des größten Teils des Lösungsmittels konzentriert. Trennung, Identifizierung und quantitative Bestimmung der einzelnen Insektizide erfolgen gaschromatographisch.

## 1. Prinzip und Anwendung der neuen Methode

In Anlehnung an die Arbeitstechnik von *Levine* (2) zur Isolierung des Coffeins aus Röstkaffee versuchten wir, die Insektizide auf ähnliche Weise durch Chromatographie an zwei verschiedenen Säulen vom Fett abzutrennen und zu reinigen.

Im Prinzip wird folgendermaßen gearbeitet: Die zu untersuchende Fettprobe wird in Petroläther gelöst, die Lösung mit Celite gemischt, das Lösungsmittel abgedunstet und die Mischung in ein Chromatographierohr eingefüllt. Das Fett befindet sich gleichmäßig auf einer großen Oberfläche verteilt. Durch diese Säule I läßt man ein polares Lösungsmittel fließen, welches die Insektizide quantitativ herauslöst. Die Lösung tropft auf eine zweite darunter angebrachte Säule II, das Fett bleibt in der oberen Säule zurück.

Die Säule II enthält unten eine Schicht von Aluminiumoxid, oben eine Schicht Florisil, welche das aus der Säule I abtropfende polare Lösungsmittel aufnimmt. Säule II wird anschließend mit einem apolaren Lösungsmittel eluiert. Die Insektizide gelangen quantitativ in das Eluat, Verunreinigungen bleiben zum größten Teil in der Säule zurück.

Das Eluat mit den Insektiziden wird in einem Spitzkölbchen aufgefangen, am Rotationsverdampfer auf ein kleines Volumen eingengt und ein aliquoter Teil davon in den Gas-Chromatographen eingespritzt. Orientierende Versuche mit Acetonitril als polarem und Cyclohexan als apolarem Lösungsmittel führten zu erfolgversprechenden Ergebnissen. In der Tabelle 1 sind die Resultate, die wir nach dieser neuen Methode erhielten, wiedergegeben.

*Tabelle 1. Säulenchromatographische Versuche mit Acetonitril*

*Versuchsbedingungen*

Säule I 1,5 g Käsefett }  
 2,0 ml Petroläther } eluiert mit 15 ml Acetonitril  
 2,5 g Celite }

Säule II 15 g Florisil mit 5 % H<sub>2</sub>O }  
 10 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> mit 15 % H<sub>2</sub>O } eluiert mit 100 ml Cyclohexan

	In 1,5 g Käsefett gefundene Mengen in ng	Zu 1,5 g Käsefett zugesetzt in ng	Summe ng	Gefunden ng	Ausbeute in % der Theorie
$\alpha$ -HCH	86	408	494	493	100
Lindan	20	504	524	508	97
Heptachlor	0	528	528	501	96
Aldrin	0	520	520	493	95
Heptachlorepoxid	12	512	524	517	99
p,p-DDE	31	360	391	380	97
Dieldrin	150	752	902	897	99
DDT	0	524	524	499	95

Aus Tilsiterkäse haben wir vorerst das Fett nach der Zentrifugen-Methode mit Petroläther-Aether isoliert. In 1,5 g dieses Fettes wurden nun die Insektizide nach unserer säulen-chromatographischen Methode isoliert und gas-chromatographisch bestimmt. In Spalte 2 der Tabelle 1 sind die im Käsefett gefundenen Insektizid-Mengen angegeben. Zur Kontrolle der Insektizid-Ausbeute haben wir zu weiteren 1,5 g des Käsefettes bekannte Mengen von 8 Insektiziden (in Form

einer Stammlösung) zugefügt und anschließend erneut den Insektizid-Gehalt bestimmt. Alle zugesetzten Insektizide wurden mit einer Ausbeute von 95—100 % in der ersten Eluat-Fraktion (80 ml Cyclohexan) wiedergefunden. In der zweiten Fraktion von 30 ml Cyclohexan waren keine Insektizide mehr nachweisbar.

Es zeigte sich im Verlaufe unserer Arbeit, daß die nach dieser Methode erhaltene, gereinigte Insektizid-Lösung nach dem Abdampfen des Lösungsmittels merkliche Mengen eines öligen Rückstandes hinterließ. Bei wiederholtem Einspritzen derartiger Lösungen in den Gas-Chromatographen besteht starke Verschmutzungsgefahr.

Auf der Suche nach polaren Lösungsmitteln stießen wir bei der Durchsicht der neueren Literatur auf eine Arbeit von *Wood* (3), in welcher eine ganz ähnliche säulen-chromatographische Technik beschrieben wird. *Wood* füllt in die obere Säule direkt das Untersuchungsmaterial (Käse, Leber usw.), welches vorher innig mit Celite, eventuell mit Hexan oder Dimethylsulfoxid gemischt wurde. Die Insektizide werden hierauf mit Dimethylsulfoxid eluiert und gelangen auf die untere, mit Florisil beschickte Säule, von welcher sie anschließend mit Hexan eluiert werden. Die meisten Insektizide wurden mit guter Ausbeute wiedergefunden. Bei Aldrin war die Ausbeute unbefriedigend (54—72 %).

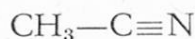
*Schnorbus* (4) hat gezeigt, daß Propylenkarbonat ein besonders günstiges Lösungsmittel zur Anreicherung der Insektizide aus verschiedenen Lebensmitteln darstellt. Auch *Schnorbus* arbeitet säulen-chromatographisch.

Wir haben verschiedene Lösungsmittel und Adsorptionsmittel systematisch auf ihre Eignung geprüft.

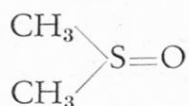
## 2. Geeignete Lösungsmittel und Adsorbentien

Zur säulenchromatographischen Abtrennung der Insektizide vom Fett haben wir Versuche mit folgenden 4 polaren Lösungsmitteln angestellt:

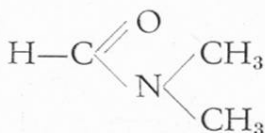
Acetonitril



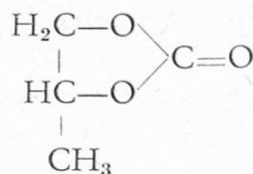
Dimethylsulfoxid



Dimethylformamid



Propylenkarbonat  
(Propylenglykol-  
Kohlensäure-ester)



In der Tabelle 2 sind die wichtigsten physikalischen Eigenschaften dieser Lösungsmittel aufgeführt. Mit Ausnahme von Propylenkarbonat sind alle Lösungsmittel mit Wasser in jedem Verhältnis mischbar. In Petroläther, Hexan oder Cyclohexan sind sie nicht, oder nur sehr begrenzt löslich. Besonders wichtig schien uns die Löslichkeit von Fetten oder Ölen in den polaren Lösungsmitteln zu sein. Je größer diese Löslichkeit ist, umso mehr Fett wird aus Säule I heraus gelöst und gelangt auf Säule II und schließlich in den Insektizid-Auszug. Die Löslichkeit von Erdnußöl in den verschiedenen polaren Lösungsmitteln wurde näherungsweise wie folgt bestimmt: Zu je 20 ml des polaren Lösungsmittels haben wir mittels Pipette Erdnußöl in kleineren Portionen zugesetzt, kräftig geschüttelt und beobachtet, ob sich das Erdnußöl vollständig gelöst hat. Trübungen oder Öltröpfchen deuten auf Sättigung der Lösung hin.

Tabelle 2. Eigenschaften der verschiedenen polaren Lösungsmittel

	Acetonitril	Dimethylsulfoxid	Dimethylformamid	Propylenkarbonat
Dichte $\frac{20^\circ}{4^\circ}$	0,782	1,101	0,950	1,2057
Brechungsindex $n_D^{20}$	1,3463	1,4787	1,4269 (25 °)	1,4209
Erstarrungspunkt ° C	— 45,2	— 18,5	— 61	— 49,2
Siedepunkt ° C	80	189	153	241,7
Dielektrizitätskonstante	38,8	—	—	69,0
Löslichkeit in Wasser	$\infty$	$\infty$	$\infty$	* begrenzt mischbar
Löslichkeit in Cyclohexan (g in 100 ml)	0,238	0	4,6	0
Löslichkeit von Erdnußöl: in ml pro 100 ml Lösungsmittel	1,5	< 0,2	2,5	< 0,2

\* 100 g Propylenkarbonat lösen 8,3 g H<sub>2</sub>O.

In Dimethylsulfoxid und in Propylenkarbonat sind nur Spuren von Erdnußöl löslich. Diese Lösungsmittel dürften reine Insektizid-Auszüge liefern. In Acetonitril und Dimethylformamid dagegen sind beträchtliche Mengen Öl löslich, es besteht die Gefahr, daß bei Verwendung dieser Lösungsmittel noch merkliche Mengen Fett in die Insektizid-Auszüge gelangen. Diese Vermutung wurde später durch unsere in der Tabelle 3 aufgeführten Versuche bestätigt.

Um die optimalen Versuchsbedingungen für die säulen-chromatographische Abtrennung und Reinigung der Insektizide herauszufinden, mußte mit jedem dieser Lösungsmittel eine ganze Serie von Modellversuchen durchgeführt werden. Einen wesentlichen Einfluß auf den Reinigungseffekt und die Insektizid-Ausbeute haben die Aktivität des Florisils und des Aluminiumoxids auf Säule II. Diese Aktivitäten lassen sich durch Zusatz bekannter Mengen Wasser einstellen. Wichtig ist ferner das Elutionsmittel. Wir verwendeten zuerst Petroläther oder Mischungen von Aethyläther und Petroläther. Petroläther eluiert einzelne Insektizide sehr langsam und unvollständig. Mischungen von Petroläther und Aethyläther eluieren rascher. Wir erhielten damit weniger schöne Gas-Chromatogramme. Cyclohexan erwies sich in unserem Fall als günstigstes Lösungsmittel.

Es hätte keinen Sinn, hier alle die durchgeführten Versuche zu beschreiben, da eine große Zahl unbefriedigend verlief. Es sollen nur einige charakteristische Versuchsreihen kurz diskutiert werden. Wir haben als polares Lösungsmittel zunächst das von *Wood* (3) vorgeschlagene, Dimethylsulfoxid (DMSO) ausprobiert und die Versuchsbedingungen auf die Säule II derart angepaßt, daß befriedigende Ausbeuten an Insektiziden erzielt wurden. Zu einem Erdnußöl wurden bekannte Mengen von 7 verschiedenen Insektiziden zugesetzt, mit Celite vermischt, in die Säule I eingefüllt und mit 15 ml DMSO eluiert.

Säule II, welche je nach Versuchsbedingungen oben mit 15 g Florisil, darunter mit 10 g  $\text{Al}_2\text{O}_3$  basisch verschiedener Aktivitätsstufen beschickt war, wurde anschließend mit Cyclohexan eluiert. Wir haben jeweils 4 Fraktionen von je 30 ml getrennt aufgefangen, durch Eindampfen am Rotationsverdampfer konzentriert und jede Fraktion einzeln gas-chromatographisch analysiert.

Die einzelnen Insektizide lassen sich aus Säule II ganz unterschiedlich eluieren. Aldrin und DDT werden rasch eluiert. Lindan,  $\alpha$ -HCH und Dieldrin werden zum Teil lange auf der Säule zurückgehalten.

Hochaktives, wasserfreies Florisil bewährte sich nicht, es adsorbiert die Insektizide zu stark. Mit Florisil, dem wir 5—7 % Wasser zusetzten, erhielten wir gute Resultate.

Zur weiteren Reinigung der Insektizide befindet sich unter dem Florisil eine Schicht aus basischem  $\text{Al}_2\text{O}_3$ . Hochaktives, wasserfreies  $\text{Al}_2\text{O}_3$  ist ebenfalls ungeeignet, weil es die Insektizide stark adsorbiert und dieselben mit Cyclohexan nur unvollständig eluiert werden. Durch einen Wasserzusatz von 10—15 % läßt sich die Aktivität des  $\text{Al}_2\text{O}_3$  so einstellen, daß störende Verunreinigungen auf der Säule zurückgehalten werden, die Insektizide jedoch gut eluierbar sind.

### **3. Systematische Versuche mit verschiedenen polaren Lösungsmitteln**

(Acetonitril, Dimethylsulfoxid, Dimethylformamid, Propylenkarbonat)

Nachdem die annähernd optimalen Versuchsbedingungen für die säulen-chromatographische Isolierung und Reinigung der Insektizide festgelegt waren, haben wir analoge Modell-Versuche mit 4 verschiedenen polaren Lösungsmitteln

durchgeführt, um abzuklären, mit welchem Lösungsmittel sich die Insektizide am besten vom Fett abtrennen und reinigen lassen. Die Versuchsanordnung war folgende:

Zu einem aus Tilsiterkäse isolierten Fett wurden bekannte Mengen verschiedener Insektizide in Form einer verdünnten Lösung in Petroläther zugesetzt. Je 1,5 g Käsefett (+ 2 ml Insektizid-Gemisch) wurden mit Celite gemischt und in Säule I eingefüllt. Säule I wurde mit 15 ml des polaren Lösungsmittels eluiert und das Eluat auf Säule II aufgetropft. (Lösungsmittel je nach Versuch entweder Acetonitril, Dimethylsulfoxid, Propylenkarbonat oder Dimethylformamid). Säule II war, von unten nach oben mit folgenden Adsorptionsmitteln beschickt: 3 g  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , 10 g  $\text{Al}_2\text{O}_3$  (mit 15 %  $\text{H}_2\text{O}$ ) und 15 g Florisil (mit 5 %  $\text{H}_2\text{O}$ ).

Aus Säule II wurden die Insektizide zunächst mit 100 ml Cyclohexan eluiert, das abtropfende Eluat (Hauptfraktion) in einem Spitzkölbchen aufgefangen, am Rotationsverdampfer auf 8 ml eingeeengt und davon 5  $\mu\text{l}$  in den Gas-Chromatographen eingespritzt. Zur Kontrolle, ob die Insektizide quantitativ eluiert wurden, haben wir anschließend nochmals 30 ml Cyclohexan auf Säule II gegeben, das abtropfende Eluat (2. Fraktion) gesondert aufgefangen, auf 2 ml eingeeengt und davon ebenfalls 5  $\mu\text{l}$  in den Gas-Chromatographen eingespritzt.

Die Lösungen der Hauptfraktion und der 2. Fraktion wurden anschließend am Rotationsverdampfer unter Vakuum bei ca. 50 ° C eingedampft und der Abdampf-Rückstand gewogen. Dieser Abdampf-Rückstand ist ein Maß für die Verunreinigungen, welche mit den Insektiziden in das Eluat gelangen. Im Idealfall, bei ganz sauberer Abtrennung der Insektizide, sollte kein wägbarer Rückstand hinterbleiben. Die Resultate der 4 Modell-Versuche sind in den Tabellen 3 und 4 zusammengestellt.

Dimethylformamid erwies sich für unsere Zwecke als ungeeignet. Nach dem Abdestillieren des Lösungsmittels (Cyclohexan) hinterblieben 2 Phasen (total 1,9 g) bestehend aus Öl und Dimethylformamid. Wegen der großen Mengen an Verunreinigungen wurden keine sauberen Gas-Chromatogramme erhalten. Auch der Versuch mit Acetonitril hinterließ nach dem Abdestillieren des Cyclohexans einen Abdampf-Rückstand von ca. 170 mg, welcher aus Fett bestand. Wurde Dimethylsulfoxid (DMSO) oder Propylenkarbonat als polares Lösungsmittel verwendet, so hinterließen die Eluate nach dem Verdampfen des Lösungsmittels nur Spuren eines Rückstandes (< 1 mg). DMSO und Propylenkarbonat liefern demnach besonders reine Insektizid-Lösungen.

Die quantitative Auswertung der Gas-Chromatogramme unserer Modell-Versuche in Tabelle 4 ergab, daß mit Acetonitril die Insektizide praktisch quantitativ in der Hauptfraktion erscheinen. Mit DMSO erfolgt die Elution der Insektizide unter unseren Versuchsbedingungen nur unvollständig. Mit Propylenkarbonat haben wir zum Teil sehr gute, bereits in der Hauptfraktion nahezu quantitative Resultate erhalten. Gelegentlich wurde aus unabgeklärten Gründen das Dieldrin nur unvollständig eluiert. Es erschien zu einem beträchtlichen Anteil in der 2. Fraktion, wie beispielsweise im Versuch, der in der letzten Spalte der Tabelle 4 aufgeführt ist. Die Summe der beiden Fraktionen ergab nahezu 100 %.

Tabelle 3. Modell-Versuche mit verschiedenen polaren Lösungsmitteln

Lösungsmittel	Menge und Aussehen der Abdampf-Rückstände (53 °C im Vakuum)		Insektizide in Fraktion II	Bemerkung zu den Gas-Chromatogrammen
	Fraktion I	Fraktion II		
Acetonitril	167 mg gelblich, ölig	2 mg	nicht nachweisbar	GC in Ordnung, mit Integrator* auswertbar, geringes Lösungsmittel-Tailing
Dimethylsulfoxid	0,9 mg	0,3 mg	α-HCH neg. Lindan pos. Heptachlorepoxyd Spur Dieldrin pos.	GC in Ordnung, mit Integrator auswertbar
Propylenkarbonat	0,4 mg	0 mg	Dieldrin 1. Versuch neg. 2. Versuch Spur 3. Versuch pos. andere Insektizide nicht nachweisbar	GC sauber, mit Integrator auswertbar
Dimethylformamid	1,3 g (2 Phasen) obere Phase gelb (Öl), untere Phase farblos	0,6 g trübe	nicht nachweisbar	sehr starkes Lösungsmittel-Tailing (GC unbrauchbar)

\* Varian Aerograph Electronic Digital Integrator Modell 477



Tabelle 4. Insektizid-Ausbeute mit verschiedenen polaren Lösungsmitteln

Säule I Mischung aus:  
 1,5 g Käsefett +  
 2 ml Insektizid-Lösung in Petroläther +  
 2 g Celite (evakuiert)  
 eluiert mit je 15 ml polarem Lösungsmittel

Säule II  
 15 g Florisil 5 % H<sub>2</sub>O  
 10 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> bas. 15 % H<sub>2</sub>O  
 eluiert mit Cyclohexan 100 + 30 ml

	Zu je 1,5 g Käsefett zuge-setzte Insekti-zidmenge in ng	Acetonitril		Dimethylsulfoxid		Propylenkarbonat	
		Haupt-fraktion (80 ml) in %	2. Frak-tion (30 ml) in %	Haupt-fraktion (80 ml) in %	2. Frak-tion (30 ml) in %	Haupt-fraktion (80 ml) in %	2. Frak-tion (30 ml) in %
$\alpha$ -HCH	408	100	0	80	4	98	0
Lindan	504	97	0	80	8	97	0
Heptachlor	528	95	0	93	0	91	0
Aldrin	520	95	0	95	0	91	0
Heptachlorrepxid	512	97	0	99	2	96	0
p,p - DDE	360	97	0	105	0	102	0
Dieldrin	752	99	0	73	28	75	24
p,p - DDT	524	96	0	100	0	100	0

Auf Grund der Gas-Chromatogramme und der guten Ausbeute wäre Acetonitril das günstigste polare Lösungsmittel. Da jedoch merkliche Mengen Fett mit den Insektiziden ins Eluat gelangen, haben wir Propylenkarbonat vorgezogen und die Versuchsbedingungen angepaßt.

#### 4. Modell- und Blindversuche zur Propylenkarbonat-Methode

Zur Ueberprüfung der Propylenkarbonat-Methode haben wir eine Reihe weiterer Modellversuche durchgeführt.

##### a) Reinigung der Geräte und der Lösungsmittel

Eine der wichtigsten Voraussetzungen für erfolgreiche Insektizid-Untersuchungen sind tadellos saubere Glasgefäße und speziell gereinigte Reagenzien, weil sonst Spuren von Insektiziden oder andere störende Stoffe eingeschleppt werden, welche die Resultate verfälschen. Wir legten besonderen Wert darauf, daß bei unserer Insektizid-Aufarbeitung die Analysenlösung nie mit einem Hahn oder einem Glasschliff der Apparatur in Berührung kommt. Glatte Glasrohre lassen sich besser reinigen als Schliffapparaturen, und die Insektizide können quantitativ ausgespült und eluiert werden.

Alle Glasgefäße werden in einer RBS-Lösung speziell gereinigt (siehe Methodik).

Anorganische Reagenzien, wie Celite, Florisil, Aluminiumoxid und Natriumsulfat reinigen wir durch 2—3ständiges Erhitzen in einer Platinschale im Muffelofen bei 400—500 ° C. alle eventuell vorhandenen organischen Stoffe verbrennen oder verdampfen.

Lösungsmittel werden in der Regel durch Destillation gereinigt. Viel zweckmäßiger als das Destillieren erwies sich unmittelbar vor Gebrauch eine säulenchromatographische Reinigung der Lösungsmittel mit hochaktivem basischem  $\text{Al}_2\text{O}_3$  oder wasserfreiem Florisil.

Figur 1 zeigt die Gas-Chromatogramme von Cyclohexan zur Analyse, auf 2 verschiedenen Säulen, nachdem 100 ml Cyclohexan vorsichtig bis auf einen Rest von 2,0 ml eingedampft worden waren. (50fach konzentriert). Man beobachtet auf beiden Säulen verschiedene mehr oder weniger stark ausgebildete Peaks, im Bereich des  $\alpha$ -HCH und Lindans, welche später die Auswertung stören würden. Figur 2 zeigt die analogen Gas-Chromatogramme, nachdem des Cyclohexan vorher durch eine  $\text{Al}_2\text{O}_3$ -Säule filtriert und anschließend ebenfalls 50fach konzentriert worden war. Das Lösungsmittel ist jetzt gas-chromatographisch rein.

Propylenkarbonat darf nicht über eine Aluminiumoxid-Säule gereinigt werden, weil die Verbindung dabei teilweise zersetzt wird. Bewährt hat sich eine chromatographische Reinigung über eine Säule von aktivem Florisil.

### Lösungsmittel

### Blindversuche

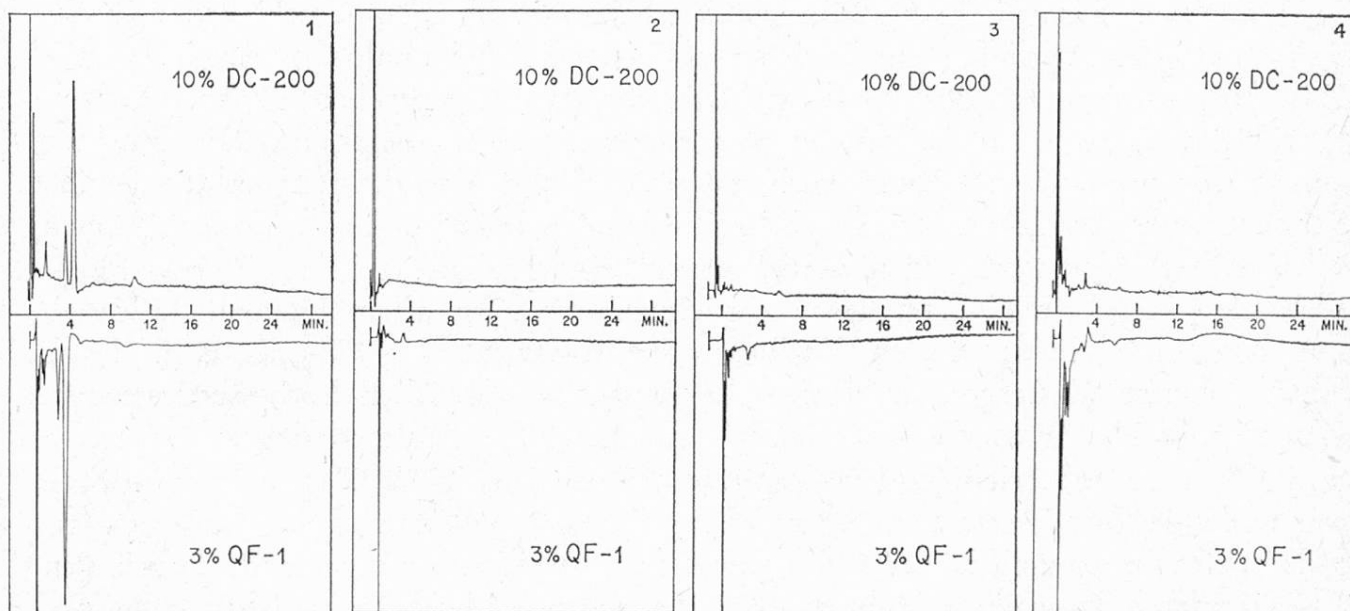


Fig. 1  
Cyclohexan puriss.  
aus Original-Flasche  
auf  $1/50$  konz.

Fig. 2  
Cyclohexan nach  
Reinigung durch  
 $\text{Al}_2\text{O}_3$ -Säule  
auf  $1/50$  konz.

Fig. 3  
Blindversuch  
mit Reagenzien

Fig. 4  
Blindversuch  
mit Erdnußöl raff.

### b) *Blindversuch mit Reagenzien*

Nach der am Schluß dieser Arbeit angegebenen Methodik haben wir einen Blindversuch mit sämtlichen Reagenzien, jedoch ohne Fett durchgeführt.

2,0 g Celite wurden mit 2 ml Petroläther innig gemischt und dann in Säule I eingefüllt. Säule I wurde vorschriftsgemäß mit 15 ml Propylenkarbonat eluiert und das Eluat auf Säule II aufgetropft. Anschließend wurde Säule II mit 100 ml Cyclohexan eluiert, das Eluat auf 4,5 ml eingengt und davon 5  $\mu$ l in den Gas-Chromatographen eingespritzt. Die Figur 3 zeigt die Gas-Chromatogramme auf einer DC-200 und einer QF-1-Säule bei der gleichen Empfindlichkeit, mit welcher später die Insektizid-Bestimmungen durchgeführt werden sollen. Da keine störenden Peaks auftreten, ist bewiesen, daß unsere Reagenzien und Gefäße den Reinheitsanforderungen genügen.

### c) *Blindversuch mit Erdnußöl*

Für diesen Blindversuch wurde in Säule I ein Gemisch bestehend aus 1,5 g eines raffinierten Erdnußöles, 2,0 ml Petroläther und 1,5 g Celite eingefüllt. Eluiert wurde wie oben beschrieben. Auch dieser Blindversuch ergab ein sauberes Gas-Chromatogramm (siehe Figur 4). Er beweist, daß das von uns verwendete Erdnußöl keine Insektizide enthält und dieses Öl für Modell-Versuche mit Insektizidzusätzen geeignet ist. Zusätze von 7 verschiedenen Insektiziden zu je 1,5 g Erdnußöl haben wir mit einer Ausbeute von 94—105 % wiedergefunden.

### d) *Modellversuche mit Käsefett*

Modellversuche mit Erdnußöl, dem wir bekannte Mengen verschiedener Insektizide zufügten, verliefen zur vollen Zufriedenheit. Bei analogen Versuchen mit Käsefett, das wir nach der etwas modifizierten AOAC-Vorschrift (5) mit Aether-Petroläther isoliert hatten, fanden wir zu unserer Ueberraschung die einzelnen Insektizide nur mit schlechter Ausbeute wieder. Ein Grund ist im relativ hohen Schmelzpunkt des Käsefettes zu suchen, worauf wir später noch zurückkommen werden. Bei Gegenwart von Käsefett werden einzelne Insektizide auf einer Florisil-Säule mit 5 % H<sub>2</sub>O hartnäckig zurückgehalten. Vor allem Dieldrin läßt sich nur langsam eluieren. Durch Variieren der Aktivität des Florisils d. h. durch einen höheren Wassergehalt, konnte die Ausbeute wesentlich verbessert werden. Florisil mit 5 % Wasser erwies sich als zu aktiv, das Eluieren dauerte zu lange und führte zu unbefriedigenden Resultaten. Florisil mit 7 % Wasser war optimal, wir erhielten gute Werte. Aus einem Florisil mit 10 % Wasser werden die Insektizide noch rascher eluiert, der Reinigungseffekt ist jedoch ungenügend, da mit den Insektiziden auch größere Mengen störender Verunreinigungen ins Eluat gelangen.

Die Figuren 5 und 6 sollen diese Verhältnisse veranschaulichen. Figur 5 zeigt die Gas-Chromatogramme der Hauptfraktion (100 ml Cyclohexan auf Säule II) Figur 5a diejenigen der 2. Fraktion (weitere 30 ml Cyclohexan auf Säule II), welche wir aus einer Florisil-Säule mit 5 % Wasser erhielten. Die obere Kurve

Hauptfraktion (ca. 80 ml)

2. Fraktion (30 ml)

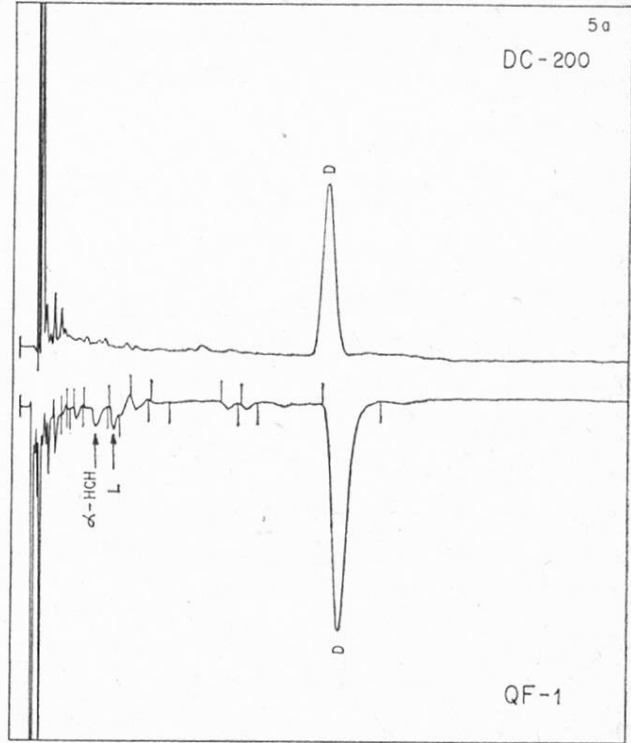
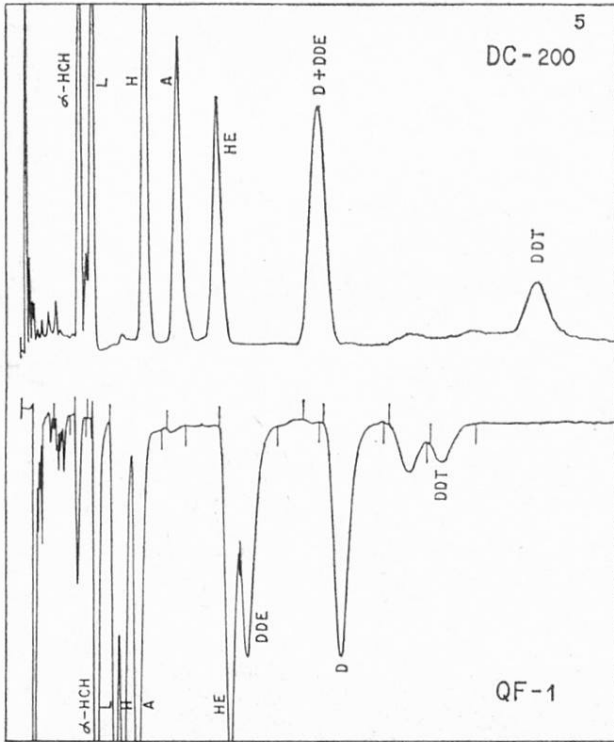


Fig. 5 und 5a. Modellversuche mit Käsefett und Insektizid-Zusätzen an Florisilsäule mit 5 % H<sub>2</sub>O. Dieldrin wird unvollständig eluiert. (Abkürzungen der Insektizid-Bezeichnung siehe Tabelle 8).

Hauptfraktion (ca. 80 ml)

2. Fraktion (30 ml)

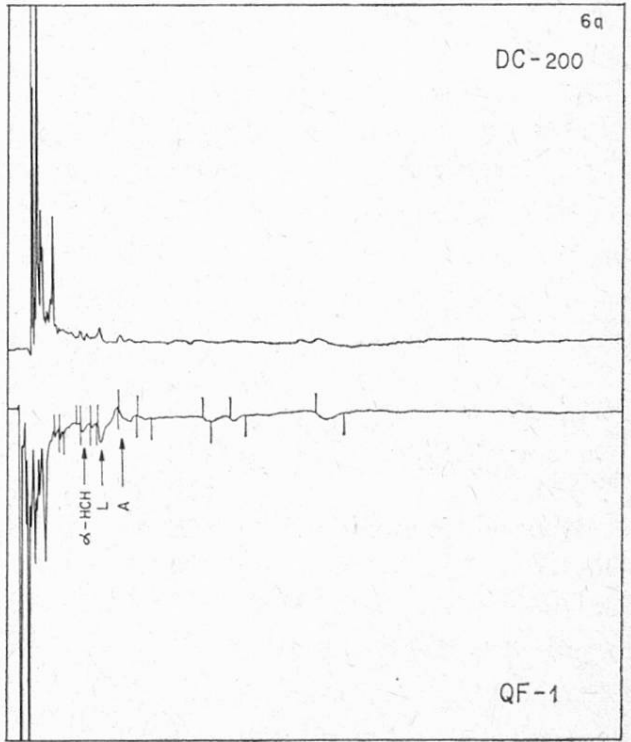
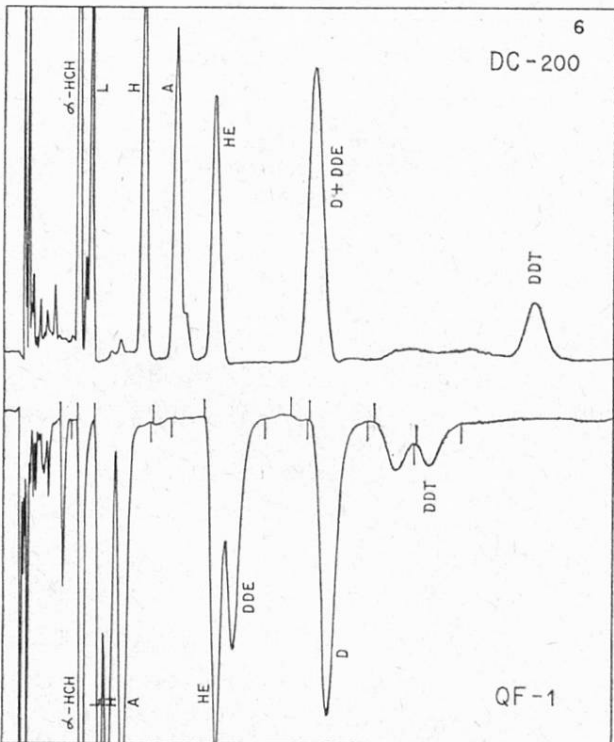


Fig. 6 und 6a. Modellversuche mit Käsefett und Insektizid-Zusätzen an Florisilsäule mit 7 % H<sub>2</sub>O. Alle Insektizide lassen sich gut eluieren. (Abkürzungen der Insektizidbezeichnung siehe Tabelle 8).

entspricht einem Gas-Chromatogramm auf einer DC-200-Säule, die untere einem Gas-Chromatogramm, das gleichzeitig auf einer QF-1-Säule aufgenommen wurde. (Aufzeichnung mittels Doppelkanal-Schreiber). Beide Gas-Chromatogramme waren sauber und alle Insektizide gut getrennt. In der Hauptfraktion fanden wir nur 64 % der gesamten Dieldrin-Menge. In der 2. Fraktion ist noch ein sehr starker Dieldrin-Peak vorhanden. Sogar in einer 3. Fraktion wurden noch deutliche Mengen Dieldrin gefunden. Auch  $\alpha$ -HCH und Lindan sind in der 2. Fraktion noch deutlich nachweisbar.

Die Figuren 6 und 6a zeigen die analogen Gas-Chromatogramme der Eluate, die über eine Florisil-Säule mit 7 % Wasser erhalten wurden. In der Hauptfraktion sind alle Insektizide praktisch quantitativ eluiert worden. Die 2. Fraktion enthält nur noch Spuren (unter 1 % der Gesamtmenge) von  $\alpha$ -HCH und Dieldrin.

Damit die Insektizide sicher quantitativ eluiert werden, haben wir in der endgültigen Arbeitsvorschrift ein Florisil mit 7 % Wasser und zum Eluieren 120 ml Cyclohexan vorgeschrieben. Systematische Versuche über die Eluationsgeschwin-

Tabelle 5. Modellversuche: Zusatz bekannter Mengen Insektizide zu Käsefett

Säulenaufbau:	<i>Säule I</i>	<i>Säule II</i>
	2 g Celite	15 g Florisil
	1,5 g Käsefett	10 g Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> bas. 15 % H <sub>2</sub> O
	2,0 ml Petroläther (enthaltend 8 Insektizide)	
eluieren mit:	15 ml Propylenkarbonat	120 ml Cyclohexan

Insektizide	Zusätze zu je 1,5 g Käsefett  ng	Tilsiter A		Tilsiter B		Lauener Bergkäse		
		ohne Zusatz gef.	nach Zusatz gef.	ohne Zusatz gef.	nach Zusatz gef.	ohne Zusatz gef.	nach Zusatz gef.	
		ng	%	ng	%	ng	1. Analyse %	2. Analyse* %
$\alpha$ -HCH	400	81	95	81	99	126	96	99
Lindan	480	13	99	24	95	23	98	100
Heptachlor	470	0	94	0	98	0	95	101
Aldrin	450	0	91	0	96	0	90	99
Heptachlorepoxyd	500	18	95	12	97	12	103	100
DDE	400	40	93	34	98	19	103	98
Dieldrin	700	103	105	55	96	27	97	102
DDT	500	0	99	0	100	0	101	102

\* Säule II wurde unter leichtem Ueberdruck eluiert, so daß das Cyclohexan in rascher Tropfenfolge abtropfte.

digkeiten ergaben, daß auf Säule I kein Ueberdruck angewendet werden darf, weil sonst Verluste von 10—15 % auftreten können. Das Propylenkarbonat muß langsam durch Säule I fließen. Dagegen darf zur Beschleunigung der Elution auf Säule II ein leichter Ueberdruck angewendet werden, so daß das Cyclohexan rasch abtropft, jedoch so, daß die einzelnen Tropfen noch gezählt werden können (siehe Versuch in Tabelle 5 letzte Kolonne).

Nach dieser Methode haben wir aus zahlreichen Käseproben die Insektizide isoliert und gas-chromatographisch bestimmt. Die Resultate waren zufriedenstellend. Zur Kontrolle der Ausbeute haben wir zu Käsefett bekannte Mengen verschiedener Insektizide zugefügt. Wie aus der Tabelle 5 hervorgeht, betrug die Ausbeute in den meisten Fällen zwischen 95 und 105 %. Die Abweichungen vom Sollwert liegen innerhalb des Streubereichs der gas-chromatographischen Bestimmung, welcher etwa  $\pm 5\%$  beträgt. Die Gas-Chromatogramme einer zweiten Fraktion von 30 ml erwiesen sich in allen Fällen als praktisch frei von Insektiziden.

e) *Aufbringen des Fettes auf das Celite und Eluieren aus Säule I*

Damit auf Säule I die Insektizide quantitativ vom Propylenkarbonat aufgenommen und in Säule II gespült werden, muß die Fettprobe möglichst gleichmäßig auf dem Celite verteilt sein. Um dies zu erreichen, haben wir 1,5 g der Fettprobe zunächst in 2 ml Petroläther gelöst, dann 2 g Celite zugefügt und mit einem sauberen Spatel innig vermischt. Diese mit Petroläther befeuchtete Masse wurde in Säule I eingefüllt. Das Fett befand sich in gelöster Form auf dem Celite. In vielen Fällen erhielten wir auf diese Weise sehr gute Resultate und quantitative Insektizid-Ausbeuten. Gelegentlich, beispielsweise bei ausgeschmolzenem Butterfett, erwies sich der Petroläther als schädlich, die Methode versagte. Es gelangten z. T. beträchtliche Mengen Fett auf Säule II, von wo sie mit Cyclohexan eluiert wurden und schließlich den Insektizid-Extrakt verunreinigten. Vor dem Einfüllen der Fett-Celite-Mischung in die Säule I muß daher der Petroläther wieder entfernt werden. Das geschieht durch Erwärmen der Mischung im Trockenschrank bei ca. 50 ° C. Bei Fetten, welche bei Zimmertemperatur teilweise fest werden, wie Käsefett oder gehärteten Fetten, findet man auf diese Weise ungenügende Insektizid-Ausbeuten.

Wir haben daher eine Serie von Modell-Versuchen mit einem hydrierten Fischöl (Schmelzpunkt 40 ° C) und einem festen Käsefett durchgeführt (siehe Tabelle 6). Zur Kontrolle haben wir in den Versuchen Nr. 1 und 4 die Säule I, nachdem sie mit 15 ml Propylenkarbonat bei Zimmertemperatur eluiert worden war, im Trockenschrank auf 45 ° C erwärmt und anschließend in der Wärme nochmals mit 15 ml Propylenkarbonat eluiert. Diese zweite Fraktion wurde auf eine frisch gepackte Säule II auftropfen gelassen und diese hierauf mit Cyclohexan eluiert. Im Gas-Chromatogramm der zweiten Fraktion erhielten wir von sämtlichen Insektiziden gut ausgebildete Peaks. Damit dürfte bewiesen sein, daß in der Kälte, wenn das Fett auf Säule I auskristallisiert, ein Teil der Insektizide

Tabelle 6. Modellversuche mit Käsefett und Hartfett

Ver- such Nr.	Versuchsbedingungen	$\alpha$ -HCH	Lindan	Hepta- chlor	Aldrin	Hepta- chlor- epoxid	Dieldrin	p,p-DDE	p,p-DDT
	Insektizide in 1,5 g Käsefett in pg	150	18	0	0	0	70	47	70
	Insektizide in 1,5 g Hartfett in pg	0	0	0	0	0	0	0	0
	Im Modellversuch zu je 1,5 g Fett zugesetzte Insektizid-Mengen in pg	405	485	495	503	507	694	372	491
	<i>Ausbeute:</i> <i>Eluieren bei Zimmertemperatur</i>	%	%	%	%	%	%	%	%
1	a) Ansatz ohne Propylenkarbonat Hartfett	88	86	75	74	79	76	71	71
2	Käsefett	90	94	95	102	100	93	93	102
3	b) Ansatz mit Propylenkarbonat Hartfett	96	97	90	82	95	92	86	102
4	Hartfett	96	97	87	78	97	94	84	94
5	Käsefett	98	98	97	97	97	96	102	93
6	Käsefett	100	100	99	99	96	98	96	98
	<i>Eluieren aus erwärmter Säule I</i>								
7	a) Ansatz ohne Propylenkarbonat Hartfett	101	102	99	98	98	98	97	99
8	Käsefett	94	98	103	101	98	101	97	102
	b) Ansatz mit Propylenkarbonat Hartfett	99	99	96	88	98	101	89	103

*Versuchsbedingungen zu den Modellversuchen in Tabelle 6*

Hartfett: raffiniertes, gehärtetes Fischöl, Schmelzpunkt 40 ° C

Käsefett: isoliert aus Tilsiterkäse

a) *Ansatz ohne Propylenkarbonat:*

1,5 g Fett lösen in 2 ml Petroläther (enthaltend die 8 Insektizide), 2 g Celite zufügen, gut mischen, Petroläther bei ca. 45 ° abdunsten.

b) *Ansatz mit Propylenkarbonat:*

1,5 g Fett lösen in 2 ml Petroläther (enthaltend die 8 Insektizide) In einem 2. Becherglas 2 g Celite + 1 ml Propylenkarbonat innig mischen, Diese Mischung zum gelösten Fett geben, gut mischen, dann Petroläther bei ca 45 ° C abdunsten.

*Säulenaufbau*

Mit beiden Ansätzen die Säule I vorschriftsgemäß aufbauen.

*Eluieren bei Zimmertemperatur*

Säule I mit 15 ml Propylenkarbonat kalt eluieren.

*Eluieren in der Wärme*

Säule I und 15 ml Propylenkarbonat getrennt im Trockenschrank 1/2 Stunde bei 45 ° C vorwärmen. Säule I herausnehmen, über Säule II montieren und sofort mit dem vorgewärmten Propylenkarbonat eluieren.

---

in Säule I zurückbleibt. Aus dem geschmolzenen Fett dagegen werden die Insektizide quantitativ eluiert.

Um eine möglichst innige Vermischung des Fettes mit dem Celite und dem Propylenkarbonat zu erhalten, haben wir versuchsweise 2 g Celite mit 1 ml Propylenkarbonat gut verrieben und dieses angefeuchtete Pulver zu der in 1 ml Petroläther gelösten Fettprobe gegeben und gut durchgemischt. Nach dem Verdunsten der Petroläthers bei 40—50 ° C hinterbleibt eine feuchte Masse, welche zu einer kompakten Säule gestopft wurde. Durch diese Behandlung konnte die Ausbeute an Insektiziden in vielen Fällen erhöht werden. Bei Käsefett war sie befriedigend (Versuche 5 und 6), bei dem gehärteten Fett immer noch ungenügend (Versuche 3 und 4). Um die Ausbeute bei harten Fetten zu erhöhen, haben wir die Fett-Celite-Mischung warm in Säule I eingefüllt und die Säule unmittelbar vor dem Eluieren mit Propylenkarbonat auf ca. 40 ° C erwärmt. Auch die zum Eluieren benutzten 15 ml Propylenkarbonat wurden auf ca. 40 ° C vorgewärmt. Auf diese Weise erfolgt die Elution aus der flüssigen Phase, und die Insektizid-Ausbeute ist durchwegs gut. In der endgültigen Arbeitsvorschrift wird daher bei Fetten, die bei Zimmertemperatur fest sind, die Elution in der Wärme vorgeschrieben. Ein Vermischen des Celites mit Propylenkarbonat vor dem Zusatz des Fettes ist in diesem Fall unnötig.



f) *Reproduzierbarkeit*

Unsere Methode liefert gut reproduzierbare Resultate. In der Tabelle 7 sind 3 Analysen eines Tilsiter-Käses aufgeführt, die an verschiedenen Tagen unabhängig voneinander durchgeführt worden sind.

Tabelle 7. *Reproduzierbarkeit. Analyse von Tilsiter-Käse*

Insektizide	1. Analyse ppb	2. Analyse ppb	3. Analyse ppb
$\alpha$ -HCH	118	116	104
Lindan	14	18	14
Heptachlorrepxid	6	5	7
DDE	29	32	30
Dieldrin	33	35	35
DDT	0	0	0

**5. Identifizierung der Insektizide durch ihre Retentionszeit und ihr Verhalten an einer Schwefelsäure-, bzw. Magnesiumoxid-Säule**

Die Insektizide lassen sich mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit durch ihre Retentionszeit identifizieren. Stimmt die Retentionszeit eines Peaks mit derjenigen einer reinen Testsubstanz überein, so ist noch keineswegs bewiesen, daß die beiden Substanzen identisch sind. Aus diesem Grund haben wir von jeder Lösung 2 Chromatogramme auf Säulen mit Phasen von unterschiedlicher Polarität aufgenommen. Stimmen die Retentionszeiten eines fraglichen Peaks auf beiden Säulen mit denjenigen der vermuteten Reinsubstanz überein, so ist ihre Identität mit recht großer Wahrscheinlichkeit gesichert. Oft können sich auf einem Gas-Chromatogramm zwei Peaks überlagern (siehe Figur 7).

Wie *Siewierski* und *Helrich* (6) gezeigt haben, existiert vom DDT eine ganze Reihe von Isomeren und Metaboliten, die auf geeigneten Säulen gas-chromatographisch mehr oder weniger gut voneinander getrennt werden. Ueberlagerungen einiger dieser Metaboliten kommen auf allen Säulen vor. Gelegentlich besteht auch eine gewisse Unsicherheit, ob es sich bei einem bestimmten Peak um ein Insektizid handelt, oder ob der Peak vollständig oder teilweise auf eine Verunreinigung zurückzuführen ist. In all diesen Fällen erweist sich eine weitere säulenchromatographische Nachbehandlung mit anschließender gas-chromatographischer Analyse als wertvoll.

*Absorption und Umwandlung der verschiedenen Insektizide an H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-  
und MgO-Säulen*

10 0/0 DC-200-Säule

8 0/0 QF-1-Säule

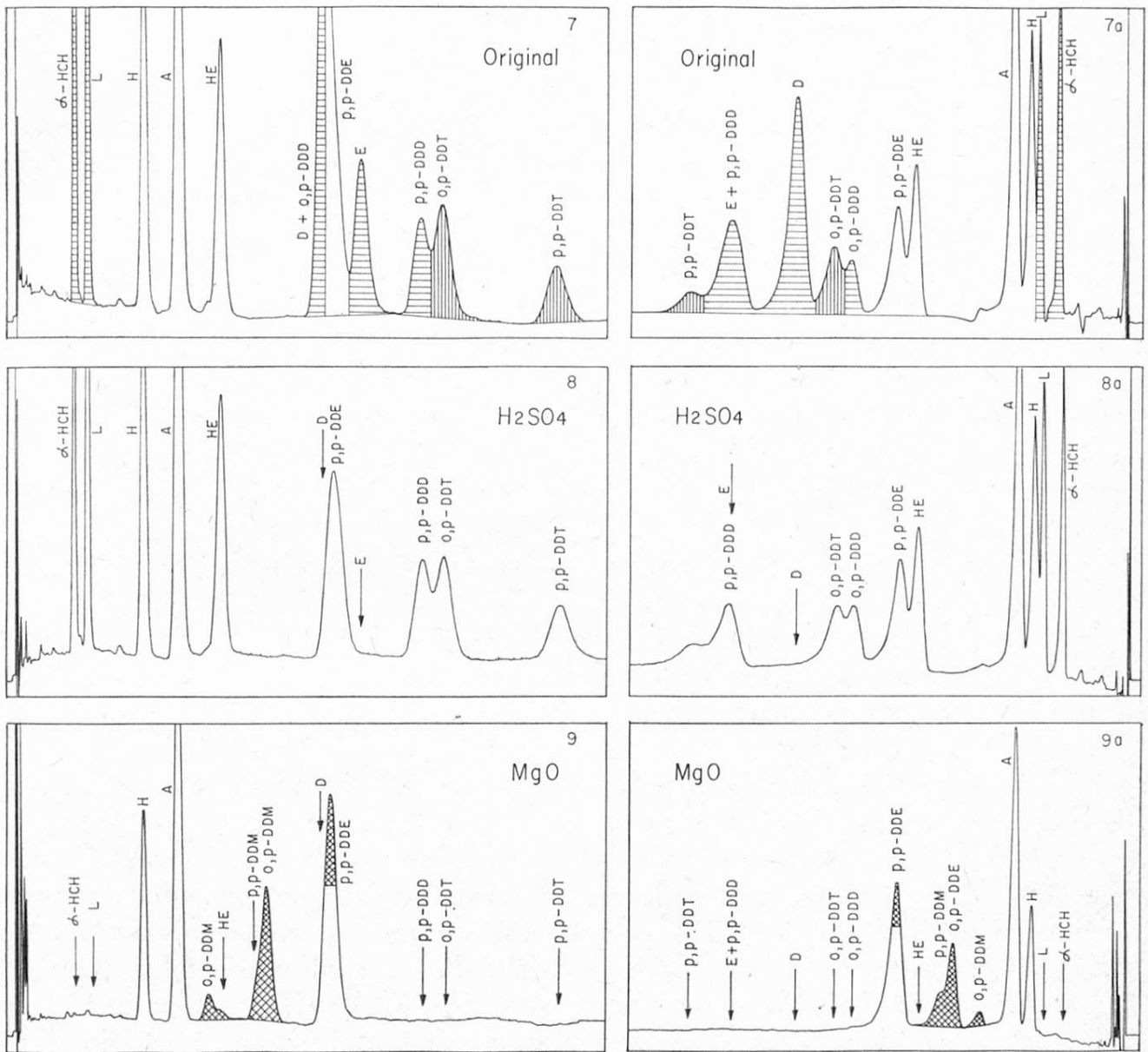


Fig. 7 und 7a. Modellmischung vor der Behandlung.

Fig. 8 und 8a. Modellmischung nach der H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-Säule.

Fig. 9 und 9a. Modellmischung nach der MgO-Säule

Insektizid verschwindet an H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>- oder MgO-Säule

neu entstandene Verbindungen nach MgO-Behandlung

Insektizid wird an MgO-Säule umgewandelt

deutet verschwundene Substanzen an

### *Schwefelsäure-Säule*

Zur weiteren Identifizierung der Insektizide haben wir die Lösung mit dem fraglichen Gemisch zunächst durch eine Säule bestehend aus 1 Teil Celite + 1 Teil konzentrierter Schwefelsäure filtriert und die Säule mit Cyclohexan gründlich eluiert. Durch diese Schwefelsäure-Behandlung werden verschiedene evtl. in der Lösung vorhandene Verunreinigungen entfernt. Im Gas-Chromatogramm des eingengten Eluates sind störende Peaks, die nicht von chlorierten Kohlenwasserstoffen herrühren, verschwunden. Absorbiert oder zerstört werden Dieldrin und Endrin. Diese beiden Verbindungen fehlen im Eluat (siehe Figuren 8 und 8a). Alle anderen von uns geprüften Insektizide passieren die Schwefelsäure-Säule unverändert. Es sind dies:  $\alpha$ -HCH, Lindan, Heptachlor, Aldrin, Heptachlorepoxyd DDD, DDE, DDT.

### *Magnesiumoxid-Säule*

Als wertvoll erwies sich auch eine Filtration des fraglichen Insektizid-Gemisches durch eine MgO-Säule, wie dies die AOAC-Methode als Reinigungsverfahren vorschreibt. Die verschiedenen Insektizide verhalten sich dabei ganz unterschiedlich, was in der AOAC-Vorschrift (7) mit keinem Wort erwähnt wird.

*Absorbiert* werden an der MgO-Säule  $\alpha$ -HCH und Lindan. Sie fehlen im Eluat vollständig (siehe Figur 9 und 9a).

*Mehr oder weniger absorbiert* werden Heptachlor und Heptachlorepoxyd. Das Verhalten dieser beiden Verbindungen ist nicht immer reproduzierbar. Gelegentlich sind sie im Eluat nahezu verschwunden, gelegentlich sind noch beträchtliche, allerdings wechselnde Mengen im Eluat nachweisbar.

*Umgewandelt* werden an der MgO-Säule das DDT und verschiedene Metaboliten und Derivate des DDT.

Aus *o,p*-DDT entsteht unter Abspaltung von Salzsäure *o,p*-DDE. Das *o,p*-DDD (Dichlor-diphenyl-dichloräthan) wird ebenfalls umgewandelt. Vermutlich wird auch ein Mol HCl abgespalten. Der nun entstandene Peak (auf der QF-1-Säule erscheint er nach dem Aldrin), dürfte dem *o,p*-Dichlor-diphenyl-monochloräthylen (DDM) entsprechen. Auf den 6 Gas-Chromatogrammen der Figuren 7 bis 9a ist dieses Verfahren anschaulich dargestellt. Links in Figur 7, 8, 9 sind jeweils die Gas-Chromatogramme der DC-200-Säule, rechts diejenigen der QF-1-Säule abgebildet. (Figur 7a, 8a, 9a). Die obersten beiden Kurven Figur 7 und 7a zeigen die Gas-Chromatogramme eines Gemisches mit 11 Insektiziden vor der Behandlung. Alle Peaks, welche durch eine der nachfolgenden säulenchromatographischen Behandlung verschwinden, oder in andere Substanzen umgewandelt werden, sind schraffiert dargestellt. In den Figuren 8—9a sind jene Stellen im Gas-chromatogramm, an welchen Peaks verschwunden sind, mit Pfeilern markiert.

Peaks von neu gebildeten Verbindungen sind kreuzweise schraffiert. Mit Hilfe der Figuren und den Angaben in Tabelle 8 läßt sich das Verhalten der Insektizide an der Schwefelsäure- und der MgO-Säule genau verfolgen. In der Tabelle 8 sind außerdem noch die relativen Retentionszeiten angegeben. (Dieldrin = 1,00).

Tabelle 8

Relative Retentionszeiten und Verhalten der verschiedenen Insektizide beim Chromatographieren auf H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>- und MgO-Säule

(Relative Retentionszeit Dieldrin = 1,00)

Abkürzung	Chemische Bezeichnung oder Trivialname	Relative Retentionszeit (195 °C)		Im Eluat nach	
		10 % DC-200	8 % QF-1	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> -Säule	MgO-Säule
$\alpha$ -HCH	$\alpha$ -Hexachlorcyclohexan, $\alpha$ -BHC	0,19	0,20	+	—
L	Lindan, $\gamma$ -HCH, $\gamma$ -BHC	0,23	0,26	+	—
H	Heptachlor	0,41	0,29	+	( $\pm$ )
A	Aldrin	0,53	0,34	+	+
HE	Heptachlorepid	0,66	0,64	+	( $\pm$ )
D	Dieldrin	1,00	1,00	—	+
E	Endrin	1,12	1,18	—	+
p,p-DDT	p,p-Dichlordiphenyltrichloräthan	1,76	1,33	+	→ p,p-DDE
o,p-DDT	o,p-Dichlordiphenyltrichloräthan	1,39	0,89	+	→ o,p-DDE
p,p-DDE	p,p-Dichlordiphenyldichloräthylen	1,0	0,70	+	+
o,p-DDE	o,p-Dichlordiphenyldichloräthylen	0,82	0,56	+	+
p,p-DDD	p,p-Dichlordiphenyldichloräthan, TDE	1,31	1,21	+	→ p,p-DDM (Spur)
p,p-DDD	o,p-Dichlordiphenyldichloräthan, TDE	1,0	0,84	+	→ o,p-DDM (Spur)
p,p-DDM	p,p-Dichlordiphenylmonochloräthylen	0,79	0,57		
o,p-DDM	o,p-Dichlordiphenylmonochloräthylen	0,63	0,45		

Es bedeuten:

+ Substanz im Eluat unverändert vorhanden

— Substanz fehlt im Eluat

$\pm$  gelegentlich vollständig, gelegentlich teilweise verschwunden

→ Umwandlung in

## 6. Methodik

### Säulenchromatographische Isolierung und Reinigung der Insektizide

#### Prinzip

Die Insektizide werden säulenchromatographisch auf 2 hintereinander geschalteten Säulen isoliert. In die obere Säule I wird eine Mischung des zu unter-

suchenden Fettes mit Celite eingefüllt. Säule II enthält unten eine Schicht  $\text{Al}_2\text{O}_3$ , darüber eine Schicht Florisil. Säule I wird mit Propylenkarbonat eluiert, welches die Insektizide herauslöst. Das Eluat tropft auf Säule II in die Florisilschicht. Anschließend werden die Insektizide mit Cyclohexan aus Säule II eluiert. Zur Identifizierung werden sie gas-chromatographisch getrennt und die Gas-Chromatogramme quantitativ ausgewertet.

### Reagenzien

Alle Reagenzien müssen speziell gereinigt und so aufbewahrt werden, daß sie keine Verunreinigungen aus der Luft aufnehmen können. Die festen Reagenzien werden nach der Reinigung in Pulverflaschen mit Schraubverschluß aufbewahrt. In die Innenseite des Verschlußdeckels wird eine passende Verschlußdichtung aus Kork oder Karton, die mit Aluminiumfolie überzogen ist, eingelegt. Dadurch wird verhindert, daß Aluminiumoxid oder Florisil flüchtige Stoffe aus dem Verschlußdeckel aufnehmen können.

Flüssigkeiten werden erst unmittelbar vor Gebrauch aus der entsprechenden Reinigungssäule entnommen.

*Watte* mit Cyclohexan 3 Stunden extrahiert und bei  $140^\circ\text{C}$  getrocknet.

*Seesand* bei ca.  $500^\circ\text{C}$  geglüht.

*Florisil* (Magnesia-Silicagel) 60—100 mesh Fluka AG. Buchs/SG; ca. 3 Stunden bei ca.  $500^\circ\text{C}$  glühen, im Exsikkator abkühlen lassen. Zu 100 g geglühtem Florisil in Pulverflasche 7,0 ml dest. Wasser zugeben, Flasche verschließen, gut mischen und mindestens 12 Stunden stehen lassen.

*Aluminiumoxid* (Woelm basisch, Aktivitätsstufe I) zur Chromatographie. Ca. 3 Stunden bei ca.  $500^\circ\text{C}$  glühen, im Exsikkator erkalten lassen. Zu 100 g geglühtem Aluminiumoxid in Pulverflasche 15,0 ml Wasser zufügen, gut mischen, mindestens 10 Stunden stehen lassen.

*Celite 545* (gereinigte Diatomeenerde) Schneider & Co. AG., Winterthur. Bei ca.  $500^\circ\text{C}$  glühen und im Exsikkator abkühlen lassen.

*Natriumsulfat* p. a. bei  $500^\circ\text{C}$  geglüht.

*Propylenkarbonat* purum (Kohlensäure-propylen glykolester) Fluka AG, Buch/SG, gereinigt durch eine Säule von aktivem Florisil (geglüht bei  $500^\circ\text{C}$ ).

*Petroläther* purum  $K_p = 30\text{—}45^\circ\text{C}$  (Fluka) gereinigt durch eine Säule von  $\text{Al}_2\text{O}_3$  basisch Aktivität I\*.

*Cyclohexan* p. a. Merck, gereinigt durch eine Säule von  $\text{Al}_2\text{O}_3$  basisch Aktivität I\*.

\* Zu beziehen bei Camag, Muttenz/BL.

*Glasgeräte* (siehe Figur 11)

*Chromatographie-Rohr* für Säule I, 15 mm lichte Weite oben mit trichterförmiger Erweiterung (siehe Figur).

*Chromatographie-Rohr* für Säule II, 20 mm lichte Weite, mit Normalschliff (siehe Figur).

*Tropftrichter* mit Teflon-Küken und Normalschliff, passend auf Säule II (siehe Figur).

*Uebergangsstück* mit Normalschliff, passend auf Tropftrichter und Säule II mit Gaseinleitungsrohr, Filter aus Watte und Aktivkohle (siehe Figur).

*Spitzkölbchen* ca. 150 ml mit Normalschliff, an Rotationsverdampfer passend (siehe Figur).

### *Reinigung der Glaswaren*

Die während des Tages anfallenden Glaswaren werden wie üblich in Seifenwasser gewaschen. Anschließend werden sie in eine 5%ige RBS-Lösung eingelegt. Dieselbe wird am Abend zum Sieden erhitzt, zugedeckt und über Nacht erkalten gelassen. Die Glaswaren werden herausgenommen, abgespült, im Trockenschrank bei 140 ° C getrocknet und in einem staubfreien mit Aluminium-Haushaltfolie ausgekleideten Schrank aufbewahrt.

### *Arbeitsvorschrift*

#### *Aufbau der Säulen*

Die Säulen II und I werden wie in Figur angegeben aufgebaut.

#### *Säule II*

- unten kleiner Wattebausch;
- unter Klopfen oder Verwendung eines Vibrators nacheinander trocken in die Säule einfüllen:
- 5 g Natriumsulfat, wasserfrei;
- 10 g Aluminiumoxid basisch mit 15 % Wasser;
- 15 g Florisil mit 7 % Wasser;
- 2 g Seesand.

#### *Säule I*

- unten kleiner Wattebausch;
- 0,5 g Celite;
- Celite-Fett-Mischung (siehe Einwaage);
- 2 g Seesand;
- Bei festen Fetten muß die Säule I im Trockenschrank während 20—30 Minuten auf 45 ° C erwärmt werden.

### *Einwaage*

- 1,50 g Fett in 50-ml-Becherglas abwägen;
- 2 ml Petroläther zufügen und Fett lösen;
- 2,0 g Celite 545 zugeben;
- mit kleinem Nickelspatel gut mischen bis eine homogene, knollenfreie Masse entsteht;
- Celite-Fett-Petroläther-Mischung 30 Minuten im Trockenschrank bei ca. 45 ° C stehen lassen, dann die Säule I einfüllen;
- Bei festen Fetten müssen Säule I sowie die zum Eluieren bestimmten 15 ml Propylenkarbonat im Trockenschrank auf 45 ° C aufgewärmt werden (20 bis 30 Minuten).

### *Säulenchromatographische Reinigung und Anreicherung*

- Säule I über Säule II montieren.
- 15 ml Propylenkarbonat abmessen. (Bei harten Fetten auf 45 ° C vorgewärmt). Nickelspatel und Becherglas 3mal nacheinander in Portionen von 2—3 ml mit Propylenkarbonat spülen und die Lösung auf Säule I gießen.
- Mit leichtem Ueberdruck das Propylenkarbonat einpressen bis die ersten Tropfen auf Säule II fallen.
- Restliches Propylenkarbonat auf Säule I geben, warten bis kein Propylenkarbonat mehr abtropft (ohne Ueberdruck).
- Mit leichtem Ueberdruck (Handgebläse) Hauptmenge des Propylenkarbonats aus Säule I ausdrücken.
- Säule I wegnehmen, Inhalt wird verworfen.
- Auf Säule II, Schliff mit Gaseinleitungsrohr und Kohlefilter aufsetzen; mit Gebläse vorsichtig Luft einpressen bis die Propylenkarbonat-Front auf dem Florisil nicht mehr sichtbar weiterwandert. Die trockene Florisilschicht über dem  $\text{Al}_2\text{O}_3$  soll mindestens 1—2 cm betragen; andernfalls muß die Florisilmenge erhöht werden.
- 120 ml Cyclohexan in Tropftrichter mit Schliff gießen.
- Aus Tropftrichter vorsichtig Cyclohexan auf Säule II geben bis der Seesand 1—2 cm hoch überschichtet ist. Tropftrichter aufsetzen, Hahn vollständig öffnen. Mit leichtem Ueberdruck (Handgebläse) eluieren.
- Das aus Säule II abtropfende Eluat in gewogenem Spitzkölbchen auffangen.
- Wenn kein Cyclohexan mehr abtropft, Spitzkölbchen an Vakuum-Rotationsverdampfer ansetzen. Aus ca. 50 ° C warmem Wasserbad abdestillieren. Vakuum so regulieren, daß das Kondensat langsam und gleichmäßig vom Kühler abtropft. Flüssigkeit auf 2—5 ml einengen. Vorsicht: Es darf kein Luftstrom durch den Rotationsverdampfer gesaugt und die Lösung nie zur Trockne eingedampft werden, sonst entstehen Verluste an Insektiziden.
- Spitzkölbchen abnehmen, mit Schliffstopfen verschließen, außen abtrocknen und abkühlen lassen.
- Nach dem Erkalten auf Tarierwaage stellen und mittels Pipette Cyclohexan zugeben bis der Inhalt 3—4 g beträgt. Gewicht des Inhaltes auf zwei

Dezimalen genau bestimmen und notieren. (Dient später zur Berechnung des Volumens.)

$$\text{Volumen} = \frac{\text{Gewicht}}{0,778} ; 0,778 = \text{Dichte des Cyclohexans}$$

— Von obiger Insektizid-Lösung 5  $\mu\text{l}$  in den Gas-Chromatographen einspritzen.

### Bemerkung

Bei hohen Insektizid-Gehalten wird die Cyclohexan-Lösung nicht oder nur teilweise eingeengt. Auf jeden Fall ist darauf zu achten, daß bei der quantitativen Bestimmung innerhalb des linearen Bereiches des Detektors gearbeitet wird.

### Eich-Gas-Chromatogramm

Am gleichen Tag ist ein Eich-GC aufzunehmen. Man spritzt 5  $\mu\text{l}$  eines Eichgemisches, welches von jeder zu bestimmenden Substanz 50  $\text{pg}/\mu\text{l}$  enthält, in den Gas-Chromatographen.

### Apparative Bedingungen für unsere Gas-Chromatogramme

Gas-Chromatograph	Varian Aerograph Moduline Modell 1740-1	
Schreiber	Varian Aerograph Modell G 20-2 Zweikanalschreiber Papiervorschub 10 inch/h	
Trennsäule	7' $\times$ 1/8" aus Pyrexglas	
Säulenfüllungen	1. 10 % DC-200; 2. 8 % QF-1 auf Aeropack 30, 80/100 mesh, Varian Verkaufsbüro Basel	
Detektoren	Elektroneneinfang-Detektor mit Tritium Folien	
Gasströmungen	Trägergas $\text{N}_2$ , 40 psi Eingangsdruck	
Temperatur	Injektor	= 205 ° C
	Detektorofen	= 220 ° C
	Säulenofen	= 195 ° C
Einspritzmenge	5 $\mu\text{l}$	
Empfindlichkeit	32 $\cdot$ 10 <sup>-10</sup> Amp.	
Auswertung	Varian Aerograph Elektronik Digital Integrator Modell 477 mit Victor Printer	
Integrator-Einstellungen		
recorder	attenuator	1
peak detektor	peak width 1/2ht seconds	30
	slope sensitivity	5 = 0,6 $\mu\text{V}/\text{sec}$ .
digital baseline		
corrector	rate	5 = 0,3 $\mu\text{V}/\text{sec}$ .
integrate	count rate Hz/mV	1000

### Berechnung

Siehe Analysenbeispiel.



## *Nachbehandlung der Analysen-Lösung zur weiteren Identifizierung einzelner Peaks*

Durch eine Filtration der Analysen-Lösung durch eine saure oder alkalische Säule werden gewisse Insektizide absorbiert, andere werden umgewandelt. Ueber das Verhalten der einzelnen Substanzen bei diesen Nachbehandlungen orientieren die Tabelle 8 und die Figuren 7—9a.

### *Filtration durch Schwefelsäure-Celite-Säule*

#### *Aufbau der Säule*

- Chromatographierohr mit trichterförmiger Erweiterung (analog Säule I in Figur 11) unten mit Wattebausch abschließen;
- darüber 1 g Celite einfüllen unter Klopfen oder Vibrieren;
- darüber 5 g einer Mischung von konzentrierter Schwefelsäure + Celite 1 + 1 einfüllen und mit flachgedrücktem Glasstab zusammendrücken;
- 10 ml Cyclohexan auf die Säule geben, mit Ueberdruck (Handgebläse) in die Säule einpressen;
- Analysen-Lösung aufgießen, eluieren mit 25 ml Cyclohexan;
- Eluat in gewogenem Spitzkölbchen auffangen, am Rotationsverdampfer auf 2—4 ml einengen;
- Kölbchen wägen und Lösung mit Cyclohexan auf das gleiche Gewicht verdünnen, welches die Analysen-Lösung vor der Filtration hatte;
- 5  $\mu$ l in Gas-Chromatographen einspritzen.

### *Filtration durch MgO-Säule*

#### *Aufbau der Säule*

- Chromatographierohr mit trichterförmiger Erweiterung (analog Säule I in Figur 11) unten mit Wattebausch abschließen;
- 1 g Celite einfüllen;
- 2,5 g MgO-Celite-Mischung 1 + 1 unter Vibrieren oder Klopfen trocken einfüllen;
- 10 ml Cyclohexan auf Säule geben, mit Ueberdruck (Handgebläse) in die Säule pressen;
- Analysen-Lösung aufgießen, mit 25 ml Cyclohexan eluieren;
- Eluat in gewogenem Spitzkölbchen auffangen, am Rotationsverdampfer auf 2—4 ml einengen;
- Kölbchen wägen und Lösung mit Cyclohexan auf das gleiche Gewicht verdünnen, welches die Analysen-Lösung vor der Filtration hatte;
- 5  $\mu$ l in Gas-Chromatograph einspritzen.

#### *Analysenbeispiel*

An einem Appenzeller-Käse haben wir unsere neue Methode ausprobiert. Die verschiedenen Gas-Chromatogramme sind in den Figuren 10a—10d wiedergegeben.

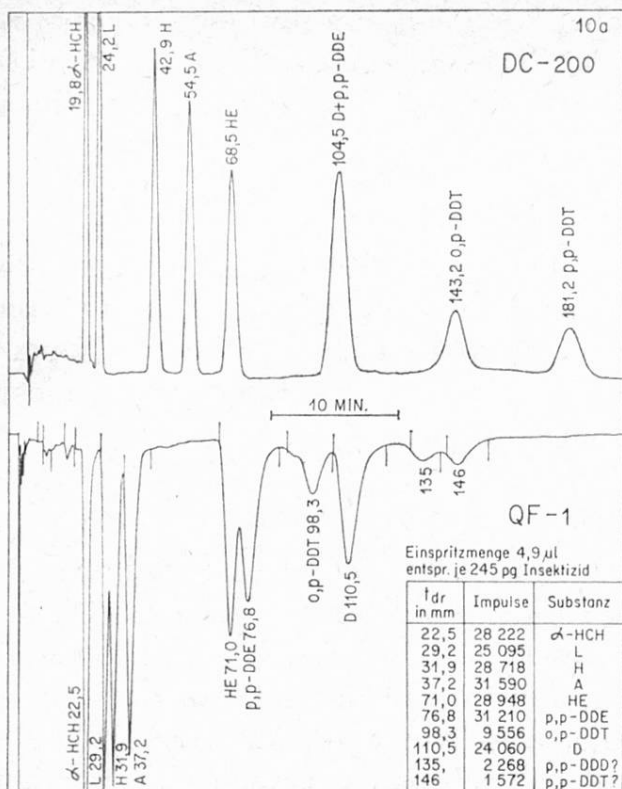


Fig. 10a. Eich-GC.

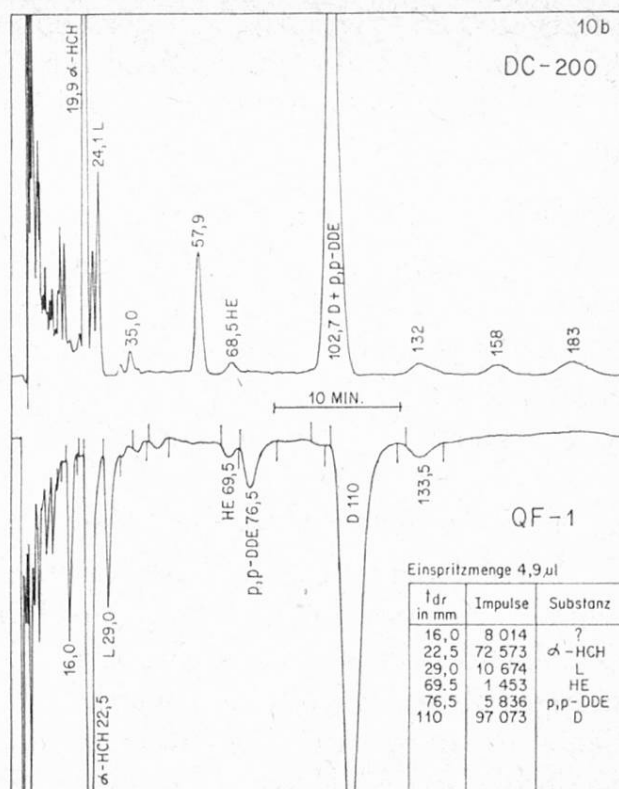


Fig. 10b. Orig. GC Käsefett.

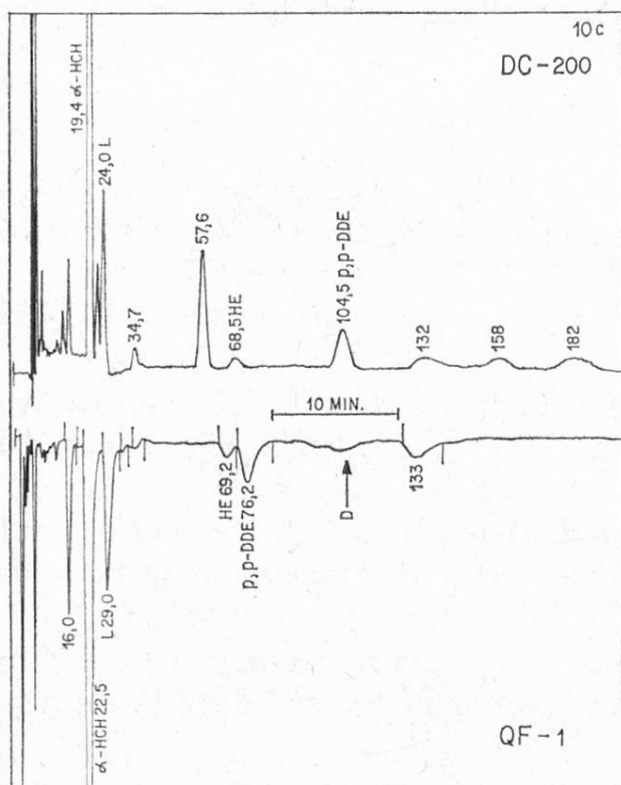


Fig. 10c. Nach H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-Säule.

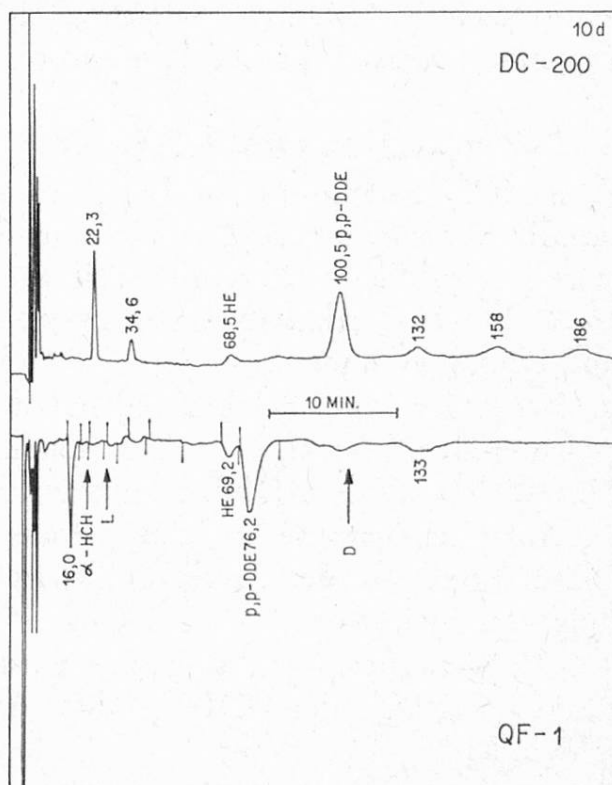


Fig. 10d. Nach MgO-Säule.

### a) Eich-Chromatogramm

Von einer Eichlösung, die bekannte Mengen von 9 verschiedenen Insektiziden enthielt, haben wir Eich-Chromatogramme auf DC-200 und QF-1-Säulen

aufgenommen (Figur 10a). In der kleinen Tabelle in Figur 10a sind die Retentionszeiten und die Integratorimpulse für sämtliche Peaks angegeben. Diese Werte dienen später zur Identifizierung und zur quantitativen Berechnung der einzelnen Insektizide.

b) *Original-Chromatogramm der Insektizide aus Käse*

Durch Vergleichen der Retentionszeiten in Figur 10b mit denjenigen der Reinsubstanzen auf den Eich-Chromatogrammen läßt sich bereits eine Anzahl von Peaks sicher identifizieren. Es sind dies die Peaks von:  $\alpha$ -HCH, Lindan, Heptachlorepoxyd, DDE, Dieldrin. Andere, nicht beschriftete Peaks, konnten wir nicht identifizieren, wir haben lediglich die Retentionszeiten angegeben.

c) *Chromatogramm nach  $H_2SO_4$ -Säule*

Verschiedene Peaks, die auf Verunreinigungen zurückzuführen sind, und im Original-Chromatogramm vor dem  $\alpha$ -HCH und Lindan erschienen, sind verschwunden. Dieldrin und Endrin sind die einzigen Insektizide, welche auf der Schwefelsäure-Säule zurückgehalten werden. Der sehr hohe Dieldrin-Peak auf der QF-1-Säule ist durch die Behandlung vollständig verschwunden. Auf der DC-200-Säule bleibt ein kleiner Peak an der Stelle des Dieldrins, es handelt sich hier um p,p-DDE. Den entsprechenden Peak finden wir auf der QF-1-Säule mit der Retentionszeit 76,2. Durch die Schwefelsäure-Behandlung wurde bewiesen, daß der Appenzeller-Käse viel Dieldrin und relativ wenig p,p-DDE enthält.

d) *Chromatogramm nach MgO-Säule*

$\alpha$ -HCH und Lindan sind nach dieser Behandlung, wie zu erwarten war, vollständig verschwunden. Der nicht identifizierte Peak im Bereich der HCH-Isomeren ist geblieben. Retentionszeit auf DC-200-Säule = 22,3, auf QF-1-Säule = 16,0). Diesen Peak haben wir in vielen Käseproben fast immer neben  $\alpha$ -HCH und Lindan gefunden.

Nach der MgO-Behandlung hat der DDE-Peak auf der QF-1-Säule deutlich zugenommen. Vermutlich sind Spuren von DDT oder Metaboliten durch die MgO-Behandlung in DDE umgewandelt worden und sind nun sicher erfaßbar.

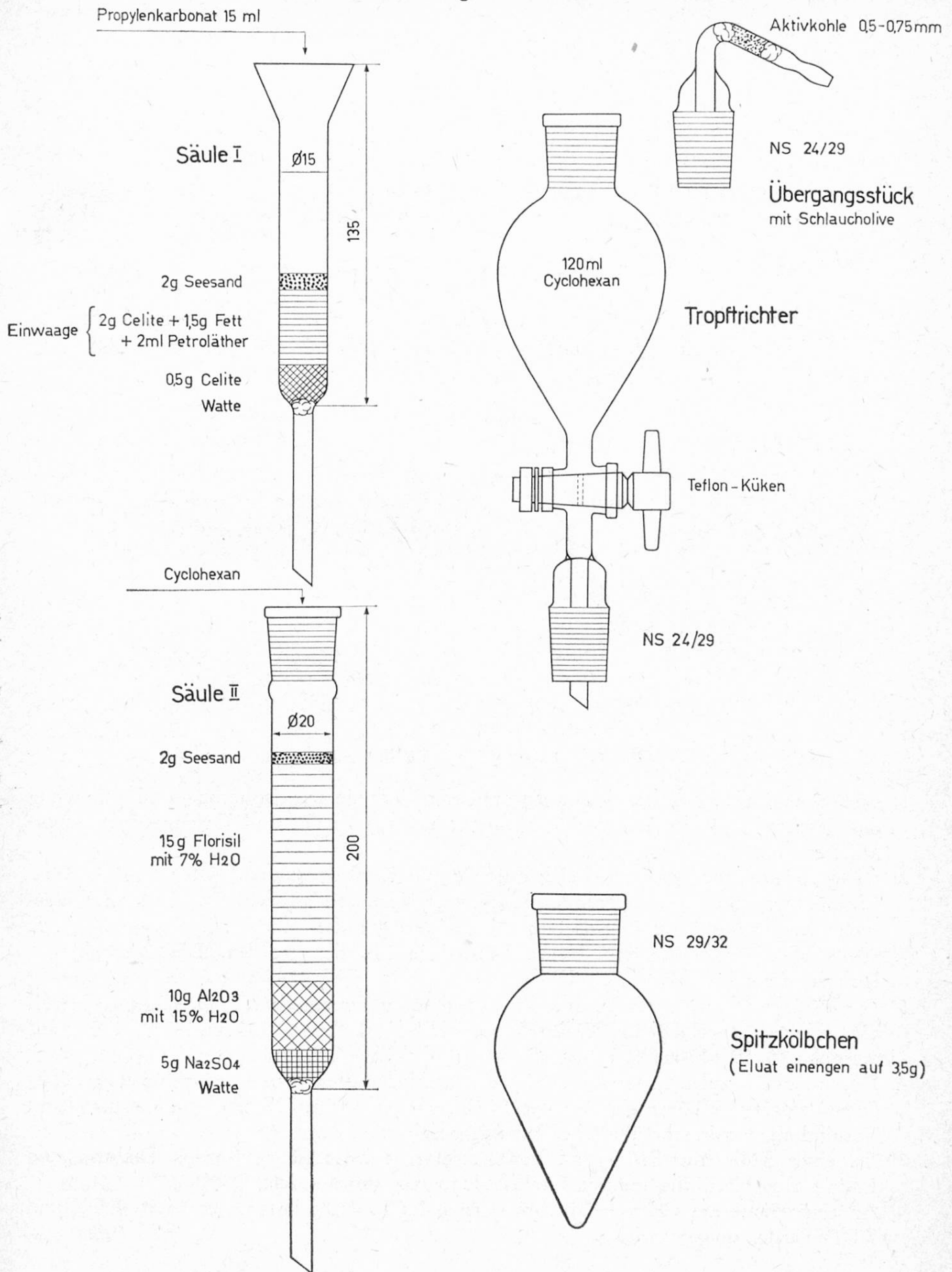
Auffallenderweise sind die 3 Peaks mit Retentionszeiten 132, 158 und 183 auf DC-200-Säule weder durch die Schwefelsäure- noch die Magnesiumoxid-Behandlung verschwunden.

Mit Sicherheit kann ausgesagt werden, daß es sich bei keinem dieser fraglichen Peaks um DDT oder DDD handelt. Auf der MgO-Säule müßten diese Peaks verschwinden.

*Berechnungsbeispiel*

Aus dem in Figur 10a abgebildeten Gas-Chromatogramm der Insektizide aus Appenzeller-Käse soll der Dieldrin-Gehalt berechnet werden. Die Integratorimpulse für jede Substanz und die entsprechende Eichlösung können den kleinen Tabellen in den Figuren 10a und 10b entnommen werden.

Fig. 11



Die allgemeine Formel zur Berechnung lautet:

$$\text{Insektizid-Gehalt des Käsefettes in ppb} = \frac{C_E \cdot v_E \cdot V_A \cdot F_A}{v_A \cdot E \cdot F_E}$$

wobei

$E$  = Einwaage an Käsefett in g = 1,5 g

$C_E$  = Konzentration des Insektizides in der Eichlösung in pg/ $\mu$ l = 50 pg/ $\mu$ l

$v_A$  = Volumen der eingespritzten Analysen-Lösung in  $\mu$ l = 4,9  $\mu$ l

$v_E$  = Volumen der eingespritzten Eichlösung in  $\mu$ l = 5,0  $\mu$ l

$V_A$  = Volumen der Analysenlösung in ml =  $\frac{G}{0,78} = \frac{3,50 \text{ g}}{0,78} = 4,49 \text{ ml}$

$F_A$  = Fläche des Peaks der Analysen-Lösung = 97 073 Impulse (Dieldrin)

$F_E$  = Fläche des Peaks der Eichlösung = 24 060 Impulse (Dieldrin)

$G$  = Gewicht der Analysenlösung in g

$$\text{Dieldrin im Käsefett} = \frac{50 \cdot 5,0 \cdot 4,49 \cdot 97\,073}{4,9 \cdot 1,50 \cdot 24\,060} = 616 \text{ ppb.}$$

In gleicher Weise sind auch die übrigen Insektizide berechnet worden. Im Fett des Appenzeller-Käses fanden wir die nachstehenden Werte in ppb:

$\alpha$ -HCH	=	384
Lindan	=	64
Heptachlorepoxyd	=	8
p,p-DDE	=	28
Dieldrin	=	616

### Zusammenfassung

1. Eine neue einfache säulenchromatographische Methode zur Isolierung und Reinigung der Insektizide (chlorierte Kohlenwasserstoffe) aus Fetten und Oelen wurde ausgearbeitet.
2. Die Extraktlösungen zeichnen sich durch große Reinheit aus und geben saubere Gas-Chromatogramme ohne störende Peaks von Verunreinigungen. Durch Modell-Versuche an Erdnußöl und Käsefett wurde gezeigt, daß nach der neuen Methode 94—100 % der zugesetzten Insektizide wiedergefunden werden. Die Reproduzierbarkeit ist gut.
3. Die einzelnen Insektizide und deren Metaboliten werden durch ihre Retentionszeiten an zwei verschiedenen Säulen identifiziert (10 % DC-200 und 8 % QF-1 auf Aeropak 30, 80/100 mesh).
4. Durch eine säulenchromatographische Nachbehandlung und anschließende Gas-Chromatographie lassen sich gewisse Insektizide sicher identifizieren und von anderen Verbindungen mit sehr ähnlicher Retentionszeit trennen.  
An einer Säule aus Celite und konzentrierter Schwefelsäure werden Dieldrin und Endrin absorbiert, alle anderen Insektizide bleiben unverändert.  
An einer Säule aus Celite + MgO werden  $\alpha$ -HCH und Lindan absorbiert. DDT und DDD werden umgewandelt.

## Résumé

1. On a étudié une nouvelle méthode de chromatographie sur colonne pour isoler et purifier certains insecticides (organochlorés), contenus dans les graisses et huiles.
2. La chromatographie en phase gazeuse atteste que les extraits obtenus sont exempts d'impureté. On retrouve 94—100 % de la quantité d'insecticide ajoutée de l'huile d'arachide et de graisse de fromage. La reproductibilité est bonne.
3. L'identification des insecticides et de leurs métabolites est basée sur les temps de rétention obtenus avec deux colonnes différentes (10 % DC-200 et 8 % Qf-1 sur Aeropak 30, 80/100 mesh).
4. On confirme les résultats obtenus pour certains insecticides par chromatographie sur colonne, suivie d'une chromatographie en phase gazeuse. Une colonne de célite + acide sulfurique concentré ne retient que la dieldrine et l'endrine. Une colonne de célite + MgO ne retient que l' $\alpha$ -HCH et le lindane. Le DDT et le DDD sont transformés.

## Summary

1. A new simple method using column chromatography for clean-up of chlorinated insecticides in fats and oils has been developed.
2. The extracts are essentially free of impurities and the GLC-chromatograms obtained are characterised by well resolved insecticides without disturbing peaks of unknown origin.  
Spiked samples of peanut oil and fat from cheese gave a recovery of 94—100 % of the added insecticides. The reproductibility of the method is good.
3. The insecticides and their metabolites are identified by retention times on two GLC-columns (10 % DC 200 and 8 % QF 1 on Aeropack 30, 80/100 mesh).
4. An additional identification of certain insecticides can be achieved by an aftertreatment of the extracts on different chromatography columns:  
A column of Celite and conc. sulfuric acid retains dieldrine and endrin and separates them from other insecticides. On a column of Celite and MgO  $\alpha$ -BHC and  $\gamma$ -BHC are retained while DDT and DDD are transformed to other products.

## Literatur

1. Changes in Official Methods of Analysis made at the eightyfirst annual Meeting. October 9—12, 1967. Journ. Assoc. off. Agric. Chem. **51**, 473 (1968).
2. Levine J.: Determination of Caffeine in Coffee Products, Beverages and Tablets. Journ. Assoc. off. Agric. Chem (AOAC) **45**, 254—255 (1962). Siehe auch H. Hadorn u. K. Zürcher: Ueberprüfung der Coffein-Bestimmungsmethode nach Levine. Diese Mitt. **56**, 17—28 (1965).
3. Wood N. F.: Extraction and Clean-up of Organochlorine Pesticide Residues by Column Chromatography. Analyst **94**, 399—405 (1969).
4. Schnorbus R. R.: New Extraction System for Residue Analyses. J. agr. Food Chem. **15**, 661—666 (1967).
5. Isolierung des Käsefettes: Pos. 24.214 (c) Journ. Assoc. off Agric. Chem. **51**, 477 (1968).

6. *Siewierski Marie* und *Helrich K.*: Separation, Identification, and Measurement of DDT and its Metabolites. Journ. Assoc. off. Agric. Chem. (AOAC) **50**, 627—633 (1967).
7. Magnesia Cleanup: Pos. 24.219 Journ. Assoc. off. Agric. Chem. **51**, 478 (1968).

## Ueberprüfung der Eigehaltsbestimmung in Teigwaren auf Grund der gas-chromatographisch ermittelten Fettsäuren-Verteilung

*H. Hadorn* und *K. Zürcher*

Aus dem Laboratorium Coop Schweiz (Basel)

Als zuverlässige Methode zur Berechnung des Eigehaltes von Eierteigwaren galt bis heute die Sterin-Bestimmung (1, 2, 3). Die quantitative Bestimmung der Sterine gelingt recht genau. Dagegen ist die Berechnung des Eigehaltes in Teigwaren des Handels nicht ganz befriedigend, weil je nach Qualität und Ausmahlungsgrad der Grieße ganz unterschiedliche Mengen von Getreide-Sterinen in die Teigwaren gelangen (30—40 mg/100 g). Die in der Praxis benutzten empirischen Korrekturwerte für den Grieß führen daher zu etwas unsicheren Resultaten.

Es wurde von verschiedenen Autoren vorgeschlagen, den Eigehalt aus der gas-chromatographisch ermittelten Fettsäuren-Zusammensetzung der aus den Teigwaren isolierten Lipoide zu berechnen. Nach Angaben des Handbuches der Lebensmittelchemie (4) bestehen zwischen Eieröl und den Lipoiden aus Hartweizengrieß recht beträchtliche Unterschiede in der Fettsäuren-Zusammensetzung. *Spieteri*, *Castang* und *Solère* (5) fanden in Eierlipoiden 4—6 % Palmitoleinsäure; in Getreidelipoiden war diese Fettsäure nicht oder höchstens in Spuren nachweisbar.

*Armandola* (6) hat diese Ergebnisse bestätigt und gefunden, daß die von ihm untersuchten Eier des Handels keine wesentlichen Schwankungen erkennen lassen. Die gas-chromatographisch ermittelte Fettsäuren-Zusammensetzung ist nach diesen Forschern gut geeignet, um den Eigehalt in Teigwaren zu berechnen.

*Franciosi* und *Giovannini* (7) haben ebenfalls die Lipoide aus Grieß, Eiern und Teigwaren gas-chromatographisch untersucht. Sie geben aber keine Zahlenwerte für die einzelnen Fettsäuren an, sondern nur Verhältniszahlen, beispielsweise P/O, L/O, L/P und zeigen, daß zwischen Wasserware und Eierteigware beträchtliche Unterschiede bestehen. Ob mit Hilfe derartiger Verhältniszahlen eine einigermaßen zuverlässige Berechnung des Eigehaltes möglich ist, scheint uns allerdings recht fraglich. In einer handelsüblichen Eierteigware, die mit 150 g Eierinhalt pro kg Grieß hergestellt wurde, sind ca. 1,9 % Eier-Lipoide enthalten. Die Getreide-Lipoide betragen je nach Grießqualität und Ausmahlungsgrad 1,4 bis 2,3 %. Durch diese großen Schwankungen des Anteils an Getreide-Lipoiden ergeben sich für das Lipoid-Gemisch der Teigwaren zwangsläufig große Unterschiede in der Fettsäuren-Verteilung und obiger Verhältniszahlen.