'n Metodologie vir en die bepaling van gevaarlike TCDD-kontaminante in Suid-Afrikaanse onkruidodders

J.E. Oliver

Pesticide Degradation Lab., USDA, Beltsville Md 20705 USA

A.J. Reinecke

Departement Dierkunde, Potchefstroomse Universiteit vir C.H.O.

J.M. Venter

Instituut vir Dierkundige Navorsing, Potchefstroomse Universiteit vir C.H.O.

UITTREKSEL

'N Toepaslike, vereenvoudigde metodologie is onder leiding van die eerste outeur ontwikkel wat ons in staat gestel het om verskillende 2,4,5-T-herbisiede te analiseer vir die toksiese kontaminant 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioksien (TCDD). Die kontaminant se konsentrasies is bepaal as tussen drie en ses en vyftig nanogram per gram (ng g^{-1}), d.i. 3-56 dpb (dele per biljoen).

ABSTRACT

A methodology for and the determination of TCDD in Herbicides

An appropriate methodology was developed under the direction of the senior author which allowed us to analyze various 2,4,5-T herbicides for the toxic contaminant 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD). The contaminant was detected at levels of three to fifty-six nanograms per gram (ng g^{-1}), i.e. 3-56 ppb (parts per billion).

1. INLEIDING

Die omstrede verbinding TCDD of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioksien word as uiters toksies beskou. Daarbenewens het verskeie navorsers reeds karsinogeniese, mutageniese en teratogeniese eienskappe daaraan toegeskryf (Higgenbotham *et al*²; Poland *et al*¹¹). Hierdie toksiese verbinding word gewoonlik gevorm in klein hoeveelhede tydens die vervaardiging van 2,4,5-trichlorofenol vanuit 1,2,4,5-tetrachlorobenseen. Gevolglik is dioksien (TCDD) reeds dikwels in verband gebring met kommersiële produkte wat uit 2,4,5-trichlorofenol vervaardig is. Dit geld in besonder vir die onkruidodders 2,4,5-trichlorofenoksiasynsuur (2,4,5,-T) en 2-(2,4,5-trichlorofenoksi-) propioonsuur (Silvex).

Weens die intense belangstelling in die toksikologiese eienskappe van TCDD en die wyses waarop dit in die natuur reageer, is hoogs gespesialiseerde analitiese tegnieke reeds daarvoor ontwikkel. In die besonder word van kapillêre kolomgaschromatografie, gekoppel met hoë of lae resolusie-, (positiewe of negatiewe ioon-) massaspektrometrie gebruik gemaak. Dit en ander sofistikasie het hoë sensitiviteit, spesifisiteit en betroubaarheid tot gevolg gehad. Ten spyte hiervan is die debat oor die gevare van omgewingsvergiftiging deur TCDD met sy gepaardgaande biologiese risiko's steeds aan die gang (Henig¹; James⁴; Pemberton⁹; Ott *et al*⁸; Kjellstrom⁵).

Suid-Afrika voer reeds verskeie jare gechloreerde fenoksiherbisiede uit verskillende lande in vir gebruik teen onkruid soos *Opuntia aurantiaca* (litjieskak-tus). Die doel van die huidige projek was om, met die hoogste moontlike doeltreffendheid en op die mees

ekonomiese wyse, 2,4,5-T-bevattende onkruidodders wat in Suid-Afrika gebruik word, analities vir TCDD-kontaminasie te evalueer. Biologiese evaluering van die 2,4,5-T-formulasies en TCDD is afsonderlik m.b.v. grondorganismes uitgevoer.

Ses kommersiële 2,4,5-T-bevattende onkruidodders waarvan die handelsnaam aan die ondersoekers onbekend was, is deur die Departement van Landbou vir analise verskaf.

Hierdie verslag verskaf ook die metodologie wat ontwikkel is om die nodige analises gaschromatografies met 'n eenvoudige elektronvangsdetektor met gepakte kolom uit te voer. Besondere klem is gelê op die isolasie en skoonmaakprosedures wat die TCDD-analise voorafgegaan het. Hierdie prosedures is normaalweg tydrowend en relatief duur om uit te voer. Ons benadering was om prosedures te ontwikkel wat die hoë chemiese stabiliteit van TCDD (veral stabiliteit teen gekonsentreerde swawelsuur) en die buitengewoon hoë affiniteit van TCDD vir geaktiveerde koolstof ten volle benut. Hierdeur kon 'n eenvoudige prosedure daargestel word wat bruikbaar mag wees in ander laboratoria's wat TCDD-analise wil onderneem, maar wat nie oor die gesofistikeerde instrumentasie beskik nie.

2. METODES EN TEGNIEKE

2.1 Algemeen

Gaschromatografiese analise is uitgevoer m.b.v. 'n Carlo Erba Strumentazione reeks 2150-gaschromatograaf wat met 'n ⁶³Ni elektronvangsdetektor toegerus is. Glaskolomme met die volgende dimensies is gebruik: Kolom 1: lengte 1,5 m, deursnee 4 mm

gepak net 3% OV-17 op 80/100 Chromasorb WAW-DMCS (Alltech Associates); Kolom 2: 2 m lengte, 4 mm deursnee gepak met 1,5% SP-2250 plus 1,95% SP 2401 op 100/120 Supelcoport (Supelco Inc.); Kolom 3: Soos kolom 2, maar met 'n lengte van 2,5 m en 'n deursnee van 4 mm. Kolomme 1 en 2 is normaalweg by 'n temperatuur van 240°C gebruik met stikstof as draergas ten 'n vloeitempo van 60 ml min⁻¹. Kolom 3 is gebruik by 254°C met 'n draergasvloeï (N₂) van 45-60 ml min⁻¹. Smaller TCDD-pieke en beter resolusie is meestal verkry m.b.v. kolomme 2 en 3. Die waardes wat in tabel 1 weergegee word, is met behulp van kolom 3 verkry. Figuur 1 illustreer 'n chromatogram wat vir TCDD met hierdie kolom verkry is.

Verskeie oplosmiddels is gebruik. In glas gedistilleerde kommersiële dichlorometaan vir residu-analise is gebruik. Heksaan, benseen, toluen, absolute etanol, 2,2,4-trimetielpentane en aseton is as reagensgraadoplosmiddels versigtig gefraksioneer deur 'n Vigreux-kolom van 40 cm in 'n opstelling wat slegs uit glas en teflon bestaan het.

'n Kommersiële monster van ¹⁴C-TCDD (New England Nuclear, V.S.A. 107 m Ci mmol⁻¹), is gebruik om opbrengste van TCDD te monitor m.b.v. 'n Packard-vloeistofsintillasiesteller (nadat TCDD-bevattende monsters met die ¹⁴C-gemerkte verbinding gewysig is). Die gemerkte TCDD is terselfdertyd as interne gaschromatografiese standaard gebruik.

Verskillende soorte chromatografiese materiaal is gebruik. Alumina is geaktiveer deur dit oornag by 300°C te verhit. Gekonsentreerde swawelsuur (40%) asook 33%-1M-natriumhidroksied is op silikagel voorberei, soos beskryf deur Lamparski *et al*⁶ en Lamparski & Nestrick⁷, met dié verskil dat die voorafgaande skoonmaakprosedure met stikstof en dichlorometaan uitgeskakel is. In plaas daarvan is alle klomme vooraf met dichlorometaan, gevolg deur hekasaan, gewas. Op 'n soortgelyke wyse is 33%-1M-kalsiumdichromaas/asynsuur op silikagel berei: 33% silikagel is behandel in klein hoeveelhede met 17 ml 1M K₂Cr₂O₇ (wat teen 'n verhoogde temperatuur gehou is om vloeibaarheid te verseker), gevolg deur 2 ml ysasynsuur.

Geaktiveerde koolstof (Pittsburgh Activated Carbon, P.A., V.S.A.) wat as granulêre materiaal vir watersuiwering bemark word, is gesif om partikels kleiner as 375µm te verwyder. Daarna is dit oornag aan 'n soxhletekstraksie met aseton onderwerp, gevolg deur ekstraksie met toluen (72 uur) en laastens met benseen (72 uur) voordat dit gebruik is.

2.2 Herbisiedformulasies - ekstraksie en skoonmaak vir TCDD

'n Kolom met geaktiveerde koolstof is voorberei deur stadig 1,5 g granulêre koolstof in 'n klein buret te voeg wat vooraf van 'n glaswolprop voorsien en met dichlorometaan gevul is. Die koolstof is eers met dichlorometaan en daarna met aseton gespoel. 'n Geweegde monster (ongeveer 5,0 g) van die onkruidododerformulasie is met 'n gelyke volume aseton verdun. Die resulterende oplossing is vervolgens, na

amendering met 68 ng (ongeveer 50 000 dpm) ¹⁴C-TCDD, indien verlang, deur die kolom gestuur teen ongeveer 4 tot 5 ml min⁻¹. Hierna is verdere hoeveelhede aseton (20ml in totaal) gebruik om te verseker dat volledige oordrag plaasvind en om die res van die herbisied vanaf die kolom te elueer. Hierna is die kolom met 10 ml dichlorometaan gespoel, gevolg deur 5 ml benseen. Lugblase wat in die koolstofkolom ontstaan het, veral wanneer daar van oplosmiddel verander is, is deur die insteek van 'n dun draadje in die boonste tweederdes van die kolom vrygelaat. Die onderste gedeelte van die kolom is onverstoord gelaat.

Lug is deur die kolom gesuig om dit uit te droog, waarna soxhletekstraksie oornag met etanol toegepas is. Of hierdie ekstraksie enige stowwe verwyder het wat TCDD-analise spesifiek belemmer het, is nie vasgestel nie. Tussen 34 en 112 mg residu het oorgebly na afloop van konsentring van die etanolekstrak, terwyl nie meer as 0,5% van die teoretiese ¹⁴C-TCDD deur hierdie stap vanaf die koolstof verwyder is nie. Die etanol is hierna vervang na verdere droging van die koolstof met benseen. Na verloop van 72 uur van soxhletekstraksie met benseen (sowat 6 siklusse per uur) is die koolstof verwyder en die benseenekstrak deur droging in 'n roterende indampingsfles (rotary evaporator) gekonsentreer.

'n Geslaagde kolom van chemies gemodifiseerde silikajelle is in 'n gegradeerde 5 ml-buret voorberei. Van onder na bo het dit bestaan uit 'n prop van glaswol bedek met 'n lagie gewasde sand, onbehandelde silikajel (0,5 ml), 33% 1M NaOH op silikajel (0,5 ml), 33% 1M K₂Cr₂O₇/HOAc op silikajel (0,5 ml), onbehandelde silikajel (0,5ml), en 40% gekonsentreerde H₂SO₄ op silikajel (1,5 ml). Dichlorometaan (5 ml), gevolg deur hekasaan (5 ml), is stadig deur die kolom geforseer d.m.v. 'n pipet-suigbal of 'n aangehegte spuit. Hiermee is vyf opeenvolgende hoeveelhede van 2,5 ml hekasaan gebruik om die fles te spoel om hekasaanoplosbare residu vanaf die koolstofekstraksie oor te dra na en deur die kolom. Die eerste twee toevoegings is toegelaat om stadig deur te vloei, terwyl die laaste paar met behulp van 'n spuit versigtig deurgeforseer is.

Die eluaat is gekonsentreer todat dit droog is en 'n totale volume van 5,0 ml hekasaan is gebruik om die residu oor te dra na 'n klein aluminakolom (2,0 g alumina bedek met 1 g anhidriese natriumsulfaat). Drie fraksies is versamel, nl. hekasaan (5 ml), 2%-dichlorometaan in hekasaan (5 ml) en 10%-dichlorometaan in hekasaan (7,5 ml). Tien persent van elke fraksie is onttrek vir sintillasiestelling, terwyl die oorblywende 90% ingedamp is m.b.v. 'n stikstofstroom of agter in die dampkas gelaat is todat dit droog was. In bykans alle gevalle het die herwonne radioaktiwiteit in die derde fraksie voorgekom.

2.3. Analitiese prosedure

By fraksie 3 vanaf die aluminakolom is 500 µl toluen gevoeg en monsters van 1 tot 7,5 µl in die gaschromatograaf ingespuut by 'n attenuasie wat met 0,5 ng TCDD's piekgrootte van ongeveer halfskaal-

hoogte sal oplewer. Sorg is aan die dag gelê dat alle metings verkry is vanaf reproduceerbare chromatogramme wat binne die lineêre omvang van die detektor geval het. Alle vergelykings tussen standaard en onbekendes is op dieselfde dag uitgevoer om moontlike veranderinge in sensitiviteit van die detektor so ver moontlik in aanmerking te neem.

FIGUUR 1: Gaschromatogram van 2,3,7,8-TCDD in 'n 2,4,5-T onkruidodderformulasie (A4305) wat met behulp van 'n ^{63}Ni elektronvangsdetektor verkry is. Die opbrengs was 88% en 'n konsentrasie van 20 ng g^{-1} TCDD is verkry.

Identifikasie van die TCDD-piek in die gaschromatogramme is ondersteun deur piekversterking op twee kolomme. Die konsentrasies van TCDD in onbekende monsters geamendeer met ^{14}C -TCDD, is bepaal deur die meting van die hoeveelheid van 'n standaard TCDD-oplossing wat nodig was om 'n piek te produseer van gelyke hoogte as dié wat vanuit die herbisiedmonster verkry is. Nadat die totale TCDD (in ng) op dié wyse bepaal is, is die herwinning van die ^{14}C -TCDD gebruik om die hoeveelheid TCDD te bereken wat oorspronklik in die monster teenwoordig was. 'n Korreksie is aangebring vir die verwydering van die monster vir sintillasiestelling. Na aftrekking van die 68 ng wat met die ^{14}C -TCDD toegevoeg is, is die hoeveelheid TCDD verkry wat oorspronklik in die 5 g herbisied teenwoordig was. Dit is uitgedruk in terme van ng g^{-1} of dele per biljoen (dpb).

Parallelverlopende ekstraksies en analises is vir alle produkte wat met ^{14}C -TCDD geamendeer is, uitgevoer. In alle gevalle is die pieke wat as dié behorende tot TCDD aangemerkt is, op die chromatogramme verkry en is bevredigende kwalitatiewe ooreenstemming tussen chromatogramme vir geamendeerde en nie-geamendeerde monsters verkry.

3. RESULTATE EN BESPREKING VAN DIE METODOLOGIE

Die herwinning van die toegevoegde ^{14}C -TCDD deur die hele reeks skoonmaakprosedures het gewissel tussen 43 en 98%. (Die nodige korreksies vir verliese is aangebring sodat absolute herwinnings van minder belang was.)

Die TCDD-konsentrasies in die ses herbisiedformulasies wat deur die Suid-Afrikaanse Departement van Landbou verskaf is, het gewissel tussen 3 en 56 ng g^{-1} of dele per biljoen. Die resultate word in tabel 1 weergegee. Hierbenewens is die TCDD-inhoud van twee bykomende monsters (waarvan die TCDD-inhoud reeds voorheen vasgestel is), bepaal, nl. vir 'n 2,4,5-T-tegniese suur en 'n "Agent Orange"-produkt, beide goedgunstiglik verskaf deur dr. Ron Thomas van die V.S.A. se Environmental Protection Agency in Beltsville, Maryland.

TABEL 1
Die konsentrasie van TCDD in agt verskillende onkruidodders.

Monsternr.	TCDD-konsentrasie(ng g^{-1})		% Herwinning gebaseer op toegevoegde ^{14}C -TCDD
	Tans bepaal	Voorheen gepubliseer	
A4305	20;22	—	88;71
A4306	11	—	98
A4307	4	—	57
A4308	28	—	48
A4906	56;51	—	70;/8
A4907	3;1	—	31 ^a ;43
Tegniese suur	5400	2300	71
Agent Orange	600	320	96

a. Lae herwinning a.g.v. verlies weens gebreekte pipet.

Die waardes wat tydens die huidige ondersoek verkry is (tabel 1) vir hierdie bykomende monsters, is 'n faktor twee hoër as dié wat in die literatuur vermeld word. (Hierdie ouer produkte het natuurlik heelwat hoër TCDD-konsentrasies bevat as die wat tans vervaardig word.) Die metodologie vir die vroeëre analyses is onbekend. Die waardes wat in ons verslag weergegee word, is vir verliese tydens skoonmaakprosedures gekorrigeer en indien vroeëre waardes vir hierdie twee produkte nie sodanig gekorrigeer is nie, is die resultate meer in ooreenstemming met mekaar.

Die waardes in Tabel 1 is die resultate van die laaste van 'n reeks opeenvolgende ekstraksies en analyses en verteenwoordig die waardes wat na die oordeel van die outeurs die mees akkurate is. Ander resultate wat verkry is tydens die ontwikkeling en verfyning van die finale metodologie, sluit die volgende in: Vir monster A4305: 47; 54; 56; 57; 67 ng g⁻¹. Vir monster A4307: 1; 5; 5; 8 ng g⁻¹. Vir monster A4308: 21; 25; 38; 41 ng g⁻¹. Vir monster A4906: 37; 41; 51; 57; 64; 71 ng g⁻¹.

Die waardes wat tydens hierdie eksperimentele analyses verkry is, kan in sommige gevalle ietwat hoog wees omdat daar in die geval van sommige eksperimente van 'n geaktiveerde koolstof gebruik gemaak is wat, soos later geblyk het, 'n materiaal vrygestel het wat saam met die TCDD van die gaschromatograaf af geëlueer het.

Alvorens TCDD-konsentrasies in 2,4,5-trichlorofenoksie-asynsuur gaschromatografies bepaal kon word, was dit nodig om nanogramhoeveelhede van die TCDD te skei van gramhoeveelhede van die herbisied. In die algemeen skep dit nie veel probleme nie omdat TCDD 'n besonder stabiele verbinding is, terwyl die herbisied relatief maklik gemodifiseer kan word deur behandeling met alkalieë of gekonsentreerde swawelsuur. Dikwels sal een van hierdie behandelings in samehang met 'n eenvoudige ekstraksie in 'n oplosmiddel die gevraagde skeiding tot gevolg hê.

Die herbisiede wat in die huidige ondersoek gebruik is, is as geëmulgiseerde konsentrate geformuleer en almal behalwe een het blykbaar 'n petroleumbasis bevat. Dit het die analise aansienlik bemoeilik aangesien nanogramhoeveelhede van TCDD nou van gramhoeveelhede van koolwaterstowwe en ander verbindings geskei moes word. Sommige van hierdie onbekende stowwe het chemiese en chromatografiese eienskappe geopenbaar wat baie met die van TCDD ooreengestem het.

Die gebruik van geaktiveerde koolstof is gebaseer op die bevindinge van Poiger & Schlatter¹⁰, Smith¹² en Huckin *et al.*³. Hulle het gewys op die affiniteit van geaktiveerde koolstof met TCDD. Die laasgenoemde twee outeurs het 'n bepaalde koolstofproduk gebruik en die verpoeierde koolstof of op poli-uretaan of op veselglas gesuspender vir chromatografiese gebruik. Huckens *et al.*³, wat uitgebreide werk gedoen het oor die gebruik van geaktiveerde koolstof vir TCDD-analise, wys spesifiek op die probleme om TCDD vanaf granulêre koolstof te verwyder, terwyl eluering

van die gesuspenderde koolstofpoeier met tolueen voldoende was om die TCDD te verwyder.

In die huidige ondersoek is 'n suspensie van verpoeierde, geaktiveerde koolstof op poli-uretaanskuim gebruik, soos beskryf, met dié verskil dat 'n plaaslik beskikbare koolstofproduk gebruik is. Die voorbereide materiaal het TCDD baie doeltreffend geabsorbeer op klein chromatografiese kolomme, maar ons het nie daarin geslaag om bevredigende hoeveelhede TCDD met gerieflike volumes tolueen te elueer nie. Dit het gelei tot ons bevinding dat 'n granulêre koolstof wat vir watersuiwering gebruik word, ook TCDD doeltreffend uit oplossings kan verwyder. Maar ook in hierdie geval kon volledige evaluering met gerieflike hoeveelhede tolueen (of ander oplossings, insluitende gekonsentreerde swawelsuur, piridien of oplossings van naftaleen in benseen) nie verkry word nie. Omgekeerde eluering het slegs beperkte waarde gehad.

Soxhletekstraksie van die koolstof met tolueen het tot herwinning van TCDD gelei. Groot hoeveelhede is binne 18-24 uur herwin, maar 48 uur was nodig om volledige herwinning te verseker. Hierdie relatief lang tydsverloop het meegebring dat die tolueen stadig geëksideer is. Dampe van bensaldehid, sowel as 'n wit neerslag, waaronder moontlik bensoësuur, het voorgekom toe die ekstrakte gekonsentreer is. Verwydering van hierdie stowwe in opeenvolgende stappe het nie besondere probleme opgelewer nie, maar dit is nogtans vermy deur eerder van benseen as ekstraksie-oplossing gebruik te maak. Tot 72 uur was egter nodig om al die TCDD deur soxhletekstraksie met benseen van die koolstof af te kry.

Die aanvanklike stap in ons prosedure om TCDD te isoleer, het dus geskied deur die deurstuur van 'n asetonoplossing van die herbisied (met of sonder toegevoegde ¹⁴C-TCDD) deur 'n klein kolom met granulêre koolstof. Hierna is die koolstof met geselekteerde oplosmiddels gespoel, waarna soxhletekstraksie met etanol oornag plaasgevind het. Hierna is dit finaal vir 72 uur aan soxhletekstraksie met benseen onderwerp.

Konsentrasie van die benseenekstrak het gewoonlik sigbare, soms geelkleurige, residue opgelewer wat in heksaan opgelos is. (Heksaanoplosbare stowwe is nie verder gebruik nie.) Op dié tydstip is van die hoë stabiliteit van TCDD teen swawelsuur en ander oplosmiddels gebruik gemaak. Die heksaanoplossings is deur 'n reeks chemies gemodifiseerde silikajelle gestuur, insluitende silikajel wat geïmpregneer is met 1N natriumhidroksied en met gekonsentreerde swawelsuur (soos beskryf deur Lamparski *et al.*^{6,7}), sowel as met kaliumdichromaat/asynsuur. Met hierdie stap is gekleurde stowwe verwyder, maar die herbisiedformulasie het waarskynlik soveel chemies inerte stowwe bevat dat die monsters nog nie skoon genoeg was vir gaschromatografiese analise nie. Hierna is 'n chromatografiese skeiding op 'n klein aluminakolom uitgevoer omdat TCDD ietwat sterker deur alumina geabsorbeer word as deur silikajel. Die TCDD-bevatende fraksie is geëlueer met 10% dichlorometaan in heksaan en was gewoonlik gereed en geskik vir chro-

matografiese analise soos hierbo beskryf.

Die metodologie wat ontwikkel is, het weliswaar steeds beperkinge m.b.t. die lang tydsverloop wat vir ekstraksies benodig word. Die doeltreffendheid was egter hoog en weens die eenvoud en relatief ekonomiese aard van die prosedure sal dit voortaan met sukses deur laboratoria's gebruik kan word wat nie oor die mees moderne toerusting beskik nie.

Uitsprake en beslissings oor 2,4,5-T -gebruik in Suid-Afrika in die lig van die lae kontaminasievlakke wat tydens die huidige studie na vore gekom het, sal steeds voorbarig wees aangesien slegs omgewings-toksikologiese navorsing meer duidelikheid kan bring.

Bedankings

Hierdie projek is moontlik gemaak deur die finansiële steun van die departemente van Landbou van die V.S.A. en die R.S.A. Die outeurs is dank verskuldig aan die W.N.N.R. wat dr. J.E. Oliver se deelname aan die projek moontlik gemaak het deur die toekenning van 'n navorsingsgenootskap. Die assistensie van mnr. H. Bouwman word met waardering vermeld.

LITERATUURVERWYSINGS

1. Henig, R.M. (1980) TCDD-a useful tool in basic biology laboratories, *Bioscience*, 30, 129-130.

2. Higgenbotham, G.R., Huang, A., Firestone, D., Verette, J., Campbell, A.D. (1968) Chemical and toxicological evaluations of isolated and synthetic chloro derivatives of dibenzo-p-dioxin, *Nature* (London), 220, 702-703.
3. Huckin, J.N., Stalling, D.L. & Smith, W.A. (1978) Foam-Charcoal Chromatography for analysis of polychlorinated dibenzo, dioxins in herbicide orange, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 42, 1174
4. James, M.W. (1979) Disposition of 2,4-D, 2,4,5-T, DDA and phenylacid in the spiny lobster (*Panulirus argus*), *Environmental Health Perspectives*, 33(6), 324.
5. Kjellstrom, T. (1980) 2,4,5-T and cancer, *New Zealand Medical Journal*. April 23, 318.
6. Lamparski, L.L., Nestruck, T.J. & Stehl, R.H. (1979) Determination of part-per-trillion concentrations of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in fish, *Anal. Chem.*, 51, 1453-1458.
7. Lamparski, L.L. & Nestruck, T.J. (1980) A comprehensive procedure for the isomer-specific determination of tetra-, hexa-, hepta-, and octa-chlorodibenzo-p-dioxin at part per trillion concentrations: particulate samples, *Anal. Chem.*, 52, 2045.
8. Ott, M.G., Holder, B.B. & Olson, R.D. (1980) A mortality analysis of employees engaged in the manufacture of 2,4,5-Trichlorophenoxy acetic acid, *J. Occupational Medicine*, 22(1): 47-50.
9. Pemberton, J.M. (1980) 2,4-D and 2,4,5-T: Reasons for comfort and concern, *Journal Australian Institute of Agriculture*. 45(3): 165-168.
10. Poiger, H. & Schlatter, Ch. (1980) Influence of solvents and absorbents on dermal and intestinal absorption of TCDD, *Food and Cosmet. Toxicol.* 18, 477.
11. Poland, A.P., Smith, D., Metter, G. and Possick, P. (1971) A health survey of workers in a 2,4-D and 2,4,5-T plant with special attention to chloracne, porphyria cutanea tarda and psychologic parameters, *Arch. Environ. Health*. 22, 316-327.
12. Smith, L.W. (1981) Carbon dispersed in glass fibers as an absorbent for contaminant enrichment and fractionation, *Anal. Chem.*, 53,2152.