

CHROM. 4255

## DÜNNSCICHTCHROMATOGRAPHISCH-ENZYMATISCHER NACHWEIS UND ZUM WIRKUNGSMECHANISMUS VON CHLORKOHLLENWASSERSTOFF-INSEKTIZIDEN

F. GEIKE

*Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Institut für Pflanzenschutzmittelforschung,  
D 1000 Berlin 33 (B.R.D.)*

(Eingegangen am 25. Juni 1969)

---

### SUMMARY

*Thin-layer chromatographic-enzymatic identification and the mode of action of chlorinated hydrocarbon insecticides*

1. It is shown that chlorinated hydrocarbons influence the activity of bovine liver esterase.
2. Most of the compounds inhibit the enzyme, but DDT, DDD, DDE, Perthane, and methoxychlor activate it.
3. After UV-irradiation on thin-layer plates all compounds show strong inhibition activity against bovine liver esterase.
4. Almost all of the chlorinated hydrocarbons studied are decomposed by UV-irradiation as was shown by their  $R_F$ -values obtained from thin-layer chromatography on Silica Gel G. Although DDT inhibits bovine liver esterase after UV-irradiation its insecticidal activity is lost, and it is supposed that this effect is due to inability of the new compound to penetrate the insect.

---

### EINLEITUNG

Chlorierte Kohlenwasserstoffe sind schon relativ lange als Insektizide bekannt. Wenn sie auch heute immer mehr von den weniger persistenten Organophosphaten und Carbamaten verdrängt werden, haben sie ihre Stellung dennoch auf einer Reihe von Anwendungsgebieten behaupten können.

Über ihren Wirkungsmechanismus liegen trotz jahrzehntelanger Forschung nur recht spärliche Informationen vor, während es, hervorgerufen durch das grosse Interesse der Öffentlichkeit an der Detoxifizierung dieser äusserst persistenten Insektizide, über den Abbau im allgemeinen und den Stoffwechsel im besonderen zahlreiche Publikationen gibt.

Man weiss mit ziemlicher Sicherheit, dass diese Substanzen primär auf das Nervensystem einwirken, wobei das DDT in dieser Beziehung am besten untersucht ist. Ältere Arbeiten<sup>1,2</sup> nahmen an, dass eher die motorischen als die sensorischen Nerven die Angriffspunkte darstellen, doch konnte inzwischen das Gegenteil bewiesen werden.

Hohe DDT-Konzentrationen von 1000 p.p.m. zeigten zwar bei amerikanischen Schaben eine Wirkung auf motorische Nerven und Muskelfasern, niedrige von 0.01 p.p.m. hingegen wirkten weder auf die genannten Gewebe noch auf das Zentralnervensystem, hatten andererseits aber einen starken Effekt auf die sensorischen Nerven<sup>3,4</sup>. In welcher Weise DDT jedoch am sensorischen Nerven eingreift, ist noch völlig ungeklärt. Zwar konnte gezeigt werden, dass es die K<sup>+</sup>-Permeabilität des Nervengewebes erhöht<sup>5</sup> und mit Bestandteilen der Nervenmembranen Komplexe bildet<sup>5,6</sup>, doch wird damit noch nichts über den eigentlichen Wirkungsmechanismus ausgesagt.

Noch weniger ist über den Wirkungsmechanismus der anderen Chlorkohlenwasserstoffe bekannt. Lediglich für Lindan wurden Veränderungen der Zellstruktur im Blut, im Fettkörpergewebe, in der Nervensubstanz und den Zellen fast aller Organe nachgewiesen<sup>7,8</sup>.

TABELLE I

NAME UND STRUKTUR DER UNTERSUCHTEN CHLORKOHLENWASSERSTOFFE

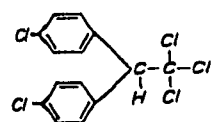
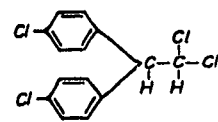
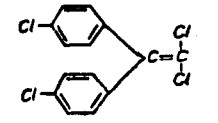
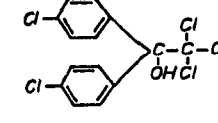
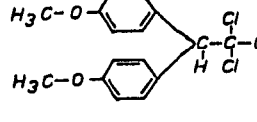
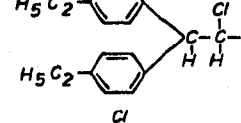
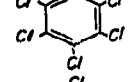
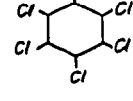
<i>Trivial-Name</i>	<i>Chemische Bezeichnung</i>	<i>Strukturformel</i>
DDT	2,2-Bis-( <i>p</i> -chlorphenyl)-1,1,1-trichloräthan	
DDD (= TDE)	2,2-Bis-( <i>p</i> -chlorphenyl)-1,1-dichloräthan	
DDE (DDT-Olefin)	2,2-Bis-( <i>p</i> -chlorphenyl)-1,1-dichloräthylen	
Dicofol (Kelthan)	1,1-Bis-( <i>p</i> -chlorphenyl)-2,2,2-trichloräthanol	
Methoxychlor	2,2-Bis-( <i>p</i> -methoxyphenyl)-1,1,1-trichloräthan	
Perthan	2,2-Bis-( <i>p</i> -äthylphenyl)-1,1,1-dichloräthan	
Hexachlorbenzol	1,2,3,4,5,6-Hexachlorbenzol	
Lindan	γ-1,2,3,4,5,6-Hexachlorcyclohexan	

TABELLE I (Vortsetzung)

Isodrin	1,2,3,4,10,10-Hexachlor-1,4,4a,5,8,8a-hexahydro-1,4-endo-5,8-endo-dimethannaphthalin	
Endrin	1,2,3,4,10,10-Hexachlor-6,7-epoxy-1,4,4a,5,6,7,8,8a-octahydro-1,4-endo-5,8-endo-dimethannaphthalin	
Aldrin	1,2,3,4,10,10-Hexachlor-1,4,4a,5,8,8a-hexahydro-1,4-endo-5,8-exo-dimethannaphthalin	
Dieldrin	1,2,3,4,10,10-Hexachlor-6,7-epoxy-1,4,4a,5,6,7,8,8a-octahydro-1,4-endo-5,8-exo-dimethannaphthalin	
Heptachlor	1,4,5,6,7,8,8-Heptachlor-3a,4,7,7a-tetrahydro-4,7-endo-methylen-inden	
Heptachlor-Epoxid	1,4,5,6,7,8,8-Heptachlor-2,3-epoxy-2,3,3a,4,7,7a-hexahydro-4,7-endo-methylen-inden	
Chlordan	1,2,4,5,6,7,8,8-Octachlor-2,3,3a,4,7,7a-hexahydro-4,7-endo-methylen-inden	
Isobenzan (Telodrin)	1,3,4,5,6,7,8,8-Octachlor-1,3,3a,4,7,7a-hexahydro-4,7-methanisobenzofuran	
Endosulfan (Thiodan)	6,7,8,9,10,10-Hexachlor-1,5,5a,6,9,9a-hexahydro-6,9-methan-2,4,3-benzoedioxathiepin-3-oxid	
Toxaphen	chloriertes Camphen	

Über die Wirkung der chlorierten Kohlenwasserstoffe auf Enzyme liegen bisher nur spärliche Untersuchungen vor. DDT soll in den Aminosäurestoffwechsel eingreifen, den Wasserhaushalt stören sowie Atmungsfermente und den Wasserstofftransfer blockieren<sup>9</sup>. Unter anderem kommt es *in vitro* zu einer Hemmung der Succinat-Dehydrogenase und Cytochromoxidase<sup>9</sup>.

Während die insektiziden Organophosphate und Carbamate durch ihre Hemmung der Cholinesterase einen Hinweis auf ihren Wirkungsmechanismus geben, der mit den beobachteten Vergiftungssymptomen übereinstimmt und diese Hemmeigenschaft in der Analytik dieser Verbindungen eine grosse Bedeutung gewinnt, sprechen alle bisher verfügbaren Daten gegen eine Hemmung der Cholinesterase durch chlorierte Kohlenwasserstoffe<sup>9,10</sup>. Bei Modellversuchen zum Nachweis esterasehemmender

Insektizide mit Benzhydroxamsäure konnte EBING<sup>11</sup> jedoch zeigen, dass auch eine Reihe von Chlorkohlenwasserstoffen mit dieser Modells substanz wie Esterasehemmer reagieren und auf diese Weise nachzuweisen sind. Es soll hier über erste Untersuchungen zur Wirkung von Chlorkohlenwasserstoff-Insektiziden auf Rinderleber-Esterase auf dünn schicht chromatographischer Basis berichtet werden.

## MATERIAL UND METHODEN

### *Reagenzien*

Kieselgel G nach Stahl mit ca. 13% CaSO<sub>4</sub>—mittlere Korngrösse 10–40  $\mu$  (Merck, Darmstadt); Methylenchlorid p.A.; Cyclohexan p.A.

### *Enzym- und Substratlösung*

Die Enzympräparation erfolgte in Anlehnung an ACKERMANN<sup>12</sup>, doch wurde in einem Bühler-Homogenisator mit 0.02 M Phosphatpuffer pH 7.0 statt des Wassers 2 min bei Höchstgeschwindigkeit homogenisiert und 10 min bei 10 000  $\times g$  zentrifugiert. Zur Verdünnung des Rohextraktes wurde der gleiche Puffer genommen. Als Substrat diente eine kurz vor dem Besprühen angesetzte Mischung aus einer äthanolischen  $\beta$ -Naphthylacetat-Lösung und einer wässrigen Echtblausalz B-Lösung in den von ACKERMANN<sup>12</sup> angegebenen Konzentrationen.

### *Dünn schicht chromatographie und Insektizidlösungen*

Die untersuchten Wirkstoffe in analytischer Standardqualität (Tabelle I) wurden als 0.1%ige Lösung in Methylenchlorid angesetzt und auf handgegossene Kieselgel G-Platten (5.7 g Kieselgel G werden in 15 ml Wasser suspendiert, auf eine gut gereinigte Glasplatte im Format 20  $\times$  20 cm aufgebracht und über Nacht bei Zimmertemperatur getrocknet) aufgetragen und in Cyclohexan entwickelt.

### *Durchführung des enzymatischen Hemmtestes*

Die Platten werden nach dem Entwickeln entweder sofort oder nach halbstündiger Bestrahlung mit ungefiltertem UV-Licht einer Hg-Analysen-Quarzlampe (Hanau) mit einem Abstand Strahler-Platte von 30 cm mit Enzymlösung besprüht und in der von ACKERMANN<sup>12</sup> beschriebenen Weise weiterbehandelt. Die Beurteilung erfolgt im Falle der Aktivierung kurz nach dem Besprühen mit Substrat, im Falle der Hemmung zu einem späteren Zeitpunkt. Die Platten sind anfangs vor übermässiger direkter Lichteinstrahlung zu schützen.

### *Biotest zur Wirkung von unbehandeltem und UV-bestrahltem DDT*

Die Versuche wurden in Glaszylindern (7.5  $\times$  11.5 cm) durchgeführt, auf deren Innenoberfläche der Wirkstoff aus einer Acetonlösung gleichmässig verteilt wurde. Die eine Hälfte der Ansätze blieb unbehandelt, die andere Hälfte wurde 30 min mit ungefiltertem UV-Licht bestrahlt, wobei das UV-Licht von oben in die Zylinder eingestrahlt wurde. Pro Testansatz wurden 50 Drosophila genommen.

## ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Unter den hier angewandten Bedingungen reagieren, wie aus Tabelle II her-

TABELLE II

UNTERE NACHWEISGRENZEN DER CHLORKOHLLENWASSERSTOFFE MIT UND OHNE UV-BESTRAHLUNG INFOLGE HEMMUNG BZW. AKTIVIERUNG VON RINDERLEBER-ESTERASE

Nachweisgrenze in  $\mu\text{g}$ ; a = Aktivierung; s = Fahnensbildung.

Substanz	Ohne UV- Bestrahlung	Mit UV- Bestrahlung	Substanz	Ohne UV- Bestrahlung	Mit UV- Bestrahlung
DDT	5 a	1	Isodrin	50	0.25
DDD	5 a	1	Endrin	1	0.3
DDE	6 a	1	Aldrin	10	0.25
Dicofol	1	1	Dieldrin	1	1
Methoxychlor	5 a	1	Heptachlor	1	0.25
Perthan	2 a	1	Heptachlorepoxyd	1 s	0.3 s
Hexachlorbenzol	—	1	Chlordan	5 s	1 s
Lindan	1	0.25	Isobenzan	5	0.25
Toxaphen	1 s	1 s	Endosulfan	2	0.3

vorgeht, grundsätzlich alle untersuchten Chlorkohlenwasserstoffe ausser Hexachlorbenzol mit Rinderleberesterase. Diese Ergebnisse stehen im Gegensatz zu der bisher vertretenen Ansicht (vergl. Lit. 9, 10 und 13), dass chlorierte Kohlenwasserstoffe keinen Einfluss auf die Cholinesterase haben. Die Chlorkohlenwasserstoffe DDT, DDD, DDE, Perthan und Methoxychlor aus der DDT-Gruppe zeigen im Gegensatz zu den anderen chlorierten Kohlenwasserstoff-Insektiziden die Eigentümlichkeit, die Leberesterase zu aktivieren. Diese Aktivierung äussert sich auf der Dünnschichtplatte in der Weise, dass an den Stellen, wo sich die genannten Substanzen befinden, sehr schnell rötliche Flecken auf sich langsam färbendem hellen Untergrund auftreten. Sie verschwinden jedoch nach einiger Zeit, wenn die Substratspaltung auf der Platte weiter fortgeschritten ist. Aus diesem Grunde entgingen sie anfänglich dem Nachweis, da die Dünnschichtplatten erst nach abgeschlossener Färbung ausgewertet wurden, während später eine kontinuierliche Auswertung vorgenommen wurde. Diese Beobachtungen konnten inzwischen durch eingehendere Untersuchungen mit Humanserum-Esterase bestätigt werden<sup>14</sup>, und auch Bogusz<sup>15</sup> konnte an Arbeitern, die mit Chlorkohlenwasserstoffen in Berührung gekommen waren, ähnliche Tendenzen nachweisen, wenn uns die Daten auch nicht signifikant zu sein scheinen.

Durch Aktivierung mit UV-Bestrahlung kann der Nachweis der Chlorkohlenwasserstoff-Insektizide zum Teil erheblich gesteigert werden (Tabelle II), wobei alle untersuchten Wirkstoffe—auch die oben genannten aus der DDT-Gruppe—ausnahmslos eine Hemmung der Leberesterase bewirken. Die Nachweisgrenzen liegen dabei mit und ohne Aktivierung durch UV-Bestrahlung erheblich unter den beim chemischen Nachweis mit Benzhydroxamsäure erzielten Werten<sup>11</sup>. Aus dem Verhalten der Insektizide beim Nachweis mit Esterase und den teilweise extremen Unterschieden in der Nachweisempfindlichkeit ist anzunehmen, dass die Reaktionen mit Benzhydroxamsäure und Esterase nach völlig verschiedenen Mechanismen ablaufen. Ob es sich im Falle der Esterasebeeinflussung durch Chlorkohlenwasserstoffe um eine Reaktion der Substanzen mit dem aktiven Zentrum oder um eine Bindung an allosterische Orte handelt, ist zur Zeit nicht zu entscheiden.

Während bei Organophosphat-Insektiziden eine Aktivierung durch UV-Bestrahlung und gesättigte wässrige Bromlösung gleichermaßen gut möglich war<sup>12</sup>, führt eine Behandlung der Platten mit gesättigter wässriger Bromlösung im Falle der

chlorierten Kohlenwasserstoffe zum völligen Misserfolg, da dann nur noch wenige Verbindungen (DDT, DDE und Dicofol) nachzuweisen sind. Auch eine Verminderung der Schichtdicke führte zu einem wesentlich schlechteren Nachweis. Der Einfluss grösserer Schichtdicken wurde hingegen nicht untersucht. Eine ähnliche Abhängigkeit der Nachweisempfindlichkeit von der Schichtdicke der Platten fanden auch MENDOZA *et al.*<sup>16</sup> beim Nachweis von Organophosphaten mit Esterase.

Die zum Teil erhebliche Steigerung der Nachweisempfindlichkeit nach UV-Bestrahlung lässt auf eine Veränderung des Moleküls schliessen, die sich in einer Änderung des  $R_F$ -Wertes bemerkbar machen müsste. In Tabelle III sind die  $hR_F$ -Werte der Chlorkohlenwasserstoff-Insektizide bei UV-Bestrahlung vor und nach dem Entwickeln in Cyclohexan gegenübergestellt. Es zeigt sich, dass alle Wirkstoffe mehr oder weniger stark verändert wurden; denn alle bleiben bei vorheriger Behandlung am Start zurück, während sie bei nachfolgender Behandlung die üblichen  $R_F$ -Werte zeigen. Lediglich bei Lindan und Isobenzan findet man neben dem Abbauprodukt grosse Mengen der Ausgangssubstanz. Ob Methoxychlor, Endosulfan und Dieldrin sowie Chlordan und Heptachlorepoxyd Veränderungen erfahren haben oder nicht, ist aufgrund des  $R_F$ -Wertes in nur einem verwandten Laufmittel nicht zu entscheiden, was

TABELLE III

$hR_F$ -WERTE DER CHLORIERTEN KOHLENWASSERSTOFF-INSEKTIZIDE BEI AKTIVIERUNG DURCH UV-BESTRAHLUNG VOR UND NACH DEM ENTWICKELN IN CYCLOHEXAN

Substanz	Aktivierung		Substanz	Aktivierung	
	vor Entwicklung	nach Entwicklung		vor Entwicklung	nach Entwicklung
DDT	0	43	Isodrin	0	63
DDD	0	25	Endrin	0, 2	3,5
DDE	0	61	Aldrin	0, 2	64
Dicofol	0	3,4	Dieldrin	0	4
Methoxychlor	0	1	Heptachlor	0	55
Perthan	0	18	Heptachlorepoxyd	0	0, 6, 13,
Hexachlorbenzol	0	85			28
Lindan	0, 14	14	Chlordan	0	0, 23, 34,
Toxaphen	0, 20	0, 12, 20,			48, 62
		28, 45	Isobenzan	0, 4, 44	44
			Endosulfan	0, 4	0, 6

im Rahmen dieser Arbeit allerdings auch von untergeordneter Bedeutung ist. Für eine Reihe von Chlorkohlenwasserstoffen liegen Untersuchungen über die Wirkung von UV-Bestrahlung vor. DDT zersetzt sich beispielsweise unter HCl-Abspaltung<sup>17,18</sup>, wobei auch oxydative Vorgänge ablaufen—z.B. Bildung von 4,4'-Dichlorbenzophenon<sup>18</sup>—während Lindan beständig sein soll<sup>10</sup>, was mit den vorliegenden Ergebnissen weitgehend übereinstimmt. Aldrin wird durch UV-Bestrahlung in Dieldrin überführt, das seinerseits bei feiner Verteilung in eine unbekannte Substanz übergehen soll<sup>19</sup>. Eine andere Arbeit (Lit. 20) berichtet, dass UV-Licht unterhalb 270 nm aus Dieldrin ein an der Doppelbindung stehendes Chloratom abspaltet und die gebildete Pentachlorverbindung für Mäuse vierfach toxischer, für Fliegen hingegen halb so toxisch ist. Ähnliches gilt auch für Aldrin. Diese Ergebnisse korrelieren mit den hier berichteten sehr gut; denn die durch UV-Bestrahlung entstandenen Verbindungen sind stärkere

TABELLE IV

BEEINFLUSSUNG DER INSEKTIZIDEN WIRKUNG VON DDT DURCH UV-BESTRAHLUNG  
Auswertung nach 24 h.

Aufwandmenge	O-Kontrolle	Normal		UV	
		10 µg	20 µg	10 µg	20 µg
Zahl der toten Tiere	5	35	47	7	9
Zahl der geschäd. Tiere	—	15	3	—	—

Esterasehemmer, was sich bei Mäusen, denen die Substanz peroral appliziert wird, in einer grösseren Toxizität der Bestrahlungsprodukte bemerkbar macht, während sie bei Fliegen schlechter einzudringen scheint. Über die Wirksamkeit dieser durch UV-Bestrahlung aus den Chlorkohlenwasserstoffen entstandenen Substanzen als Esterasehemmer liegen bisher noch keine Informationen vor.

Da UV-Bestrahlung bei den meisten chlorierten Kohlenwasserstoffen zu einer signifikanten Erhöhung der Anticholinesterase-Aktivität führte (Tabelle II), lag die Vermutung nahe, dass die eigentliche Wirkung dieser Insektizide nach Ausbringung teilweise auf einer solchen Aktivierung durch UV-Bestrahlung beruht. Es wurde deshalb für DDT untersucht, welchen Einfluss eine UV-Bestrahlung auf die insektizide Wirkung hat. Die Ergebnisse sind in Tabelle IV zusammengefasst. Es zeigt sich, dass die insektizide Wirkung nach UV-Bestrahlung trotz Bildung von Verbindungen, die die Leber-Esterase *in vitro* stärker hemmen, drastisch vermindert ist. HARRISON *et al.*<sup>21</sup> finden dagegen bei der Untersuchung handelsüblicher Formulierungen einer Reihe von Chlorkohlenwasserstoffen—darunter auch DDT—für DDT und einige andere Substanzen dieser Gruppe unter Einfluss von UV-Licht (künstliche Bestrahlung und Sonnenlicht) eine sehr grosse Persistenz.

Ähnliche, wenn auch nicht so ausgeprägte Tendenzen wie beim DDT, lassen sich auch bei den anderen Chlorkohlenwasserstoffen beobachten. Orientierende Vorversuche haben ergeben, dass lediglich bei Dicofol, Dieldrin und Heptachlorepoxyd kein Unterschied zwischen behandelten und unbehandelten Ansätzen zu existieren scheint, während bei allen übrigen Chlorkohlenwasserstoff-Insektiziden durch UV-Behandlung eine Verminderung der insektiziden Aktivität einzutreten scheint. Ob die Ursache für die verminderte Aktivität der meisten Verbindungen in einer fehlenden Aufnahme dieser entstandenen Antiesterase-Substanzen in den Körper zu suchen ist, oder wir uns über den Wirkungsmechanismus völlig falsche Vorstellungen machen, muss späteren Untersuchungen mit markierten Wirkstoffen vorbehalten bleiben. Da durch die Bestrahlung aber wahrscheinlich polare Substanzen entstanden sind, dürfte wohl eher eine verminderte Aufnahme als Ursache für die verminderte insektizide Aktivität in Frage kommen.

## DANK

Mein besonderer Dank gilt Frau R. RAUBE für die sorgfältige Mitarbeit bei der Durchführung der Versuche sowie den Firmen Cela, Geigy, Marktredwitz, Merck, Rohm & Haas, Schering, Shell und Velsicol für die Überlassung der Wirkstoffe.

## ZUSAMMENFASSUNG

1. Es wird gezeigt, dass chlorierte Kohlenwasserstoffe die Aktivität der Rinderleber-Esterase beeinflussen.

2. Die meisten Verbindungen hemmen das Enzym, während DDT, DDD, DDE, Perthan und Methoxychlor es aktivieren.

3. Nach UV-Bestrahlung der Dünnschichtplatten zeigen alle Verbindungen eine starke Hemmung der Rinderleber-Esterase.

4. Fast alle untersuchten chlorierten Kohlenwasserstoffe werden, wie an Hand der  $R_f$ -Werte nach Dünnschichtchromatographie an Kieselgel G gezeigt wird, durch UV-Bestrahlung zersetzt. Obwohl DDT die Rinderleber-Esterase nach UV-Bestrahlung hemmt, verliert es seine insektizide Wirkung, und es wird angenommen, dass dieser Effekt auf der Unfähigkeit der neuen Verbindung beruht, in das Insekt einzudringen.

## LITERATUR

- 1 J. YEAGER UND S. MUNSON, *Science*, 102 (1945) 305.
- 2 D. DRESDEN, *Thesis*, Universität Utrecht, Niederlande, 1949.
- 3 K. D. ROEDER UND E. A. WEIANT, *Science*, 103 (1946) 304.
- 4 J. H. WELSH UND H. T. GORDON, *J. Cellular Comp. Physiol.*, 30 (1947) 147.
- 5 F. MATSUMURA UND R. D. O'BRIEN, *J. Agr. Food Chem.*, 14 (1966) 36.
- 6 F. MATSUMURA UND R. D. O'BRIEN, *J. Agr. Food Chem.*, 14 (1966) 39.
- 7 H. LÜDTKE UND H. HOPP, *Naturwissenschaften*, 40 (1953) 346.
- 8 K. PISTOR, *Z. Angew. Zool.*, 45 (1958) 351.
- 9 W. PERKOW, *Die Insektizide*, 2. Auflage, Alfred Hüthig Verlag, Heidelberg, 1968.
- 10 H. MAIER-BODE, *Pflanzenschutzmittel-Rückstände*, Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart, 1965.
- 11 W. EBING, *J. Chromatog.*, 42 (1969) 140.
- 12 H. ACKERMANN, *J. Chromatog.*, 36 (1968) 309.
- 13 R. D. O'BRIEN, *Insecticides—Action and Metabolism*, Academic Press, New York, 1967.
- 14 F. GEIKE, in Vorbereitung.
- 15 M. BOGUSZ, *Clin. Chim. Acta*, 19 (1968) 367.
- 16 C. E. MENDOZA, P. J. WALES, H. A. MCLEOD UND W. P. MCKINLEY, *Analyst*, 93 (1968) 34.
- 17 P. MÜLLER, *DDT, das Insektizid Dichlordiphenyltrichloräthan und seine Bedeutung*, Bd. I, 1955, Bd. II, 1959, Birkhäuser Verlag, Basel.
- 18 F. KIERMEIER, R. KERN UND G. WILDBRETT, *Z. Naturforsch.*, 17 B (1962) 794.
- 19 I. ROBURN, *Chem. Ind. (London)*, 38 (1963) 1555.
- 20 *Nachr. Chem. Techn.*, 14 (1966) 501.
- 21 R. B. HARRISON, D. C. HOLMES, I. ROBURN UND J. O. G. TATTON, *J. Sci. Food Agr.*, 18 (1967) 10.

*J. Chromatog.*, 44 (1969) 95–102