

CHROM. 4399

AUTOMATION IN DER GASCHROMATOGRAPHIE

ENTWICKLUNG EINES GERÄTS ZUR AUTOMATISCHEN
GASCHROMATOGRAPHISCHEN BESTIMMUNG VON HERBIZID- UND
INSEKTIZID-RÜCKSTÄNDEN UND -FORMULIERUNGEN

D. EBERLE, D. NAUMANN UND A. WÜTHRICH

J. R. Geigy A.G., Basel (Schweiz)

(Eingegangen am 25. September 1969)

SUMMARY

Automation in gas chromatography. Development of an apparatus for the automatic gas chromatographic determination of herbicide and insecticide residues and formulations

A new all-glass system for the automated transport of samples into a gas chromatograph is described. It is especially suitable for the determination of thermally unstable substances and consists of a heated evaporation chamber directly connected to the gas chromatographic column. Samples are fed into the system through a horizontally attached side arm. Microliter quantities of sample solutions in hexane or ethyl ether are applied to glass capillary tubes 7 mm in length and fed into the side arm after evaporation of solvent. About 70 samples can be transported discontinuously into the evaporation chamber by pushing a metal pin which moves with an outside magnet. Samples of formulations and residues of triazin-herbicides and halogenated hydrocarbons have been analyzed automatically using several specific gas chromatographic detectors.

EINLEITUNG

Die Gaschromatographie mit extrem empfindlichen, molekilspezifischen Detektoren wie Mikrocouloimeter¹, Coulson Leitfähigkeitsdetektor^{2,3} und Phosphordetektor⁴ ist heute die wichtigste Methode zur Bestimmung von Herbizid- und Insektizid-Rückständen. Auch die Reinheitsbestimmung von Wirksubstanzen sowie die Gehaltskontrolle von Formulierungen erfolgt überwiegend gaschromatographisch unter Anwendung von Flammionisations- und Wärmeleitfähigkeitsdetektor.

Für den Routinebetrieb müssen die Geräte möglichst rationell, am besten sogar während der Nacht eingesetzt werden, was eine automatische Eingabe der Analysenmuster voraussetzt. Die kommerziell erhältlichen automatischen Injektion-Systeme sowie die von CHAMBERLAIN *et al.*⁵ und MENINI UND NORYMBERSKI⁶ zur Steroidbestimmung verwendeten Geräte haben den Nachteil, dass die zu bestimmenden Sub-

stanzen, auf feine Drahtnetz-Zylinder aufgezogen, in den Einspritzblock gelangen. Thermisch bzw. gegen Metalle empfindliche Substanzen erleiden dabei erhebliche Zersetzung. Ausserdem sind die für den automatischen Betrieb umgebauten Geräte nicht mehr oder nur schlecht für manuelle Einspritzung verwendbar. Wir haben deshalb ein Allglas-System zur automatischen Eingabe von Analysenmustern in einen Gaschromatographen entwickelt, bei dem die zu bestimmenden Substanzen erst im Detektor mit Metall in Berührung kommen und bei dem eine wartungsfreie Analyse während der Nacht möglich ist. Bei nichtautomatischem Betrieb kann weiterhin manuell eingespritzt werden.

APPARATIVES

Geräte

Tabelle I enthält die Geräte zur Gaschromatographie.

TABELLE I

GERÄTE ZUR GASCHROMATOGRAPHIE

Gaschromatographen	Doppelkolonnen-Instrumente Aerograph Modell 1700
Detektoren	Aerograph Flammionisationsdetektor Dohrmann Verbrennungsofen mit T 300 Microcoulometer-Titrationszelle und C 200 Coulometer Coulson Leitfähigkeitsdetektor Modell 90-80-60 mit CIC Pyrolyzer Modell 121 CIC Leitfähigkeitsdetektor-Zelle Modell 80 CIC Wechselstrombrücke Modell 90 CIC Wasseraufbereitungssystem Modell 60 Quarz-Verbrennungsrohr mit Nickel- und Strontiumhydroxyd-Füllung
Säulen	Glas, Durchmesser 1/4 in., Länge 1 m
Kugelschliffe	Pyrex-Glas, KS 13/5, Hochglanz, bis 5 atü dicht
Säulen-Füllungen	0.5 % XE-60 auf Chromosorb G, 60/80 mesh 2 % AFL auf Chromosorb G, 60/80 mesh
Schreiber	Honeywell 1 mV
Integrator	Aerograph Digital Integrator Modell 480
Schaltuhren	Schleicher microlais 0-60 min Schleicher microlais 0-60 sec
Temperatur-Regler	Jumo
Antriebsmotoren	Escap 20 AR 601

Apparatur zur Probeneingabe

Das System zur automatischen Probeneinführung (Fig. 1 und 2) besteht aus einem 20 cm langen, vertikal an der Frontplatte eines Gaschromatographen befestigten Verdampfungsraum (1) (Pyrex-Glasrohr, i.D. 15 mm). Dieser wird aussen durch einen Eisen-Konstantan-Widerstand (2) geheizt und über ein Thermoelement (3) mit Temperaturregler konstant auf der Temperatur des Einspritzblocks (10) gehalten. Zur Temperaturkontrolle wird ein zweites Thermoelement (7) direkt auf die freie "accessory"-Position der Temperaturskala des Geräts geschaltet. Der Verdampfungs-

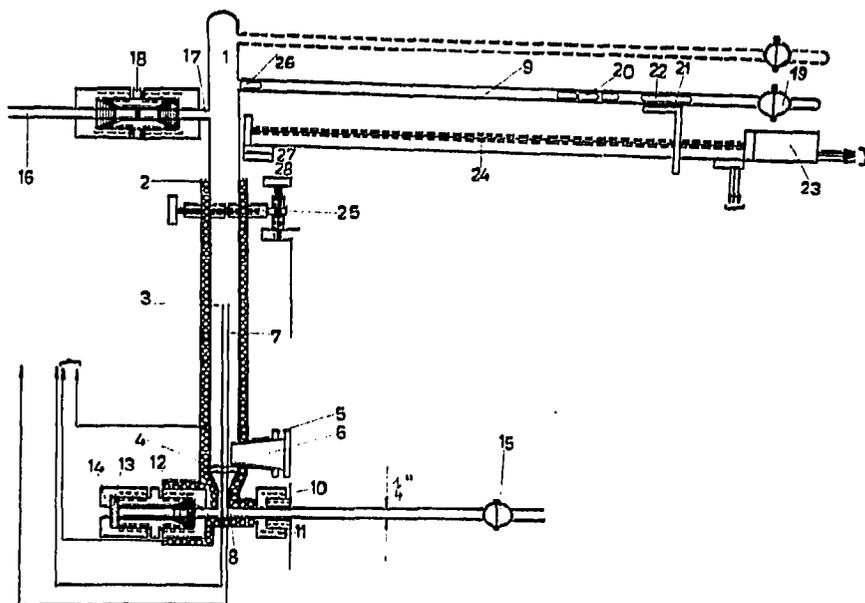


Fig. 1. Apparat zur automatischen Eingabe von Analysenmustern in den Gaschromatographen. 1 = Verdampfungsraum; 2, 3, 7 = Heizung und Temperaturregler; 4 = Glasfritte; 5, 6 = Schlifföffnung mit Teflon-Stopfen; 8, 12 = geheiztes Glas-T-Stück; 9 = Glasrohr zur Probeneingabe; 10 = Einspritzblock; 11, 14, 18 = Befestigungsschrauben; 13 = Septum; 15, 19 = Hochglanz-Kugelschliffe; 16, 17 = Zuleitungsrohr für Trägergas; 20, 26 = Glasgefäße zur Aufnahme der Proben; 21 = Magnet; 22 = Metallstift; 23 = Transportmotor; 24 = Schraubengewinde; 25 = Halterung; 27, 28 = End- und Start-Schalter.

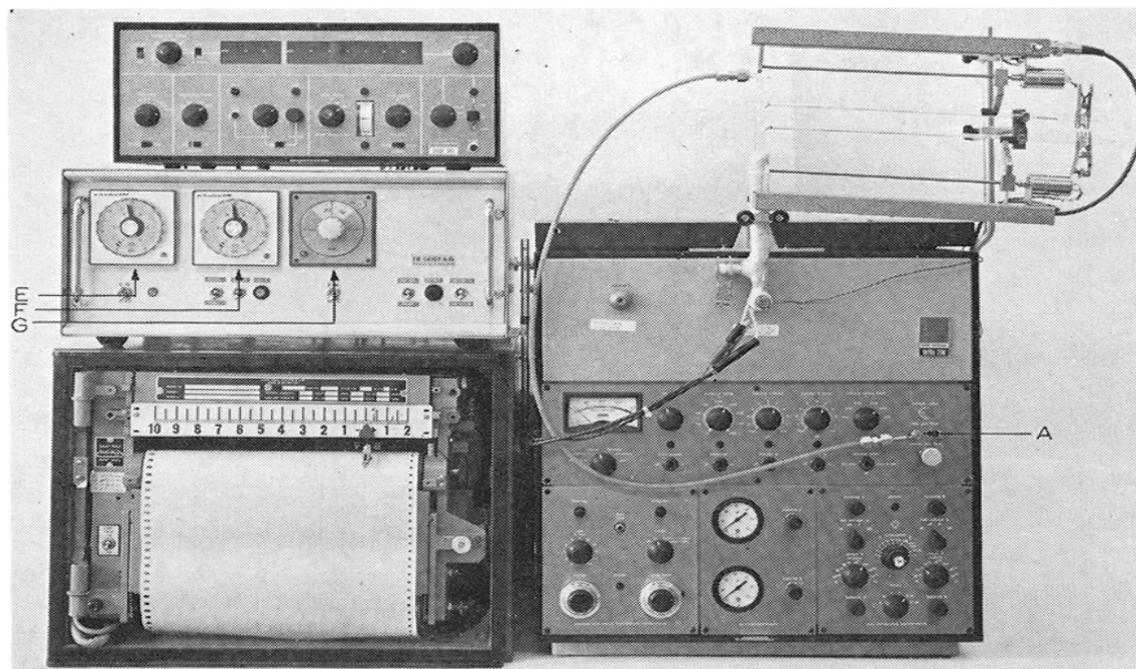


Fig. 2. Gesamtansicht der Apparatur zur automatischen Gaschromatographie. A = Gas accessory loop; E = Schaltuhr 0-60 min; F = Schaltuhr 0-60 sec; G = Temperaturregler für Verdampfungsraum.

raum verengt sich unten auf einen äusseren Durchmesser von 1/4 in. und endet in einem waagrecht angeschmolzenen T-Stück (i.D. 1/16 in., ä.D. 1/4 in.). Der längere Arm des T-Stückes (8) wird von aussen durch den auf 6.5 mm aufgebohrten Einspritzblock des Gaschromatographen hindurchgeschoben, mit einem nachträglich angeschmolzenen Kugelschliff (15) direkt auf die Säule aufgesetzt und mit einer Imperialschraube (11) befestigt. Der 3 cm lange, aus dem Einspritzblock herausragende Teil des T-Stücks (12) wird mit einer 1/4 in. Swagelockschraube (14) und einem Teflonkegel abgedichtet und durch ein Septum (13) verschlossen. Durch dieses können Proben manuell eingespritzt werden.

Am oberen Ende des Verdampfungsraumes ist seitlich ein 2 cm langes Glasrohr (17) (Pyrex, 1/4 in. a.D.) angeschmolzen. Es ist über eine Swagelok-Kupplung (18) und zwei Teflonkegel mit einem Nylonschlauch (16) verbunden. Die normalerweise im Injektorblock mündende Trägergaszuleitung wird vorher am sog. "Gas accessory loop" des Gaschromatographen (Fig. 2, A) abgezweigt und über den Nylonschlauch (16) in den Verdampferraum (1) geleitet. Ein zweites, 30 cm langes, horizontales Glasrohr (9) (3.5 mm i.D.) dient zur Aufnahme der Analysenproben-Behälter (20, 26). Diese bestehen aus genau 7 mm langen, einseitig zugeschmolzenen Glasröhrchen von 2 mm a.D.

5 μ l-Aliquote der Analysenmuster in Hexan-Lösung werden jeweils mit Hilfe einer Hamilton Mikrospritze in die Röhrchen gebracht. Nach dem Verdunsten des Lösungsmittels können diese (insgesamt ca. 35 Stück) durch den Kugelschliff (19) eingebracht werden. Nach den Proben wird zuletzt ein glasüberzogener Metallstift (22) eingeführt. Es ist wichtig, dass der Schliff (19) mit einer Schraubklemme fest angezogen wird.

Transport- und Steuereinrichtung

Eine einfache, auf einem Stativ am GC montierte Vorrichtung sorgt für den automatischen Transport der Proberöhrchen (20) in die Verdampfungskammer (1). Parallel zu dem die Proben enthaltenden Glasrohr (9) bewegt sich über ein Gewinde (24) ein kleiner Magnet (21) angetrieben von dem Elektromotor (23). Bei der über die Schaltuhren E und F (Fig. 2 und 3) regulierbaren Bewegung zieht der Magnet den Metallstift im Glas mit sich und dieser schiebt dabei die Proberöhrchen vor sich her, so dass nach jeder Fortbewegung des Magneten um 7 mm ein Röhrchen auf die Glasfritte (4, Fig. 1) der Verdampfungskammer fällt. Die Substanz verdampft, wird vom Trägergas in die Säule gespült und von einem der genannten Detektoren registriert. Die Detektorsignale werden vom Schreiber aufgezeichnet und vom Integrator in "integral count"-Einheiten zusammen mit den Retentionszeiten des entspr. Peaks ausgedruckt.

Durch Anschmelzen eines zweiten, horizontalen Glasrohres analog (9) und Montage einer zweiten Transportvorrichtung analog (23, 24) kann die Kapazität des Systems auf 70 Analysenmuster pro Nacht verdoppelt werden. Nachdem der Magnet (21) die ganze Länge des Gewindes durchlaufen hat wird gleichzeitig mit dem Endschalter (27) für den ersten Motor der Startschalter (28) für den zweiten Motor betätigt, der den Proben transport im oberen Glasrohr besorgt.

Für den automatischen Nachtbetrieb der Apparatur werden normalerweise folgende Bedingungen gewählt: Im Abstand von 20 min gibt die Schaltuhr E (Fig. 2 und 3) je einen Startimpuls an Drucker und Null-Reset des Integrators, an die Schaltuhr F (Fig. 2 und 3) und an einen Motor (23, Fig. 1; M, Fig. 3). Der

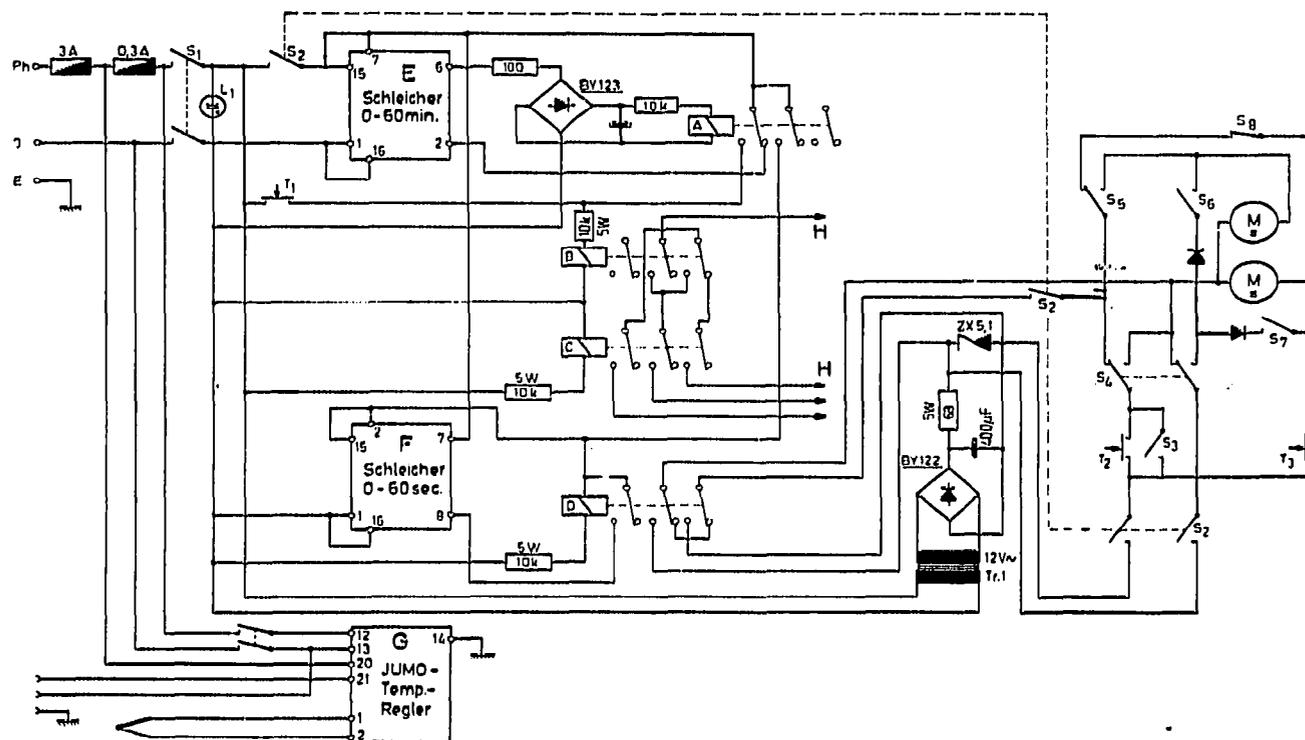


Fig. 3. Transport- und Steuer-Einheit. E = Schaltuhr 0-60 min; F = Schaltuhr 0-60 sec; G = Temperaturregler für Verdampfungsraum; H = Leitungen zum Integrator; M = Transportmotoren.

Motor beginnt zu laufen und bewegt innerhalb von 28 sec (diese Zeit wurde empirisch ermittelt) den Magneten (21, Fig. 1) um 7 mm vorwärts, so dass das vorderste Proberöhrchen (26, Fig. 1) in den Verdampfungsraum fällt. Nach 28 sec schaltet die Uhr F den Motor wieder ab. Das Zählwerk des Integrators beginnt bei jedem Startimpuls von Null an zu integrieren, so dass die Retentionszeiten bei jeder Probeneingabe direkt ausgedruckt werden. Ausserdem druckt der Integrator bei jedem Startimpuls von E den Buchstaben "N" aus, was die Zuordnung der Flächen zu den entspr. Peaks auf dem Schreiberpapier wesentlich erleichtert.

Kleine Störpeaks können durch Anheben der "Reizschwelle" des Integrators (Integral reject) ausgeschaltet werden. Ausserdem verhindert ein "Integrator delay" die Registrierung unerwünschter Peaks jeder Grösse während einer gewissen, wählbaren Zeitspanne. Dadurch bleiben die vom Integrator ausgedruckten Daten übersichtlich und können mühelos ausgewertet werden.

ERGEBNISSE

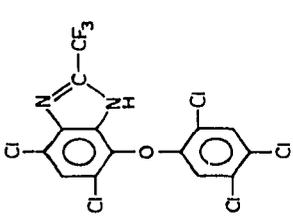
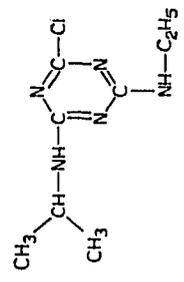
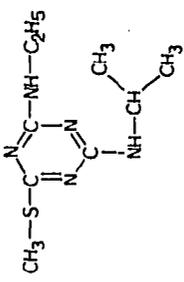
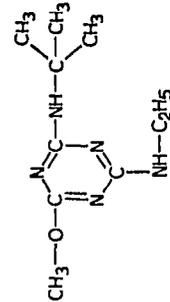
Als Testsubstanzen verwendeten wir verschiedene Agrochemikalien — Wirkstoffe der Firma J. R. Geigy A.G., Basel, teils von Handelsprodukten, teils von Produkten im fortgeschrittenen Stadium der Entwicklung.

Tabelle II enthält eine Zusammenstellung der untersuchten Substanzen mit Angabe der jeweiligen gaschromatographischen Bedingungen. Die Wirkstoffe wurden als Reinsubstanzen, in Formulierungen und als Rückstände in Erde untersucht.

TABELLE II

ZUSAMMENSTELLUNG DER UNTERSUCHTEN WIRKSUBSTANZEN

FID = Flammionisationsdetektor; MC = Mikrocoulometerdetektor; CLD = Coulson Leitfähigkeitsdetektor.

Code Nr. und 'common name'	Strukturformel	Anwendungs- gebiet	Gaschromatographische Bedingungen			Ret. Zeit (min)	
			Säulenfüllung	Säulentemp. (°C)	Temp. Inj.-block (°C)		Detektor
GS 24802			XE-60 0.5% WS auf Chromosorb G	200	220	220° FID	7.0
G 30027 Atrazin		Herbizid	AFL 2% auf Chromosorb G	195	225	240° FID MC CLD	8.3
G 34162 Ametryn		Herbizid	AFL 2% auf Chromosorb G	195	225	FID 240°	17.2
GS 14259		Herbizid	AFL 2% auf Chromosorb G	195	225	FID 240°	8.2

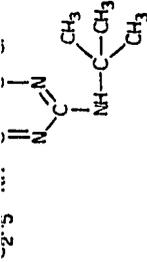
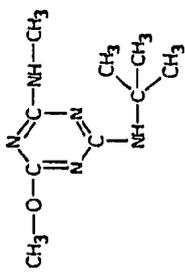
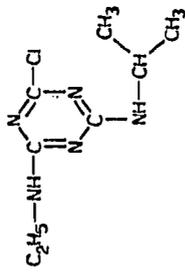
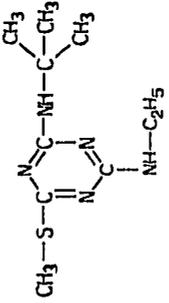
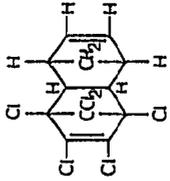
GS 13529		Herbizid	AFL 2% auf Chromosorb G	195	225	FID CLD 240°	9.0
GS 18622		Herbizid	AFL 2% auf Chromosorb G	195	225	FID 240°	7.2
GS 13528		Herbizid	AFL 2% auf Chromosorb G	195	225	FID 240°	13.2
GS 14260		Herbizid	AFL 2% auf Chromosorb G	195	225	FID CLD 240°	20.4
Aldrin		Insektizid (interner Standard)	AFL 2% auf Chromosorb G	195	225	FID 240°	26.0

TABELLE III

MITTELWERTE VON RETENTIONSZEITEN UND PEAKFLÄCHEN SOWIE DEREN RELATIVE STANDARD-ABWEICHUNGEN (s_{rel}) BEI ZEHNFACHER GASCHROMATOGRAPHISCHER BESTIMMUNG VERSCHIEDENER MENGEN GS 24802 NACH METHYLIERUNG

Detektor: FID.

Eingegebene Substanzmenge (μg)	Manuelle Einspritzungen				Automatische Probeneingabe			
	Retentionszeit (sec)	s_{rel} (%)	Peakfläche (Integral counts)	s_{rel} (%)	Retentionszeit (sec)	s_{rel} (%)	Peakfläche (Integral counts)	s_{rel} (%)
0	—	—	0	—	—	—	0	—
0.5	352	0.52	32 070	2.8	458	3.4	31 830	2.8
1	355	0.33	68 090	2.3	460	3.2	66 101	1.3
2	354	0.45	137 251	1.5	464	3.0	133 141	1.3

Tabelle III zeigt Peakflächen und Retentionszeiten bei manueller Einspritzung bzw. automatischer Eingabe verschiedener Mengen GS 24802. Diese Wirksubstanz lässt sich gaschromatographisch am besten nach Methylierung mit Dimethylsulfat bestimmen, und ist thermisch so empfindlich, dass sie sich in einer nach MENINI UND NORZYMBERSKI⁶ entwickelten Apparatur sofort auf den Metallzylindern, die zur Probenaufnahme verwendet werden, im Einspritzblock zersetzt. Gerade bei dieser empfindlichen Substanz war der Vorteil unseres Allglas-Systems klar ersichtlich.

Der statistische Vergleich der Standardabweichung in Tabelle III durch eine F-Prüfung am 95 %-Niveau zeigt, dass sich die Reproduzierbarkeiten der Analysenwerte bei automatischer Probeneingabe und bei manueller Einspritzung nicht signifikant unterscheiden. Die durch ungleichmässiges Fallen der Proberöhrchen in den Verdampfungsraum auftretenden Streuungen in der Retentionszeit sind zwar signifikant grösser als bei manuellem Betrieb (95 % Vertrauensgrenzen), jedoch durchaus tolerierbar.

Bei automatischer Eingabe der Proben in den Einspritzblock verdampfen die Substanzen langsamer als bei manueller Einspritzung in Lösung durch das Septum. Dies äussert sich in einer geringen Verbreiterung der Peaks und einer Verlängerung der Retentionszeit.

Tabelle IV enthält die Wirksubstanzgehalte einiger Triazin-Herbizid-Formulierungen, ermittelt durch eine klassische Titrationsmethode, durch normale gaschromatographische Bestimmung mit internem Standardzusatz und durch automatische Analyse im Nachtbetrieb, wobei im letzteren Fall jedes Muster vierfach bestimmt wurde.

Diese Gegenüberstellung zeigt die Eignung des Systems für ein wichtiges neues Anwendungsgebiet. Die Anwesenheit mehrerer technischer Wirkstoffe derselben Substanzklasse in einer Formulierung macht die Gehaltsbestimmung der Einzelkomponenten mit klassischen elektrochemischen Methoden sehr schwierig, mit automatisch betriebener Gaschromatographie dagegen wesentlich einfacher, spezifischer und zuverlässiger.

Der Einsatz des automatischen Probeneingabesystems für die Analyse von Herbizid-Rückständen in Erde war von besonderem Interesse, da bei diesen Untersuchungen in unseren Laboratorien grosse Musterserien anfallen.

TABELLE IV

MITTELWERTE UND RELATIVE STANDARDABWEICHUNGEN BEI GASCHROMATOGRAPHISCHER UND TITRIMETRISCHER GEHALTSBESTIMMUNG VERSCHIEDENER TRIAZIN-FORMULIERUNGEN

GC automatisch: vierfache Bestimmung; GC manuell und Titration: Doppelbestimmung.

Wirksubstanzen der Formulierung	Prozent Wirksubstanzgehalt			
	GC automatisch	S _{rel} (%)	GC manuell	Titration
Atrazin	24.5	1.3	—	24.0
Ametryn	52.1	1.2	—	52.9
Ametryn	24.2	0.85		24.2
GS 14 259	2.47	3.9	2.30	2.50
GS 13 529	2.33	9.5	2.40	2.51
GS 18 622	4.04	7.6	4.80	—
GS 13 528	7.97	4.3	7.50	—

Für die Analyse von Erdproben, die auf Rückstände meist mehrerer Triazin-Herbizide untersucht werden müssen bewährte sich der Einsatz des Coulson Leitfähigkeitsdetektors zur gaschromatographischen Endbestimmung. Dieser Detektor erlaubt als einziger (neben dem für Rückstandsanalysen nicht brauchbaren FID) den Nachweis von Chlor-Methoxy- und-Methylmercapto-Triazinen in einem Arbeitsgang. Die Automation gerade dieses gaschromatographischen Systems erschien daher für das Rückstandslabor besonders lohnend.

Die Daten der Tabelle V zeigen eine Versuchsreihe zur Prüfung der Reproduzierbarkeit der Peak-Flächen bei manueller Einspritzung und bei Einsatz der Automatik am Coulson Leitfähigkeitsdetektor.

TABELLE V

GASCHROMATOGRAPHISCHE BESTIMMUNG VON TRIAZIN-HERBIZIDEN MIT COULSON LEITFÄHIGKEITS-DETEKTOR

Durchschnittsgehalte und relative Standardabweichungen berechnet aus jeweils fünf Wiederholungen.

	Manuelle Einspritzungen			Automatische Probeneingabe		
	100 ng Atrazin	Mischung je 100 ng		100 ng Atrazin	Mischung je 100 ng	
		Atrazin	GS 14260		Atrazin	GS 14260
Durchschnittsfläche (Integral counts)	65 640	59 952	55 921	38 841	39 996	29 335
Relative Standardabweichung (%)	4.1	2.5	1.2	3.7	1.3	2.2

Tabelle VI enthält Rückstandsdaten mehrerer Triazine in Erde. Die Extrakte wurden einerseits durch manuelle Einspritzung und Auswertung mit Coulson Leitfähigkeitsdetektor, andererseits automatisch im Nachtbetrieb bestimmt. Die Einstellung des Integrators ist hier etwas kritisch. Bei Peaks mit Schwanzbildung muss die Kurvensteigung, bei der die Integration der Fläche beendet sein soll ziemlich klein

TABELLE VI

MANUELLE UND AUTOMATISCHE GASCHROMATOGRAPHISCHE BESTIMMUNG VON TRIAZIN-RÜCKSTÄNDEN IN ERDE MIT COULSON LEITFÄHIGKEITSDETEKTOR

\bar{x} = Mittelwert.

Muster Nr.	Herbizide (p.p.m.)					
	Automatische Bestimmung			Manuelle Bestimmung		
	Atrazin	GS 13529	GS 14260	Atrazin	GS 13529	GS 14260
1	0.50		0.08			
	0.40		0.10	0.34	0.05	
	0.50		0.13			
	$\bar{x} = 0.47$		$\bar{x} = 0.10$			
2	—	0.18	0.02		0.30	0.03
		0.22	0.02			
		0.14	0.03			
		$\bar{x} = 0.18$	$\bar{x} = 0.02$			
3	0.48			0.56		
	0.45					
	0.42					
	$\bar{x} = 0.45$					
4	0.60			0.55		
	0.60					
	0.63					
	$\bar{x} = 0.61$					

vorgewählt werden, da sonst der letzte Teil des Peaks im Bereich der flachen negativen Kurvensteigung nicht mitintegriert wird.

Tabelle VII enthält eine Gegenüberstellung von Atrazin-Rückstandswerten in Erde, die gaschromatographisch mit Microcoulometerdetektor sowohl manuell wie automatisch bestimmt wurden. Bei Verwendung des Microcoulometerdetektors ist zu beachten dass die Elektrolytflüssigkeit in der Messzelle während der Nacht z.T. verdampft, was die Empfindlichkeit des Systems ändert. Durch Kühlung der Titrierzelle von aussen kann der Verlust an Elektrolytflüssigkeit verringert werden. Zur Sicherheit wird nach fünf Proben unbekanntes Gehalts je ein "fortified sample", also eine Blindprobe mit genau bekanntem Wirkstoffzusatz mitanalysiert.

RATIONALITÄTS-BETRACHTUNG

Bei manuellem Betrieb eines Gaschromatographen erreicht eine Arbeitskraft im Maximum 30 Einspritzen pro Tag, was einer Gesamtkapazität von etwa 20 Mustern entspricht. Die Vorbereitung von 70 Proben entspr. etwa 50 Analysenmustern für den automatischen Betrieb erfordert etwa zwei Arbeitsstunden, ebenso die Zuordnung und Auswertung der ausgedruckten Daten. Selbst wenn jedes einzelne Muster doppelt bestimmt wird, erreicht man insgesamt eine beträchtliche Rationalisierung der Gaschromatographie bei grösserer Sicherheit der Einzelergebnisse.

TABELLE VII

GASCHROMATOGRAPHISCHE BESTIMMUNG VON ATRAZIN-RÜCKSTÄNDEN IN ERDE MIT MICROCOULOMETERDETEKTOR

<i>Muster Nr.</i>	<i>Automatischer Bestimmung</i>	<i>Manuelle Bestimmung</i>
1	0.35	0.33
2	4.3 4.2	4.5
3	6.6 7.2	8.8
4	1.2 1.2	1.6
5	11.0 11.0	12.1
6	3.3 3.2	3.8
7	1.2 1.1	1.3
8	0.35 0.25	0.30
Blindmuster 1	<0.02	<0.02
Blindmuster 2	<0.02	<0.02
Blindmuster + Zusatz 0.1 p.p.m.	0.07	0.12

ZUSAMMENFASSUNG

Das beschriebene Allglas-Probeneingabesystem zur automatischen gaschromatographischen Bestimmung thermisch empfindlicher Insektizide und Herbizide besteht aus einem geheizten, durch den Einspritzblock direkt mit der Säule verbundenen Verdampfungsraum mit seitlichem Ansatz zur Aufnahme der Analysenmuster. Mikroliter-Aliquote der Proben in Hexan oder Äther werden in 7 mm lange, einseitig zugeschmolzene Glasröhrchen eingefüllt. Nach dem Verdampfen des Lösungsmittels lassen sich etwa 70 Glasröhrchen in die Apparatur einführen. Der Proben transport in den Verdampfungsraum erfolgt diskontinuierlich durch Schub eines Metallstiftes der von einem aussen angebrachten Magneten bewegt wird. Analysen von Formulierungen und Rückständen von Triazin-Herbiziden und halogenierten Kohlenwasserstoffen wurden unter Verwendung verschiedener z.T. spezifischer Detektoren automatisch durchgeführt.

LITERATUR

- 1 D. M. COULSON, *J. Agr. Food Chem.*, 8 (1960) 399.
- 2 D. M. COULSON, *J. Gas Chromatog.*, 3 (1965) 134.
- 3 D. M. COULSON, *J. Gas Chromatog.*, 4 (1966) 285.
- 4 L. GIUFFRIDA, *J. Assoc. Offic. Agr. Chemists*, 47 (1964) 293.
- 5 J. CHAMBERLAIN, B. A. KNIGHTS AND G. A. THOMAS, *J. Endocrinol.*, 26 (1963) 367.
- 6 E. MENINI AND J. K. NORZYMBERSKI, *Biochem. J.*, 95 (1965) 1.