

CHROM. 7392

## ZUM METABOLISMUS VON DIALKYLDITHIOCARBAMATEN

### I. MITT. BESTIMMUNG DER BEIM ABBAU ENTSTEHENDEN AMINE DURCH UMSETZUNG MIT ISOCYANATEN UND GASCHROMATOGRAPHISCHE IDENTIFIZIERUNG DER GEBILDETEN HARNSTOFFDERIVATE

I. NITSCHKE und F. SELENKA

*Hygiene-Institut\* und Institut für Analytische Chemie und Anorganische Chemie der Universität Mainz, Mainz (B.R.D.)*

und

K. BALLSCHMITER

*Abteilung Analytische Chemie, Universität Ulm, Oberer Eselsberg 26, D 79 Ulm (B.R.D.)*

(Eingegangen am 6. September 1973; geänderte Fassung eingegangen am 8. Februar 1974)

#### SUMMARY

*Metabolism of dialkyldithiocarbamates. I. Determination of amines using a reaction with isocyanates followed by gas chromatographic identification of the urea derivatives formed.*

N,N'-Di- and N,N',N'-trisubstituted ureas, formed by the reaction of amines with isocyanates, e.g. *tert.*-butyl isocyanate or 3-trifluoromethylphenyl isocyanate, are useful derivatives for the gas chromatographic analysis of primary and secondary amines. The separation is carried out at temperatures between 70 and 130° on liquid phases such as silicone OV-101 and silicone OV-17. With nitrogen and electron capture detectors the detection limit is  $10^{-10}$  g. Trace analysis of simple primary and secondary amines is important for the study of the metabolism of dialkyl dithiocarbamate fungicides or urea herbicides. Since secondary amines are considered to be potential precursors of cancerogenic nitrosamines their analysis is also of great importance.

#### EINLEITUNG

Der Metabolismus von Dithiocarbamaten wurde in der Literatur verschiedentlich beschrieben<sup>1-3</sup>. Durch Oxydation von SH-Gruppen entstehen Disulfide, durch Abspaltung von H<sub>2</sub>S Thioisocyanate, durch Abspaltung von CS<sub>2</sub> aus der Carbamid-säuregruppe Amine. Die Spurenanalyse einfacher primärer und sekundärer aliphatischer und aromatischer Amine ist im Zusammenhang mit dem Abbau von Fungizi-

\* Direktor: Prof. Dr. J. Borneff.

den, besonders Harnstoffverbindungen, noch wenig bearbeitet. Amine, die als Abbauprodukte von Bioziden zu erwarten sind, sind in Tabelle I zusammengestellt. Vor allem den sekundären Aminen dieser Reihe kommt dabei eine besondere Bedeutung zu, da sie als potentielle Ausgangsstoffe für cancerogene Nitrosamine anzusehen sind<sup>4,5</sup>.

Versuche, Amine direkt durch Colorimetrie, Titration und Gaschromatographie (GC) quantitativ zu bestimmen, wurden mehrfach durchgeführt. Fritz und Burgett<sup>6</sup> benutzten zur Titration von Aminen 0.5 M Perchlorsäure, Barbero<sup>7</sup> bestimmte das durch Hydrolyse von Ziram freigewordene Methylamin mit 0.1 N Schwe-

TABELLE I

AMINE ALS MÖGLICHE ABBAUPRODUKTE VON BIOZIDEN<sup>1-3</sup>

Abkürzungen: A = Akarazid, F = Fungizid, H = Herbizid, I = Insektizid, N = Nematizid.

<i>Amin</i>	<i>Mögliche Ausgangsverbindung, common name</i>
Methylamin	Metam N - F - I, Methabenzthiazuron H, Carbaryl I, Formetanat A, Methomyl I, Promecarb I, Monocrotophos I, Mercaptodimethur I, Omethoat I, Propoxur I, Vamidothion II
Dimethylamin	Ferbam F, TMTD F, Ziram F, Isolan I, Cycluron H, Chlortoluron H, Chloroxuron H, Diuron H, Fluometuron H, Isonoruron H, Monuron H, Dicrotophos I, Chlorphenamidin A, Zectran I, Dimethilan I, Triamiphos F, Tecoram F, Fenaminosulf F, Formetanat A, Metoxuron H, Pirimicarb I, Diphenamid H, Primi-carb I, Dimefox I
Äthylamin	Terbutylazin H, Terbutryn H, Simazin H
Diäthylamin	Sulfallate H, Phosphamidon I
Äthylendiamin	Maneb F, Zineb F, Tecoram F, Zireb F, Mancozeb F
Propylamin	Methoprotryn H, Prometryn H, Prometon H, Propachlor H, Propazin H, Atraton H, Atrazin H, Ametrin H, Desmetryn H, Triallate H
Dipropylamin	Diallate H, Vernolate H, Trifluralin H, EPTC H
Butylamin	Terbumeton H, Terbutylazin H, Terbutryn H, Terbacil H, Karbutilate H
Dibutylamin	Sutan H
N-Methyl-N-methoxyamin	Linuron H, Metobromuron H
Propylendiamin	Propineb F, Methylmethyram F
N-Methyl-N-butylamin	Neburon H
N-Butylamin	Buturon H
N-Methyl-N-cyclohexylamin	Cycloat H
Cyclooctylamin	Cycluron H
Diallylamin	Allidochlor
Anilin	Oxycarboxin F, Thiophanate F, Phenylurethan H, Propham H
3-Chloranilin	Chlorpropham H, Barban H, Chlorbufam H
4-Chloranilin	Monuron H, Monalide H, Buturon H
3-Chlor-4-methylanilin	Chlortoluron H, Pentanachlor H
3-Chlor-4-methoxyanilin	Metoxuron H
3,4-Dichloranilin	Diuron H, Linuron H, Neburon H, Chloraniformethan F, Propanil H
2,6-Dichlor-4-nitranilin	Dicloran F
2-Methylanilin	Phenmedopham H
2-Methyl-4-chloranilin	Chlorphenamidin A
N-Methyl-N-cyclohexylamin	Cycloat H
4-Trifluormethylanilin	Fluometuron H
4-Bromanilin	Metobromuron H

felsäure. Sekundäre aliphatische Amine konnten von Murphy *et al.*<sup>8</sup> colorimetrisch durch die Kupferdithiocarbamatmethode erfasst werden. Das GC Verhalten von Aminen wurde von O'Donnell und Mann<sup>9</sup>, Anderson und Shimanskaya<sup>10</sup>, Lorenzo und Rouso<sup>11</sup>, Heyns *et al.*<sup>12</sup>, Burchfield und Storrs<sup>13</sup>, Szymanski<sup>14</sup> und Cieplinsky<sup>15</sup> untersucht.

Selektiver und empfindlicher erwies sich dagegen die Bestimmung von Aminderivaten. In der Papier- und Dünnschichtchromatographie wurden von Churacek *et al.*<sup>16</sup> 4-(N-Dimethylamino)-benzol-4-azobenzamide, von Thielemann<sup>17</sup> das Kupplungsprodukt mit Echtrotsalz AL, von Gruger<sup>18</sup> Dns-Derivate, von Herth und Hartmann<sup>19</sup> 2,4-Dinitrophenylverbindungen, von Denisenko und Khilya<sup>20</sup> quartäre Ammoniumverbindungen, von Nikiforov *et al.*<sup>21</sup> eine *p*-Benzochinondiazoverbindung zur Bestimmung von Aminen herangezogen.

Höhere Nachweisempfindlichkeiten erlauben in der Regel GC-Verfahren. Solche Analysen von derivatisierten Aminen sind bereits bekannt (Tabelle II). Die Umsetzungen von primären und sekundären Aminen mit Aldehyden und Ketonen zu Schiffschen Basen bzw. Enaminen oder mit Carbonsäuren, Carbonsäureanhydriden und Säurechloriden zu den entsprechenden Carbonsäureamiden beruhen auf der

TABELLE II

## DERIVATISIERUNGSREAKTIONEN VON AMINEN UND GC-ANALYSE DER DERIVATE

Reagenz	Reaktionsprodukt	Getrennte Amine	Literatur
Pentafluorbenzoylchlorid	Pentafluorbenzoylamide	prim. Amine (Phenäthylamin)	25
Ameisensäure oder -anhydrid	Ameisensäureamide	Anilin, Toluidin	26
Trifluoressigsäure	Trifluoressigsäureamide	Prim. C <sub>2</sub> -C <sub>10</sub> Amine	27
Trifluoressigsäureanhydrid	Trifluoressigsäureamide	Arom. Amine, Phenäthylamin	25, 28, 29
Pentafluorbenzoylchlorid	Pentafluorbenzoylamide	Einfache Amine	30
Pentafluoracetylchlorid	Pentafluoracetylamide		
Pentafluorphenoxyacetylchlorid	Pentafluorphenoxyacetylamide		
4'-Nitroazobenzol-4-carboxylchlorid	4'-Nitroazobenzol-4-carboxylamide	Prim. und sek. aliphatische und aromatische Amine	31
1-Fluor-2,4-dinitrobenzol	2,4-Dinitrophenylamin	Phenäthylamin	25, 32
Heptafluorbuttersäurechlorid	Heptafluorbuttersäureamid	Biol. Amine	25, 33-36
TMSi-O-acetylchlorid	TMSi-äther-acetylamide	Biol. Amine	37
TMSi-O-heptafluorbutyrylchlorid	TMSi-äther-heptafluorbutyrylchlorid		
Pentafluorpropionsäureanhydrid	Pentafluorpropionsäureamid	Biol. Amine	36, 38
Hexan-2,5-dione	Enamin	Sek. Amine	39
Aceton, Benzaldehyd, Trifluoraceton, Heptafluorbuttersäurealdehyd, Pentafluoroctanaldehyd, Pentafluorbenzaldehyd, <i>p</i> -Chlorbenzaldehyd, <i>p</i> -Nitrobenzaldehyd	Enamine (Schiffsche Basen)	Prim. und sek. Amine Phenäthylamin	25, 40

hohen Reaktivität der Carbonylgruppe und des nucleophilen Amins. Bei diesen Reaktionen entstehen als Nebenprodukte Wasser, Salzsäure oder Carbonsäure, die durch wasser- oder säureentziehende Mittel wie Ameisensäure oder Natronlauge aus dem Reaktionsgleichgewicht entfernt werden müssen. Die Darstellung von Enaminen erfordert zudem meist Reaktionstemperaturen von *ca.* 100°. Diese Reaktionsbedingungen sind für unsere biologischen Langzeitversuche nicht geeignet. Ziel der vorliegenden Untersuchungen ist es deshalb, ein Verfahren zu entwickeln, das über Tage und Wochen in geringen Spuren kontinuierlich gebildete Amine ohne Störung der ablaufenden biologischen Prozesse nachzuweisen gestattet.

## EXPERIMENTELLES

### *Synthesen verschiedener Harnstoffderivate aus Isocyanaten und Aminen*

Isocyanate gehören zu den reaktionsfähigen Carbonylverbindungen mit kumulierten Doppelbindungen, die Basen unter Bildung von Carboxyderivaten addieren. Die Umsetzung von Aminen oder Ammoniak mit Isocyanaten hat vor anderen Reaktionen wie z.B. der Urethanbildung den Vorrang und verläuft durchgehend mit quantitativer Ausbeute:



Es war zu prüfen, ob bestimmte Isocyanate sich für die beabsichtigten Derivatisierungen eignen und dabei Verbindungen liefern, die im GC erfasst werden können. Nach erfolgreichen Vorversuchen wurden verschiedene Harnstoffderivate synthetisiert und auf ihre Eigenschaften untersucht.

Das jeweilige Isocyanat wurde in Hexan oder Benzol gelöst und unter Rühren das entsprechende Amin in molaren Mengen tropfenweise zugesetzt oder als Gas im Überschuss eingeleitet. Das kristallin ausfallende Produkt wurde abgesaugt, umkristallisiert und durch Schmelzpunktbestimmung, IR-Spektroskopie, Elementaranalyse und Sublimationsverhalten charakterisiert. Die Umsetzungen, die bei Zimmertemperatur durchgeführt wurden, ergaben quantitative Ausbeute.

Lediglich die Umsetzungen von N-2-Nitrophenylisocyanat mit Methyl- und Dimethylamin verliefen nicht vollständig. Hauptgrund hierfür dürfte die extrem geringe Löslichkeit des Isocyanats sein. Folgende Präparate wurden hergestellt: N-*tert.*-Butyl-N'-methylharnstoff (Fp. 83°); N-*tert.*-Butyl-N',N'-dimethylharnstoff (Fp. 86-87°); N-*tert.*-Butyl-N'-äthyl-N'-methylharnstoff (Fp. 70-71°); N-*tert.*-Butyl-N',N'-diäthylharnstoff (Fp. 69-70°); N-*tert.*-Butyl-N'-propylharnstoff (Fp. 137-139°); N-*tert.*-Butyl-N',N'-dipropylharnstoff (Fp. 80-81°); N-*tert.*-Butyl-N'-phenylharnstoff (Fp. 158°); N-*tert.*-Butyl-N'-(4-chlor)-phenylharnstoff (Fp. 191°); N-2-Chlorphenyl-N',N'-dimethylharnstoff (Fp. 90-91°); N-3-Trifluormethylphenyl-N',N'-dimethylharnstoff (Fp. 153-154°); N-2-Nitrophenyl-N'-methylharnstoff (zers.); N-2-Nitrophenyl-N',N'-dimethylharnstoff (zers.).

### *Gaschromatographie der Harnstoffderivate*

Bei Wahl geeigneter Trennphasen und Trägermaterialien (z.B. Carbowax 20M

auf Glasperlen, 60–80 mesh) können einfach alkylsubstituierte Harnstoffe in der Regel leicht getrennt werden<sup>23,24</sup>.

Die GC Bestimmung von aromatisch substituierten Harnstoffen bereitet jedoch häufig Schwierigkeiten, da diese Verbindungen thermisch wenig stabil sind<sup>22</sup>.

Bei geeigneter Wahl der Substituenten lassen sich diese Effekte jedoch gering halten oder bei Anwendung schonender Bedingungen völlig ausschalten.

Wird die Derivatisierung von Aminen mit einem geeigneten Isocyanat, z.B. *tert.*-Butylisocyanat, durchgeführt, so erhält man substituierte Harnstoffe, die gaschromatographisch ohne Schwierigkeiten erfassbar sind. Zur Trennung von verschiedenen alkylierten Harnstoffverbindungen eignen sich als Trennphase nichtpolare (OV-101, SE-30, Apiezon), interpolare (OV-17, QF-1) oder polare (Carbowax 20M). Eine gute Trennleistung bieten Säulen mit OV-17 und OV-101.

Der Nachweis dieser Verbindungen kann mit dem Stickstoffdetektor oder —bei Vorhandensein elektronenaffiner Gruppen— mit dem Elektroneneinfangdetektor vorgenommen werden.

*Bedingungen der Gaschromatographie.* Es wurden 2 m lange Glassäulen mit 3 mm Innendurchmesser benutzt. Als Trägermaterial diente Chromosorb W-HP, 100–120 mesh, beschichtet mit 5% Trennphase. Von den untersuchten Trennphasen SE-30, OV-17, Apiezon L, QF-1, OV-101 und Carbowax 20M ergaben OV-101 und OV-17 die besten Trennungen. Alle Säulen wurden vor Gebrauch 24 h bei 190° konditioniert.

Um eine thermische Zersetzung auszuschliessen, wurde bei möglichst niedrigen Temperaturen (70–130°) gearbeitet. Die Temperatur des Einspritzblockes lag maximal 30° höher als die Säulentemperatur. Die Durchflussrate des Trägergases lag zwischen 25 und 30 ml/min.

#### *Detektion*

*Stickstoffdetektor.* Die Messungen wurden an einem Gaschromatograph Hewlett-Packard Modell 19098 mit Integrator durchgeführt. Als Trennphase diente OV-17. Fig. 1 gibt die Auftrennung der *tert.*-Butylharnstoffderivate verschiedener Amine wieder. Die Nachweisgrenze liegt bei  $2-5 \cdot 10^{-9}$  g.

*<sup>3</sup>H-Elektroneneinfangdetektor.* Die Messungen wurden an einem Gaschromatograph Varian Modell 1700 durchgeführt. Von den Harnstoffderivaten N-3-Trifluormethylphenyl-N',N'-dimethylharnstoff und N-*tert.*-Butyl-N',N'-dimethylharnstoff wurden Eichkurven für die quantitative Bestimmung aufgestellt. Die Nachweisgrenze beträgt beim Trifluormethylderivat 0.1 ng und beim *tert.*-Butylderivat 10 ng. Die Eichkurven zeigen für beide Derivate einen ausreichenden Linearitätsbereich (Fig. 2).

Zur Ermittlung der Fehlerbreite der Messmethode wurde aus zwölf Messungen die relative Standardabweichung berechnet. Sie betrug 3.2%.

*Massenspektrometer.* N-*tert.*-Butyl-N',N'-dimethylharnstoff wird im Gaschromatographen nicht zersetzt und kann zur weiteren Identifizierung im Massenspektrometer untersucht werden. Zu diesem Zweck wurde eine Probe Ferbam bzw. Ziram (Fe- bzw. Zn-Dimethyldithiocarbamat) durch Salzsäure hydrolysiert und das dabei

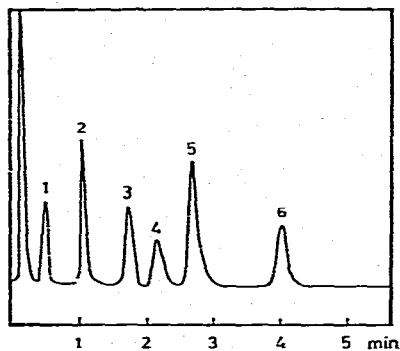


Fig. 1. Gaschromatogramm einer Mischung von Harnstoffderivaten. Säule, 5% OV-17 auf Chromosorb W-HP, 100-120 mesh; Säulenofen, 130 °; Durchflussrate des Trägergases, 30 ml/min. 1 = *N-tert.*-Butyl-*N',N'*-dimethylharnstoff; 2 = *N-tert.*-Butyl-*N'*-methylharnstoff; 3 = *N-tert.*-Butyl-*N'*-äthyl-*N'*-methylharnstoff; 4 = *N-tert.*-Butyl-*N',N'*-diäthylharnstoff; 5 = *N-tert.*-Butyl-*N'*-Propylharnstoff; 6 = *N-tert.*-Butyl-*N',N'*-dipropylharnstoff.

entstehende Dimethylamin in eine Vorlage übergetrieben. Dort erfolgte die Umsetzung mit *tert.*-Butylisocyanat zu *N-tert.*-Butyl-*N',N'*-dimethylharnstoff. Das Derivat wurde in organischem Lösungsmittel gelöst direkt in ein Massenspektrometer CH 7 der Firma Varian eingegeben. Sein Spektrum weist den Molekularpeak 144 sowie weitere charakteristische Massenzahlen auf, wobei die Massenzahl 72 die stärkste relative

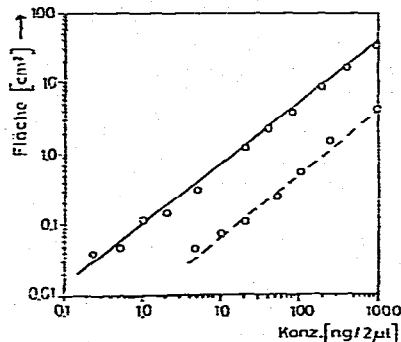


Fig. 2. Eichkurven von *N*-3-Trifluormethylphenyl-*N',N'*-dimethylharnstoff (—•—) und *N-tert.*-Butyl-*N',N'*-dimethylharnstoff (---). Tritium-Detektor, 200 °; Säule: 6 ft. × 1/8 in. I.D. Glas-säule mit 5% OV-101 auf Chromosorb W-HP, 100-120 mesh; Säulenofen, 70 bzw. 110 °; Durchflussrate des Trägergases, 25 ml/min.

Intensität besitzt (Fig. 3). Die Referenzspektren der übrigen Harnstoffderivate sowie das Verhalten dieser Verbindungen in der GC-MS-Kombination werden in der 2. Mitteilung dargestellt werden.

#### ANALYTISCHE NUTZBARKEIT DER BESCHRIEBENEN METHODE

Abbauversuche von Dithiocarbamaten in Wasser und Boden werden zur Zeit im Hygiene-Institut Mainz durchgeführt. Erste Ergebnisse mit Tetramethylthiuram-

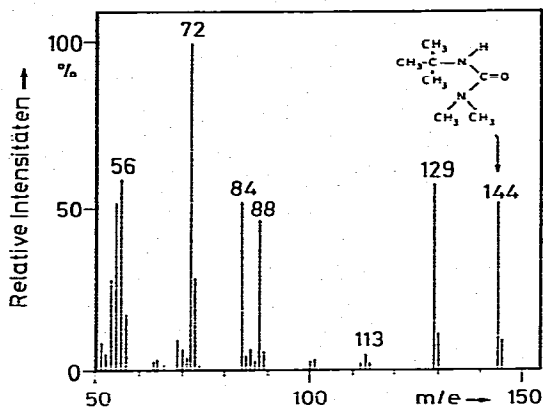


Fig. 3. Massenspektrum von *N*-*tert*-Butyl-*N*',*N*'-dimethylharnstoff. Direkte Eingabe der Substanz in organischem Lösungsmittel in das Massenspektrometer. Gerät, CH 7 der Firma Varian; Elektronenenergie, 70 eV; Kathodenstrom, 300  $\mu$ A; Ionenquelle, 200°.

disulfid im Rheinwasser zeigten, dass das Herbizid nach einer Woche abgebaut war. Das entstandene Dimethylamin konnte als *N*-3-Trifluormethylphenyl-*N*',*N*'-dimethylharnstoff gaschromatographisch nachgewiesen werden (Fig. 4). Ein vorhandener Überschuss an Isocyanat brachte keine Störung, da Isocyanate und Harnstoffderivate unterschiedliche Retentionszeiten zeigen.

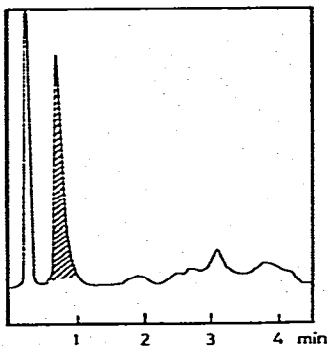


Fig. 4. Gaschromatogramm von *N*-3-Trifluormethylphenyl-*N*',*N*'-dimethylharnstoff, erhalten aus einem bakteriologischen Abbaueversuch von Tetramethylthiuramsulfid. Säule, 5%, OV-17 auf Chromosorb W-HP, 100-120 mesh; Säulenofen, 130°; Durchflussrate des Trägergases, 25 ml/min.

## DISKUSSION

Da die beschriebene Derivatisierung spontan, quantitativ, sowie bei Zimmertemperatur verläuft und einen geringen apparativen Aufwand erfordert, ist sie als Nachweisreaktion für Amine, besonders bei Reihenuntersuchungen, geeignet. Ein weiterer Vorteil besteht darin, dass die Reaktion in einem organischen Lösungsmittel vorstatten geht und das entstehende Derivat ohne Reinigungsschritte direkt der GC-Bestimmung zugeführt werden kann.

Die erhaltenen Harnstoffverbindungen können mit hoher Empfindlichkeit im Stickstoff- oder Elektroneneinfangdetektor nachgewiesen werden. Der Elektroneneinfangdetektor bietet für fluoridierte Harnstoffe die grösste Empfindlichkeit. Bestimmungen von Derivaten in Konzentrationen von 500 pg sind möglich.

Bei der Auswahl des Isocyanates ist darauf zu achten, dass das daraus entstehende Produkt thermisch möglichst stabil ist. Umsetzungen von *o*-Chlorphenylisocyanat mit Aminen ergeben Chlorphenyl-substituierte Harnstoffe, die sich im Gaschromatographen bei 190° Säulenofentemperatur zersetzen. Es entstehen typische Chromatogramme, deren Signale von den entsprechenden Isocyanaten, Anilinen und nicht identifizierten Verbindungen stammen. Bei Erniedrigung der Säulenofentemperatur auf 120–150° treten bei N-2-Chlorphenyl-N',N'-dimethylharnstoff nur noch zwei Peaks auf, die vom Harnstoff und dem entsprechenden Isocyanat herrühren. Der Isocyanatpeak wird mit abnehmender Ofentemperatur kleiner und verschwindet bei 70–75° völlig. Bei schonenden Bedingungen ist es somit möglich, auch Chlorphenyl-substituierte Harnstoffe unzersetzt im GC nachzuweisen.

Ein weiterer Vorteil der Isocyanatmethode liegt darin, dass die über einen Zeitraum von Tagen und Wochen im biologischen Versuch entstehenden Amine in einem stabilen Reagenz aufgefangen und kontinuierlich und quantitativ derivatisiert werden. Das im Überschuss in der Vorlage befindliche Isocyanat stört bei der späteren gaschromatographischen Untersuchung nicht, da sich seine Retentionszeit von der des Reaktionsproduktes unterscheidet.

#### DANK

Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft für ihre freundliche Unterstützung dieser Arbeit und Frau Dr. Slemrova für die Durchführung der massenspektrometrischen Untersuchung.

#### ZUSAMMENFASSUNG

Die durch Umsetzung von Aminen mit Isocyanaten entstehenden N,N'-substituierten Harnstoffe eignen sich in Abhängigkeit vom eingesetzten Isocyanat für die gaschromatographische Analyse von primären und sekundären Aminen. Während zahlreiche substituierte Harnstoffe thermisch instabil sind, lassen sich die vom *tert*-Butylisocyanat und 3-Trifluormethylphenylisocyanat abgeleiteten N,N'-di- bzw. N,N',N'-trisubstituierten Harnstoffe für die gaschromatographische Trennung und Bestimmung der einfachen primären und sekundären Amine verwenden. Stickstoff- und Elektroneneinfangdetektoren ermöglichen nach dieser Methode einen spezifischen und empfindlichen Nachweis von Aminen bis in den Bereich von 10<sup>-10</sup> g.

#### LITERATUR

- 1 H. Seidler, M. Härting, W. Schnaak und R. Engst, *Nahrung* 146 (1970) 363.
- 2 R. Engst und W. Schnaak, *Z. Lebensmi.-Untersuch. -Forsch.*, 143 (1970) 99.
- 3 M. Sh. Vekstein und M. A. Klisenko, *Vop. Pitan.*, 29 (1970) 56.
- 4 B. E. Newton, M. J. Saxby und C. L. Walters, *Biochem. J.*, 130 (1972) 82.
- 5 A. Ayanaba, W. Verstraete und M. Alexander, *J. Nat. Cancer Inst.*, 50 (1973) 811.
- 6 J. S. Fritz und Ch. A. Burgett, *Anal. Chem.*, 44 (1972) 1673.



- 7 L. Barbero, *Index Aliment.*, 10 (1970) 98.
- 8 R. T. Murphy, L. K. Gaston und F. A. Gunther, *J. Agr. Food Chem.*, 13 (1965) 242.
- 9 J. F. O'Donnel und Ch. K. Mann, *Anal. Chem.*, 36 (1964) 2097.
- 10 A. A. Anderson und M. V. Shimanskaya, *Latv. PSR Zinat. Akad. Vestis*, (1969) 537.
- 11 A. D. Lorenzo und G. Rouso, *J. Gas Chromatogr.*, 6 (1968) 509.
- 12 K. Heyns, R. Stute und J. Winkler, *J. Chromatogr.*, 21 (1966) 302.
- 13 H. P. Burchfield und E. E. Storrs, *Biochemical Applications of Gas Chromatography*, Academic Press, New York, 1962, p. 279.
- 14 H. A. Szymanski, *Biomedical Applications of Gas Chromatography*, Plenum Press, New York, 1964, p. 39.
- 15 E. W. Cieplinsky, *Anal. Chem.*, 38 (1966) 929.
- 16 J. Churacek, H. Pechova, A. Trockensteinova und Z. Zirkova, *J. Chromatogr.*, 72 (1972) 145.
- 17 H. Thielemann, *Mikrochim. Acta*, (1972) 578.
- 18 H. J. Gruger, *J. Agr. Food Chem.*, 20 (1972) 781.
- 19 H.-I. Ilerth und T. Hartmann, *J. Chromatogr.*, 71 (1972) 119.
- 20 V. P. Denisenko und P. Khilya, *Pharm. Chem. J.*, (1970) 357.
- 21 G. A. Nikiforov, L. G. Plekhanova, A. A. Efremenko, G. D. Probedimsky und U. Ershov, *Izv. Akad. Nauk. SSSR, Ser. Khim.*, (1971) 146.
- 22 W. H. R. Shaw und B. Grushkin, *J. Amer. Chem. Soc.*, 82 (1960) 1022.
- 23 H. G. Henkel, *J. Chromatogr.*, 21 (1966) 307.
- 24 R. W. Reiser, *Anal. Chem.*, 36 (1964) 96.
- 25 A. C. Moffat und E. C. Horning, *Anal. Lett.*, 3 (1970) 205.
- 26 E. O. Umeh, *J. Chromatogr.*, 51 (1970) 139.
- 27 B. Feibush und E. Gh. Au, *J. Gas Chromatogr.*, 5 (1967) 257.
- 28 W. J. Irvine und M. J. Saxby, *J. Chromatogr.*, 43 (1969) 129.
- 29 D. D. Clark, S. Wilk, W. E. Gitlow und M. J. Franklin, *J. Gas Chromatogr.*, 5 (1967) 307.
- 30 A. Zlatkis und B. C. Pettitt, *Chromatographia*, 2 (1969) 56.
- 31 G. Neurath und W. Lüttich, *J. Chromatogr.*, 37 (1968) 205.
- 32 E. R. Holden, W. M. Jones und M. Beroza, *J. Agr. Food Chem.*, 17 (1969) 56.
- 33 S. Wilk, W. E. Gitlow, M. J. Franklin und H. E. Carr, *Clin. Chim. Acta*, 102 (1964) 193.
- 34 L. M. Cummins und M. J. Fourier, *Anal. Lett.*, 2 (1969) 403.
- 35 R. B. Bruce und W. R. Maynard, *Anal. Chem.*, 41 (1969) 977.
- 36 E. Änggard und G. Sedvall, *Anal. Chem.*, 41 (1969) 1250.
- 37 M. J. Horning, A. M. Moss, E. A. Boucher und E. C. Horning, *Anal. Lett.*, 1, (1968) 311.
- 38 W. J. A. vandenHeuvel, *J. Chromatogr.*, 36 (1958) 354.
- 39 T. Walle, *Acta Pharm. Suecica*, 5 (1968) 353.
- 40 D. J. Crosby und J. B. Bowers, *J. Agr. Food Chem.*, 1 (1953) 839.
- 41 O. R. Klimmer, *Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmittel*, Hundt-Verlag, Hattingen, 2. Aufl., 1971.
- 42 W. Perkow, *Wirksubstanzen der Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmittel*, Verlag Paul Parey, Berlin, Hamburg 1971.
- 43 *Merkblatt Nr. 20*, Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Berlin, 3. Aufl., Februar 1972.