الفصل الواحد والعشرون

– استخدام الطرق المبسطة للتقدير الكمى لمخلفات مبيدات الآفات :

- مقدمـــــة
- طرق التقدير الكمى المبسطة .
- المعاييـــــر .
- بعض التفاصيل الضرورية الخاصة بالتقدير الكمى .
- كروماتوجرافى الالواح الورقية TLC .
- التقدير الحيوى باستخدام الدروسوفيلا .
- الطرق اللونية للدايثيوكربامات .
- الطرق الموصى بها للتقدير الكمى .

* خطوات التقدير .
* الإستخلاص والتنظيف .
* كروماتوجرافى الجيل المنفذ .

- الادمصاص الكرماتوجرافى .

obeikandl.com

obeikandl.com

استخدام الطرق المبسطة للتقدير الكمى لمخلفات مبيدات الآفات

Application of simplified methods for the quantification of pesticide residue

مقدمـــة Introduction :

معظم الطرق المستخدمة حاليا لتقدير مخلفات المبيدات تتضمن استعمال اجهزة ووسائل مكلفة . والحساسية العالية والتخصص الفائق لهذه الوسائل غير مطلوبة فى جميع فروع بحوث المبيدات . وفى الغالب يمكن اجراء تقديرات البحث عن المخلفات فى الغذاء والتى تجرى بصورة روتينية باستخدام طرق بسيطة واقل حساسية بما يسمح بالتقدير الكمى للمخلفات عند مستويات الدستور codex الخاصة بالمستويات القصوى MRL's . وحيث انه لا توجد اية بيانات دقيقة او تتوفر بقلة عن المعاملات السابقة بالمبيدات يصبح من المطلوب توفر طرق لتقدير المخلفات المتعددة "multiresidue" والتى تعطى وضعا موثوق بها عن نوعية المبيد الموجود . والآن اصبح من الشائع استخدام الكروماتوجرافى الغازى السائل GLC فى تقدير مخلفات المبيدات ولو ان كفاءته العالية ليست مطلوبة للكشف الروتينى Screening عن المخلفات فى المواد الغذائية . ومما يجعل هذه الاجهزة غير مرغوبة احتياجها لصيانة دورية متقدمة وغلو ثمن متطلبات التسجيل ، ومن ثم اصبح وجود بدائل وهى كثيرة امرا ضروريا وقد اثبتت نجاحات كبيرة فى الكشف عن مخلفات المبيدات فى حدود آثار وبتكاليف معقولة ... وهذا ما سنتناوله فى هذا المجال .

طرق التقدير الكمى المبسطة Simplified quantitation procedures

المعايير Criteria :

الطرق المبسطة البديلة يجب ان تواكب احتياجات الدول النامية للكشف الروتينى الدورى على المبيدات فى المواد الغذائية وكذلك لانشاء معامل جديدة . ويجب تجنب سوء الفهم المقصود بالطرق المبسطة simplified حيث تعنى تقليل حجم الاجهزة وبتكلفة معقولة مع حدود التقديرات المطلوبة ولا تعنى بالمرة تقليل الكفاءة الخاصة بالتقدير . ومن ثم يجب على طرق التقدير الكمى لمخلفات المبيدات ان تحقق المتطلبات التالية :

- تصلح للمبيدات الحشرية والفطرية المعروف عنها السمية على الانسان والثبات البيئى .
- تستطيع تقدير نواتج التمثيل الهامة .
- قادرة على تقدير مدى واسع من مبيدات الآفات .
- ذات فائدة لتقدير المخلفات فى السلع الهامة على المستوى الدولى والمحلى خاصة المواد الغذائية .
- قادرة على تقدير حدود المخلفات بما يعادل ١/٥ الى ١/١٠ الحدود القصوى للمخلفات MRL's .
- قادرة على اعطاء نتائج دقيقة فى حدود ١٠ - ٢٠ ٪ على مستوى الـ MRL's .
- تتطلب اجهزة غير مكلفة وغير متطورة نسبيا .

- يمكن العمل بها دون الحاجة الى غازات او مذيبات عالية النقاوة .... الخ .

يمكن تحقيق المتطلبات الموضحة اعلاه بالطرق اللونية والبيوكيميائية والبيولوجية . وكقاعدة عامة فان هذه الطرق غير متخصصة لمركب معين ولكنها تصلح لمجاميع لها نفس الصفات الكيميائية والحيوية . وعندما تستخدم كما هى تكون ملائمة لأغراض الاستكشاف الروتينى بما يوضح وجود المخلفات مجال التقدير . ومن ثم تصبح هذه الطرق غير قادرة على تحديد نوع المبيد ومن هنا يمكن لهذه الطرق ان تحقق التقدير الكمى فى حالة ما اذا كانت المبيدات المختلفة تعطى نفس الاستجابة .

الطرق الموضحة فيما بعد تصبح اكثر كفاءة عندما تدمج مع الفصل الكروماتوجرافى الذى يعطى المعلومات الوصفية . ومن اكثر الطرق بساطة وملائمة هو كروماتوجرافى الالواح الرقيقة (TLC) الذى يوصى به بدرجة كبيرة للتعريف الخاص بالمخلفات الموجودة بالاضافة الى مقدرته فى التقدير الكمى لو اتخذت بعض المعايير الخاصة والكروماتوجرافى ذو الضغط العالى (HPLC) يمكن التوصية به فى بعض الحالات اعتمادا على نوع المبيد وخواصه الطيفية Spectroscopic . ويمكن تزويد المعامل باجهزة مبسطة من الـ HPLC من الوحدات التجارية المتوفرة . وليكن معلوما ضرورة توفر المذيبات العضوية عالية النقاوة فى هذه التحليلات . والجدول (١) يوضع مميزات وعيوب طرق التقدير البسيطة للمخلفات وهى تشمل الطرق اللونية والانزيمية والحيوية وكروماتوجرافى الالواح الرقيقة منفردا أو مندمجا مع النظم الانزيمية او الحيوية وكذلك كروماتوجرافى الضغط العالى .

جدول (١) : تقييم الطرق المبسطة للكشف عن مخلفات المبيدات فى المواد الغذائية .

المعايير	اللونية	الانزيمية	الحيوية	TLC	TLC والانزيم	TLC والحيوية	HPLC
التقدير الكمى	++	+	+	++	++	++	+++
التقدير النوعى	٥	٥	٥	++	++	++	+++
تخصص التقدير	+	++	++	++	+++	+++	++
حدود التقدير	+	++	+	+	+++	++	++
الدقـــة	++	++	+	++	++	+	++
الحساسية للشوائب	−−	++	++	+	++	+	+
الوقت اللازم	++	+	+	++	++	٥	++
تكلفة الاجهزة	+	++	+++	+++	+++	+++	٥
تكلفة المذيبات وخلافة	+	++	+++	++	++	++	٥
ضرورة التنظيف	−−	++	+++	٥	++	+	−−
الملاءمة للعمل الروتينى	++	++	+	++	++	+	++

بعض التفاصيل الضرورية الخاصة بالتقدير الكمى Some experimental details لكروماتوجرافى الالواح الورقية TLC :

كما هو معروف يمثل سمك طبقة المادة المغطية للوح اهمية كبيرة جدا . وكقاعدة عامة تعتبر الالواح المجهزة بطريقة يدوية غير ملائمة . ومن أحسن الالواح تلك المجهزة تجاريا من شرائط الالومنيوم . ولعمل تنقيط للعينات دقيق ومرضى تستخدم الماصات الدقيقة والمستهلكة وهى تفيد فى تقليل خطأ الانسياب . وفى حالة الحجوم الكبيرة يكرر اضافة الحجم الصغير . والاستخدام المتجانس uniform للجواهر الكشافة فى غاية الاهمية . وعلى سبيل المثال محلول نترات الفضة يؤدى الى تكوين توزيع متجانس للجواهر الكشافة عندما يغمر فيها بدرجة تفوق ما يحدث عند الرش . واستخدام الالواح المعاملة بنترات الفضة قد تكون مناسبة ولكنها ترفع من حدود التقديرات .

تحدث تداخلات خطيرة فى حالة وجود مستخلصات مرافقة Co-extractives وهذا يؤكد حاجة تكنيك TLC الى عمليات تنظيف متتابعة وشاملة Clean-up فى معظم الحالات . والتقدير الذى يعتمد على تثبيط انزيم الكولين استريز يتطلب عمل تنقيط بحجم قليل من المحلول الخاص بالعينة فى حدود ملليجرامات قليلة . وللتغلب على الخطأ الناجم عن الاختلافات الموجودة بين لوح واخر يجب تكرار التجارب وبصفة منتظمة باستخدام العينات القياسية على نفس الكروماتوجرام جنبا الى جنب مع العينات محل التقدير .

فى التقدير الكمى يمكن الحصول على احسن النتائج بالمقارنة المرئية visual لمكان وحجم وكثافة البقع Location, size and intensity الناتجة من سريان مستخلصات العينات بالمقارنة ببقع المركبات القياسية . ويستخدم فى ذلك البلانتيميتر مع او بدون ورق المربعات او وزن الورق الذى يمثل مساحة البقعة بعد قطعها من نسخة الزيروكس . وفى بعض الحالات يجرى الفحص الالى للبقع مباشرة Direct scanning ولكنه يحتاج خبرة كافية لتفسير النتائج بصورة سليمة . وتختلف الاراء حول دقة ومصداقية النتائج التى يعطيها هذا التكنيك فى مجال مخلفات المبيدات . وجميع هذه الطرق لا يمكن معها القول ان استخدام الاجهزة الاكثر تطورا ضرورية لتحسين النتائج خاصة اذا اخذ فى الاعتبار الاخطاء الناجمة من مصادر اخرى .

لاقامة منحنى قياسى تمثل مساحات البقع للمواد القياسية على طول المحور الرأسى اللوغاريتمى على ورق نصف لوغاريتمى بينما تمثل كميات المبيدات المقابلة لكل دقيقة على المحور الافقى للتدرج . ومن ثم يؤدى بحساب ورسم العلاقة الخطية للإنحدار .

للكشف عن المخلفات فى المواد الغذائية بشكل روتينى لا يكون من الضرورى عمل تقدير كمى دقيق جدا ولكن المهم هو معرفة وتحديد ما اذا كان الحدود القصوى للمخلفات زادت عن القيم المحددة والمطلوبة ام لا . وفى هذه الحالة يكون كافيا استخدام بقعة واحدة قياسية تماثل قيمة الـ MRL فى محلول العينة .

التقدير الحيوى باستخدام الدروسوفيلا Bioassay with Drosophila :

من العوامل المحددة لنجاح الاختبار ضمان تجانس الكائنات الحية المستخدمة وتربيتها تحت ظروف ملائمة ثابتة . ويجب عدم تحديد الذباب حتى يمكن نقله لطبق الاختبار . ولأجراد التقدير الكمى باستخدام الذباب يجب توزيع المستخلص على نصفى مسطح طبق الاختبار بصورة متجانسة . ويكون التقدير سهلا عندما يتم حصر الحشرات المسممة على فترات (متوالية هندسية من ١٥ دقيقة الى ٦ ساعات) . ويتم تمثيل النسب المئوية للموت على ورق الاحتمالات فى مقابل وقت اخذ القراءة . ومن الخط المستقيم الناتج يمكن الحصول على الوقت اللازم لتحقيق قتل ٥٠ ٪ من الحشرات (LT5O) ويمكن الحصول على نفس النتيجة بطريقة حسابية حيث يتم تحويل قيم الموت الكلية الى وحدات احتمال وتمثيلها على طول التدريج الخطى . وتتخذ قيم الـ LT5O كمعيار لكمية المبيد الموجودة . ولاقامة المنحنى القياس يتم تمثيل قيم LT5O فى مقابل كميات المبيدات المقابلة كلاهما على التدريج اللوغاريتمى .

الطرق اللونية للداى ثيو كربامات Colorimetry for dithiocarbamates :

التسخين السريع جدا الى الغليان ضرورى لتفادى فقد ثانى كبريتور الكربون الناتج من تكوين المشتقات الحلقية من الاثيلين ثنائى الدايثيوكربامات . ويعتبر محتوى النحاس (١٢ ملليجم خلات نحاس) الخاصة بالجوهر الكشاف داى ايثانول امين عامل محدد لكثافة اللون ومن ثم يجب ان يظل ثابتا . ولا يمكن الاستمرار فى تقييم امتصاص ما يقل عن ١ ر (تعادل ٥٠ ملليجم ثانى كبريتور كربون) نظرا لعدم خطية المنحنى القياسى . وفى هذه الحالات يصبح لزاما على القائم بالتحليل تكرار عملية التقدير باستخدام حجم كبير من العينة .

الطرق الموصى بها للتقدر الكمى Procedures recommended for quantitation

خطوات التقدير Determination step :

عموما نأخذ فى الاعتبار معايير الطرق المبسطة والطرق الكمية للتقديرات يمكن التوصية بعدة طرق مختلفة لاحدى عشر مجموعة من مبيدات الآفات المعروف عنها كل ما يتعلق بالسمية والثبات . بالطبع ستعطى اولوية للطرق التى تحقق معلومات عن الكيف والنوعية . والقائمة الموجودة فى الجدول رقم (٢) توضح امكانيات التحليل المتوفرة والتى اسفرت عنها الخبرات الطويلة فى هذا المجال .

الاستخلاص والتنظيف Extraction and clean up :

معظم الطرق الكمية الموصى بها فى الوقت الحالى كطرق مبسطة ظهرت فى بداية الستينيات عندما لم يكن الكروماتوجرافى الغازى السائل GLC شائعاً فى التحليلات فى ذلك الوقت . وفى نفس الوقت حدث تطور كبير فى طرق تنظيف المستخلصات ، ولهذا السبب يمكن عمل تحويرات وتطويرات على الطرق الاولية التى ظهرت قديما بما يتمشى مع المتطلبات الحالية .

* الاستخلاص Extraction .. تستخلص العينات بمذيب الاسيتون ويفضل الاسيتونتريل مع المبيدات الكلورينية فقط . يؤخذ في الاعتبار المحتوى المائى للعينة ويستخدم مخلوط الأسيتون والماء بنسبة ٢ : ١ خلال الاستخلاص . ويشبع المستخلص بكلوريد الصوديوم ويخفف بالدايكلوروميثان لفصل الماء المرافق للاستخلاص (التخفيف بالماء والتوزيع المتتابع غير ملائم بسبب فقد المبيدات الذائبة فى الماء) . والمستخلصات المركـــزة يمكن تحليلها بالطرق الحيوية او بوسائل التثبيط الانزيمى .

جدول (٢) : الطرق المبسطة الموصى بها للتعريف المتتابع والتقدير الكمى لمخلفات المبيدات .

مجموعات المبيدات	الطـــــرق	المراجـــع
المبيدات الكلورينية العضوية	TLC – نترات الفضة / UV	٨ – ٥
	التقدير الحيوى بالدروسوفيلا (كمى فقط)	١٢ – ٩
المبيدات الفوسفورية العضوية	TLC – تثبيط استرازات كبد البقر	١٥ – ١٣
	التقدير الحيوى بالدروسوفيلا (كمى فقط)	١٢ – ٩
	تثبيط الكولين استريز بانتشار الاجار (كمى فقط)	١٨ – ١٦
الميثيل كاربامات	TLC – تثبيط استرازات كبد البقر	١٥ – ١٣
	التقدير الحيوى بالدروسوفيلا (كمى فقط)	١٥ – ١٣
	تثبيط الكولين استريز بانتشار الاجار (كمى فقط)	١٨ – ١٦
	الكروماتوجرافى HPLC والتقدير بالـ UV	٢٢ – ١٩
الدايناتروفينول	الكروماتوجرافى HPLC والتقدير بالـ UV	٢٣
الداى ثيوكربامات	هضم الحامض – التقدير اللونى لثانى كبريتور الكربون	٢٥ – ٢٤
مبيدات فطرية اخرى	TLC – تثبيط نمو جراثيم الفطريات	٢٧ – ٢٦
	TLC – نترات الفضة / UV (المخلفات المحتوية	
على الهالوجينات فقط		٢٨
الترايازينات	TLC – تثبيط تفاعل Hill	٣١ – ٢٩

* كروماتوجرافى الجيل المنفذ Gel-permeation chromatography :

التنظيف باستخدام عمود فصل بسيط Gpc يمكن من فصل مرافقات الاستخلاص الزائدة ولكنه لا يستطيع التفرقة بين المخلفات ذات القطبية المختلفة مما يعطيها صفة الخطوة الدولية للتنقية (مثال ذلك طريقة الكريات الحيوية S-X 3 التى تزاح مع السيكلوهكسان / ايثيل اسيتات ١+ ١) . والسائل المزاح المركز يمكن تحليل بطريقة كروماتوجرافى الالواح TLC مع التثبيط الانزيمى أو طرق التقييم الحيوى .

الادمصاص الكرماتوجرافى Adsorption chromatography :

خطوات التنظيف الإضافية باستخدام السليكا جيل او الالومينا او مخلوط السليكا جيل / الشاركول فى الاعمدة يحقق تنقية اكثر تخصصا للمستخلص . وأنابيب البلاستيك القابلة للاستهلاك مع السليكا جيل او C - 18 كمادة مغلفة او الفلوريسيل مع استخدام الحقن الخاصة بحقن تحت الجلد تعتبر مناسبة فى العديد من الحالات . والسوائل المركزة المزاحة من العمود يمكن تحليلها بكروماتوجرافى الالواح مع الكشف المرئى عن البقع .

والمتطلبات الاساسية لاستخدام الطرق المبسطة ان تحقق نتائج التقدير الكمى توافقاً نسبيا مع ما يعطيه الكروماتوجرافى الغازى السائل GLC . ولقد امكن الحصول على نتائج ممتازة عن المخلفات باستخدام هذه الطرق المبسطة وما زال هناك قليل من عدم الثقة من تأكيد هذه النتائج اذا ما اجرى التحليل مرات اخرى باستخدام الـ GLC والـ TLC .

ومن المعتقد ان القليل فقط منشور عن امكانيات هذه الطرق المبسطة مما يؤكد ضرورة توفر معلومات اضافية اخرى فى بعض المعامل . وهذا حقيقى فى البلدان التى امكن تقييم قياسية هذه الطرق فى معاملها . والتقرير رقم ١٣ الذى اعدته هيئة IUPAC عن مبيدات الآفات (المرجع الاول) يلخص البيانات النسبية التى تحصل عليها من طرق الـ GLC والـ TLC . وقد قدم الباحث M. A. Klisenko (مرجع ١٤) اسهامات اخرى فى معامل فى الاتحاد السوفييتى . وفى الجدول (٣) تم توضيح هذه النتائج مقارنة بين كفاءة الطرق المبسطة وتلك الاكثر تقدما فى التقدير الكمى لمخلفات المبيدات .

جدول (٣) : معدل الاسترجاع وحساسية التقدير لمختلف المبيدات بالكروماتوجرافى الغازى السائل GLC وكروماتوجرافى الالواح TLC الرقيقة .

المبيد	الوسط	كروماتوجرافى الالواح		الكروماتوجرافى الغازى السائل	
		معدل الاسترجاع (٪)	حد التقدير ملليجم/كجم	معدل الاسترجاع (٪)	حد التقدير ملليجم/كجم
بنتازون	الذرة	٨٨ ± ١٢	٢ر	٧١ ± ٨	٠٥ر
	الماء	٩٠ ± ٦	٠٥ر	٩١ ± ٥	٠١ر
	التربة	٧٣ ± ١٠	١ر	٨٩ ± ٧	٠٣ر
كلوربيريفوس	الخضروات	٩٦ ± ٤	١ر	٩٦ ± ٢	٠٠٥ر
ديازينون	الخضروات	٩٢ ± ٧	٢ر	٩٤ ± ٨	٠٥ر
	التربة	٨٥ ± ١٠	٢ر	٨٥ ± ٢	٠٥ر
فينيتروثيون	الذرة	٧٢ ± ١١	١ر	٨١ ± ٥	٠٢ر
		٨٩ ± ١٠	٥,٠٢		
ايزوفوس	الارز	٨٣ ± ١٢	٠٥ر	٩١ ± ٥	٠٣ر
	الماء	٩٠ ± ١٠	٠٠١ر	٩٥ ± ٥	٠٠٥ر
	التربية	٨١ ± ١١	٠٥ر	٨٦ ± ١٠	٠١ر
ميثازين	التربة	٨٥ ± ٣	٠٥ر	٨١ ± ٩	٠٥ر
اوكساديازون	الارز	٧٥ ± ١٣	٠٥ر	٨٥ ± ٦	٠٤ر
الفوكسيم	الخضروات	٨٥ ± ٣	١ر	٧٦ ± ٩	٠٠٤ر
	التربة	٩٢ ± ٣	١ر	٩٤ ± ٦	٠٠٤ر
البربميفوس	الخضروات	٨٦ ± ٣	١ر	٨٩ ± ٣	٠٠٢ر
	التربة	٩٥ ± ٣	١ر	٩٥ ± ٣	٠٠٢ر
ترياسيل	الفواكه	٨٠ ± ١٠	١ر	٨١ ± ٧	٠٢ر
	الماء	٨٧ ± ١٠	٠١ر	٨٩ ± ٦	٠٠٥ر
	التربة	٧٤ ± ٧	١ر	٧٩ ± ٦	٠٣ر

* مقدرة انزيميا

obeikandl.com

REFERENCES قائمة المراجع

1. V. Bátora, S. Lj. vitorovic, H. P. Thier and M. A. klisenko, Pure Appl. Chem. 53, 1039-1049 (1981).

2. M. Beroza, K. R. Hill and K. H. Norris, Anal. Chem. 40, 1608-1613 (1968).

3. J. D. MacNeil and R. W. Frei, J. Chromatogr. Sci. 13, 279-285 (1975).

4. V. N. Mallet, P. E. Belliveau and R. W. Frei, Residue Rev. 59, 51-90 (1975).

5. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 13th edition, Washington (1980); section 29. 019-29.027.

6. Pesticide Analytical manual, U. S. Department of Health, Education and Welfare, FDA (1977); vol. I, section 410.1-413.2.

7. Deutche Forschungsgemeinschaft, Rückstandsanalytik von Pflanzenschutzmitteln, Verlag Chemie, Weinheim-New York (1979); method S 9.

8. Zentralinstitut für Ernährung Potsdam-Rehbrücke, Nahrung 14, 647-659 (1970).

9. W. Weinmann, z. lebensm, Unters. Forsch. 107, 504-510 (1958).

10. Y. P. Sun, Bioassay-Insects. In : Analytical Methods for Pesticides, Plant Growth Regulators, and Food Additives, G. Zweig ed., Academic Press, New York-London (1963); vol. I, P. 399-423.

11. W. F. Phillips, Screening Methods. In : Analytical methods for Pesticides, Plant Growth Regulators, and Food Additives, G. Zweig ed., Academic press, New York-London (1963); vol. I, p. 471-490.

12. H. Rothert, Dtsch. Lebensm. Rundsch, 63, 81-85 (1967).

13. Zentralinstitut für Ernährung Potsdam-Rehbrücke, Nahrung 14, 671-681 (1970).

14. C. E. Mendoza, Residue Rev. 43, 105-142 (1972).; 50, 43-72 (1974).

15. S. Udaya Bhaskar and N. V. nanda kumar, J. Assoc. Off. Anal. Chem. 64, 1312-1314 (1981).

16. T. E. Archer, enzymatic Methods. In : Analytical Methods for Pesticides, Plant Growth Regulators, and Food Additives, G. Zweig ed., Academic Press, New York-London (1963); vol. I, p. 373-397.

Obeikandl.com

17. G. Voss, Residue Rev. 23, 71-95 (1968).

18. Zentralinstitut für Ernährung Potsdam-Rehbrücke, Nahrung 14, 695-697 (1970).

19. J. F. lawrence, J. Agric. Food Chem. 25, 211-212 (1977).

20. I. Fogy, E. R. Schmid and J. F. K. Huber, Z. Lebensm. Unters. Forsch. 169, 438-443 (1979); 170, 194-199 (1980).

21. R. T. Krause, J. Assoc. Off. Anal. Chem. 63, 1114-1124 (1980).

22. F. H. Funch, Z/ Lebensm. Unters. Forsch. 173, 95-98 (1981).

23. P. A. Greve, Personal Communication (1981).

24. G. E. Keppel, J. Assoc. Off. Anal. Chem. 54, 528-532 (1971).

25. Deutsche Forschungsgemeinschaft, Rückstandsanalytik von Pflanzenschutzmitteln, Verlag Chemie, Weinheim-New York (1979); method S 15.

26. R. Engst and W. Schnaak, nahrung 23, 701-706 (1979).

27. J. Zadrozinska, Rocz. Panstw. Zakl. Hig. 30, 31-37, 433-440 (1979).

28. Zentralinstitut für Ernährung Potsdam-Rehbrücke, Nahrung 14, 703-706 (1970).

29. J. Kovac and M. Henselová, J. Chromatogr. 133, 420-422 (1977).

30. M. Sackmauerová and J. Kovác, Fresenius Z. Anal. Chem. 2929, 414-415 (1978).

31. J. F. Lawrence, J. Assoc. Off. Anal. Chem. 63, 758-761 (1980).

32. W. Specht and M. Tillkes, Fresenius Z. Anal. Chem. 301, 300-307 (1980).

33. A. Ambrus, J. Lantos, E. Visi, I. Csatlos and L. Sárvári, J. Assoc. Off. anal. Chem. 64, 733-742 (1981).

34. M. A. Klisenko, Personal communication (1982).

obeikandl.com