

尿液中農藥及其代謝物之偵測方法

李 國 欽 李 宏 萍*

一、引 言

爲了達到農業增產的目的，農藥施用於水稻田、菜圃等，似乎是不可或缺的事，因此取食物中多少都會有農藥殘留的現象發生。爲了解人體接觸農藥的情形，可由人體脂肪組織、血液、尿液中偵測出農藥經人體代謝後之產物，但由於人體脂肪組織、血液在採樣上受限制，故由尿液中偵測農藥代謝物採樣方便且可以預估接觸、吸食農藥之含量及生物代謝之情形，進一步可推測出生活環境中農藥對人體污染之情形。本篇僅就有關於尿液中偵測農藥及其代謝物之分析方法，偵測到的尿液中農藥及其代謝物之實例報告加以整理，以謀日後做有關此方面研究之參考。期能建立一快速、簡單、敏感度高，且有選擇性的尿液中農藥及其代謝物殘留量之分析方法，而適用於例行大量樣品分析之用。

二、尿液中偵測農藥及其代謝物之種類

由尿液中偵測農藥及其代謝物可分爲下列幾類：

(一) 酚類化合物 (Phenolic Compounds) (表 1)

爲許多農藥及非農藥工業化合物之代謝產物。

(二) 苯氧酸類化合物 (Phenoxy Acids) (表 2)。

主要爲殺草劑。

(三) 烷基磷酸類化合物 (Alkyl Phosphates) (表 3)。

主要爲毒性高且廣泛使用的有機磷劑農藥。

(四) 苯胺類化合物 (Anilines) (表 4)。

爲廣泛使用的農藥及非農藥工業上的污染物，其來源包括工業上脫色 (漂白)、農藥代謝、染料、塑膠的燃燒和脲酯 (氨基甲酸酯) 之產物⁽¹²⁾。

(五) 三氮吡系化合物 (Triazines) (表 5)

爲廣泛使用的殺草劑。

(六) 其它類化合物 (Others) (表 6)

三、偵測農藥及其代謝物在尿液中之分析方法

(一) 比色法 (Colorimetric Methods)^(27, 48)

早期 (1960 年) 分析尿液中農藥代謝之方

法，尿液經酸水解、萃取、顯色後測定之，此方法分析尿液量需很大 (100 ml)，且干擾很大，選擇性差，敏感度差，故目前不採用此法分析。

(二) 放射性 C¹⁴ 測定之方法^(1, 6, 8, 15, 29, 36, 41, 42)

此方法適用於追蹤農藥在生物體代謝之測定，將尿液樣品 (20 μ l ~ 1 ml) 經酸水解後，以溶劑萃取出 C¹⁴ 之農藥化合物，經淨化步驟後，由 TLC 或 GLC 分離出各代謝物，再由計數器測定 C¹⁴ 輻射量，而測定出農藥代謝之含量。此方法所需尿液量少，敏感度高，但限於農藥追蹤之測定及新農藥之研究用，對於一般樣品之調查分析不適合。

(三) 氣液層分析儀 (GLC) 測定法

此方法適用於一般樣品之分析，農藥及其代謝物由氣液層分析儀 (GLC) 有附電子捕獲式檢出器 (ECD)，火焰光量檢出器 (FPD) 或氮一磷檢出器 (NPD) 測定之。尿液樣品 (1 ~ 5 ml) 敏感度高，目前常使用此法分析尿液中農藥及其代謝物。依下列幾步驟分析之。

1. 水解反應 (Conjugate Hydrolysis)

當農藥經人體代謝後由尿液排泄出時，常會與配糖體 (Glucoside) 形成共軛 (Conjugate) 之情形排泄出⁽³⁹⁾，故必須先將此鍵結打斷，才能偵測出農藥代謝物。通常以濃鹽酸或 50 % 硫酸加入尿液中，在 100 °C 水浴上迴流 30 分鐘至 1 小時。或是以葡萄糖苷酸酶 (β -glucuronidase) 400 unit，在 pH = 4.0 的醋酸鹽的

*臺灣植物保護中心農藥殘量組組長及研究助理。

表 1. 尿液中農藥代謝後之酚類化合物

農藥普通名稱	代謝產物
(一) 有機磷劑 ^(18,31,46)	
Bromophos	2,5-Dichloro 4-bromphenol
Chloropyrifos	3,5,6-Trichloro 2-pyridinol
Crufomate	4-Tert-butyl 2-chlorophenol
Dicapthon	2-Chloro 4-nitrophenol
Dichlofenthion	2,4-Dichlorophenol
DNOC	4,6-Dinitro o-cresol
EPN	para-Nitrophenol
Ethyl Parathion	para-Nitrophenol
Fenitrothion	para-Nitrocresol
Iodofenphos	2,5-Dichloro 4-iodophenol
Methyl Parathion	para-Nitrophenol
Ronnel	2,4,5-Trichlorophenol
Tetrachlorvinphos	2,4,5-Trichlorophenol
(二) 氨基甲酸鹽類 ^(1,15,19)	
Bendiocarb	2,2-Dimethylbenzo 1,3-dioxol 4-ol
Carbary	1-Naphthol
Carbofuran	2,3-Dihydro 2,2-dimethyl 7- hydroxybenzofuran (2,3-Dihydro 2,2-dimethyl 7- hydroxy 3-ketobenzofuran)
CPMC	2,Chlorophenol
Landrin	3,4,5 and 2,3,5 isomers trimethyl phenol
Methiocarb	3,5-Dimethy 4-(methylthio) phenol
Mexacarbate	4-Dimethylamino 3,5-xlenol
MIPC	2-Isopropylphenol
Mobam	4-Benzothienol
Plifenate	2,2,2-Trichlorophenol
(三) 有機氯劑 ^(29,31,56)	
HCB	Pentachlorophenol
Hexachlorophene	2,2'-methylene bis(3,4,6- trichlorophenol)
Lindane (r-BHC)	2,4,5-Trichlorophenol
PCP	Pentachlorophenol

表 2 尿液中農藥代謝後之苯氧酸類化合物^(5,17,21,24,49)

農藥普通名稱	代謝產物
Benazolin	4-Chloro 2-oxobenzothiazolin 3-yl acetic acid
2,4-D	2,4-Dichlorophenoxy acetic acid
Dicamba	2-Methoxy 3,6-dichlorobenzoic acid
Dichloroprop	2-(2,4-Dichlorophenoxy) propionic acid
MCPA	4-Chloro 2-methylphenoxy acetic acid
MCPB	4-[(4-Chloro o-tolyl)oxy] butyric acid
MCPP (Mecoprop)	2-(4-Chloro 2-methylphenoxy) propanoic acid
Picloram	4-Amino 3,5,6-trichloro picolinic acid
Silvex (2,4,5-TP)	2-(2,4,5-Trichlorophenoxy) propionic acid
2,4,5-T	2,4,5-Trichlorophenoxy acetic acid
2,4,5-TB	4-(2,4,5-Trichlorophenoxy) butyric acid
2,3,6-TBA	2,3,6-Trichlorobenzoic acid

表 3 尿液中農藥代謝後之烷基磷酸類化合物^(9,10,37,43,45,47)

農藥普通名稱	代謝產物
Carbophenothion	0,0-Diethyl phosphorodithioate (DEDTP)
	0,0-Diethyl phosphorothioate (DETP)
DDVP	0,0-Dimethyl phosphate (DMP)
Ethyl Parathion	0,0-Diethyl phosphorothionate (DETP)
Malathion	0,0-Dimethyl phosphorothionate (DMTP)
	0,0-Dimethyl phosphorodithioate (DMDTP)
Methyl Parathion	DMTP
Mevinphos	DMP
Monocrotophos	DMP
有機磷劑	0,0-Diethyl phosphate (DEP)
	0,0,0-Trimethyl phosphate (TMP)
	0,0-Diethyl 0-methyl phosphate (DEMP)
	0,0-Diethyl 0-methyl phosphoro- thionate (DEMTP)
	0,0-Dimethyl S-methyl phosphoro- thiolate (DEMPTh)

	O,O-Diethyl O-methyl phosphorothioate (DEMDTP)
	O,O,O-Trimethyl phosphorodithioate (TMDTP)
	O,O-Dimethyl O-ethyl phosphate (DMEP)
	O,O-Dimethyl O-ethyl phosphorothionate (DMETP)
	O,O-Dimethyl S-ethyl phosphorothiolate (DMEPTH)
	O,O,O-Triethyl phosphate (TEP)
	O,O-Dimethyl O-amyl phosphate (DMAP)
	O,O-Diethyl O-amyl phosphate (DEAP)
	O,O-Dimethyl O-amyl phosphorothionate (DMATP)
	O,O-Diethyl O-amyl phosphorothionate (DEATP)
	O,O-Dimethyl S-amyl phosphorothiolate (DMAPTh)
	O,O-Diethyl S-amyl phosphorothiolate (DEAPTh)
	O,O-Dimethyl S-amyl phosphorodithioate (DMADTP)
	O,O-Diethyl S-amyl phosphorodithioate (DEADTP)
	O,O,O-Triamyl phosphate (TAP)

表 4. 尿液中農藥代謝後之苯胺類化合物⁽¹¹⁾

農藥普通名稱	代謝產物
(一) Anilide (醃基苯胺)	
Propanil	3,4-Dichloroaniline
(二) Carbamate (氨基甲酸鹽類)	
Barban	m-Chloroaniline
Carbetamide	Aniline
Chloropropham	m-Chloroaniline
Propham	Aniline
(三) Urea (尿素類)	
Chlorotoluron	3-Chloro 4-methyl aniline
Diuron	3,4-Dichloroaniline
Fenuron	Aniline
Linuron	3,4-Dichloroaniline
Monolinuron	p-Chloroaniline
Monuron	p-Chloroaniline
Mohuron TCA	p-Chloroaniline
Neburon	3,4-Dichloroaniline

表 5. 尿液中農藥代謝之三氮嘧系化合物^(5,13,27,28)

農藥普通名稱	代謝產物
Ametryn	2-(ethylamino)-4-isopropylamino-6-methylthio-s-triazine
Atraton	2-(ethylamino)-4-isopropylamino-6-methoxy-s-triazine
Atrazine	2-Chloro-4,6-diamino-s-triazine
Cyanazine	2-(4-Chloro-6-ethylamino-s-triazine-2-ylamino)-2-methyl propionitrile
Cyprazine	2-Chloro-4-(cyclopropylamino)-6-(isopropylamino)-s-triazine
Desmetryn	2-isopropylamino-4-methylamino-6-methylthio-s-triazine
Procyazine	2-[4-chloro-6-(cyclopropylamino)-1,3,5-triazine-2-yl]amino-2-methyl propanenitrile
Prometon	2,4-bis(isopropylamino)-6-methoxy-s-triazine
Prometryn	2,4-bis(isopropylamino)-6-(methylthio)-s-triazine
Propazine	2-Chloro-4,6-diamino-s-triazine
Simazine	2-Chloro-4,6-diamino-s-triazine
Sumitol	2-sec-butylamino-4-ethylamino-6-methoxy-s-triazine
Terbutryn	2-tert-butylamino-4-ethylamino-6-methylthio-s-triazine

表 6. 尿液中農藥代謝後之其他產物⁽³⁸⁾

農藥普通名稱	代謝產物
DBCP	2-Bromoacrylic acid
Diallate	2,3-Dichloroacrylic acid
OCPE	2,3,3-Trichloroacrylic acid
Sulfallate	2-Chloroacrylic acid
Triallate	2,3,3-Trichloroacrylic acid
tris-BP	2-Bromoacrylic acid

緩衝溶液 (0.2M, 2ml) 下, 在恒溫箱 37°C 中, 15 小時至 24 小時亦可達水解之作用^(2,7)。

2. 萃取 (Extraction)

萃取目的主要是將農藥及其代謝物藉有機溶劑由尿液中析出, 因為各化合物在不同情況下才會溶於有機溶劑中, 例如苯氧酸類, 烷基磷酸鹽類在酸性溶液中, 酚類化合物在弱酸溶液中, 三氮嘧系化合物在鹼性溶液中 (pH=12), 苯胺

類化合物在弱鹼性溶液中才能被有機溶劑萃取出, 因此萃取前先調整 pH 值是非常重要的步驟。⁽³⁷⁾。

除了由有機溶劑藉分液漏斗萃取外, 另外含氯酚類之化合物可藉 Amberlite XAD-2, XAD-4 樹脂淨化管, 吸附一些干擾物, 以 10% 2-Propanol / n-Hexane 溶劑以析出含氯酚類⁽²⁶⁾, 有機磷酸鹽類可以藉 ion-pair 萃取

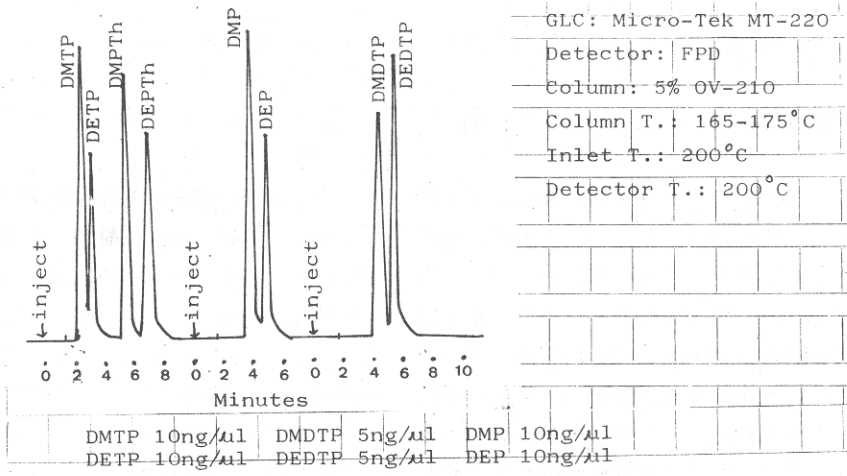


圖 1. 有機磷劑農藥代謝產物之氣液層析圖⁽⁴⁷⁾

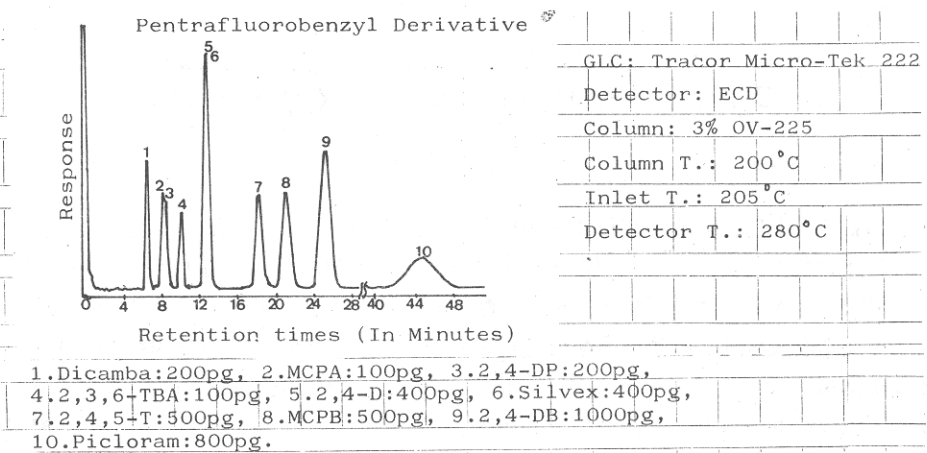


圖 2. 農藥之苯氧酸類代謝產物之氣液層析圖⁽¹⁷⁾

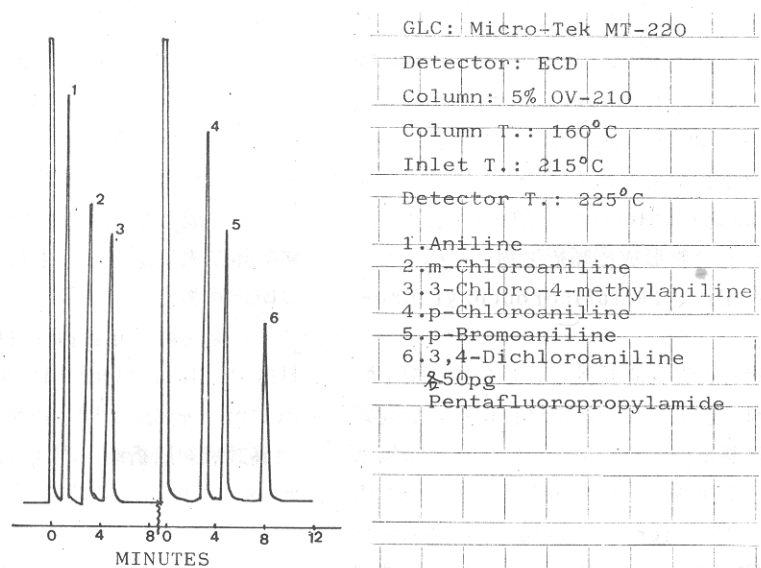


圖 3. 農藥之苯胺類代謝產物之氣液層析圖⁽¹¹⁾

尿液中農藥及其代謝物之偵測方法

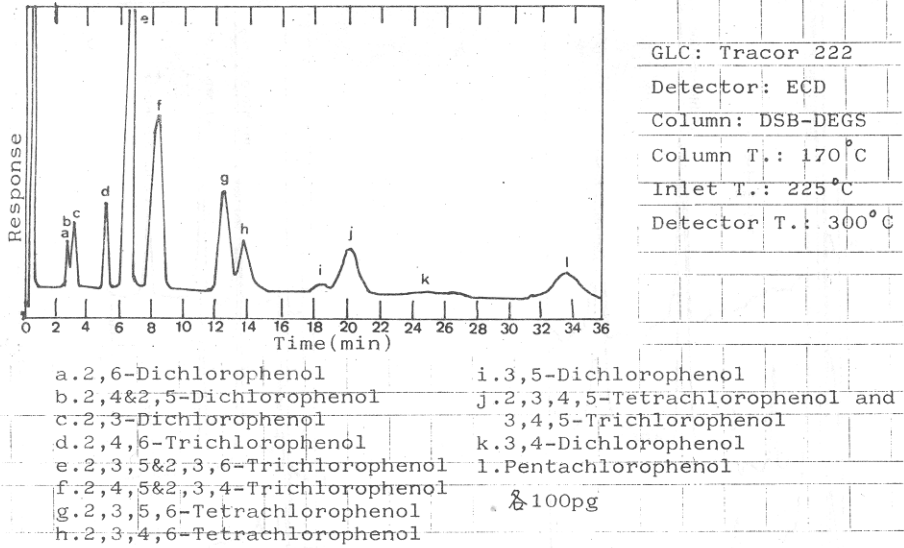


圖 4. 未經反應成衍生物之酚類代謝物之氣液層析圖⁽²⁶⁾

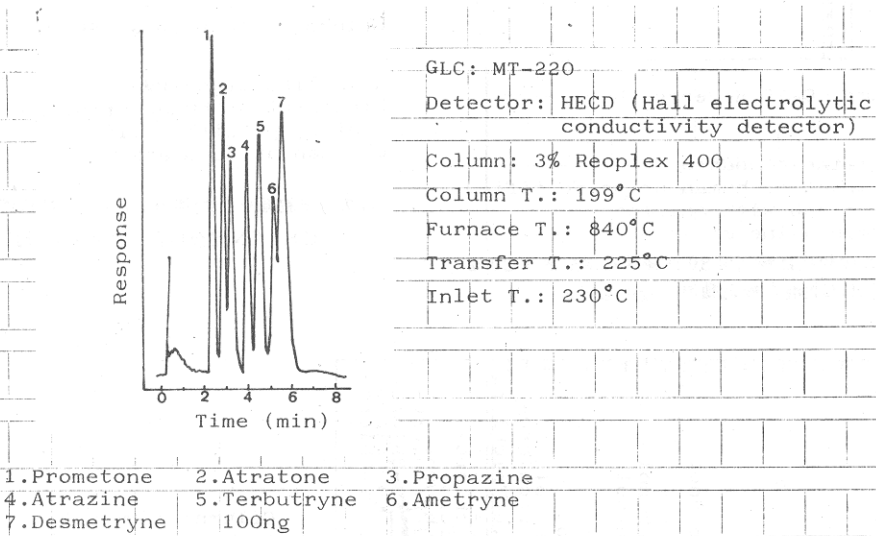
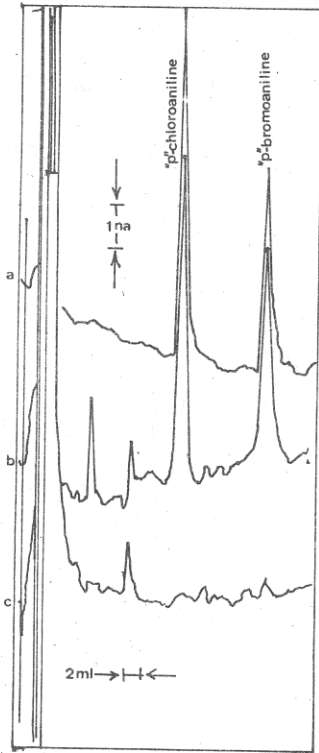


圖 5. 三氮吡系化合物之氣液層析圖⁽²⁷⁾

，且操作步驟簡單，敏感度高。將尿液樣品經酸水解後，若測定苯胺類時，則調至弱鹼性，然後以正己烷萃取之，再以 5% 磷酸萃取正己烷中之苯胺化合物，磷酸液即可直接注入 HPLC。若測定酚類化合物時，將水解後尿液經 XAD-4 樹脂，此時酚類被吸附，而將有機化合物除去，然後再以 10% 2-Propanol / n-Hexane 沖洗出酚類後⁽²⁶⁾，直接注入 HPLC 即可。

HPLC 測定時⁽¹²⁾，不同化合物所使用的層

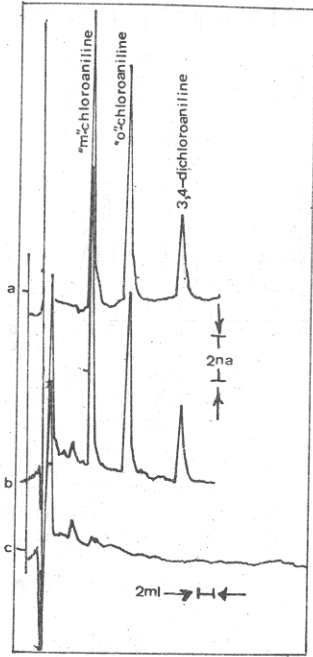
析管及動相溶液均不同，例如測定苯胺類時以 C-18 Reverse-Phase Column 測定 Aniline, p-Chloroaniline 和 p-Bromoaniline 時必須用 80% 磷酸緩衝液 (pH=2.1) 與 20% CH₃CN 混合溶液當動相 (圖 6)。而測定 m-Chloroaniline, o-Chloroaniline, 3,4-Dichloroaniline 時以 60% 磷酸緩衝液 (pH=2.1) 與 40% CH₃CN 混合之溶液當動相 (圖 7)。測定酚類化合物時可依不同層析管



Column: C-18 Reverse-Phase

- a: aniline standards
- b: extract of human urine fortified at 5 ppb with anilines
- c: human urine blank

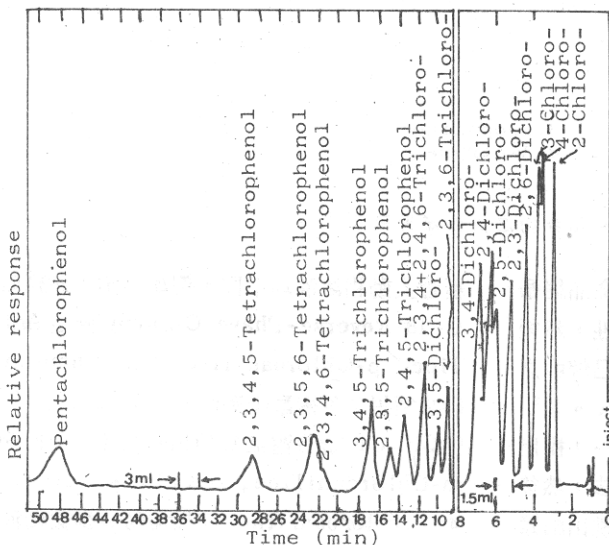
圖 6. 苯胺類化合物利用 80% 磷酸緩衝溶液及 20% CH₃CN 混合液為動相之液態層析圖⁽¹²⁾



Column: C-18 Reverse-Phase

- a: aniline standards
- b: extract of human urine fortified at 5 ppb with anilines
- c: human urine blank

圖 7. 苯胺類化合物利用 60% 磷酸緩衝溶液及 40% CH₃CN 混合為動相之液態層析圖⁽¹²⁾



Column: 15cm C-8

Detector: ECD(CPE)+1.0v
10na FSD

Mobile phase:
65% Methanol
35% 0.007 Phosphate
buffer, pH 2.5

圖 8. 利用 C-8 Reverse-Phase Column 分析酚類化合物之液態層析圖⁽¹²⁾

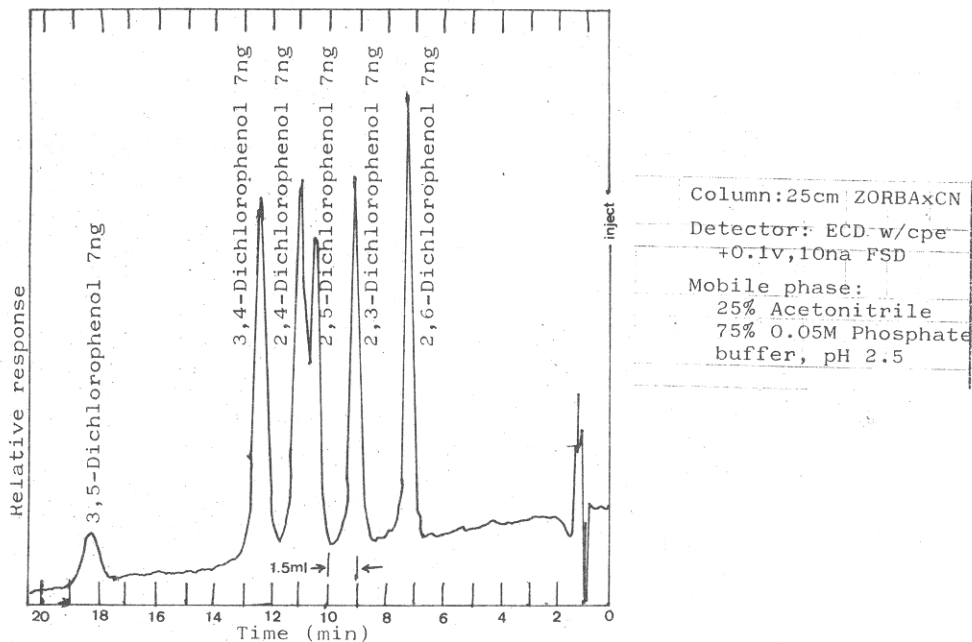


圖 9. 利用 C-8 Reverse - Phase Column 分析酚類化合物之液態層析圖⁽¹²⁾

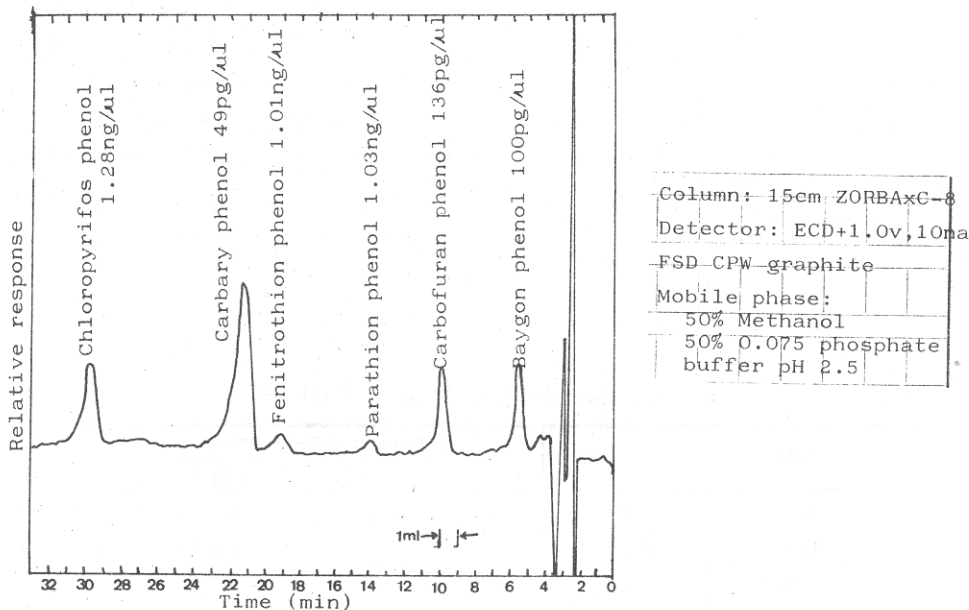
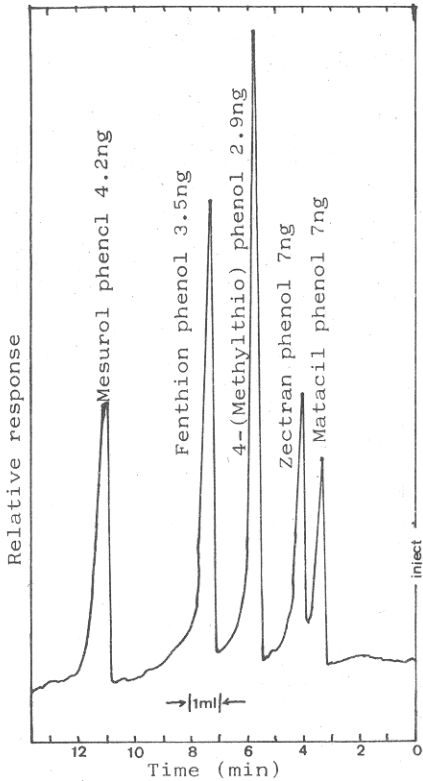


圖 10. 利用 CN Column 分析酚類化合物之液態層析圖⁽¹²⁾



Column:	25cm ZORABx18
Detector:	ECD+10v, 10ng FSD, CPW, graphite
Mobile Phase:	50% Acetonitrile 50% 0.07M Phosphate buffer, pH 2.5

圖 11. 利用 C-18 Column 分析酚類化合物之液態層析圖⁽¹²⁾

而達不同之分離效果，其在 C-8 Reverse-Phase Column 之出現情形見圖 8, 9。在 CN Column 見圖 10, 在 C-18 Column 見圖 11。

四、環境中農藥在人尿液中殘留之實例

由文獻上已有許多分析尿液之方法，然而實際上尿液中是否有殘留農藥之存在，可由表 7 及表 8 之實例上得知。

由表 7 中，顯示大部分人尿液中都有 PCP 殘留發生，由 1981 年報告⁽⁴²⁾ 顯示 PCP 每年生產量 90,000 噸左右，適用於殺草、殺菌、殺蟲、木材防霉、防白蟻... 等方面，世界各國已廣泛使用。由表 8 中，顯示有機磷酸鹽類在尿液中被偵測之比例也相當高。

五、結 論

由尿液中偵測農藥及其代謝物之含量可以當作一指標，預估人體吸取及接觸農藥之情形，因此建立一方便、簡單之尿液中偵測農藥及其代謝物之方法刻不容緩。目前採用氣液層次分析儀之方法較為普遍，三氮吡系類殺草劑可由 GLC - NPd 或 GLC - HECD 測定，而不需經反應成衍生物即可達很低之偵測限度。酚類化合物、苯甲酸類、有機磷劑、苯胺類，由 GLC - ECD 測定時大部分經反應形成衍生物後測之，可達較低偵測限度。但由於許多反應成衍生物之試劑有很高之毒性，故漸漸有偏向不需反應成衍生物之方法上改進。同樣由 GLC - ECD 測定，但選用特殊

表 7. 在非農藥工作區所測定人尿液中之 PCP⁽²³⁾

人數	分析人數	PCP 在尿液中濃度 (ppm)	
		範圍	中間值
267	267	0.003-1.84	0.040 Hawaii
173	173	0.003-0.570	0.044 Hawaii
6	6	0.002-0.011	— Gr. Britain
20	20	0.010-0.050	— Japan
60	—	—	0.020 Florida

表 8. 測定 267 個人尿液樣品中農藥代謝物之含量⁽⁴⁸⁾

化合物名稱	含藥百分率	含藥人數	大於 0.10 ppm 數
DMTP	90.3	241	8
DETP	70.8	189	21
DMDTP	38.2	101	12
DEDTP	0.4	1	1
DMP	76.7	194	6
DEP	94.0	251	9
PCP	96.3	257	4
Malathion	0.4	1	0
1-Naphthol	10.9	29	6
PNP	6.7	18	5
2,4,5-T	1.5	4	4

之層析管來將酚類化合物分離，及由高效液態層析儀附電化學檢出器偵測，改變動相溶液及選用不同之層析管而將化合物分離之，既方便且可達很高之敏感度。

雖然由實例上可知農藥及其代謝物在尿液中確實有被發現之情形，然而由所測得之數據之多少很難直接判斷吸食或接觸農藥之多寡，因為不

同之農藥有不同代謝時間，且有些農藥有累積體內之現象，因此僅以尿液中偵測農藥之量很難對此農藥對人之安全做一評估，必須還要再建立農藥對生物吸食後由尿液排泄出農藥量之關係資料，進一步對人吸食農藥做一安全評估，及對環境中農藥之污染做一個改進。

引用文獻

- Adcock, J.W. & I.R. Challis 1981 Pestic. Sci. 12:645-648.
- Adlard, E.R., C.B.Milne & P.E.Tindle 1981 Chromatographia 14(9)507-509.
- Allsup, T. & D. Walsh 1982 Jour. of Chromatograph 236:421-428.
- Agemian, H. & A.S.Y. Chau 1976 Analyst 101:732-737.
- Agemian, H. & A.S.Y. Chau 1977 Jour. of the AOAC 60(5)1070-1075.
- Bakke, J.E. & C.E.Price 1973 Jour. Agric. Food Chem. 21(4)640-644.
- Bakke, O.M. & R.R.Scheline 1969 Analytical Biochemistry 27:451-462.
- Barnett, J.R. & H.W.Dorough 1974 Jour. Agric. Food Chem. 22(4)612-619.
- Balair, D. & H.R.Roderick 1976 Jour. Agric. Food Chem. 24(6)1221-1223.
- Bradway, D.E. & T.M.Shafik 1977 Jour. Agric. Food Chem. 25(6)1342-1344.
- Bradway, D.E. & T.Shafik 1977 Jour. of Chromatographic Science 15:322-328.
- Bradway, D.E., E.M.Lores & T.R.Edgerton 1980 Residue Reviews 75:51-65.
- Bradway, D.E. & R.F.Mosoman 1982 Jour. Agric. Food Chem. 30(2)244-247.
- Brady, S.S., H.F.Enos & K.A.Levy 1980 Bull. Environm. Contam. Toxicol. 24:813-814.
- Challis, I.R. & J.W. Adcock 1981 Pestic. Sci. 12:638-644.
- Chau, A.S.Y. & J.A.Couburn 1974 Jour. of the AOAC 57(2)389-398.
- Chau, A.S.Y. & K.Terry 1976 Jour. of the AOAC 59(3)633-636.
- Coburn, J.A. & A.S.Y. Chau 1974 Jour. of the AOAC 57(6)1272-1278.
- Coburn, J.A., B.D.Ripley & A.S.Y. Chau 1976 Jour. of the AOAC 59(1)188-196.
- Cohen, I.C., J.Norcup, J.H.A.Ruzicka & B.B.Wheals 1970 Jour. Chromatog. 49:215-221.
- De Beer, J.O., C.H.Van Peteghem & A.M.Heyndrickx 1978 Jour. of the AOAC 61(5)1140-1154.
- De Beer J., A.Heyndrickx & C.Van Peteghem 1980 Jour. of Analytical Toxicology 4:91-98.
- Detrick, R.S. 1977 Forest Products Journal 27(6)13-16.
- Drapper, W.M. 1982 Jour. Agric. Food Chem. 30:227-231.
-

- Edgerton, T.R. & R.F.Moseman 1979 *Jour. Agric. Food Chem.* 27(1)195-197. **26.** Edgerton, T.R., R.F.Moseman, E.M. Loes & L.H. Wright 1980 *Anal. Chem.* 52:1774-1777. **27.** Erickson, M.D., C.W.Frank & D.P.Morgan 1979 *Jour. Agric. Food Chem.* 27(4)740-743. **28.** Erickson, M.D., C.W.Frank & D.P.Morgan 1979 *Jour. Agric. Food Chem.* 27(4)743-746. **29.** Gandolfi, A.J. & D.R.Buhler 1977 *Jour. Agric. Food Chem.* 25(1)21-25. **30.** Grupe, A. & G. Spiteller 1981 *Jour. of Chromatograph* 226:301-314. **31.** Ivey, M.C. & D.D.Oehler 1976 *Jour. Agric. Food Chem.* 24(5)1049-1053. **32.** Johnson, A.G. 1973 *Jour. of the AOAC* 56(6)1503-1505. **33.** Kawahara, F.K. 1968 *Analytical Chemistry* 40(6)1009-1010. **34.** Kawahara, F.K. 1968 *Anal. Chem.* 40(13)2073-2075. **35.** Kirby, K.W., J.E. Keiser, J. Groene & E.F. Slach 1979 *Jour. Agric. Chem.* 27(4)757-759. **36.** Klein, A.K. *et al.* 1970 *Jour. Agric. Food Chem.* 18(4)705-708. **37.** Loes, E.M. & D.E. Bradway 1977 *Jour. Agric. Food Chem.* 25(1)75-79. **38.** Marsden, P.J. & J.E. Casida 1982 *Jour. Agric. Food Chem.* 30(4)627-636. **39.** Menzie, C.M. 1969 *Metabolism of Pesticide*. **40.** Needham, L.L., R.E. Cline, S.L. Head & J.A. Liddle 1981 *Jour. of Anal. Toxicology* 5:283-286. **41.** Paulson, G.D. *et al.* 1970 *Jour. Agric. Food Chem.* 18(1)111-115. **42.** Poonawalla, N.H. & F.Korte 1971 *Jour. Agric. Food Chem.* 19(3)467-470. **43.** Reid, S.J. & R.R. Watts 1981 *Jour. of Anal. Toxicology* 5:126-132. **44.** Rosenfeld, J.M. 1978 *Anal. Chem.* 50(6)701-704. **45.** Shafik, M.T., D. Bradway & H.F. Enos 1971 *Jour. Agric. Food Chem.* 19(5)885-889. **46.** Shafik, M.T., H.C. Sullivan & H.R. Enos 1973 *Jour. Agric. Food Chem.* 21(2)295-298. **47.** Shafik, M.T., D.E. Bradway, H.F. Enos & A.R. Yobs 1973 *Jour. Agric. Food Chem.* 21(4) 625-629. **48.** Shafik, M.T. & D.E. Bradway 1976 *Residue Reviews* 62:59-77. **49.** Van Peteghem, C.H. & A.M. Heyndrickx 1976 *Jour. Agric. Food Chem.* 24(3)635-637. **50.** Vengerova, M.S., J. Uhnák, A. Szokolay & A. Kočan 1981 *Jour. Chromatography* 205:194-198.