

Zeitschrift: Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène

Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit

Band: 55 (1964)

Heft: 2

Artikel: Nachweis von Insektizidrückständen (chlorierte Kohlenwasserstoffe, Phosphorsäureester) in bzw. auf Obst und Gemüse mit Hilfe der Papier- und Dünnschichtchromatographie

Autor: Eder, F. / Schoch, H. / Müller, R.

DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-982387>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. [Voir Informations légales.](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. [See Legal notice.](#)

Download PDF: 08.02.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

Summary

In this present work it has been shown that during malolactic fermentation of red wines considerable color reductions (up to 38 %) may occur. It has been proved that they are directly connected with the degradation of citric acid through leuconostoc types and not, as originally supposed, causally connected with that of microbiological degradation of malic acid. The dehydration of citric acid supplies the hydrogen necessary to reduce the wine color. The maximum color loss coincides with the total degradation of citric acid. Immediately afterwards a partial color regeneration may be observed.

Literatur

Mayer K. und Busch Ingrid: Über eine enzymatische Äpfelsäurebestimmung in Wein und Traubensaft. Diese Zeitschr. **54**, 60. (1963).

Nachweis von Insektizidrückständen (chlorierte Kohlenwasserstoffe, Phosphorsäureester) in bzw. auf Obst und Gemüse mit Hilfe der Papier- und Dünnschichtchromatographie

Von *F. Eder, H. Schoch* und *R. Müller*
(Mitteilung aus dem Kantonalen Laboratorium Basel-Stadt)

Einleitung

Mit dem Rückstandsproblem von Insektiziden auf Obst und Gemüse stellt sich zunächst die Frage, wie sich diese Stoffe auf oder in der Pflanze verhalten. Es lassen sich die drei Gruppen von Substanzen unterscheiden:

1. Substanzen, die an der Oberfläche der Pflanzen haften bleiben oder in den äußeren Wachsschichten eingelagert werden. Dazu gehören die meisten chlorierten Kohlenwasserstoffe wie DDT, Methoxychlor, Aldrin, Dieldrin, Lindan, Chlorbenzilat, Chlorpropylat.
2. Substanzen mit Tiefenwirkung, d. h. Stoffe, welche in oder durch die Epidermis der Pflanze dringen, aber von der Pflanze nicht in insektizidwirksamen Mengen verfrachtet werden. Hierzu sind vor allem Phosphorsäureester zu rechnen, die nicht typisch systemische Eigenschaften aufweisen wie Parathion, Diazinon, Sulfotepp und Gusathion, von den Carbaminsäureestern Dimetan.

3. Substanzen mit systemischen Eigenschaften, d. h. Stoffe, welche durch die oberirdischen Organe oder durch die Wurzel aufgenommen, mit dem Saftstrom in der ganzen Pflanze so verteilt werden, daß sie überall insektizidwirksam sind. Als Beispiele seien genannt: viele Phosphorsäureester wie Demeton, Methyldemeton, Thiometon, Phosphamidon, Phosdrin sowie der Carbaminsäureester Isolan.

Diese Gruppeneinteilung kann nicht als absolut aufgefaßt werden, da sich bei den einzelnen Gruppen Übergänge zeigen. So stellen z. B. *Lichtenstein* und *Schulz* (1) fest, daß Lindan, Aldrin und Heptachlor (chlorierte Kohlenwasserstoffe) unter bestimmten Bedingungen in einem gewissen Maße von der Pflanze durch die Wurzel aufgenommen und mit dem Saftstrom transportiert werden. Ebenfalls finden sich bei Phosphorsäureestern mit Tiefenwirkung Übergänge zu solchen mit systemischen Eigenschaften.

Hinsichtlich ihrer chemischen Beständigkeit unterscheiden sich die beiden Gruppen der chlorierten Kohlenwasserstoffe und der Phosphorsäureester sehr stark voneinander.

Die *chlorierten Kohlenwasserstoffe* sind im allgemeinen äußerst beständig, lassen sich doch die meisten mit rauchender Schwefelsäure behandeln, ohne daß sie verändert werden. Diese Stoffe werden üblicherweise von der Pflanze auch nicht abgebaut. Dies gilt jedoch mit einer gewissen Einschränkung, zumal *Cannon/Dekker* (2) und *Lichtenstein/Schulz* (1) gefunden haben, daß Aldrin und Heptachlor von den pflanzlichen Enzymen in ihre entsprechende Oxydationsprodukte Dieldrin und Heptachlorepoxyd umgewandelt werden können. *San Antonio* (3) fand bei Lindan einige Metaboliten, die aber chemisch nicht identifizierbar waren.

Bei den *Phosphorsäureestern* sind die Verhältnisse wesentlich andere und meist auch besser untersucht. Bei den typisch systemischen Substanzen findet ein rascher Um- und Abbau über mehrere Metaboliten statt. Diese sind oft insektizid stärker wirksam als die ursprünglich applizierte Substanz und in ihrem chemischen Verhalten sehr unterschiedlich. Im Zusammenhang mit dem Rückstandsproblem ist es aber wichtig, daß diese Vorgänge bis zur vollständigen Entgiftung der Substanzen führen, wobei Phosphorsäure und weitere ungiftige Spaltprodukte entstehen. Die Geschwindigkeit des Abbaues ist bei den einzelnen Substanzen sehr verschieden und sowohl von der Pflanzenart als auch von der Witterung abhängig, dauert aber bei den meisten Substanzen ca. 4–6 Wochen. Phosdrin wird extrem rasch entgiftet, nach zwei Tagen ist bereits nichts mehr nachzuweisen (*Spencer* und *Robinson* 1960 [4]).

Das Verhalten auf der Pflanze und die Abbaumechanismen sind für die meisten Substanzen weitgehend geklärt. Es seien einige der wichtigsten Arbeiten über dieses Gebiet erwähnt: *Metcalf* et al. (5) (1957), *Fukuto* et al. (6) (1957) und *Bowman* (7) (1957): Thimet. *Metcalf* et al. (8) (1959): Disyston. *Jucker* (9) (1958): Thiometon. *Spencer* und *Robinson* (4) (1960): Phosdrin. *Anliker* et al. (10) (1961): Phosphamidon.

Für die Rückstandsfrage geht aus dem Gesagten folgendes hervor: Bei richtiger Einhaltung der Karenzfristen (Zeitraum zwischen dem letzten Termin der Spritzung und der Ernte), gelangen keine gesundheitsschädlichen Insektizidrückstände bis zum Konsumenten. Die chlorierten Kohlenwasserstoffe (meist nur an der Oberfläche der Pflanze) verwittern und verbleibende Reste werden durch den Regen abgewaschen; die Phosphorsäureester werden durch die Pflanze selbst entgiftet.

Für ein amtliches Laboratorium stellt sich somit die Aufgabe, darüber zu wachen, daß die Karenzfristen von den Obst- und Gemüseproduzenten wirklich eingehalten werden. Dies stellt an eine Analysenmethode folgende wichtige Anforderungen:

1. Es sollen möglichst im gleichen Arbeitsgang alle im Handel befindlichen, stark giftigen Substanzen erfaßt werden.
2. Die Analyse sollte routinemäßig durchgeführt werden können und darf deshalb nicht zuviel Zeit in Anspruch nehmen, da allfällige Beanstandungen vor dem Verkauf der Ware angebracht werden müssen.

Die im folgenden zu diskutierende Methode zerfällt in drei Hauptabschnitte:

1. Extraktion des Pflanzenmaterials.
2. Clean-up, Reinigung des Rohextraktes von pflanzlichen Ballaststoffen, die die chromatographische Identifikation der einzelnen Substanzen stören.
3. Identifikation der Substanzen (Chromatographie).

Aus den erwähnten Anforderungen ergeben sich zwangsläufig auch einige Einschränkungen in bezug auf die Leistungsfähigkeit der anzuwendenden Methode:

Trotz der Verwandtschaft der Substanzen innerhalb der beiden Hauptgruppen von Insektiziden finden sich bei den einzelnen Substanzen doch große chemische Unterschiede (Löslichkeit, Verteilungskoeffizient, Adsorptionsfähigkeit). So wünschbar diese Unterschiede bei der chromatographischen Identifikation der Stoffe sind, um so mehr Schwierigkeiten bieten sie beim kompliziertesten Teil der Analyse, dem Clean-up-Verfahren: bei Ausschüttelungen in einem 2-Phasensystem oder bei der säulenchromatographischen Abtrennung der Störsubstanzen muß für einige Substanzen immer mit mehr oder weniger großen Verlusten gerechnet werden.

Es geht also bei den im folgenden beschriebenen Methoden und Arbeitstechniken darum, ein Optimum zwischen der notwendigen Empfindlichkeit der Methode und der zumutbaren Kompliziertheit zu finden. Die Empfindlichkeit der Methodik erlaubt damit nur relativ grobe Überschreitungen der Norm festzustellen, was uns auch dazu bewog, im Falle der Phosphorsäureester auf die Unterscheidung von Metaboliten zu verzichten.

Es besteht eine ausgedehnte Literatur über den Spurennachweis von Insektiziden, wobei auch eine hohe Empfindlichkeit der Methoden erzielt wird. Diese Arbeiten befassen sich aber alle nur mit einer einzigen oder wenigen chemisch sehr ähnlichen Substanzen. Eine Zusammenfassung findet sich bei *Faderl* (11) (1962).

Die hier beschriebenen Versuche und Methoden sind Erweiterungen und Modifikationen der aus unserem Labor stammenden Arbeit (im folgenden «ursprüngliche Methode» genannt): *Müller, Ernst und Schoch* (12) (1957). Es wurden damals je 4 chlorierte Kohlenwasserstoffe und Phosphorsäureester berücksichtigt. In der Zwischenzeit wurde das Substanzenregister wesentlich erweitert und die Methode zu verfeinern versucht.

1. Extraktion

Mit der Einbeziehung typisch systemischer Phosphorsäureester in den Bereich unserer Untersuchungen und unter Berücksichtigung der Tatsache, daß auch chlorierte Kohlenwasserstoffe in die Gewebe der Pflanze eindringen und zum Teil sogar mit dem Saftstrom transportiert werden können, mußte eine intensive Extraktionsmethode angewandt werden. In der zitierten Abhandlung wurde seinerzeit davon ausgegangen, daß die Substanzen an der Oberfläche der Pflanzen haften bleiben oder höchstens in die äußeren Schichten des Gewebes eindringen. Man nahm deshalb für die Rückstandsbestimmungen nur eine Abwaschung der Oberfläche vor.

Nach dem im einleitenden Kapitel über das Verhalten der Insektizide gegenüber den Pflanzen Gesagten, homogenisierten wir das Pflanzenmaterial und extrahierten es soweit, daß praktisch nur noch farbloses Material zurückblieb. Bei der Extraktion wird nicht unterschieden, ob später auf chlorierte Kohlenwasserstoffe oder Phosphorsäureester geprüft wird. Auf diese Weise erhielten wir einen Rohextrakt, der viel stärker mit unerwünschtem Ballast versehen war, so daß die Reinigungsverfahren ebenfalls geändert werden mußten.

Die Proben werden im Mixer mit Methylenchlorid, unter Zusatz von Natriumsulfat zur Fixierung des Wassers, homogenisiert und anschließend während längerer Zeit auf der Schüttelmaschine extrahiert.

2. Reinigungsverfahren (Clean-up-Verfahren)

Wie bereits darauf hingewiesen stellen die Clean-up-Verfahren die meisten Probleme. Es kommen prinzipiell folgende Operationen zur Abtrennung der Insektizide von den pflanzlichen Stoffen, einzeln oder kombiniert angewendet, in Frage:

1. Behandlung des Rohextraktes mit Oleum (nur bei chlorierten Kohlenwasserstoffen anwendbar) (*Müller* [12] 1957).
2. Wasserdampfdestillation (*Strache* [13] 1961).
3. Ausschütteln in 2-Phasensystem Hexan-Acetonitril (*Radeleff* [14] 1960, *Storherr* [15] 1960 u. a.).
4. Ausnützen partieller Wasserlöslichkeit (*Jucker* [9] 1958, *Laws and Wobley* [16] 1961, *Faderl* [11] 1962).
5. Aussalzen (*Eichenberger und Gay* [17] 1960).

6. Säulenchromatographie in verschiedenen Absorbentien wie:

Celite (O'Brien [18] 1961, Klein [19] 1960, u. a.),
Florisil (McKinley [20] 1960, Ordas [21] 1956, Storberr [15] 1960),
Aluminiumoxyd (Jucker [9] 1958, Storberr [15] 1960, Laws and Web-
ley [16] 1961, Faderl [11] 1962).

Für die beiden Gruppen der chlorierten Kohlenwasserstoffe und der Phosphorsäureester wurden je getrennte Wege der Reinigung gesucht, besonders, da sich für die ersteren das Verfahren etwas einfacher gestaltet.

a) *Chlorierte Kohlenwasserstoffe*

Die ursprüngliche Technik der Entfernung der Wachse wurde nur leicht modifiziert. Der Rohextrakt wird in wenig Petroläther gelöst, Azetonitril zugesetzt und der Petroläther langsam abdestilliert. Dabei fallen die Wachsstoffe bereits aus; durch abkühlen des Kolbens auf mindestens 0 ° wird die Fällung vollständig. Das Verfahren ist, wenn nötig, zu wiederholen. Ebenfalls im Prinzip beibehalten wurde die Ausschüttelung in einem Zweiphasensystem Azetonitril/Hexan, wobei Pentan durch Hexan ersetzt worden ist. Die Insektizide gehen in die Azetonitrilphase, während einige Störsubstanzen in die Hexanphase übertreten. Da jedoch in vielen Fällen die Azetonitrilphase noch beträchtliche Anteile von Farbstoffen aufwies, ergab sich die Notwendigkeit eines weiteren Reinigungsprozesses. Hiefür boten sich zwei Möglichkeiten an: Das schonende Verfahren mit einer Florisilsäule und als radikalere Methode die Reinigung mit rauchender Schwefelsäure (Methode aus der früheren Arbeit in leicht modifizierter Form). Der Reinigungseffekt bei der Behandlung mit Säure ist wesentlich besser als bei der Anwendung der Florisilsäule. Es hat sich aber gezeigt, daß Methoxychlor und Chlorbenzilat bei der Säurebehandlung zerstört werden, so daß diese Methode hiefür nicht angewendet werden kann.

Bezüglich der Reinigung an der Florisilsäule kann kein bestimmtes Schema angewendet werden. Der Extrakt wird in Petroläther auf die Säule gegeben, die Insektizide werden mit Äther in Petroläther eluiert. Der Ätheranteil im Petroläther wird von Fall zu Fall dem Verunreinigungsgrad des Extraktes angepaßt, d. h. er wird so hoch als möglich gehalten, derart, daß gerade nur wenig Pigmente in der Säule wandern. Man erzielt auf diese Weise bei nur schwach gefärbten Extrakten eine höhere Nachweisempfindlichkeit. Bei der Anwendung von weniger als 10 % Äther in Petroläther muß, bei einer Säulenlänge von 5 cm, mit einem Verlust der Insektizide von ca. 10–25 % gerechnet werden. Unter den Wert von 6 % Äther sollte nicht gegangen werden.

Bei der Säurebehandlung wird dem in Hexan gelösten Extrakt unter ständigem Rühren (Vibrator) ein Gemisch von Oleum und konzentrierter Schwefelsäure zutropft. Die Hexanphase wird später abgetrennt, neutral gewaschen und getrocknet.

Das Eluat der Florisilsäule bzw. der getrocknete Hexanextrakt nach der Säurebehandlung sind nun für die Chromatographie bereit.

Bei der Prüfung von Wolle auf chlorierte Kohlenwasserstoffe war die Reinigung des Extraktes in bezug auf die sogenannten Aufheller (Stilbensulfonate) ungenügend. Da diese Stoffe im Dünnschichtchromatogramm andere Rf-Werte als die Insektizide aufwiesen, ließ sich trotzdem eine Beurteilung bewerkstelligen.

b) *Phosphorsäureester*

Wir untersuchten zunächst, ob sich die ursprüngliche Methode auch auf die zusätzlich in die Untersuchung aufgenommenen Substanzen anwenden ließ.

Die Ausschüttelung im Zweiphasensystem Hexan bzw. Pentan/Azetonitril zeigte für mehrere Substanzen eine mehr oder weniger gleichmäßige Verteilung auf die beiden Phasen. Somit wurde dieser Schritt zur Anwendung in einer allgemeinen Methode nicht ausgeführt.

Die Prüfung einer Aluminiumoxydsäule mit Azetonitril als Eluierungsmittel ergab einen sehr geringen Reinigungseffekt. Immerhin konnten die Substanzen im Eluat gefunden werden. Dabei wurde mit aktiviertem Aluminiumoxyd von verschiedenen Gradationen nach *Brockmann* gearbeitet. Mit den gleichen Säulentypen, aber anderen Eluierungsmitteln wie Petroläther, Hexan, Chloroform und Tetrachlorkohlenstoff, konnten zwar innerhalb der Insektizide Selektionen gefunden werden, doch traten jeweils in Parallelversuchen bei Pflanzenextrakten, mit den Insektiziden größere Mengen von Chlorophyll und Xanthophyll aus den Säulen aus. Nach *Laws* und *Webley* (16) soll es zwar möglich sein, eine größere Anzahl von Insektiziden an Aluminiumsäulen mit Petroläther und Ätherzusatz von den Störsubstanzen in genügender Weise abzutrennen.

Mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie, im Sinne der offenen Säulenchromatographie, wurde mit entsprechend kleinen Mengen versucht, ob sich eine Lösungsmittelkombination finden ließe, welche die Insektizide gesamthaft von den Störsubstanzen abzutrennen gestattet. Es wurde eine größere Anzahl von Kombinationen schwach und stark polarer Lösungsmittel unter Verwendung von Kieselgelschichten ausprobiert, wobei sich aber in keinem Fall eine brauchbare Auftrennung ergab, die sich für die Übertragung auf eine Kieselgelsäule zwecks Trennung größerer Mengen geeignet hätte.

Andere Verfahren wie die Wasserdampfdestillation (*Strache* [13] 1961) oder das Aussalzen der Störsubstanzen aus wäßriger Lösung (nach *Eichenberger* und *Gay* [17] 1960) ließen Zersetzung einiger Substanzen oder zu starke Verluste bei der Filtration der Niederschläge erkennen. *Jucker* (9) und *Faderl* (11) zeigen, daß durch Ausschütteln mit Petroläther/Azetonitril und Wasser eine Anzahl von systemischen Stoffen wie Thiometon, Dimethoat, Formothion samt ihren Metaboliten in die wässrige Phase übertreten, wobei eine vorausgehende Reinigung an einer Aluminiumsäule mit Azetonitril als Elutionsmittel genügt.

Laws und *Webley* (16) schlagen für eine größere Anzahl von systemischen und nicht systemischen Substanzen einen Analysengang vor, an dessen Anfang sie eine Aufteilung der Stoffe in eine Petroläther- und in eine Wasser-Methanol-Phase stellen. Die beiden Phasen werden getrennt verarbeitet. Die Petrolätherphase wird an einer Aluminiumoxydsäule (*Brockmann*, Grad V) gereinigt. Man eluiert frak-

tioniert, was eine Auftrennung in zwei Gruppen von Stoffen erlauben soll: Die erste Fraktion wird mit Petroläther und die zweite mit 15 % Äther in Petroläther eluiert. Die Stoffe in der Wasserphase werden in Chloroform übergeführt und an einer Kohensäule gereinigt, indem man mit dem gleichen Lösungsmittel eluiert.

Wir übernahmen diese Methode als Ausgangspunkt für unsere weitere Arbeit. Die Auftrennung der Insektizide in eine wässrige und eine Petrolätherphase bringt zunächst für die Wasserphase eine Reinigung mit sich, da nur wenig Pigmente oder Wachsstoffe mitgehen, so daß eine Reinigung dieser Fraktion an einer Kohensäule (vorgereinigte Aktivkohle) in Chloroform genügt. Die Größe der Säule soll der Färbung des Extraktes entsprechend gewählt werden.

Die Aufteilung der Insektizide in die Wasser-Methanol- und die Petrolätherphase verläuft nicht für alle Substanzen quantitativ und ist auch abhängig vom Rohextrakt.

Petrolätherphase

Wasser-Methanol-Phase

praktisch quantitativ:

Parathion
Methylparathion
Diazinon
Phenkapton
Methylgusathion
Malathion
Chlorthion
Thiometon
Systox
Metasystox ca. $\frac{1}{2}$

Rogor
Phosphamidon
Phosdrin
Sulfotepp

Metasystox ca. $\frac{1}{2}$

Bei der Aufarbeitung der Petrolätherphase mußten wir aber aus den bereits geschilderten Erfahrungen die Aluminiumoxydsäule durch drei aufeinander folgende Schritte ersetzen.

Der Extrakt wird zunächst einer Ausfällung der Wachsstoffe unterworfen, ähnlich wie dies schon in der ursprünglichen Methode vorgenommen worden ist, und wobei gleich vorgegangen wird wie bei den chlorierten Kohlenwasserstoffen bereits beschrieben. Anschließend reinigt man an einer Florisilsäule. Bei unseren Versuchen sind mehrere Lösungsmittelkombinationen getestet worden. Mit 30 % Äther enthaltendem Petroläther als Elutionsmittel ließen sich die Chlorophylle absorbieren; die Insektizide traten praktisch ohne Verlust, jedoch mit den gelben Farbstoffen zusammen aus der Säule aus.

Da sich mit den Adsorbentien auf der Basis von Silikaten und Aluminiumoxyd keine Trennung der gelben Farbstoffe von den Insektiziden erreichen ließ, wurde eine solche mit Aktivkohle versucht. Dies gelang mit der gleichen Arbeitsweise wie für die Wasserphase bereits beschrieben wurde. Bei stark gefärbten Extrakten muß allerdings eine gewisse Menge von Pigment im Eluat in Kauf genommen werden, da sonst zu große Verluste an Insektiziden auftreten. Das Eluat dieser Säule ist nun für die Chromatographie bereit.

3. Identifikation der einzelnen Substanzen mit Hilfe der Papier- oder der Dünnschichtchromatographie

A. Chlorierte Kohlenwasserstoffe

1. Papierchromatographie

Mit dem Einbezug weiterer Substanzen in die Untersuchungen zeigte es sich, daß die Trenneffekte, die mit den ursprünglichen Lösungsmittelsystemen erreicht worden sind, zu schwach waren. Die nun vorliegenden acht Substanzen blieben alle im Bereich der Rf-Werte zwischen 0 und 0,5, so daß mehrere Flecken zusammenfielen. Ebenfalls war es wünschenswert, eine Methodik für die Entwicklung der Flecken zu finden, die weniger zeitraubend ist.

Wir übernahmen die Technik der Entwicklung von *Mitchell* (22) (1958) und testeten damit einige abgeänderte Lösungsmittelsysteme; ferner probierten wir ein vom selben Autor angegebenes Lösungsmittelsystem aus.

Nach Beendigung der Laufzeit kann das Chromatogramm in ca. 10 Minuten entwickelt werden: Das Papier wird zunächst unter der UV-Lampe auf fluoreszierende Stellen geprüft und allfällige Flecken angezeichnet. Anschließend besprüht man mit Silbernitratlösung und kontrolliert ein zweites Mal auf fluoreszierende Flecken. Derart werden Fluoreszenzen festgestellt, die nicht von den Insektiziden herrühren. Nun setzt der eigentliche Entwicklungsvorgang ein, indem das besprühte Chromatogramm unter die UV-Lampe, deren Filter entfernt worden ist, gelegt wird. Nach wenigen Minuten erscheinen die Flecken der Insektizide als gelb-grünliche Flecken mit braunen Rändern, die unter der UV-Lampe mit vorgesetztem Filter violett bis grünlich fluoreszieren. Werden die Chromatogramme anschließend mit Wasser gespült, können sie zur Dokumentation, ohne daß sie sich wesentlich verändern, aufbewahrt werden.

Wir testeten mehrere Laufmittelsysteme, wovon zwei eine Verbesserung gegenüber der ursprünglichen Methode ergaben, jedoch auch nicht vollständig befriedigten. Es geht ja vor allem um die Unterscheidung der stark toxischen Substanz Dieldrin von dem weniger giftigen DDT. Für kritische Fälle empfiehlt es sich, zwei Chromatogramme mit beiden Lösungsmittelsystemen anzusetzen.

- a) Beim System nach *Mitchell* (22) (1958) dient 2-Phenoxyäthanol als Imprägnierungsmittel und Isooctan (2,2,4-Trimethylpentan) als Laufmittel.
- b) Beim ursprünglichen System wurde die Imprägnierung beibehalten (Silicon) und dem Lösungsmittelgemisch Aceton/Wasser noch Acetonitril beigemischt.

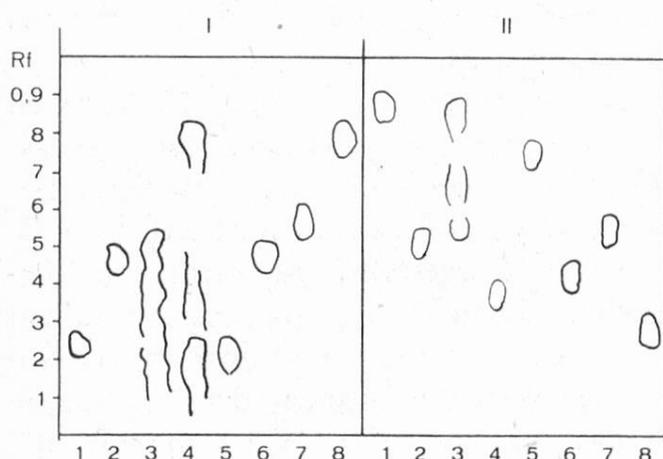
Die Laufzeit beträgt im absteigenden Verfahren bei beiden Systemen ungefähr 2 $\frac{1}{2}$ Stunden bei einer Laufstrecke von 30–35 cm.

Die beiden Systeme ergeben eine Verteilung der Flecken der Substanzen über die ganze Laufstrecke. Sie unterscheiden sich aber dadurch, daß die Substanzen, die im ersten System einen hohen Rf-Wert zeigen, im zweiten einen niedrigen aufweisen. Am schwierigsten ist immer noch die Unterscheidung zwischen DDT und Dieldrin, da diese Substanzen in beiden Systemen einen Rf-Wert nahe bei 0,5 auf-

weisen. Doch tritt auch für diese beiden Substanzen das gegenläufige Verhalten der Rf-Werte in den beiden Systemen auf. Chlordan und HCH verhalten sich so, daß sie im System nach *Mitchell* lange «Schwänze» bilden, während im zweiten System Chlordan einen klar umrissenen Fleck bildet und HCH wiederum Schwanzbildung zeigt. Daraus folgt, daß mit diesen beiden Systemen, auf den gleichen Extrakt angewendet und mit den nötigen Vergleichssubstanzen angesetzt, eine Identifikation der in Frage stehenden Substanzen möglich ist. (Vergleiche Laufbilder Figur 1.)

Figur 1

Papierchromatographie der chlorierten Kohlenwasserstoffe



I. SP: 10 % 2-Phenoxyäthanol in Äther

MP: Iso-octan

II. SP: 7,5 % Silicon Fluid 550 in Äther

MP: Aceton : Acetonitril : Wasser = 15 : 36 : 9

Substanzen:

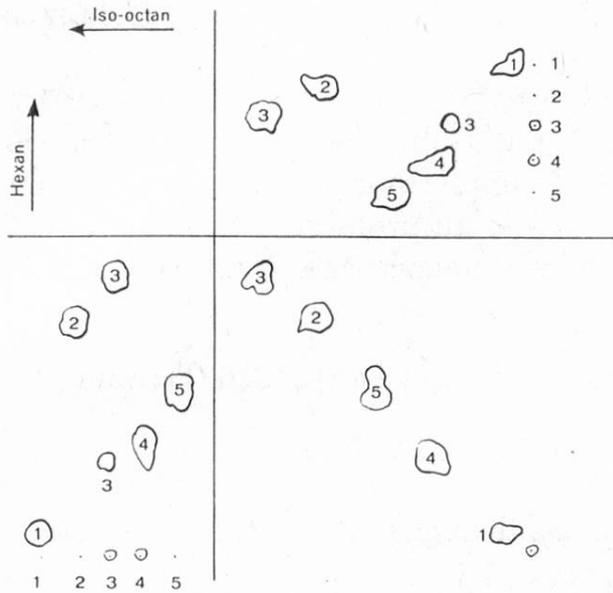
1. Chlorbenzilat
2. Dieldrin
3. HCH
4. Chlordan
5. Methoxychlor
6. DDT
7. Perthan
8. Aldrin

Die untere Nachweisbarkeitsgrenze der Substanzen auf dem Papier liegt, mit Ausnahme von HCH und Perthan, bei 40 µg. Für eine sichere Beobachtung sind aber 100 µg notwendig. Perthan und HCH sind erst bei einer Menge von 200 bis 400 µg gut zu erkennen.

2. Dünnschichtchromatographie

Bei der Dünnschichtchromatographie wurde die allgemeine Arbeitstechnik von *Stahl* (23, 24) (1961 und 1962) und *Randerath* (25) (1962) übernommen. Diese Methode hat gegenüber der Papierchromatographie den wesentlichen Vorteil, daß die Laufgeschwindigkeiten bedeutend vermindert sind. Ein gewisser Nachteil besteht allerdings darin, daß in einem größeren Bereich die Fleckengröße der aufgetragenen Substanzmenge nicht proportional ist. *Bäumler* (26) (1961) verwendete für die Trennung von chlorierten Kohlenwasserstoffen Aluminiumoxydschichten und Hexan als Laufmittel. Zum Sichtbarmachen der Flecken verwendete der gleiche Autor Dimethyl-p-phenylendiaminhydrochlorid in Na-Aethylat, das nach der Bestrahlung mit der UV-Lampe ohne Filter schmutzig grünlich-braune Flecken der Insektizide ergibt. Entgegen den Erfahrungen von *Randerath* (25) (1962) ist dieser Nachweis sehr zuverlässig, allerdings unter der Bedingung, daß das Reagens

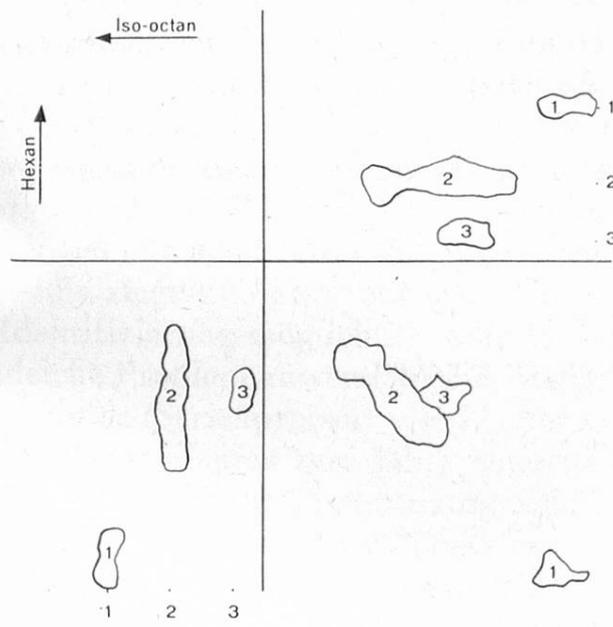
unmittelbar vor der Benützung hergestellt wird. Für unsere Zwecke wurde diese Methodik noch etwas erweitert, indem mit einem zweiten Lösungsmittel (Isooctan) zweidimensional chromatographiert wird. Dieses System erlaubt, die beiden kritischen Substanzen DDT und Dieldrin eindeutig zu unterscheiden (siehe Figur 2).



Figur 2a
Dünnschichtchromatographie der chlorierten Kohlenwasserstoffe

- 1. Methoxychlor
- 2. DDT
- 3. Aldrin
- 4. Dieldrin
- 5. Lindan

ER. Dimethyl-p-phenylendiaminhydrochlorid in Na-aethylat



Figur 2b
Dünnschichtchromatographie der chlorierten Kohlenwasserstoffe

- 1. Chlorbenzilat
- 2. Chlordan
- 3. Perthan

ER. AgNO₃ + UV

Die Empfindlichkeit des Nachweises ist besser als bei der Papierchromatographie. Die Entwicklungsmethode nach Mitchell (22) (1959) lässt sich auch auf den Dünnschichtplatten anwenden; die Flecken treten aber weniger deutlich hervor als nach der Methode von Bäumler (26) (1961).

Die untere Nachweisbarkeitsgrenze liegt bei ca. 5 µg.

1. Papierchromatographie

Auch bei den Phosphorsäureestern zeigte es sich, daß infolge der Aufnahme weiterer Substanzen in den Untersuchungsbereich die ursprüngliche Methodik der Papierchromatographie nicht mehr genügte, da sich die einzelnen Substanzen nicht unterscheiden ließen.

Es wurde eine große Anzahl von Lösungsmittelsystemen im eindimensionalen Verfahren mit imprägnierten Papieren ausgetestet. Dabei befriedigte von ca. 40 Systemen keines ganz, weil sich immer wieder Gruppierungen von mehreren Substanzen zeigten. Es soll im folgenden kurz auf die ausprobierten Systeme eingegangen werden. Alle Versuche wurden mit Testlösungen von Insektiziden ausgeführt. Es ergaben sich zwei Abteilungen:

- a) Systeme, die einen gewissen Erfolg aufwiesen, d. h. es entstanden Trennungen, jedoch mit Gruppenbildung;
- b) Systeme ohne jeden Erfolg.

Wir verwenden bei den nachstehenden Ausführungen die folgenden Abkürzungen:

- SP: stationäre Phase (Imprägnierung)
MP: mobile Phase
AAW: ohne Angabe des Mischungsverhältnisses, entspricht der ursprünglichen mobilen Phase von Aethanol : Aceton : Wasser = 1 : 1 : 2 (Müller, Ernst, Schoch [12] 1957).
AAW: mit Verhältnisangabe, Modifikationen des ursprünglichen Systems
LZ: Laufzeit in Stunden
Paraffin: Paraffinum perliquidum in Äther.

a) Systeme, die Trennungen ergaben

Das ursprüngliche System bestand aus:

- SP: 5 % Paraffin
MP: AAW
LZ: 8 Stunden

Dieses System wurde dahin modifiziert, daß die Imprägnierung auf 10 % verstärkt und das Verhältnis AAW variiert wurde. Dabei ließen sich keine wesentlichen Verbesserungen erzielen. Es entstehen immer wieder Gruppen von drei bis vier Substanzen, die den gleichen Rf-Wert aufweisen. Mit der Veränderung der Konzentration des Imprägnierungsmittels wird die relative Lage der Flecken zueinander nicht verändert. Mit zunehmender Konzentration nehmen die Rf-Werte ab, d. h. die Flecken werden einfach näher zusammengeschoben.

Gruch (27) (1954) verwendet ein System, in dem weiße Vaseline als stationäre Phase und eine Mischung von Aethanol-Ammoniak-Wasser als mobile Phase dienen. Diese Kombination wurde ebenfalls in verschiedenen Modifikationen getestet.

Für die Trennung von Steroidkörpern schlägt *Bush* (28) (1952) eine Anzahl wäßriger Systeme vor, die mit 10 % Paraffin als stationäre Phase ausprobiert wurden. Von den angegebenen Mischungen ist jeweils die untere wässrige Phase verwendet worden. Die LZ betrug 6–8 Stunden.

System <i>Bush</i>	B ₂ : 667 ml Toluol	B ₅ : 1000 ml Benzol
	333 ml Benzin	500 ml Methanol
	600 ml Methanol	500 ml Wasser
	400 ml Wasser	
	B ₃ : 667 ml Benzin	C : 900 ml Toluol
	333 ml Benzol	100 ml Aethylacetat
	800 ml Methanol	500 ml Methanol
	200 ml Wasser	500 ml Wasser
	B ₄ : 1000 ml Toluol	
	500 ml Methanol	
	500 ml Wasser	

Sowohl die Systeme von *Gruch* (27) (1954) als auch von *Bush* (28) (1952) ergaben gegenüber den AAW-Kombinationen keine wesentlich besseren Resultate. Es traten auch hier wieder Gruppierungen auf, so daß bei keinem dieser Systeme eine eindeutige Identifizierung möglich war.

In einer weiteren Serie von Versuchen wurde mit AAW als MP und mit verschiedenen Imprägnierungen gearbeitet. Dabei standen 10 % Vaseline, 20–25 % acetyliertes Papier «Schleicher & Schüll» und ein nach dem Verfahren von *Grüne* (29) (1957) mit Al₂O₃ behandeltes Papier zur Verfügung. Auch die Trennungen mit diesen Anordnungen litten unter der Erscheinung der Gruppenbildung.

Es zeigt sich also, daß mit dem eindimensionalen Verfahren keine eindeutige Identifizierung möglich ist. Man könnte allerdings zwei oder drei Systeme auf das gleiche Problem anwenden; dies bringt aber für die routinemäßige Anwendung der Methode (Serienproben) viel Zeitaufwand mit sich.

Wir bedienen uns daher einer zweidimensionalen Methode, die *Mitchell* (30) (1960) für die papierchromatographische Trennung von Phosphorsäureester-Insektiziden ausgearbeitet hat. Diese erlaubt die Trennung der hier in Frage stehenden Substanzen in befriedigendem Maße; doch stellten wir wegen der etwas komplizierten Technik bald auf die einfacher zu handhabende Dünnschichtchromatographie um.

b) Systeme, die zu keinem Resultat führten

Bevor auf die Dünnschichtchromatographie eingegangen werden soll, seien noch die Systeme für die eindimensionale Papierchromatographie angegeben, die zu keinem Resultat geführt haben.

Nach *Gerlach et al.* (31) (1955):

SP: mit und ohne Paraffin

MP: verschiedene Mischungen und Kombinationen von n-Butanol, n-Propanol, Wasser, Aceton oder Trichloressigsäure, Methylaethylketon, Ammoniak, Ameisensäure.

Nach *Ebel* (32) (1951) und *Volmar et al.* (33) (1951):

SP: mit und ohne Paraffin

MP: Mischungen von Isopropanol, Isobutanol, Ammoniak oder Trichloressigsäure.

Eigene:

SP: 10 % Paraffin

MP: wassergesättigte organische Lösungsmittel wie Butanol, Hexan, Methylaethylketon, Monochlorbenzol, Phenol, Pyridin, Pentan.

SP: 10 % Paraffin

MP: Chloroform : Benzol = 5 : 7

Chloroform – Aethanol – Wasser

Toluol – Eisessig – Wasser

Essigester – Eisessig – Wasser

Essigester – Ameisensäure – Wasser

Essigester – Pyridin – Wasser

n-Propanol – konz. Ammoniak – Wasser.

Nach *Schenker et al.* (34) (1954):

SP: 10 % Paraffin

MP: n-Butanol – Wasser – Toluol.

Eigene:

SP: Dimethylformamid

Silicagel nach *Grüne* (1957)

Latex nach *Grüne* (1957)

MP: AAW.

Die Systeme, die Phenol, Pyridin, Ameisensäure oder Essigsäure enthielten, ergaben eine schlechte Entwicklung der Flecken mit Brom/Fluoreszein.

2. Dünnschichtchromatographie

Es wird nach der allgemeinen Arbeitstechnik von *Stahl* (23, 24) (1961 und 1962) und *Randerath* (25) (1962) vorgegangen.

Nach den Erfahrungen mit der Papierchromatographie wurde für die Dünnschichtchromatographie von Anfang an auf ein zweidimensionales Verfahren hingearbeitet. Die allgemeine Arbeitstechnik entspricht derjenigen, wie sie bei den chlorierten Kohlenwasserstoffen angewendet wurde.

Auch hier sei auf den Vorteil der Dünnschichtchromatographie hingewiesen, der darin besteht, daß die Laufzeiten gegenüber der Papierchromatographie wesentlich kürzer sind. Dafür muß der Nachteil in Kauf genommen werden, daß in einem größeren Bereich die Fleckengröße kein Maß für die Menge der vorhandenen Substanz darstellt (*Stahl* [23] 1961).

Zunächst wurden mit der eindimensionalen Technik Lösungsmittelsysteme gesucht, die Trennungen liefern; dann die günstigsten für das zweidimensionale Verfahren kombiniert. *Bäumler* (26) (1961) benützt für die Trennung von Phosphorsäureestern Kieselgel G-Schichten und eine Mischung von Hexan/Aceton (4 : 1). Zur Entwicklung der Flecken verwendet er eine alkoholische Lösung von Palladiumchlorid. Wir haben seine Arbeit als Ausgangspunkt für unsere eigenen Versuche genommen.

Von einer größeren Anzahl getesteter Lösungsmittelsysteme ergaben folgende auf Kieselgel G-Schichten eine brauchbare Trennung:

1. Hexan : Aceton = 4 : 1 (nach *Bäumler* 1961)
2. Chloroform : Benzol = 1 : 4
3. Chloroform : Trichloraethan = 3 : 7
4. Hexan : Methylenchlorid = 1 : 1
5. n-Butanol : Wasser = 1 : 1
6. Methylenchlorid : Aethylacetat = 1 : 1
7. Aceton : Trichloraethan = 3 : 7.

Die beiden Lösungsmittelsysteme Hexan : Aceton = 4 : 1 und Hexan : Methylenchlorid = 1 : 1 wurden im zweidimensionalen System verwendet. Die Trennung ergab das in Figur 3 dargestellte Laufbild. Es lassen sich also die in der Petrolätherphase anfallenden Substanzen im gleichen Chromatogramm trennen. Die Substanzen der Wasserphase werden mit dem System Methylenchlorid : Aethylacetat = 1 : 1 (eindimensional) identifiziert. (Figur 4).

Da die Entwicklung mit Palladiumchlorid nicht auf alle Substanzen anspricht, wurde zudem auf die sich in der Papierchromatographie bewährte Methode mit Brom und Fluoreszein zurückgegriffen. Das gleiche Vorgehen konnte auch bei den Dünnschichtplatten angewendet werden. Die Empfindlichkeit liegt für beide Verfahren bei 5–20 µg. Wenn mehr als 100 µg pro Substanz aufgetragen werden, entstehen «Schwänze». Dipterex spricht auf beide Methoden nicht an, so daß diese Substanz nicht aufgefunden werden kann. Phosphamidon, Phosdrin und Tepp (= Sulfotepp) sprechen nicht auf Palladiumchlorid, wohl aber auf Brom/Fluoreszein an.

Ein weiteres Entwicklungsreagens, auf das alle Substanzen ansprechen, ist Natriumazid in wässriger Jodlösung nach *Fischer* und *Klingelhöller* (35) (1961). Es bewirkt braune Flecken der Phosphorsäureester, die einige Minuten nach dem Besprühen wieder verschwinden.

Zusammen mit der Auftrennung im Reinigungsprozeß in die beiden Gruppen der wasserlöslichen und petrolätherlöslichen Substanzen, die je getrennt chromatographiert werden (was einer Reduktion der Anzahl der möglichen Substanzen pro Chromatogramm entspricht), ist eine weitgehende Identifikation der einzelnen Stoffe möglich.

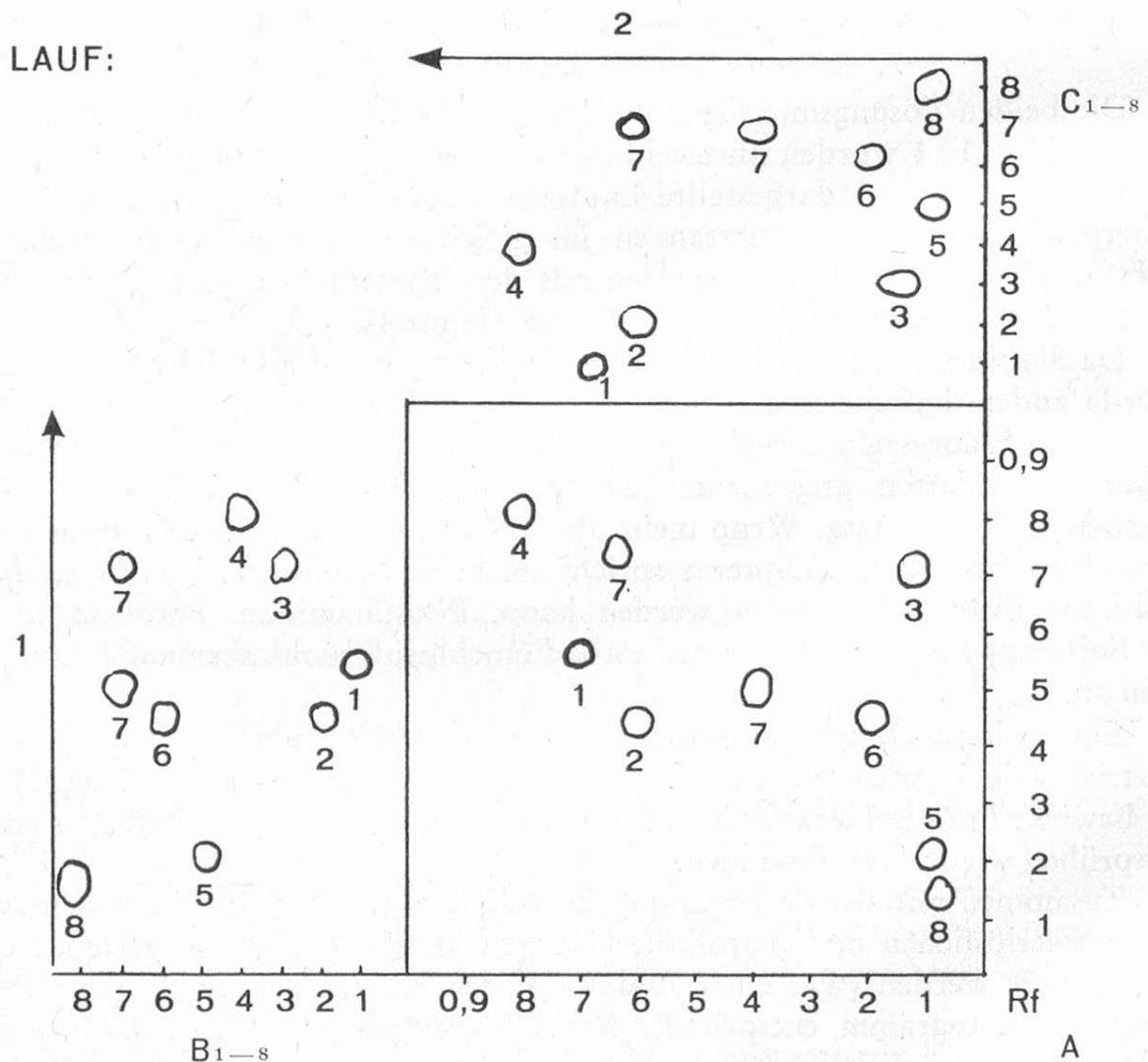
Die Entwicklung mit Palladiumchlorid läßt Parathion und Methylparathion an der Farbe erkennen. Alle Flecken werden nach dem Besprühen sofort mehr oder weniger intensiv gelb, während diese beiden Substanzen erst nach etwa einer Viertelstunde dunkelbraun bis schwarz zum Vorschein kommen. Die Betrachtung des

Chromatogramms unter der UV-Lampe mit vorgesetztem Filter erlaubt noch eine Unterscheidung zwischen Verunreinigungen, die durch das Clean-up nicht entfernt werden konnten, und den Insektizidflecken: die Insektizidflecken erscheinen dunkel, während die meisten pflanzlichen Anteile fluoreszieren.

Figur 3

Dünnschichtchromatographie der Phosphorsäureester

- zweidimensional: 1. Lauf: Hexan : Aceton = 4 : 1
 2. Lauf: Hexan : Methylenchlorid = 1 : 1
 Schicht: Kieselgel G «Merck»
- Substanzen: 1. Parathion 5. Methylgusathion
 2. Methylparathion 6. Malathion
 3. Diazinon 7. Thiometon
 4. Phenkapton 8. Systox



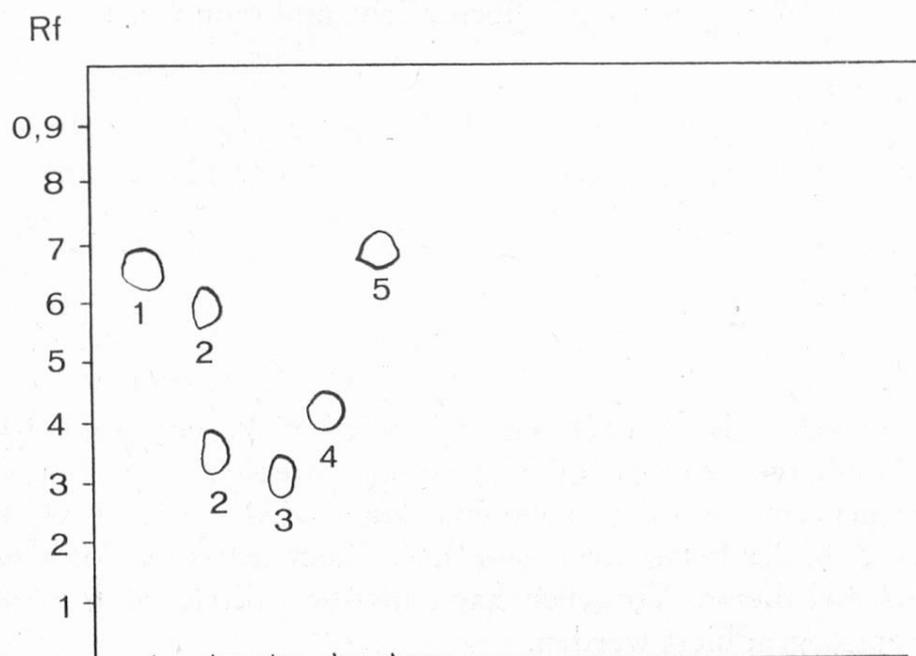
Trotz den konstanten Bedingungen werden in jedem Chromatogramm in den Seitenbahnen mehrere Referenzsubstanzen, welche jeweils nur an einem Lauf beteiligt sind und die sichere Identifizierung der allenfalls gefundenen Stoffe erlauben, mitlaufen gelassen.

Figur 4

Dünnschichtchromatographie der Phosphorsäureester

eindimensional: Methylchlorid : Aethylacetat = 1 : 1
Schicht: Kieselgel G «Merck»

Substanzen: 1. Phosdrin 4. Rogor
2. Phosphamidon 5. Metasystox
3. Sulfotepp



Arbeitsvorschriften

Allgemeine Bemerkung

Da die Insektizide, vor allem die Phosphorsäureester, in der Hitze rasch zerstört werden können und z. T. leicht flüchtig sind, ist bei allen Operationen darauf zu achten, daß die Substanzen nicht höher als auf 40 ° C erhitzt werden. Die Destillationen werden stets im Vacuum ausgeführt. Wenn man bis zur Trockne eindampfen muß, werden die letzten Milliliter am kontinuierlichen Luftstrom bei Normaldruck abgeblasen.

Gelangt ein Vacuum-Rotationsverdampfer (Rotovapor) zur Verwendung, ist dieser mit einem verschließbaren Rohr ausgerüstet, das bis in den Verdampfungskolben reicht und damit das Abblasen von Lösungsmitteln erlaubt. Die gereinigten Extrakte, bereit für die Chromatographie, werden im Rotovapor eingengt und quantitativ in ein Spitzglas übergeführt. Das restliche Lösungsmittel wird in einem Wasserbad von 40 ° C mit kleinem Gebläse bis auf wenige Tropfen abgeblasen. Diese werden mit einer Mikropipette vollständig auf das Papier bzw. die Platte aufgetragen, wobei Pipette und Glas mit dem Lösungsmittel nachzuspülen sind.

I. Extraktion des Pflanzenmaterials

Chlorierte Kohlenwasserstoffe und Phosphorsäureester

1. Geräte und Reagenzien

Haushaltmixer mit Becher von ca. 1 Liter Inhalt

2 l Schliffflaschen

Schüttelmaschine¹

Vacuum-Rotationsverdampfer² («Rotovapor») mit verschließbarem Lüftungsröhr, das bis in den Destillationskolben reicht und damit das Abblasen von Lösungsmitteln erlaubt

Rundkolben 1 Liter, 250 ml

Na₂SO₄ sicc. Ph. H. V

Methylenchlorid dest. (Sp. = 40 ° C)

¹ R. Fuchs, Basel.

² W. Büchi, Flawil.

2. Ausführung

Bei der Extraktion des Probenmaterials wird nicht unterschieden, ob später auf chlorierte Kohlenwasserstoffe oder Phosphorsäureester zu prüfen ist.

Beim Vorliegen eines sichtbaren Spritzbelages wird zunächst auf eine Extraktion verzichtet, d. h. der Belag mit einem Spatel abgekratzt oder mit wenig Petroläther abgespült. Bei diesem Vorgehen kann meistens direkt, d. h. ohne Clean-up-Verfahren chromatographiert werden.

Bei negativem Resultat muß aber noch eine Extraktion, besonders im Hinblick auf möglicherweise vorhandene Phosphorsäureester, vorgenommen werden.

Für die spätere Prüfung auf chlorierte Kohlenwasserstoffe und Phosphorsäureester werden 200 g Pflanzenmaterial mit dem Messer in kleinere Stücke zerteilt, bei Steinobst nach vorheriger Entfernung der Kerne. Die so vorbereitete Probe wird mit 100–200 g Natriumsulfat sicc. (je nach Wassergehalt der Probe) und ca. 400 ml Methylenchlorid im Mixer während 2–3 Minuten zu einem Brei homogenisiert, der Brei in eine 2 l-Schliffflasche gebracht und mit Methylenchlorid auf einen Liter aufgefüllt. Das Material ist insgesamt während 2 Stunden auf der Schüttelmaschine zu extrahieren, wobei nach einer Stunde das Lösungsmittel abdekantiert und durch neues ersetzt wird. Die beiden Extraktportionen werden vereinigt und vom Pflanzenmaterial, das jetzt praktisch farblos ist, abgenutscht. Der so gewonnene Rohextrakt wird vollständig eingedampft.

II. Aufarbeitung des Rohextraktes (Clean-up-Verfahren)

1. Geräte und Reagenzien

Vacuum-Rotationsverdampfer mit Zubehör (siehe «Extraktion»)

Vibrator (z. B. «Vibromischer»¹)

Scheidetrichter 200 ml Weithals mit Schliff (3 cm ϕ)

Scheidetrichter 500 ml

Chromatographiesäulen mit Hahn (ca. 15 cm lang, 2,5 cm ϕ)

Erlenmeyerkolben mit Schliff (300 ml)

Spitzgläser mit Schliff 10 ml

Gebläse und Wasserbad von 40 ° C, zum Abblasen kleiner Mengen von Lösungsmitteln

Oleum 66 %

H₂SO₄ p. A., D = 1,83

«Oleum-Mischung»: Oleum 66 % + H₂SO₄ = 1 + 7 Teile v/v

n-Hexan dest. Sp. = 67 ° C

Acetonitril pur.² Sp. = 79 — 82 ° C, dest.

Hexan gesättigt mit Acetonitril

Acetonitril gesättigt mit Hexan

Aethyläther dest.

Petroläther Ph. H. V dest.

Methanol p. A.

Na₂SO₄ sicc. Ph. H. V, Trocknen: 12 h bei 130 ° C

entfettete Watte oder Glaswolle

Florisil 60–100 mesh³, Aktivierung: 2 h bei 300 ° C, haltbar 3 Tage im Exsiccator

Carbo Activatus «Merck», Methylenblautiter 10–11, Aktivierung: 2 h bei 600 ° C, abkühlen lassen, 1/2 h mit conc. HCl kochen, mit dest. Wasser auf der Nutsche neutral waschen, 12 h bei 105 ° C trocknen. Im Exsiccator aufbewahren.

¹ AG für Chemie-Apparatebau, Zürich

² Fluka AG., St. Gallen.

³ Floridin Co. USA, Schweiz: Bender & Hobein, Zürich.

2. Ausführung

Die Clean-up-Verfahren für die Prüfung auf chlorierte Kohlenwasserstoffe und Phosphorsäureester werden getrennt ausgeführt.

Der Rückstand von I wird in Petroläther gelöst und auf 100 ml gestellt. Für die Prüfung auf chlorierte Kohlenwasserstoffe werden 50 ml (entsprechend 100 g Ausgangsmaterial) weiterverarbeitet. Für den Nachweis der Phosphorsäureester soll bei stark gefärbten Extrakten (z. B. Spinat, Kopfsalat) von höchstens 25 ml (entsprechend 50 g Probe) ausgegangen werden, wobei allerdings automatisch eine Verschiebung der Nachweisbarkeitsgrenze nach oben in Kauf genommen wird.

A. Chlorierte Kohlenwasserstoffe

Der Rohextrakt (50 ml Petroläther) wird in einem 250 ml-Kolben am Rotovapor auf ca. 5 ml eingengt und 10 ml Acetonitril zugesetzt. Wiederum am Rotovapor werden der Petroläther abgedampft und das Acetonitril auf 5 ml eingengt. Damit beginnen die Wachsstoffe auszufallen; der Kolben wird in Eis-

Kochsalz-Mischung weiter abgekühlt und das ausgefallene Wachs auf einem Papierfilter abfiltriert. Kolben und Filter werden mit gekühltem Acetonitril in kleinen Portionen mehrmals gespült. Bei stark wachshaltigen Proben wird die Ausfällung wiederholt, indem das Acetonitril nochmals eingeengt, abgekühlt und filtriert wird.

Das Filtrat wird bis fast zur Trockne abgedampft (Rotovapor) und mit Hexan, das mit Acetonitril gesättigt ist, quantitativ in einem 500 ml Scheidetrichter gespült, wobei insgesamt 90 ml verwendet werden. Diese Lösung wird 4mal mit je 30 ml Acetonitril, gesättigt mit Hexan, und die vereinigten Acetonitrilphasen werden einmal mit 15 ml Hexan gesättigt mit Acetonitril, ausgeschüttelt. Die Hexanphase wird verworfen, während die Acetonitrilphase zur Trockne eingedampft wird.

Nach diesen beiden Schritten stehen zwei Möglichkeiten zur weiteren Reinigung der Extrakte zur Verfügung:

- a) Die schonende Reinigung an einer Florisilsäule, wobei keine Substanzen geschädigt werden.
- b) Reinigung durch Behandlung des Extraktes mit «Oleum-Mischung», wobei aber Methoxychlor und Chlorbenzilat zerstört werden.

Bei der bestimmten Fragestellung nach dem Vorhandensein einer der stabilen Substanzen läßt sich der raschere und besser reinigende zweite Weg einschlagen.

a) Reinigung an der Florisilsäule

Vorbereitung der Säule: Das Chromatographierohr wird am Grunde mit entfetteter Watte oder Glaswolle versehen. Das aktivierte Florisil wird in einem Erlenmeyerkolben mit Schliff kräftig mit Petroläther geschüttelt. Den entstandenen Brei gibt man bei geöffnetem Hahn in die Säule, so daß der Lösungsmittelspiegel nie unter das Florisilniveau sinkt. Das Florisil wird 5 cm hoch eingefüllt und darüber eine Schicht von 1 cm Natriumsulfat sicc. gebracht. Der Spiegel des Petroläthers soll knapp über die Natriumsulfatschicht eingestellt werden.

Der Rückstand aus der vorstehend erwähnten Acetonitrilphase wird in 20 ml Petroläther gelöst und in die Säule eindringen gelassen, bis der Flüssigkeitsspiegel knapp die Oberfläche der Säule erreicht. Der Kolben wird zweimal mit Petroläther gespült und die Flüssigkeit schrittweise auf die Säule gegeben. Bei der Elution der Insektizide wird wie folgt vorgegangen: Zunächst werden 50 ml 10 % Äther in Petroläther auf die Säule gegeben und die an der Florisilschicht adsorbierten Pigmente genau beobachtet. Findet während des Durchflusses dieses Gemisches keine oder nur eine geringe Wanderung der Farbstoffe statt, so wird mit 100 ml 15 % Äther in Petroläther weiter eluiert. Stellt sich aber eine Bewegung der Farbstoffe ein, so wird mit 10 % oder weniger Äther in Petroläther weiter eluiert (100 ml), wobei der Ätheranteil nicht unter 6 % gesenkt werden soll. Das Eluat wird in einem 250 ml-Rundkolben aufgefangen und am Rotovapor eingeengt, in ein Spitzglas übergeführt und *ist bereit für die Chromatographie*.

b) Reinigung durch Behandlung mit «Oleum-Mischung»

Der Rückstand aus der Acetonitrilphase wird in Hexan gelöst und mit insgesamt 100 ml in einen 200 ml-Scheidetrichter (Weithals, Schliff) gespült. Es werden unter Rühren mit dem «Vibromischer» innerhalb einer halben Stunde 40 ml «Oleum-Mischung» aus einem Tropftrichter zugesetzt. Das Rühren wird während einer weiteren Stunde fortgesetzt. Die genaue Trennung der Hexan- von der Säurephase kann mehrere Stunden beanspruchen. Nach der Abtrennung der Säureschicht wird die Hexanphase zweimal mit 50 ml 2 %-Natronlauge und zweimal mit 50 ml Wasser gewaschen. Nach dem Trocknen des Hexans mit Natriumsulfat sicc. ist der Extrakt *bereit für die Chromatographie*.

B. Phosphorsäureester

α) Aufteilung von in Petroläther und Wasser löslichen Substanzen

Von dem in Petroläther gelösten Extrakt wird eine geeignete Menge (vgl. Seite 115) auf 90 ml ergänzt und in einen 500ml-Scheidetrichter gebracht. Diese 90 ml Petroläther werden 5mal mit 20 ml einer Mischung von Wasser und Methanol (85 + 15 % v/v) ausgeschüttelt. Die Phasen trennen sich langsam; die erste Ausschüttelung wird am besten über Nacht stehen gelassen. Bei starker Emulsionsbildung können zu deren Brechung einige Tropfen einer gesättigten NaCl-Lösung zugesetzt werden. Die vereinigten Wasserphasen werden mit 20 ml Petroläther zurückextrahiert und diese der Petrolätherphase zugegeben. Die beiden so gewonnenen Gesamtphasen werden getrennt weiterverarbeitet.

β) Petrolätherphase

i) *Ausfällung der Wachsstoffe*. Die Petrolätherphase enthält die meisten pflanzlichen Pigmente wie Chlorophylle, Xanthophylle und Carotinoide; sie ist bei Spinat, Salat und ähnlichen Extrakten sehr stark gefärbt. In den Scheidetrichter wird etwas Na_2SO_4 sicc. zugegeben, in einen 250 ml-Rundkolben filtriert und das Natriumsulfat mehrmals mit Petroläther nachgewaschen und ebenfalls in den Rundkolben filtriert. Am Rotovapor wird bis auf ca. 5 ml eingengt; nach einem Zusatz von 10 ml Acetonitril wird der restliche Petroläther vertrieben und das Acetonitril wiederum am Rotovapor auf 5 ml eingengt. Damit beginnen die Wachsstoffe auszufallen. Nach dem Abkühlen in einem Eis-Kochsalzbad wird der Niederschlag in einen weiteren 250 ml-Kolben filtriert. Das Filtrat und der erste Kolben werden mehrmals mit kleinen Portionen von kaltem Acetonitril nachgewaschen. Es bleiben Wachsstoffe an der Kolbenwand haften. Das Filtrat wird sorgfältig zur Trockne eingedampft.

ii) *Reinigung an der Florisilsäule*. Das am Vortage aktivierte Florisil wird 3 cm hoch in eine Säule von 2,5 cm Durchmesser eingeschwenkt (vgl. Chlorierte Kohlenwasserstoffe Seite 116).

Der Rückstand aus i wird in 5 ml gelöst, auf die Säule gegeben und eindringen gelassen, bis der Flüssigkeitsspiegel gerade die Oberfläche der Natriumsulfatschicht erreicht. Der Kolben wird noch dreimal gespült, wobei man jeweils die Lösung in die Säule eindringen läßt. Anschließend wird mit 150 ml Äther/Petroläther (30 : 70 v/v) eluiert, das Eluat in einem 250 ml-Rundkolben aufgefangen und auf 5 ml eingengt bzw. zur Trockne eingedampft.

Ist das Konzentrat praktisch farblos, wird es quantitativ in ein Spitzglas übergeführt und chromatographiert; weist es jedoch noch Pigmente auf, wird zur Trockne eingedampft und eine weitere Reinigung an einer Kohlsäule angeschlossen.

iii) *Reinigung an der Kohlsäule.* 4 g der gereinigten Kohle werden mit Chloroform in eine Säule von 2,5 cm Durchmesser eingeschwemmt (vgl. Florisilsäule). Die Säule wird auf einen Wittschen Topf gesetzt und das Vacuum mit einem Nadelventil so reguliert, daß pro Minute ca. 1,5 ml eluiert werden. Die Säule wird mit 150 ml Chloroform vorgewaschen, der Trockenrückstand aus ii in 5 ml Chloroform gelöst und auf die Säule gegeben (vgl. Florisilsäule). Anschließend eluiert man mit 200 ml Chloroform. Bei schwacher Färbung des Extraktes kann die Kohlenmenge auf 2 g und das Elutionsmittel auf 150 ml reduziert werden.

Das Eluat wird eingengt, in ein Spitzglas übergeführt und ist *bereit für die Chromatographie.*

Ist der Extrakt trotz den verschiedenen Reinigungsschritten noch stark gefärbt, so wird nur ein Teil davon chromatographiert, was allerdings die Nachweisbarkeitsgrenze nach oben verschiebt.

γ) Wasserphase

i) *Überführung der Insektizide in Chloroform.* Die gesamte Wasserphase aus B α Seite 117 wird dreimal mit 30 ml Chloroform ausgeschüttelt (Emulsion mit ges. NaCl-Lösung brechen). Die Chloroform-Extrakte werden vereinigt, mit Natriumsulfat getrocknet und auf ca. 5 ml eingengt. Ist die Lösung farblos, wird sie in ein Spitzglas übergeführt und chromatographiert, andernfalls wird ein weiterer Reinigungsschritt an einer Kohlsäule angeschlossen.

ii) *Reinigung an der Kohlsäule.* Es wird die gleiche Vorschrift wie unter β iii) angewendet.

III. Identifikation der einzelnen Stoffe

A. Chlorierte Kohlenwasserstoffe: Papierchromatographie, Dünnschichtchromatographie.

B. Phosphorsäureester: Dünnschichtchromatographie.

(Allgemeine Vorschriften vergleiche Cramer [36] 1962)

Chlorierte Kohlenwasserstoffe

1. Geräte und Reagenzien

Chromatographietanks, eingerichtet für absteigende Methode, mindestens 15 cm breit

Whatmanpapier Nr. 1

UV-Lampe mit abnehmbarem Filter (z. B. Analysenlampe «Original Hanau»)

Sprühflaschen

N₂ oder komprimierte Luft

Original-Silicon DC 550 Fluid, 7,5 % in Äther v/v

2-Phenoxy-aethanol

Äther p. A.

Acetonitril Sp. 79–81 ° C dest.

Isooctan dest. (2,2,4 Trimethylpentan) Sp. 95 ° C

Entwicklungsreagens: 1,7 g AgNO₃ p. A. in 5 ml H₂O lösen + 10 ml des entsprechenden Imprägnierungsmittels (Silicon DC 550 Fluid oder 2-Phenoxy-aethanol) mit Aceton auf 200 ml auffüllen.

Auftropftisch mit Infrarotlampen nach *Eichenberger* (17) (1960)

2. Ausführung

Es werden 12 cm breite Papierstreifen (Laufrichtung senkrecht zur Fabrikationsrichtung) in 3 cm breite Bahnen eingeteilt. 7 cm vom Rand entfernt wird die Startlinie eingezeichnet. Die Substanzen bzw. der gereinigte Extrakt werden vor dem Imprägnieren des Papiers aufgetragen (Auftragebank).

Imprägnieren des Papiers: 100 ml des in Äther gelösten Imprägnierungsmittels werden in eine Photoschale von 9×12 cm gebracht. Die Papierbogen mit den aufgetragenen und eingetrockneten Substanzen werden je vom oberen und unteren Ende her bis zur Startlinie durch die Lösung gezogen. Die Startlinie soll dabei nicht überschritten werden (vgl. Müller et al. [12] 1957). Der Äther wird im Abzug abdampfen gelassen (ca. 30 Minuten). Damit sind die Chromatogramme zum Einhängen in den Tank bereit.

Vorbereitung der Tanks und Sättigungszeit: Die Tanks sollen am Vortag mit den Lösungsmitteln beschickt werden. Das trockene imprägnierte Chromatogramm wird eine Stunde vor Beginn des Laufens in den Tank zur Sättigung eingehängt.

Laufmittelsysteme (vgl. Figur 1, Seite 106)

a) nach Mitchell (22) (1959)

Imprägnierung : 10 % 2-Phenoxy-aethanol in Äther v/v

Laufmittel: Isooctan (2,2,4-Trimethylpentan).

b) Imprägnierung: 7,5 % Silicon DC 550 Fluid in Äther v/v

Laufmittel: Acetonitril : Aceton : Wasser = 64 : 15 : 21.

Laufzeit: 2–2½ Stunden bei 20 ° C bei einer Strecke von 30–35 cm.

Entwicklung der Flecken: Nach Beendigung des Laufs wird das Chromatogramm an der Luft getrocknet (ca. 10 Minuten), alsdann unter der UV-Lampe auf fluoreszierende Stellen geprüft; allfällig vorhandene Flecken werden angezeichnet. Anschließend wird mit der Silbernitratlösung besprüht und ein zweites Mal auf fluoreszierende Flecken kontrolliert. Damit werden Flecken festgestellt, die nicht von Insektiziden herrühren. Nun setzt der eigentliche Entwicklungsvorgang ein, indem das besprühte Chromatogramm unter die UV-Lampe, deren Filter entfernt worden ist, gelegt wird. Nach wenigen Minuten erscheinen die Flecken der Insektizide als gelbgrünliche Flecken mit braunen Rändern. Bei der Betrachtung unter der UV-Lampe mit Filter erscheinen sie als blaugrüne Fluoreszenzen.

Sollen die Chromatogramme zur Dokumentation aufbewahrt werden, so wird das überschüssige Silbernitrat ausgewaschen, indem das Chromatogramm kurz in Leitungswasser gewaschen und anschließend getrocknet wird. Die so behandelten Chromatogramme können praktisch unbeschränkt aufbewahrt werden.

Untere Nachweisbarkeitsgrenzen:

100– 40 µg für DDT, Methoxychlor, Dieldrin, Aldrin, Chlordan, Chlorbenzilat;

200–100 µg für Perthan und HCH.

Dünnschichtchromatographie

Allgemeine Arbeitsvorschrift vgl. *Stahl* (23) 1961 und (24) 1962 und *Randerath* [25] 1962)

1. Geräte und Reagenzien

Allgemeine Dünnschichtchromatographie-Ausrüstung nach *Stahl**

mindestens 6 Tanks

ca. 20 Platten

Streichgerät + Schablone

2 Exsiccatoren für die gestrichenen Platten

Auftropftisch mit Infrarot-Lampen nach *Eichenberger* (17) 1960

Aluminiumoxyd G («Merck» für Dünnschichtchromatographie)

Kieselgel G («Merck» für Dünnschichtchromatographie)

UV-Lampe mit abnehmbarem Filter (z. B. Analysenlampe «Original Hanau»)

Sprühflaschen

N₂ oder komprimierte Luft

n-Hexan dest.

Aceton p. A.

Methylenchlorid dest.

Isooctan (2,2,4-Trimethylpentan) dest.

* Erhältlich bei Desaga AG, Vertretung in der Schweiz: Fribos AG, Basel.

Aethylacetat

Aethanol absolut. p. A.

Brom p. A.

Palladiumchlorid 0,5 ‰

0,5 g in 5 ml conc. HCl lösen und mit Aethanol auf 100 ml auffüllen

Fluoreszein-Lösung

Stammlösung: 1 g Fluoreszein in 100 ml 0,1 n NaOH

Sprühlösung: 1 ml Stammlösung auf 100 ml Aceton

Natriumazid 3 ‰

3 g Na-Azid in n/10 J₂ in KJ lösen und auf 100 ml auffüllen

Silbernitrat-Lösung

1,7 g Silbernitrat p. A. in 5 ml Wasser lösen und mit Aceton auf 200 ml auffüllen

Natriumaethylat 2 ‰

2 g Natrium in 100 ml Aethanol abs. p. A. lösen

N,N-Dimethyl-p-phenylendiamindihydrochlorid 1 ‰ in Aethanol

abs. p. A. unmittelbar vor Gebrauch ansetzen

Sprühlösung: unmittelbar vor Gebrauch 1 : 1 v/v mit Na-Aethylat 2 ‰ mischen

Referenzsubstanzen der Insektizide in Aethylacetat

10 µg/Mikroliter

2. Ausführung

Beschichtung der Platten: Es wird nach der Vorschrift von *Stahl* vorgegangen: 30 g Aluminiumoxyd G (für chlorierte Kohlenwasserstoffe) bzw. Kieselgel G (für Phosphorsäureester) werden zunächst mit 40 ml dest. Wasser in der Porzellanreibschale, bis ein glatter Brei entstanden ist, verrieben; anschließend werden weitere 20 ml dest. Wasser zugesetzt und nochmals gut gemischt. Der dünnflüssige Brei wird nun sofort in das Streichgerät gebracht und auf 5 Platten aufgetragen. Die Schicht wird zuerst während etwa 5 Minuten antrocknen gelassen, worauf die Platten in ein Gestell geschoben und im Trockenschrank bei der entsprechenden Temperatur aktiviert werden.

Aluminiumoxydschichten: 4 Stunden bei 220 ° C

Kieselgelschichten: 1/2 Stunde bei 105 ° C.

Der Trockenschrank soll eine Entlüftung aufweisen, damit die Feuchtigkeit gut entweichen kann. Die Platten sollen bei ca. 150 ° C herausgenommen und im Exsiccator auf Zimmertemperatur abkühlen gelassen werden. Im Exsiccator sind sie einige Tage haltbar.

Aufbringen der Substanzen bzw. der Extrakte: Es wird zweidimensional chromatographiert, wobei die Laufstrecke in beiden Richtungen 10 cm beträgt. Die Einteilung der Platte ist aus Figur 3 zu ersehen. Bei Punkt A wird der zu untersuchende Extrakt und bei den Punkten B₁₋₈ und C₁₋₈ werden die Referenzsubstanzen aufgetragen. Damit machen die Substanzen je nur einen Lauf, diejenigen bei B₁₋₈ den ersten und diejenigen bei C₁₋₈ den zweiten mit. Es wird nach Möglichkeit der ganze Extrakt aufgetragen (vgl. Allgemeine Bemerkung S. 113 und die betreffenden Abschnitte der Aufarbeitung des Rohextraktes).

Für den ersten Lauf wird die Platte auf der Kante AB und für den zweiten auf der Kante AC in den Tank gestellt.

Die allenfalls gefundenen Substanzen können dadurch identifiziert werden, daß Parallelen zu den Laufrichtungen gezogen werden, womit die entsprechende Substanz der eindimensionalen Richtung gefunden wird.

Fließmittel und Sättigung der Tanks: Es wird die sog. Kammerübersättigung angewendet, d. h. der Tank auf drei Seiten mit Filterpapier ausgeschlagen. Die Lösungsmittel werden mindestens eine halbe Stunde vor dem Einsetzen der Platten in den Tank gegeben. Die Laufzeiten betragen bei dieser Anordnung in beiden Richtungen je nach Lösungsmittel 12–22 Minuten. Bei Lösungsmittelgemischen soll der gleiche Ansatz höchstens dreimal verwendet werden (ungleiches Abdampfen der verschiedenen Anteile).

A. Chlorierte Kohlenwasserstoffe

Schicht: Aluminiumoxyd G (vgl. Figur 2)

Fließmittel: 1. Lauf: Hexan
2. Lauf: Isooctan

Sichtbarmachen der Flecken: Es bestehen zwei Möglichkeiten:

1. Mit Silbernitrat (ohne Zusatz eines Imprägnierungsmittels vgl. Papierchromatographie S. 120). Die Flecken erscheinen allerdings nicht so deutlich wie auf dem Papier.
2. Nach *Bäumler* (26) (1961): Die Platte wird mit einer Lösung von N,N-Dimethyl-p-phenylendiamin-dihydrochlorid in Na-Aethylat besprüht und mit dest. Wasser angefeuchtet. Unter der UV-Lampe ohne Filter erscheinen die Flecken nach wenigen Minuten mit schmutzig violetter bis grünlicher Farbe. Nach einstündiger Belichtung unter der offenen UV-Lampe fluoreszieren die Flecken grüngelb bei der Betrachtung unter der UV-Lampe mit vorgesetztem Filter.

Das Sprühreagens wird unmittelbar vor dem Gebrauch zusammengesetzt: 0,05 g N,N-Dimethyl-p-phenylendiamin-dihydrochlorid werden in 5 ml Aethanol abs. gelöst und mit der Na-Aethylat-Lösung auf 10 ml ergänzt.

Untere Nachweisbarkeitsgrenze: 5–10 µg.

B. Phosphorsäureester

Schicht: Kieselgel G

Fließmittel: Petrolätherphase (vgl. Figur 3):

1. Lauf: Hexan : Aceton = 4 : 1

2. Lauf: Hexan : Methylenchlorid = 1 : 1

Wasserphase (vgl. Figur 4):

nur eindimensional : Methylenchlorid : Aethylacetat = 1 : 1

Sichtbarmachen der Flecken: Es bestehen drei Möglichkeiten:

1. Mit Palladiumchlorid. Das kurz an der Luft abgetrocknete Chromatogramm wird mit der Palladiumchloridsprühlösung (0,5 % PdCl₂) behandelt. Die Flecken der Insektizide, mit Ausnahme von Parathion und Methylparathion, erscheinen sofort als gelbe bis gelbbraune Flecken. Parathion und Methylparathion erscheinen nach ca. 1/2 Stunde (liegen lassen an der Luft) als dunkelbraune Flecken.

Bei Betrachtung unter der UV-Lampe mit Filter erscheinen die Insektizide als dunkle Flecken, während die meisten pflanzlichen Verunreinigungen in verschiedenen Farben fluoreszieren. Phosdrin, Phosphamidon und Tepp (= Sulfotepp) sprechen nicht an!

2. Mit Brom-Fluoreszein. Die luftgetrocknete Platte wird kurz in einen Bromdämpfe enthaltenden Chromatographietank gestellt, unmittelbar anschließend mit der Fluoreszeinsprühlösung behandelt und unter der UV-Lampe mit Filter betrachtet. Die Insektizide erscheinen als dunkle Flecken auf grünlich fluoreszierendem Untergrund.
3. Mit Natrium-Azid. Die luftgetrocknete Platte wird mit der Na-Azid-Lösung besprüht. Es entstehen braune Flecken, die langsam wieder verschwinden und bei erneutem Sprühen wieder zum Vorschein kommen.

Auf Brom-Fluoreszein- und Na-Azid-Behandlung sprechen alle hier besprochenen Phosphorsäureester an. Bei allen drei Entwicklungen sind die Reaktionen genau zu beobachten und mit den Referenzsubstanzen zu vergleichen, da trotz den Reinigungsschritten noch Verunreinigungen vorhanden sein könnten, die Insektizide vortäuschen können.

Den Herren *B. Blind* und *L. Duscha* danken wir für ihre Mithilfe.

Zusammenfassung

Rückstände von chlorierten Kohlenwasserstoffen und organischen Phosphorsäureestern werden in bzw. auf Obst und Gemüse mit Hilfe der Papier- und Dünnschichtchromatographie nachgewiesen. Es handelt sich hierbei um 21 Insektizide, welche in regem praktischem Gebrauch in der Landwirtschaft und verwandten Branchen stehen. Vorgängig der Arbeitsvorschrift werden die Gründe erörtert, welche schließlich zur angewendeten Me-

thodik geführt haben. Die Empfindlichkeit des Analysenverfahrens wird diskutiert und für einzelne Stoffe die untere Nachweisbarkeitsgrenze angegeben.

Die vorliegende Arbeit stellt die Weiterentwicklung der Methodik einer früheren Publikation dar, die in diesen Mitteilungen im Jahrgang 1957, p. 152 und f. veröffentlicht wurde (R. Müller, G. Ernst und H. Schoch «Der Nachweis von Insektizidrückständen auf Pflanzenmaterial (Gemüse und Früchte) und die Trennung einzelner Schädlingsbekämpfungsmittel mit Hilfe der Papierchromatographie»).

Résumé

Mise en évidence de résidus d'hydrocarbures chlorés et d'esters organiques de l'acide phosphorique sur les fruits et les légumes au moyen de la chromatographie sur papier et de la chromatographie en couche mince. — Examen de 21 insecticides. — Ce travail est la suite de celui publié en 1957 par R. Müller, G. Ernst et H. Schoch (Trav. [1957] 152).

Summary

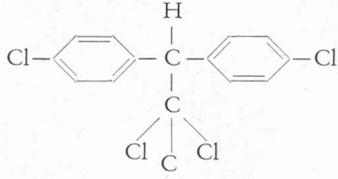
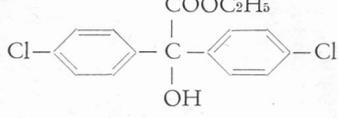
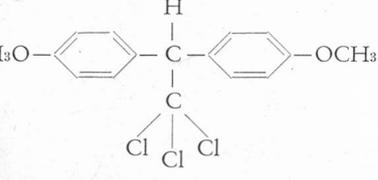
Detection of 21 pesticides (chlorinated hydrocarbons and organic esters of phosphoric acid) on fruits and vegetables by means of paper chromatography and thin layer chromatography.

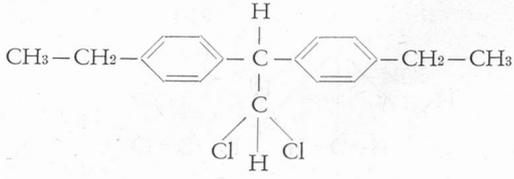
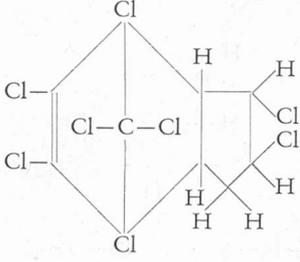
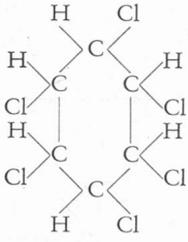
Literatur

1. Lichtenstein E. P. and Schulz K. R.: J. agr. food chem., **8**, 452–456 (1960).
2. Cannon N. and Decker G. C.: J. Econ. Ent., **51**, 3–7 (1958).
3. San Antonio J. P.: J. agr. food chem., **7**, 322–325 (1959).
4. Spencer E. Y. and Robinson J. R.: J. agr. food chem., **8**, 293–295 (1960).
5. Metcalf R. L., Fukuto T. R. and March R. B.: J. Econ. Ent., **50**, 338–345 (1957).
6. Fukuto T. R., Wolf J. P., Metcalf R. L. and March R. B.: J. Econ. Ent., **50**, 399–401 (1957).
7. Bowman J. S., Casida J. E.: J. agr. food chem., **5**, 192–197, (1957).
8. Metcalf R. L., Reynolds H. T., Winton M. and Fukuto T. R.: J. Econ. Ent., **52**, 435–439 (1959).
9. Jucker O., diese Mitt., **49**, 299–322 (1958).
10. Anliker R., Beriger E., Geiger M. und Schmid K.: Helv. Chim. Acta, **44**, 1622–1645 (1961).
11. Faderl N., diese Mitt., **53**, 154–175 (1962).
12. Müller R., Ernst G. und Schoch H.: diese Mitt., **48**, 152–197 (1957).
13. Strache F. und Indinger J.: Deutsche Lebensmittel-Rundschau, **57**, 197–201 (1961).
14. Radeleff R. D. and Claborn H. V.: J. agr. food chem., **8**, 437–439 (1960).
15. Storherr R. W., Tighe J. F. and Sykes J. F., J. AOAC, **43**, 731–735 (1960).
16. Laws E. Q. and Webley D. J.: Analyst, **86**, 241–255 (1961).
17. Eichenberger J., und Gay L.: diese Mitt., **51**, 423–455 (1960).
18. O'Brien R. D. et al.: J. agr. food chem., **9**, 39–42 (1961).
19. Klein A. K.: J. AOAC, **43**, 703–706 (1960).
20. McKinley W. P. and Graham S.: J. AOAC, **43**, 89–91 (1960).
21. Ordas E. P., Smith V. C. and Meyer C. F.: J. agr. food. chem., **4**, 444–451 (1956).
22. Mitchell L. C.: J. AOAC, **41**, 781–806 (1958).
23. Stahl E.: Z. Anal. Chem., **181**, 303–312 (1961).

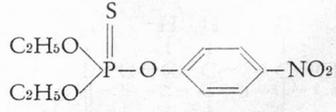
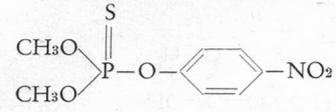
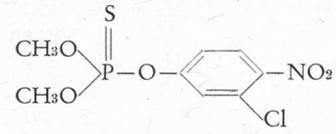
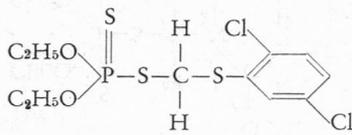
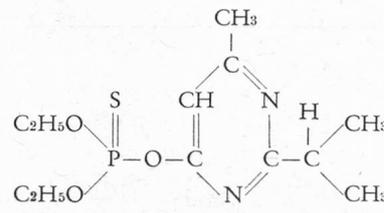
24. *Stahl E.*: Dünnschichtchromatographie, Springer (1962).
25. *Randerath K.*: Dünnschichtchromatographie, Weinheim (1962).
26. *Bäumler J.* und *Rippstein S.*: *Helv. Chim. Acta*, **44**, 1162–1164 (1961).
27. *Gruch W.*: *Naturwiss.*, **41**, 39 (1954).
28. *Bush I. E.*: *Biochem. J.*, **50**, 370–378 (1952).
29. *Grüne A.*: *Chimia*, **11**, 173–203, 213–256 (1957).
30. *Mitchell L. C.*: *J. AOAC*, **43**, 810–824 (1960).
31. *Gerlach E.*, *Weber E.*, und *Döring H. J.*: *Arch. exp. Path. Pharm.*, **226**, 9–17 (1955).
32. *Ebel J. P.* und *Volmar Y.*: *C. R. Soc. Biol.*, **233**, 415 (1951).
33. *Vollmar Y.*, *Ebel J. P.* und *Yacoub F. B.*: *C. R. Soc. Biol.*, **235**, 372 (1951).
34. *Schenker E.*, *Hunger A.* und *Reichstein T.*: *Helv. Chim. Acta*, **37**, 680–685 (1954).
35. *Fischer R.* und *Klingelhöller W.*: *Arch. Tox.*, **19**, 119–140 (1961).
36. *Cramer E.*: *Papierchromatographie*, 5. Aufl., Weinheim (1962).

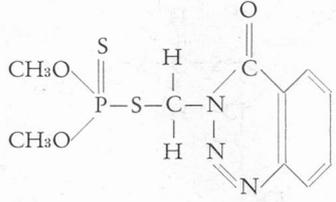
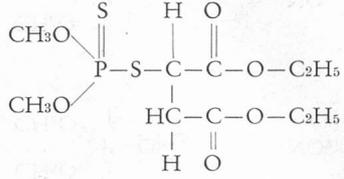
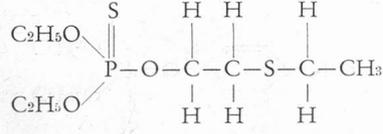
Tabelle der untersuchten Substanzen mit ihren wichtigsten Eigenschaften

Name	Formel	O = Ober- fläche T = Tiefen- wirkung S = syste- misch	Toxizität DL 50 mg/kg	IKG- Toleranz- wert ppm	Mol. Gew.
DDT		O	175-280	2-4	352
Chlorbenzilat		T	4850		324
Methoxychlor		O	6500		346

Perthane		O	8200	4-7	307
Chlordan	 <p>(α-Chlordane)</p>	O	457		410
HCH γ -isomere: Lindan	 <p>(Mischung von 5 Isomeren)</p>	O	125	1	291

Name	Formel	O = Oberfläche T = Tiefenwirkung S = systemisch	Toxizität DL 50 mg/kg	IKG-Toleranzwert ppm	Mol. Gew.
Aldrin		O	67	0,1	365
Dieldrin		O	87-142		381

Parathion		T	6	0,75	291
Methyl-Parathion		T	15-20	0,75	263
Chlorthion			625-1000		298
Phenkapton			180		344
Diazinon		T	100-240 (354)	0,75	304

Name	Formel	O = Ober- fläche T = Tiefen- wirkung S = syste- misch	Toxizität DL 50 mg/kg	IKG- Toleranz- wert ppm	Mol. Gew.
Methyl- gusathion		T	24	1	317
Malathion		T	(1845) 2590	2	330
Systox I.		S	7,5		258

Systox	II.	$ \begin{array}{ccccccc} & & \text{O} & & \text{H} & \text{H} & \text{H} \\ & & & & & & \\ \text{C}_2\text{H}_5\text{O} & & \text{P} & - \text{S} & - \text{C} & - \text{C} & - \text{S} & - \text{C} & - \text{CH}_3 \\ & & / & & & & & \\ & & \text{C}_2\text{H}_5\text{O} & & \text{H} & \text{H} & \text{H} & \\ & & & & & & & \end{array} $	S	1,5		258
	I.	$ \begin{array}{ccccccc} & & \text{S} & & \text{H} & \text{H} & \text{H} \\ & & & & & & \\ \text{CH}_3\text{O} & & \text{P} & - \text{O} & - \text{C} & - \text{C} & - \text{S} & - \text{C} & - \text{CH}_3 \\ & & / & & & & & \\ & & \text{CH}_3\text{O} & & \text{H} & \text{H} & \text{H} & \\ & & & & & & & \end{array} $	S	85	0,5	230
Meta-Systox	II.	$ \begin{array}{ccccccc} & & \text{O} & & \text{H} & \text{H} & \text{H} \\ & & & & & & \\ \text{CH}_3\text{O} & & \text{P} & - \text{S} & - \text{C} & - \text{C} & - \text{S} & - \text{C} & - \text{CH}_3 \\ & & / & & & & & \\ & & \text{CH}_3\text{O} & & \text{H} & \text{H} & \text{H} & \\ & & & & & & & \end{array} $	S	40	0,5	
Thiometon		$ \begin{array}{ccccccc} & & \text{S} & & \text{H} & \text{H} & \text{H} \\ & & & & & & \\ \text{CH}_3\text{O} & & \text{P} & - \text{S} & - \text{C} & - \text{C} & - \text{S} & - \text{C} & - \text{CH}_3 \\ & & / & & & & & \\ & & \text{CH}_3\text{O} & & \text{H} & \text{H} & \text{H} & \\ & & & & & & & \end{array} $	S	225	0,5	246
Sulfotepp		$ \begin{array}{ccccccc} & & \text{S} & & & \text{S} & & \\ & & & & & & & \\ \text{C}_2\text{H}_5\text{O} & & \text{P} & - \text{O} & - \text{P} & & \text{OC}_2\text{H}_5 \\ & & / & & \backslash & & / \\ & & \text{C}_2\text{H}_5\text{O} & & & & \text{OC}_2\text{H}_5 \end{array} $	T	5		322

Name	Formel	O = Ober- fläche T = Tiefen- wirkung S = syste- misch	Toxizität DL 50 mg/kg	IKG- Toleranz- wert ppm	Mol. Gew.
Rogor (Dime- thoate)	$ \begin{array}{c} \text{S} \quad \text{H} \quad \text{O} \quad \text{H} \\ \parallel \quad \quad \parallel \quad \\ \text{CH}_3\text{O}-\text{P}-\text{S}-\text{C}-\text{C}-\text{N}-\text{CH}_3 \\ \quad \\ \text{CH}_3\text{O} \quad \text{H} \end{array} $	S	185-247 500	0,3	229
Phosdrin (Mevinphos)	$ \begin{array}{c} \text{O} \quad \quad \quad \text{H} \quad \quad \quad \text{O} \\ \parallel \quad \quad \quad \quad \quad \quad \parallel \\ \text{CH}_3\text{O}-\text{P}-\text{O}-\text{C}=\text{C}-\text{C}-\text{O}-\text{CH}_3 \\ \quad \quad \quad \\ \text{CH}_3\text{O} \quad \quad \text{CH}_3 \end{array} $	S	6,5	0,25	224
Phospha- midon	$ \begin{array}{c} \text{O} \quad \quad \quad \text{Cl} \quad \quad \quad \text{C}_2\text{H}_5 \\ \parallel \quad \quad \quad \quad \quad \quad \diagup \\ \text{CH}_3\text{O}-\text{P}-\text{O}-\text{C}=\text{C}-\text{C}-\text{N} \\ \quad \quad \quad \quad \quad \quad \diagdown \\ \text{CH}_3\text{O} \quad \quad \text{CH}_3 \quad \quad \quad \text{O} \quad \quad \quad \text{C}_2\text{H}_5 \end{array} $	S	13-20	0,75	300

Prüfung auf	Chlorierte Kohlenwasserstoffe				Phosphorsäureester			
Extraktion	200 g Pflanzenmaterial entspr. 100 g Probe				200 g Pflanzenmaterial entspr. 25-50-100 g Probe			
Clean-up	Wachse ausfällen ↓ aus Acetonitril Ausschütteln zwischen Acetonitril + Hexan				Ausschütteln zwischen Petroläther + Wasser zwischen Petroläther/Methanol-(15%) Wasser/Methanolphase			
	Reinigung an Säule, elutroläther +	Florisilieren Pe-Aceton	Reinigung m. Mischung»	«Oleum-	Wachse aus Aceto	fällen nitril	Reinigung Säule	an Kohlen-
Identifikation (Chromatographie)	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
	Dünnschicht	Papier	Dünnschicht	Papier	Dünnschicht	Papier	Dünnschicht	Papier
			obligatorisch		wahlweise			