

Zeitschrift: Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène
Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit
Band: 62 (1971)
Heft: 2

Artikel: Eine accidentelle Vergiftung von Kühen mit Endosulfan (Thiodan)
Autor: Schmidlin-Mészáros, J. / Romann, E.
DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-983575>

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>

Zusammenfassung

Es wird über Extraktbestimmungen von Weinen berichtet. Bei *indirekten* Bestimmungen aus der Dichte des von den flüchtigen Bestandteilen befreiten Rückstandes ist inskünftig die Saccharosetabelle (Plato-Tabelle) zu verwenden, weil die bisher empfohlene Tabelle nach E. Ackermann zu niedrige Werte liefert.

Es wird über Versuche berichtet, aus welchen hervorgeht, daß die Extraktgehalte von Weinen mit steigender Verweilzeit an den Maischen größer werden und auf die diesbezüglichen Konsequenzen hinsichtlich der Beurteilung von (süß gepreßten) spanischen Roséweinen hingewiesen.

Résumé

Ce travail relate des dosages comparatifs d'extrait dans les vins. Lorsque l'extrait est déterminé selon la méthode indirecte, basée sur la densité du résidu de distillation débarrassé de ses matières volatiles, il convient de se référer à l'avenir, à la table des densités de solutions de saccharose (table de Plato). En effet, la table d'Ackermann recommandée jusqu'à maintenant fournit des résultats trop bas.

Il ressort des essais effectués que la teneur en extrait des vins augmente avec le temps de cuvage de la vendange foulée. Il convient donc de tirer les conséquences faites à ce sujet lors de l'appréciation des vins rosés d'Espagne, élaborés avec des moûts pressés doux.

Summary

The authors describe comparative determinations of extract in red and rosé wines. If the extract is determined indirectly, based on the density of the distillation residue, which is free from volatile components, the table based on the density of saccharose solutions (according to Plato) should be used. The table according to E. Ackermann, which has been used so far, actually yields too low results.

Experiments have been run to show that the extract content of wine increases with mashing time in the vinification process. Attention must be drawn to the consequences of this fact when Spanish rosé wine is examined.

Eine accidentelle Vergiftung von Kühen mit Endosulfan (Thiodan)

J. Schmidlin-Mészáros und E. Romann
Kantonales Laboratorium, Zürich

Infolge seiner interessanten Konstitution, seiner selektiven Toxizität, seiner Umwandlungs- und Abbaufähigkeit ist Endosulfan (Thiodan, Formel I) ein vielseitiges Studienobjekt in vielen Spezial- und Randgebieten der Chemie. Beim vorschriftsgemäßen Gebrauch ist es als bienenunschädlich deklariert und anerkannt worden. Demgegenüber steht eine hohe Giftigkeit für Fische und für fischfressende Tiere (*Maier-Bode* 1965 und 1968) (1, 2). Für Rinder und Kälber fanden wir in der toxikologischen Fachliteratur keinen LD₅₀-Wert. *Maier-Bode* (1965) S. 367 erwähnt, daß es in mehreren Fällen zu Verlusten von Weidevieh gekom-

men war, als Endosulfan-Kaltnebel von Flugzeugen aus auf Grünflächen gelangten, auf welchen später Vieh weidete. Unser Fall schließt sich diesen Beispielen an.

Beschreibung des Falles

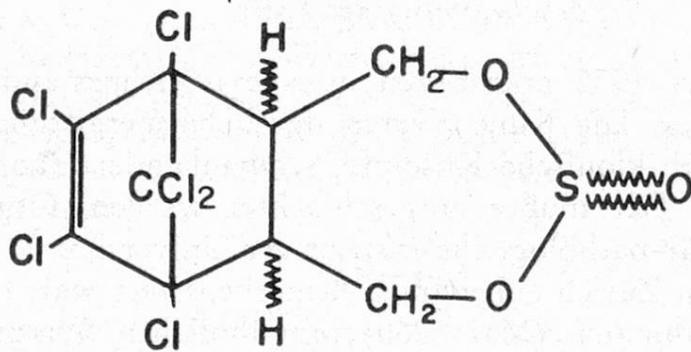
Im März des Jahres 1970 erkrankten in einem Viehbestand von insgesamt 8 Tieren 3 Kühe schwer. Die Kühe zeigten deutliche Vergiftungserscheinungen, wie Speichelfluß, tonisch-klonische Krämpfe, schwankender Gang, Atemnot und Muskelzuckungen. Ein Tier mußte notgeschlachtet werden. Organteile wurden teilweise an das veterinär-pathologische Institut der Universität Zürich und an das kantonale Laboratorium Zürich eingesandt. Bemerkenswert war, daß die gleichen Kühe bereits vor 10 Monaten (Mai 1969) mit ähnlichen Symptomen erkrankt waren. Sie hatten sich damals wieder erholt. Der behandelnde Tierarzt hatte sofort den Verdacht auf die im Mai 1969 durchgeführte Maikäferbekämpfung geworfen. Damals war entlang eines Waldrandes mit Endosulfan gespritzt worden. Das Gras der angrenzenden Wiese war sehr hoch und kurze Zeit nach der Spritzung teilweise als Grünfütter, teilweise zur Trocknung für Heu geschnitten worden. Die eine Probe Heu (10 T) hatte der Tierarzt aus der Futterkrippe entnommen. Die zweite Probe (10 R) war auf dem Heustock sichergestellt worden. Die verdächtige Schicht war leicht zu finden, da sie mit Laub von Waldbäumen vermischt war.

Die bakteriologische Untersuchung zeigte keinen krankhaften mikrobiellen Befall. Die pathologisch-anatomische und histologische Untersuchung konnten den Fall auch nicht erklären. Das akut toxische Krankheitsbild legte deshalb eine chemische Abklärung nahe.

Chemische Untersuchung

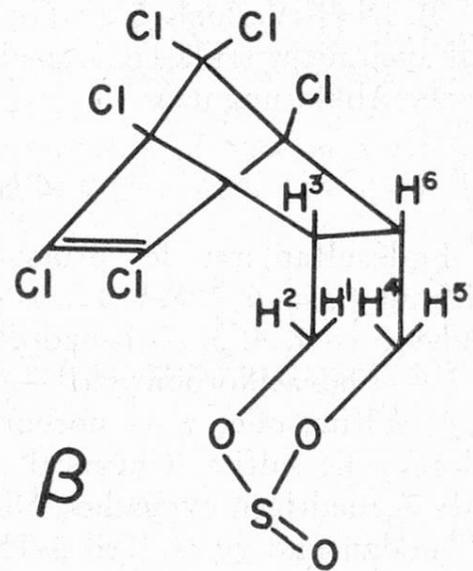
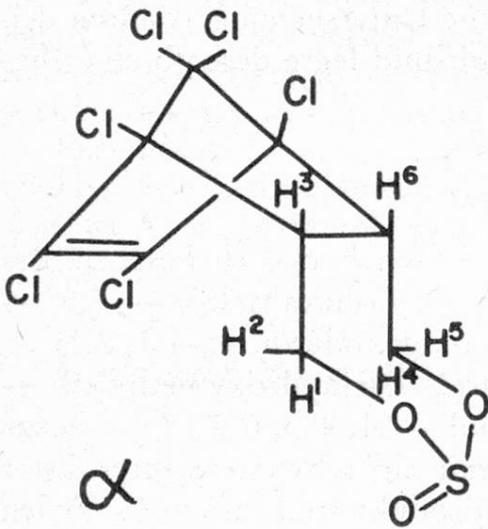
Endosulfan mit der Bruttoformel $C_9H_6O_3Cl_6S$ ist nach der chemischen Bezeichnung ein 6, 7, 8, 9, 10, 10-Hexachlor-1,5, 5a, 6, 9, 9a-hexahydro — 6,9 — methano — 2, 4, 3, — benzo-dioxathiepine — 3 — oxide, oder α , β — 1, 2, 3, 4, 7, 7 — hexachlorobicyclo — (2, 2, 1) — hepten-(2) bis-hydroxymethylen — (5, 6) sulfite, oder 5 — norborne — 2, 3-dimethanol — 1, 4, 5, 6, 7, 7 — hexachlorocyclic sulfite (Chemical Abstracts). Es ist somit ein schwefeligsaurer Ester eines 7-gliedrigen cyclischen Diols. Im technischen Produkt sind zu ca. $\frac{2}{3}$ Teilen α -Thiodan und zu $\frac{1}{3}$ Teil β -Thiodan als Isomermischung vorhanden. Nach *Forman et al.* (1965) (3) sind beide Isomeren in Sesselform. Die S-O-Gruppe ist — obwohl bei beiden axial — doch differierend in Stellung zur CCl_2 -Brücke und immer gleichartig orientiert zum H_1 . Die Differenz in der Konfiguration manifestiert sich in chemischer, physikalischer und toxikologischer Hinsicht. Beide Verbindungen sind praktisch wasserunlöslich, in Alkohol mäßig und in Fettlösungsmitteln gut löslich. Ihre Anreicherung aus biologischem Material ist mit Fettlösungsmitteln möglich. Vor den Nachweis- und Bestimmungsreaktionen ist eine individuelle Reinigung erwünscht, je nach Art und Menge der mitextrahierten Fettsubstanzen.

Thiodan



Formel I

Strukturformeln



Isomere

108 - III °C

Schmelzpunkt 208 - 210 °C

30 - 76 mg / Kg

LD₅₀ Ratte per os 240mg / Kg

Die Heuprobe 10 T-Probe aus der Futterkrippe und 10 R-Probe vom unteren Heustock differierten leicht im Aussehen. 10 T war grüner und frischer, während 10 R bräunlich, einem leicht verbrannten Heu ähnlich war, in welchem die Chlorophylle geschädigt schienen. Die beiden Proben wurden immer parallel aufgearbeitet. Für die Extraktionsproben verwendeten wir je 100 g. Sie wurden nach dem Kleinschneiden mit der Schere mehrmals kalt extrahiert. Je 2 Proben extrahierten wir fünf- bis siebenmal mit Chloroform, je 2 Proben mit Isopropanol-Benzolmischung (1:2) und das 3. Paar mit Hexan. Die Hexanextrakte lieferten die kleinsten Rückstände, die chloroformischen die größten. Die Aufarbeitung der vereinigten Benzol-Isopropanolextrakte erfolgte nach den Angaben von *Gorbach* (1969) (4). Die Rohrückstände teilten wir auf für direkte Dünnschichtchromatographie, für fraktionierte Sublimation im Vacuum, für qualitative und quantitative Farbreaktionen, für Versuche zur weiteren Reinigung, für Spektrophotometrie und für Gaschromatographie. Toxikologische Erfahrungen haben uns belehrt, daß Einsatz von mehreren Methoden im Mikrobereich erstrebenswert ist. (*Schmidlin*, 1958 (5) und *Hardmeier* und *Schmidlin*, (1965) (6). *Die Dünnschichtchromatographie* gab uns wertvolle Auskünfte. Nach *Gorbach* (1969) (4) verwendeten wir Silikagel-Fertigplatten mit der Laufmittelmischung Benzol : Aceton 9:1. Mit den Entwicklern: Rhodamin B-KBr-KOH-Mischung nach *Gorbach* (1969) (4), N,N-Dimethyl-p-phenylen-diamin-hydrochlorid nach *Bäumler* und *Rippstein* (1961) (7), oder nach *Ebing* (1969) (8), Diphenylamin-Zinkchlorid nach *Stahl* (1967) (9) ließ die Anwesenheit des Thiodans mit deutlichen Flecken und mit gleichen Rf-Werten, wie das gleichzeitig aufgetragene technische Produkt erkennen. Auf Grund der Farbstärke und Fleckengröße ließ sich semiquantitativ abschätzen:

	Heuprobe 10 T aus der Futterkrippe	Heuprobe 10 R vom unteren Heustock
<i>Rohthiodangehalt ... ca</i>	750 ppm	850—900 ppm

Diese dünnschichtchromatographischen Rohthiodanwerte wurden mit der Fujiwara-Reaktion nach der Methode *Butler* et al. (1962) (10) größenordnungsgemäß bestätigt.

Die Dünnschichtchromatogramme der diversen Extraktionsproben zeigten einen Fleck mit Rf ca. 0,35. Er wanderte deutlich langsamer als die zwei Thiodanisomere mit Rf 0,72 und Rf 0,78. Die Identität dieses Fleckes konnte als Thiodandiol erbracht werden. Die Synthese nach *Riemenschneider* et al. (1961) (11) lieferte mit guter Ausbeute und in dünnschichtchromatographisch reiner Form das Diol. Es ist auch im technischen Produkt vorhanden.

Thiodandiol läßt sich in den Heuproben dünnschichtchromatographisch auf ca. 15—20 mg/% abschätzen.

Der Diolnachweis und die semiquantitative Abschätzung konnte nach der spezifischen Diolentwicklung an Papier und an Dünnschichten nach der Methode von *Pomonis* et al. (1969) (12) erhärtet und bestätigt werden. Diese Methode ist auf die analytische Studie von *Sawicki* et al. (1963) (13) aufgebaut. Die Synthesen

von weiteren Umwandlungsprodukten, wie Thiodanäther und Thiodansulfat gelangen uns nur mit schlechter Ausbeute und in chromatographisch unreiner Form nach der Methode von *Forman et al.* (1965) (3). Mehrere Monate später erhielten wir von der Firma Hoechst Endosulfansulfat und die Diol- und Aether-Verbindungen, wofür wir auch an dieser Stelle bestens danken. Mit diesen Vergleichssubstanzen versuchten wir unsere Resultate differenzierter zu deuten. Viele Extrakte, Sublimata und selbstsynthetisierte Substanzen reanalysierten wir von neuem.

Die Rf-Bereiche der zwei technischen Isomeren schließen auch die Gegenwart von Endosulfansulfat und Endosulfanäther ein. Endosulfansulfat wandert etwas langsamer, während Endosulfanäther sich zwischen den beiden Isomeren zeigte. Das stark polare Thiodandiol bleibt deutlich zurück.

In den Heuproben zeigte sich die Anwesenheit von *Thiodansulfat*, während der *Aether* nur spurenhaft vorhanden war. Diol und Aether sind ungiftige Umwandlungsprodukte, Endosulfansulfat dagegen ist gleichartig toxisch wie die technische Mischung, *Cassil* und *Drummond* (1965) (14). Eine summarische Angabe des Thiodansulfatgehaltes mit den Thiodanisomeren ist toxikologisch begründet, *Maier-Bode* (1968) (2). Alle diese Thiodan-Umwandlungsprodukte scheinen in einem dynamischen Gleichgewicht zu sein.

Die Variation der Schichtdichte, der Schichtsorte, der Lösungsmittel und Entwickler erlauben uns den Rohthiodangehalt der Heuproben größenordnungsmäßig wie oben anzugeben. Die Reanalyse der Thiodanlösungen zeigte nämlich auch in unpolaren Lösungsmitteln, wie Hexan, eine Diolbildung und das Entstehen von weiteren, noch nicht identifizierten Substanzen. Dies spricht für eine geringe Haltbarkeit des Thiodans in verdünnten Lösungen.

Gaschromatographie

Die Gaschromatographie leistet nach der Fachliteratur eine gute Auflösung bei der Untersuchung von Thiodanisomeren, *Zweig* und *Archer* (1960) (15). Diese Autoren erarbeiteten auch eine quantitative Methode. *Schlunegger* (1968) (16) findet die gaschromatographische als die empfindlichste Methode. *Cassil* und *Drummond* (1965) (14) wurden mit der Hilfe der Gaschromatographie auf die Anwesenheit und Ansammlung einer unbekanntes Substanz in Thiodanrückständen aufmerksam, welche die als Thiodansulfat identifiziert haben. Gaschromatographische Untersuchungen bestätigen uns die Anwesenheit von Thiodan in den Heuproben.

Vacuumsublimation

Aliquote Teile der Heuextrakte wurden einer fraktionierten Vacuumsublimation unterworfen. Bei der Heuprobe 10 R erhielten wir schöne dünne, seidenartige Nadeln mit etwas Wachs. Sie waren frei von den Pflanzenfarbstoffen. Die Probe 10 T lieferte bedeutend kleinere Beläge. Im Schmelzpunktmikroskop zeigten sich opake Nadeln und dünne Plättchen mit Dichroismus. Die Schmelzintervalle waren 100 °C, 123 °C, 130—133 °C. Ein Siedepunkt lag bei 183 °C., aber es blieben opak- bis grün-floureszierende Kristallkeime bis 245 °C bestehen. Die

Dünnschichtchromatographie dieses Sublimates zeigt unter anderem 3 Hauptflecken auf Silikagel (Lösungsmittel Benzol : Aceton, 9:1). Eine unidentifizierte Substanz blieb am Auftrageort (bis R_f 0,1) und eine Substanz erschien mit gleichem R_f wie das Thiodandiol und eine Substanz mit einem R_f wie das weitlaufende Thiodanisomere. (Entwickler: Rhodamin B-Kaliumbromid + KOH). Da Thiodan- α eine größere Sublimationsfähigkeit aufweist, als Thiodan- β kann man Thiodan- α bei der fraktionierten Vacuumsublimation etwas anreichern. Bei der fraktionierten Sublimation im Vacuum ist bei höheren Temperaturen auch Thiodansulfat entstanden. Im offenen Rohr, bzw. bei ständigem Entzug der Dämpfe entstehen 5—8 Substanzen (dünnschichtchromatographische Auftrennung). Der Thiodanäthergehalt wächst. Die reinste Isomermischung enthielt schon Thiodandiol (unter 10 %), während eine graue, sichtbar unreine technische Mischung über 40 % Thiodandiol besaß. Ältere, verdünnte Endosulfanlösungen zeigen auch steigenden, zunehmenden Anteil an Diol. Dünnschichtchromatographische Untersuchungen sprechen für eine zunehmende Konzentration von einer X-Substanz mit R_f 0,7, während das α -Isomer eher abnimmt. Möglicherweise ist die α -Komponente der Mischung die reaktionsfähigere. Thiodandiol und Thiodanäther besitzen eine beachtliche Sublimationsfähigkeit, trotz ihren hohen Schmelzpunkten. Thiodanäther ist besonders interessant. Schon bei 120 °C sublimiert er zu Rosetten mit etwas Teilschmelze. Dann sublimiert er zu ineinandergewachsenen Platten, angeordnet wie Zellkolonien und schmilzt scharf bei 190—191 °C. Das Thiodandiol beginnt sich unter seinem Schmelzpunkte bei gewöhnlichem Druck ab 170 °C zu schönen, stäbchenförmigen Nadeln umzusublimieren. Diese schmelzen bei 207—210 °C. Die Sublimationsfähigkeit der Thiodane und ihrer Umwandlungsprodukte sind wichtige Eigenschaften nicht nur in analytischen, sondern auch in biologischen Bereichen!

IR-Spektrophotometrie

Die Kombination von Gaschromatographie mit Infrarotspektrometrie ist von *Zweig et al.* (1960) (17) für die Thiodanuntersuchungen empfohlen worden. Aus den Dünnschichten reextrahierten vermutlichen Thiodanflecken der Heuproben wurden IR-Spektren von *Dr. P. Krohmer* und *A. Duelli* (Perkin Elmer) dankenderweise aufgenommen. Sie wendeten eine von *Krohmer* und *Kemmner* (1968) (18) beschriebene Mikromethode an. Wir konnten diese Spektren mit dem gleichzeitig aufgenommenen Spektrum des technischen Endosulfans vergleichen. Bei den Heuproben wurde ein KBr-Mikropressling von 1,5 mm ϕ und Beamkondensator verwendet, bei den Thiodanisomeren ein Makropressling von 13 mm ϕ , ca. 1 mg Thiodan enthaltend (Apparat: Perkin Elmer 457 IR-Gerät). Ein sorgfältiger Vergleich der zwei Spektren erbrachte die Anwesenheit von Endosulfan in den Heuproben. Es zeigte sich aber bald, daß die den Thiodanisomeren entsprechenden Zonen der DC noch weitere Substanzen enthielten. Das IR-Spektrum weist somit auch ein Multikomponentensystem auf. Auf Grund der typischen Bandenlage und Bandenstärke z. B. bei 8,4 und bei 10,2 μ , welche von der S—O-Gruppe stammen, läßt sich Thiodan in ca. 30—50 mg/% im Heu vermuten. Die starken Bande

bei 13,3 und bei 14,9 μ , dominieren. Sie sind den C—Cl-Schwingungen zuzuordnen. Da auch Umwandlungsprodukte des Thiodans in Chlor angereichert sind, erstrebten wir die IR-Spektren von Thiodansulfat, Thiodanäther und Thiodandiol zu unseren Vergleichen beizuziehen. Diese Vergleichssubstanzen (von der Firma Hoechst hergestellt) konnten IR-spektrophotometrisch im mikroanalytischen Labor des chemischen Institutes der Universität Zürich registriert werden. Dem Leiter des Laboratoriums, Herrn *H. Frohofer* danken wir an dieser Stelle bestens dafür. Während Thiodandiol von den reextrahierten Flecken Rf-mäßig praktisch auszuschalten ist, kann Thiodansulfat und Aether das IR-Spektrum mitbestimmen.

Forman und *Graham* (1964) (19) benützten für die Bestimmung des Isomerenverhältnisses die IR-Bande bei 1245 und bei 1266 cm^{-1} . Bei unserer Heuprobe sind sie deutbar, doch zeigt sich bei 1250 cm^{-1} eine Absorption, welche eine Aether-Verbindung repräsentieren kann. Auch die starke Absorption bei 905—910 cm^{-1} könnte additiv von Endosulfansulfat und vom Aether stammen. 1040 und 1080 cm^{-1} scheinen ebenfalls Thiodanäther zu repräsentieren, wie auch 810 cm^{-1} , 649 cm^{-1} .

Die Absorptionen bei 1380, 1260, 1170, 780 und 720 cm^{-1} repräsentieren möglicherweise das Beisein von Endosulfansulfat. 1400 und 1190 cm^{-1} sind informativ. Die breiten Bande im Bereich von 1450—1470 cm^{-1} weisen auf die Anwesenheit von Kohlenwasserstoffen hin. Sind es möglicherweise in der gleichen Zone aufgetrennte Pflanzenwachse? *Cassil* (1965) (14).

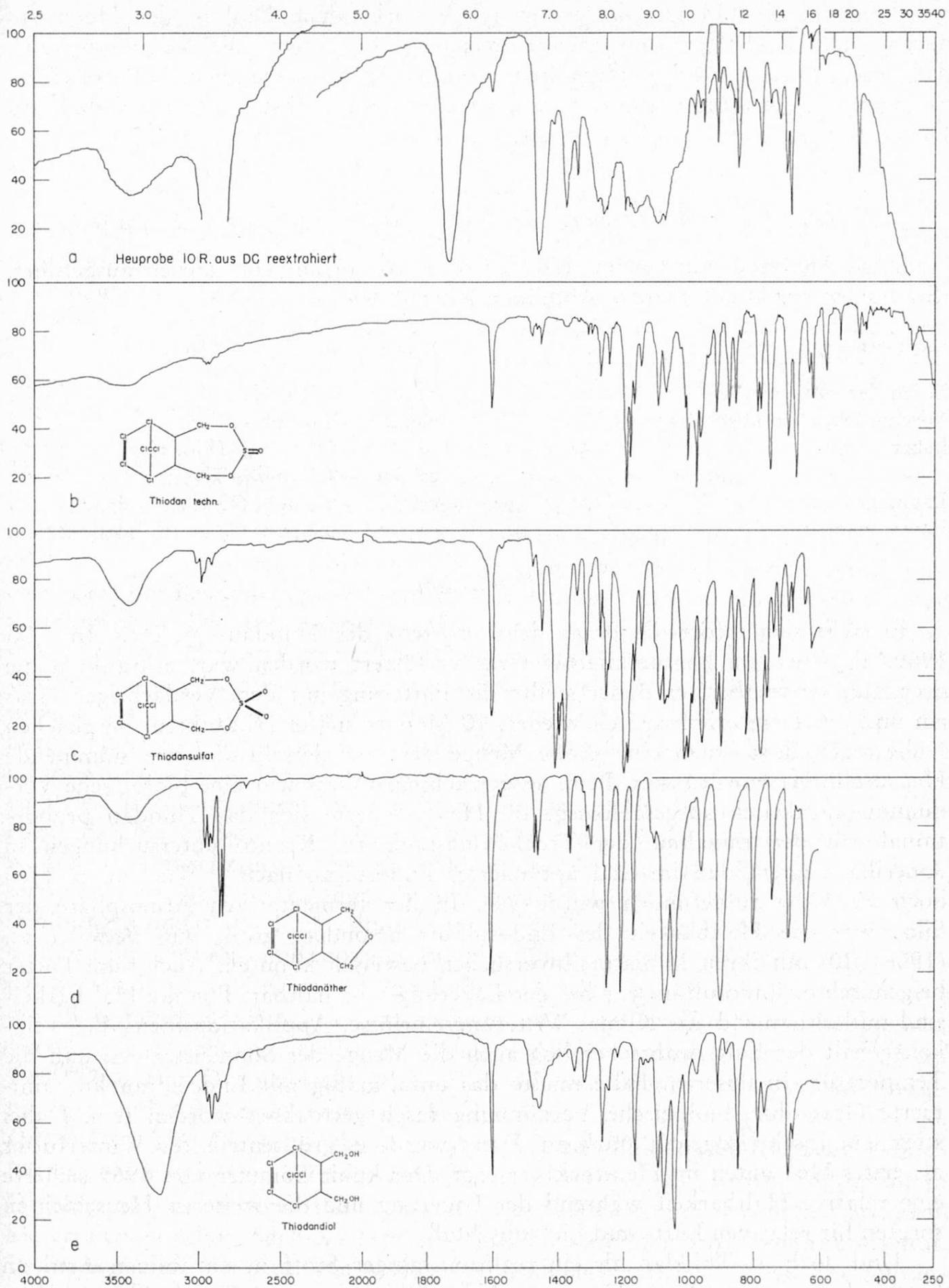
Thiodandiol mit breitem Absorptionsbereich zwischen 3200—3500 cm^{-1} zeigt seine Anwesenheit in allen Vergleichssubstanzen, in steigenden Konzentrationen wie folgt: Endosulfan, Endosulfanäther, Endosulfansulfat, Endosulfandiol. Es kann auch nachträglich entstandenes Umwandlungsprodukt sein.

Das IR-Spektrum der nach dünnschichtchromatographischer Auftrennung reextrahierten Heuprobe regte zu weiteren Bemühungen für die Auftrennungen an.

Die relativ starken Bande im Bereich der C—Cl-Schwingungen schließen eine zusätzliche Kontamination durch Chlorkohlenwasserstoffe nicht aus. Das analytisch wichtige Bandenpaar des Endosulfans bei 840 und bei 860 cm^{-1} , welches das Beta- und das Alpha-Isomere vertritt, bestätigt deutlich, daß in unserer reinsten Vergleichsprobe das Alpha-Endosulfan mehrfach gegenüber dem Beta-Isomeren überwiegt. In der Heuprobe fanden wir sie auch. Sie wurden mit einem Peak bei 850 cm^{-1} getrennt, welches wir höchstens dem Endosulfandiol zuschrei-

Die Abbildungen zeigen die Infrarotspektren von: ▶

- a) Heuprobe 10 R. Aus DC reextrahierter Zone den technischen Isomeren entprechend.
- b) Endosulfan-Isomer-Mischung (technische Ware).
- c) Endosulfansulfat ((Hoechst, chromatographisch uneinheitlich).
- d) Endosulfanäther (Hoechst).
- e) Endosulfandiol (Hoechst).



ben könnten, obwohl wir das ursprünglich vorhandene Diol in der Heuprobe durch große Rf-Differenzen abgetrennt haben. Es kommt die Vermutung auf, daß unsere Lösungen bei wiederholtem Reanalysieren — wie auch die Vergleichslösungen — Umwandlungsprodukte aufweisen; so wächst auch der Gehalt an Diol z. B. trotz unpolaren Lösungsmitteln.

Tabelle 1

Thiodangehalt in den Organen der Kühe, gaschromatographisch ermittelt

Diese Analysen wurden im städtischen Laboratorium von Zürich ausgeführt. (Stadtchemiker Dr. R. Brown, Abteilungsleiter L. Gay).

Untersuchungsmaterial	Menge
Milch der <i>einzelnen Kühe</i>	Spuren von Thiodan
Mischmilch, oben abgerahmt	weniger als 6 ppb
Leber	ca. 7 — 9 ppb α -Thiodan
	ca. 3,5 — 4,5 ppb β -Thiodan
Labmagen	ca. 8,5 — 9 ppm Gesamtthiodan
Pansenmagen	ca. 0,65 — 0,7 ppm Gesamtthiodan

Diskussion

Es stellt sich sofort die Frage der Persistenz des Thiodans im Heu. Im Mai 1969, als von dem kontaminierten Gras verfüttert worden war, erkrankten die drei Kühe erstmals. Der Bauer stellte die Fütterung mit dem verdächtigen Gras ein und die Tiere erholten sich wieder. 10 Monate später erkrankten die gleichen Kühe, nach dem ihnen eine große Menge des von derselben Wiese stammende Heu verfüttert worden war. Beim ausgewachsenen Gras war eine biologische Verdünnung praktisch ausgeschlossen. Im Heu reicherte sich das Thiodan proportional mit der Zunahme der Trockensubstanz an. Krontolluntersuchungen in Amerika zeigten, daß im Mai appliziertes Endosulfan nach 4 Wochen im Heu noch zu 30 % aufgefunden wurde (21). In der fermentativen Atmosphäre der Silos war die Haltbarkeit des Endosulfans besonders groß, wie Beck et al. (1966) (20) mit ihren Miniatursiloversuchen beweisen konnten. Auch zum Futter beigemischt Endosulfan war bei der Lagerung sehr haltbar. Für die Haltbarkeit sind mitbestimmend das Klima, Witterungseinflüsse, Applikationsform, Feuchtigkeitsgehalt der Luft, wahrscheinlich auch die Menge der Sonnenstrahlen und die Temperatur. In unserem Falle mußte das unfallmäßig mit Endosulfan kontaminierte Gras ohne biologische Verdünnung rasch getrocknet worden sein. Dabei stieg sein Insektizidgehalt stark an. Dann wurde es größtenteils für Winterfutter als erstes Heu unten im Heustock versorgt. Der kühle Sommer von 1969 sicherte eine relative Haltbarkeit während der Lagerung und die weiteren Heuschichten sorgten für relativen Luft- und Lichtabschluß.

Und doch ist Thiodan als ein reaktionsfähiger Stoff in unzähligen Artikeln beschrieben worden. Seine Um- und Abbaufähigkeit trennt es von den anderen chlorierten Kohlenwasserstoffen, Maier-Bode (1967) (21). Es ist sowohl in che-

mischen als auch in biologischen Milieus zu Thiodandiol leicht hydrolysierbar. Diese Verbindung repräsentiert mit einer LD_{50} über 15 g pro kg schon ein Entgiftungsprodukt. *Linquist* und *Dahm* (1957) (22) berufen sich auf Willard, wonach Thiodan schon durch Aluminium-Oxyd-Absorbens zu Thiodandiol konvertiert. Wir konnten die HCl-Hydrolyse von Thiodan dünn-schichtchromatographisch gut verfolgen. *Terranova* und *Ware* (1963) (23) berichteten über die Translokation von Endosulfan und von Endosulfandiol vom behandelten Boden an die luftnahen Teile der Bohnenpflanzen. Es wurde gezeigt, daß Endosulfanäther als Umwandlungsprodukt an den behandelten Blättern auftrat. Sie merkten bei ihren Treibhausversuchen auch die Sublimationsfähigkeit des Thiodans wie auch *Neiswander*, der nur durch Umsublimieren des Thiodans das Sterben von Fliegen an 7 Fuß weiter platzierten Tomaten erklären konnte. In Analogie zu diesem Befunde ist es wohl vorstellbar, daß der stark besprühte Waldrand und der Boden durch Umsublimieren des Thiodans eine Quelle der weiteren Kontamination darstellen. Beide Thiodanisomere geben das gleiche Diol durch Hydrolysis, *Linquist* und *Dahm* (1957) (22) oder durch Reduktion, *Riemschneider* und *Hilscher* (1960) in *Forman* (1965) (3). *Cassil* und *Drummond* (1965) (14) merkten, daß ein Oxydationsprodukt des Thiodans an der Pflanzenoberfläche erscheint, welches ursprünglich im technischen Thiodan nicht enthalten war. Seine Menge wuchs 2 Wochen nach der Behandlung der Pflanze, während die 2 Isomere in diversen Raten verschwanden. Die angesammelten Mengen von Thiodansulfat zeigten sich resistenter als die Muttersubstanz. Die Thiodansulfatbildung an der Oberfläche der Blätter stieg mit der Temperatur an, während bei 0°C die Reaktionsgeschwindigkeit praktisch 0 war. *Cassil* und *Drummond* (1965) (14) vermuten, daß der aktive Sauerstoff die Oxydation an der Blatt-Oberfläche bewirkt. Eine englische Gruppe beobachtete ähnliches, *Harrison et al.* (1967) (24). Die Rückstände der emulgierbaren Konzentrate waren besonders dauerhaft. In unserem Fall wurde ebenfalls eine Endosulfanemulsion (35%ig) für den Wald verwendet. Von den zahlreichen Insektiziden gaben nur Aldrin, Dieldrin und Endosulfan *bemerkenswerte Mengen* von Bestrahlungsprodukten mittels ultraviolettem Licht. Das Bestrahlungsprodukt des Endosulfans erwies sich in den Laborversuchen als Endosulfansulfat. Die Endosulfanoxydation zum Endosulfansulfat ist eine milde Oxydation mit H_2O_2 in Gegenwart von Essigsäure. Diese Laborversuche besitzen eine unmißverständliche Parallele zum Ablauf der strahlenchemischen Reaktionen, wo Modellversuche die Rolle der Peroxyradikale erwiesen (Theorie von *Weiß* 1944) (25). Der Oxygeneffekt ist in allen Gebieten der experimentellen Radiobiologie und der Strahlentherapie bewiesen und anerkannt. (*Schmidlin et al.* (1964) (26). Der Oxygeneffekt kann auch bei der Thiodansulfatbildung an den Blättern mitbestimmend wirken. *Harrison et al.* (1967) (24) lösten Endosulfat in Glycerin auf und exponierten es in dünnen Schichten den ultravioletten Strahlen. Sie erreichten schon nach 20 Minuten eine Umwandlung zum Endosulfansulfat. Es ist bewiesen, daß aus Endosulfan auf strahlenchemischem Wege Endosulfansulfat und Endosulfanäther entstehen können. Während Endosulfansulfat — auf Beta-Isomere bezogen — noch toxischer wirken kann als eine der Muttersub-

stanzen, ist Endosulfanäther bereits ein Entgiftungsprodukt, ähnlich dem Endosulfandiol (2, 21).

Die in Tabelle 1 zusammengefaßten Resultate zeigen eindeutig, daß das endosulfanhaltige Heu auch konsumiert wurde. Wann und welche Konzentrationen an Endosulfan für eine Ueberdosierung sprechen würden, geht aus der Fachliteratur nicht eindeutig hervor. *Beck et al.* (1966) (20) führten Fütterungsversuche mit Rindvieh aus. Sie ließen an behandelten Feldern mit Anfangskonzentrationen von 102 ppm Endosulfan in der Trockensubstanz 31 Tage lang weiden. Während dieser Zeit fand eine natürliche Abnahme des Rückstandgehaltes auf dem Grase auf ca. 3 ppm statt. Die Fettproben wurden analysiert. Sie zeigten keinen Endosulfangehalt. In weiteren Versuchen wurden endosulfanhaltige Silofutter bis 6 ppm an einem Dutzend Milchkühen verfüttert, Futterverbrauch ca. 7—8 kg, Milchproduktion ca. 10—11 Liter. Da sie auch Endosulfansulfat im Silofutter gefunden haben, reanalysierten sie auch die negativen Butterfettproben, welche weiterhin *negativ* waren (auch gaschromatographisch). 2 Rinder erhielten größere Dosen von Endosulfan im Futter, nämlich 5 und 2,5 mg/kg Körpergewicht/Tag. Die Tiere zeigten toxische Symptome nach 2 und nach 13 Tagen. Sie bestanden in Muskelkrämpfen an Schultern und an der Flanke, in ergiebigem Speichelfluß und in schwankendem Gang. Nach diesen schweren Symptomen wurde der Fütterungsversuch sofort abgebrochen. Die Tiere erholten sich rasch in wenigen Stunden. In sogenannten metabolistischen Versuchen fütterten sie täglich 2 Rindern 1,1 mg Endosulfan/kg Körpergewicht/Tag. Nach 30tägigem Fütterungsversuch enthielt das ometale Fett der Rinder 0,5 ppm Endosulfan. Obwohl die Tiere symptomfrei waren, wurden sie nicht mehr mit Endosulfan behandelt. Ihre Fette nach weiterem 30tägigem Normalfutter waren negativ. Es geht daraus hervor, daß Dosen von 5 mg Endosulfan pro kg Körpergewicht und pro Tag eine noch subletale aber beinahe letale Menge für Rinder darstellen. Die überraschend kurze Erholungszeit innert wenigen Stunden spricht für schnelle Abbaureaktionen und für eine rasche Elimination aus dem Körper.

Die Metabolitenstudien von *Beck et al.* (1966) (20) bewiesen, daß eine schnelle Umwandlung des Endosulfans im Körper von Rindvieh stattfinden muß, da die Ausscheidung via Urin und Feces nur bis zu 7,5 % erfolgte, während im Fett nur 0,5 ppm sich vorübergehend deponierte,

Interessante quantitative Versuche für den Endosulfanmetabolismus führten *Gorbach* (1966) (27) und *Gorbach et al.* (1968) (28) an Milchschaften aus. Eine einmalige Menge von 0,3 mg/kg Körpergewicht Endosulfan, welches mit C^{14} markiert war, wurde oral 2 Versuchsschaften verabreicht. Bei ca 50 kg Körpergewicht bekamen sie somit ca. 15 mg Endosulfan. Ca. 50 % des C^{14} wurde im Feces, 41 % im Urin und ca. 1 % in der Milch ausgeschieden. Unverändertes Endosulfan war nur im Feces zu finden, im Urin in Form von Metaboliten und in der Milch nur Endosulfansulfat. Die zwei Hauptmetaboliten im Urin waren Endosulfandiol und Endosulfanhydroxyäther. 88 % des radioaktiven Materials der Milch war im Milchfett zu finden. Diese quantitative Studie des Endosulfans verfolgte seine Absorption, Verteilung und Elimination im Warmblüter, welche hinweisend sind

bei normalen Körperfunktionen. Sie sind aber weit entfernt von toxischen Verhältnissen.

Wenn *Gorbach* et al. (1968) (28) nur Endosulfansulfat in Milch nachweisen konnten, dann sind die Spuren von unverändertem Endosulfan evtl. schon genügend, um für eine Ueberdosierung zu sprechen.

Auf Grund seiner Studie ist der verlangte Null-Gehalt von Endosulfan oder von Endosulfansulfat in der Milch durchaus berechtigt.

Schlußfolgerung

Nach den vorliegenden Untersuchungen wurde 8 Kühen Heu verfüttert, welches unfallmäßig mit rund 0,75—0,9 g Rohthiodan/kg Heu kontaminiert war. Bei einer Futtermenge von 5—10 kg Heu pro Tag und Tier bedeutet dies eine aufgerundete Dosis von 10—20 mg Thiodan pro kg Körpergewicht einer Kuh. Angenommenes Körpergewicht: 500 kg. Die gleichzeitige schwere Erkrankung von 3 Kühen — darunter eine Notschlachtung — sprechen für eine angenäherte LD₅₀-Dosis. Nach der Einstellung der Fütterung mit diesem kontaminierten Heu erholten sich die beiden anderen Tiere. Dieser Fall — wie auch die Versuche von *Beck* et al. (1966) (22) — läßt vermuten, daß Thiodan zu den Substanzen gehört, bei welchen die relativ scharfen, engen Grenzen, zwischen tödlichen und ohne Nachwirkungen überstandenen Korrelationen sichtbar werden (*Thiess* et al., 1968) (29).

Die behördlichen Maßnahmen schränkten die Futterkontamination mit Insektiziden in der Schweiz stark ein. Eine Verkettung von nicht vorausgesehenen, bzw. nicht beachteten Umständen kann in Ausnahmen Unfälle erwirken. Als unmittelbare Schlußfolgerung der Geschehnisse und auf Anlaß des Kantonschemikers wurde der restliche Heubestand vernichtet.

Zusammenfassung

Es wird über eine unfallmäßige Vergiftung von 3 Kühen mit Endosulfan, Thiodan berichtet. Das Heufutter wurde vor ca. 10 Monaten als ausgewachsenes Gras am Waldrand bei einer Maikäferbekämpfung mit Endosulfan-Emulsion-Spray (35 %) kontaminiert. Für den Nachweis und Bestimmung des Endosulfans und Umwandlungsprodukte wurden mehrere Methoden eingesetzt. Die Untersuchungen wurden mit diversen Angaben der toxikologischen Fachliteratur verglichen und interpretiert.

Résumé

Un cas d'empoisonnement accidentel de 3 vaches par de l'endosulfan, thiodan est rapporté. L'herbe transformée en foin ayant servi de fourrage avait été contaminée 10 mois plus tôt, lors d'un traitement contre de hanneton effectué à orée de forêt par pulvérisation d'une émulsion d'endosulfan à 35 %. Plusieurs méthodes analytiques ont été appliquées pour identifier et doser l'endosulfan et ses produits dérivés. Les résultats des recherches sont interprétés et comparés aux diverses données toxicologiques de la bibliographie.

Summary

An accidental poisoning of 3 cows with Endosulfan, Thiodan has been reported. The hay fodder was contaminated 10 months before as fullgrown grass along the edge of the woods by Endosulfan-Emulsion-Spray (35 %), which was used as a treatment for the annihilation of the junebug. The identification and assay of Endosulfan and its transformations products were done by multidetermination. The results are compared and discussed with those of the toxicological literature.

Literatur

1. Maier-Bode H.: Pflanzenschutzmittel-Rückstände, Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart, 1965.
2. Maier-Bode H.: Residue Reviews **22** 1—44 (1968).
3. Forman S. E., Durbetaki A. J., Cohen M. V. und Olofson R. A.: J. org. Chem. **30** 169—175 (1965).
4. Gorbach S. G.: Endosulfan. Kapitel 50, im Ringbuch Methodensammlung zur Rückstandsanalytik von Pflanzenschutzmitteln Mitt. VI. Dtsche. Forschungsgemeinschaft, Verlag Chemie GmbH, Weinheim 1969.
5. Schmidlin-Mészáros J.: Chimia **12** 275—281 (1958).
6. Hardmeier E. und Schmidlin-Mészáros J.: Arch. Toxikol. **21** 131—141 (1965).
7. Bäumlér J. und Rippstein S.: Helv. Chim. Acta **44** 1162—1164 (1961).
8. Ebing W.: J. Chromatog. **44** 81—94 (1969).
9. Stahl E.: Dünnschichtchromatographie 2. Aufl. Springer Verlag, Berlin 1967.
10. Butler L. I. und Fabey J. E.: J. agricult. Food Chem. **10** 479—481 (1962).
11. Riemschneider R., Gallert H. und Andres P.: Monatsheft. Chem. **92** 1075—1079 (1961).
12. Pomonis J. G., Severson R. F. und Freeman P. J.: J. Chromatog. **40** 78—84 (1969).
13. Sawicki E., Bender D. F., Hauser T. F., Wilson R. M. Jr. and Meeker J. E.: Anal. Chem. **35** 1479—1486 (1963).
14. Cassil C. C. und Drummond P. E.: J. econ. Entomol. **58** 356—357 (1965).
15. Zweig G. und Archer T. E.: J. agricult. Food Chem. **8** 190—192 (1960).
16. Schlunegger U. P.: Arch. Toxikol. **23** 122—128 (1968).
17. Zweig G., Archer T. E. und Rubenstein D.: J. agricult. Food Chem. **8** 403—405 (1960).
18. Krohmer P. und Kemmner G.: Z. analyt. Chem. **243** 80—92 (1968).
19. Forman S. E. und Graham J. R.: J. org. Chem. **29** 233—235 (1964).
20. Beck E. W., Johnson J. C. Jr., Woodham D. W., Leuck D. B., Dawsey L. H., Robbins J. E. und Bowman M. C.: J. econ. Entomol. **59** 1444—1450 (1966).
21. Maier-Bode H.: Arch. Pflanzenschutz. **3** 201—211 (1967).
22. Linquist D. A. und Dahm P. A.: J. econ. Entomol. **50** 483—486 (1957).
23. Terranova A. C. und Ware G. W.: J. econ. Entomol. **56** 596—599 (1963).
24. Harrison R. B., Holmes D. C., Roburn J. und Tatton J. O. G.: J. Sci. Fd. Agric. **18** 10—15 (1967).
25. Weiß J.: Nature **153** 748 (1944) und **157** 584 (1946).
26. Schmidlin J., Lawrence J. H., Sillesen K., Welch G. und Lyman J.: Semi Ann. Rep. Biol. Med. Donner Lab. LRL. UCRL 11833 Fall 1964 80—94 (1964).
27. Gorbach S. G.: Növényvédelmi Tudományos Értekezlet 1966 Febr. 22—25. Agrotröszt Budapest.
28. Gorbach S. G., Christ O. E., Kellner H. M., Kloss G. und Borner E.: J. agric. Food Chem. **16** 950—953 (1968).
29. Thiess A. M., Hey W., Hoffmann H. T. und Oettel H.: Arch. Toxikol. **23** 253—263 (1968).