

Methode zur Bestimmung von Mikromengen organischer Phosphorinsektizide

Autor(en): **Faderl, N.**

Objektyp: **Article**

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

Band (Jahr): **53 (1962)**

Heft 2

PDF erstellt am: **09.08.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-982555>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Methoden zur Bestimmung von Mikromengen organischer Phosphorinsektizide

Von *N. Faderl*

(Agrochemisches Laboratorium der Sandoz AG, Basel)

Allgemeines

In Zusammenhang mit der in den letzten Jahren stark zunehmenden Bedeutung, die Organophosphorinsektiziden im Rahmen der Schädlingsbekämpfung zufällt, erlangt die Bestimmung kleiner und kleinster Mengen dieser Stoffe immer größere Wichtigkeit.

Es seien nur einige Beispiele angeführt, wo sich eine Bestimmung als nötig erweist: die Ermittlung von Insektizidrückständen in Nahrungsmitteln, die Verfolgung des Abbaus von Insektiziden in Tier und Pflanze, die Prüfung von insektiziden Mitteln auf Verunreinigungen, die Feststellung von Veränderungen in Insektizidpräparaten während des Lagerns sowie die Durchführung von Insektizidbestimmungen bei der Synthese von Insektiziden.

Um für Bestimmungen dieser Art Verwendung finden zu können, muß eine Methode vor allem genügend empfindlich sein und dabei auch reproduzierbare Werte liefern. Sie sollte möglichst generell anwendbar sein, und zwar sowohl in bezug auf die Art des Phosphorinsektizides als auch bezüglich des Probenmaterials, mit dem die Bestimmung ausgeführt wird. Die Methode sollte aber dennoch die getrennte Bestimmung verschiedener Substanzen, wie Insektiziden und deren Metaboliten, erlauben. Schließlich wäre auch noch eine möglichst schnelle und einfache Ausführung der Analyse erwünscht.

Gebräuchliche Methoden zur Bestimmung kleiner Mengen Organophosphorinsektizide

Bevor auf die Beschreibung der vorliegenden Methode näher eingegangen wird, soll nun noch eine kurze Uebersicht über Möglichkeiten zur Bestimmung kleiner Mengen von organischen Phosphorinsektiziden gegeben werden. – Es werden hierfür, ganz allgemein gesprochen, folgende Methoden angewendet*:

- I. Biologische Methoden
- II. Biochemische Methoden
- III. Tracermethoden
- IV. Chemische (-physikalische) Methoden.

* Bezüglich einer ausführlichen Zusammenstellung verschiedener Analysenmethoden sei zum Beispiel auf *Gunter* und *Blinn*¹ sowie «Advances in Pest Control Research»² verwiesen.

Es kann gleich vorweg gesagt werden, daß jede einzelne dieser Methoden Vor-, aber auch Nachteile aufweist und es bis heute keine Methode gibt, die allen oben erwähnten Wünschen für eine Analysenmethode gerecht wird.

Die allgemeine Anwendung biologischer Methoden ist durch die Tatsache beschränkt, daß diese in vielen Laboratorien aus Mangel an geeigneten Einrichtungen und Testtieren nicht ausgeführt werden können. Ein weiterer Mangel liegt darin, daß biologische Methoden nicht spezifisch sind und man bei gleichzeitigem Vorliegen mehrerer aktiver Stoffe bei den Bestimmungen Totalwerte erhält. Außerdem ist mit diesen Bestimmungsmethoden vielfach ein bedeutender Aufwand an Zeit und Kosten verbunden, vor allem wenn Fütterungsexperimente durchgeführt werden müssen.

Biochemische Nachweismethoden beruhen auf Messung der Cholinesterasehemmung durch organische Phosphorsäureester. Der Vorteil dieser Methode ist, daß die Hemmung der Cholinesterasewirkung, welche wieder mit einem hohen Grad an Wahrscheinlichkeit für die Toxizität verantwortlich ist, von der spezifischen Konfiguration des Insektizidmoleküls abhängt. Es besteht daher kaum die Gefahr, toxisch nicht wirksame Substanzen mitzubestimmen. Trotz dieser «Spezifität» haben enzymatische Methoden den Nachteil, daß sie keine Unterscheidung zwischen mehreren aktiven Substanzen zu machen erlauben. Ein weiterer Einwand ist, daß ihre Anwendbarkeit auf insektizide Stoffe beschränkt ist, die eine genügend große Cholinesterasehemmwirkung haben. So zeigen zum Beispiel verschiedene Insektizide wie Thiometon und Metabolite oder Methylisosystox eine nur so schwache Cholinesteraseinhibition, daß ein genügend empfindlicher Nachweis ausgeschlossen ist.

Mit der Tracermethode wurden ausgezeichnete Ergebnisse, z.B. bei Untersuchungen bezüglich des Verhaltens von insektiziden Stoffen in Pflanze und Tier, Abbaugeschwindigkeit und Art und Menge der Abbauprodukte, erzielt. So groß der Wert der Tracermethode für wissenschaftliche Untersuchungen aber auch ist – für Praxisanalysen kommt sie nicht in Frage.

Von den unter IV genannten chemischen (-physikalischen) Methoden scheiden viele gebräuchliche Verfahren, wie volumetrische oder gravimetrische, in vielen Fällen wegen der sehr kleinen Menge zu bestimmender Substanz von vornherein aus. Andere, wie polarographische³⁻⁴, gaschromatographische⁵⁻⁸ und UR spektroskopische⁹⁻¹² finden derzeit nur begrenzte Anwendung. Zum Beispiel erfordern die derzeit verfügbaren Geräte zur U-Rot-Spektroskopie eine meist zu große Substanzmenge für eine Analyse. – Bei Rückstandsbestimmungen in Pflanzenmaterial bedeutet dies häufig die Aufarbeitung von etwa 1 kg Pflanzenmaterial pro Bestimmung. Ueberdies ist – vor allem bei Rückstandsbestimmungen – ein kompliziertes clean-up-Verfahren notwendig.

Die meisten der heute durchgeführten chemischen Bestimmungen erfolgen auf photometrischem Weg. (Eine Zusammenstellung von Analysenmethoden für verschiedene Organophosphorinsektizide findet man zum Beispiel bei *Chilwell* und *Hartley*¹³.) Es sind hiebei 2 Gruppen zu unterscheiden, nämlich

- a) Verfahren, die auf eine Farbreaktion mit einer im Molekül vorhandenen charakteristischen Gruppe hinauslaufen, und
- b) Methoden, die auf der Bestimmung des Phosphors beruhen.

Dementsprechend besitzen die unter a) angeführten Verfahren eine mehr oder weniger große Spezifität. – Es gibt heute für eine beträchtliche Anzahl von Phosphorinsektiziden solche Verfahren. Meist werden sie so ausgeführt, daß das Molekül zuerst hydrolytisch gespalten wird und dann das betreffende Spaltprodukt auf photometrischem Weg bestimmt wird. – Je größer die Spezifität der Methode, desto geringer ist die Störanfälligkeit durch gleichzeitig anwesende, nicht insektizid wirkende Substanzen. Allerdings wird damit im gleichen Maß die generelle Anwendbarkeit einer gegebenen Methode eingeschränkt, so daß diese im Extremfall nur zur Bestimmung eines einzigen Insektizides geeignet ist.

Im Gegensatz dazu sind Methoden, denen die Bestimmung des Phosphors zugrunde liegt, selbstverständlich zur analytischen Erfassung aller Phosphorinsektizide geeignet. Ihre allgemeine Anwendbarkeit erstreckt sich leider so weit, daß auch alle anderen in der Probe vorhandenen nicht insektiziden phosphorhaltigen Substanzen, ganz gleich, ob organischer oder anorganischer Art, mitbestimmt werden.

Eine gewisse Spezifität läßt sich nun dadurch erreichen, daß unerwünschte phosphorhaltige Substanzen vor der eigentlichen photometrischen Phosphorbestimmung durch irgendwelche Reinigungsoperationen abgetrennt werden.

Es ist, hauptsächlich bei der Bestimmung von Insektiziden in Pflanzenextrakten, viel Mühe zur Ausarbeitung geeigneter clean-up-Verfahren aufgewendet worden. Dazu kann zum Beispiel die Einschaltung einer Destillation im Aufbereitungsverfahren^{10, 14–18}, die Ausnützung der Unterschiede der Verteilungskoeffizienten mehrerer Stoffe in 2-Phasensystemen* oder auch die Verwendung einer selektiv adsorbierenden Kolonne dienen*. Naturgemäß lassen sich durch diese Reinigungsverfahren Stoffe mit stark unterschiedlichen physikalischen Eigenschaften – z.B. Insektizide und viele pflanzliche phosphorhaltige Begleitstoffe – am besten voneinander trennen. Dagegen läßt sich damit eine Trennung von mehreren, in ihren physikalischen Eigenschaften sehr ähnlichen Insektiziden oder Metaboliten untereinander nur in seltenen Fällen erzielen, so daß man im Falle einer nachfolgenden Phosphorbestimmung nach Abzug des mit der Blindprobe erhaltenen Wertes für gewöhnlich den Totalphosphorgehalt aller vorhandenen, fast ausschließlich insektizidaktiver Substanzen erhält.

In vielen Fällen, wie bei Untersuchungen bezüglich Art der Abbauprodukte von Insektiziden in Pflanzen, bei Lagerungsversuchen von Insektizidpräparaten usw., ist jedoch die getrennte Bestimmung der einzelnen Substanzen notwendig. Eine Möglichkeit dazu bietet das papierchromatographische Verfahren^{20–22, 30–38}. Die Sichtbarmachung der Flecken am Chromatogramm geschieht im allgemei-

* Von den auf diesem Gebiet sehr zahlreichen Arbeiten seien nur einige wenige angeführt (siehe Literaturstellen 10, 19–29).

nen wohl mit einem ziemlich unspezifischen Nachweisverfahren^{32-34, 37-45}. Die Spezifität wird aber durch geeignete Zusammensetzung des Fließmittels oder die Art der Papierimprägnierung erreicht, so daß die vorhandenen Substanzen auf Grund ihrer verschiedenen Rf-Werte unterschieden werden können. So gute Dienste dieses Verfahren auch zur Identifizierung von Substanzen leistet – die quantitative Auswertung der Chromatogramme stößt auf beträchtliche Schwierigkeiten.

Im Prinzip stehen für eine mengenmäßige Auswertung der Chromatogramme zwei Wege offen: sie kann 1. entweder direkt am Papierchromatogramm oder 2. nach Entfernen der Substanz aus dem Chromatogramm und nachfolgende photometrische Bestimmung erfolgen.

1. Eine semiquantitative Bestimmung erhält man durch visuellen Vergleich von Größe und Intensität der zu bestimmenden Substanzflecken mit Flecken aus reinen Wirkstofflösungen bekannter Konzentration, die am gleichen Chromatogramm mitchromatographiert wurden. Man kann auf diese Weise deutlich Mengen von z.B. 2, 4 und 6 γ voneinander unterscheiden²¹⁻²². Statt des visuellen Vergleichs kann man die Fleckengröße auch planimetrisch ausmessen oder die Flecken optisch mit dem Leukometer⁴⁶ bestimmen, doch gibt dies nach *Eichenberger*²² keine Erhöhung der Genauigkeit. Auch nach unseren Erfahrungen werden durch Ausmessen der Fleckengröße keine genaueren, öfters sogar weniger genaue Resultate erhalten*.

Die Hauptschwierigkeit bei der quantitativen Auswertung von Papierchromatogrammen liegt darin, daß Größe und Form der Flecken stark von der Anwesenheit anderer Substanzen abhängig sind. Dies macht sich besonders bei der Bestimmung von insektiziden Stoffen in verschiedenen Pflanzenextrakten sehr unangenehm bemerkbar, selbst wenn die Pflanzenextrakte durch ein clean-up-Verfahren weitgehend von Fremdstoffen gereinigt wurden. Auch die Intensität der Chromatogrammflecken ist nicht unabhängig von der Anwesenheit anderer Stoffe. Schließlich wechselt die Intensität der Flecken beträchtlich je nach der Art, in der das Chromatogramm mit dem Sprühreagens behandelt wird.

2. Die Schwierigkeit bezüglich Nichtkonstanz der Fleckengröße und Farbinintensität können umgangen werden, wenn man die Substanzflecken aus dem Chromatogramm eluiert (z.B. *Metcalf*³¹) und die Substanz darauf im Eluat mit einem geeigneten Verfahren nachweist. – Als Hauptnachteile dieser Methode wären die lange Zeitdauer für eine Analyse, Möglichkeit von Verlusten beim Eluieren der Substanzen und nicht zuletzt die Einschleppung von hohen Blindwerten zu erwähnen. Letzteres kann besonders bei der Bestimmung von sehr kleinen Mengen von Phosphorinsektiziden, wenn zum Beispiel die Zerstörung der Substanz zwecks Ueberführung des organisch gebundenen

* Die visuelle Schätzungsmethode hat allerdings den großen Nachteil, daß keine objektiven Meßwerte erhalten werden.

Phosphors in Phosphat auf nassem Weg vorgenommen wird, sehr lästig für eine genaue Bestimmung sein.

Beschreibung der vorliegenden Methode

Da wir der Ansicht sind, daß die Papierchromatographie trotz der eben erwähnten Nachteile ein ausgezeichnetes Mittel zur Trennung von Phosphorinsektiziden von anderen Aktivstoffen sowie nichtaktiven Begleitstoffen darstellt, haben auch wir für Insektizidbestimmungen ein papierchromatographisches Verfahren verwendet. Zur Vermeidung der den papierchromatographischen Verfahren anhaftenden Mängel hinsichtlich Auswertung der Chromatogramme haben wir eine Methode ausgearbeitet, die gestattet, in Chromatogrammflecken enthaltene Organophosphorinsektizide auf rasch und einfach auszuführende Weise quantitativ zu bestimmen. Hierbei werden die Chromatogrammflecken in Sauerstoffatmosphäre verbrannt* und der in den Insektizidstoffen enthaltene Phosphor daraufhin photometrisch bestimmt. Auf Grund der Bestimmung des Phosphors ist die Methode allgemein zur Bestimmung von Organophosphorinsektiziden geeignet. – Auf Grund des papierchromatographischen Verfahrens ist aber auch eine Trennung und damit eine spezifische Bestimmung der Aktivstoffe möglich. Selbstverständlich kann die Methode ohne Ausführung der papierchromatographischen Trennung auch zur Bestimmung von «Totalphosphor» dienen. Die Brauchbarkeit der Methode zur Bestimmung von Mikromengen organischer Phosphorinsektiziden wurde an zahlreichen Analysen von Präparaten, insektizidhaltigen Lösungen und bei Rückstandsanalysen überprüft.

Die Genauigkeit der Methode ist wie folgt:

Bei Vorliegen von 20 γ Insektizidsubstanz in den Chromatogrammflecken beträgt der Fehler bei einer Bestimmung ungefähr 3 %. Sind 0,6 bis 0,7 γ Phosphor – bei einem Molekulargewicht des Insektizides von ~ 250 entspricht dies annähernd 5 γ – vorhanden, ist die Bestimmung noch mit einem Fehler von etwa 5 % möglich. Auf Rückstandsbestimmungen angewandt bedeutet dies, daß bei einer Einwaage von 20 bis 50 g Pflanzenmaterial und einem Mol.-Gewicht des gesuchten Stoffes von ~ 250 noch 0,2 bis 0,3 ppm eines Insektizides mit vernünftiger Genauigkeit quantitativ erfaßt werden können.

Das Analysenverfahren läßt sich im Prinzip wie folgt unterteilen:

1. Aufbereitung der insektizidhaltigen Lösungen vor der Durchführung der papierchromatographischen Trennung
2. Papierchromatographische Bestimmung
3. Verbrennung der Chromatogrammflecken nach *Schöniger*
4. Spektrophotometrische Bestimmung des Phosphors nach der Molybdänblau-methode.

* Nach unserer Meinung ist diese Verbrennung nicht nur auf die Analyse von phosphorhaltigen Substanzen beschränkt. Dieses Verfahren läßt sich sicherlich auch zur Analyse schwefelhaltiger Verbindungen anwenden.

1. Aufbereitung der insektizidhaltigen Lösung vor der Durchführung der papierchromatographischen Trennung

Die Aufbereitung der insektizidhaltigen Lösungen ist von der Art der insektiziden Substanz und von der Art des Probematerials, in dem die Substanz bestimmt werden soll, abhängig. Bei Rückstandsbestimmungen ist eine entsprechende Vorreinigung der Extrakte zur Entfernung von Begleitstoffen nötig. Es sind heute in der Literatur für zahlreiche Phosphorinsektizide solche clean-up-Verfahren beschrieben.

Wir führten bei unseren Arbeiten (Bestimmung von Thiometonsulfoxyd, Formothion, Dimethoat) das clean-up der Pflanzenextrakte nach einem Verfahren durch, das wir durch Modifikation der Reinigungsmethode von *Jucker*²¹ für Thiometonspritzrückstände erhalten hatten. Das Verfahren beruht auf der Extraktion der Insektizidrückstände aus dem Pflanzenmaterial mit Benzol und Entfernung unerwünschter Begleitstoffe durch selektive Adsorption an einer Aluminiumoxydkolonnen sowie unter Ausnützung des Unterschiedes in den Verteilungskoeffizienten im 2-Phasensystem Petroläther–Acetonitril, Wasser.

Sind Phosphorinsektizide in Präparaten und Lösungen zu bestimmen, so ist nach unseren Erfahrungen keine besondere Reinigungsoperation notwendig.

2. Papierchromatographische Trennung und Bestimmung

Bei der Durchführung des papierchromatographischen Verfahrens ist man nicht an die Verwendung einer speziellen Fließmittelphase gebunden. Es kann im Prinzip jedes Fließmittel und jede Papierimprägnierung, wenn damit eine zufriedenstellende Auftrennung der Substanzen untereinander und von eventuell noch vorhandenen Begleitstoffen erreicht wird, zur Anwendung kommen, sofern die verwendeten Chemikalien phosphorfrei sind und keine Stoffe enthalten (wie z.B. Silicium in größeren Mengen), die bei der photometrischen Bestimmung des Phosphors stören. – Bei der Bestimmung von Formothion, Dimethoat und Thiometonsulfoxyd haben wir zum Beispiel gute Erfahrungen bei Verwendung eines mit Dibutylphthalat imprägnierten Papiers und des einphasigen Fließmittels Acetonitril-Wasser gemacht.

Die Sichtbarmachung der Substanzen ist selbstverständlich auch mit einem Reagens auszuführen, das bei der nachfolgenden photometrischen Phosphatbestimmung nicht stört. Wir verwendeten für diesen Zweck die Reaktion mit Brom und Methylumbelliferon. Methylumbelliferon wurde bereits früher – allerdings in ganz anderem Zusammenhang, nämlich zum Nachweis von organischen Säuren – als Sprühreagens für Papierchromatogramme herangezogen^{48, 49}. Es zeigte sich nun, daß dieses Reagens – in Verbindung mit einer Bromierung der Substanzen – auch zum Nachweis von Organophosphorinsektiziden geeignet ist. Die Substanzen sind hierbei als dunkle fluoreszenzlöschende Flecken auf leuchtend blauem Untergrund sichtbar.

Diese Nachweisreaktion ist sehr empfindlich (bei Thiometonsulfoxyd und Dimethoat zum Beispiel beträgt die untere Nachweisgrenze ungefähr 0,3 γ) und kann zum Nachweis einer ganzen Reihe organischer Phosphorinsektizide herangezogen werden. Die Reaktion mit Brom-Methylumbelliferon ist empfindlicher und gibt – im Falle mengenmäßiger Auswertung der Flecken – besser reproduzierbare Werte wie der Nachweis mit Fluorescein³². Die Flecken sind auch (im Gegensatz zum Nachweis mit K_2PtJ_6 ⁴¹ Reagens, wo manche Substanzen erst mehrere Stunden nach Besprühen sichtbar werden oder sehr schwach reagieren) sofort nach Besprühen der Chromatogramme sichtbar. Die Brom-Methylumbelliferon-Reaktion eignet sich auch sehr gut zur Identifizierung und semiquantitativen Bestimmung von Aktivstoffen, wenn eine nachfolgende quantitative Phosphorbestimmung durch Verbrennung wegen der allzu geringen Menge an Insektizidstoffen nicht in Frage kommt oder die Genauigkeit einer semiquantitativen Bestimmung für die Analyse ausreichend ist. Letzteres ist zum Beispiel bei Rückstandsbestimmungen öfters der Fall. Bei der semiquantitativen Auswertung werden bekannte Mengen von Testsubstanzen am gleichen Chromatogramm mitchromatographiert und Größe und Intensität der Substanzflecken der Probe visuell mit denen der Testsubstanzen verglichen.

3. Verbrennung der Chromatogrammflecken

Die Analyse von kleinen Mengen organischer Verbindungen durch Verbrennung in Sauerstoffatmosphäre wurde von *Schöniger*⁵⁰ zuerst zur Bestimmung von Halogenverbindungen angewendet. Doch ist das Verfahren keineswegs auf die Analyse von Halogenverbindungen beschränkt. Diese «Schöniger-Verbrennung» stellt ein sehr elegantes, schnelles und dabei einfach auszuführendes Verfahren zur mikroanalytischen Bestimmung verschiedener Elemente dar. *Schöniger*⁵¹ wendete es u.a. auch zur Bestimmung von Schwefelverbindungen an, und eine Reihe von Autoren^{52–61} fanden es zur Bestimmung von phosphorhaltigen Substanzen als sehr geeignet.

Die Methode beruht auf folgendem Prinzip: Die zu untersuchende Substanz (meist 1 bis mehrere Milligramm) wird – in einem Stück aschefreien Filterpapier eingewickelt – in einem Erlenmeyerkolben in Sauerstoffatmosphäre verbrannt. (Als Verbrennungskolben dient häufig ein 300 ml-Erlenmeyer. Am Schliffstopfen des Kolbens ist ein Platin- (oder Quarz)halter angebracht, an dem das Filterpapier befestigt wird.) Die Verbrennungsprodukte werden in einem geeigneten Absorptionsmittel absorbiert und das zu bestimmende Element schließlich in der Lösung auf irgendeine Weise – sei es maßanalytisch oder photometrisch – analytisch erfaßt.

Wir versuchten nun, das Prinzip dieses Verfahrens zur Bestimmung von Phosphorinsektiziden in Papierchromatogrammflecken heranzuziehen. Die Hauptfrage war, ob die *Schöniger*-Methode auch bei so kleinen Mengen an zu

bestimmender Substanz* – auf den Chromatogrammflecken sind ja meist nur Mengen in der Größenordnung von einigen Mikrogrammen enthalten, gegenüber der üblicherweise zur Verbrennung kommenden Menge von Milligrammen Substanz – reproduzierbare Werte gibt, inwieweit Verluste bei der Bestimmung eintreten und wie hoch die Blindwerte von Papier und Reagentien im Verhältnis zu den Werten der Aktivsubstanzen sind. Es ergab sich, daß die *Schöniger-Methode* auch im Mikrogrammbereich sehr zufriedenstellende Resultate liefert. Die Resultate sind ausgezeichnet reproduzierbar, und die Blindwerte betragen im Durchschnitt nicht mehr als 3 bis 10 % der Meßwerte.

Wegen der Dicke des Chromatographierpapiers verwendeten wir statt 300 ml 500 ml- und manchmal auch 1000 ml-Erlenmeyerkolben für die Verbrennung. Als Absorptionsflüssigkeit bewährte sich 0,2 N-Schwefelsäure (10 ml).

4. Spektrophotometrische Bestimmung des Phosphors nach der Molybdänblaumethode

In der Literatur findet man eine große Anzahl Arbeiten über die Bestimmung des Phosphors als Phosphat nach der Molybdänblaumethode^{17, 25, 29, 56, 61–76}. Die darin angegebenen Einzelheiten der Methode stimmen aber, auch wenn das Prinzip bei allen Arbeiten gleich ist, keineswegs immer überein. Vor allem ergeben sich Unterschiede durch die Verwendung einer ganzen Reihe verschiedener Reduktionsmittel. Unter anderem wurden zum Beispiel folgende Reduktionsmittel verwendet: Zinnchlorid, 1,2,4-Aminonaphtolsulfonsäure, Hydrochinon, Hydrazinsulfat, Ascorbinsäure, Ferrosulfat, Amidol, Natriumsulfit, Natriumbisulfit und p-methylaminophenol.

Neben der Verschiedenheit in der Wahl der Reduktionsmittel unterscheiden sich die Arbeiten noch in anderen Details, wie pH der Lösung, Temperatur, bei der die Farbentwicklung erfolgt, und Wellenlänge, bei der die Messung ausgeführt wird⁷⁷. Von der Art des Reduktionsmittel, der Temperatur bei der Farbentwicklung usw. ist aber die Zusammensetzung des Molybdänblaukomplexes und damit auch die Farbintensität sowie die Farbstabilität abhängig.

Die Methode von *Lowry et al.*⁷⁰ und *Chen, Toribara und Warner*⁶⁹ schien für unsere Zwecke am geeignetsten zu sein. *Lowry et al.* sowie *Chen, Toribara und Warner* verwendeten Ascorbinsäure als Reduktionsmittel, wodurch eine große Empfindlichkeit der Bestimmung erreicht wird. (Bei Verwendung von Küvetten mit 1 cm Schichtdicke erhielten wir mit 0,062 γ Phosphor/ml noch eine Extinktion von $\sim 0,050$.) Die zur Bestimmung nötigen Reagenslösungen müssen nicht jeden Tag frisch hergestellt werden. Außerdem spielen kleinere pH-Unterschiede in den Meßlösungen keine Rolle. Das Verfahren wird so aus-

* In diesem Zusammenhang sei auf einen während der Fertigstellung dieser Arbeit erschienenen Artikel von *Soep*⁷⁸ hingewiesen, in dem die Anwendbarkeit und Brauchbarkeit der *Schöniger-Methode* bei der Bestimmung von Fluorverbindungen in Chromatogrammflecken beschrieben wird.

geführt, daß zu der Probelösung, die den zu bestimmenden Phosphor in Form von Phosphat enthalten muß, eine Reagenslösung, bestehend aus Schwefelsäure, Ammonmolybdat und Ascorbinsäure, zugefügt wird. Hierauf gibt man die Lösung ca. 1½ Stunden lang zur Farbentwicklung in ein auf 37° C konstant gehaltenes Wasserbad und mißt schließlich die Extinktion der Lösung bei 820 m μ .

Wie eben erwähnt, muß der zu bestimmende Phosphor in der Lösung als Phosphat vorliegen. Dies ist aber nach der Verbrennung der Substanz nach *Schöniger* nicht vollständig der Fall. Bei der relativ hohen Verbrennungstemperatur wird nämlich neben ortho- auch pyro- und metaphosphat gebildet, die vor der photometrischen Bestimmung durch Hydrolyse in Orthophosphat übergeführt werden müssen. Bezüglich dieser Hydrolyse liegen in der Literatur teils widersprechende Angaben vor⁵²⁻⁵⁶. Nach unseren Erfahrungen werden vorhandene höhere Phosphate durch 10 Minuten langes Kochen der sauren Lösung (0,2-n Schwefelsäure) vollständig zu Orthophosphat hydrolysiert (siehe auch die ausführliche Arbeit von *Dirscherl* und *Erne*⁶⁰).

Im folgenden seien nun einige Anwendungsbeispiele der beschriebenen Methode zur Bestimmung von Organophosphorinsektiziden gegeben.

Experimenteller Teil

A. Bestimmung von Formothion in Präparaten

I. Papierchromatographie

1. Reagentien und Apparate

Aceton: p. a.

Acetonitril: Kp. 79—81° C dest.

Dibutylphtalat: Kp. 144—152° C bei 0,02 mm, 3%ige Lösung in Chloroform (v/v).

Chloroform: p. a.

Chromatographie-Papier: Whatman Nr. 1.

Papier-Imprägnierung: Die Papierbögen (Größe ungefähr 15 x 45 cm) werden so gleichmäßig wie möglich durch eine Lösung von 3,0%igem Dibutylphtalat in Chloroform durchgezogen und die so imprägnierten Bögen 15 Minuten bei Zimmertemperatur trocknen gelassen.

Chromatographieeinrichtung für absteigende Papierchromatographie.

UV-Lampe.

Brom.

4-Methylumbelliferonlösung: 0,15 g 4-Methylumbelliferon werden in 100 ml Aethylalkohol gelöst und diese Lösung mit Wasser auf 200 ml aufgefüllt. Vor Gebrauch gibt man zu dieser Lösung noch 10 ml n/10 Ammoniak.

(Es kann auch eine Methylumbelliferonlösung ohne Ammoniakzusatz verwendet werden. In diesem Fall muß das Papierchromatogramm nach Besprühen unter der UV-Lampe vorsichtig mit Ammoniak geräuchert werden.)

2. Ausführung des Verfahrens

0,4 g eines 25%igen Formothionpräparates werden durch Zufügen von Aceton auf ein Volumen von 10 ml gebracht, so daß in 1 μ l der Lösung 10 γ For-

mothion enthalten sind. Nun werden 5 μ l dieser Lösung mit einer geeichten* Mikropipette auf den Startpunkt des – wie oben angegebenen – imprägnierten Papierstreifens aufgetragen. Dann chromatographiert man nach der absteigenden Methode unter Verwendung des Fließmittels Acetonitril : Wasser = 1 : 4. Die Laufzeit beträgt bei Verwendung dieses Gemisches und bei einer Laufstrecke von ca. 30 cm 2,5 bis 3 Stunden. Hierauf wird das Chromatogramm aus dem Chromatographiergefäß genommen und getrocknet.

Zur Sichtbarmachung der Substanzen gibt man das trockene Papierchromatogramm einige Sekunden lang in eine mit Bromdampf gefüllte 5-Liter-Weithalsflasche. Anschließend sprüht man mit ammoniakalischer Methylumbelliferonlösung und betrachtet unter der UV-Lampe. Die Substanzen erscheinen als dunkle Flecken auf stark hellblau fluoreszierendem Untergrund. Der Rf-Wert von Formothion liegt bei 0,20. Die Empfindlichkeit der Nachweisreaktion beträgt 0,3 γ .

II. *Quantitative Bestimmung durch Verbrennung der Chromatogrammflecken und darauffolgende spektrophotometrische Phosphorbestimmung nach der Molybdänblaumethode*

1. *Reagentien und Apparate*

Schwefelsäure p. a.: 0,2 N.

Schwefelsäure p. a.: 6 N.

Ascorbinsäure p. a.: 10 % wässrige Lösung (im Kühlschrank aufbewahren).

Ammonmolybdat p. a.: $[(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} + 4\text{H}_2\text{O}]$: 2,5 % wässrige Lösung.

KH_2PO_4 p. a.

Molybdatreagens: Das Molybdatreagens wird durch Mischen von 1 Volumteil 6 N-Schwefelsäure + 2 Volumteilen H_2O + 1 Volumteil 2,5 % Ammonmolybdatlösung + 1 Volumteil 10 % Ascorbinsäurelösung hergestellt. – Dieses Reagens muß aus den einzelnen – unbeschränkt lang haltbaren Lösungen – jeden Tag neu bereitet werden.

Verbrennungskolben (500 oder 1000 ml) nach *Schöniger* mit Platinhalter.

Spektrophotometer (*Metrohm*), geeignet für Messung bei 820 m μ . Die verwendeten Küvetten hatten eine Schichtdicke von 1 cm.

2. *Ausführung der Bestimmung*

Nach dem Sichtbarmachen der Substanzen am Chromatogramm (I, Seite 9) schneidet man die Chromatogrammflecken aus, faltet das Papier zusammen und befestigt es am Platinhalter des Schliffstopfens vom Verbrennungskolben. Hierauf verbrennt man in Sauerstoffatmosphäre in einem 500 ml-Erlenmeyerkolben nach *Schöniger*. (Handelt es sich um besonders große Chromatogrammflecken, ist es zwecks Gewährleistung einer vollständigen Verbrennung besser, einen 1000 ml-Kolben zu benutzen.)

* Zur Erzielung einer vernünftigen Genauigkeit ist die Verwendung von geeichten Mikropipetten unbedingt erforderlich.

Als Absorptionsflüssigkeit dienen 10 ml 0,2 N-Schwefelsäure. Nach vollständiger Verbrennung schüttelt man den geschlossenen Kolben kräftig und läßt dann noch 20 Minuten unter gelegentlichem Umschütteln bei Zimmertemperatur stehen. Dann spült man den Stopfenhals und den Platinhalter mit destilliertem Wasser ab, erhitzt den Kolbeninhalt und läßt 10 Minuten lang leicht kochen, wobei die Lösung gleichzeitig auf 2 bis 3 ml eingengt wird. Nach dem Abkühlen wird die Lösung in einen 10 ml-Meßkolben gebracht und mit Wasser bis zur Marke aufgefüllt.

Zur photometrischen Phosphorbestimmung werden 4 ml dieser Lösung in ein graduiertes, mit Schliffstopfen versehenes Reagensglas gegeben und 4 ml des Molybdatreagens zugefügt. Man schüttelt um und gibt das verschlossene Reagensglas ungefähr 1½ Stunden lang in ein durch einen Thermostat konstant auf 37° C gehaltenes Wasserbad.

Nach Herausnehmen und Abkühlen der Lösung auf Zimmertemperatur mißt man die Extinktion in einem Spektrophotometer bei 820 m μ . Von dem gemessenen Wert ist noch der Blindwert abzuziehen, den man durch Verbrennen eines leeren – an Größe dem ausgeschnittenen Formothionfleck entsprechenden – Chromatographierpapierflecks erhält. (Man kann auch durch einmaliges Verbrennen von mehreren verschieden großen Papierflecken eine «Eichkurve» der Blindwerte aufstellen.) Der Phosphorgehalt der Probe wird aus einer mit Phosphorstandardlösung (KH₂PO₄) aufgestellten Eichkurve ermittelt. (Die zur Aufstellung der Eichkurve benützten Lösungen wurden durch Zusammengießen von 4 ml Molybdatreagens und 4 ml verschiedene Mengen Phosphat enthaltende Phosphor-Eichlösungen erhalten. Die Farbentwicklung erfolgte wie oben bei der Probelösung beschrieben.) Der Formothiongehalt ergibt sich daraus (nach Berücksichtigung der Einwaage und des verwendeten Volumens der Lösung) durch Multiplikation mit dem Faktor 8,34 oder graphisch mit Hilfe eines Umrechnungsdiagramms. Die Ermittlung der vorhandenen Aktivstoffmenge kann auch dadurch erfolgen, daß man am Chromatogramm außer der Probelösung auch eine bekannte Menge einer Testlösung der betreffenden Substanz aufträgt und nach Verbrennen der Flecken und photometrischer Phosphorbestimmung die Extinktion der Probelösung zu der der Testlösung in Beziehung setzt. Dieses Verfahren ist besonders dann angezeigt, wenn der Verdacht besteht, daß der zu bestimmende Aktivstoff eine beträchtliche Flüchtigkeit aufweist.

Ila. Semiquantitative Bestimmung

Das papierchromatographische Verfahren wird ebenso ausgeführt, wie bei der quantitativen Bestimmung (I, Seite 9) beschrieben. Nur trägt man zweckmäßigerweise nur 1 bis 5 γ der zu bestimmenden Substanz auf das Chromatogramm auf. Neben der Substanz werden auch noch verschiedene Mengen einer Formothionlösung (z.B. 2, 4 und 6 γ Formothion enthaltend) auf das Papier

aufgebracht. Die semiquantitative Bestimmung erfolgt nach Sichtbarmachen der Substanzen durch visuellen Vergleich von Größe und Intensität der Flecken der Probelösung mit denen der Testlösung.

B. Die Bestimmung von Formothionspfitzrückständen (Formothion und Dimethoat) in Pflanzenmaterial

I. Aufarbeitung des Pflanzenmaterials

1. Reagentien und Apparate

Benzol: Kp. 80° C (Handelsware, mit Kaliumpermanganatlösung behandelt, dann destilliert).

Natriumsulfat: rein, wasserfrei.

Aceton: Kp. 56° C.

Acetonitril: Kp. 79—81° C.

Petroläther: Kp. 32—35° C.

Neutrales Aluminiumoxyd: 2 kg Aluminiumoxyd Merck werden gut mit 1,6 Liter Essigsäureäthylester vermischt. Man läßt 24 Stunden stehen, saugt dann ab und schlämmt 2mal mit je 1,6 Liter wasserfreiem Aethylalkohol auf. Nach Absaugen trocknet man 3 Stunden lang bei 210 bis 220° und 12 mm. Das Vakuum wird so lange beibehalten, bis die Temperatur des Aluminiumoxyds auf Zimmertemperatur gesunken ist.

Chloroform: Kp. 61° C, phosgenfrei.

Mixer.

Schüttelmaschine.

2. Ausführung der Bestimmung

100 g Pflanzenmaterial (es können aber auch entsprechend weniger verwendet werden) werden (bei Früchten mit Kernen nach vorangegangenen Entkernen und bei zähfaserigem Material nach Zerschneiden in kleine Stücke) unter Zufügen von 300 ml Benzol 3 Minuten im Mixer zerkleinert. Dann fügt man je nach dem Wassergehalt des aufzuarbeitenden Materials 75 bis 250 g wasserfreies Natriumsulfat zu und mixt nochmals 3 Minuten lang. Der Inhalt des Mixbechers wird in eine Weithalsflasche (1,5 Liter) gegeben, der Becher mit 50 ml Benzol ausgespült und die gut verschlossene Weithalsflasche 1/2 Stunde mechanisch geschüttelt. — Man saugt ab, gibt den Pflanzenbrei nochmals mit 300 ml Benzol in die Weithalsflasche und schüttelt abermals 1/2 Stunde. Nach Absaugen werden die beiden Filtrate vereinigt und in einem Kuderna-Danish-Kolben (mit aufgesetztem 30 cm langem Glasrohr wegen eventuellen Spritzens der Lösung) unter Wasserstrahlvakuum am Wasserbad bei 40 bis 50° C zur Trockne eingedampft. Zum Eindampfrückstand werden mehrmals kleine Mengen Acetonitril zugegeben (insgesamt 20 bis 60 ml), jedesmal kräftig verrührt und der Kolbeninhalt nach jeder Zugabe auf die Aluminiumoxydkolonne gebracht (10 g neutrales Aluminiumoxyd werden mit Acetonitril in ein am unteren Ende mit Schliffhahn versehenes Glasrohr eingefüllt). Man läßt die Lösung durch die

Kolonnen laufen und eluiert dann mit 200 ml Acetonitril. Das Eluat wird in einem Kuderna-Danish-Kolben unter Vakuum zur Trockne eingedampft.

Der Rückstand wird in 50 ml Petroläther aufgenommen und in einen Scheidetrichter gebracht. Dann schüttelt man 4mal mit je 40 ml eines Gemisches Acetonitril : Wasser = 1 : 4 aus. (Sollte Emulsionsbildung auftreten, gibt man etwas gesättigte Kochsalzlösung zu, worauf die Schichtentrennung nach einigen Minuten eintritt.) Nach jedem Ausschütteln wird die wässrige Phase durch ein 11 cm-Rundfilter filtriert. Die Acetonitril-Wasser-Phase wird hierauf 5mal mit je 50 ml Chloroform ausgeschüttelt. Man filtriert die Chloroformlösung durch eine dünne Schicht Natriumsulfat in einen Kuderna-Danish-Kolben und dampft unter Vakuum bei ungefähr 40 bis 50° C zur Trockne. Zum Schluß wird der Rückstand in Aceton aufgenommen und in einem 10 ml-Kolben mit Aceton bis zur Marke aufgefüllt.

II. Papierchromatographie und quantitative (semiquantitative) Bestimmung

1. Reagentien und Apparate

Siehe Experimenteller Teil, A. Bestimmung von Formothion in Präparaten, Seite 162.

2. Ausführung der Bestimmung

Ein aliquoter Teil* des vorgereinigten Pflanzenextraktes wird in ein unten spitz zulaufendes Reagensglas gebracht und der größte Teil des Acetons (bis auf 1 bis 2 Tropfen) bei 60° C und Darüberblasen von Luft entfernt. Die so bis fast zur Gänze eingedampfte Lösung wird mit Hilfe eines kapillarähnlich ausgezogenen Glasröhrchens auf den Startpunkt des imprägnierten Chromatographiestreifens aufgetragen. Man gibt noch 2mal je einige Tropfen Aceton in das Reagensglas, erwärmt, läßt abkühlen und bringt jedesmal wieder auf das Chromatogramm.

Die weitere Analysenvorschrift ist analog wie bei der Bestimmung von Formothion in Präparaten bereits beschrieben. Im Falle einer semiquantitativen Bestimmung werden neben Formothion auch Dimethoatattestlösungen verschiedener Konzentration auf das Chromatogramm aufgetragen. Die Verbrennung der Dimethoatflecken zwecks quantitativer Bestimmung wird genau so wie die der Formothionflecken ausgeführt. Die vorhandene Menge Dimethoat erhält man, ebenso wie bei Formothion, aus einem Umrechnungsdiagramm oder durch Multiplikation der gefundenen Phosphormenge mit dem Faktor 7,44.

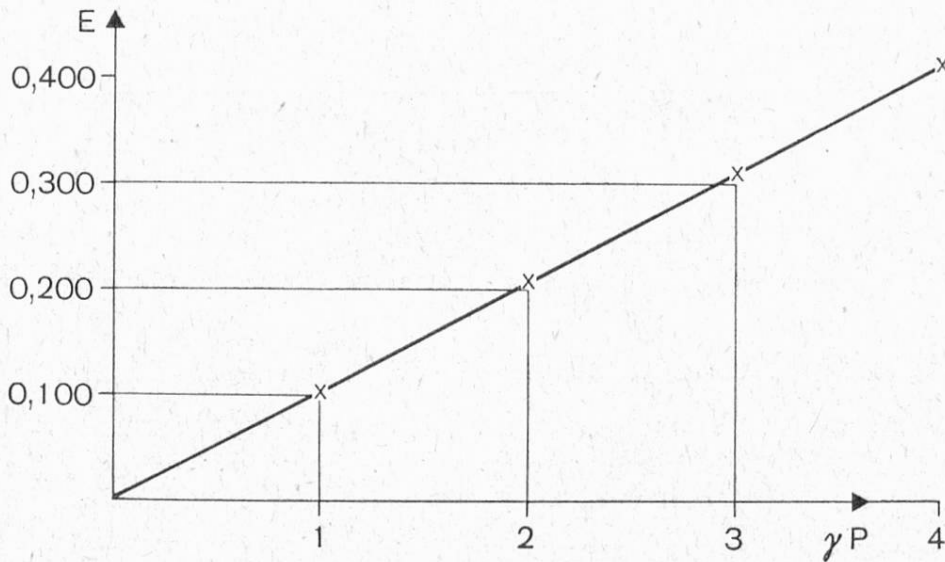
* Um den Fehler bei der photometrischen Bestimmung möglichst klein zu halten, soll die aufzutragende Extraktmenge so gewählt werden, daß die resultierende Extinktion größer als 0,1 ist.

Ergebnisse

A. Spektrophotometrische Bestimmung des Phosphors

1. Empfindlichkeit der Bestimmung

Die Aufstellung der Eichkurve erfolgte mit einer Reihe von Meßlösungen mit Phosphorgehalten von 0 bis 4 γ /8 ml (4 ml Molybdatreagens + 4 ml, verschiedene Mengen Phosphat enthaltende Phosphorstandardlösungen) (Fig. 1). Dank der großen Empfindlichkeit der Methode kann die Extinktionsmessung mit den üblichen Küvetten ausgeführt werden (wir verwendeten Küvetten von 1 cm Schichtdicke).

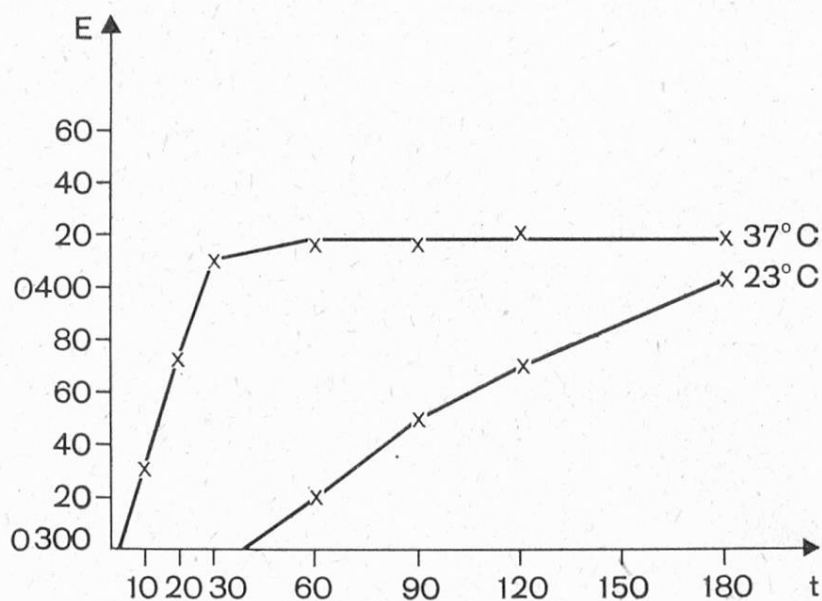


Figur 1

Eichkurve mit Phosphorstandardlösungen, Metrohm Spektralphotometer E 1007, Küvetten mit 1 cm Schichtdicke, Messung bei 820 $m\mu$.

Bei einem Großteil der von uns durchgeführten Insektizidbestimmungen lagen die Extinktionswerte der Probelösungen im Bereich von 1 bis 4 γ P der Eichkurve. Doch kann die Messung auch bei höheren Konzentrationen ausgeführt werden. Extinktionsmessungen mit Phosphorstandardlösungen bis zu 12 γ P/8 ml ergaben auch in diesem Bereich Gültigkeit des Beerschen Gesetzes. Andererseits läßt sich natürlich bei sehr kleinen Phosphorgehalten die Farbintensität durch Verwendung von Küvetten mit 2 cm Schichtdicke erhöhen.

2. Einfluß von Zeit und Temperatur auf die Entwicklung der Farbintensität



Figur 2

Abhängigkeit der Farbentwicklung von Temperatur und Zeit. – Alle Messungen mit Lösungen, die 4 γ P/8 ml enthielten. Die Zeit ist in Minuten angegeben.

Aus Figur 2 geht hervor, daß der Anstieg der Extinktion nur sehr langsam vor sich geht, wenn die Lösungen bei Zimmertemperatur stehengelassen werden. Bei 37° C erreicht die Farbintensität dagegen bereits nach 1 Stunde einen fast konstanten Wert. Danach bleibt die Extinktion der Lösungen längere Zeit praktisch unverändert, so daß man bei der Messung nicht genau an einen bestimmten Zeitpunkt gebunden ist (siehe auch *Chen et al.*⁶⁹).

3. Einfluß der Säurekonzentration der Lösung auf die Extinktion

Nach *Chen et al.* darf die Schwefelsäurekonzentration der Meßlösung zwischen einer Normalität von 0,4 bis 1,0 variieren, ohne daß eine Beeinflussung der Extinktionswerte stattfindet. Da dies auch nach unseren Versuchen zutrifft (Tab. 1), behielten wir die von *Chen et al.* gewählte Säurekonzentration des Molybdatreagens (1,2 N, nach Verdünnen mit einem gleichen Volumen neutraler Probelösung beträgt die Normalität der Schwefelsäure in der Meßlösung dann 0,6) bei. In diesem Fall bleibt nämlich die Säurekonzentration der Meßlösung auch nach Zugabe der Schwefelsäure (10 ml 0,2 N) bei der Verbrennung der Chromatogrammstellen zwecks Hydrolyse der vorhandenen Pyro- und Metaphosphorsäure noch beträchtlich unterhalb der erlaubten maximalen Konzentration von 1 N.

Tabelle 1

Einfluß der Schwefelsäurekonzentration auf die Extinktion
 Meßwerte nach 1¹/₂stündiger Farbentwicklung bei 37° C

γ P/8 ml	Normalität der H ₂ SO ₄ in Meßlösung	E
3	0,6	0,309
3	0,8	0,312
3	0,9	0,310
3	1,0	0,309
3	1,2	0,289
3	1,35	0,160
3	1,5	0,050

B. Bestimmung von phosphorhaltigen Substanzen in Chromatogramm-
 flecken nach *Schöniger*-Verbrennung und nachfolgende photometrische
 P-Bestimmung

1. Verbrennung und P-Bestimmung nach Tüpfeln von Substanzlösungen
 auf Chromatographiepapier

Um die Brauchbarkeit der *Schöniger*-Methode bei der Bestimmung von Mikrogrammengen Substanz zu testen, wurden Substanzlösungen, die bekannte Mengen (10–50 γ) an verschiedenen phosphorhaltigen Stoffen enthielten, auf Chromatographiepapier getüpfelt, das Papier nach *Schöniger* verbrannt und hierauf der Phosphor photometrisch bestimmt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 2, Spalte a, zusammengestellt. Die angeführten Werte stellen Mittelwerte von mehreren Bestimmungen dar.

Tabelle 2

Analyse von Reinsubstanzen

Substanz	Spalte a gef. %	Spalte b* gef. %
Triphenylphosphin	99,3	
Thiometonsulfoxyd	98,8	
Dimethoate	100,9	99,8
Formothion	99,5	98,4
Thiometon	100,0	
Thiometonsulfon	99	98,7

* Die Papierchromatographie erfolgte für Thiometonsulfon, Dimethoate und Formothion unter Verwendung des Fließmittels Acetonitril : Wasser = 1 : 4 und einer Papierimprägnierung mit einer 3%igen Lösung von Dibutylphthalat in Chloroform.

2. Verbrennung von Chromatogrammflecken

Nachdem die Brauchbarkeit der Methode zur Bestimmung von Mikrogrammengen Substanz erwiesen war, wurden verschiedene Substanzen chromatographiert, die Flecken mit Hilfe der Brom-Methylumbelliferon-Reaktion sichtbar gemacht, ausgeschnitten, nach *Schöniger* verbrannt und der Phosphor photometrisch bestimmt. Es zeigte sich (Tab. 2, Spalte b), daß Papierimprägnierung, Fließmittel und Sprühreagens keinen Einfluß auf die Extinktionswerte und damit auf die Brauchbarkeit der Methode ausüben.

Die Genauigkeit der Methode sei durch nachstehende Extinktionswerte demonstriert, die durch 8 Parallelbestimmungen von Dimethoatchromatogrammflecken erhalten wurden:

E gemessen 0,277, 0,280, 0,284, 0,282, 0,285, 0,288, 0,279, 0,287.

3. Bestimmung von Phosphorinsektiziden in technischen Produkten

In Tabelle 3 sind einige Werte zusammengestellt, die bei der Analyse von technischen Produkten erhalten wurden. Zu Vergleichszwecken sind auch Werte angeführt, die auf Grund der semiquantitativen Bestimmung erhalten wurden.

Tabelle 3
Analysenwerte einiger technischer Produkte

Substanz	% in Probe	% gefunden* quantitativ	% gefunden semiquantitativ
Parathion	98,15	98,1	
Dimethoate	25,50	25,2	
Formothion		57,1	50 — 65
Formothion		45,2	40 — 60
Formothion		45,0	35 — 50
Sumithion**	98,8	99,5	

* Die Papierchromatographie erfolgte für Dimethoate und Formothion unter Verwendung des Fließmittels Acetonitril : Wasser = 1 : 4 und einer Papierimprägnierung mit einer 3%igen Lösung von Dibutylphthalat in Chloroform. Bei Parathion und Sumithion wurde die Chromatographie mit dem Fließmittel Methylalkohol : Wasser = 7 : 3 ausgeführt. Das Papier wurde mit einer 3%igen Lösung von flüssigem Paraffin in Chloroform imprägniert.

** 0,0-dimethyl-0-(3-methyl-4-nitrophenyl)phosphorothioate.

4. Bestimmung von Dimethoat und Formothion in Olivenöl (Zusatzversuch)

Die Methode wurde u.a. zur Bestimmung von Dimethoat und Formothion in Oel herangezogen (Tab. 4). Auch hier sieht man die gute Uebereinstimmung mit den Sollwerten.

Tabelle 4
Formothion und Dimethoatgehalte in Oel

Substanz	Zugesetzte Menge (in g)	Menge gefunden (in g) (Mittelwert aus Doppel- bestimmung)
Formothion	0,0750	0,0731
Dimethoate	0,0133	0,0136

5. Bestimmung von Phosphorinsektiziden in Pflanzenmaterial

In Tabelle 5 sind eine Reihe von Analysenwerten aufgenommen, die bei Anwendung der Methode zur Bestimmung von Phosphorinsektiziden in Pflanzenmaterial erhalten wurden. Es handelt sich dabei teils um Analysen von Spritzrückständen, teils um Zusatzversuche. Zu Vergleichszwecken wurden auch die Werte der semiquantitativen Bestimmung angegeben.

Tabelle 5
Phosphorinsektizidbestimmungen in Pflanzenmaterial

Substanz	Pflanzenmaterial	Menge gefunden in ppm	Menge in ppm semiquantitativ
Dimethoate	Weintrauben	0,75	0,7 — 0,8
Dimethoate	Weintrauben	1,7	1,4 — 1,7
Dimethoate	Rübenblätter (Eintauchversuch)	46	40
Dimethoate	Zwetschgen	1,18	1 — 1,4
Formothion	Zwetschgen	0,15 Formothion 0,40 Dimethoate	
Thiometonsulfoxyd	Tee (Zusatzversuch)	0,77	0,6 — 0,7
Thiometonsulfoxyd	Oliven	0,93	0,9 — 1,2
Thiometonsulfoxyd	Tomaten	0,79	0,7 — 0,8

Zusammenfassung

Es wird eine Methode zur Bestimmung von Mikromengen organischer Phosphorinsektizide angegeben, die sowohl zur Bestimmung von Phosphorinsektiziden in Präparaten und Lösungen als auch bei Rückstandsanalysen Anwendung finden kann. Das Analysenverfahren ist ganz allgemein zur Bestimmung von Organophosphorverbindungen geeignet und umfaßt:

1. Eventuelle Vorreinigung der zu untersuchenden Probelösung durch geeignete clean-up-Verfahren

2. Papierchromatographische Trennung insektizider Substanzen untereinander und von Begleitstoffen
3. Verbrennung der Chromatogrammstellen in Sauerstoffatmosphäre
4. Spektrophotometrische Bestimmung des Phosphors nach der Molybdänblaumethode.

Nach der beschriebenen Methode ist es möglich, in Chromatogrammstellen enthaltene organische Phosphorinsektizide selbst in Mengen von 5γ noch mit einer Genauigkeit von etwa 5% zu erfassen. Unter Verzicht auf die unter 2 angeführte papierchromatographische Trennung ist die Methode auch zur Bestimmung von Totalphosphor brauchbar.

Ferner wird eine einfach und schnell auszuführende Nachweisreaktion zum Sichtbarmachen einer Reihe von organischen Phosphorinsektiziden auf Papierchromatogrammen beschrieben. Die Empfindlichkeit dieser Brom-Methylumbelliferon-Reaktion beträgt ungefähr $0,3 \gamma$.

Diese Nachweisreaktion kann auch zur semiquantitativen Bestimmung – durch visuellen Vergleich von Intensität und Größe der Chromatogrammstellen mit denen von Testsubstanzen – von Phosphorinsektiziden in Fällen dienen, wo nur Spuren von Insektiziden vorhanden sind oder eine nicht allzu große Genauigkeit gefordert wird.

Die Anwendbarkeit der Methode wird anhand von Beispielen zur Bestimmung von Formothion (0,0-dimethyl-S-[N-methyl-N-formyl-carbamoylmethyl]-dithiophosphat), Dimethoat (0,0-dimethyl-S-[N-methylcarbamoylmethyl]-dithiophosphat), Thiometon-sulfoxid (0,0-dimethyl-S-[äthyl-sulfoxyl-äthyl]-dithiophosphat) und Parathion dargestellt.

Schließlich wird ein clean-up-Verfahren angegeben, das für die Aufarbeitung von Pflanzenextrakten zur Analyse von Formothion- und Dimethoatspritzrückständen geeignet ist.

Résumé

Cette communication a pour objet une méthode de dosage de traces d'insecticides organophosphorés qui peut servir aussi bien à l'analyse des produits et des solutions que pour déceler les résidus dans les végétaux. Il s'agit d'un procédé analytique applicable d'une façon générale à toutes les combinaisons organophosphorées; il comprend les opérations suivantes:

1. La purification préalable éventuelle au moyen d'un «Clean-up» convenable de la solution à examiner.
2. La séparation des substances insecticides et des matières accessoires par chromatographie sur papier.
3. La combustion des taches du chromatogramme en atmosphère d'oxygène.
4. La détermination spectrophotométrique du phosphore par la méthode au bleu de molybdène.

La méthode décrite permet de doser les insecticides organophosphorés dans les taches du chromatogramme, même à la quantité minimale de 5γ , avec une précision de $\pm 5 \%$. En renonçant à la séparation chromatographique sur papier indiquée sous chiffre 2 ci-dessus, la méthode se prête également au dosage du phosphore total.

En outre, il est fait mention d'une réaction de détection, d'exécution simple et rapide, pour révéler une série d'insecticides organophosphorés par chromatographie sur papier. La sensibilité de cette réaction à la bromo-méthylumbelliférone est de l'ordre de $0,3 \gamma$.

Cette réaction d'identification peut servir aussi au dosage semi-quantitatif – par comparaison visuelle de l'intensité et de la grandeur des taches chromatographiques avec celles des témoins – d'insecticides phosphorés, dans les cas où il n'y a que des traces à déceler ou quand la précision exigée n'est pas trop grande.

L'application de la méthode est démontrée par l'exemple des dosages du Formothion (0,0-diméthyl-S-[N-méthyl-N-formyl-carbamoylméthyl]-dithiophosphate) du Diméthoate (0,0-diméthyl-S-[N-méthyl-carbamoylméthyl]-dithiophosphate) du Thiométone sulfoxyde (0,0-diméthyl-S-[éthyl-sulfoxy-éthyl]-dithiophosphate) et du Parathion.

Enfin, on décrit un procédé de purification («clean up») pour la préparation des extraits de plantes destinés au dosage des résidus de Formothion et de Diméthoate.

Summary

A method is given for the determination of micro quantities of organic phosphorous insecticides in preparations and solutions, as well as for the determination of spray residues. The method of analysis is quite generally suitable for the determination of organo phosphorous compounds and comprises:

1. Clean-up process for the sample, if required.
2. Paper chromatographic separation of individual insecticidal substances and impurities.
3. Flask combustion of chromatogram spots in oxygen atmosphere.
4. Spectrophotometric determination of phosphorus by the Molybdenum blue method.

The method allows to determine organic phosphorous insecticides in chromatographic spots even in quantities of 5 micrograms with an accuracy of about 5%. Without the paper chromatographic separation as per point 2 this method can be used to determine the total phosphorus content.

Further, a simple method for the detection of a number of organic phosphorous ester compounds on paper chromatograms is described. The sensitivity of this bromine-methylumbelliferon reaction is approximately 0,3 micrograms.

By visual comparison of the intensity and size of chromatographic spots with those of test substances this method of detection may also serve for the semi-quantitative determination of phosphorous insecticides, in cases where only traces of insecticides are present or where no extremely accurate results are required.

The applicability of the method is demonstrated by analyses of Formothion (0,0-diméthyl-S-[N-méthyl-N-formyl-carbamoylméthyl]-dithiophosphate), Diméthoate (0,0-diméthyl-S-[N-méthyl-carbamoylméthyl]-dithiophosphate), Thiométone sulfoxyde (0,0-diméthyl-S-[éthyl-sulfoxy-éthyl]-dithiophosphate) and Parathion.

Finally, a clean-up method for Formothion and Diméthoate containing extracts of plant material is described.

Literatur

- 1 Gunter F. A. und Blinn R. C., Analysis of insecticides and acaricides. Chem. Analysis, Vol. 6, Intersc. Publ. N Y - London 1955.
- 2 Advances in Pest Control Research, Intersc. Publ. N Y - London, Vol. 1 (1957), Vol. 4 (1961).
- 3 Sandi E., Z. Anal. Chem. **167**, 241 (1959).
- 4 Bowen C. U., Edwards F. I. Jr., Anal. Chem. **22**, 706 (1950).
- 5 Coulson D. M., Cavanagh L. A., Stuart J., J. agr. food chem. **7**, 250 (1959).
- 6 Coulson D. M., Cavanagh L. A., De Uries J. E., Walther B., J. agr. food chem. **8**, 399 (1960).
- 7 Coulson D. M., Cavanagh L. A., Anal. Chem. **32**, 1245 (1960).
- 8 Weinig E., Lautenbach und Geldmacher-Mallinckrodt, Vortrag anlässlich der Tagung der dtsh. Ges. für gerichtliche und soziale Medizin in Graz, 14. 10. 60.

- 9 McCaulley D. F., Proc. Symp. Instrum. Methods for Anal. Food Additions, Michigan State University, March 1960.
- 10 McCaulley D. F., Cook J. W., J. of AOAC **43**, 710 (1960).
- 11 Henglein A., Schrader G. und Mühlmann R., Z. anal. Chem. **141**, 276 (1954).
- 12 Fischer W., Uhlich U., Z. anal. Chem. **172**, 175 (1960).
- 13 Chilwell E. D., Hartley G. S., Analyst **86**, 148 (1961).
- 14 Dupè L. F., Heath D. F., Otter I. K. H., J. agr. food chem. **4**, 233 (1956).
- 15 Otter I., Microchim. acta (1956), 125.
- 16 Heath D. F., Cleug J., Otter, I. K. H., Park P. O., J. agr. food chem. **4**, 230 (1956).
- 17 Chilwell E. D., Beecham P. T., J. sci. food agr. **11**, 400 (1960).
- 18 Bazzi B., Monograph, Montecatini-Milano, 1957.
- 19 Jones L. R., Riddick J. A., Anal. Chem. **24**, 569 (1952).
- 20 Modes R. E. J., Cook J. W., J. of AOAC **42**, 208 (1959).
- 21 Jucker O., diese Mitt. **49**, 1 (1958).
- 22 Eichenberger J., Gay L., diese Mitt. **51**, 423 (1960).
- 23 Radeleff R. D., Claborn H. U., J. agr. Food Chem. **8**, 437 (1960).
- 24 Norris M. U., Kuchar E. J., J. agr. food chem. **7**, 488 (1959).
- 25 Laws E. Q., Webley D. J., Analyst **86**, 249 (1961).
- 26 Laws E. Q., Webley D. J., Analyst **84**, 28 (1959).
- 27 Giang P. A., Schechter M. S., J. agr. food chem. **6**, 845 (1958).
- 28 Timmermann J., Jr., Dorough H. W., Buttram J. R., Arthur B. W., J. econ. entom. **54**, 441 (1961).
- 29 Tietz H., Frehse H., Höfchen Briefe **13**, 212 (1960).
- 30 Gage J. C., Biochem. J. **54**, 426 (1953).
- 31 Metcalf R. L., March R. B., Science **117**, 527 (1953).
- 32 Cook J. W., J. of AOAC **37**, 984 (1954).
- 33 Müller R., Ernst G., Schoch H., diese Mitt. **48**, 152 (1957).
- 34 Mitchell L. C., J. of AOAC **43**, 810 (1960).
- 35 Sperlich H., Deutsche Apotheker-Zeitung **100**, 774 (1960).
- 36 Sinko Goto, Itiro Muta, Rokuro Sato (Botyu Kagaku) Sci. Insect Control **24**, 34 (1959).
- 37 Mc Rae H., Kinzley W., J. of AOAC **44**, 207 (1961).
- 38 Fischer R., Otterbeck N., Scientia Pharmaceutica **27**, 1 (1959).
- 39 Hanes C. S., Isherwood F. A., Nature **164**, 1107 (1949).
- 40 Otter K. K., Nature **176**, 1078 (1955).
- 41 Tietz H., Mühlmann R., Höfchen Briefe **9**, 116, 286 (1956).
- 42 Mitchell L. C., J. of AOAC **42**, 685 (1959).
- 43 Fischer R., Klingelhöller W., Arch. Toxikol. **19**, 119 (1961).
- 44 Gordon H. T., Science **128**, 414 (1958).
- 45 Menn J. J., Ernin W. R., Gordon H. T., J. agr. food chem. **5**, 601 (1957).
- 46 Sulser H., diese Mitt. **45**, 518 (1954).
- 48 Siegl A., Schlögl K., Mikrochem. **40**, 202 (1953).
- 49 Kuffner F., Faderl N., Monatsh. Chemie **86**, 995 (1955).
- 50 Schöniger W., Microchim. acta (1955), 123.
- 51 Schöniger W., Microchim. acta (1956), 869.
- 52 Belcher R., McDonald A. M. G., Talanta **1**, 185 (1958).
- 53 Cohen L. E., Czech F. W., Chemist-Analyst **47**, 86 (1958).
- 54 Fleischer K. D., Southworth B. C., Hodecker J. H., Tuckerman M. M., Anal. Chem. **30**, 152 (1958).
- 55 Bartels U., Hoyme H., Chem. Technik Berlin **11**, 600, 156 (1959).
- 56 Merz W., Mikrochim. acta (1959), 456.
- 57 Püschel R., Wittmann H., Mikrochim. aca (1960), 670.
- 58 Kirsten W. J., Carlsson M. E., Microchim. J. **4**, 3 (1960).

- 59 *Corner M.*, *Analyst* **84**, 41 (1959).
- 60 *Dirscherl A., Erne F.*, *Mikrochim. acta* (1960), 775.
- 61 *Kremsbrucker H.*, *Sci. Pharm. (Wien)* **27**, 294 (1959).
- 62 *Snell F. D., Snell C. T.*, *Colorimetric Methods of Analysis*. 3. Edition, Van Nostrand Comp. Inc., Vol. II, P. 630, Vol. II A, P. 548.
- 63 *Boltz D. F.*, *Colorimetric Determination of Nonmetals. Chemical Analysis Vol. VIII*. Intersc. Publ. N Y - London.
- 64 *Methodenbuch*, Bd. 1, Neumann Verlag Radebeul-Berlin. S. 91, 173 (1955).
- 65 *Rockstein M., Herron P. W.*, *Anal. Chem.* **23**, 1500 (1951).
- 66 *Bell R. D., Doisy E. A.*, *J. Biol. Chem.* **44**, 55 (1920).
- 67 *Fiske C. H., Subbarow Y.*, *J. Biol. Chem.* **66**, 375 (1925).
- 68 *Berenblum J., Chain E.*, *Biochem. J.* **32**, 295 (1938).
- 69 *Chen P. S. Jr., Toribara T. Y., Warner H.*, *Analyt. Chem.* **28**, 1756 (1956).
- 70 *Lowry O. H., Roberts N. R., Leiner K. Y., Wu M. L., Farr A. L.*, *J. Biol. Chem.* **207**, 1 (1954).
- 71 *Ammon R., Hinsberg K.*, *Z. physiol. Chem.* **239**, 207 (1936).
- 72 *Martin J. B., Doty D. M.*, *Anal. Chem.* **21**, 965 (1949).
- 73 *Jean M.*, *Anal. chim. acta* **14**, 172 (1956).
- 74 *Taussky H. A., Shorr E.*, *J. Biol. Chem.* **202**, 675 (1953).
- 75 *Lowry O. H., Lopez J. A.*, *J. Biol. Chem.* **162**, 421 (1946).
- 76 *Field K., Laws E. Q.*, *Analyst* **82**, 667 (1957).
- 77 *Sims R. P. A.*, *Analyst* **86**, 584 (1961).
- 78 *Soep H.*, *J. of Chromatography* **6**, 122 (1961).

Dosage de l'acide Ethylène-diamine-tétracétique (EDTA)

dans les denrées, dans les vins notamment

Par *J. Vogel* et *J. Deshusses*

(Laboratoire cantonal de chimie, Genève)

Les propriétés chélatrices de l'acide éthylène-diamine-tétracétique (EDTA), bien connues des chimistes analystes, ont récemment attiré l'attention des techniciens sur l'emploi possible de cet acide dans l'industrie des denrées alimentaires.

Les études publiées jusqu'ici montrent que les réactions indésirables provoquées dans certaines denrées par des traces de métaux (de fer et de cuivre en particulier) peuvent être freinées efficacement par une addition d'EDTA. C'est ainsi qu'un mélange d'EDTA et d'acide sorbique permettrait de stabiliser les mayonnaises et les sauces pour les salades, que l'action des antioxydants serait renforcée par la présence d'EDTA, que le noircissement des pommes de terre serait supprimé durant leur traitement industriel par un mélange de bisulfite de sodium et d'EDTA et que l'addition d'EDTA aux vins permettrait de supprimer les «casses» si redoutées des vignerons¹.

L'Ordonnance réglant le commerce des denrées alimentaires, du 26 mai 1936, ne mentionne pas l'EDTA parmi les substances chimiques dont l'emploi