

**Zeitschrift:** Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchungen und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène

**Herausgeber:** Bundesamt für Gesundheit

**Band:** 97 (2006)

**Heft:** 5

**Artikel:** Effizienz verschiedener Extraktionsmethoden für Chlorpropham in rohen Kartoffeln

**Autor:** Schürmann, Andreas / Känzig, André / Lutz, Marc

**DOI:** <https://doi.org/10.5169/seals-982041>

### **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:** 30.01.2025

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

# Effizienz verschiedener Extraktionsmethoden für Chlorpropham in rohen Kartoffeln\*

Andreas Schürmann<sup>1</sup>, André Känzig<sup>2</sup>, Marc Lutz<sup>3</sup>, Hugo Mändli<sup>4</sup>, Ulrich Schaller<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Kantonales Laboratorium Zürich, Zürich

<sup>2</sup>Amt für Verbraucherschutz Aargau, Aarau

<sup>3</sup>COOP, Qualitätscenter/Zentrallabor, Pratteln

<sup>4</sup>Labor Veritas, Zürich

<sup>5</sup>Swiss Quality Testing Services (SQTS), Dietikon

## Einleitung

Bei Nachweismethoden von Pestizidrückständen haben analytische Verbesserungen zur effizienteren, schnelleren und weniger kostspieligen Erzeugung sichererer Resultate geführt. Abgesehen von massenspektrometrischen Detektionsverfahren haben auch generische Extraktionstechnologien dazu beigetragen. Für die Validierung von Methoden ist die Extraktionseffizienz der einzelnen Wirkstoffe entscheidend. Diese kann nur mit geeigneten Referenzmaterialien, die gewachsene bzw. reale Rückstände aufweisen, gewertet werden und mit praktischen Methodenvergleichen abgewogen werden. Am Beispiel von Rückständen des Keimhemmers Chlorpropham in Kartoffeln wird aufgezeigt, wie akzeptable Wiederfindungen zudotierter Wirkstoffe eine gute Extraktion (und somit vorderhand die Tauglichkeit der Rückstandsmethode) vortäuschen.

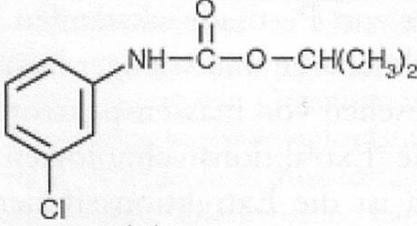
Lagerkartoffeln werden entweder kühl und dunkel gelagert oder mit Keimhemmern behandelt, um deren Auskeimung zu verhindern. Der am häufigsten eingesetzte Keimhemmer ist Chlorpropham, der zur Gruppe der Carbamatpestizide gehört (Tab. 1). Da der Wirkstoff in das Innere der Kartoffeln dringt, ist er selbst in geschälten und frittierten Kartoffelprodukten nachweisbar. Gemäss eigenen Experimenten ist das Chlorpropham jedoch vorwiegend in der Schale und in den ersten Millimetern darunter zu finden. Da die Kühlung zur Verzuckerung der Kartoffeln führt, welche zur unerwünschten Acrylamidbildung führen kann, ist in

\*Vortrag gehalten an der 118. Jahresversammlung der SGLUC vom 14./15. September 2006

Zukunft ein vermehrter Einsatz dieses Keimhemmers zu erwarten. Maximale Gehalte für den synthetischen Keimhemmer Chlorpropham sind in Kartoffeln seit dem 27.12.2005 mit einem Toleranzwert von 10 mg/kg und einem Grenzwert von 30 mg/kg festgelegt (4). Nach einer Behandlung dürfen Kartoffeln erst nach einer Wartefrist von vier Wochen in den Verkauf gelangen. Für den verwandten Wirkstoff Propham gilt ab gleichem Datum ein Toleranzwert von nur 0,05 mg/kg, was mit einem Anwendungsverbot dieses Wirkstoffs gleichzusetzen ist. Als natürliches Keimhemmungsmittel ist auch ein Präparat mit aus Kümmelsamen gewonnenem d-Carvon auf dem Markt, welches auch auf Kartoffeln aus dem biologischen oder IP-Suisse Anbau (Integrierte Produktion mit Marienkäfer-Label) eingesetzt werden darf. Aufgrund der sensorischen Beeinträchtigung der Ware (unerwünschtes Kümmelaroma) findet dieses Präparat in der Praxis jedoch kaum Verwendung.

Tabelle 1

**Kenndaten von Chlorpropham (1, 2, 3)**

Trivialname	Chlorpropham (CIPC)
Anwendung	Vorratsschutzmittel (Herbizid)
Bruttoformel	$C_{10}H_{12}ClNO_2$
$M_r$	213,67 g/mol
CAS-Name	1-Methylethyl (3-Chlorphenyl)-Carbamat
CAS-Nummer	101-21-3
Strukturformel	
Biochemische Wirkung	Mitoseinhibitor
ADI	0,05 mg/kg Körpergewicht
ARfD	0,5 mg/kg Körpergewicht
Wasserlöslichkeit	89 mg/l (25 °C)
pKow	2,92
Dampfdruck	1,1 mPa

Die alte Pestizidrückstandsmethode für Keimhemmungsmittel des Schweizerischen Lebensmittelbuches (SLMB; 5) wurde kürzlich durch die Expertengruppe Pestizide des SLMB für die Detektion mittels GC-MS modifiziert und nachvalidiert. Die Validierung bestätigte zunächst die Tauglichkeit und Robustheit der Methode. Die Kenndaten der Validierung und Wiederfindungen von zu Kartoffelproben zugesetztem Chlorpropham waren durchaus akzeptabel (70–110%). Analysen in verschiedenen Labors liessen jedoch Zweifel an der Vergleichbarkeit der Methode aufkommen. Mit ASE- (Accelerated Solvent Extraction, Hersteller Dionex) und Soxhlet-Extraktionen wurde bis zehnmal mehr Chlorpropham aus

Kartoffeln extrahiert. Es stellte sich die Frage, ob bisherige Rückstandsdaten von Chlorpropham, die mit der SLMB-Methode (und von davon abgeleiteten Methoden) generiert wurden, unter Umständen zu kleine Rückstandsmengen aufzeigen. Vorexperimente zur Extraktionseffizienz bestätigten diese Vermutung.

Es werden Resultate von Vergleichsanalysen von Chlorpropham in Kartoffeln aus verschiedenen Labors mit unterschiedlichen (Extraktions-) Methoden präsentiert und diskutiert. Die aus unterschiedlichen Proben resultierenden Chlorprophamgehalte der modifizierten SLMB-Methode wurden u.a. mit je einer Modifikation mittels Soxhlet und ASE, sowie mit den Multimethoden Quechers (6) und DFG S19 (7) verglichen.

Validierungsdaten der Methoden mit ASE-Extraktion (inklusive den Optimierungsschritten für die Chlorprophamextraktion) und Soxhlet-Extraktion werden präsentiert. Am Beispiel der Extraktionseffizienz von Chlorpropham aus Kartoffeln wird dargestellt, dass gewisse Rückstandsmethoden nur die halbe Wahrheit aufzeigen, da sie mit künstlich kontaminierten Proben – und nicht mit behandelten Proben vom Feld – validiert wurden.

## **Proben**

Bei den Kartoffeln handelte es sich um Schweizer Marktproben der Anbausaison 2005. Für eine Probe wurden mindestens 2 kg gewaschene Kartoffeln homogenisiert. Die Homogenate wurden entweder frisch verwendet oder für den späteren Gebrauch eingefroren. Es konnte kein zertifiziertes Referenzmaterial für Chlorpropham in Kartoffeln gefunden werden.

## **Methoden**

**Ursprüngliche SLMB-Methode:** Bei dieser Methode werden 50 g der zerkleinerten Kartoffeln nach Zusatz von 80 g Natriumsulfat mit 150 ml Hexan oder Dichlormethan durch Schütteln bzw. mit einem Stabmixer extrahiert. Ein aliquoter Teil des Rohextraktes wird säulenchromatographisch an Aluminiumoxid gereinigt und das Chlorpropham gaschromatographisch mit NPD oder ECD bestimmt (8, 9).

**Modifizierte SLMB-Methode:** Die ehemalige, vereinfachte Methode 4.5 «Keimhemmungsmittel» wurde folgendermassen modifiziert: Aus 10 g homogenisierter Probe wurde Chlorpropham mit 50 ml Ethylacetat und 16 g Natriumsulfat 4 min mit einem Stabmixer (z.B. Polytron) bzw. eine halbe Stunde auf einem Überkopfschüttler extrahiert. Ein 25 ml Aliquot des überstehenden Extrakts wurde auf 5 ml eingeeengt und ohne Reinigung gaschromatographisch mittels GC-MS (SIM-Massen für Chlorpropham: 213, 127, 171, z.B. mit einer DB5-MS-Säule (J&W, 15 m × 0,25 mm, 0,25 µm Filmdicke) oder BGB-Silaren (30 m × 0,32 mm, 0,12 µm Filmdicke) mit einem internen Standard (Pyren) untersucht.

**H<sub>2</sub>O-SLMB-Methode:** 10 g homogenisierte Probe und je 10 ml Wasser und Ethylacetat wurden mittels Vortex-Schüttelmischer auf maximaler Stufe 3 min geschüttelt. Nach der Zugabe von 15 g Natriumchlorid wurde kurz geschüttelt und

zentrifugiert. Die organische Phase wurde abpipettiert und über Natriumsulfat getrocknet. Der Extrakt wurde auf 5 ml eingeeengt und wie oben beschrieben gaschromatographisch bestimmt.

**Soxhlet-Methode:** 10 g homogenisierte Probe wurden mit 40 g Natriumsulfat zu einem feinen Pulver verrieben und 3 h am Soxhlet mit 250 ml Ethylacetat extrahiert. Der Extrakt wurde auf 5 ml eingeeengt und Chlorpropham wie oben beschrieben gaschromatographisch bestimmt.

**ASE-Methode:** 5 g homogenisierte Probe wurden mit 7 bis 8 g Natrium-Polyacrylat (Poly(acrylic acid), partial sodium salt-graft-poly(ethylene oxide), cross-linked, SigmaAldrich Nr. 432784) zu einem rieselfähigen Pulver verrieben, in eine 22 ml Extraktionszelle gefüllt und oben und unten mit Filtern abgedeckt (Dionex, P/N 049458). Ein ASE 200 (Dionex) wurde für die Extraktion folgendermassen programmiert: Extraktionsmittel Ethylacetat, 1500 psi, 75 °C, 5 min erhitzen, 5 min static, flush volume 80 %, purge time 60 s, 5 Zyklen). Der Extrakt (ca. 30 ml) wurde auf 5 ml eingeeengt und Chlorpropham wie oben beschrieben gaschromatographisch analysiert.

**ASE-Methode II:** 5 g homogenisierte Probe wurden mit 7 g Hydromatrix (Varian Part #198004) wie oben beschrieben in eine 33 ml Extraktionszelle gefüllt. Ein ASE 200 wurde folgendermassen programmiert: Extraktionsmittel Ethylacetat:Cyclohexan 1:1, 1500 psi, 60 °C, 5 min erhitzen, 10 min static, flush volume 100 %, purge time 180 s, 2 Zyklen. Der Extrakt (ca. 40 ml) wurde auf 10 ml eingeeengt, davon 5 ml mittels Gel-Permeationschromatographie (GPC) aufgereinigt und Chlorpropham wie oben beschrieben gaschromatographisch bestimmt.

**Quechers-Methode:** 10 g homogenisierte Probe wurden mit 10 ml saurem Acetonitril (1 % Essigsäure) in einem Zentrifugenglas durch einminütiges Schütteln per Hand extrahiert. Danach wurden 4 g Magnesiumsulfat, 1 g Natriumchlorid und 1 g Natriumacetat zugegeben, nochmals 1 min geschüttelt und zentrifugiert. Der überstehende Extrakt wurde mittels dispersiver Festphasenextraktion auf Bondesil-PSA (Varian, Art. Nr. 12213024) gereinigt. Nach erneutem Schütteln und Zentrifugation wurde die überstehende Lösung wie oben beschrieben gaschromatographisch untersucht.

**DFG S 19-Methode:** Nach einer Aceton/Wasser-Extraktion, einer Flüssig-Flüssig-Verteilung und einer GPC-Reinigung wurde der Chlorpropham-Gehalt des Extraktes mittels GC-MS analysiert.

**Amylase-Methode:** 10 g Homogenat, 40 ml Wasser und 100 µl Termamyl 120L (hitzestabile alpha-Amylase, Novozymes) wurden in einem 250-ml-Rundkolben mit Rückflusskühler bei 90 °C (Aktivitätsoptimum) 30 min gerührt. Die Temperatur wurde auf 70 °C erniedrigt und nach 20-minütigem Rühren erneut 100 µl Termamyl 120L zudosiert. Vor dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde bei 70 °C 30 min weitergerührt. Danach wurden 50 ml Ethylacetat zugegeben, 5 min gerührt, zentrifugiert, die organische Phase abpipettiert und über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Der Extrakt wurde auf 5 ml eingeeengt und Chlorpropham wie oben beschrieben gaschromatographisch bestimmt.

Diverse Methoden wurden modifiziert:

- Ansätze mit verschiedenen Lösungsmitteln wurden für die SLMB-, die Soxhlet- und die ASE-Methoden durchgeführt. Eingesetzt wurden neben Ethylacetat auch Hexan, Dichlormethan und Ethylacetat:Cyclohexan 1:1.
- Sowohl die SLMB- wie auch die ASE-Methoden wurden mit Natriumchlorid- oder Natriumsulfat-Zugaben während der Extraktion modifiziert.
- Zum Vergleich wurde bei der modifizierten SLMB-Methode, anstatt durch halbstündiges Schütteln auf einem Überkopfschüttler, mit dem Polytron extrahiert.

Mit einem tiefgefrorenen Kartoffelhomogenat wurden in sechs verschiedenen Labors Vergleichsanalysen durchgeführt. Jedes Labor verwendete die gleiche Stammlösung eines 1 g/l Standards. Folgende Extraktionsmethoden wurden angewendet: Extraktion gemäss modifizierter SLMB-Methode mit Ethylacetat und Polytron oder Überkopfschüttler, H<sub>2</sub>O-SLMB mit Ethylacetat/Wasser, Quechers (mit Acetonitril), DFG S19 (mit Aceton/Wasser), Soxhlet mit Ethylacetat, ASE mit Ethylacetat und die abgeänderte ASE-Methode II mit GPC-Reinigung.

## Resultate

### *Effekt des Einfrierens*

Manche mit der modifizierten SLMB-Methode extrahierte Kartoffelhomogenate wiesen nach dem Einfrieren und Auftauen erhöhte Chlorprophamrückstände auf (Abb. 1). Aus diesen zwei Homogenaten liessen sich nach dem Auftauen ungefähr doppelt so viel Chlorpropham extrahieren.

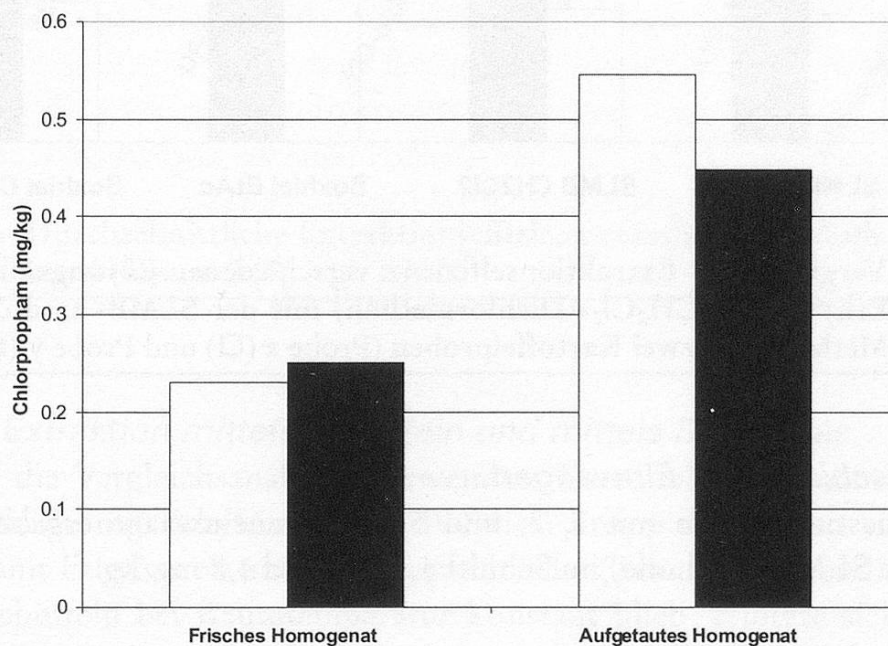


Abbildung 1 Der Tiefkühleffekt dargestellt am Chlorprophamgehalt zweier Kartoffelproben (gemessen mit der modifizierten SLMB-Methode; n=6)

### Effekt unterschiedlicher Lösungsmittel

Zwei Kartoffelproben wurden mittels der H<sub>2</sub>O-SLMB- und der Soxhlet-Methode mit Ethylacetat oder Dichlormethan extrahiert. Bei der Soxhlet-Methode waren wesentlich tiefere Ausbeuten mit Dichlormethan als mit Ethylacetat zu beobachten (Abb. 2). Eine weitere mit Ethylacetat bzw. Dichlormethan extrahierte Probe ergab mit der modifizierten SLMB-Methode 4,7 bzw. 4,2 mg/kg Chlorpropham (Doppelbestimmung). Dieselbe Probe ergab mit Soxhlet-Extraktion mit Ethylacetat bzw. Dichlormethan 6,8 bzw. 6,6 mg/kg. Die Verwendung von Hexan oder der Einsatz von Ultraschall ergab keine Steigerung der Extraktionseffizienz (Daten nicht präsentiert).

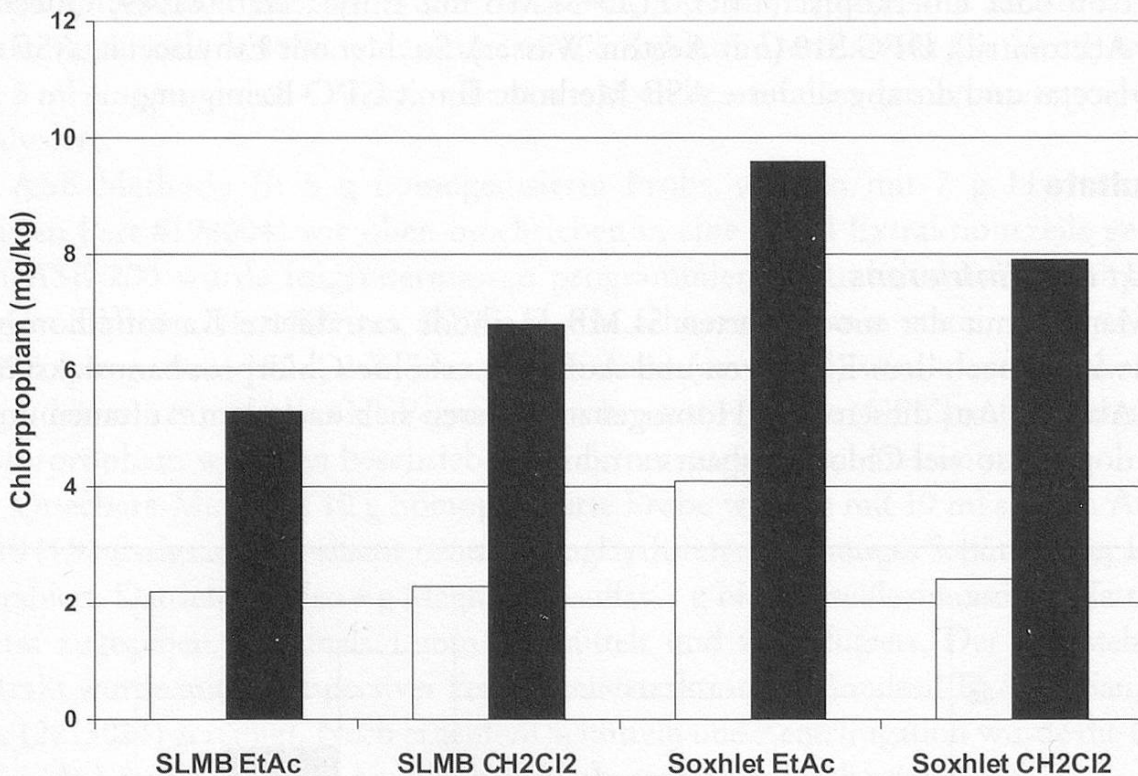


Abbildung 2 Vergleich der Extraktionseffizienz verschiedener Lösungsmittel (EtAc= Ethylacetat, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>=Dichlormethan) mit der SLMB- und der Soxhlet-Methode aus zwei Kartoffelproben (Probe x (□) und Probe y (■))

### Effekt unterschiedlicher Einwaagen

Dreifachbestimmungen mit 1, 2, und 5 g Probeneinwaage ergaben (mit der modifizierten SLMB-Methode) im Schnitt 4,4, 4,7 und 4,8 mg/kg.

### Effekt der Amylase-Behandlung

Homogenate, die mit  $\alpha$ -Amylase (Termamyl 120L) versetzt wurden, wiesen nach kurzer Einwirkung eine deutliche Verflüssigung auf. Im Doppel ausgeführte

Analysen einer Kartoffelprobe mit und ohne Termamyl wiesen im Schnitt 0,42 bzw. 0,34 mg/kg Chlorpropham auf. Die Extraktion mit Amylase zeigte eine 20% bessere Ausbeute.

### Effekt der Natriumchloridzugabe

Durch die Zugabe von Salz wurde die Extraktion entweder verschlechtert oder sie blieb unverändert. Bei der ASE- und insbesondere der wässrigen SLMB-Methode wurde die Verfügbarkeit des zu extrahierenden Chlorprophams durch eine Salzzugabe verschlechtert (Abb. 3).

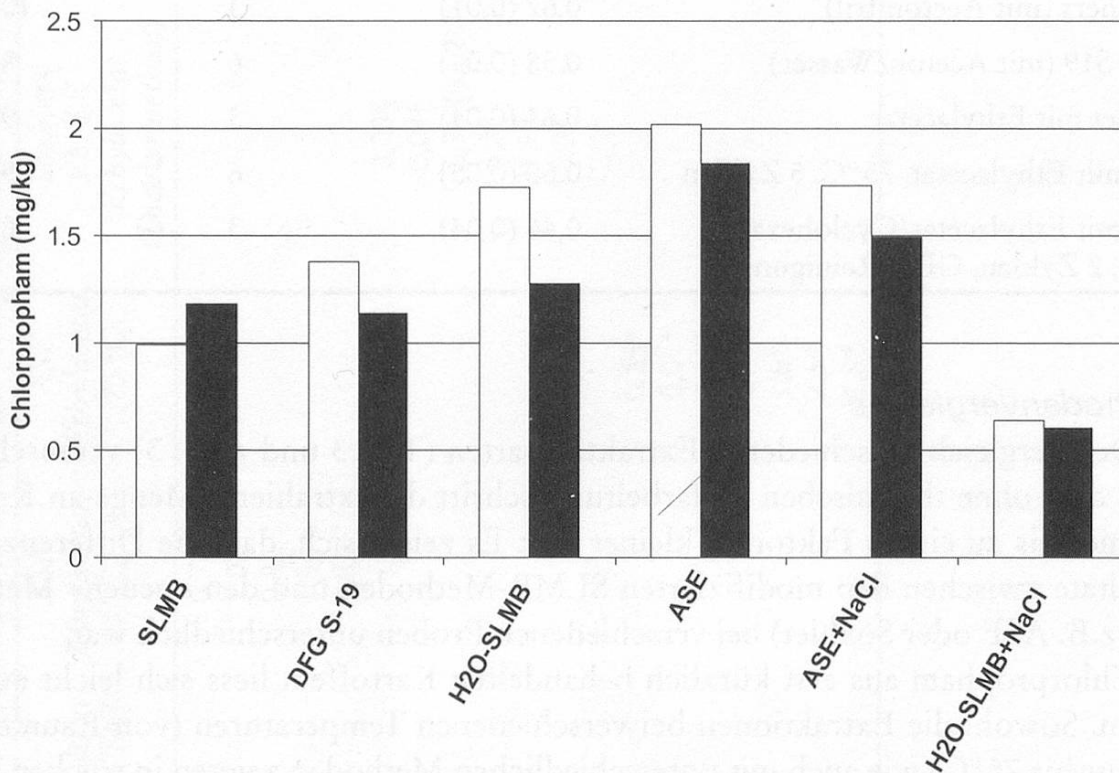


Abbildung 3 Durchschnittliche Extraktionseffizienz verschiedener Methoden mit Proben 4 (□) und 5 (■) (vgl. Tab. 3)

### Effekt der Extraktion mittels Schütteln und mittels Stabmixer

Das für die Vergleichsanalysen verwendete Kartoffelhomogenat ergab mit der SLMB-Methode mit Ethylacetat und Polytron knapp doppelt so viel Chlorpropham, wie mit Ethylacetat und Überkopfschüttler (Tab. 2). Während die Temperatur beim Schütteln bei Raumtemperatur konstant blieb, erhitze sich der Ansatz beim Stabmixer (Polytron) nach 3 min auf 40–42 °C, nach 4 min auf 48–50 °C.



Tabelle 2

Resultate der Vergleichsanalysen aus sechs verschiedenen Labors. Die Ausbeute bezieht sich auf die höchste analysierte Extraktionsausbeute

<i>Methode</i>	<i>Chlorpropham Mittelwert (SD) (mg/kg)</i>	<i>Anzahl Wiederholungen n</i>	<i>Ausbeute (%)</i>
SLMB-Methode mit Ethylacetat (Polytron)	0,47 (0,05) 0,48 (0,02)	3 6	71
SLMB-Methode mit Ethylacetat (Überkopfschüttler)	0,27 (0,02)	6	40
H <sub>2</sub> O-SLMB mit Ethylacetat/Wasser	0,38 (0,04) 0,33 (0,01)	5 5	53
Quechers (mit Acetonitril)	0,67 (0,01)	3	100
DFG S19 (mit Aceton/Wasser)	0,58 (0,04)	6	87
Soxhlet mit Ethylacetat	0,64 (0,04)	3	96
ASE mit Ethylacetat, 75 °C, 5 Zyklen	0,60 (0,05)	6	90
ASE mit Ethylacetat/Cyclohexan 60 °C, 2 Zyklen, GPC-Reinigung	0,46 (0,04)	3	69

### Methodenvergleiche

Der Vergleich verschiedener Extraktionsarten (Tab. 3 und Abb. 3) veranschaulicht, dass ohne thermischen Aufarbeitungsschritt die extrahierte Menge an Keimhemmer bis zu einem Faktor 10 kleiner war. Es zeigte sich, dass die Differenz der Resultate zwischen den modifizierten SLMB-Methoden und den «neuen» Methoden (z.B. ASE oder Soxhlet) bei verschiedenen Proben unterschiedlich war.

Chlorpropham aus erst kürzlich behandelten Kartoffeln liess sich leicht extrahieren. Sowohl die Extraktionen bei verschiedenen Temperaturen (von Raumtemperatur bis 75 °C) wie auch mit unterschiedlichen Methoden zeigten in solchen Fällen ähnliche Extraktionsausbeuten (Tab. 3, Probe 14 und 19). Übereinstimmend waren Wiederfindungen von Aufstockungen unabhängig vom Extraktionsmittel immer in Ordnung, d.h. zwischen 80 und 100 %. Dagegen waren ältere Rückstände in Lagerkartoffeln bei der Auslagerung (d.h. mehrere Monate nach der Behandlung) nicht so leicht erfassbar und die entsprechenden Chlorprophamausbeuten variierten je nach Extraktionsmethode stark (vgl. Tab. 3, z.B. Proben 17 und 18).

Die Extraktionsausbeute der Probe 3 (vgl. Tab. 3) war am höchsten mit der DFG S19-Methode und zeigte doppelt so viel Chlorpropham wie mit der SLMB-Methode. Die Ausbeute der ASE-Extraktion lag knapp unter derjenigen der DFG S19-Methode. Mit der Quechers-Methode konnte mehr als mit der SLMB-Methode extrahiert werden, jedoch deutlich weniger als mit ASE. Nebenbei: Weder die Quechers- noch die S19-Methode waren ursprünglich für die Extraktion von Chlorpropham validiert worden.

Tabelle 3  
 Extrahierte Mengen an Chlorpropham mit verschiedenen Methoden (in mg/kg, Mittelwerte, n=6)

Methode	SLMB mit frischem Homogenat	SLMB mit tiefgekühltem Homogenat (TK)	ASE Ethylacetat, 75°C, TK	ASE Ethylacetat, 75°C	Soxhlet 3 h, TK Ethylacetat (Dichlormethan)	DFG S19 mit frischem Homogenat	DFG S19 TK	Quechers TK
Probe								
1	0,23	0,55	0,77					
2	0,25	0,45	1,02					
3		0,47	0,82				0,91§	0,63§
4	0,97		1,96			1,38§		
5	1,18		1,85			1,14§		
6		0,02§			0,03§			
7		0,03§			0,04§			
8		4,72*			6,76 (6,62)*			
9		4,4*			5,5*			
10		12,6*			21,1*			
11		0,2*			0,3*			
12		5,9*			12,1*			
13	0,17*			0,25*				
14	0,01*			0,01*				
15	0,02*			0,03*				
16	0,4*			1*				
17	0,18*			1,6*				
18	0,25*			2,5*				
19	1,69*			1,8*				

\*n=1, §n=2

Die Proben 4 und 5 der Tabelle 3 wurden weiteren Extraktionstests unterzogen (vgl. Abb. 3).

### ASE-Methodenvalidierung

Abb. 4 und 5 zeigen die Optimierungsschritte in Bezug auf Extraktionstemperatur und Anzahl Extraktionszyklen mit ASE. Wurde eine ASE-Zelle, die bereits vier bzw. fünf Extraktionszyklen durchlaufen hatte, nochmals extrahiert, so wurden im Schnitt 9 bzw. 4% Chlorpropham zusätzlich extrahiert. Die endgültige ASE-Methode verwendet jedoch nur fünf Zyklen, da die Programmierung des ASE 200 maximal fünf Extraktionszyklen erlaubt und mit einem sechsten Zyklus nur geringfügig mehr (4%) extrahiert wurde. Bei 75°C wurde die optimale Extraktionstemperatur erreicht.

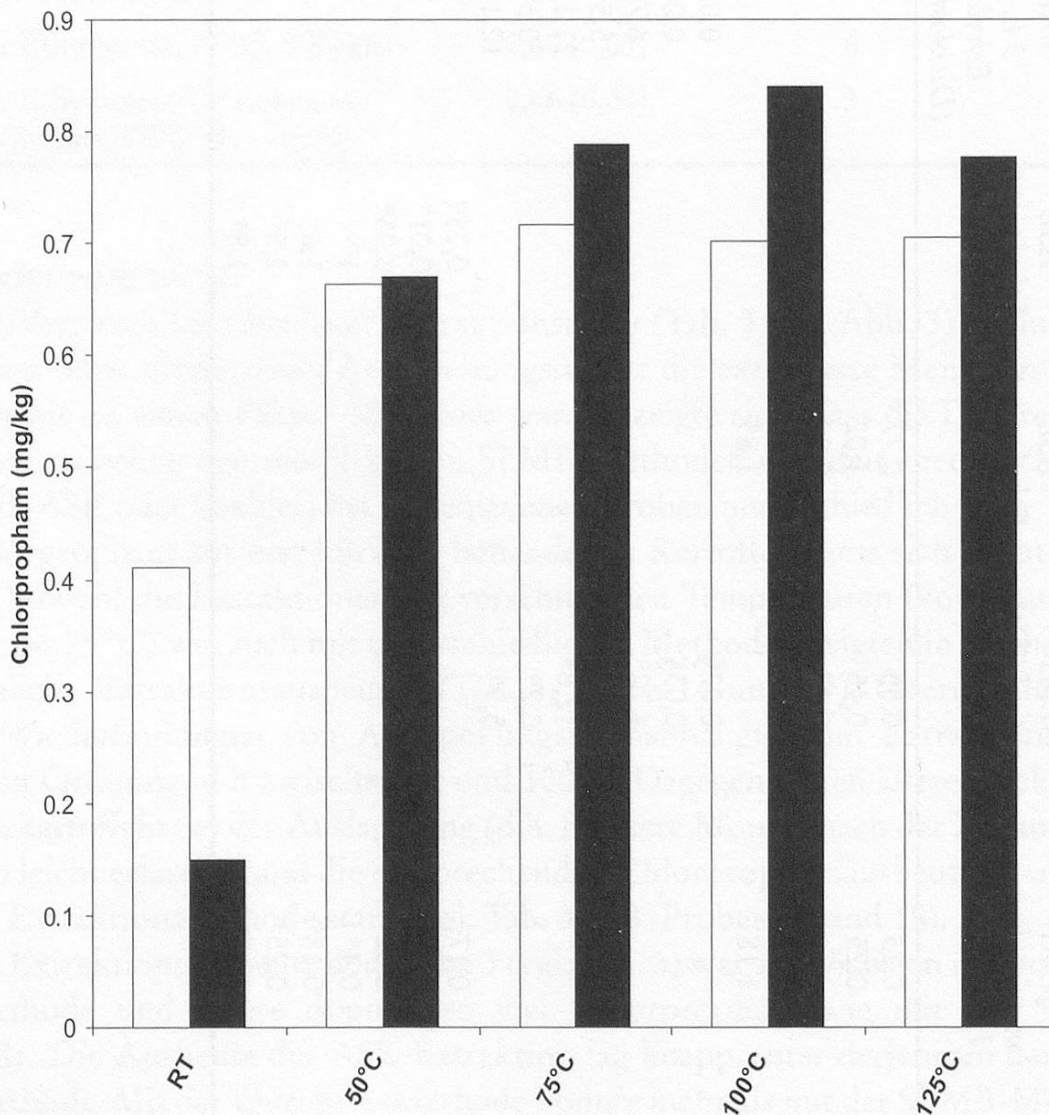


Abbildung 4 Optimierung der Extraktionstemperatur von Raumtemperatur (RT) bis 125°C mit je 5 ASE-Extraktionszyklen (Proben 1 (□) und 2 (■), vgl. Tab. 3)

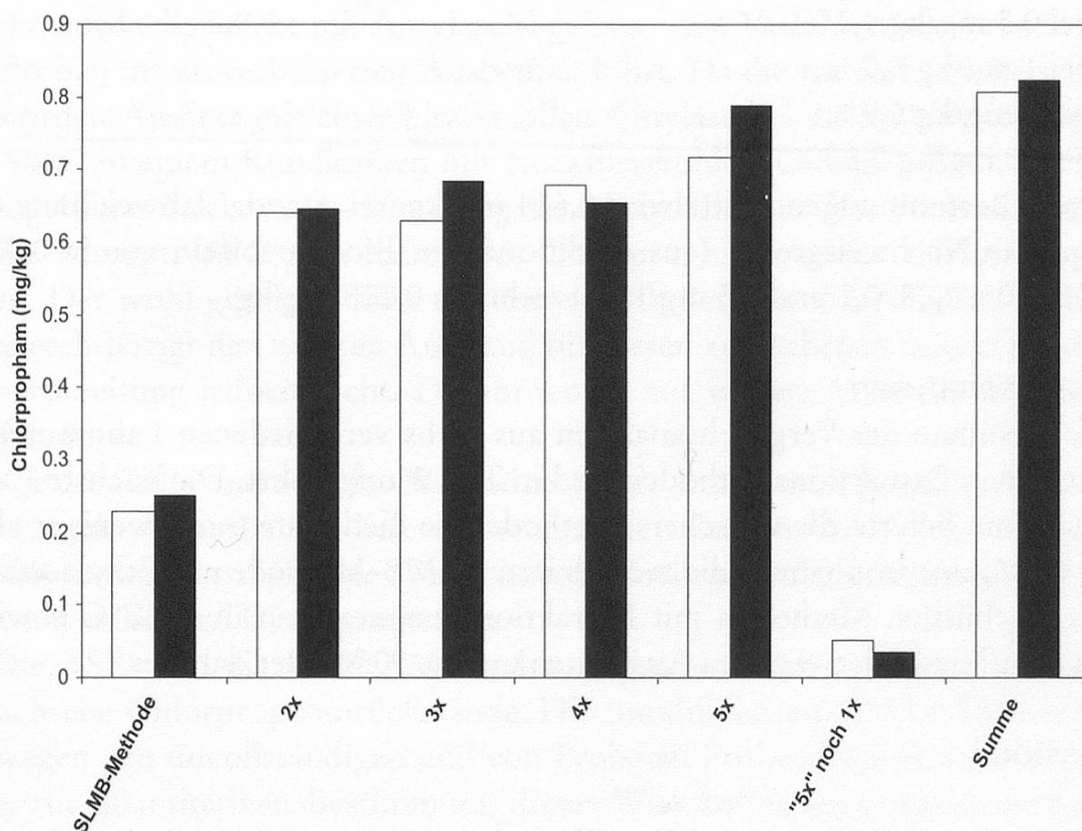


Abbildung 5 Optimierung der Anzahl Extraktionszyklen mit ASE (Proben 1 (□) und 2 (■), Tab. 3) und der Vergleich mit der SLMB-Methode

#### Kenndaten der Validierung:

- Linearität: Kalibration (0, 0,01, 0,05, 0,1 und 1 mg/kg, in Hexan und Additionen zu Bio-Kartoffeln, n=1), Korrelationskoeffizient  $R^2 > 0,99$
- Mehrfachbestimmungen: relative Standardabweichung für 6-fach-Bestimmungen mit Probenäquivalent 5 g:
  - bei 0,7 mg/kg: 3,7 %,
  - bei 0,9 mg/kg: 6,5 %,
  - bei 1,9 mg/kg: 4,9 %.
- Typische Nachweisgrenze (S/N > 3): 0,007 mg/kg

#### Soxhlet-Methodenvalidierung

- Linearität: Kalibration (7 Konzentrationen, n=1, bis 3 mg/kg), Korrelationskoeffizient  $R^2 > 0,999$
- Mehrfachbestimmungen: relative Standardabweichung für 6-fach-Bestimmungen mit Probenäquivalent 25 g:
  - bei 0,01 mg/kg 5,0 %,
  - bei 0,05 mg/kg 2,4 %,
  - bei 0,1 mg/kg 8,2 %.

6-fach Bestimmungen mit Probenäquivalent 5 g:

- bei 0,5 mg/kg 4,2 %,
- bei 1 mg/kg 6,0 %,
- bei 5 mg/kg 6,9 %,
- bei 10 mg/kg 9,5 %.

3-fach-Bestimmungen, Mittelwert 0,614 mg/kg, rel. Standardabweichung 6,8 %

- Typische Nachweisgrenze (aus Additionen zu Bio-Kartoffeln von je 0, 0,005, 0,01, 0,05, 0,08, 0,1 und 0,5 mg/kg berechnet): 0,008 mg/kg

### *Vergleichsanalysen*

Die Resultate der Vergleichsanalysen aus sechs verschiedenen Labors mit acht verschiedenen Extraktionsmethoden sind in Tab. 2 aufgeführt. Die höchste Extraktionsausbeute lieferte die Quechers-Methode, die niedrigste – mit weniger als der Hälfte des Chlorprophams – die modifizierte SLMB-Methode mit Ethylacetat und Überkopfschüttler. Methoden mit Extraktionstemperaturen über 60°C sowie die beiden Multimethoden ergaben Ausbeuten um die 90 % oder darüber.

### **Diskussion**

#### *Chlorprophamextraktion aus Kartoffeln*

Wesentlich für die vollständige Extraktion von Chlorpropham aus Kartoffeln ist ein intensives Extraktionsverfahren (Mehrfachextraktion z.B. mehrere Zyklen, lange (pseudo)kontinuierliche Extraktion wie bei Soxhlet), allenfalls gekoppelt mit einem thermischen Aufarbeitungsschritt mit Temperaturen knapp über 60°C. Ab dieser Temperatur beginnt die Kartoffelstärke zu verkleistern und gealterte Rückstände behandelter Kartoffelproben können wesentlich besser extrahiert werden. Unter Hitzeeinwirkung bindet die Stärke ein Vielfaches ihres Eigengewichtes an Wasser, sie quillt und die Stärkeschichten platzen auf. Dementsprechend war die Ausbeute bei der ASE-Methode mit 75°C grösser als mit 60°C.

Dieser Temperatureffekt ist höchstwahrscheinlich auch für die höhere Ausbeute der SLMB-Methode mit Ethylacetat mit Stabmixer als mit Schütteln mitverantwortlich (da die Kartoffelstärke ab 47°C mit Wasser zu quellen beginnt und sich der Ansatz durch das Polytronisieren auf ca. 50°C erwärmt). Auch die bei Soxhlet-Extraktionen festgestellten niedrigeren Ausbeuten mit Dichlormethan im Vergleich zu Ethylacetat (Abb. 2) sind vermutlich auf oben erwähnten Temperatureffekt zurückzuführen. Der Siedepunkt von Dichlormethan liegt bei 40°C – also unter dem Schwellenwert der Verkleisterung (62°C) – während der Siedepunkt für Ethylacetat mit 77°C darüber liegt.

Eine weitere Beobachtung war, dass mindestens einmal tiefgefrorene Probenhomogenate höhere Chlorprophamausbeuten ergaben als frische Homogenate (Abb. 1). Das Einfrieren der wasserhaltigen Kartoffelhomogenate bewirkt anscheinend eine Aufbrechung nativer/tertiärer Strukturen.

Aufgrund der beobachteten Extraktionsprobleme von Chlorpropham aus Kartoffeln wurde die Stärke mit Amylase abgebaut – ein Verfahren, das bei stärkehaltigen Proben oft zu verbesserten Ausbeuten führt. Da die Kartoffelstärke sehr stabil ist, wurden Ansätze mit einer hitzestabilen Amylase bei deren Aktivitätsoptimum von 90 °C in einem Rundkolben mit Rückflusskühler (Chlorpropham ist flüchtig) durchgeführt. Auch wenn nicht riesig, so scheint die Amylase doch einen Einfluss auf die adsorptiven Eigenschaften des Chlorprophams an die Kartoffelmatrix zu haben. Der wohl geringe Effekt der Amylase in Bezug auf die Chlorprophamausbeute rechtfertigt den grossen Aufwand für diesen zusätzlichen Schritt bei der Probenvorbereitung jedoch nicht. Darum wurde auf weitere Versuche mit Enzymen verzichtet.

Für die ASE- und Soxhlet-Methoden wurde Ethylacetat gewählt, da es sowohl gute Extraktionsausbeuten lieferte wie auch den tiefsten MAK-Wert aufweist (10) und das umweltverträglichste (Verzicht auf chlororganische Lösungsmittel) der zur Auswahl stehenden Lösungsmittel ist.

Die ASE- und die Soxhlet-Methoden zeigen eine erschöpfende Extraktion für gewachsene Chlorprophamrückstände. Die (modifizierten) SLMB-Methoden sollten wegen den unvollständigen und von Probe zu Probe abweichenden Ausbeuten nicht zur quantitativen Bestimmung dieses Wirkstoffes angewendet werden. Wie bereits erwähnt, widerspiegeln Wiederfindungen von zugesetztem Chlorpropham keineswegs die Extraktionsausbeuten.

### **Methodenvalidierungen**

Oft wesentlicher als Messunsicherheiten sind allenfalls Inhomogenitäten der Kartoffelprobe. Um eine repräsentative Probe zu erhalten, sollten mindestens 2 kg Kartoffeln (bzw. möglichst viele Einzelknollen aus unterschiedlichen Bereichen einer Charge Lagerware) homogenisiert werden. Versuche haben gezeigt, dass bei zu kleinen Einwaagen erhebliche Streuungen auftreten, die ohne weiteres eine Grössenordnung ausmachen. Insbesondere wenn Lagerkartoffeln durch den Landwirt selbst mit Keimhemmern behandelt wurden (das Pulver wird von Hand über die lose angehäuften oder in Paloxen gefüllten Kartoffeln gestreut), lässt sich eine oft extrem inhomogene Verteilung dieser Pflanzenregulatoren beobachten.

### **Schlussfolgerung**

Kartoffeln stellen wegen der enthaltenen Stärke eine schwierige Matrix für die Pestizidanalytik dar. Für die Extraktion des Keimhemmers Chlorpropham aus Kartoffeln sind generische Extraktionstechniken von Multirückstandsmethoden besonders sorgfältig zu prüfen und zu validieren. Akzeptable Wiederfindungen von zugesetztem Chlorpropham sagen noch nichts über die tatsächliche Extraktionsausbeute gewachsener Rückstände aus. Eine Methode mit unvollständiger Extraktion kann unter Umständen als «Screeningmethode» verwendet werden. Da die Ausbeuten aber nicht reproduzierbar sind und von Probe zu Probe stark variieren

können, kann über die tatsächliche Rückstandsmenge nur spekuliert werden. Wichtig für konsistent akzeptable Ausbeuten scheint eine Extraktionstemperatur über 60°C zu sein.

Die hier beschriebenen Extraktionsmethoden mit ASE und Soxhlet für Chlorpropham aus Kartoffeln besitzen eine erschöpfende Extraktion und liefern die konsistentesten Ausbeuten der untersuchten Methoden. Sie können für eine exakt quantitative Bestimmung verwendet werden. Beide Methoden sind jedoch aufwendig und nicht jedes Pestizidlabor besitzt einen ASE200.

### **Zusammenfassung**

Die Extraktion von Chlorpropham aus Kartoffeln wurde anhand verschiedener Methoden verglichen und auch den generischen Extraktionsmethoden der verbreiteten Multirückstandsmethoden Quechers und DFG S-19 gegenübergestellt. Zwei optimierte Methoden mit ASE (Accelerated Solvent Extraction) und Soxhlet werden präsentiert. Es wird veranschaulicht, wie einzelne Methodvalidierungen mit Wiederfindungen aufgestockter Proben zu trügerischen Rückschlüssen betreffend Extraktionsausbeute führen können. Wenn kein zertifiziertes Referenzmaterial zur Verfügung steht, können erst Methodenvergleiche die Extraktionseffizienz aufzeigen.

### **Résumé**

L'extraction du chlorpropham dans les pommes de terre est comparée au moyen de différentes méthodes. Les méthodes d'extraction génériques, les méthodes répandues tel que Quechers et DFG S-19 ainsi que deux méthodes optimisées avec l'ASE (Accelerated Solvent Extraction) et le Soxhlet sont présentées. On illustre comment une validation de méthode sur des échantillons dopés peut conduire à des conclusions trompeuses concernant le rendement d'extraction. Si aucun matériel de référence certifié n'est disponible, seul la comparaison de méthodes peut démontrer l'efficacité de l'extraction.

### **Summary "Extraction Efficiency of Various Methods for Chlorpropham in Potatoes"**

The extraction of chlorpropham from potatoes was compared using different methods, including the generic extraction methods of the common multiresidue methods Quechers and DFG S-19. Two optimized methods with ASE (Accelerated Solvent Extraction) and Soxhlet are presented. It is illustrated, how specific method validations with recoveries from spiked samples can lead to incorrect conclusions concerning the extraction yield. Only method comparisons can demonstrate the extraction efficiency when no certified reference material is available.

### **Key words**

chlorpropham, ASE, extraction, potato, recovery, method validation

## Literaturverzeichnis

- 1 Grenzwerte für die gesundheitliche Bewertung von Pflanzenschutzmittelrückständen (Aktualisierte Information Nr. 002/2006 vom 4.12.2006) Bundesinstitut für Risikobewertung [http://www.bfr.bund.de/cm/218/grenzwerte\\_fuer\\_die\\_gesundheitliche\\_bewertung\\_von\\_pflanzenschutzmittelrueckstaenden.pdf](http://www.bfr.bund.de/cm/218/grenzwerte_fuer_die_gesundheitliche_bewertung_von_pflanzenschutzmittelrueckstaenden.pdf)
- 2 The e-Pesticide Manual, The British Crop Protection Council, 12<sup>th</sup> Edition, Version 2.2, 2002
- 3 <http://www.pesticides-online.de> (CVUA Stuttgart, 2002)
- 4 Verordnung des EDI über Fremd- und Inhaltsstoffe in Lebensmitteln (Fremd- und Inhaltsstoffverordnung, FIV) vom 26. Juni 1995 (Stand am 27. Dezember 2005), SR 817.021.23. <http://www.admin.ch/ch/d/sr/8/817.021.23.de.pdf>
- 5 Schweizerisches Lebensmittelbuch (SLMB): Kapitel 46 «Pestizidrückstände», Teil 4.5 Keimhemmungsmittel, Bundesamt für Gesundheit, Bern (2000)
- 6 *Anastassiades M., Lehotay S.J., Stajnbaber D. and Schenck F.J.*: Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide residues in produce. *J. AOAC Int.* **86**(2): 412–431 (2003)
- 7 Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG: Untersuchung von Lebensmitteln; Modulare Multimethode zur Bestimmung von Pflanzenschutzmittelrückständen in Lebensmitteln (Erweiterte Neufassung der DFG-Methode S19), (1999)
- 8 *Cerny M. und Blumenthal A.*: Zur Analytik von Keimhemmungsmitteln in Kartoffeln. II. Bestimmung von Dichlobenil-Rückständen. *Mitt. Geb. Lebensmittelunters. Hyg.* **68**, 546–549 (1977)
- 9 *Cerny M. und Blumenthal A.*: Zur Analytik von Keimhemmungsmitteln in Kartoffeln. *Mitt. Geb. Lebensmittelunters. Hyg.* **63**, 289–296 (1972)
- 10 <http://www.roempp.com>

Korrespondenzadresse: Dr. Andreas Schürmann, Abteilungsleiter Pestizidanalytik, Kantonales Labor Zürich, Fehrenstrasse 15, Postfach, 8032 Zürich, Tel. +41 43 244 71 74, Fax +41 43 244 71 01, E-Mail: [andreas.schuermann@klzh.ch](mailto:andreas.schuermann@klzh.ch)