

9. Kaiser, H.: Zur Definition der Nachweisgrenze, der Garantiegrenze und der dabei benutzten Begriffe. *Z. Anal. Chem.* **216** (1), 80 (1966).
10. Deutsche Forschungsgemeinschaft: Rückstandsanalytik von Pflanzenschutzmitteln. Weinheim: Verlag Chemie 1969.
11. Feuersenger, M., Müller, G.: Methylbromid als Schädlingsbekämpfungsmittel bei Lebensmitteln und Futtermitteln. *Deut. Lebensm.-Rundschau* **59** (3), 69 (1963).
12. Klimmer, O. R.: Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmittel. Hattingen: Hundt-Verlag 1963.
13. Merck: The Merck-Index of Chemicals and Drugs. Merck & Co. Inc. Rahway, N.J. USA, 7th Ed. 1960.

Professor Dr. R. Herrmann  
 Univ.-Hautklinik  
 D-6300 Gießen, Gaffkstr. 14

## Untersuchungen mit $^{14}\text{C}$ -markiertem Pyrokohlensäurediäthylester

### II. Mitteilung

#### Reaktionen mit Vitaminen und anderen Lebensmittelbestandteilen

E. FISCHER

Mitteilung aus dem Institut für Strahlentechnologie der Bundesforschungsanstalt für  
 Lebensmittelrisikohaltung, Karlsruhe\*

Eingegangen am 6. April 1970

#### Investigations with $^{14}\text{C}$ -labelled Pyrocarbonicacid Diethylester. II. Reactions with Vitamins and other Components of Foods

*Summary.* Water-soluble vitamins and other components of foods have been treated with pyrocarbonicacid diethylester-(carbonyl- $^{14}\text{C}$ ) at several concentrations, temperatures, and pH-values. The reactivity of vitamin  $\text{B}_6$  was greatest, followed by vitamin C and methionine. The hydrolytic stability of the formed  $^{14}\text{C}$ -labelled carbethoxy derivatives, which was followed up to a time of more than 20 days, was especially great at lower temperatures and pH-values. As demonstrated with vitamins  $\text{B}_6$  and C, the quantity of the reaction products is not always linearly dependent on the pH-value and the concentration of the vitamins. The number of  $^{14}\text{C}$ -labelled carbethoxy derivatives resulting from food components, and the relative amounts of these derivatives were determined by radiopaperchromatography. When wine and champagne for diabetics were treated with pyrocarbonicacid diethylester- $^{14}\text{C}$ , the amounts of residues found were comparable with those found in regular wines.

*Zusammenfassung.* Wasserlösliche Vitamine und andere Lebensmittelbestandteile wurden bei verschiedenen Konzentrationen, Temperaturen und pH-Werten mit Pyrokohlensäurediäthylester-(Carbonyl- $^{14}\text{C}$ ) umgesetzt. Die Reaktionsfähigkeit des Vitamins  $\text{B}_6$  war am größten, gefolgt von Vitamin C und Methionin. Die über eine Zeit von mehr als 20 Tagen verfolgte Hydrolysestabilität der gebildeten  $^{14}\text{C}$ -markierten Carbäthoxyderivate war bei niedrigeren Temperaturen und pH-Werten besonders groß. Am Beispiel der Vitamine  $\text{B}_6$  und C wurde gezeigt, daß die Menge der Umsetzungsprodukte nicht immer linear vom pH-Wert und von der Konzentration der Vitamine abhängt. Auf radiopapierchromatographischem Wege wurde die Anzahl der mit Lebensmittelbestandteilen gebildeten  $^{14}\text{C}$ -markierten Carbäthoxyderivate und deren relatives Mengenverhältnis ermittelt. In Wein und Sekt für Diabetiker wurden bei der Behandlung mit  $^{14}\text{C}$ -Pyrokohlensäurediäthylester ähnliche Rückstandsmengen wie bei normalem Wein gefunden.

### Einleitung

In der I. Mitteilung [1] wurde versucht, die noch lückenhaften Kenntnisse über die Menge der bei Zusatz von Pyrokohlensäurediäthylester (PKE) zu wasser- und alkoholhaltigen Lebensmitteln gebildeten Nebenprodukte zu erweitern, indem die

\* Für die sorgfältige Durchführung der Versuche wird Frl. R. Eysler und Herrn R. Lemanczyk auch an dieser Stelle gedankt.

Ergebnisse entsprechender Untersuchungen mit 44 handelsüblichen Lebensmittelprodukten vorgelegt wurden. Von nicht geringerer Bedeutung für die Beurteilung der Anwendung des PKE zur Keimfreimachung von Getränken und anderen Lebensmitteln sind jedoch auch die Kenntnisse über die Reaktionsfähigkeit einzelner Inhaltsstoffe dieser Lebensmittel mit PKE. Es besteht heute kein Zweifel mehr, daß es sich bei diesen Reaktionen im allgemeinen um Carbäthoxylierungen und Veresterungen handelt. Viele N-Carbäthoxyverbindungen von Aminosäuren, Peptiden und Proteinen sowie O-Carbäthoxyderivate von Pflanzenphenolen und Hydroxysäuren sind synthetisiert und ihre Eigenschaften (Zersetzlichkeit, enzymatische Hydrolyse, Toxizität usw.) untersucht worden [2–9]. Aus den Ergebnissen solcher Untersuchungen ergaben sich Hinweise auf die pH-Wert-, Temperatur- und Konzentrationsabhängigkeit der Bildung und Hydrolyse von Carbäthoxyverbindungen [2]. Es erschien uns erforderlich, zur weiteren Klärung der bei der Zugabe von PKE zu wäßrigen Lösungen von Lebensmittelinhaltsstoffen ablaufenden Reaktionen insbesondere die Reaktionsfähigkeit von Vitaminen und die Beständigkeit von Carbäthoxylierungsprodukten bei verschiedenen pH-Werten und Temperaturen zu ermitteln. Von Vitaminen sind bisher lediglich die Eigenschaften der carbäthoxylierten Ascorbinsäure genauer untersucht worden [2–5].

Die Anwendung von PKE-(Carbonyl- $^{14}\text{C}$ ) sollte es bei unseren Untersuchungen ermöglichen, zum Teil sehr geringe Rückstände in einer größeren Zahl von Proben auf verhältnismäßig einfachem Wege quantitativ zu bestimmen und auch die Vorteile einer radiopapierchromatographischen Erfassung der gebildeten Reaktionsprodukte auszunützen.

#### Beschreibung der Versuche

Die spezifische Aktivität des für die Untersuchungen eingesetzten PKE-(Carbonyl- $^{14}\text{C}$ ) betrug  $45,7 \mu\text{Ci/g}$ , und die Verunreinigung durch Diäthylcarbonat  $0,074 \pm 0,016\%$  [1, 10]. Folgende Substanzen wurden verwendet: L(+)-Ascorbinsäure (Merck 127), DL-Methionin-methylsulfoniumbromid (Fluka 64380), Cholinchlorid (Merck 500117), Thiaminiumdichlorid (Merck 8181), Pyridoxol (Merck 501260), Pyridoxolhydrochlorid (Merck 7527), Cyanocobalamin (Merck 500612), Natrium-D(+)-pantothenat (Merck 6816), Menadion-Natriumbisulfit (Merck 5794), Nicotinsäureamid (Merck 6818), Dehydroascorbinsäure (Fluka 30790), Chlorogensäure (Roth 2-6385), D(-)-Chinasäure (Fluka 22580), D(-)-Fructose (Merck 5321), D(+)-Glucose (Merck 8342).

Jeweils 20 ml der wäßrigen Lösungen dieser Substanzen mit der angegebenen Konzentration wurden — soweit erforderlich — mit NaOH oder HCl auf den gewünschten pH-Wert eingestellt und dann 20 mg (0,1%) oder 200 mg (1%)  $^{14}\text{C}$ -PKE unter heftigem Rühren zugegeben. Alle Hydrolysen erfolgten bei Raumtemperatur. Während der Hydrolyse wurde Stickstoff über die Lösungsoberfläche geleitet, um gebildetes  $^{14}\text{CO}_2$  zu entfernen. Nach beendeter Hydrolyse (9 Std) wurden die Lösungen entweder bei Raumtemperatur (22° C) oder im Kühlschränk (0° C) aufbewahrt. Vor den Doppelprobenahmen von je 1 g wurde jeweils noch einmal 1 Std lang Stickstoff über die Oberfläche geleitet. Jeder Versuch wurde mindestens einmal, in einigen Fällen bis zu fünfmal wiederholt.

Die Restaktivitäten wurden mit einem Flüssigkeitsscintillationspektrometer gemessen und daraus die Rückstandsmengen nach der in der I. Mitteilung bereits beschriebenen Methode errechnet [1].

Die papierchromatographische Untersuchung der Rückstände in den Lösungen erfolgte mit dem Lösungsmittelsystem Iso-Amylalkohol/Eisessig/Wasser (4 : 1 : 1, v/v) auf dem S&S-Papier 2043 b Mgl (absteigend). Säuren wurden mit Bromkresolgrün-Lösung und Zucker mit p-Anisidin-Lösung sichtbar gemacht. Die Aktivitätsverteilung auf den Chromatogrammen wurde mit einem Radiochromatograph (Tracerlab-4 $\pi$ -Scanner) automatisch registriert. Die prozentuale Verteilung der Radioaktivität auf die einzelnen Flecken ergab sich, wenn der vom Startfleck bis zur Lösungsmittelfront erhaltene Gesamtaktivitätswert gleich 100% gesetzt und mit dem auf einer Peakfläche ermittelten Aktivitätswert verglichen wurde. Die zweite, zur Auswertung der Radio-papierchromatogramme angewandte Methode ergab zwar die gleichen Werte, sie war jedoch erheblich empfindlicher: Das Chromatogramm wurde vom Startfleck bis zur Lösungsmittelfront (ca. 40 cm) in gleiche Stücke von 0,5 oder 1 cm Breite zerschnitten und die Aktivität auf diesen Stücken mit dem Flüssigkeitsscintillationszähler gemessen. Hierzu war es erforderlich, die Papierstreifen in den Probefläschchen mit 20 ml Inhalt mit dem Dioxan-Scintillatormischung [1] mehrfach zu schütteln und alle Papierstreifen eines Chromatogramms in den Probefläschchen etwa in gleicher Geometrie anzuordnen. Die Papierstreifen durften nicht länger als 4–5 cm sein. Die Zähl-

ausbeute lag bei diesem Verfahren im Bereich von 90% (ungefärbte Flecken). Aus dem Verhältnis der Summe der Aktivitäten aller Papierstreifen und der Papierstreifen eines Peaks konnte die prozentuelle Verteilung der Aktivität auf die einzelnen Peaks bzw. radioaktiv markierten Reaktionsprodukte errechnet werden. Peaks oder Papierstreifen, die weniger als 1% der Gesamtaktivität enthielten, wurden vernachlässigt, so daß die Summe aller Peakaktivitäten nicht 100% erreichen kann.

### Ergebnisse

Tab. 1 zeigt, daß Vitamin B<sub>12</sub>, Vitamin K<sub>3</sub>, Nicotinsäure und Cholin beim pH-Wert 3,6 nicht mit PKE reagieren. Die Rückstandsmengen erreichen lediglich den für die Verunreinigung des <sup>14</sup>C-PKE durch Diäthylcarbonat ermittelten Betrag. Wir sind nicht sicher, ob die Reaktionsunfähigkeit von Menadion auf die Verwendung der Natriumbisulfidverbindung zurückgeführt werden kann. Vitamin B<sub>6</sub> setzt sich in erheblichem Umfang mit PKE um, was durch die Anwesenheit von einer phenolischen und zwei aliphatischen Hydroxylgruppen im Pyridoxol-Molekül verständlich wird. Dieser Umsatz ist – möglicherweise sogar linear – abhängig von der Pyridoxol-Konzentration. Die Verwendung des Hydrochlorids anstelle der freien Base verursacht nur einen kleinen Unterschied in der Reaktionsfähigkeit. Da die Restaktivitäten beim pH-Wert 3,6 über eine lange Zeit weitgehend konstant bleiben, muß die Zersetzlichkeit der gebildeten Substanzen bei der Temperatur 0° C gering sein. Auch eine Veränderung des pH-Wertes auf den Wert 2,0 durch Zugabe von Salzsäure hat auf diese

Tabelle 1. Restaktivitäten und Rückstandsmengen nach Zusatz von <sup>14</sup>C-PKE zu wäßrigen Lösungen von Vitaminen und anderen Substanzen (Temperatur der Lösungen 0° C)

Substanz	Konzentration Subst. PKE		Restaktivitäten (Mittelwerte) in % beim							Rückstand nach einem Tag %
	%	%	pH 3,6				pH 2,0			
			nach ... Tagen							
			1	6	10	15	20	22	33	
Menadion	5	0,1	0,021	0,025	0,021	0,019	0,022	—	—	0,04
Nicotinsäure	5	0,1	0,031	0,041	0,040	0,034	0,038	—	—	0,06
Cholin	5	0,1	0,041	0,038	0,038	0,037	0,035	—	—	0,08
Pantothensäure	5	0,1	0,49	0,49	0,48	0,50	0,48	0,51	0,52	0,98
Thiamin	5	0,1	9,69	9,67	9,67	9,12	9,14	9,14	8,94	19,4
Methionin	5	0,1	17,52	17,40	17,58	17,53	18,36	—	18,92	35,0
Pyridoxol (Base)	5	0,1	38,66	38,13	36,85	37,00	36,41	32,10	32,05	77,3
Pyridoxol (Base)	1	1	18,44	18,29	18,13	17,86	17,78	—	—	36,9
Cobalamin	1	1	0,036	0,021	0,017	0,020	0,022	0,029	0,024	0,07
Dehydroascorbinsäure	0,5	1	0,14	0,12	0,11	0,11	0,11	0,10	0,09	0,28

Tabelle 2. Zeitliche Abhängigkeit der Zersetzung der Rückstände von <sup>14</sup>C-PKE in 1%igen wäßrigen Pyridoxol-Lösungen vom pH-Wert und von der Temperatur (<sup>14</sup>C-PKE-Anfangskonzentration: 1%)

	Lösung		Zeitpunkt der Messung in ... Tagen				
	° C	pH	1	6	10	15	20
Restaktivität %	0	3,6	18,44	18,29	18,13	17,86	17,78
		6,2	18,77	17,92	16,65	15,36	14,34
	22	3,6	18,26	16,58	15,34	14,06	12,67
		6,2	18,08	10,75	8,56	6,69	5,91
Rückstand g/l	0	3,6	3,688	3,658	3,626	3,572	3,556
		6,2	3,754	3,584	3,330	3,072	2,868
	22	3,6	3,652	3,316	3,068	2,812	2,534
		6,2	3,616	2,150	1,712	1,338	1,182

Stabilität der Reaktionsprodukte keinen großen Einfluß. Die Frage der Stabilität der carbäthoxylierten Produkte wurde am Beispiel des Pyridoxol genauer untersucht (Tab. 2). Danach scheint die Temperatur die Zersetzung stärker zu beeinflussen als der pH-Wert. Der Eigen-pH-Wert einer 5%igen Pyridoxol(Base)-Lösung betrug 6,8. Es mußten also bei den Versuchen die in Tab. 2 angegebenen pH-Werte mit Salzsäure eingestellt werden.

Tab. 3 und 4 geben die Abhängigkeit der Rückstandsbildung bei der Reaktion von wäßrigen Vitamin C-Lösungen mit  $^{14}\text{C}$ -PKE von der Vitamin C-Konzentration und vom pH-Wert wieder. Die Rückstandsmenge erreicht bei einer 5%igen Vitamin C-Konzentration einen Grenzwert; die Erhöhung der Vitamin C-Konzentration verändert diesen Grenzwert praktisch nicht mehr. Eine lineare Abhängigkeit der Rückstandsmenge von der Vitamin C-Konzentration wurde also in diesem Konzentrationsbereich nicht festgestellt. Das Gleiche gilt für die Menge der Reaktionsprodukte, die bei verschiedenen pH-Werten gefunden wurde. Das Maximum der Rückstandsmenge liegt bei dem pH-Wert 3,6, bei höheren pH-Werten wird der Umsatz wieder geringer.

Tabelle 3. Abhängigkeit der Restaktivitäten und Rückstandsmengen des  $^{14}\text{C}$ -PKE von der Konzentration wäßriger Vitamin C-Lösungen beim pH-Wert 3,6 und der Temperatur  $0^\circ\text{C}$

Vitamin C Gew.-%	Restaktivität (Mittelwerte) in % nach Zugabe von 0,1% $^{14}\text{C}$ -PKE nach ... Tagen						Rückstand nach 1 Tag	
	1	5	10	15	20	36	mg/l	%
0,5	15,80	14,42	12,68	10,61	9,22	8,74	316,0	31,6
1	21,88	20,49	18,88	15,76	11,50	—	437,6	43,8
5	30,34	28,37	26,03	25,19	21,75	18,61	606,8	60,7
10	29,34	28,60	27,29	20,88	14,80	—	586,8	58,7
20	29,42	27,49	27,02	22,48	17,24	—	588,4	58,8

Tabelle 4. Abhängigkeit der Restaktivitäten und der Rückstandsmengen vom pH-Wert einer 5%igen wäßrigen Vitamin C-Lösung

pH	Restaktivität in % 24 Std nach Zugabe von 0,1% $^{14}\text{C}$ -PKE		Rückstand mg/l	
			%	
1	1,14		22,8	2,3
2	6,62		132,4	13,2
3	24,35		487,0	48,7
3,6	30,34		606,8	60,7
4	24,25		485,0	48,5
5	18,18		363,6	36,4
6	17,96		359,2	35,9

Die Reaktionsprodukte des Vitamin C mit PKE sind hydrolyseempfindlicher als die der anderen Vitamine. Beim pH-Wert 3,6 und der Temperatur  $0^\circ\text{C}$  ist die Halbwertszeit dieser Hydrolyse größer als 20 Tage. Die radiopapierchromatographische Untersuchung der Reaktionslösung mit  $^{14}\text{C}$ -PKE zeigt, daß mindestens 5 carbäthoxylierte Produkte des Vitamin C entstehen (Tab. 5). Bei einem Vergleich mit den Arbeiten von Paulus u. Lorke [3] sollte das Hauptprodukt mit dem  $R_f$ -Wert 0,44 und einem Anteil von 71,5% eine Monocarbäthoxyascorbinsäure sein. Eine Carbäthoxylierung der beiden Enol-Gruppen der Ascorbinsäure kann maximal zu drei Reaktionsprodukten führen. Demnach müssen auch die restlichen Hydroxylgruppen der Ascorbinsäure an den Umsetzungen beteiligt sein. Dies wird durch die wenn auch geringe Reaktionsfähigkeit der Dehydroascorbinsäure bestätigt (Tab. 1). Zucker, wie Glucose und Fruc-

tose, sind ebenso reaktionsträge (Tab. 6). Beide Substanzen bilden mit  $^{14}\text{C}$ -PKE nur 1 oder 2 Hauptprodukte (Tab. 5). Bei der Chlorogensäure und Chinasäure sind nur 2 bzw. 3 Hydroxylgruppen an der Umsetzung mit PKE beteiligt, es wurde jeweils ein Hauptprodukt ermittelt, das über 90% der Gesamtaktivität enthielt (Tab. 5).

Tabelle 5. Radiopapierchromatographische Werte der Reaktionsprodukte 5% iger wäßriger Lösungen von Lebensmittelbestandteilen mit  $^{14}\text{C}$ -PKE bei dem pH-Wert 3,6 (Laufmittel: Iso-Amylalkohol Eisessig/Wasser = 4:1:1)

Substanz und ihr $R_f$ -Wert	Anzahl der Radioaktivitäts-Peaks	$R_f$ -Werte der Peaks	Peakverteilung der Radioaktivität %
Ascorbinsäure 0,21	1	0,06	5,9
	2	0,11	4,7
	3	0,44	71,5
	4	0,63	14,4
	5	0,72	2,1
Fructose 0,10	1	0,27	43,9
	2	0,38	47,7
Glucose 0,06	1	0,29	94,6
Chinasäure 0,17	1	0,38	91,5
	2	0,50	6,8
	3	0,74	1,3
Chlorogensäure 0,46	1	0,59	90,2
	2	0,88	5,0

Tabelle 6. Rückstandsmengen nach Zusatz von  $^{14}\text{C}$ -PKE zu 5% igen wäßrigen Lösungen (Temperatur 22° C, pH-Wert 3,6)

Substanz	Rückstand nach 1 Tag %
Fructose	0,37
Glucose	0,55
Chinasäure	30,2

### Diskussion der Ergebnisse

Neben dem Vitamin C reagieren auch andere Vitamine in gleich nennenswertem Umfang mit PKE. Die Carbäthoxyverbindungen dieser Vitamine sind hydrolyseunempfindlicher und lassen sich nicht so leicht wie die Carbäthoxyascorbinsäure spalten, wie ein Vergleich der Tab. 1 und 2 mit 3 zeigt. Diese Tatsache muß berücksichtigt werden, wenn nach dem Verlust der Vitaminwirksamkeit durch diese Reaktionen gefragt wird. Versuche zur enzymatischen Spaltung und Stoffwechseluntersuchungen dieser Reaktionsprodukte standen bei unseren Arbeiten jedoch nicht zur Diskussion.

Die Möglichkeit, aus den Rückstandsmengen, deren Berechnung auf 100% eingesetzten PKE basiert, die tatsächliche Menge der gebildeten Reaktionsprodukte zu ermitteln, hat mehr oder weniger hypothetischen Charakter, weil sehr oft die Zusammensetzung der Reaktionsprodukte nicht bekannt ist. Nehmen wir an, daß als Beispiel lediglich Monocarbäthoxyascorbinsäure entsteht, dann besitzen wir zumindest ein Maß für die maximal entstehende Menge. Nach der Reaktionsgleichung entstehen aus 1 g Vitamin C durch Umsetzung mit 0,417 g PKE 1,37 g Monocarbäthoxyascorbinsäure. Setzen wir in diese Gleichung die in Tab. 3 aufgeführten Rückstands-

mengen ein, dann reagieren 0,757 g bzw. 1,05 g, 1,45 g, 1,4 g und 1,4 g Vitamin C entsprechend zu 1,04 g bzw. 1,44 g, 1,99 g, 1,93 g und 1,93 g Monocarbäthoxyascorbinsäure. Von den in dieser Tab. 3 angegebenen Vitamin C-Konzentrationen von 5 g/l werden also 15,1%, von 10 g/l 10,5%, von 50 g/l 2,9%, von 100 g/l 1,4% und von 200 g/l 0,7% Vitamin C mit PKE umgesetzt. Diese Zahlen deuten darauf hin, daß es nicht nur auf die Konzentration, sondern auch auf die Reaktionsgeschwindigkeit einer Substanz im Verhältnis zur Hydrolysegeschwindigkeit des PKE ankommt. Wenn auch eine Proportionalität der reagierten Menge zur Konzentration des Reaktionspartners des PKE zumindest beim Vitamin C in den hier untersuchten Konzentrationsbereichen nicht besteht, so kann dieser Befund nicht verallgemeinert werden, solange nicht weitere Untersuchungen mit ähnlichen Ergebnissen vorliegen. In Bereichen niedriger Substanzkonzentrationen haben Duhm u. Mitarb. [2] gefunden, daß PKE proportional der jeweiligen Konzentration der Reaktionspartner reagiert.

Die in verschiedenen Publikationen geäußerte Ansicht einer größeren Reaktionsbereitschaft von Lebensmittelbestandteilen mit steigendem pH-Wert konnte im Falle des Vitamin C nicht bestätigt werden (Tab. 4). Nebenreaktionen mit PKE finden bei dem pH-Wert 6 sogar in geringerem Umfang statt als beim pH-Wert 3. Es ist daher möglich, daß die unterschiedliche pH-Wert-Abhängigkeit der miteinander konkurrierenden Reaktionsgeschwindigkeiten von Lebensmittelinhaltsstoffen und der Hydrolysegeschwindigkeit des PKE auf die Menge des gebildeten Rückstandes doch einen größeren Einfluß ausübt, als bisher angenommen wurde.

### Untersuchungen mit Wein und Sekt für Diabetiker

Diskussionen über die Verleihung des Diabetiker-Weinsiegels an Weine, die mit PKE behandelt worden waren [11], veranlaßten uns, der Frage nach der Rückstandsbildung in solchen Weinen nachzugehen. Tab. 7 zeigt das Ergebnis dieser Untersuchungen, die ebenfalls mit PKE-(Carbonyl-<sup>14</sup>C) durchgeführt wurden. Die Werte liegen im Bereich der bisherigen Versuchsergebnisse, die mit gewöhnlichem Wein und Sekt erzielt wurden [1, 2]. Dies war auch erwartet worden, denn der wesentlichste Unterschied dieser Getränke liegt im Gehalt an Glucose und Fructose. Ein Ersatz von Glucose durch Fructose ändert aber nach Tab. 6 an den Mengenverhältnissen carbäthoxylierter Verbindungen kaum etwas.

Tabelle 7. Restaktivitäten und Rückstandsmengen nach Zusatz von 0,1 Gew.-% <sup>14</sup>C-PKE zu Wein und Sekt für Diabetiker. Sorte 1: max. 0,15% Glucose und 0,13 BE pro l; Sorte 2: max. 0,15% Glucose und 0,25 BE pro l; Sorte 3: max. 0,1% Glucose und 0,33 BE pro l, Fructosegehalt 2,3%

Sorte Nr.	Art des Getränkes	pH	Restaktivität in % nach				Mittelwert	Rückstand	
			9 Std	24 Std	72 Std			mg/l	%
1	Rotwein	3,7	5,11	4,60	4,63	4,78	95,6	9,6	
2	Weißwein	3,6	6,32	5,91	5,90	6,04	120,8	12,1	
3	Sekt	3,4	3,94	3,56	3,43	3,64	72,8	7,3	

### Literatur

1. Fischer, E.: Diese Z. **142**, 31 (1970).
2. Duhm, B., Maul, W., Medenwald, H., Patzschke, K., Wegner, L. A.: Diese Z. **132**, 200 (1966).
3. Paulus, W., Lorke, D.: Diese Z. **132**, 325 (1967).
4. Lang, K., Fingerhut, M., Krug, E., Reimold, W.: Diese Z. **132**, 333 (1967).
5. Lang, K., Fingerhut, M., Krug, E., Reimold, W., Pauli, O.: Z. Ernährungswiss. **6**, 219 (1966).
6. Rauenbusch, E.: Z. Ernährungswiss. **9**, 1 (1968).
7. Paulus, W.: Z. Ernährungswiss. **9**, 11 (1968).
8. Rosén, C.-G., Fedoresák, I.: Biochim. Biophys. Acta **130**, 401 (1966).

9. Muhlrad, A., Hegyi, G., Toth, G.: Acta Biochem. Biophys. **22**, 19 (1967).  
 10. Fischer, E., Schelenz, R.: J. Label. Compounds **5**, 333 (1969).  
 11. Ernähr.-Umschau **16**, 243 (1969).

Dr. E. Fischer, Institut für Strahlentechnologie  
 der Bundesforschungsanstalt für Lebensmittel-  
 frischhaltung,  
 D-7500 Karlsruhe, Engesserstr. 20

## Eine schnelle Methode zur Trennung und Identifizierung von chlororganischen, phosphororganischen und Carbamatpestiziden

Zw. M. ZWETKOWA

Mitteilung aus dem Veterinärinstitut infektiöser und parasitärer Krankheiten (Akademie der Landwirtschaftswissenschaft Bulgarien)

Eingegangen am 24. Februar 1970

### A Rapid Method for Separation and Identification of Chlororganic, Phosphororganic and Carbamate Pesticides

*Summary.* A modified thin layer chromatographic method is proposed for determination and identification of chlororganic, phosphororganic and carbamate pesticides by means of macro-plates with micro-front.

1. For determination of chlororganic pesticides, petrolether/tetrachlormethan (1/1) according to Stahl as solvent and o-toluidine in 5% acetone solution as spray reagent according to Cavaschiro are applied.

2. For determination of phosphororganic and carbamate pesticides, benzine/acetone (9/1) as solvent and as spray reagent a solution was applied proposed by the author: combination of two spray reagents 0.5% solution of iodine in ethyl-alcohol and diazo salt of sulfanilic acid (according to Golubeew and Wolkowa). By applying the proposed thin layer chromatographic method, time and chemicals can be spared.

*Zusammenfassung.* Es wird eine Modifikation der dünnschichtchromatographischen Methode vorgeschlagen, bei der Makroplatten mit Mikrofront zur Bestimmung und Identifizierung chlororganischer, phosphororganischer und Carbamatpesticide benutzt werden.

1. Zur Bestimmung chlororganischer Pesticide wird Petroläther/Tetrachlormethan (1+1) nach Stahl als Laufmittel und Sprühreagens o-Tolidin in 5% Acetonlösung nach Cavaschiro benutzt.

2. Zur Bestimmung der phosphororganischen und Carbamatpesticide wird als Laufmittel Benzol/Aceton (9+1) und als Sprühreagens die von uns vorgeschlagene Kombination aus 2 Sprühreagentien, nämlich: 0,5% Lösung aus Jod in Äthylalkohol und Diazosalz der Sulfanyl-säure (nach Golubeew und Wolkowa) verwendet.

Mit der von uns vorgeschlagenen dünnschichtchromatographischen Methode (Mikrofront auf Makroplatten und kombinierte Sprühreagens für phosphororganische und Carbamatpesticide) werden Zeit und Chemikalien gespart.

### Einleitung

Bei der dünnschichtchromatographischen Methode werden Makro- und Mikroplatten benutzt. Stahl [1] verwendete bei seinen Untersuchungen chlor- und phosphororganischer Pesticide Makroglasplatten 10 × 20 cm mit einer 0,20—0,30 mm dicken Schicht Kieselgel G und einer 14 cm langen Frontlinie, ebenso Abbot u. Mitarb. [2] sowie Ludwig u. Freimuth [3] zur Bestimmung einiger Pesticide. Auch Zwetkova u. Kantschew [4] sowie Zwetkova u. Kalinkowa [5] benutzten zur Bestimmung der chlororganischen Pesticide in Standardlösungen und biologischen Materialien (vergifteten Bienen, Blütenstaub, Milch und Milchprodukten) Makroplatten mit Makrofront. Golubeew u. Wolkowa [6] trennten Chlorvos und DDBP mit einer spezifischen enzymatisch chromatographischen Dünnschichtmikromethode mit 50 × 130 mm-Platten und einer Frontlinie von 10 cm.