



NACHRICHTENBLATT FÜR DEN DEUTSCHEN PFLANZENSCHUTZDIENST

Herausgegeben von der Deutschen Akademie der Landwirtschaftswissenschaften zu Berlin
durch die Institute der Biologischen Zentralanstalt Aschersleben und Berlin-Kleinmachnow

Chemische Methoden zum Nachweis oder zur Bestimmung von Pflanzenschutzmittelrückständen auf oder in pflanzlichem Erntegut

I. Extraktion und Reinigung der Extrakte

Von E. HEINISCH

Aus der Biologischen Zentralanstalt Berlin der Deutschen Akademie der Landwirtschaftswissenschaften zu Berlin

Die qualitative und quantitative Analyse von Pflanzenschutzmittelrückständen auf pflanzlichem Material ist die Voraussetzung für eine Erforschung der Verweildauer von Wirkstoffen nach der Applikation, ihres Um- und Abbaues und einer Kontrolle des Erntegutes zum Schutz des Konsumenten vor der Inverkehrsetzung. In der folgenden Artikelserie werden die zu Forschungszwecken geeigneten, empfindlichen aber auch komplizierten, und die mehr zur laufenden Marktuntersuchung geeigneten halb-quantitativen chemischen Methoden, die zur Bestimmung der wichtigsten Insektizide, Akarizide, Fungizide und Begasungsmittel auf unverarbeitetem pflanzlichem Erntegut geeignet sind, aus der zugänglichen Literatur zusammengetragen und die erfahrungsgemäß günstigsten genauer beschrieben.

Größere Schwierigkeiten als die Analyse selbst bereiten häufig die Extraktion oder Abtrennung der Pflanzenschutzmittel und vor allem die Befreiung der Extrakte von Pflanzeninhaltsstoffen (Farbstoffe, Fette, Öle, Wachse usw.), welche die nachfolgende Analyse stören. Eine Reinigung der Extrakte kann nur in seltenen Fällen umgangen werden. Hierzu gehören einige einfache Methoden des Biotestes, der dann direkt auf dem untersuchten Material bzw. auf dessen Homogenisat durchgeführt wird. Voraussetzung hierfür ist jedoch, daß die geprüften Pflanzen keine insektiziden Inhaltsstoffe enthalten, wie dies z. B. bei den Senfölen der Fall ist. GUNTHER und BLINN (1956) erwähnen colorimetrische Meßverfahren, bei denen als Blindlösung ein ungereinigter Extrakt von gleichen aber unbehandelten Pflanzen verwendet wird. Diese Methode wird jedoch nur in den wenigsten Fällen mit einer Ersparnis an Zeit und Material verbunden sein, wobei die Genauigkeit der Ergebnisse problematisch ist. Einige Möglichkeiten des Verzichtes auf Reinigungsverfahren werden in dieser Arbeit angeführt.

Vorbereitung, Extraktion und Trocknung der Extrakte

Der tatsächliche Aufenthaltsort des Präparates auf oder im Pflanzenkörper, nach dem sich die Extraktionsmethode zu richten hat, hängt außer von Witterungseinflüssen, der Oberfläche der untersuchten Pflanzenteile, ihrem Wassergehalt und den Inertstoffen (Haft-, Netz- und Füllmittel) des Handelspräparates, vor allem von den systemischen Eigenschaften des Wirkstoffes ab. Daß jedoch auch Insektizide, bei denen diese Eigenschaften nicht so deutlich ausgeprägt sind (z. B. Hexachlorcyclohexan), in das Pflanzeninnere eintreten, wird durch Geschmacks- und Geruchsbeeinflussungen von Hack- und Hülsenfrüchten bewiesen. Der Analytiker wird sich auch hier häufig nach den empirischen Ergebnissen der zahlreichen Veröffentlichungen auf diesem Gebiete richten können.

GUNTHER, BARNES und CARMAN (1950) und nach ihnen BÄR (1957) definieren drei Typen von Rückständen:

1. **Extracuticuläre** oder **eigentliche Oberflächenrückstände** ("extrasurface residues"), die außen an der Wachsschicht haften.
2. **Cuticuläre Rückstände** ("cuticular residues"), die in der Wachs Oberfläche oder Cuticula gelöst sind und
3. **Subcuticuläre Rückstände** ("subcuticular residues"), die innerhalb kurzer Zeit nach der Applikation in Pflanzenteile unter der Cuticula gewandert sind.

Die Abtrennung der unter 1. und 2. genannten Rückstände ist naturgemäß einfach und eine Reinigung der Extrakte wird man in vielen Fällen umgehen können. AMSDEN und WALBRIDGE (1954) beschreiben ein Verfahren zur Abtrennung von DDT von der Blattoberfläche (das auch für andere, nicht systemische Mittel geeignet ist), in dem die behandelten Pflanzen mit einem mit Äther getränkten Wattebausch abgewischt werden und dieser dann mit dem gleichen Lösungs-

mittel ausgewaschen wird. BÄR (1957) löst extracuticuläre Rückstände durch Abwaschen mit 0,02%igen (ungenannten) Netzmitteln und extrahiert die Waschflüssigkeit mit geeigneten organischen Lösungsmitteln. BROWN (1951) untersuchte Spritzmittelrückstände an Äpfeln und stellte fest, daß diese über die ganze Oberfläche verteilt sind. Er beschreibt eine praktische, mechanische Vorrichtung, mit deren Hilfe geeignete Schalenteile zur Herstellung eines einwandfreien Durchschnittsanalysenmusters entnommen werden können.

Zur Extraktion subcuticulärer Rückstände ist meist eine mehr oder weniger weitgehende Zerkleinerung (oder Homogenisierung) und längere Bearbeitung im kochenden Lösungsmittel (z. B. im Soxhlet) erforderlich. MÜLLER, ERNST und SCHOCH (1957) schlagen für die Bestimmung von Aldrin, Dieldrin, DDT, HCC, Parathion, Chlorthion, Diazinon und Malathion folgende Vorbereitung des Pflanzenmaterials vor. Äpfel und Birnen werden so geschält, daß den Schalen noch ca. 2–3 mm Fruchtfleisch anhaftet. Diese zerschneidet man dann noch in kleinere Stücke von 0,5–2 cm Kantenlänge. Aprikosen, Pfirsiche, Pflaumen, Erdbeeren u. ä. werden entzweigeschnitten (soweit erforderlich), entsteint und beide Hälften in würfelförmige Stücke von 1–2 cm Kantenlänge zerschnitten. Kirschen können nach dem Entsteinen ohne weitere Zerkleinerung extrahiert werden. Grünsalat und Spinat (1 Schicht) wird zuerst in Streifen und danach noch in „Plätzchen“ zerschnitten. Bei Blumenkohl werden die Köpfe (ohne Blätter und Stengel) mit den Händen zerbröckelt. Tomaten werden entzweigeschnitten, das kernhaltige Fruchtfleisch entfernt und die Schalen in kleine würfelförmige Stücke zerkleinert. Kartoffeln teilt man im ganzen in Würfel von ca. 1 cm Kantenlänge. Als Lösungsmittel verwenden die Autoren Pentan, da dieses offenbar die wenigsten Begleitstoffe löst. Die Extraktion, die mit der Trocknung in einem Arbeitsgang vorgenommen wird, erfolgt in einem Soxhlet eigener Konstruktion. Das zerkleinerte Untersuchungsgut befindet sich in einer durchlochenden Hülse, auf deren Boden (festgehalten durch ein Rundfilter) wechselnde Mengen Natriumsulfat gelagert sind, die in den meisten Fällen zur Trocknung der Extrakte ausreichen. Die Extraktionsdauer beträgt 6–8 Stunden (am kochenden Wasserbad), die Lösungsmittelmenge 400–600 ml. WEINMANN (1958) fand, daß nicht nur die systemischen Insektizide Systox und Metasystox, sondern auch Parathion, Malathion, HCC, DDT und Nikotin bei Äpfeln und Pflaumen in das Innere der Früchte gewandert waren. Er preßt daher die Früchte aus, extrahiert den Preßkuchen und -saft gesondert im Starmix mit Petroleumbenzin (Kp 50–75° C) bei Zimmertemperatur.

Eine sehr elegante Methode zur Ablösung von DDT-Rückständen von ganzen Äpfeln, die sich jedoch auch auf andere extracuticuläre und cuticuläre Wirkstoff-Rückstände und ähnliche Früchte anwenden läßt, beschreiben ZEUMER und NEUHAUS (1959). Die Äpfel werden auf 0° C abgekühlt und auf einen Glasstab aufgespießt, der durch einen Gummistopfen in einem mit einer runden Öffnung versehenen Uhrglas festgehalten wird. Diese Vorrichtung wird auf ein 600 ml-Becherglas gedeckt, in dem sich ca. 25 ml siedendes Chloroform befinden. Nach 2–3 Minuten ist die Wachsschicht mit dem Insektizid praktisch vollständig abgelöst. CARTER (1955) schlägt zur DDT-Extraktion von Äpfeln vor, das Untersuchungsmaterial in Gefäßen mit Benzol bei Zimmertemperatur zu schütteln.

Zur Erfassung der systemischen Insektizide ist nach HALL, STOHLMANN und SCHECHTER (1951) entweder eine mindestens 3stündige Extraktion des zerkleinerten Materials im Soxhlet oder eine 20 Minuten dauernde Mazeration mit Chloroform im Homogenisator erforderlich.

ERWIN, SCHILLER und HOSKINS (1955) umgehen die übliche Trocknung mit wasserfreiem Natriumsulfat oder anderen Trockenmitteln durch Verwendung eines mit Wasser

und organischen Extraktionsmitteln mischbaren Lösungsmittels und erreichen so homogene Phasen. Die Probe wird z. B. mit einer entsprechenden Menge des Extraktionsmittels und der gleichen Menge von 96%igem Äthanol eine Stunde geschüttelt.

Physikalische Methoden zur Reinigung der Extrakte

Verhältnismäßig wenig ausgeschöpft sind die Möglichkeiten der direkten Abtrennung von Pflanzenschutzmittelrückständen aus den Pflanzensubstraten oder die Reinigung der Extrakte durch Wasserdampfdistillation. Eine Reihe vor allem von Fetten, Ölen und Wachsen sind wasserdampflich. Einige Pflanzenfarbstoffe besitzen diese Eigenschaft nicht. Viele Pflanzenschutzmittel können mit Wasserdampf (WD) übergetrieben werden oder bilden leicht zugängliche Spaltprodukte, die mit WD übergehen; andere bilden Salze, die WD-stabil sind. GUNTHER und BLINN (1953) erwähnen die Technik der WD-Destillation zur direkten Abtrennung von Präparaten der Dinitrophenolreihe und verweisen auf ein Verfahren von KOENIG, KUDERNA und DANISH (1951), gleichfalls zur direkten Abtrennung von Aldrin aus Luzerner-Extrakten. Die gleichen Autoren beschreiben eine Methode von KUTSCHINSKI und LUCE (1952) zur Reinigung von p-Chlorphenyl-p-chlorbenzyl-sulfon enthaltenden Orangen- und Zitronen-Extrakten. Das Akarizid wird unter Bildung von p-Chlorphenolat verseift, die Öle mit WD übergetrieben und die Vorlage angesäuert, wobei das p-Chlorphenol frei wird. Dieses kann dann wiederum mit WD verjagt und colorimetrisch bestimmt werden. Sehr häufig ist die WD-Technik zur Abtrennung von insektiziden Phosphorsäureestern aus tierischem Material angewandt worden. Einige dieser Verfahren lassen sich z. T. auch auf pflanzliche Produkte übertragen. PAULUS, MÄLLACH und JANITZKI (1955) extrahieren parathionhaltiges Untersuchungsgut mit Benzin, dampfen das Lösungsmittel ab, unterwerfen den Rückstand einer WD-Destillation, schütteln das Destillat wiederum mit Benzin aus und erhalten so reine Extrakte ohne Wirkstoffverlust. BURGER (1957) treibt das Parathion aus tierischem Gewebe direkt mit WD aus und gewinnt das Insektizid aus dem Destillat durch Ausäthern.

Unterschiedliche Flüchtigkeiten des Pflanzenschutzmittels oder des Substrates können zur Abtrennung einer der beiden Komponenten durch Abdunsten oder Destillation verwendet werden. GUNTHER und BLINN (1953) erwähnen ein von KOENIG, KUDERNA und DANISH (1951) entwickeltes Verfahren zur Isolierung von Dieldrin aus Ölen von Zitrusfrüchten, in dem diese in offenen Petrischalen abgedunstet werden. HEATH und Mitarbeiter (1956), DUPEE und Mitarbeiter (1956) und OTTER (1956) trennen einige organische, Phosphor enthaltende Insektizide (Dimefox, Schradan und Mipafox) aus einem pflanzlichen Chloroform-extrakt ab, indem sie diesen zunächst einengen, Glycerin und Glykol hinzufügen und in einer relativ einfachen Apparatur bei 1 mm Hg eine Mikrodestillation vornehmen, wobei sich die Phosphorsäureester an einem Kühlfinger ansammeln. Die Genauigkeit beträgt hier meist nur 60–90%, so daß mit einem empirischen Korrekturfaktor gearbeitet werden muß.

MAJUMDER und PINGALE (1955) extrahieren das Untersuchungsmaterial zur Bestimmung von Dieldrin, Aldrin, Lindan und DDT mit Aceton, verjagen das Lösungsmittel und identifizieren die Insektizide kristallographisch nach ihrer Sublimation bei 200–250° C.

Nur wenige Autoren veröffentlichen genauere Angaben über die relativ einfachen und vor allem bei Anwesenheit größerer Mengen von Fetten, Ölen und Wachsen anwendbaren Verfahren der Kristallisation bzw. des Ausfrierens. MÜLLER, ERNST und SCHOCH (1957) geben eine Vorschrift zur Abtrennung größerer Mengen von Pflanzenwachsen durch Ausfrieren in Pentan im Kaltebad (Trockeneis-Isopropanol-Mischung) bei –30° C. Der Extrakt wird zunächst auf

5–10 ml eingeengt und unter fließendem Wasser abgekühlt. Bei Ausscheidung eines voluminösen Niederschlages sind größere Mengen von Wachsen vorhanden. Die Lösung wird nun mit Pentan auf 20 ml aufgefüllt und zusammen mit einem Kolben, der ca. 50 ml reines Pentan enthält, in die Kältemischung eingeführt. Bei -30°C wird die Lösung durch ein Faltenfilter, das vorher mit reinem Pentan gewaschen und abgekühlt wurde, gegossen, mit 5–10 ml Lösungsmittel nachgewaschen und abdestilliert.

FAIRING und WARRINGTON (1950) befreien Methoxychlor von tierischen und pflanzlichen Fetten, indem sie diese in Acetonlösung in der Kälte auskristallisieren lassen, während das Insektizid in Lösung verbleibt. GUNTHER und MILLER (1953) modifizieren diese Methode zur Bestimmung von DDT in Avocado-Öl. Ein Benzolextrakt von mit DDT behandelter Avocado-Pulpe wird auf 0° abgekühlt, wobei das Benzol (und mit ihm das DDT) auskristallisiert. Das Avocado-Öl wird abgesaugt, neuerdings mit Benzol versetzt und w. o. verfahren. Durch diesen Prozeß kann das DDT quantitativ abgetrennt werden.

Die verschiedenen Löslichkeiten von Pflanzenschutzmitteln und Pflanzeninhaltsstoffen in nicht miteinander mischbaren Lösungsmitteln werden oft erfolgreich zur Trennung der beiden Komponenten verwendet. Die am häufigsten zitierte Methode der Verteilungsanalyse wurde von JONES und RID-DICK (1952) entwickelt. Die Autoren extrahieren pflanzliches Material mit n-Hexan, engen den Extrakt (je nach dem untersuchten Insektizid) auf 100–300 ml ein, schütteln dreimal mit je 100 ml Acetonitril (zweimal destilliert, mit n-Hexan gesättigt) aus, wobei die meist stärker polaren Insektizide Dilan (ein Gemisch von 2-Nitro-1,1-bis-(4-chlor-phenyl)-butan und 2-Nitro-1,1-bis-(4-chlor-phenyl)-propan), DDT, Methoxychlor, Lindan, Chlordan und Parathion in Mengen von 70–100% in die Acetonitrilschicht übergehen, während die fast unpolare Wachse, Harze, Fette und Öle und einige Farbstoffe (z. B. Chlorophyll) in der n-Hexanschicht verbleiben. Eine Reinigung von Carotin und Lycopin ist auf diesem Wege allerdings nicht möglich. BURCHFIELD und STORES (1953) verbessern diese Methode, indem sie das Acetonitril durch N, N-Dimethylformamid ersetzen. Auf diese Weise können vor allem für Lindan und DDT günstigere Ergebnisse erzielt werden. GUNTHER und BLINN (1953) erwähnen ein Verfahren zur Trennung von Dieldrin von Apfelsinen-Wachsen durch Extraktion mit "Skellysolve B" (nicht beschrieben) und Acetonitril (1,9:1) bzw. Nitromethan (2,1:1).

MÜLLER, ERNST und SCHOCH (1957) ändern diese Technik in der Weise um, daß sie zunächst den Extrakt (Pentan) sorgfältig zur Trockne eindampfen in 20 ml doppelt destilliertem Acetonitril aufnehmen, am Wasserbad aufkochen, einige Male umschwenken bis sich der Rückstand gelöst hat, unter fließendem Wasser abkühlen, filtrieren und das Acetonitril am Glycerin- oder Ölbad abdestillieren. WEINMANN (1958) dampft gleichfalls den (Benzin-) Extrakt ab und setzt, um den Rückstand absolut trocken zu erhalten und die Lösung in Acetonitril zu erleichtern, 2,5 g Natriumsulfat und 3,5 g Seesand zu.

Eine sehr einfache und überzeugende Methode zur Entfernung größerer Mengen von störenden Ölen (aus Zitrus- bzw. Olivenfrüchten) bei der Parathionbestimmung beschreiben WILSON und Mitarbeiter (1951) und ALESANDRINI und Mitarbeiter (1955); sie fügen dem Extrakt eine kleine Menge weißes Paraffin zu und schütteln oder zentrifugieren, wobei die Öle von dem Paraffin aufgenommen werden.

Die vorstehende Methode bildet bereits einen Übergang zu der am häufigsten verwendeten Technik, der Säulenchromatographie, die hauptsächlich zur Abtrennung von Pflanzenfarbstoffen, mit einigen Abänderungen aber auch von Ölen, Fetten und Wachsen geeignet ist. PAULUS und

MALLACH (1956) untersuchten 18 Adsorbentien auf ihr Festhaltevermögen und 10 Lösungsmittel auf ihre Elutionskraft gegenüber Parathion und stellten fest, daß der Wirkstoff von Amberlite, Cellulosepulver, Dowex, Magnesiumcarbonat, Permutit, Saccharose, Talcum und einem Wofatit aus keinem der untersuchten Lösungsmittel adsorbiert wird, wohingegen basisches, neutrales und saures Aluminiumoxyd, Carbo medicinalis, deutsche Bleicherde, Floridin, Florisil, Kieselgel und Silicagel aus einigen Lösungsmitteln mehr oder weniger gut adsorbieren. Als günstigstes Verfahren erwies sich die Extraktion des Untersuchungsgutes mit Benzin und Reinigung des Extraktes an Cellulosepulver oder Saccharose, wobei keinerlei Wirkstoffverluste auftreten, während die Fremdstoffe in befriedigendem Maße festgehalten werden, oder die Adsorption des Phosphorsäureesters an Aluminiumoxyd (sauer, neutral oder nach BROCKMANN) und anschließende quantitative Elution mit Chloroform oder Äther. Gut bewährt hat sich auch eine Kombination mit zwei verschiedenen Säulenfüllungen; oben eine Schicht Cellulosepulver zur Entfernung der Begleitstoffe und unten Aluminiumoxyd, in dem dann der Phosphorsäureester festgehalten wird.

NORTON und SCHMALZRIEDT (1950) benutzen Aluminiumoxyd zur Abtrennung von DDT aus Luzerne-Extrakten, MÜLLER, ERNST und SCHOCH (1957) absorbieren die Wirkstoffe von Aldrin, Dieldrin, DDT, HCC, Parathion, Chlortion, Diazinon und Malathion aus Pentan gleichfalls an Aluminiumoxyd und eluieren mit Äther. Das "ANALYTICAL METHODS COMMITTEE" (1957) empfiehlt zur Bestimmung von DDT und HCC in Leichtbenzinextrakten aus Gemüse eine Reinigung an mit Leichtbenzin getränktem Aluminiumoxyd und viermalige Elution mit Leichtbenzin-Benzol (4 : 1).

FIELD und LAWS (1957) extrahieren getrockneten Hopfen zur Bestimmung des Insektizids Dimefox mit Methanol, versetzen den Extrakt mit Petroläther und Eiswasser (Dimefox verbleibt im wässrigen Anteil, der größte Teil der Verunreinigung geht in den Petroläther über), extrahieren die wässrige Phase neuerdings mit Chloroform, dunsten ein, nehmen in Äther auf und reinigen an einer Magnesiumoxydsäule.

AVERELL und NORRIS (1948) entfärben Parathion- (bzw. Dimethylparathion-) und Chlorophyll- oder Carotin-enthaltende Benzollösungen durch Adsorption der Farbstoffe an Attapulgos-Ton; durchschnittlich 90% des Insektizids werden in der farblosen Lösung wiedergefunden. FAHEY und RUSK (1951) reinigen Benzolextrakte von mit DDT behandeltem Mais durch 1–2 Minuten langes Schütteln mit Attapulgos-Ton. 4–12 g des Adsorbens können für 25 ml Extrakt angewandt werden, ohne daß DDT-Verluste eintreten.

HORNSTEIN (1957) läßt einen Toxaphen-enthaltenden n-Hexan-Extrakt von Luzerne-Heu eine Magnesiumsilikatsäule (25 g Adsorbens werden vorher über Nacht bei 125°C getrocknet) passieren, entwickelt mit reinem Hexan und eluiert mit einer Mischung von n-Hexan und Methylchlorid (1 : 1).

SSIJANOWA (1950) trocknet das Untersuchungsgut bei 80–90%, extrahiert eine Stunde mit absolutem Alkohol am siedenden Wasserbad und reinigt den DDT-enthaltenden Extrakt mit Aktivkohle.

PHILLIPS und DEBENEDICTIS (1956) saugen Skellysolve-Extrakte von Birnen, Äpfeln, Sellerie und Kartoffeln, die mit chlorhaltigen organischen Insektiziden behandelt worden waren, durch eine mit Calciumcarbonat und "Celite Nr. 545" (1 : 1) gefüllte Büchnerfritte und erhalten klare Extrakte. KLEIN und Mitarbeiter (1956) empfehlen zur Ablösung von Endrin aus Blattgemüsen Petroläther; das Insektizid wird an Celite-Säulen absorbiert und mit Acetonitril eluiert.

DAVIDOW (1950) trennt DDT aus eine Tetrachlorkohlenstofflösung von Ölen und Fetten an einer wie folgt beschrie-

benen Säule ab. 30 g Celite werden mit einer Mischung von 9 ml konzentrierter und 9 ml räumlicher Schwefelsäure versetzt. Hierzu werden portionsweise 100 ml Tetrachlorkohlenstoff zugeführt und die Masse in ein Chromatographierrohr gefüllt. Hierauf kann die Untersuchungslösung die Säule passieren. Zum Eluieren dient gleichfalls Tetrachlorkohlenstoff. Eine derartige Säule hat eine Aufnahmekapazität für 5 g Fett oder Öl, das abzutrennende Insektizid muß jedoch gegenüber Schwefelsäure unempfindlich sein.

ERWIN, SCHILLER und HOSKINS (1955) beschreiben eine Säule, die einerseits Insektizide von Verunreinigungen abtrennt und andererseits eine Trennung verschiedener Insektizide von einander ermöglicht. Die Säulenfüllung besteht aus Aluminiumoxyd, das mit einem gleichmäßigen Überzug von Paraffinwachs (F 160–165° C) versehen ist. Mit einem Eluierreagens, bestehend aus 40% Acetonitril in Wasser wird Rotonon, Malathion, Dilan, Parathion, Lindan und Dieldrin, mit 60% Acetonitril in Wasser Dieldrin, DDT, Chlordan, Heptachlor, Endrin und Toxaphen und mit 75% Acetonitril in Wasser Aldrin und Isodrin eluiert. Die Arbeitsweise dieser Säulen basiert darauf, daß vor allem Fette, Öle und Wachse entsprechend ihrer unpolaren Natur von dem ihnen ähnlichen Wachsüberzug festgehalten, während die mehr polaren Insektizide von dem stark polaren Acetonitril in wechselnder Konzentration mit Wasser verdünnt je nach ihrer chemischen Natur eluiert werden.

HOSKINS, ERWIN und MISKUS (1958) erarbeiteten sich mit der vorstehenden Methode umfangreiche Erfahrungen und kamen zu dem Ergebnis, daß die Paraffin-Wachs-Schicht in dem Acetonitril etwas löslich ist, so daß die Analyseergebnisse verfälscht werden können und die Säule nur für einen Analysengang brauchbar, also sehr teuer ist. Sie ersetzen daher das Paraffinwachs durch ein Polyäthylenharz (DYNH), oder (mit weniger guten Erfolgen) durch Polystyrol verschiedener Polymerisationsgrade und verwendeten als Grundsubstanz Silicagel, Calciumcarbonat, gepulverte Cellulose und (mit den günstigsten Ergebnissen) Aluminiumoxyd nach BROCKMANN. Als Eluiermittel wurden Methanol, Methylal, Aceton und Äthylchlorhydrin in verschiedenen Konzentrationen mit Wasser verdünnt geprüft. Die befriedigendsten Resultate wurden jedoch wiederum mit dem System Acetonitril-Wasser erzielt. Zur Darstellung der Säulenfüllung werden 200 g granuliertes Polyäthylen in 2 l siedendem Toluol gelöst, 1000 g Aluminiumoxyd hinzugefügt (alles unter Rühren), auf Zimmertemperatur abgekühlt, das Lösungsmittel verjagt und die Masse im Luftstrom zu einem feinen Pulver getrocknet. Vor der Chromatographie wird die Masse (ca. 35 g sind zur Säulenfüllung erforderlich) zunächst mit 150–200 ml Petroläther, und anschließend mit 200 ml der später als Eluierungsmittel verwendeten Acetonitril-Wasser-Lösung gewaschen. Ist das verwendete Pflanzenschutzmittel bekannt, so kann man wie folgt verfahren. Eine 50-g-Probe des entsprechend vorbereiteten Materials wird mit dem günstigsten Lösungsmittel extrahiert, der Extrakt auf 1–2 ml eingeeengt, 0,5 g Celite zugefügt, die Trocknung im Luftstrom bei Zimmertemperatur beendet, der Rückstand in einer der Elution entsprechenden Acetonitril-Wasser-Lösung (10 ml) gelöst und chromatographiert. Nach beendeter Analyse können die abgetrennten Pflanzeninhaltsstoffe durch einfaches Auswaschen mit Petroläther aus der Säule wieder entfernt werden. Nach einem einmaligen Durchlaufenlassen einer Acetonitril-Wasser-Lösung ist die Säule wieder regeneriert und für die nächste Analyse bereit. Sie kann mehrere Male verwendet werden.

Zu den aussichtsreichsten Methoden der Pflanzenschutzmittelrückstandsanalyse gehört die Papierchromatographie. Ihre Vorteile liegen vor allem in dem relativ geringen Aufwand an Kosten für Reagenzien und Geräte und in der Möglichkeit, mehrere Pflanzenschutzmittel und ihre Um- oder Abbauprodukte nebeneinander zu erfassen. Aus allen zugäng-

lichen Arbeiten geht jedoch hervor, daß die Lösungen vor der Analyse einer sorgfältigen Reinigung unterzogen werden müssen. Der Versuch einer Reinigung und Analyse in einem Arbeitsgang ist bisher offenbar noch nicht erfolgreich unternommen worden.

Chemische Methoden zur Reinigung der Extrakte

Einige störende Pflanzeninhaltsstoffe lassen sich durch z. T. einfache chemische Operationen in Verbindungen überführen, die entweder ungefärbt oder in Säuren bzw. Alkalien löslich sind, so daß sie mit diesen Medien aus der Extraktionslösung entfernt werden können. Die Anwendbarkeit dieser Methoden hängt jedoch von der Unempfindlichkeit des zu untersuchenden Pflanzenschutzmittels gegenüber dem verwendeten Reagens ab.

Nach MÜLLER, ERNST und SCHOCH (1957) läßt man in ca. 300 ml wasserfreien, DDT, HCC, Aldrin, Dieldrin, Parathion, Chlorthion, Malathion oder Diazinon enthaltenden Pentan-Extrakt im Scheiderichter langsam, unter ständigem Umschwenken und Vermeidung von Erhitzungen 40 ml rauchende Schwefelsäure zutropfen, schüttelt nach Abkühlung unter laufendem Wasser 5 Minuten kräftig durch und läßt bis zur vollständigen Trennung der Schichten (bei extraktarmen Lösungen innerhalb weniger Minuten, sonst über Nacht) stehen. Die überstehende Pentanolösung wird zweimal mit 50 ml 20%iger Natronlauge und zweimal mit destilliertem Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet, filtriert und abdestilliert.

Die Entfernung von Fetten und Ölen in Aldrin enthaltenden Extrakten von Erdnüssen und Mais durch alkalische Verseifung (mit Kalilauge) beschrieben PERRY und Mitarbeiter (1952). Das unveränderte Aldrin wird mit Hexan ausgeschüttelt. Dieses einfache Verfahren ist jedoch für DDT, alle Phosphorsäureester u. a. wegen ihrer Alkaliempfindlichkeit nicht anwendbar.

Durch Einwirkung verschiedener Oxydationsmittel können sowohl Fette und Öle als auch Farbstoffe in den Pflanzenextrakten zerstört werden. KOLBEZEN, GUNTHER und BARKLEY (1952) erreichten eine 99%ige Wiedergewinnung von Dieldrin aus Orangenöl in Acetonlösung, indem sie mit Kaliumpermanganat behandelten. Nach GUNTHER und BLINN (1956) läßt sich auf diesem Wege auch DDT und Lindan von Orangeninhaltsstoffen befreien. BUCKLEY und COLTHURST (1954) extrahieren Tomaten zur Parathionbestimmung mit n-Hexan, zerstören das Lycopin durch Oxydation mit Perhydrol und erzielen so farblose Extrakte ohne Wirkstoffverluste.

Zusammenfassung

In einer Literaturübersicht werden die hauptsächlichsten Methoden zur Extraktion (bzw. Abtrennung) von Pflanzenschutzmittelrückständen aus pflanzlichem Material und die Reinigung dieser Extrakte von Fetten, Ölen, Wachsen, Farbstoffen und Wasser, welche die nachfolgende Analyse stören, beschrieben. Zur Extraktion sind je nach der Art des untersuchten Pflanzenmaterials, des applizierten Pflanzenschutzmittels und der beabsichtigten Analysenmethode verschiedene Lösungsmittel, mechanische Prozesse und Temperaturen erforderlich. Die Reinigung der Extrakte kann durch Verteilungsanalyse, Adsorptionschromatographie, Ausfrieren oder mit Hilfe von chemischen Verfahren erfolgen.

Резюме

В литературном обзоре описываются важнейшие методы экстракции (или удаления) остатков ядохимикатов для защиты с/х растений из растительного материала и чистка этих экстрактов от жиров, масел, восков, красящих веществ и воды, которые мешают проведению последующего анализа. Для экстракции, смотря по виду исследо-

ванного растительного материала, примененного ядохимиката и по предусмотренному методу анализа, необходимы различные растворители, механические процессы и температуры. Чистка экстрактов может происходить с помощью распрелительной и адсорбционной хроматографии, вымерзанием или химическими способами.

Summary

In a survey of literature the principal methods of the extraction (resp. separation) of the residues of pesticides from plant material and the purification of these extracts from fat, oil, wax, pigments, and water, which impair the ensuing analysis, are described. Various solvents are necessary for the extraction according to the kind of tested plant material, of the applicated pesticide, the mechanical procedures and temperatures. The purification of the extracts can be performed by partitionanalysis, adsorption chromatography, freezing out or by means of chemical proceedings.

Literaturverzeichnis

- ALESSANDRINI, M. E., L. BONIFORTI und G. E. RAMELLI: Bestimmung von Parathionrückständen in Olivenöl. (Orig. italien., nur als Ref. zugänglich), Rend Ist super Sanita (Roma) 1955, 28, 310-316 - Ref.: Chem. Zbl. 1956, 127, 248
- AMSDEN, R. C. und D. J. WALBRIDGE: Simplified method of estimating DDT-residues. J. agr. Food Chem. (Washington) 1954, 2, 1323-1324 - Ref.: Chem. Zbl. 1950/54 (Sonderband) 2818-19 S
- Ed.: ANALYTICAL METHODS COMITEE: Erfassung kleinster Mengen von Chlor aus Pflanzenschutzmitteln (DDT und BHC) (orig. engl., nur als Ref. zugänglich, Analyst (London) 1957, 82, 378-382 - Ref.: Z. anal. Chemie 1958, 161, 75-76
- AVERELL, P. R. und M. V. NORRIS: Estimation of small amounts of O,O-Diethyl-O-p-nitrophenylthiophosphate (Parathion). Anal. Chem. (Washington) 1948, 20, 753-756
- BÄR, F.: Schädlingsbekämpfungsmittel, ihre Einwirkung auf Lebensmittel u. ihr Nachweis. Z. Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. 1957, 105, 104-121
- BROWN, L. R.: A method for estimating zonal areas of appleskin in insecticide residue studies. J. econ. Ent. (Menasha) 1951, 44, 432-433 - Ref.: Chem. Zbl. 1952, 123, 2244
- BUCKLEY, R. und J. P. COLTHURST: Bestimmung von Parathion in Tomaten. (Orig. engl., nur als Ref. zugänglich), Analyst (London) 1954, 79, 285-289 - Ref.: Z. anal. Chemie 1955, 144, 296
- BURCHFIELD, H. P. und E. E. STORES: Verteilung von Insektiziden auf N,N-Dimethylformamid und Hexan. (Orig. engl., nur als Ref. zugänglich), Contr. Boyce Thompson Inst. 1953, 17, 333-334 - Ref.: Chem. Zbl. 1955, 126, 8243
- BURGER, E.: Nachweis von E 605. Arch. Toxikol. 1957, 16, 401-407 - Ref.: Z. anal. Chemie 1958, 163, 80
- CARTER, R. H.: Status of analytical methods with respect to determination of minimal quantities of insecticides. J. econ. Ent. (Menasha) 1955, 48, 424-425 - Ref.: Chem. Zbl. 1956, 127, 103-122
- CLIFFORD, P. A.: Determination of DDT, particularly in milk and fats by the SCHECHTER-procedure. J. Assoc. off. agr. Chemists (Washington) 1947, 30, 337-349
- DAVIDOW, B.: Isolation of DDT from fats. J. Assoc. off. agr. Chemists (Washington) 1950, 33, 130-132
- DUPÉE, L. F., D. F. HEATH und J. K. H. OTTER: Determining traces of Tetramethylphosphordiamid fluoride. J. agric. Food Chem. (Washington) 1956, 4, 233-236 - Ref.: Z. Lebensmittel-Unters. und Forsch. 1957, 105, 256-257 - Landwirtsch. Zbl. Abt. II 1957, 2, 1386
- ERWIN, W. R., D. SCHILLER und W. M. HOSKINS: Preassay purification of tissue extracts by waxcolumn. J. agr. Food Chem. (Washington) 1955, 3, 676-679
- FAHEY, J. E. und H. W. RUSK: Determination of DDT-residues on corn. Anal. Chem. (Washington) 1951, 23, 1826-1829 - Ref.: Chem. Zbl. 1953, 124, 8967 - Z. Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. 1953, 97, 235-236 - Z. anal. Chemie 1953, 136, 456-457
- FAIRING, J. D. und H. P. WARRINGTON: (Advanc. Chemistry Ser. Nr. 1, 1950, 260-265) erwähnt bei GUNTHER, F. A. und R. C. BLINN (1953)
- FIELD, K. und E. Q. LAWS: The determination of dimefox residues in hops. Analyst (London) 1957, 82, 667-671 - Ref.: Z. anal. Chemie 1958, 162, 394 - Z. Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. 1958, 108, 99-100
- GUNTHER, F. A., J. H. BARKLEY, M. J. KOLBEZEN und R. C. BLINN; (unveröffentlicht) erwähnt bei GUNTHER, F. A. und R. C. BLINN (1953)
- GUNTHER, F. A., M. M. BARNES und G. E. CARMAN: Removal of DDT and Parathion residues from apples, peas, lemons, and oranges. Advanc. Chemistry Ser. Nr. 1, 1950, 137-142
- GUNTHER, F. A. und R. C. BLINN: Pesticide residues. Basic principles for quantitative determination. J. agric. Food Chem. (Washington) 1953, 1, 325-330 - Ref.: Chem. Zbl. 1955, 126, 11081
- GUNTHER, F. A. und R. C. BLINN: Analysis of insecticides and acaricides 1956, 41-72, New York-London, Interscience Publishers
- GUNTHER, F. A., L. R. JEPSON, R. C. BLINN, A. N. KUTSCHINSKI, R. J. KRAUTZ und J. H. BARKLEY; (Division of Agricultural and Food Chemistry 121st Meeting, Amer. Chem. Soc. Milwaukee, Wis., 1952) erwähnt bei GUNTHER, F. A. und R. C. BLINN (1953)
- GUNTHER, F. A. und M. J. MILLER: (unveröffentlichtes Verfahren) erwähnt bei GUNTHER, F. A. und R. C. BLINN (1953)
- HALL, S. A., J. W. STOHLMANN und M. S. SCHECHTER: Bestimmung von Oktamethylpyrophosphorsäureamid (OMPÄ) in Pflanzenmaterial (Orig. engl., nur als Ref. zugänglich), Anal. Chem. (Washington) 1951, 23, 1866 - Ref.: Z. anal. Chemie 1952, 136, 459-460
- HEATH, D. T., J. CLEUGH, I. K. H. OTTER und P. O. PARK: Determining traces of octamethylpyrophosphoramide (Schradan) in crops. J. agric. Food Chem. (Washington) 1956, 4, 230-233 - Ref.: Z. Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. 1957, 105, 256
- HORNSTEIN, I.: Colorimetric determination of Toxaphen. J. agric. Food Chem. (Washington) 1957, 5, 446-448
- HOSKINS, W. M., W. R. ERWIN, R. MISKUS, W. W. THORNBURG und L. N. WERUM: A polyethylene-alumina column for purification of tissue extracts before analysis. J. agric. Food Chem. (Washington) 1958, 6, 914-916 - Ref.: Landwirtsch. Zbl. Abt. II im Druck
- JONES, L. R. und J. A. RIDDICK: Separation of organic insecticides from plant and animal tissues. Anal. Chem. (Washington) 1952, 24, 569-571 - Ref.: Chem. Zbl. 1956, 127, 12995 - Z. Lebensmittel-Unters. und -Forsch. 1955, 100, 92
- KLEIN, A. K., E. P. LAUG, J. F. TIEGHE, L. L. RAMSEY, L. C. MITCHELL und F. M. KUNZE: Biological assay of endrin in leafy vegetables and its estimation by paper chromatography. J. Assoc. off. agr. Chemists (Washington) 1956, 39, 242-253 - Ref.: Z. Lebensmittel-Unters. und -Forsch. 1957, 105, 323
- KOENIG, N. H., J. H. BARKLEY, M. J. KOLBEZEN und R. C. BLINN; (Division of Agricultural and Food Chemistry 119th Meeting Amer. Chem. Soc. Boston Mass., 1951) erwähnt bei GUNTHER, F. A. und R. C. BLINN (1953)
- KOLBEZEN, M. J., F. A. GUNTHER und J. H. BARKLEY; (36th Annual Meeting Pacific Branch Amer. Soc. Econ. Entomol. Santa Barbara Calif. 1952) erwähnt bei GUNTHER, F. A. und R. C. BLINN (1953)
- KUTSCHINSKI, A. H. und S. N. LUCE; (Anal. Chem. (Washington) 1952, 24, 1488-1490) erwähnt bei GUNTHER, F. A. und R. C. BLINN (1953)
- MAJUMDER, S. K. und S. V. PINGALE: Nachweis chlorierter Insektizide in Lebensmitteln. (Orig. engl., nur als Ref. zugänglich); Bull. centr. Food Technol. Res. Inst. (Mysore) 1955, 4, 135-136 - Ref.: Chem. Zbl. 1957, 128, 10317
- MULLER, R., G. ERNST und H. SCHOCH: Der Nachweis von Insektizidrückständen auf Pflanzenmaterial (Gemüse und Früchte) und die Trennung einzelner Schädlingsbekämpfungsmittel mit Hilfe der Papierchromatographie. Mitt. Geb. Lebensmittelunters. Hyg. (Bern) 1957, 48, 152-197 - Ref.: Landwirtsch. Zbl. Abt. II 1958, 3, 2423 - Z. Lebensmittel-Unters. und -Forsch. 1958, 107, 532 - Chem. Zbl. 1959, 130, 6328
- NORTON, L. B. und B. SCHMALZRIEDT: Rückstandsbestimmung von DDT (Orig. engl., nur als Ref. zugänglich), Anal. Chem. (Washington) 1950, 22, 1451 - Ref.: Z. anal. Chemie 1952, 135, 146
- OTTER, I.: Methoden der Rückstandsbestimmung von Insektiziden in pflanzlichem Material. Microchim. Acta (Wien) 1956, 125-133 - Ref.: Z. anal. Chemie 1957, 154, 205-206 - Z. Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. 1957, 106, 67
- PAULUS, W. und H. J. MALLACH: Zur Spezifizierung des Nachweises von E 605 mit Hilfe der Säulenchromatographie. Arzneimittelforsch. (Aulendorf) 1956, 6, 766-767 - Ref.: Z. anal. Chemie 1957, 159, 77 - Chem. Zbl. 1958, 129, 3415
- PAULUS, W., H. J. MALLACH und JANITZKI: Zum Nachweis des E 605 Arzneimittelforsch. (Aulendorf) 1955, 5, 241-244 - Ref.: Chem. Zbl. 1957, 128, 7458
- PERRY, S. Z., L. LYKKEN, F. R. BROOKS, G. J. O'DONNELL und E. J. AGAZZI: (3rd Annual Congress of Plant Protection Paris 1952), erwähnt bei GUNTHER, F. A. und R. C. BLINN (1953)
- PHILIPS, W. F. und M. E. DEBENEDICTIS: A method for microestimation of chlorinated organic pesticides by reduction with metallic sodium. J. agric. Food Chem. (Washington) 1954, 2, 1226-1228 - Ref.: Chem. Zbl. 1956, 127, 10795
- SSIJANOWA, A. K.: Verfahren zur Isolierung von DDT aus Lebensmitteln. (Orig. russ., nur als Ref. zugänglich); [Hygiene und Sanitätswesen] 1950, 49-50 - Ref.: Chem. Zbl. 1951, 122, I, 2978
- WEINMANN, W.: Serienmäßiger quantitativer Nachweis der Insektizidrückstände bei Obst und Gemüse. Z. Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. 1958, 107, 504-510
- WILSON, C. W., R. BAIER, D. GENUG und J. MULOWNEY: Estimation of O, O-Diethyl-O-p-Nitrophenyl-thiophosphate. Modified semimicro method. Anal. Chem. (Washington) 1951, 23, 1487-1489 - Ref.: Z. anal. Chemie 1952, 136, 78
- ZEUMER, H. und K. NEUHAUS: Arbeiten über Rückstände von Pflanzenschutzmitteln auf oder in Erntegut. Nachrichtenbl. Dt. Pflanzenschutzdienst (Braunschweig) 1959, 11, 17-32