

Quantitative Papierchromatographie von DDT, HCH und Chlordan

Von P. NEUBERT und E. HEINISCH

Mit 6 Abbildungen

Inhaltsübersicht

Das papierchromatographische System nach SAN ANTONIO (stationäre Phase: N,N-Dimethylformamid; mobile Phase: n-Hexan) eignet sich zur Trennung und photometrischen Auswertung der Insektizidkombinationen DDT-Lindan, Lindan-Chlordan und der HCH-Isomeren. DDT, Lindan und Chlordan können im Bereich von 10 bis 50 μg auf Blättern und die HCH-Isomeren im Bereich von 5 bis 85 μg auf Keilstreifen photometriert werden, da eine lineare Abhängigkeit der Farbintensität der Flecken bzw. Streifen von der Wirkstoffmenge vorhanden ist. Von zugesetzten Wirkstoffmengen wurden in Boden- und Pflanzenextrakten 90 bis 110% wiedergefunden. Der statistische Streubereich schwankte zwischen 6 und 12%.

Einleitung

Die Verwendung von papierchromatographischen Methoden zum Nachweis von DDT, HCH und Chlordan in Handelspräparaten und deren Rückständen auf oder in Ernteprodukten ist vielfach beschrieben worden¹⁾²⁾. Eine semiquantitative Auswertung der Chromatogramme gelang jedoch nur in einigen Fällen durch Messung der Lichtabsorption der Wirkstoff-Flecke³⁾ oder durch Auswertung der Beziehung zwischen Fleckengröße und Substanzmenge. Nachdem jedoch leistungsfähige Geräte zur photometrischen Auswertung entwickelt wurden, war es naheliegend die Vielzahl der beschriebenen Methoden auf ihre Eignung für eine quantitative Auswertung zu prüfen.

Für die Untersuchungen stand uns ein Extinktions-Registriergerät mit Integrator ERI 10 des VEB Carl Zeiss, Jena, zur Verfügung. Die Besonder-

¹⁾ L. C. MITCHELL, J. Assoc. Off. Agr. Chemists (Washington) **35**, 928 (1952); **37**, 530 (1954); **37**, 996 (1954); **37**, 1021 (1954); **38**, 891 (1955); **39**, 484 (1956); **39**, 980 (1956); **39**, 985 (1956); **40**, 294 (1957); **41**, 781 (1958).

²⁾ F. P. WINTERINGHAM, A. HARRISON u. G. BRIDGES, Nature (London) **117**, 86 (1956).

³⁾ W. GRASSMANN, K. HANNIG u. M. PLÖCKL, Z. physiol. Ch. **229**, 258 (1955).

heiten des Gerätes mußten bereits bei der Prüfung der verschiedenen Methoden berücksichtigt werden:

1. Die Größe des zur Messung in das Gerät geschobenen Chromatogramms oder Ausschnitt eines Chromatogramms kann maximal $4\text{ cm} \times 15\text{ cm}$ betragen.

2. Die Substanzflecke auf den Chromatogrammen müssen deutlich begrenzt sein und sich in den R_F -Werten um mindestens 0,12 unterscheiden, damit das Gerät die verschiedenen Substanzen getrennt erfaßt.

3. Die Färbung der Flecke muß einheitlich sein, da sonst keine Beziehung zwischen Substanzmenge und gemessener Extinktion ermittelt werden kann.

Die unter diesen Gesichtspunkten vorgenommene Prüfung ist ausführlich in einer früheren Arbeit⁴⁾ beschrieben. Es ergab sich, daß mit dem chromatographischen System nach SAN ANTONIO⁵⁾ eine zur photometrischen Auswertung hinreichende Trennung von DDT, Lindan, Chlordan und der HCH-Isomeren erreicht wird.

Wie später noch gezeigt wird, sind für DDT, Lindan und Chlordan Blätter $14\text{ cm} \times 28\text{ cm}$ und für HCH-Isomeren Keilstreifen nach MATTHIAS zur Auswertung geeignet.

Ziel der angestellten Untersuchungen war es, für die häufig verwendeten Mischpräparate (DDT + Lindan, Lindan + Chlordan) und technisches HCH, sowie deren Rückstände in Pflanzenmaterial und im Boden eine papierchromatographische Methode für die qualitative und weitgehend quantitative Bestimmung zu finden, da nur ein Arbeitsgang mit relativ bescheidenem Aufwand erforderlich ist.

Methodisches

1. Chromatographisches System nach SAN ANTONIO⁵⁾: N,N-Dimethylformamid:2-Phenoxyäthanol:Äther = 40:55:5 (vol.) als stationäre Phase, n-Hexan als mobile Phase. Es fanden Keilstreifen $4\text{ cm} \times 28\text{ cm}$ nach MATTHIAS⁶⁾ und Blätter $14\text{ cm} \times 28\text{ cm}$ aus Schleicher & Schüll-Papier 2043 b Mgl Verwendung. Die Entwicklung erfolgte stets aufsteigend bei 20°C .

2. Detektion: Zur Detektion der chlorierten Kohlenwasserstoffe finden allgemein silbernitrat-haltige Lösungen Verwendung.

Meist werden diese nach dem Entwickeln und Trocknen der Papiere aufgesprüht. Es stellte sich jedoch heraus, daß das Aufsprühen der Detektionslösung nie genügend gleichmäßig erfolgen kann, ohne daß es zu leichten Marmorierungen kommt, die eine photometrische Auswertung stören. Nach

⁴⁾ E. HEINISCH u. P. NEUBERT, J. prakt. Chem. [4] **22**, 267 (1963).

⁵⁾ I. SAN ANTONIO, J. Assoc. Off. Agr. Chemists **43**, 721 (1960).

⁶⁾ W. MATTHIAS, Naturwissenschaften **43**, 351 (1956).

SAN ANTONIO⁵⁾ lösten wir deshalb 1,7 g Silbernitrat in 11 Imprägnierlösung und erzielten eine gleichmäßige Färbung der Flecken nach dem Trocknen und Bestrahlen mit UV-Licht. Für die photometrische Auswertung ist die

Einhaltung einer bestimmten Belichtungszeit sehr wichtig. Die Belichtung erfolgte mit einer Quarzlampe in 30 cm Abstand 5 Minuten auf der Rückseite und 45–55 Minuten auf der Vorderseite. Wie aus Abb. 1 zu ersehen ist, nimmt die Extinktion mit der Belichtungszeit für DDT, Lindan und Chlordan unterschiedlich zu (die

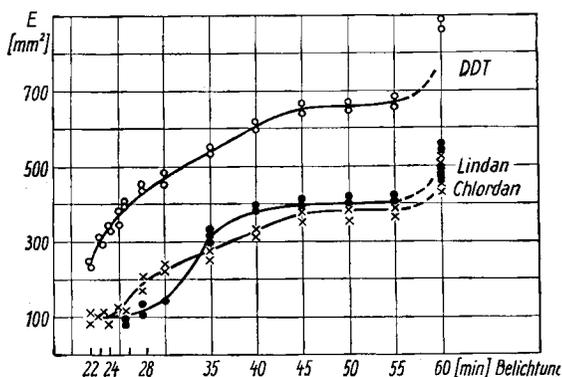


Abb. 1. Einfluß der Belichtungszeit auf die Farbintensität der Streifen auf Keilstreifen; je 25 µg DDT, Lindan und Chlordan

Extinktionskurven wird später eingehend beschrieben; für diesen Versuch wurden die zu jeder Substanz gehörenden Kurventeile ausplanimetriert und die Extinktion in mm² angegeben). Zwischen 45 und 55 Minuten Belichtungszeit erfolgt eine vernachlässigbare Zunahme der Farbintensität. Vergleichbare Werte werden demnach in dieser Zeit erhalten.

3. Wirkstoffe: Die Wirkstoffe wurden in Aceton gelöst 100 mg/100 ml:

Dichlordiphenyltrichloräthan (DDT)

Isomergemisch aus 85% p-p'-DDT und 15% o-p'-DDT.

1,2,3,4,5,6-Hexachlorcyclohexan (HCH)

α-Isomere F 157,8–158,3 °C

β-Isomere F 309,5 °C

γ-Isomere F 113,0–113,5 °C

δ-Isomere F 137,2–137,9 °C

Lindan: 99,5% γ-Isomere

HCH – techn. Produkt: enthält die Isomeren α, β, γ, δ, ε.

Chlordan (techn. Wirkstoff); nähere Angaben über die verwendeten Wirkstoffe und Chemikalien, sowie deren Reinigung werden von HEINISCH und NEUBERT⁴⁾ gemacht. Für die Bereitstellung eines großen Teiles der Wirkstoffe sei dem WTZ für Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmittel, Magdeburg, vielmals gedankt.

Quantitative Auswertung

Die photometrische Auswertung der Farbintensität von Streifen und Flecken auf Chromatogrammen gelingt in einfacher Weise, wenn eine lineare Beziehung zwischen Substanzmenge und der gemessenen Größe (Galvanometerausschlag) besteht. Es gibt zwei prinzipielle Meßmethoden:

Messung einer Strahlung nach Passieren des transparent gemachten Papiers im Durchlichtverfahren,

Messung einer reflektierten Strahlung im Auflichtverfahren.

Bei Verwendung gut geglätteter Papiere können mit dem Auflichtverfahren bessere Werte erzielt werden. Die dem LAMBERT-BEERSCHEN Gesetz entsprechende Beziehung für das Auflichtverfahren

$$E_{R\lambda} = \lg \frac{1}{\rho_\lambda} = k \cdot c \quad \begin{array}{l} E_{R\lambda} = \text{Auflichtextinktion} \\ \rho_\lambda = \text{spektraler Remissionsgrad} \end{array}$$

hat nur Gültigkeit bis etwa $E = 0,3$. Bei höherer Konzentration bleibt die Zunahme der Extinktion in steigendem Maße hinter der der Konzentration zurück, die Extinktion strebt einem Grenzwert zu. Durch Aufstellung einer Eichkurve kann jedoch die empirische Funktion

$$c = f(E_R)$$

bis zu einer der Extinktion $E = 1$ entsprechenden Konzentration ermittelt werden. In vielen Fällen wird es eine Gerade sein.

Das Gerät ERI 10 ist in erster Linie für die Auswertung der Elektropherogramme von Eiweißhydrolysaten im klinischen Routinebetrieb ge-

dacht. Die gleichzeitig aufgezeichnete Integralkurve erleichtert die Auswertung der Extinktionskurve. Der eingebaute Filtersatz für die zur Kenntlichmachung von Aminosäuren üblichen Farbstoffe Amidoschwarz, Bromphenolblau, Ninhydrin und Azokarmin ist nicht immer für andere Detektionsreagenzien verwendbar. In unserem Falle können aber die grauschwarzen Streifen des abgeschiedenen Sil-

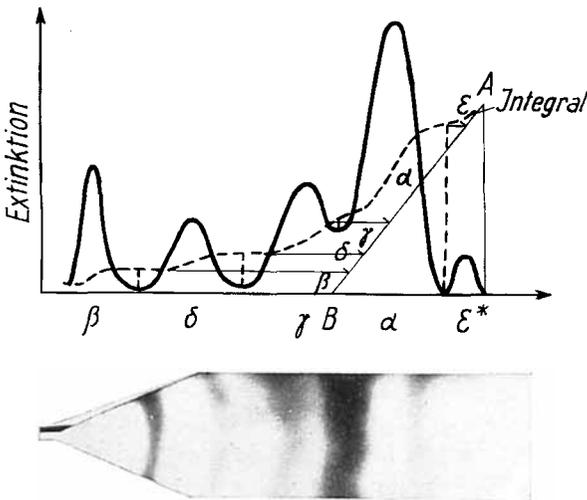


Abb. 2. Extinktionskurve und Auswerteschema für HCH-Isomeren auf Keilstreifen (ϵ^* : ϵ -HCH + Verunreinigungen)

bers mit dem für Amidoschwarz vorgesehenen Filter im Auflichtverfahren gut photometriert werden.

Manche Autoren⁷⁾⁸⁾ photographieren die Chromatogramme erst im auffallenden Licht und photometrieren die Negative.

Die Extinktionskurve wird nach GAUSSSchen Verteilungskurven extrapoliert (Abb. 2). Durch die Schnittpunkte der Kurven (in der Abbildung werden vereinfachend die Minima der Extinktionskurve angenommen) werden Senkrechte bis zur Integralkurve und von da aus Parallelen zur Nulllinie gezogen. Vom höchsten Punkt A der Integralkurve legt man eine Strecke zum Punkt B. Die Anteile der einzelnen Komponenten lassen sich als Differenzen zwischen den Schnittpunkten mit den Parallelen auf der Strecke A—B ablesen. Die einzelnen Komponenten können in Absolutwerte umgerechnet werden, wenn die Gesamtmenge des aufgetragenen Wirkstoffgemisches bekannt ist. Am einfachsten gestaltet sich die Auswertung, wenn Linearität zwischen der Farbintensität und der Wirkstoffmenge besteht.

Statistische Beurteilung der Werte

Zur Charakterisierung der erreichbaren Reproduzierbarkeit der geschilderten papierchromatographischen Methode wird folgendes angegeben:

1. für welchen Konzentrationsbereich Linearität zwischen der Farbintensität der Flecken oder Streifen auf dem Chromatogramm und der Wirkstoffmenge vorhanden ist (F-Test und Korrelationskoeffizient r).

2. welcher Streubereich beim Vergleich der vorgegebenen und gefundenen Werte auftritt,

3. welche vorgegebenen Wirkstoffmengen im Mittel wiedergefunden werden.

Die Regressions- und Korrelationsrechnung wurde nach WEBER⁹⁾ an gestellt. Zur Prüfung auf Linearität diente eine einfache Varianzanalyse (F-Test). Der Korrelations-Koeffizient wurde wie folgt berechnet (x_i = vorgegebene Wirkstoffmenge, y_i = gefundene Wirkstoffmenge, n = Anzahl der Werte):

$$r = \frac{n \sum x_i y_i - \sum x_i \cdot \sum y_i}{\sqrt{[n \sum x_i^2 - (\sum x_i)^2][n \sum y_i^2 - (\sum y_i)^2]}}$$

⁷⁾ O. GUSTAFSSON, J. SUNDMAN u. T. LINDH, Finnish Paper Timber I, B 33, 1 (1951); Ref. Brit. Abstr. C 5, 170 (1951).

⁸⁾ B. KEIL, Chem. Listy 48, 725 (1954).

⁹⁾ E. WEBER, Grundriß der biologischen Statistik für Naturwissenschaftler, Landwirte und Mediziner, 4. Aufl., Jena 1961, S. 241.

Die Standardabweichung S mußte nach

$$S = \pm \sqrt{\frac{\sum \sum (x_{ij} - \bar{x}_i)^2}{n - m}}$$

n = Zahl der Messungen m = Zahl der Chromatogramme.

berechnet werden, da unterschiedliche Mengen aufgetragen wurden¹⁰⁾. Der Streubereich Δy ergibt sich aus

$$\Delta y = \pm t(P, f) \cdot s.$$

Aus Tabellen¹⁰⁾ kann t für f Freiheitsgrade und $P = 95\%$ entnommen werden.

Auswertung der Keilstreifen

Die Keilstreifen wurden im Gerät ERI 10 doppelt photometriert, die den einzelnen Wirkstoffen zugeordneten Abschnitte der Extinktionskurve wiederum doppelt planimetriert und das Mittel gebildet. Eine Auswertung der Integralkurve war zunächst nicht möglich, da angenommen werden mußte, daß die Farbintensität der Streifen für gleiche Mengen der einzelnen Wirkstoffe unterschiedlich ist.

Für DDT, Lindan und Chlordan (Kombinationen DDT—Lindan und Lindan—Chlordan) besteht eine lineare Abhängigkeit der Farbintensität der Streifen von der vorgegebenen Wirkstoffmenge innerhalb von 10 bis 50 μg für DDT, 10 bis 60 μg für Chlordan und 10 bis etwa 85 μg für Lindan. Die Nachweisgrenze liegt beim verwendeten Detektionsreagens bei 2 μg . Die Bestimmung ist jedoch sehr umständlich, da die nebeneinanderliegenden Streifen der verschiedenen Wirkstoffe eine ungleiche Abhängigkeit $E = f(c)$ besitzen und das aufgezeichnete Integral nicht ausgewertet werden kann (Abb. d. Keilstreifen). Die Extinktionskurve muß ausplanimetriert und an Hand von Standardkurven für jeden Wirkstoff die Menge berechnet werden. Das ist aufwendig und erhöht trotz wenig veränderter Bedingungen (Temperatur, Imprägnierung, gleiche Papiercharge usw.) die Fehler beträchtlich.

Wie noch gezeigt wird, gelingt die Bestimmung von DDT, Lindan und Chlordan nebeneinander in einfacher Weise auf Blättern 14 cm \times 28 cm, so daß die Verwendung von Keilstreifen nicht empfohlen werden kann.

Die gute Trennung der HCH-Isomeren auf Keilstreifen ließ stets die Auswertung mit dem Gerät ERI 10 zu. Für die quantitative Bestimmung war es wichtig zu wissen, ob die Farbintensität der Streifen der einzelnen Isomeren für gleiche vorgegebene Mengen nur innerhalb statistisch zulässiger Grenzen schwankt. Hierfür diente ein Versuch, in dem von 5 bis 100 μg je Isomere die Extinktion gemessen wurde. Im technischen HCH schwanken die Anteile der Isomeren etwa innerhalb von 4 bis 60%. Das wären für

¹⁰⁾ K. DOERFFEL, Z. analyt. Ch. 185, 1 (1962).

100 μg Gesamt-HCH 4–60 μg je Isomere. Die Messung unterhalb 5 μg bereitet aber Schwierigkeiten, da das Gerät auf größte Empfindlichkeit gestellt werden muß. Es ist günstiger, wenn über 5 μg HCH auf dem Keilstreifen vorliegen. Wie aus Abb. 3 zu ersehen, ist die Extinktion für alle Isomeren bei gleicher Menge annähernd gleich. Die Regressionsrechnung ergibt 4 Geraden, die sehr eng zusammenliegen. Ab 90 μg weichen die Werte von der Geraden stark ab, so daß nur die Werte von 5 bis 90 μg weiter geprüft wurden. Innerhalb des Bereichs von 5 bis 85 μg ist eine gute lineare Abhängigkeit $E = f(c)$ gegeben (der Regressionskoeffizient beträgt 0,83). Die Auswertung der Integralkurve ist demnach für die HCH-Isomeren möglich, da gleiche Farbintensitaten der Streifen gleiche Mengen anzeigen.

Zur Ermittlung der Standardabweichung und des Streubereiches diente ein Versuch mit technischen HCH-Wirkstoff. Die Identifizierung der einzelnen Isomeren erfolgte durch Zusatz von bekannten Isomeren (α , β , γ , δ) und Beobachtung der entsprechenden Verstärkung.

Die Substanz mit R_F -Werten von 0,78–0,81 auf Keilstreifen konnte nicht eindeutig identifiziert werden. MITCHELL¹⁾ berichtet von Flecken bzw. R_F -Werten von 0,78–0,80 und schreibt sie Verunreinigungen von Heptachlorcyclohexan und Oktachlorcyclohexan zu. Das ϵ -Isomere fand MITCHELL¹⁾ in einer späteren Arbeit zwischen dem γ -Isomeren und δ -Isomeren, allerdings mit einem anderen chromatographischen System (2-Phenoxyäthanol als stationäre und i-Oktan als mobile Phase). In unserem Falle muß angenommen werden, daß das ϵ -Isomere und Verunreinigungen mit den Streifen bei R_F -Werten von 0,78–0,81 erfaßt wurden, da das zum Vergleich verfügbare Preparat an dieser Stelle Verstärkungen bewirkte.

In Tab. 1 sind die gefundenen Werte angegeben. Jedes Chromatogramm wurde doppelt photometriert und der Mittelwert gebildet. Die an Hand der aufgezeichneten Kurven ermittelten Werte stellen zunächst relative Werte dar. Da jedoch der insgesamt aufgetragene Gehalt an technischen Wirkstoff bekannt war, konnte auf diesen bezogen und der absolute Gehalt angegeben werden.

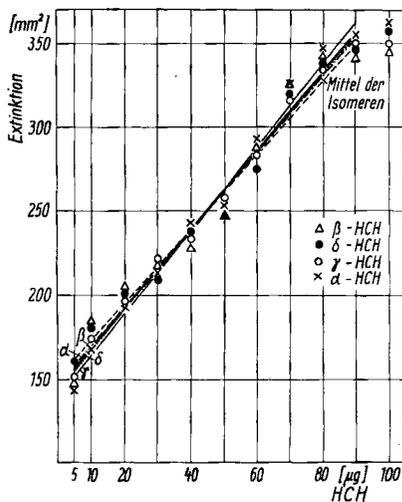


Abb. 3. Abhängigkeit der Extinktion von der Konzentration der HCH-Isomeren auf Keilstreifen

Für die Bereiche 100 bis 150 μg , 100 bis 130 μg und 140 bis 150 μg technischen Wirkstoff ergeben sich unterschiedliche Werte des Streubereichs.

Der günstigste Bereich ist für 100 bis 130 μg HCH-Wirkstoff gegeben. Ab 85 μg ist, wie bereits erwähnt, für alle Isomeren keine lineare Beziehung $E = f(c)$ mehr gegeben. Die für 140 und 150 μg HCH-Wirkstoff ermittelten

Werte für α -HCH sind deshalb niedriger und mit größeren Fehlern behaftet. Danach bleibt nur der Bereich von 100 bis 130 μg HCH-Wirkstoff zur Messung.

Tabelle 1

Bestimmung von technischem HCH auf Keilstreifen
Stationäre Phase: DMF:2-Phenoxyäthanol:Äther =
40:5:55, mobile Phase: n-Hexan, entwickelt bei 20°C
Werte sind Mittel aus 2 Messungen

techn. HCH- Wirkstoff aufgetragen μg	HCH-Isomeren μg				
	β	δ	γ	α	$\varepsilon^*)$
100	10,5	11,0	15,5	59,5	3,5
	12,0	10,5	14,0	57,5	6,0
	11,5	9,5	14,5	60,0	4,5
110	13,2	12,0	14,9	64,9	5,0
	11,0	10,5	16,0	67,0	5,5
	12,0	10,0	16,5	68,0	3,5
120	12,0	10,8	17,4	73,8	6,0
	13,2	11,4	16,8	71,4	7,2
	11,4	12,6	15,6	72,6	7,8
130	13,0	13,0	18,2	79,3	6,5
	15,0	11,7	19,5	76,0	7,8
	14,3	13,7	17,5	76,7	7,8
140	16,8	14,7	21,0	82,6	4,9
	14,0	16,8	18,2	85,4	5,6
	13,3	17,5	20,3	80,5	8,4
150	18,8	16,5	26,2	82,5	6,0
	21,0	18,0	23,3	81,0	6,7
	19,5	15,8	24,0	84,0	6,7

Streubereich techn. HCH- Wirkstoff μg	s $\pm \mu\text{g}$	Streubereich $\pm \mu\text{g}$
100—130	0,9	1,9
100—150	1,4	2,8
140—150	1,6	3,4

*) ε -Isomere + Verunreinigungen.

Praktische Anwendung der Keilstreifen

Pflanzenschutzmittel mit technischen HCH werden z. B. zur Bekämpfung von Bodenschädlingen verwendet. Zur weiteren Prüfung der Methode wurden deshalb 500 g lufttrockenem Boden (lehmgiger Sand vom Versuchsfeld Kleinmachnow) 40 mg technisches HCH zugesetzt und mit 300 ml Petroläther im Soxhlet extrahiert. Eine umständliche Reinigung des Extraktes war nicht notwendig, da der Humusgehalt gering ist und deshalb wenig störende Substanzen mitextrahiert werden. Für Böden mit höheren Gehal-

ten an Humusstoffen wird eine Reinigung vorgenommen werden müssen (z. B. Schütteln mit konz. Schwefelsäure). In unserem Falle störten keine braun gefärbten Streifen die Auswertung der Keilstreifen. Der Extrakt von 300 ml wurde mit Natriumsulfat getrocknet, auf 20 ml eingengt, 0,05 ml (entspricht etwa 100 µg techn. HCH) und 0,06 ml auf Keilstreifen aufgetragen.

Eine grobe Schätzung an Hand der unterschiedlich gefärbten Streifen erlaubt sofort die Aussage, ob es sich um ein

technisches Produkt mit 12–16% oder ein
gereinigtes Produkt mit 80–85% γ -HCH

handelt.

Für die Umrechnung der relativen Werte der einzelnen Isomeren (% Isomere in einem bestimmten Extraktvolumen) muß jedoch das Chromatogramm geeicht werden. Dies gelingt durch eine polarographische Bestimmung des γ -HCH-Gehaltes im gleichen Extrakt¹¹⁾. Die anderen Isomeren können auf den ermittelten γ -HCH-Gehalt bezogen und in µg angegeben werden, da die Extinktion für alle Isomeren eine gleiche lineare Abhängigkeit von der Konzentration besitzt. In der Tab. 2 sind die gefundenen Werte angegeben.

Tabelle 2

Bestimmung von HCH im Boden

Stationäre Phase: DMF:2-Phenoxyäthanol:Äther = 40:5:55, mobile Phase: n-Hexan, Werte sind Mittel von 6 Chromatogrammen

Bodenextrakt + techn. HCH µg	HCH-Isomeren µg					insgesamt wiedergefunden %
	β	δ	γ	α	ϵ *)	
100	10,5	9,7	13,8	55,8	4,0	94
120	12,2	10,6	16,8	66,0	5,7	93

*) ϵ -Isomere + Verunreinigungen.

Der Streubereich beträgt für 100 µg HCH $\pm 2,7$ µg und für 120 µg HCH $\pm 2,9$ µg.

Die Verwendung von Keilstreifen für eine semiquantitative Bestimmung ist nach den geschilderten Versuchen nur für die HCH-Isomeren zu empfehlen, da durch eine polarographische γ -HCH-Bestimmung im gleichen Extrakt das Chromatogramm geeicht werden kann.

¹¹⁾ M. BREZINA u. P. ZUMAN, Die Polarographie in der Medizin, Biologie und Pharmazie, Leipzig, 1956, S. 200.

Auswertung von Blättern

Bei der Verwendung von Blättern $14\text{ cm} \times 28\text{ cm}$ besteht die Möglichkeit, auf 6 Startpunkten nebeneinander Substanzen aufzutragen, im Gegensatz zu nur einem Startpunkt auf Keilstreifen. Es können so neben unbekanntem Extrakten bekannte Wirkstoffmengen aufgetragen und die unbekanntem Wirkstoffmengen auf diese bezogen werden. Voraussetzung ist natürlich die Kenntnis der Beziehung zwischen Farbintensität der Flecken und Wirkstoffmengen $E = f(c)$ für einen bestimmten Konzentrationsbereich.

Zur Ermittlung dieser Beziehung für DDT, Lindan und Chlordan wurden auf den 6 Startpunkten des Blattes steigende Wirkstoffmengen (in Aceton) aufgetragen. Die Flecken desselben Wirkstoffs erscheinen nach dem Bestrahlen nebeneinander und können in einem Streifen von $40 \times 140\text{ mm}$ erfaßt, ausgeschnitten und in den Klemmrahmen zur Auswertung im Gerät ERI 10 gespannt werden. Der Lichtstrahl tastet die zunehmend intensiv gefärbten Flecke ab. Da so DDT, Lindan und Chlordan allein erfaßt werden, können an Hand der Integralkurve die Anteile der steigenden Wirkstoffmengen ermittelt und in μg umgerechnet werden (die insgesamt aufgetragene Wirkstoffmenge ist bekannt).

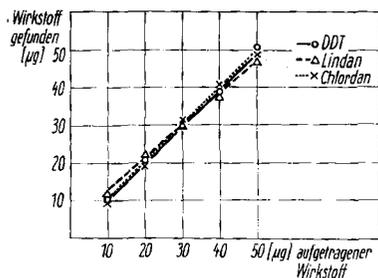


Abb. 4. Beziehung zwischen aufgetragener und gefundener Wirkstoff auf Blättern (DDT, Lindan, Chlordan)

Eine lineare Abhängigkeit der Extinktion von der Konzentration ist dann gegeben, wenn die gefundenen Werte (y) innerhalb zulässiger statistischer Grenzen um die vorgegebenen Werte (x) schwanken. Nach den Versuchen mit Keilstreifen konnte zunächst angenommen werden, daß dies auch bei der Verwendung von Blättern für einen bestimmten Bereich zutrifft.

Innerhalb von 10 bis $50\ \mu\text{g}$ ergibt sich für DDT, Lindan und Chlordan eine statistisch gesicherte lineare Beziehung $E = f(c)$. Die Regressionskoeffizienten liegen mit $0,92|0,91|0,91$ nahe 1 und zeigen eine günstige „straffe“ Korrelation an. Die Streubereiche ($P = 95\%$) der reinen Wirkstofflösungen schwanken zwischen $\pm 1,6$ und $\pm 2,7\ \mu\text{g}$.

Praktische Anwendung der Blätter

Die Eignung einer analytischen Methode zur Rückstandsbestimmung hängt vom Ausmaß der Wirkstoffverluste, die während der Extraktion, der Reinigung der Extrakte (Beseitigung von störenden Wachsen, Pigmenten, Fetten u. a.) und der eigentlichen Bestimmung auftreten. Dem zerkleinerten

Pflanzenmaterial wurden deshalb vor Zusatz des Extraktionsmittels (Petrol-äther) bekannte Wirkstoffmengen zugesetzt. Als Anwendungsbeispiel dienten Erbsen und Kartoffelkraut. Die Wahl entsprach aktuellen Problemen: Erbsen werden mit ölhaltigen Flugzeugsprühmitteln behandelt, die außerordentlich resistente Rückstandsbelege ergeben und Kartoffelkraut muß teilweise zur Fütterung von Nutztvieh herangezogen werden.

Für die Reinigung der Extrakte eignet sich die von HEINISCH und EL RAFIE¹²⁾ angegebene Oxydation mit Chromschwefelsäure und anschließendem Ausfrieren der Wachse in einer Kältemischung.

In Tab. 3 sind die in Extrakten gefundenen Mengen an DDT, Lindan und Chlordan angegeben.

Tabelle 3
Bestimmung von DDT, Lindan und Chlordan in Extrakten aus Erbsen und Kartoffelblättern

	Anzahl der Proben	zugesetzte Wirkstoffmengen µg					wiedergefunden %
		10	20	30	40	50	
gefunden µg							
DDT	10	11	19	29	39	51	95—110
Lindan	8	10,5	19	29	40	52	95—105
Chlordan	9	9	18	28	40	54	90—108

Die Streubereiche haben gegenüber den Versuchen mit reinen Wirkstofflösungen zugenommen, für ein papierchromatographisches Verfahren bleiben sie aber in vertretbaren Grenzen:

	Streubereich ± µg (P = 95%)	
	reine Lösungen	Extrakte
DDT	2,7	2,8
Lindan	2,6	2,9
Chlordan	1,6	1,9

Bei der papierchromatographischen Bestimmung der Chlorogensäure ermittelten TÄUFEL und VOIGT¹³⁾ Streubereiche bei gleichzeitig aufgetragenen Testsubstanzen von ± 5,9%. In den vorliegenden Untersuchungen von Erbsen- und Kartoffelkrautextrakten schwanken die Streubereiche zwischen 6,3 und 11,6%. Der Vergleich ist nicht ganz berechtigt, da TÄUFEL und VOIGT die Chlorogensäure eluieren und ohne weitere chemische Umsetzung im UV-

¹²⁾ E. HEINISCH u. M. S. EL RAFIE, Nachrichtenbl. Dt. Pflanzenschutzd. (Berlin) 16, 225 (1962).

¹³⁾ K. TÄUFEL u. J. VOIGT, Z. Lebensmittelunters. Forschg. 118, 481 (1963).

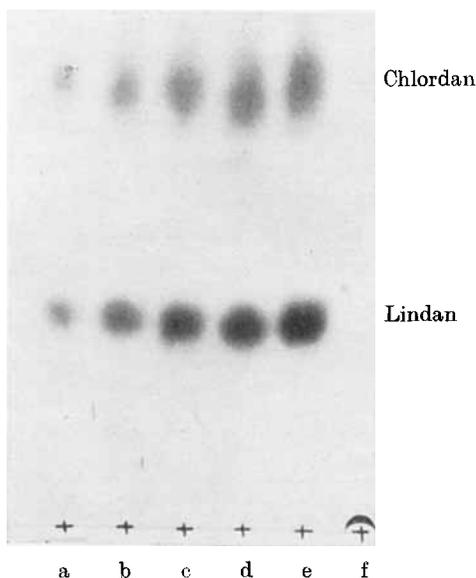


Abb. 5. Trennung von Lindan und Chlordan in Erbsenextrakten a–e: 10, 20, 30, 40, 50 µg, f: ohne Wirkstoff

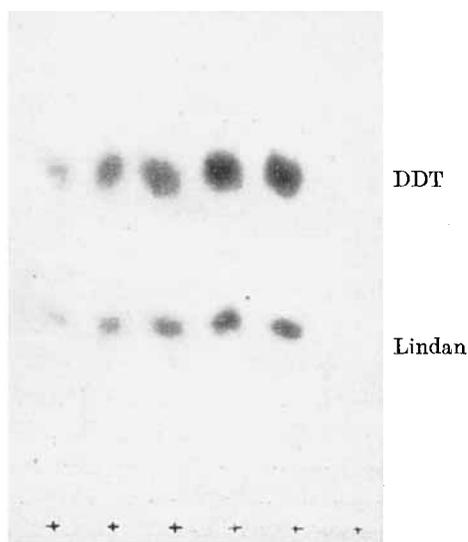


Abb. 6. Trennung von DDT und Lindan in Erbsenextrakten a–e: 10, 20, 30, 40, 50 µg, f: ohne Wirkstoff

Bereich die Absorption messen. Für DDT, Lindan und Chlordan besteht diese Möglichkeit nicht. Die angegebenen Werte zeigen aber, daß nicht wesentlich höhere (maximal 1,8fache) Streubereiche erhalten wurden.

Bei getrennt aufgestellten Standardkurven, wie sie für die Verwendung von Keilstreifen erforderlich sind, ergab sich bei TÄUFEL und VOIGT ein Streubereich von $\pm 16,9\%$ und in unseren Versuchen für DDT, Lindan und Chlordan über $\pm 30\%$. Derartige Schwankungen sind für eine semiquantitative Bestimmung nicht vertretbar. Auch im Falle der Bestimmung der HCH-Isomeren auf Keilstreifen war ja die „Eichung“ durch eine polarographische γ -HCH-Bestimmung erfolgt und keine getrennte Standardkurve aufgestellt worden. Es werden so die Einflüsse der Papiercharge, der Chemikalien, der Temperatur u. a. in einfacher Weise eliminiert.

Frl. E. GOTTSCHALCH und Frl. G. LINDNER danken wir für wertvolle Hilfe bei den technischen Arbeiten.

Kleinmachnow/Post Stahnsdorf, Biologische Zentralanstalt Berlin der Deutschen Akademie der Landwirtschaftswissenschaften zu Berlin.

Bei der Redaktion eingegangen am 4. November 1963.