

scan, National Instrument Company, Rockville, Md.). In a previous report, we demonstrated the usefulness of this instrument for agar-gel pherograms, as well as paper chromatograms<sup>6</sup>. Scanning of the thin-layer silica gels, in a similar manner, was now possible because of the greater adhesion between the gel and the etched glass plate. The per cent of each phospholipid fraction could be determined through scanning, and total phosphorus content could be measured on an aliquot of the same sample<sup>7</sup>. By this method, the amount of each phospholipid in a mixture could be calculated. Complete details of this method will be the subject of another report.

#### *Acknowledgements*

This investigation was supported in part by grants from National Institute of Health (NB-02235-04), Michigan Heart Association, and Michigan Cancer Foundation.

R. S. WOJTALIK was an M.C.F. summer fellow.

*Biochemistry Research Division,  
Chemistry Department, University of Detroit,  
Detroit, Mich. (U.S.A.)*

JON J. KABARA  
GINGER C. KABARA  
RAYMOND S. WOJTALIK

<sup>1</sup> E. STAHL, G. SCHROTER, G. KRAFT AND R. RENZ, *Pharmazie*, 11 (1956) 633.

<sup>2</sup> N. A. IZMAILOV AND M. S. SHRAIBER, *Farmatsiya*, No. 3 (1938) 1.

<sup>3</sup> J. G. KIRCHNER, J. M. MILLER AND G. I. KELLER, *Anal. Chem.*, 23 (1951) 420.

<sup>4</sup> V. P. SKIPSKI, R. F. PETERSON, J. SANDERS AND M. BARCLAY, *J. Lipid Res.*, 4 (1963) 227.

<sup>5</sup> W. DOIZAKI AND L. ZIEVE, *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 113 (1963) 91.

<sup>6</sup> J. J. KABARA, D. ZYSKOWSKI AND H. POKORNICKI, *Clin. Chem.*, in the press.

<sup>7</sup> G. R. BARTLETT, *J. Biol. Chem.*, 234 (1959) 466.

Received February 6th, 1964

*J. Chromatog.*, 15 (1964) 267-269

### **Beitrag zum Problem der Sichtbarmachung von chlorierten Insektiziden am Dünnschichtchromatogramm**

Die Papier- und Dünnschichtchromatographie (DC) wurde in den letzten Jahren immer mehr zur Abtrennung geringer Mengen von Pestiziden herangezogen. In Arbeiten auf dem Gebiete der Papierchromatographie (ausführliche Literaturübersichten<sup>1-6</sup>) wurden die Bedingungen der Abtrennung festgelegt und Vorschriften für die quantitative und semiquantitative Bestimmung gegeben.

Die Sichtbarmachung der Phosphor- und Thiophosphorsäureester am Papierchromatogramm ist verhältnismässig einfach da die besondere Beschaffenheit dieser Verbindungen verschiedene Reaktionen ermöglicht. Schwieriger gestaltet sich die Anfärbung und Unterscheidung der chlorierten Kohlenwasserstoffe.

MITCHELL UND PATTERSON<sup>7</sup> und MITCHELL<sup>8</sup> behandeln zu diesem Zweck das Chromatogramm, nach Auftrennung, mit Monoäthanolamin um dann mit Silbernitrat anzufärben. WINTERINGHAM und Mitarb.<sup>9</sup> verwenden Monoäthanolamin, Silbernitrat und ultraviolettes Licht. In späteren Arbeiten verwenden MITCHELL<sup>10,11</sup> wie auch MILLS<sup>12,13</sup> Silbernitrat (in einer 2-Phenoxyäthanolösung). Ein neuer Vorschlag<sup>14</sup>

besteht in der Verwendung von Methylgelb zum Besprühen der Papierchromatogramme und U.V.-Bestrahlung. Die chlorierten Pestizide erscheinen als rote Flecken welche nach einer Stunde verblassen.

Auf dem verhältnismässig jungem Gebiet der Dünnschichtchromatographie verwenden BÄUMLER UND RIPPSTEIN<sup>15</sup> eine Lösung von N,N-Dimethyl-*p*-phenylen-diaminhydrochlorid in Natriumäthylatlösung und setzen die Platten der Bestrahlung einer U.V.-Lampe aus.

PETROWITZ UND PASTUSCHKA<sup>16</sup> befassen sich eingehend mit der DC-Trennung chlorierter Kohlenwasserstoffe und verwenden die in der Papierchromatographie erprobte Anfärbung mit Monoäthanolamin, Silbernitrat und Bestrahlung.

WALKER UND BEROZA<sup>17</sup> erzielen die Sichtbarmachung am Dünnschichtchromatogramm indem sie die Platten mit Bromfluoreszein oder Silbernitrat behandeln und mit U.V.-Licht bestrahlen.

BONDI UND GUZMAN<sup>18</sup> und BONDI<sup>19</sup> beschreiben die Anwendung von Tüpfelreaktionen und untersuchen, nebst andern Fremdstoffen, auch chlorierte Insektizide in Lebensmitteln. Sie benützen in geänderter Form den von FEIGL<sup>20</sup> für Amine beschriebenen Tüpfelnachweis. Fluoreszeinchlorid und wasserfreies Zinkchlorid reagieren in diesem Nachweis mit dem Amin unter Freilegung von HCl und Bildung eines Rhodaminfarbstoffes. In der abgeänderten Form ersetzen die chlorierten Kohlenwasserstoffe das Fluoreszeinchlorid und als Reagenz dienen Diphenylamin und Zinkchlorid. Dieser Tüpfeltest ist positiv für Aldrin, Dieldrin, Toxaphen und DDT, während Lindan negative Resultate gibt.

Diese Farbreaktion wurde schon von CUETO<sup>21</sup> zur colorimetrischen Bestimmung von Dieldrin, von GRAUPNER UND DUNN<sup>22</sup> zur Bestimmung von Toxaphen-Rückständen und von MCKINLEY UND GRAHAM<sup>23</sup> zum Nachweis von Captan am Papierchromatogramm (nach Bestrahlung mit U.V.-Licht) angewandt.

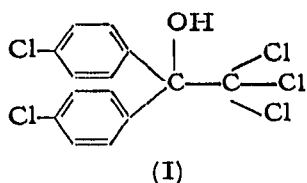
Auf der Suche nach einem geeigneten Anfärbemittel nach Auftrennung der chlorierten Insektizide am Dünnschichtchromatogramm konnten wir mit Diphenylamin-Zinkchlorid ausgezeichnete Resultate erzielen. Die Färbungen sind für eine ganze Reihe von chlorierten Insektiziden ausgesprochen charakteristisch und dadurch ist diese Arbeitsweise vorteilhafter als die oben beschriebenen. Es sind auch keine Vor- oder Nachbehandlungen nötig.

Nach Auftrennung werden die Platten mit dem Diphenyl-Zinkchlorid Reagenz besprüht und direkt in den auf 200° aufgeheizten Trockenschrank gebracht. Bereits nach einigen Minuten erscheinen die chlorierten Insektizide in charakteristischen Färbungen:

DDT	= rosa-rot;
Methoxychlor	= dunkelblau-schwarz;
CPCA (Kelthan)	= blattgrün;
Chlor-DDT	= rostbraun;
Captan	= grün bei 160°, braunlich bei 200°;
Toxaphen	= grau-grün.

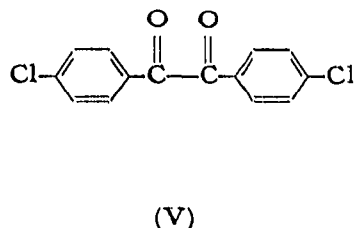
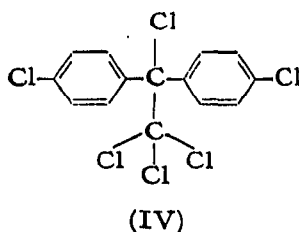
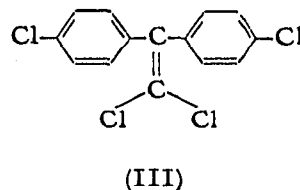
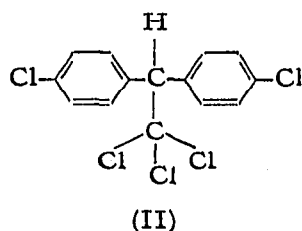
Die unterschiedliche Anfärbung und die einfache Arbeitsweise ermöglichen eine rasche und einwandfreie Identifizierung der Pestizide. Sie können auch zur Überwachung eines technologischen Verfahrens, zum Auffinden von interferierenden oder sonstigen chlorierten Begleitstoffen herangezogen werden.

An Hand eines Beispiels soll die Anwendung der beschriebenen Arbeitsweise zur Sichtbarmachung von Begleitstoffen eines Schädlingsbekämpfungsmittels gezeigt werden. In einer früheren Arbeit<sup>24</sup> wurde die Analyse des 1,1-Bis-(*p*-chlorphenyl)-2,2,2-trichloräthanol (CPCA, Acarin, Kelthan) (I), behandelt, ohne Angabe einer



Methode zur Ermittlung von Begleitstoffen. Die eventuellen Begleitstoffe dieses Acarizids waren DDT (II), DDE (III), Chlor-DDT (IV) und *p,p'*-Dichlordibenzoyl (V). Sämtliche Verbindungen können am Chromatogramm sichtbar gemacht werden.

Das CPCA (I), DDT (II) und Chlor-DDT (IV) geben charakteristische Färbungen



(siehe oben) mit dem Diphenylamin- $\text{ZnCl}_2$  Reagenz, das DDE (III) und *p,p'*-Dichlordibenzoyl (V) erscheinen nach besprühen mit Jod als hellbraune Flecken.

Ein von uns dargestelltes Gemisch der fünf genannten Verbindungen wurde nach Auftrennung (siehe  $R_F$  Werte Tabelle I) zunächst mit Jodlösung besprüht um das DDE und Dichlordibenzoyl zu identifizieren. Die anderen Stoffe sind mit Jod nicht anfärbbar.

Nach Entfernung des Jods mittels Erwärmung auf  $80^\circ$  werden die Platten mit dem Diphenylamin- $\text{ZnCl}_2$  Reagenz besprüht und auf  $200^\circ$  erhitzt um die restlichen Verbindungen (CPCA, DDT, Chlor-DDT) in ihren charakteristischen Anfärbungen sichtbar zu machen.

Das DDE und das *p,p'*-Dichlorbenzoyl können ebenfalls mit dem Diphenylamin- $\text{ZnCl}_2$  Reagenz sichtbar gemacht werden indem man die Platten, nach Besprühung und Erhitzung auf  $100^\circ$  dem U.V.-licht (Desaga UV-Strahler 700) aussetzt. Sie erscheinen als rosa, beziehungsweise gelbe Flecken.

Die untere Nachweisgrenze ist 3-4  $\gamma$  für CPCA und Captan, 1  $\gamma$  für Methoxychlor und Chlor-DDT und 2  $\gamma$  für DDT und Toxaphen.

TABELLE I  
R<sub>F</sub> WERTE

CPCA (I)	0.16
Chlor-DDT (IV)	0.96
<i>p,p'</i> -Dichlordibenzoyl (V)	0.50
DDE (III)	0.95

### Praktische Durchführung

Reagenzien: 0.5 g Diphenylamin und 0.5 g ZnCl<sub>2</sub> werden in 100 ml Aceton gelöst, 0.5 g Jod in 100 ml Chloroform.

Fliessmittel: Petroläther (40–60°)–CCl<sub>4</sub> (1:1).

Desaga Standardausrüstung. Mit Kiesegel G nach Stahl beschichtete 200 × 200 mm Platten; Schichtdicke 0.25 mm.

Nach Auftrennung (Kammersättigung mit Filterpapierstreifen) werden die Platten bei 70° 10 Minuten getrocknet, mit Diphenylamin–ZnCl<sub>2</sub> Reagenz besprüht und 5 Minuten bei 200° erhitzt (DDT, CPCA, Chlor-DDT, Captan, Methoxychlor und Toxaphen).

Zur Auffindung von DDE und Dichlordibenzoyl werden die Platten nach Auftrennung und Trocknung mit Jodlösung behandelt.

Der Autor dankt dem Generaldirektor der Makhteshim Chemical Works, Beer-Shewa für die erteilte Unterstützung und die Erlaubnis zur Veröffentlichung und Herrn Prof. A. BONDI für die zur Verfügung gestellten Arbeiten aus seinem Laboratorium.

Makhteshim Chemical Works Ltd., Beer-Shewa (Israel)

D. KATZ\*

- <sup>1</sup> W. E. WESTLAKE, *Anal. Chem.*, 33 (1961) 88R.
- <sup>2</sup> H. EGAN, *Rept. Progr. Appl. Chem.*, 46 (1961) 426.
- <sup>3</sup> G. LeMOAN, *Ann. Fals., Expert. Chim.*, (1962) 63.
- <sup>4</sup> W. E. WESTLAKE, *Anal. Chem.*, 35 (1963) 105R.
- <sup>5</sup> H. FREHSE UND H. NIESSEN, *Z. Anal. Chem.*, 192 (1963) 94.
- <sup>6</sup> M. GETZ, *Residue Rev.*, 2 (1963) 9.
- <sup>7</sup> L. C. MITCHELL UND W. I. PATTERSON, *J. Assoc. Offic. Agr. Chemists*, 36 (1953) 553.
- <sup>8</sup> L. C. MITCHELL UND W. I. PATTERSON, *J. Assoc. Offic. Agr. Chemists*, 37 (1954) 996.
- <sup>9</sup> F. P. W. WINTERINGHAM, A. HARRISON UND R. S. BRIDGES, *Nature*, 177 (1956) 86.
- <sup>10</sup> L. C. MITCHELL, *J. Assoc. Offic. Agr. Chemists*, 41 (1958) 781.
- <sup>11</sup> L. C. MITCHELL, *J. Assoc. Offic. Agr. Chemists*, 45 (1962) 683.
- <sup>12</sup> P. A. MILLS, *J. Assoc. Offic. Agr. Chemists*, 42 (1959) 734.
- <sup>13</sup> P. A. MILLS, *J. Assoc. Offic. Agr. Chemists*, 44 (1961) 175.
- <sup>14</sup> L. F. KRZEMINSKI UND W. A. LANDMANN, *J. Chromatog.*, 10 (1963) 515.
- <sup>15</sup> J. BAUMLER UND S. RIPPSTEIN, *Helv. Chim. Acta*, 44 (1961) 1162.
- <sup>16</sup> H. J. PETROWITZ UND J. G. PASTUSCHKA, *Chemiker Ztg.*, 85 (1961) 867.
- <sup>17</sup> K. C. WALKER UND M. BEROZA, *J. Assoc. Offic. Agr. Chemists*, 46 (1963) 250.
- <sup>18</sup> A. BONDI UND J. GUZMAN, *Analytical Chemistry 1962* (Proceedings Feigl Anniversary Symposium, Birmingham), Elsevier, Amsterdam, 1963, p. 73.
- <sup>19</sup> A. BONDI, *Talanta*, 10 (1963) 679.
- <sup>20</sup> F. FEIGL, *Spot Tests in Organic Analysis*, Elsevier, Amsterdam, 1960, p. 275.
- <sup>21</sup> D. M. CUETO, *J. Agr. Food Chem.*, 8 (1960) 273.
- <sup>22</sup> A. J. GRAUPNER UND C. L. DUNN, *J. Agr. Food Chem.*, 8 (1960) 286.
- <sup>23</sup> W. MCKINLEY UND S. J. GRAHAM, *J. Assoc. Offic. Agr. Chemists*, 43 (1960) 89.
- <sup>24</sup> D. KATZ, *Z. Anal. Chem.*, 195 (1963) 258.

Eingegangen den 5. Februar 1964

\* Anschrift: Tivon, 9 Shoshanimstr., Israel.