

## Zum Nachweis des Schädlingbekämpfungsmittels E 605\*.

Von

J. Derkosch, H. Jansch, R. Leutner und F. X. Mayer.

Aus dem Chemischen Laboratorium des Institutes für gerichtliche Medizin und dem I. und II. Chemischen Laboratorium der Universität Wien.

Mit 4 Abbildungen.

(Eingelangt am 26. April 1954.)

Es wird gezeigt, daß es durch Wasserdampfdestillation auf einfache Weise möglich ist, E 605 aus Organteilen oder Speiseresten abzutrennen. Liegen größere Konzentrationen an E 605 vor, gelingt es, durch die Aufnahme des UR-Spektrums des Ätherextrakts des Wasserdampfdestillats im Bereiche der Molekül-Gerüstfrequenzen das E 605 in Substanz nachzuweisen. Darüber hinaus kann mit Hilfe des UR-Spektrums eine Entscheidung getroffen werden, ob der Methyl- oder Äthylester angewandt wurde. Größenordnungsmäßig geringere Konzentrationen an E 605 lassen sich im Wasserdampfdestillat durch das UV-Absorptionsspektrum bestimmen. Eine Entscheidung zwischen Methyl- und Äthylester ist jedoch so nicht möglich.

Die in den letzten Jahren steigende Verwendung von Insektiziden auf der Basis der von *G. Schrader* und Mitarbeitern<sup>1</sup> 1944 erstmals dargestellten Ester der Thiophosphorsäure gab Anlaß, daß sich auch der toxikologische Analytiker mit diesen Stoffen eingehend beschäftigen mußte. So hat besonders in der letzten Zeit das Schädlingbekämpfungsmittel E 605 — der O,O-Diäthylthiophosphorsäure-O-p-nitrophenylester bzw. der entsprechende O,O-Dimethylthiophosphorsäureester (im folgenden als Diäthyl- bzw. Dimethylester bezeichnet) — nicht nur zu Selbsttötungen, sondern auch zu verbrecherischen Taten Verwendung gefunden.

Die Toxizität besonders des Diäthylesters wurde des öfteren pharmakologisch überprüft. Nach *Berg* und *Maier*<sup>2</sup> ist dessen akute Giftigkeit bei

\* Herrn Prof. Dr. *L. Ebert* zu seinem 60. Geburtstag gewidmet.

<sup>1</sup> *G. Schrader*, Die Entwicklung neuer Insektizide auf Grundlage organischer Fluor- und Phosphorverbindungen. Verlag Chemie (Monographien Nr. 62), 1952. Vgl. auch E 605, seine Eigenschaften und seine Wirkung. „Bayer“ Pflanzenschutz, Leverkusen.

<sup>2</sup> *S. P. Berg* und *F. Maier*, Dtsch. Z. gerichtl. Med. **40**, 335 (1951).

oralen Verabreichung an Warmblütler etwa jener des Nikotins gleichzusetzen. Im Schrifttum wird aber auch des öfteren darauf hingewiesen, daß eine akute Gefährdung von Menschen nur bei unsachgemäßer Handhabung zu befürchten ist. Eine chronische Gefährdung wird als gering bezeichnet.

Der Nachweis bzw. die Bestimmung von E 605 wurde bisher in der Literatur zwar häufig beschrieben, jedoch sind alle diese Methoden für den toxikologischen Analytiker nicht befriedigend. Bei der überwiegenden Zahl dieser Arbeiten — z. B. bei *P. Reckendorfer*<sup>3</sup> oder *M. Schönamsgruber*<sup>4</sup> — handelt es sich um solche, bei welchen der Gehalt an Wirksubstanz in handelsüblichen Präparaten zu bestimmen ist. Oder es werden Methoden beschrieben, die an sich wohl sehr empfindlich, in der toxikologischen Analyse aber wegen der großen Zahl der dabei auftretenden Störstoffe nicht oder nur beschränkt angewandt werden können. So bestimmen *Averell* und *Norris*<sup>5</sup> E 605 nach Reduktion zum Amin, Diazotierung und Kupplung auf kolorimetrischem Wege. Dabei stören natürlich alle diazotier- und kuppelbaren Verbindungen, wie solche vor allem bei der Aufarbeitung von Leichenmaterial sich in der Regel in unkontrollierbarer Art und Menge bilden. *Schwerd* und *Schmidt*<sup>6</sup> weisen E 605 im Blut über das Spaltprodukt p-Nitrophenol nach, welches in alkalischer Lösung noch in hoher Verdünnung eine Gelbfärbung gibt. Diese Methode befriedigt aber nicht hinsichtlich ihrer Spezifität, da — wie *H. Jansch* und *F. X. Mayer* wiederholt nachweisen konnten — eine schwache, aber deutliche Gelbfärbung beim Erhitzen von Extrakten aus Organmaterial im alkalischen Milieu immer auftritt; auch dann, wenn mit Sicherheit die Abwesenheit von p-Nitrophenol gegeben ist. Die Intensität der Färbung ist nach unseren Erfahrungen stark vom Fäulnisgrad des Untersuchungsmaterials abhängig. Eine weitere Beeinflussung tritt bei Anwesenheit von pflanzlichem Material bzw. Abbauprodukten desselben auf. So zeigten Trichloressigsäureauszüge aus Gemüsebrei beim Erhitzen mit Kalilauge eine zitronengelbe Färbung, obwohl mit Sicherheit kein E 605 vorhanden war.

Der Nachweis von p-Nitrophenol läßt sich nach unseren Erfahrungen besser und eindeutiger mit einer Reaktion führen, bei der das Phenol in benzolischer Lösung mit Rhodamin B einen roten Farbstoff mit roter Fluoreszenz ergibt. Nach *Feigl*<sup>7</sup> reagiert Rhodamin B nur mit p-Nitrophenol.

Die Geruchsprobe — der Diäthylester und nur dieser zeigt einen starken knoblauchähnlichen Geruch — kann natürlich nur als weiterer Hinweis betrachtet werden und insbesondere bei Leichenteilen versagen; darüber hinaus kann, wie erwähnt, der Dimethylester auf diesem Wege nicht erkannt werden.

Wir haben uns nun bemüht, vor allem unter Zuhilfenahme spektrochemischer Methoden den Nachweis der Thiophosphorsäureester als solche in toxikologischem Material zu führen, wie dies im Hinblick auf strafrechtliche Gesichtspunkte wünschenswert erschien. Der Idealfall des toxikologischen Nachweises, nämlich Isolierung der reinen Substanz, dürfte hier wegen der meist geringen Mengen und der chemischen Instabilität der Ester in der Regel nicht möglich sein. Wir sind uns darüber im klaren, daß auch die von uns angegebene Methode noch nicht völlig befriedigt, immerhin ist die Erfassung der selektiven Lichtabsorption einer Substanz ein für sie charakte-

<sup>3</sup> *P. Reckendorfer*, Pflanzenschutzber. **5**, 287 (1950).

<sup>4</sup> *M. Schönamsgruber*, Z. analyt. Chem. **135**, 23 (1952).

<sup>5</sup> *P. R. Averell* und *M. V. Norris*, Analyt. Chemistry **20**, 753 (1948).

<sup>6</sup> *W. Schwerd* und *G. Schmidt*, Dtsch. med. Wschr. **77**, 372 (1952).

<sup>7</sup> Herrn Prof. Dr. *F. Feigl*, Rio de Janeiro, möchten wir auch an dieser Stelle für seinen freundlichen Hinweis auf diese Reaktion danken.

ristisches Spezifikum. Die Untersuchungen werden von uns noch weitergeführt und wir werden gegebenenfalls an anderer Stelle über weitere Ergebnisse berichten.

Prinzip des von uns angewandten Verfahrens ist die Abtrennung der Ester durch Wasserdampfdestillation des toxikologischen Materials, Ausäthern und Bestimmung der Lichtabsorption im UV und UR. Trotz

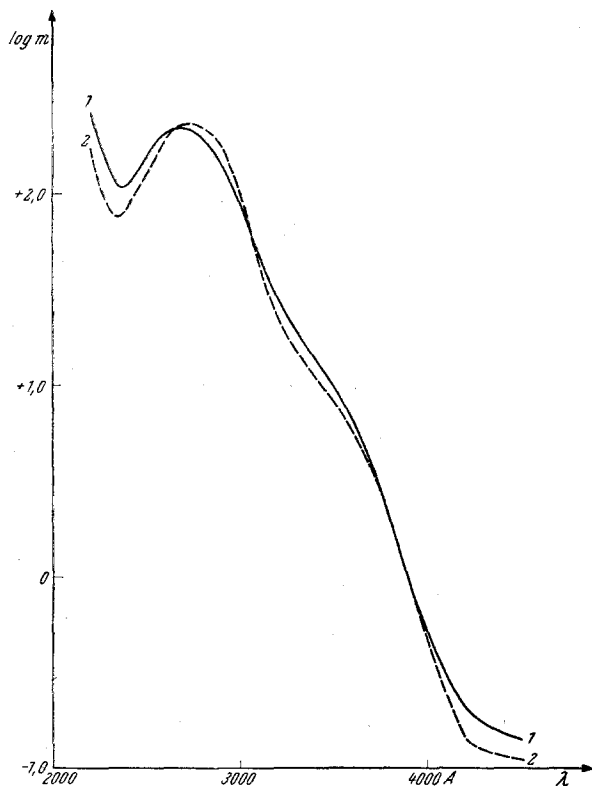


Abb. 1. 1: E 605-forte, zirka 13,9 g/l in Äthanol. 2: E 605-forte, Wasserdampfdestillat, ausgeäthert, in Äthanol.

der Angaben über die geringe Flüchtigkeit der Ester gelingt es auf diesem Wege, diese unzersetzt zumindest zu etwa 70% überzutreiben. Dies konnten wir an Hand von Testversuchen eindeutig nachweisen. Nun stellt das handelsübliche E 605-forte eine Mischung aus dem Diäthylester und einem Emulgator etwa im Verhältnis 1 : 1 dar. Bei der Wasserdampfdestillation bleibt dieser Emulgator nahezu quantitativ im Destillationsgut zurück und stört bei der nachfolgenden absorptions-spektralanalytischen Bestimmung kaum mehr. Abb. 1 zeigt die Absorptionskurve des E 605-forte in alkoholischer Lösung vor und

nach der Destillation mit Wasserdampf. Der geringe Unterschied der Extinktionshöhe ist durch Konzentrationsunterschiede der angewandten Lösung bedingt. Vergleicht man aber die Absorptionskurve des Wasserdampfdestillats mit jener des reinen Diäthylesters in Abb. 3, so zeigt sich, daß nahezu reiner Diäthylester übergetrieben wurde.

Wir möchten unser Verfahren im folgenden an Hand eines konkreten Beispiels beschreiben. Im vorliegenden Falle handelte es sich um den Nachweis und die Bestimmung von E 605 in Leichenteilen bzw. in Lebensmitteln, die der Verstorbene kurz vor seinem Tode zu sich genommen hatte. Außerdem war aus strafrechtlichen Gründen zu klären, ob das sogenannte E 605-forte oder die weniger wirksame Dimethylverbindung in Form von E 605-Staub zur Tat angewandt worden ist. Die Entscheidung darüber, welches der beiden Insektenvertilgungsmittel im vorliegenden Falle angewandt worden ist, war durch das Vorliegen von Resten der Speise, deren Genuß offenbar den Tod herbeigeführt hatte, erleichtert worden. Man wird wohl in nahezu allen Fällen — in denen eine Vergiftung mit E 605 beabsichtigt war — auf Speisen zurückgreifen können; es wird in diesen in der Regel eine wesentlich größere Konzentration des Esters vorhanden sein als in Leichenteilen, was natürlich die Analyse sehr erleichtert.

Zur Entscheidung, welcher der beiden Ester angewandt wurde, wurden 50 g der Speisenreste mit verd. Schwefelsäure schwach angesäuert und so lange mit Wasserdampf destilliert, bis das Destillat mit Kalilauge keine merkliche Gelbfärbung mehr zeigte. Auf diese Weise wurden 5500 ml Destillat erhalten, welches durch die wasserdampf-flüchtigen Fettsäuren getrübt war. Das Destillat wurde nun ausgeäthert; in einem aliquoten Teil kann nach Abdampfen des Äthers mit Salpetersäure oxydiert und nach Schmelzen mit Natriumkaliumkarbonat die Phosphorsäure bestimmt werden.

Unter der Annahme, daß der gesamte wasserdampf-flüchtige Phosphor aus dem E 605 stammt — eine Annahme, die bei Organteilen nicht immer richtig ist —, kann daraus der Gehalt an E 605 in der Probe errechnet werden. Ist die Phosphormenge in der Probe so gering, daß z. B. nur eine kolorimetrische Bestimmung in Frage kommt, ist aus den bereits angedeuteten Gründen eine solche Umrechnung zumindest problematisch. Der Umrechnungsfaktor auf den Diäthylester beträgt bei einer Auswaage an Ammoniumphosphormolybdat (bei 160 bis 180° getrocknet) 0,1537, für den Dimethylester 0,1389.

Ein weiterer aliquoter Teil der ätherischen Lösung wurde mit Natriumsulfat getrocknet und der Äther anschließend abgedampft. Der ölige braune Rückstand wurde in Tetrachlorkohlenstoff gelöst und durch Verdunstenlassen dieser Lösung auf Kochsalzplättchen auf diese ein dünner Film aufgebracht. Davon wurde mit einem *Perkin-Elmer*-UR-Spektrographen, Modell 12 C, das UR-Spektrum aufgenommen.

Es war ja zu erwarten gewesen, daß sich die beiden Ester im UV-Absorptionsspektrum nicht charakteristisch unterscheiden, wie wir weiter unten noch zeigen werden, jedoch schien ein wenn auch geringer Unterschied der UR-Spektren wahrscheinlich. Bekannt war bisher

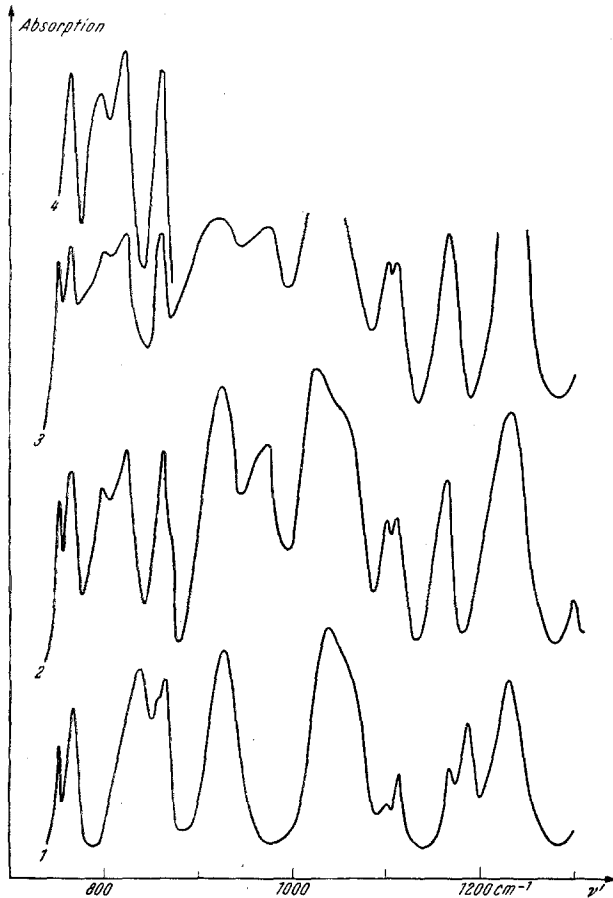


Abb. 2. 1: O,O-Dimethylthiophosphorsäure-O-p-nitrophenylester. 2: O,O-Diäthylthiophosphorsäure-O-p-nitrophenylester. 3: Wasserdampfdestillat von Speiseresten. 4: Wie Kurve 3, nur vorher mit Bariumchloridlösung ausgeschüttelt.

lediglich das Spektrum des Diäthylesters. Gore<sup>8</sup> hatte diese Substanz im Rahmen einer Arbeit über die P → O- und P → S-Bindung in den Kreis seiner Betrachtungen miteinbezogen. Wir haben die Absorption beider Substanzen<sup>9</sup> im UR vermessen. Die Kurven 1 und 2 der Abb. 2

<sup>8</sup> R. C. Gore, Discuss. Faraday Soc. 9, 138 (1950).

<sup>9</sup> Wir möchten an dieser Stelle Herrn Dr. G. Schrader, Leverkusen, für die Überlassung des reinen Diäthylesters, Herrn Doz. Dr. Beran von der

geben die Absorptionskurven im Bereiche von 750 bis 1300  $\text{cm}^{-1}$  wieder, in welchem auch deutlich die Unterschiede zu ersehen sind. Charakteristisch erscheint das Auftreten einer zusätzlichen Bande bei 1185  $\text{cm}^{-1}$  für den Dimethylester, bei 960 und 796  $\text{cm}^{-1}$  für den Diäthylester. Darüber hinaus möge erwähnt werden, daß die intensive Bande bei 824  $\text{cm}^{-1}$  für den Diäthylester und bei 836  $\text{cm}^{-1}$  für den Dimethylester wohl nur eine  $\gamma$ -Frequenz der H-Atome des p-substituierten Benzolringes darstellen kann. Auffällig ist dabei der Unterschied zwischen den beiden Frequenzen und auch die Diskrepanz gegenüber dem Normwert dieser Frequenz<sup>10</sup>.

Kurve 3 dieser Abbildung zeigt nun das UR-Spektrum des auf die beschriebene Weise aufgearbeiteten Speisenrestes. Es ist deutlich das Auftreten der beiden für den Diäthylester charakteristischen Banden bei 796 und 960  $\text{cm}^{-1}$  zu sehen. Besonders die erstgenannte Bande tritt verstärkt hervor, wenn die ätherische Lösung der Probe vor dem Trocknen noch mit Bariumchloridlösung geschüttelt wird; dies zeigt die Kurve 4 der Abb. 2.

Versuche, mit Hilfe des UR-Spektrums das E 605 auch in Organen, wie z. B. Blut oder Mageninhalte, nachzuweisen, scheiterten offenbar infolge der zu geringen Konzentration an E 605 darin. Es ist aber durchaus möglich, daß bei massiveren Vergiftungen ausreichende Konzentrationen auftreten<sup>11</sup>.

Im vorliegenden Falle war auf diese Weise die Verwendung des Diäthylesters nachgewiesen. Als Kontrolle wurde eine Aschenbestimmung der vergifteten Speise vorgenommen. Wäre E 605-Staub, also der Dimethylester als Tatmittel angewandt worden, dann hätte infolge des hohen Gehaltes an Talkum (zirka 98%) in diesem Präparat der Aschengehalt bedeutend erhöht und in der Asche beträchtliche Mengen an  $\text{SiO}_2$  nachweisbar sein müssen. Der ermittelte Aschengehalt entsprach quantitativ und qualitativ weitgehend der „normalen“ Asche dieser Speise.

Hingegen ergab das UV-Absorptionsspektrum die Möglichkeit, geringe Mengen von E 605 als solches in Organen nachzuweisen. Es wurde nämlich schon vor längerer Zeit von dem einen von uns

---

landwirtschaftlichen Untersuchungsanstalt in Wien, II., für die Überlassung des Dimethylesters bestens danken.

<sup>10</sup> H. Dannenberg, U. Schiedt und W. Steidle, Z. Naturforsch. 8 b, 269 (1953).

<sup>11</sup> Nach Abschluß dieser Mitteilung ist es uns in letzter Zeit gelungen, bei einer massiven Vergiftung mit E 605 den Ester im Wasserdampfdestillat sowohl des Mageninhaltens wie des Blutes durch das UV- und UR-Spektrum einwandfrei nachzuweisen. Damit ist aber auch der Beweis erbracht, daß zumindest ein Teil des Esters unzersetzt — es tritt auch keine Sprengung der Esterbildung ein — resorbiert wird. Weitere Schlüsse aus diesem Befunde möchten wir uns noch vorbehalten.

(F. X. M.)<sup>12</sup> auf eine ähnliche Weise Nitrobenzol im toxikologischen Material nachgewiesen und bestimmt. Wenn wir auch das Problem

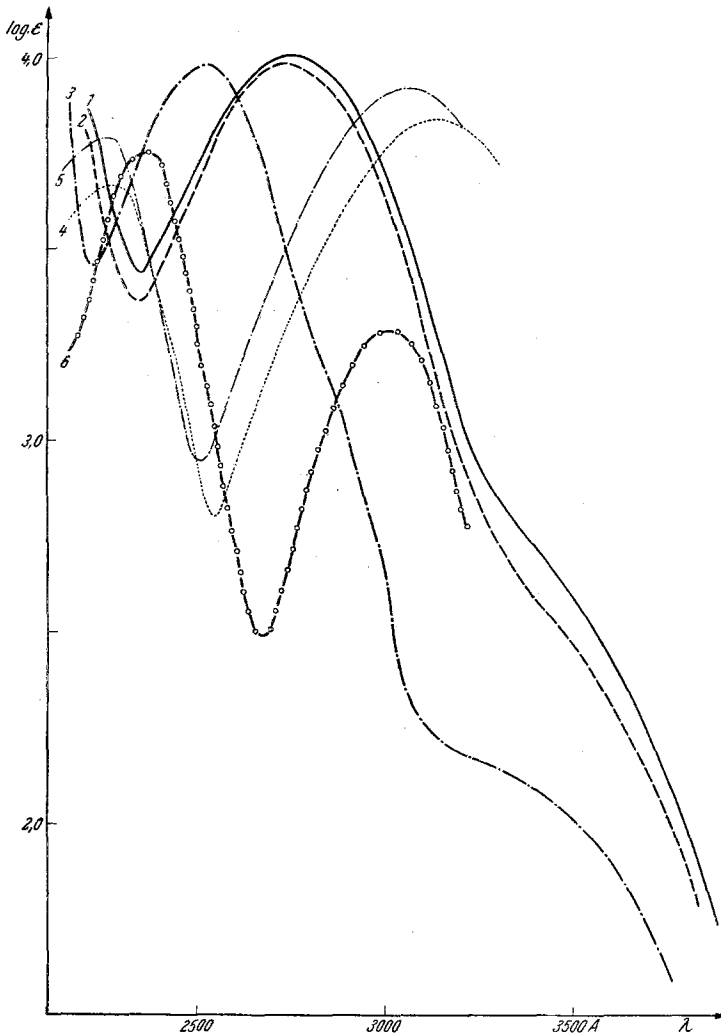


Abb. 3. 1: E 605-Diäthylester in Äthanol. 2: E 605-Dimethylester in Äthanol. 3: Nitrobenzol in Normalbenzin. 4: p-Nitrophenol in Äthanol. 5: p-Nitroanisol in Äthanol. 6: p-Anisidin in Äthanol.

der Störstoffe noch nicht restlos überwunden haben, konnten wir in günstigeren Fällen doch zu Erfolg kommen. Wie erwähnt, sind unsere Versuche in dieser Hinsicht noch nicht abgeschlossen.

<sup>12</sup> F. X. Mayer, Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. **32**, 398 (1940).

In jüngster Zeit erhielten wir Kenntnis von zwei Arbeiten über die UV-Absorptionsspektrographische Bestimmung von E 605. Da es sich hierbei um die Untersuchung von Luft<sup>13</sup> bzw. von technischen Produkten<sup>14</sup> handelt, ist das Problem der Störstoffe gegenüber der Analyse toxikologischen Materials wesentlich einfacher, resp. werden solche nicht berücksichtigt<sup>13</sup>.

Die Abb. 3 gibt die Absorptionsspektren der beiden Ester und verwandter Stoffe wieder. Mit Ausnahme des Nitrobenzols wurde Alkohol als Lösungsmittel angewandt; das Nitrobenzol war in Normalbenzin gelöst. In Alkohol liegt die Absorption des Nitrobenzols bei um etwa 100 Å längeren Wellen<sup>15</sup>. Die an sich wohlbekannten Spektren der

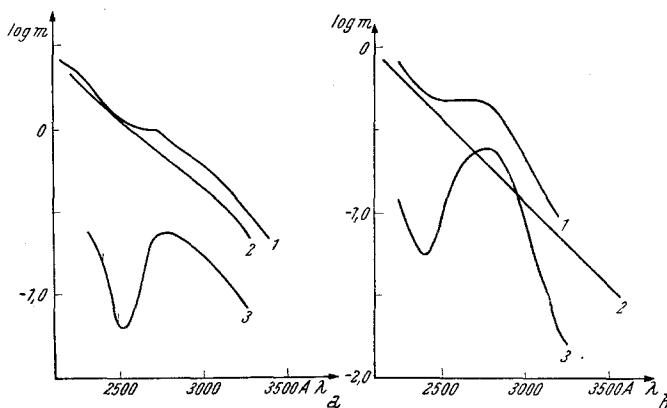


Abb. 4. a) 1: Ätherextrakt des Wasserdampfdestillats eines Mageninhaltes. 2: Absorption der Störstoffe. 3: Durch Abzug der Störstoffe erhaltene Kurve der wirksamen Substanz. b) 1: Ätherextrakt des Wasserdampfdestillats eines Speiserestes. 2: Absorption der Störstoffe. 3: Durch Abzug der Störstoffe erhaltene Kurve der wirksamen Substanz.

phosphorfreien Verbindungen haben wir lediglich zu Vergleichszwecken in den Kreis unserer Betrachtungen miteinbezogen, die Spektren wurden zur Kontrolle zumindest teilweise von uns erneut aufgenommen. Das Anisidin haben wir deshalb aufgenommen, da eine Reduktion der Nitrogruppe des E 605 z. B. bei der Fäulnis von Organteilen möglich scheint und wir in dieser Richtung eine Modellsubstanz heranziehen wollten.

Vergleicht man die Absorptionsspektren von Nitrobenzol<sup>12, 15</sup>, p-Nitrophenol<sup>16</sup> und der beiden Ester, so fällt die weitgehende Übereinstimmung im Habitus der Absorptionskurven auf. Dies ist ohne weiteres verständlich, wenn man bedenkt, daß wohl überwiegend der Nitrophenyl-

<sup>13</sup> R. C. Hirt und J. B. Gisclard, *Anal. Chemistry* **23**, 185 (1951).

<sup>14</sup> F. Sokol, *Chemické Zvesti-Bratislava* **7**, 429 (1953).

<sup>15</sup> *Landolt-Börnstein*, Physikalisch-chemische Tabellen, III. Erg.-Bd., Teil 2, S. 1397.

<sup>16</sup> *Landolt-Börnstein*, Physikalisch-chemische Tabellen, II. Erg.-Bd., Teil 2, S. 695.



rest für den spektralen Charakter der Absorption maßgebend ist. Substitution in p-Stellung zur Nitrogruppe führt zu einer bathochromen Verschiebung der gesamten Absorption, am geringsten bei den beiden Estern, am stärksten beim Nitrophenol selbst.

An Hand von zwei konkreten Beispielen möge schließlich gezeigt werden, wie weit wir die Nachweisempfindlichkeit bis jetzt treiben konnten. Die absorptionsspektroskopische Bestimmung des Diäthylesters in Lebensmittelresten — welche durch das UR-Spektrum untersucht wurden — bietet nichts Besonderes und möge hier nicht näher ausgeführt sein. Hingegen soll kurz gezeigt werden, daß es möglich ist, im UV-Gebiet gegenüber dem UR die Nachweisempfindlichkeit zu steigern. Abb. 4a zeigt die Absorption des Mageninhaltes des Verstorbenen. Der Mageninhalt wurde dabei auf die prinzipiell gleiche Weise aufgearbeitet, wie dies bei der UR-Analyse der Speisereste beschrieben wurde. Die relativ hohe Konzentration an bisher nicht entfernbaren Störstoffen verschmieren den Absorptionsverlauf stark. Zieht man in bekannter Weise<sup>17</sup> die Absorption der Störstoffe ab, so kommt man in guter Näherung zum Absorptionsverlauf des Esters. Damit ist dieser in Substanz im Mageninhalt nachgewiesen und kann zumindest größenordnungsmäßig die Konzentration des Esters daraus ermittelt werden. In dem hier beschriebenen Fall ergaben sich 0,29 mg%. Damit ist aber auch bewiesen, daß der Ester selbst im Organismus nur langsam zersetzt wird. Wir glauben, annehmen zu dürfen, daß der Ester zumindest teilweise unzersetzt primär resorbiert wird (vgl. Anm. 11 auf S. 689). Abb. 4b zeigt den Absorptionsverlauf des Wasserdampfdestillats von Lebensmittelresten — gleicher Art wie jene, welche der Verstorbene zu sich genommen hatte — und die ebenfalls verdächtig waren, E. 605 zu enthalten. Nach Abzug der Störstoffe errechnet sich daraus auf analoge Weise, wie oben erwähnt, ein Gehalt von 8,14 mg% E 605. Vergleichsweise sei erwähnt, daß in den Lebensmittelresten aus dem Besitze des Verstorbenen (vgl. die UR-Spektren) rund 1000 mg% E 605 gefunden wurden.

Die UV-Absorptionsspektren wurden mit einem *Beckman*-Spektrophotometer, Modell DU, aufgenommen.

<sup>17</sup> F. X. Mayer, Österr. Chem.-Ztg. 49, 156 (1948).