

- [56] C. A. Bache u. D. J. Lisk, *J. Gas Chromatogr.* 6, 301 (1968).
- [57] W. A. Aue, C. W. Gehrke, R. C. Tindle, D. L. Stalling u. D. D. Ruyle, *J. Gas Chromatogr.* 5, 381 (1967).
- [58] C. H. Hartmann, *J. Chromatogr. Sci.* 7, 163 (1969).
- [59] W. Ebing, *Chromatographia* 1, 382 (1968).
- [60] V. V. Brazhnikov, M. V. Gur'ev u. K. I. Sakodinsky, *Chromatogr. Rev.* 12, 1 (1970).
- [61] M. Donike, L. Jaenicke, D. Stratman u. W. Hollmann, *J. Chromatogr.* 52, 237 (1970).
- [62] R. C. Tindle, C. W. Gehrke u. W. A. Aue, *J. Ass. Offic. Anal. Chem.* 51, 682 (1968).
- [63] L. Fishbein, *Chromatogr. Rev.* 12, 167 (1970).
- [64] H. J. Jarczyk, *Pflanzenschutz-Nachr. „Bayer“* 25, 21 (1972).
- [65] L. Fishbein u. W. L. Zielinski, Jr., *Chromatographia* 2, 38 (1969).
- [66] D. C. Fenimore u. C. M. Davis, *J. Chromatogr. Sci.* 8, 519 (1970).
- [67] R. J. Maggs, P. L. Joyner, A. J. Davies u. J. E. Lovelock, *Anal. Chem.* 43, 1966 (1971).
- [68] W. L. Zielinski, Jr., L. Fishbein u. L. Martin, Jr., *J. Gas Chromatogr.* 5, 552 (1967).
- [69] H. P. Burchfield u. D. E. Johnson: Guide to the Analysis of Pesticide Residues. U.S. Department of Health, Education, and Welfare, Washington 1965, Band 1.
- [70] M. Smith, H. Suzuki u. M. Malina, *J. Ass. Offic. Anal. Chem.* 48, 1164 (1965).
- [71] W. H. Gutenmann u. D. J. Lisk, *J. Ass. Offic. Anal. Chem.* 48, 1173 (1965).
- [72] G. Yip u. S. F. Howard, *J. Ass. Offic. Anal. Chem.* 51, 24 (1968).
- [73] J. M. Devine u. G. Zweig, *J. Ass. Offic. Anal. Chem.* 52, 187 (1969).
- [74] W. H. Gutenmann u. D. J. Lisk, *J. Agr. Food Chem.* 11, 304 (1963).
- [75] J. E. Scoggins u. C. H. Fitzgerald, *J. Agr. Food Chem.* 17, 156 (1969).
- [76] A. Bevenue u. J. N. Ogata, *J. Chromatogr.* 46, 110 (1970).
- [77] D. G. Crosby u. J. B. Bowers, *J. Agr. Food Chem.* 16, 839 (1968).
- [78] I. Baunok u. H. Geissbühler, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 3, 7 (1968).
- [79] W. H. Gutenmann u. D. J. Lisk, *J. Agr. Food Chem.* 12, 46 (1964).
- [80] A. Guardigli, W. Chow u. M. S. Lefar, *J. Agr. Food Chem.* 20, 348 (1972).
- [81] Siehe [34], dort Kapitel 29.
- [82] Méthodes officielles de recherche des résidus de pesticides. Journal officiel de la République Française, No. 68–191 vom 3. Dez. 1968.
- [83] GDCh-Arbeitsgruppe „Pestizide“, 1. Empfehlung vom 1. März 1971; Mitt. GDCh-Fachgruppe Lebensmittelchemie 25, 129 (1971).
- [84] H.-P. Thier, *Deut. Lebensm.-Rundsch.* 68, 345 (1972).
- [85] H.-P. Thier, *Deut. Lebensm.-Rundsch.* 66, 393 (1970).
- [86] H.-P. Thier, *Deut. Lebensm.-Rundsch.* 68, 397 (1972).
- [87] D. E. Glotfelty u. J. H. Caro, *Anal. Chem.* 42, 282 (1970).
- [88] D. E. Ott, G. Formica, G. F. Liebig, Jr., D. O. Eberle u. F. A. Gunther, *J. Ass. Offic. Anal. Chem.* 54, 1388 (1971).
- [89] W. D. Hörmann, G. Formica, K. Ramsteiner u. D. O. Eberle, *J. Ass. Offic. Anal. Chem.* 55, 1031 (1972).
- [90] R. R. Laski u. R. R. Watts, *J. Ass. Offic. Anal. Chem.* 56, 328 (1973).
- [91] C. Parouchais, *J. Ass. Offic. Anal. Chem.* 56, 831 (1973).
- [92] W. P. Cochrane u. R. Purkayastha, *Toxicol. Environ. Chem. Rev.* 1, 137 (1973).

## Spurenanalyse organischer Verbindungen<sup>[\*\*]</sup>

Von Klaus Beyermann<sup>[\*]</sup>

Die Spurenanalyse organischer Verbindungen bietet im Vergleich zur Spurenanalyse anorganischer Verbindungen eine Reihe zusätzlicher Schwierigkeiten. So tauchen (etwa wegen der Instabilität vieler organischer Verbindungen) besondere Probleme bei der Probenahme und Probenaufbewahrung auf. Ebenso schwierig sind die Auswahl geeigneter, schonender Trennmethoden und die Festlegung hochempfindlicher, molekülspezifischer Bestimmungsverfahren.

### 1. Einleitung

Die Spurenanalyse organischer Komponenten wurde bisher recht wenig beachtet: So gibt es zum Beispiel kaum ein Lehrbuch dieses Arbeitsgebietes, und auf den einschlägigen Tagungen befaßt sich die Mehrzahl der Vortragenden mit den – sicherlich großen – Problemen der Spurenanalyse anorganischer Verbindungen. Diese verhältnismäßig bescheidene Einstufung steht im Widerspruch zu der großen Bedeutung der organischen Verbindungen und wird vollends unverständlich, wenn man ihre Anzahl mit der der anorganischen Stoffe vergleicht.

Man kann sich mehrere Gründe für diese geringe Repräsentanz überlegen. So könnten als mögliche Erklärung gelten: „Die Spurenanalyse organischer Verbindungen ist nicht wichtig“ oder „Die Spurenanalyse organischer Verbindungen ist zwar wichtig, aber sehr schwierig“.

Wenn man sich der zweiten Aussage anschließt, dann müßten zwei Behauptungen bewiesen werden:

1. Die Spurenanalyse organischer Verbindungen ist von großem Interesse, und
2. bei der Spurenanalyse organischer Verbindungen treten Probleme auf, die über die bekannten großen Schwierigkeiten der Spurenanalyse anorganischer Verbindungen noch hinausgehen.

### 2. Das Interesse an der Spurenanalyse organischer Verbindungen

Um das Interesse an der Spurenanalyse organischer Verbindungen zu belegen, wird die Anzahl der Publikationen des Jahres 1972, wie sie in „Analytical Abstracts“ referiert sind, herangezogen (s. Tabelle 1).

61% aller Veröffentlichungen beschäftigen sich mit der Analyse organischer Komponenten. Den Hauptteil der Arbeiten (etwa 30%) nehmen dabei Publikationen aus dem biochemisch-analytischen Bereich ein. Nur relativ wenige Arbeiten sind der Analyse von Komponenten in Arzneimitteln, in Luft, in Wasser und Abwasser sowie im Agrikulturbereich gewidmet.

[\*] Prof. Dr. K. Beyermann  
Institut für anorganische und analytische Chemie der Universität  
65 Mainz, Johann-Joachim-Becher-Weg 24

[\*\*] Nach einem Plenarvortrag bei der Tagung der GDCh-Fachgruppe „Analytische Chemie“ über das Thema „Spurenanalyse“ in Erlangen am 2. bis 5. April 1973.

Innerhalb der Gruppe der organisch-analytischen Arbeiten beanspruchen spurenanalytische Themen einen Anteil von etwa 11%. Dies sind etwa 0.1% aller Publikationen auf dem Gesamtgebiet der Chemie!

Tabelle 1. Aufschlüsselung der in „Analytical Abstracts“ referierten analytischen Publikationen des Jahres 1972.

Arbeitsgebiet	Gesamtanteil [%]	Spurenanalysen [%]
Biochemie	30	6
Organische Chemie	12	1
Lebensmittelchemie	9	2
Pharmazeutische Chemie	4	0
Luft-, Abwasserchemie	3	1
Agrikulturchemie	3	1
Anorganische Chemie	25	8
Sonstiges (Apparatives)	14	1
	100	

Schlüsselt man die Arbeiten zur Spurenanalyse organischer Verbindungen noch einmal etwas auf, dann findet man – jeweils mit etwa einem Prozent Anteil an den Publikationen vertreten – im Bereich der Biochemie Untersuchungen an Hormonen, Steroiden, Aminosäuren, physiologischen Blutbestandteilen, Enzymen und Immunkörpern sowie Narkotika. Im Bereich der Lebensmittelanalyse spielen Bestimmungen der Rückstände von Insektiziden und Hormonen sowie anderer Verunreinigungen durch Stoffe tierischen oder menschlichen Ursprungs eine wesentliche Rolle.

Gerade in den Bereichen, die heute im Mittelpunkt des öffentlichen Interesses stehen und unter den Schlagworten „Umweltschutz“ und „Nahrungsmittelreinheit“ diskutiert werden, spielen Spurenanalysen organischer Verbindungen eine relativ bedeutende Rolle. Ein großes Interesse an der Analyse von Spuren organischer Komponenten ist demnach offensichtlich vorhanden.

### 3. Die Schwierigkeiten der Spurenanalyse organischer Verbindungen

Die verhältnismäßig geringe Zahl von Vortragsbeiträgen und Veröffentlichungen liegt dann wohl an den Schwierigkeiten der Spurenanalyse organischer Verbindungen. Diese Aussage soll im folgenden an einigen Beispielen belegt werden. Ein Vergleich mit den Problemen der Spurenanalyse anorganischer Verbindungen erscheint dabei angezeigt, da dieses Arbeitsgebiet häufiger vertreten ist und seine Schwierigkeiten bekannter sein dürften.

#### 3.1. Schwierigkeiten bei der Probenahme und -aufbewahrung

Die Schwierigkeiten der Probenahme seien am Beispiel der Bestimmung des Insektizidgehaltes der Luft erläutert. Bekanntlich verschwinden Insektizide nach dem Sprühen im Laufe der Zeit entweder durch chemische Umwandlung oder auf physikalischem Wege – meist durch Verdunstung. Derartig zu verflüchtigende Insektizide haben einen entsprechend hohen Dampfdruck. Ein gewisser Insektizidgehalt in der Luft lässt sich demnach vorherschen. Es ist zu erwarten, daß die Insektizide zum Teil an Stäube gebunden sind, wegen des hohen Dampfdrucks jedoch auch in nennenswertem Maße frei in der Gasphase vorliegen. Die Bestimmung dieses Anteils

in der Größenordnung  $\text{ng}/\text{m}^3$  macht Schwierigkeiten, weil beim Kondensieren zum Zweck der Dampfdruckverminde rung Aerosole entstehen, die nicht quantitativ erfaßt werden können. Die Aerosolteilchen werden um so kleiner, je tiefer man das Probegas zur „quantitativen“ Kondensation abkühlt, womit die Ausbeuten verschlechtert werden.

Ein Verfahren, welches auch beim Vorliegen von Nanogramm Mengen hohe Ausbeuten ergibt<sup>[11]</sup>, beruht darauf, daß die insektizidhaltige Luft über Netze geführt wird, die mit Polyäthylenglykol belegt sind. In ihm lösen sich die unpolaren Wirkstoffe mit einer – durch Verwendung  $^{14}\text{C}$ -markierter Insektizide beweisbaren – hohen Ausbeute. Nach dem Ablösen können sie gaschromatographisch bestimmt werden. Beispiele von Chromatogrammen des Insektizid-Gesamtgehaltes von Luftproben zeigen die Abbildungen 1 und 2.

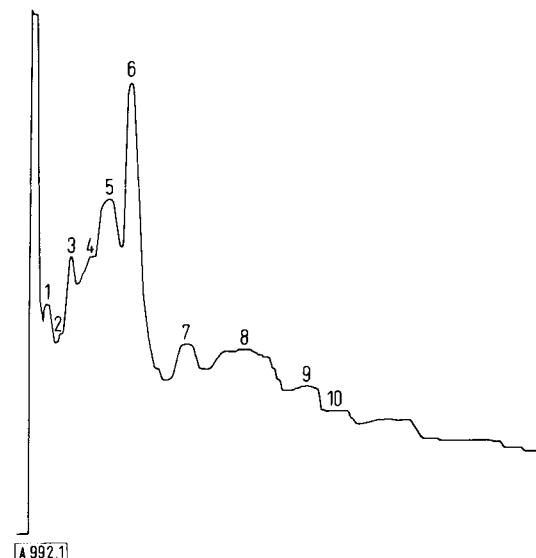


Abb. 1. Gaschromatogramm der Insektizidfraktion einer Luftprobe aus landwirtschaftlich genutztem Gebiet (Heidesheim bei Mainz). Untersuchte Luftmenge:  $3 \text{ m}^3$ . Der gefundene Gehalt beträgt bei Aldrin etwa  $170 \text{ ng}/\text{m}^3$ , bei DDT etwa  $300 \text{ ng}/\text{m}^3$ . 1 = Phosdrin, 3 = CDEC, 5 = Aldrin, 6 = Daconil, 7 = Äthylparathion, 8 = Dieldrin, 9 = o,p-DDT, 10 = p,p-DDT; 2 und 4 sind noch nicht identifiziert (nach [1]).

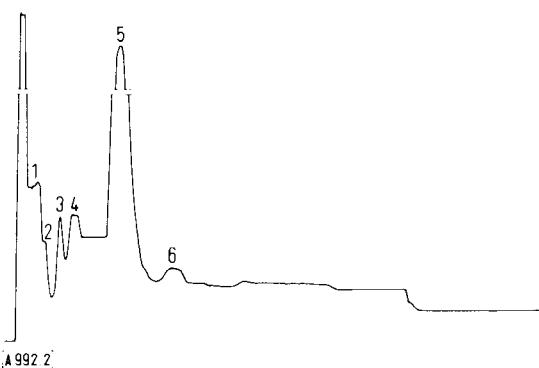


Abb. 2. Gaschromatogramm einer Luftprobe, die an der Stelle des Zusammenflusses von Rhein und Main genommen wurde. Bedingungen wie bei Abb. 1. 1 = Phosdrin, 3 = CDEC, 5 = Daconil, 6 = Äthylparathion; 2 und 4 sind noch nicht identifiziert (nach [1]).

Der nicht in Form von Aerosolen vorliegende Anteil beträgt das Mehrfache des staub-gebundenen Anteils. Analysiert man eingearmete Luft und ausgeatmete Luft unter gleichen Bedingungen, dann findet man in der letzteren deutlich geringere Insektizidkonzentrationen (s. Abb. 3).

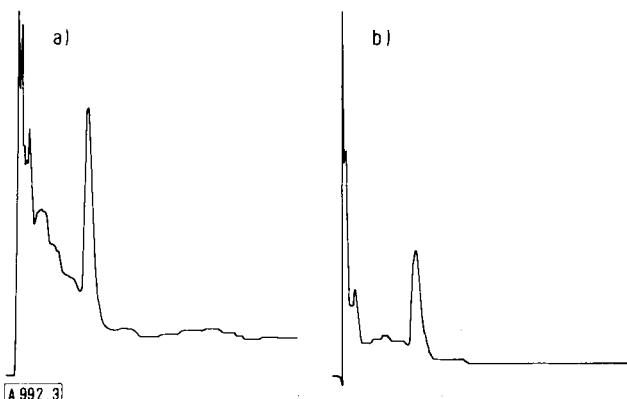


Abb. 3. Vergleich des Insektizidgehalts von a) eingetauschter und b) ausgetauschter Luft unter sonst gleichgehaltenen Bedingungen der Analyse (nach [1]).

Die Stoffe werden im Respirationstrakt teilweise aufgenommen und im Körper resorbiert. Zu gleichen Ergebnissen führten – bisher unveröffentlichte – Versuche mit Meerschweinchen, die eindeutig die Resorption  $^{14}\text{C}$ -markierter, inhalierter Insektizide bewiesen.

Bei der Analyse von Blutproben im Rahmen der klinisch-chemischen Analyse findet man häufig Unterschiede je nach dem Entnahmestandort, da die Konzentration vieler Stoffe im venösen Blut anders ist als im arteriellen<sup>[2]</sup>. Man muß also bei derartigen Analysen die Entnahmestandorte – unter anderem auch den Entnahmestandort – sehr genau angeben.

Bei der Aufbewahrung von Proben mit organischen Spurenbestandteilen trifft man auf die gleichen Probleme wie bei der Spurenanalyse anorganischer Verbindungen – die Adsorption an die Wände der Aufbewahrungsgefäße.

Als Beispiel möge ausreichen zu erwähnen, daß Insektizide in Wasserproben nach kürzester Zeit von den Wänden von Polyäthylengefäßen adsorbiert werden<sup>[3]</sup>. Chinin, das man in Konzentrationen von ng/ml fluoreszenzspektroskopisch in Küvetten analysieren möchte, findet sich bereits nach Sekunden praktisch vollständig an der Wand der Glasgefäß, selbst wenn die Lösung des Alkaloids 0.1 N an Schwefelsäure ist<sup>[4]</sup>. Als Schutz gegen dadurch bedingte Verluste wird die Sättigung der Geräterwandungen mit einer entsprechend konzentrierten Lösung des zu bestimmenden Spurenbestandteils empfohlen. Besser ist es, in jedem Fall die Gefäßwand so klein wie überhaupt möglich zu dimensionieren, um den Adsorptionseffekt klein zu halten. Oft hilft auch die Variation des Lösungsmittels oder die Änderung der Zusammensetzung der Untersuchungslösung.

Gegenüber der Spurenanalyse anorganischer Verbindungen neuartige Probleme treten durch die leichte Zersetzung, Oxidierbarkeit oder enzymatisch-bakterielle Umwandlung der aufzubewahren Proben auf. Bei der Aufbewahrung von Blutproben wird das Problem gravierend.

Aus den – leider etwas widersprüchlichen – Angaben in der Literatur<sup>[5–8]</sup> sei nur auswählend hervorgehoben, daß die Konzentration von Bilirubin und Cholesterin sich innerhalb von zwei Tagen selbst bei Aufbewahrung der Serumproben bei 3°C ändern. Der Phosphat- und der Ammoniakgehalt der Blutproben nehmen stark zu, da organische Verbindungen unter Bildung dieser anorganischen Produkte zerlegt werden.

Die Enzymaktivitäten in Blut- oder Serumproben werden gleichfalls durch die Art der Aufbewahrung beeinflußt. Die Aktivität von Lactat-Dehydrogenasen und Phosphatasen

nimmt innerhalb von zwei Tagen bei Aufbewahrung des Probeguts bei 0°C ab. Völlig ungewohnt für den Spurenanalytiker, der sich mit anorganischen Verbindungen befaßt, ist das Verhalten mancher Enzyme, deren Suspensionen in wässriger Ammoniumsulfatlösung beim Einfrieren und Auftauen ihre Aktivität verlieren<sup>[9]</sup>.

Diese Instabilität führt zu Organisationsproblemen in den klinisch-chemischen Laboratorien, in denen eine sehr große Zahl von Proben untersucht werden muß. Man versucht, durch Aufbewahrung bei –23°C oder durch Gefriertrocknung, ferner durch Zusätze chemischer Stabilisatoren bakterielle Zersetzung zu vermeiden. Wegen der Störung der Analyse durch diese Zusätze ist aber auch dieses Vorgehen nicht ganz unproblematisch. Baldige Aufarbeitung der Proben gilt immer noch als der sicherste Weg.

Das Problem der Instabilität der Proben wird besonders schwerwiegend, wenn Eichstandards in konstanter Konzentration oder Aktivität über längere Zeit erhalten bleiben sollen.

### 3.2. Aufschlußverfahren

Aufschlußverfahren spielen bei der Spurenanalyse anorganischer Verbindungen eine wesentlich größere Rolle als bei der Analyse von organischen Spurenkomponenten. Insbesondere sind destruktive Aufschlußmethoden für das letztere Arbeitsgebiet fast immer ohne Interesse.

Große Bedeutung hat dagegen die Probenvorbereitung bei der Zerlegung von Zellgeweben, wenn spezielle Anteile freigesetzt oder ausgewählte Zellfraktionen oder Partikelfraktionen gewonnen werden sollen. Die angewendeten Methoden reichen hier von Zentrifugieren in Lösungen bestimmter Dichte, Ultrazentrifugation, Elektrophorese von ganzen Zellen bis zu immunologischen Verfahren.

Die Entfernung des Hauptbestandteils Eiweiß zur Gewinnung von Spuren niedermolekularer Stoffe ist gleichfalls ein problematischer Aufschlußschritt, der etwa durch Okklusion der Spurenbestandteile oder durch ihre Adsorption an das gefällte Protein zu verringerten Werten, aber durch Abspaltung von Aminosäuren aus den Proteinen (bei Aminosäureanalysen) auch zu erhöhten Werten führen kann.

### 3.3. Trennverfahren

Der kritischste Schritt bei der Spurenanalyse organischer Verbindungen besteht in der Auswahl des geeigneten Trennverfahrens. Alle Untersuchungsmaterialien, denen großes Interesse entgegengebracht wird (Blut, Gewebe, Nahrungsmittel, Harn – aber auch scheinbar so „einfache“ Systeme wie Luft oder Wasser) sind kompliziert und aus einer Fülle von Haupt- und Nebenbestandteilen aufgebaut. Trennungen sind in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle unumgänglich.

Eine „erste“ Publikation (von mehr als 250 Seiten Länge) über den Einfluß von 9000 Arzneimitteln auf die Ergebnisse klinisch-chemischer Analysen<sup>[10]</sup> zeigt, daß das „System Blut“ keinesfalls als konstant anzusehende Matrix aufgefaßt werden darf. Zur Spurenanalyse dieses variablen Systems empfiehlt es sich vielmehr aus der Sicht sorgfältiger Analytik, den interessierenden Spurenbestandteil abzutrennen.

Inwieweit der Analytiker seine „Sorgfaltspflicht“ dadurch wieder verletzt, daß Spurentrennungen im Bereich der organischen

Analyse in der Regel mit besonders schlechten Ausbeuten verlaufen, ist eine Entscheidung, die von Fall zu Fall zu treffen dem Untersucher überlassen bleiben muß. Häufig kann man jedoch mit der Isotopenverdünnungsmethode Verluste recht gut erkennen und in Rechnung setzen.

Ein schwerwiegendes Problem bei der Abtrennung von Spuren biochemischen Ursprungs besteht darin, daß viele dieser Stoffe hydrophil sind. Damit kommen für sie eigentlich nur Trennverfahren in Frage, die mit Wasser als wesentlichem Systembestandteil arbeiten.

Von den häufig angewendeten Trennmethoden seien die chromatographischen Verfahren, ferner Ionenaustausch, Elektrophorese, Immunelektrophorese und einige Flüssig-Flüssig-Verteilungsverfahren erwähnt. Eine moderne Übersicht geben Kienitz und Runge<sup>[11]</sup>.

Gelegentlich können auch in der organischen Chemie Verfahren von Nutzen sein, die dem Spurenanalytiker von den anorganischen Verbindungen her wohl bekannt sind – wie etwa die Mitfällung. So lassen sich biogene Amine in Konzentrationen von ng/ml als Tetraphenylborate an Kreatinin-tetraphenylborat mit sehr hohen Ausbeuten mitfällen<sup>[12]</sup> und von anderen Bestandteilen trennen.

Durch Extraktion mit Methanol können Nanogramm-Mengen von Aminen aus einem kristallinen KCl-NH<sub>4</sub>Cl-Kreatinin-Gemisch praktisch quantitativ und selektiv isoliert werden.

Zur Verbesserung der Trennleistungen wird gelegentlich vorgeschlagen, Derivate der Spurenbestandteile herzustellen, etwa im Arbeitsgebiet der ultramikropräparativen Gaschromatographie. Oft begegnet man aber auch hier Problemen, da sich die organischen Stoffe in Mikrogramm-Mengen mit dem in sehr hohem Überschuß vorliegenden Reagens anders umsetzen als wenn die üblichen, nahezu stöchiometrischen Verhältnisse wie in der präparativen organischen Chemie vorliegen. – Der störende Einfluß des Wassers wird bei manchen Derivatisierungsreaktionen besonders drastisch, wenn die Menge der Spurenkomponenten klein ist im Vergleich zu den Wasserhäuten, die selbst auf kleinen Mikrogefäßen (in Mikrogramm-Mengen) adsorbiert sind. Die Konsequenz ist eine starke Einengung der Trennmethoden.

Im Bereich der Spurenanalyse organischer Verbindungen gibt es – insbesondere auf biochemischem Gebiet – ein dem Spurenanalytiker aus der anorganischen Chemie praktisch unbekanntes Problem. Häufig interessieren bei den organischen Stoffen Komponenten, deren chemische Natur weitgehend unbekannt ist. Beispiele hierfür sind die Metabolite von Arzneimitteln oder etwa die Fülle von Stoffen, die im Harn ausgeschieden werden. So entdeckt z. B. die Arbeitsgruppe um Scott<sup>[13]</sup> durch UV-Spektrophotometrie ständig neue Komponenten, ohne sie völlig identifizieren zu können.

Die Erfassung bestimmter Isomerer ist weiterhin eine Aufgabe, die der Spurenanalyse anorganischer Verbindungen ziemlich unbekannt ist. Bei der Proteinanalyse interessiert von einem Eiweißkörper oft nur ein einziges Konformer.

Ein interessantes, analytisch gleichfalls schwieriges Problem ist die Erfassung einer Spurenkomponente in spezieller „Bindungsform“. So sind sehr viele Arzneimittel im Blut an bestimmte Blutproteine mehr oder weniger stark gebunden. Pharmakologisch wirksam ist häufig nur die nicht an Eiweiß gebundene Fraktion. Zur Analyse versucht man eine Trennung durch schonende Verfahren, die möglichst auch das Gleichge-

wicht nicht stören sollen, wie etwa Ultrafiltration, Gelfiltration oder einige Arten der Dialyse.

### 3.4. Bestimmungsverfahren

Bei den Verfahren zur Bestimmung organischer Spurenkomponenten findet man erneut zusätzliche gravierende Probleme gegenüber der Spurenanalyse anorganischer Verbindungen. Bei der Analyse organischer Stoffe sind ja fast stets nur molekülspezifische Bestimmungsverfahren sinnvoll. Die Elementaranalyse gibt – im Spuren- und Mikrobereich – bestenfalls Hinweise. Aus diesem Grunde ist auch ein außerordentlich wirkungsvolles Instrument der Spurenanalyse anorganischer Verbindungen – die radiochemische Aktivierungsanalyse – für die Spurenanalyse organischer Verbindungen fast kaum brauchbar.

Mit hochgezüchteten Spezialverfahren sind allerdings die molekülspezifischen Bestimmungsverfahren der instrumentellen organischen Analyse (UV-, IR-, NMR- und MS-Spektroskopie) auch zur Untersuchung von Submikrogramm-Mengen einsetzbar.

Oft läßt sich dabei durch elektronische Mittelwertsbildung eine Empfindlichkeitssteigerung um ein bis zwei Zehnerpotenzen erreichen. Die Geräte gestatten die Akkumulation oft sogar noch über vier Zehnerpotenzen im Rahmen exakter Gesetzmäßigkeiten. In vielen Fällen werden aber dann die Untersuchungszeiten unerträglich lang (Wochen).

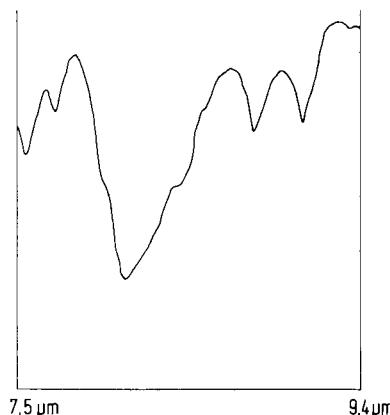


Abb. 4. IR-Spektrum einer Probe von 25 ng Tyrosin nach 2448fachem Abschneiden des Bereiches sowie Sammeln und Verarbeiten der Daten in einem elektronischen Mittelwertsbildner (nach [14]).

Abbildung 4 zeigt das Beispiel der Untersuchung von 25 ng Tyrosin, aus dessen IR-Spektrum ein Ausschnitt wiedergegeben ist. In üblicher Weise kann überhaupt kein Spektrum aufgenommen werden. Durch 2448faches Abschneiden des Bereiches und Sammeln der Daten in einem elektronischen Mittelwertsbildner läßt sich schließlich das abgebildete Spektrum erhalten, das völlig dem Spektrum größerer Tyrosin-Mengen gleicht<sup>[14]</sup>.

Nicht verschwiegen werden darf die grundsätzliche Schwierigkeit der meisten molekülspezifischen instrumentellen Analyseverfahren: Sie verlangen mehr oder weniger reine Substanzen! Vortrennungen erhalten damit entsprechende Bedeutungen im Rahmen des gesamten Analysenplans. Nach der – möglichst verlustarmen – Abtrennung des Spurenbestandteils

muß er dann quantitativ mit Hilfe von Mikrotechniken in das Gerät transferiert werden.

Neben den genannten spektroskopischen Verfahren gibt es eine Fülle mehr oder weniger molekülspezifischer Methoden. So wird die Gaschromatographie heute durch Einführung hochempfindlicher, elementspezifischer Detektoren zunehmend zuverlässiger, und ihre Ergebnisse können leichter interpretiert werden.

Extrem hohe Empfindlichkeit bei meist hervorragender Spezifität findet man bei enzymatischen Verfahren und bei den immunologischen Techniken. Bei den letzteren ist die Radioimmunanalyse („Radioimmunassay“) zur Zeit oft die einzige gangbare Möglichkeit zur schnellen, spezifischen Bestimmung von organischen Spurenkomponenten in einer großen Zahl von Proben.

Das Verfahren beruht im Prinzip darauf, daß man den zu bestimmenden Stoff, der als Antigen wirken muß, mit einem spezifischen Antikörper umsetzt. Zur Analyse bietet man diesen Antikörper als „Reagens“ in substöchiometrischer Menge an. Außerdem fügt man der Probe eine geringe Menge des zu analysierenden Stoffes – allerdings radioaktiv markiert – zu. Probeneiges und zugesetztes Antigen konkurrieren um die Reaktionsmöglichkeit mit dem in zu kleiner Menge zugesetzten Antikörper. Ist viel probeneiges Antigen vorhanden, dann wird das radioaktiv markierte Antigen entsprechend weniger stark am Antikörper gebunden, dessen Aktivität – nach der Isolierung des Antigen-Antikörper-Komplexes – dann ein Maß für die Antigenkonzentration in der Probe ist.

Das Analysenverfahren setzt voraus, daß das radioaktiv markierte Antigen sowie der Antikörper verfügbar sind, dessen spezifische und stöchiometrische Reaktion mit dem Antigen gesichert sein muß. Störungen der Reaktion durch andere, in der Konzentration eventuell variierende Plasmabestandteile müssen ausgeschlossen sein.

Die Leistungsfähigkeit der Methode wurde unlängst wiederum an einem Beispiel demonstriert, bei dem auch andere Verfahren zur Spurenanalyse verglichen wurden<sup>[15]</sup>. Es handelte sich um die Bestimmung von Digoxin und Digitoxin im Blut. Etwa 10 bis 20 % der über Sechzigjährigen benötigten derartige Digitalis-Wirkstoffe. Wegen der sehr geringen therapeutischen

Breite ist eine Kenntnis der Konzentration im Patientenblut erwünscht. So zeigen sich beim Digoxin z. B. gute Therapie-Erfolge bei einer Konzentration von 1 ng/ml Serum. Bei einer Konzentration von 2 bis 3 ng/ml Serum treten bereits toxische Wirkungen auf! Die objektive Erfassung derartig kleiner Konzentrationen blieb bisher sehr umständlichen Analysenverfahren vorbehalten, die jetzt jedoch durch die elegante Radioimmunanalyse abgelöst werden können.

#### 4. Schlußbetrachtung

Die Spurenanalyse organischer Verbindungen bildet ein reizvolles Arbeitsgebiet von großer allgemeiner Bedeutung. Das Gebiet konfrontiert den Untersucher – über die Schwierigkeiten der Spurenanalyse anorganischer Verbindungen sehr häufig hinausgehend – mit einer Fülle zusätzlicher Probleme. Zu ihrer Lösung benötigt man derart vielfältige Kenntnisse aus Nachbargebieten, daß es gerechtfertigt erscheint, hier von der Analytik als eigenständigem wissenschaftlichem Arbeitsgebiet mit interdisziplinären Verflechtungen zu sprechen.

Eingegangen am 30. August 1973 [A 992]

- [1] K. Beyermann u. W. Eckrich, Z. Anal. Chem. 265, 4 (1973).
- [2] R. Richterich: Klinische Chemie. Akademische Verlagsgesellschaft, Frankfurt/M. 1965, S. 69.
- [3] L. Weil u. K.-E. Quentin, Gas-, Wasserfach, Ausg. Wasser-Abwasser 111, 26 (1970).
- [4] S. Udenfriend: Fluorescence Assay in Biology and Medicine. Academic Press, New York 1962, S. 101.
- [5] S. S. Wilson, R. A. Guillan u. V. E. Hocker, Clin. Chem. 18, 1498 (1972).
- [6] R. L. Kascht u. V. A. Nelson, Clin. Chem. 19, 559 (1973).
- [7] H. Hofmeister u. B. Junge, Z. Klin. Chem. Klin. Biochem. 8, 613 (1970).
- [8] O. Mühlfellner, G. Mühlfellner, P. Zöfel u. H. Kaffarnik, Z. Klin. Chem. Klin. Biochem. 10, 37 (1972).
- [9] H. U. Bergmeyer: Methoden der enzymatischen Analyse. Verlag Chemie, Weinheim 1970, 2. Aufl.
- [10] D. S. Young, D. W. Thomas, R. B. Friedman u. L. C. Pestamer, Clin. Chem. 18, 1041 (1972).
- [11] H. Kienitz u. H. Runge in F. Korte: Methodicum Chimicum. Thieme, Stuttgart 1973, Band 1/2, S. 838.
- [12] K. Beyermann u. F. Schredelseker, Z. Anal. Chem. 256, 279 (1971).
- [13] W. W. Pitt, C. D. Scott u. G. Jones, Clin. Chem. 18, 767 (1972).
- [14] K. Beyermann u. J. Dietz, Z. Anal. Chem. 268, 197 (1974).
- [15] G. Bodem u. H. J. Gilfrich, Klin. Wochenschr. 51, 57 (1973).