

PRO EXPERIMENTIS

Polarographic Determination of DDT

Older methods of determination of DDT, which are still in use, make use of the partial or complete dehalogenation and subsequent determination of chlorine¹⁻⁷, which is disadvantageous on account of lack of specificity.

Colorimetric methods by SCHECHTER et al.⁸⁻¹⁰ are based in essence on nitration of DDT and formation of a tetranitroderivative, which in alkaline medium gives a blue coloration. Another colorimetric method of STIFF and CASTILLO is used less frequently, in spite of its simplicity, since methoxychlor reacts in the same way¹¹.

Polarographically DDT can be determined in 85% ethyl alcohol in the presence of a quaternary base¹². It gives a well developed wave at -0.9 V. For determination of residues in biological material, this method cannot however be used on account of the high content of by-products, which frequently cause deformations of the wave, and with regard to its relatively low sensitivity.

In view of a series of favourable results obtained in polarographic determinations of nitration or nitrosation products respectively, of various substances having significance in food and pharmaceutical practice¹³⁻¹⁵, it was attractive to utilize the formation of nitroderivatives of DDT for polarography also. The results obtained proved this method to be useful.

Nitration is carried out with a mixture of concentrated sulphuric acid and fuming nitric acid, and proceeds optimally on heating to $90-95^{\circ}\text{C}$ for about 10 min. After

cooling, the nitration mixture is diluted with water and methyl alcohol in a quantity to attain a final concentration of 50% minimum. In this strongly acidic medium the tetranitroderivative is reduced to a single well developed and readable wave (half wave potential in a 20% nitration acid mixture in 50% methyl alcohol -0.13 V sat. calomel electrode).

The wave shows a diffuse character and is suitable for analytical evaluation (Figure).

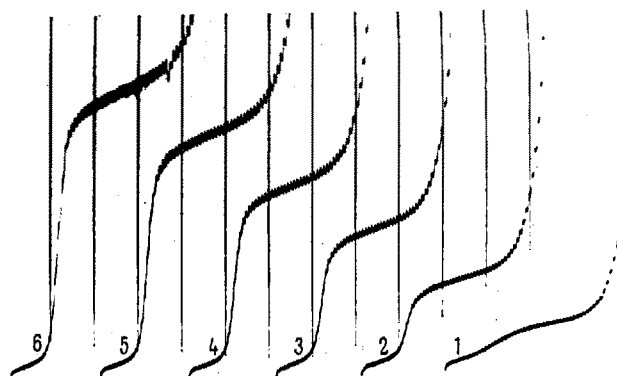
The advantage of this newly elaborated polarographic determination of DDT compared with the colorimetric determination, lies in the possibility of using an acid medium directly. By its extraordinary high sensitivity and easy operation it surpasses all other methods, especially that of direct polarographic determination of DDT.

The principle of the present method, the behaviour of the pure tetranitroderivative, the precise working procedure of the nitration and its application in determinations of DDT residues in materials of biological character will be described elsewhere.

Zusammenfassung. Es wird eine schnelle, hochempfindliche polarographische Bestimmung von DDT beschrieben und das durch Nitrieren von DDT erhältliche Tetranitroderivat zur Polarographie verwendet.

J. DAVÍDEK and G. JANÍČEK

Department of Food Chemistry and Control, Chemical Technology University, Prague (Czechoslovakia), April 24, 1961.



Calibration polarogram of DDT. Resulting concentration of the 20% nitration mixture in 50% methyl alcohol. Concentration of DDT: (1) 0; (2) 0.2; (3) 0.4; (4) 0.6; (5) 0.8; (6) $1 \cdot 10^{-4}$ M. Mercuro sulfate electrode, sensitivity 1:20; 198 mV/Abse. Performed according to the working procedure described in the text.

Mikrobiologischer Nachweis von Antibiotika auf Dünnschichtchromatogrammen

Der Antibiotika-Fachmann ist insbesondere daran interessiert, festzustellen, wieviele und was für mikrobiologisch wirksame Fraktionen in einem natürlichen Gemisch vorliegen. Aus diesem Grund haben wir eine mikrobiologische Sichtbarmachung von auf dünnen Schichten von Silicagel G und Silicagur G (Merck AG) getrennten Antibiotika mit *Sarcina lutea* und *Bacillus subtilis* bei Gegenwart von Triphenyltetrazoliumsalzen entwickelt¹ welche hier kurz geschildert werden soll.

- ¹ A. STĚPANOV, Ber. chem. Ges. 39, 4056 (1806).
- ² H. NOMNIK, Analyst 82, 378 (1927).
- ³ F. W. PHILLIPS and M. E. DE BENEDICTIS, J. agr. Food Chem. 2, 1226 (1954).
- ⁴ F. A. GÜNTHER, Ind. eng. Chem., Anal. Ed. 17, 149 (1945).
- ⁵ J. DESHUSSES and P. DESVANNES, Mitt. Geb. Lebensmittelunters. Hyg. 41, 381 (1950).
- ⁶ V. J. KUZNECOV, Doklady Akad. Nauk SSSR 77, 261 (1951).
- ⁷ V. JEDLIČKA and V. ČERNÁ, Rev. czech. Med. 3, 149 (1947).
- ⁸ M. S. SCHECHTER and H. L. HALLER, J. Amer. chem. Soc. 66, 2129 (1944).
- ⁹ M. S. SCHECHTER, S. B. SOLOWAY, R. A. HAYES, and H. L. HALLER, Ind. eng. Chem., Anal. Ed. 17, 704 (1945).
- ¹⁰ M. S. SCHECHTER, M. A. POGORELSKIN, and H. L. HALLER, Anal. Chem. 19, 51 (1947).
- ¹¹ H. A. STIFF and J. C. CASTILLO, Science 101, 440 (1945).
- ¹² H. KELLER, M. HOCHWEBER, and H. HALBAN, Helv. chim. Acta 29, 761 (1946).
- ¹³ E. DAVIDKOVÁ and J. DAVÍDEK, Z. Lebensm. Untersuch. Forsch. 111, 477 (1960).
- ¹⁴ J. DAVÍDEK and O. MANOUŠEK, Čsl. farmac. 7, 73 (1958).
- ¹⁵ J. DAVÍDEK and O. MANOUŠEK, Čsl. farmac. 7, 399 (1958).

Die chromatographierten Platten werden zu diesem Zweck in einen Halter aus Plexiglas eingebettet und mit einer Schicht Agar zugedeckt, welche mit dem geeigneten Mikroorganismus und einer kleinen Menge Triphenyltetrazoliumsalz eingimpft ist. Nach beendeter Entwicklung in einem Brutkasten ist die Schicht dort wo der Mikroorganismus normal wachsen konnte intensiv rotbraun gefärbt, während dort wo das Antibiotikum vorhanden ist,

¹ B. J. R. NICOLAUS, C. CORONELLI und A. BINAGHI, Il Farmaco 16, 349 (1961).

hellgelbe Hemmungszonen sichtbar sind. Die rotbraune Farbe rührt von der Reduktion von Triphenyltetrazoliumsalz ins zugehörige Formazan her. 6-Aminopenicillansäure, welche mikrobiologisch unwirksam ist, wurde auf der Platte vor der Sichtbarmachung ins aktive Benzylpenicillin (Penicillin G) verwandelt. Direkt nachweisbar sind: Penicillin V und G, 2, 6-Dimethoxybenzylpenicillin, 6-Aminopenicillansäure, Tetracyclin, Anhydrotetracyclin, Hydroxytetracyclin, Chlorotetracyclin, Demethyltetracyclin, Anhydrodemethyltetracyclin, Desoxytetracyclin, Anhydrochlorotetracyclin und Rifomicin B, O, S und SV.

A Simple Detection of Fat-Soluble Vitamins on Alumina Thin Layer-Chromatograms

For the detection of fat-soluble vitamins after chromatographic separation on thin alumina layer, 70% perchloric acid and 98% sulfuric acid proved to be useful. Similar reactions have been previously described¹⁻⁵ and some have even been used for colorimetric determination. A survey of colours given by individual fat-soluble vitamins (Vitamin and provitamins A, vitamin D₂, E, K₁, K₂, K₃) is listed in the Table. The method is advantageous because of the stability of the reaction products and because alumina itself gives no coloration with the agents mentioned. The application of the acids is performed in such a way that the chromatograms after the develop-

Colour reactions of fat-soluble vitamins with some acids

Vitamin	70% perchloric acid	98% sulfuric acid
A	violet	blue violet
D ₂	orange brown	orange red
E	brown	brown
K ₁	yellow brown	yellow brown
K ₂	yellow brown	yellow brown
K ₃	yellow brown	yellow brown
Provitamins A	blue	blue

Eine einfache Methode zur Gewinnung von Exuvialflüssigkeit bei der Honigbiene (*Apis mellifica* L.)

Die Exuvialflüssigkeit, welche beim Häutungsvorgang der Insekten von den Epidermiszellen in den entstehenden Spaltraum zwischen Matrix und Cuticula abgeschieden wird und durch ihre Fermente (Chitinasen und Proteinasen) die alte Endocuticula von innen her auflöst, ist meines Wissens bis jetzt nur bei der Wanze *Rhodnius prolixus*^{1,2}, beim Mehlkäfer (*Tenebrio molitor*)³, dem Riesenseidenspinner (*Platysamia cecropia*)⁴ und beim Maulbeerspinner (*Bombyx mori*)^{5,6} untersucht worden. Der Grund mag wohl der sein, dass die Gewinnung einer genügenden Menge dieses Sekretes für die biochemische Untersuchung im allgemeinen sehr schwierig ist.

Ich bin in der Lage, hier eine einfache Methode zu beschreiben, welche gestattet, bei Arbeiterinnen- und Drohnenlarven der Honigbiene grössere Mengen von Exuvialflüssigkeit zu gewinnen. Das Verfahren beruht auf der Beobachtung, dass die normale Verpuppung der Biene nicht nur von der Tätigkeit der endokrinen Organe, son-

Summary. Numerous tetracyclines, penicillins and rifomycins on thin layer chromatograms may be detected by microbiological development with *Sarcina lutea* and *Bacillus subtilis* in the presence of triphenyltetrazolium salts. This technique is exceptionally sensitive (0.01–0.1γ), the inhibition zones being much sharper than on paper chromatograms.

B. J. R. NICOLAUS, C. CORONELLI und A. BINAGHI

Laboratori di Ricerca della Lepetit S.p.A. Milano (Italien), 22. Juni 1961.

ment are first air-dried and then the acid is made to soak into the alumina layer in a direction perpendicular to that of the previous development (a technique similar to the proper chromatography). The coloration is visual immediately in the wet state, but its intensity decreases slowly (6 h). This method proved valuable, since no destruction of the alumina layer takes place as in case of the spraying technique.

Zusammenfassung. Unter Verwendung von 70prozentiger Perchlorsäure und 98prozentiger Schwefelsäure wurde eine einfache Technik zur Detektion der fettlöslichen Vitamine auf Aluminiumoxyd-Dünnschicht-Chromatogrammen ausgearbeitet.

J. BLATTNÁ and J. DAVÍDEK

Central Research Institute of Food Industry, Prague, and Department of Chemistry and Control of Food Institute of Chemical Technology, Prague (Czechoslovakia), March 21, 1961.

- A. E. PACINI and M. H. TARAS, J. Amer. pharm. Assoc. 26, 721 (1937).
- P. FLESH, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 84, 148 (1953).
- F. ČUTA and J. ČELIKOVSKÝ, Chem. Listy 48, 1346 (1954).
- S. UENO, Ind. Eng. Chem. 7, 596 (1915).
- E. D. ROBIN, Science 102, 17 (1945).

dern auch vom Vorhandensein des Larvengespinstes (Kokon) abhängig ist⁷⁻¹⁰. Ohne dieses Gespinst oder eine Unterlage von gleichwertiger Oberflächenbeschaffenheit tritt die letzte Larvenhäutung, das heisst die Häutung der Larve zur Puppe entweder gar nicht ein oder verläuft regelwidrig, so dass höchstens mehr oder weniger verkrüppelte und lebensunfähige Imagines entstehen. Man kann sich davon leicht überzeugen, wenn man ausgewachsene

- V. B. WIGGLESWORTH, Quart. J. micr. Sci. 76, 270 (1933).
- V. B. WIGGLESWORTH, *The Principle of Insect Physiology* (Methuen & Co. Ltd., London 1950), p. 32.
- CH. JEUNIAUX, Arch. int. Physiol. Biochim. 63, 114 (1955).
- J. V. PASSONNEAU und C. M. WILLIAMS, J. exp. Biol. Med. 30, 545 (1953).
- Y. HAMAMURA, S. JIDA und M. OTSUKA, Bull. agric. Chem. Soc. Japan 16 (1940).
- CH. JEUNIAUX und M. AMANIEU, Arch. int. Physiol. Biochim. 63, 94 (1955); Exper. 11, 195 (1955).
- A. V. VELICH, Z. wiss. Zool. 136, 210 (1930).
- W. FYG, Mitt. Schweiz. entomol. Ges. 29, 317 (1956).
- W. FYG, Insectes sociaux 4, 327 (1957).
- W. FYG, Schweiz. Bztg. 81, 387 (1958).