

Aus dem Institut für gerichtliche Medizin der Universität Freiburg i. Br.
(Direktor: Prof. Dr. med. G. WEYRICH)

Nachweis von Emulgatoren gebräuchlicher Pflanzenschutzmittel*

Von
G. HAUCK

Mit 3 Textabbildungen

Von den gebräuchlichen Pflanzenschutzmitteln haben neben E 605 die Präparate Systox und Metasystox in letzter Zeit häufiger zu Vergiftungsfällen geführt. Der Nachweis des E 605 ist relativ leicht möglich und nach WEINIG auch in älterem Leichenmaterial zu führen. Größere Schwierigkeit bereitet der Nachweis von Systox und Metasystox. Die Wirkstoffe dieser Pflanzenschutzmittel werden leicht zersetzt. Als Spaltstücke treten Thioäther, Thiophosphorsäure und Methanol oder Äthanol auf. Diese Substanzen sind wenig charakteristisch für die Anwesenheit von Systox oder Metasystox. FISCHER und SPECHT haben auf der Tagung der Gesellschaft für gerichtliche und soziale Medizin 1956 eine Kritik der Nachweismethoden gegeben und mußten feststellen, daß der exakte Nachweis von Metasystox mit Hilfe chemischer Reaktionen und des UV-Absorptionsvermögens zur Zeit nicht zu führen sei. Die inzwischen publizierten Arbeiten von LICHTENBERG, MACHATA, SCHREIBER u. a. ermöglichen den Nachweis von Systox oder Metasystox nur dann, wenn unveränderte Wirkstoffe in dem untersuchten Material enthalten sind. An faulendem Leichenmaterial geben alle diese Nachweismethoden nur unsichere Ergebnisse. Man wird zwar Anhaltspunkte für das Vorliegen von Metasystox oder Systox haben, die Befunde jedoch nur selten mit der genügenden Sicherheit stellen können.

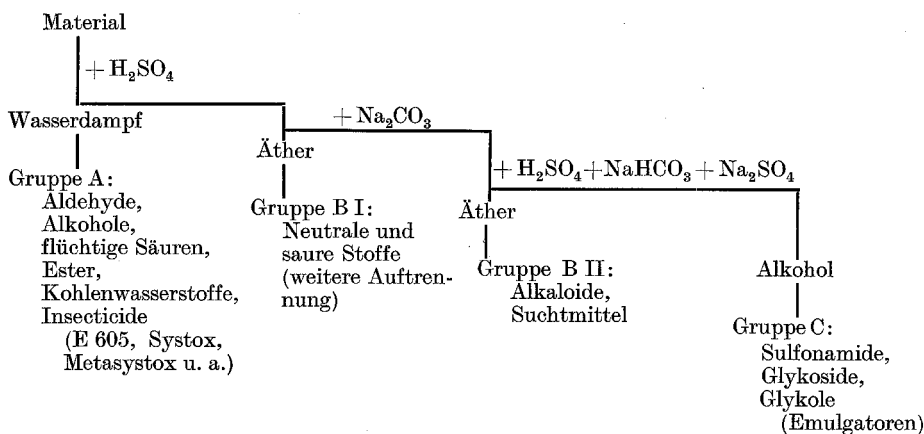
E 605 forte, Systox und Metasystox enthalten nach einer Mitteilung der Herstellerfirma, Farbenfabriken Bayer, den gleichen Emulgator. Es handelt sich um Benzyl-oxy-diphenyl-polyglykol-äther. Dieser Stoff ist, wie Vorversuche ergaben, wesentlich stabiler als die in Systox und Metasystox enthaltenen Thiophosphorsäureester. Es wurde deshalb untersucht, ob der Nachweis dieses Emulgators in der toxikologischen Analyse möglich ist.

* Vortrag auf der Tagung der Deutschen Gesellschaft für gerichtliche und soziale Medizin in Zürich, September 1958.

Die von VÖLKSEN angegebene Methode versagt häufig. Die Farb-reaktion beruht nach unseren Untersuchungen nicht auf einer Umsetzung des Emulgators, sondern wahrscheinlich auf der Umsetzung von Spuren von Thiophosphorsäureestern.

Für die toxikologische Analyse wenden wir den in der Tabelle skizzierten Trennungsgang an. Bei einem Modellversuch war im Wasserdampfdestillat kein Emulgator nachweisbar. Im sauren Ätherextrakt fielen 8,3%, im alkalischen Ätherextrakt 25,8% und im Alkoholextrakt 63,5% des Emulgators an. Von 10 g eingesetztem Emulgator wurden

Tabelle. *Aufarbeitung von Organen, modifiziert nach STAS-OTTO*



9,76 g wiedergefunden. Eine Abtrennung des Emulgators aus Leichenmaterial ist ebenfalls möglich. Schwieriger war die Identifizierung des Emulgators, der gelegentlich auch mit anderen Glykolen verwechselt werden könnte.

Für die Identifizierung des Emulgators war es wichtig, Arzneimittel und andere körperfremde Stoffe soweit als möglich abzutrennen. Von aromatischen Verbindungen sind in der Gruppe C nur noch Sulfonamide enthalten. Diese lassen sich durch Diazotieren und Kuppeln leicht nachweisen oder ausschließen. Es ist dann möglich, die im Emulgator enthaltenen Aromaten durch Nitrieren nachzuweisen. Beim Behandeln mit konzentrierter Salpetersäure und konzentrierter Schwefelsäure werden die Polyglykolätherketten aboxydiert. Aus der Benzyl-oxy-diphenyl-Gruppe entstehen bei dieser Behandlung Nitrophenole, Nitrobenzoesäuren, Nitrodiphenyle und andere Nitrierungs- und Sulfonierungsprodukte. Wie p-Nitrophenol lassen sich die aromatischen Nitroverbindungen nach AVERELL-NORRIS nachweisen.

Versuche an Mageninhalten haben ergeben, daß besonders bei faulem Material ebenfalls aromatische Nitroverbindungen auftreten. Diese

dürften, wie auch die Mumienuntersuchungen von SPECHT gezeigt haben, von Phenylalanin und anderen aromatischen Aminosäuren stammen. Eine Differenzierung war durch Papierchromatographie möglich. Es zeigte sich jedoch, daß es zweckmäßiger ist, nur die sauren Nitrierungsprodukte zu chromatographieren. Diese wurden mit Soda-lösung aus dem Ätherextrakt des Nitrieransatzes abgetrennt. Für die Chromatographie dieser sauren

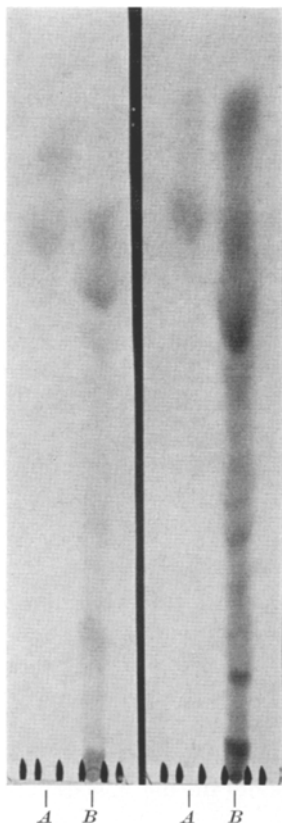


Abb. 1. *A* neutrale und *B* saure Nitrierungsprodukte von 11 mg (linke Bildhälfte) und 111 mg (rechte Bildhälfte) Emulgator. Laufmittel n-Butand- NH_3 10 %

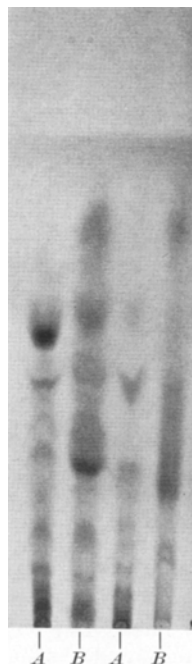


Abb. 2. *A* saure Nitrierungsprodukte von Extrakt aus Mageninhalt, *B* saure Nitrierungsprodukte von Metasystox. Laufmittel: n-Butanol-Ammoniak 10 %

Nitrierungsprodukte hat sich n-Butanol-Ammoniak als Laufmittel bewährt. Die einzelnen Substanzen werden als gelbe oder braune Flecken erkannt. Es war möglich, auf diese Weise noch 11 mg des Emulgators nachzuweisen. Im gefilterten UV-Licht ist die Abgrenzung der einzelnen Flecken wie Abb. 1 zeigt, leichter möglich. Dabei wurden 12 verschiedene Substanzen festgestellt. Versuche an 10 Mageninhalten, die frei von Pflanzenschutzmitteln waren, zeigten, daß bei der Papierchromatographie keine Verwechslungsmöglichkeiten mit Nitroverbindungen von Aromaten

aus dem biologischen Material auftreten. Auch bei stark faulem Zustand werden nur wenige Substanzen erhalten, die sich auch durch ihre R_f -Werte unterscheiden. Die Vielzahl von Stoffen, die aus dem Emulgator erhalten wurde, trat bei den untersuchten Mageninhalten nie auf.

In einem praktischen Fall ergab die chemische Analyse Anhaltspunkte für das Vorliegen von Metasystox oder Systox. Der Nachweis des Emulgators war, wie die Abb. 2 zeigt, eindeutig. Neben dem sauren Nitrierungsprodukt aus Extrakt C des Mageninhaltes wurde entsprechend behandelter Emulgator als Vergleich aufgesetzt. Bei Anwendung von 2 Konzentrationen wird man bei einer genügenden Trennschärfe im Papierchromatogramm erhalten.

Nach Mitteilung der Farbenfabriken Bayer wird der Emulgator außer in Pflanzenschutzmitteln vom Typ der Thiophosphorsäureester als Textilhilfsmittel, Waschhilfsmittel und in der Kautschuk- und Kunststoffindustrie verwendet. Daß Emulgator aus diesen Quellen in den Mageninhalt plötzlich Verstorbener gelangt, ist sehr unwahrscheinlich. Das geschilderte Verfahren bietet somit die Möglichkeit, auch in altem und faulem Leichenmaterial Pflanzenschutzmittel durch den Emulgator nachzuweisen.

Den Farbenfabriken Bayer danke ich für ihre Mitteilungen und den zur Verfügung gestellten Emulgator.

Diskussion

Dr. G. SCHMIDT (Erlangen): Nach dem Ausfall der Kochprobe ist der Emulgator nicht so stabil, wie angenommen wird.

Prof. Dr. O. SCHMIDT (Göttingen): Durch die Cholinesterasebestimmung und Reaktivierung mit PAM scheint der Nachweis des Emulgators überflüssig zu sein.

Prof. Dr. E. WEINIG (Erlangen): Die Cholinesterasebestimmung weist Insecticide nach. Der Emulgatornachweis kann für die Feststellung der Art des Insecticides wichtig sein.

Schlußwort. Der Emulgatornachweis ist auch dann noch möglich, wenn die enzymatische Methode keine sicheren Ergebnisse mehr liefert. Die Art des Insecticides wird durch den positiven Nachweis des Emulgators näher abgegrenzt. Durch postmortale Abbaureaktionen kann der Polymerisationsgrad des Emulgators verändert werden. Die Aromaten, die nachgewiesen werden, sind sehr stabil.

Die angewandte *Arbeitsmethode* war folgende:

20–30 g Mageninhalt werden schwefelsauer wasserdampfdestilliert, der Rückstand sauer und sodaalkalisch mit Äther erschöpfend perforiert. Die wäßrige Phase wird mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert und mit festem Natriumbicarbonat neutralisiert. Nach dem Einengen auf dem Wasserbad oder besser im Vakuum-Trockenschrank wird mit wasserfreiem Natriumsulfat zur Trockne ge-

bracht. Die trockene Masse wird nach mehrstündigem Stehen mit absolutem Äthylalkohol nach SOXLETH extrahiert. Der durch 24stündige Extraktion erhaltene Auszug wird bei 80° eingedunstet.

Ein Teil des Extraktes wird auf Sulfonamide (z. B. nach BRATTEN und MARSHALL) geprüft. Bei negativem Ausfall wird die Hauptmenge des Extraktes mit der 10fachen Menge konzentrierter Schwefelsäure bis zur Lösung erwärmt. Nach dem Abkühlen wird die 20fache Menge konzentrierter Salpetersäure zugegeben. Reaktion tritt spontan oder bei vorsichtigem Erwärmen ein. Der Nitrieransatz bleibt über Nacht stehen und wird dann im Wasserbad auf 60° erwärmt. Diese Temperatur wird über 30 min gehalten, dann innerhalb von 30 min auf 100° gesteigert und 10 min bei 100° gehalten. Nach dem Abkühlen wird in 100 ml eiskaltes Wasser eingegossen.

Der verdünnte Nitrieransatz wird mit Portionen von 20 ml Äther extrahiert, bis die ätherische Lösung farblos bleibt. Die vereinigten Ätherextrakte werden 3mal mit je 5 ml Wasser gewaschen und dann mit 5%iger Sodaauslösung extrahiert, bis die Sodaauslösung farblos bleibt. Die vereinigten Sodaauszüge werden mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert und mit Äther ausgeschüttelt, bis der Äther keine Färbung mehr erkennen läßt. Die vereinigten ätherischen Lösungen werden über Natriumsulfat getrocknet und abgedunstet.

Zur Papierchromatographie wird der Rückstand in Alkohol aufgenommen. Chromatographiert wird auf Papier 2043 b Schleicher & Schüll mit n-Butanol-Ammoniak 10% auf- oder absteigend, eventuell über Papierstege nach SCHWERDTFEGER. Es werden 2 Konzentrationen der sauren Nitrierungsprodukte und 2 Konzentrationen entsprechend behandelten Emulgators aufgesetzt. Die gelben Flecken lassen sich im UV-Licht besser abgrenzen. Übereinstimmung der R_f -Werte, die für den Emulgator aus Abb. 3 zusammengestellt sind, beweist die Anwesenheit von Emulgator aus E 605 forte, Systox, Metasystox oder anderen Pflanzenschutzmitteln vom Typ der Thiophosphorsäureester.

Summary

It is report upon the detection of the emulsifier of E 605 forte, Systox, and Metasystox. The emulsifier is isolated from the stomach-content by extraction with alcohol an nitrated with nitric and sulphuric acid. The acid nitro-products are demonstrated by paper chromatography.

Literatur

AVERELL, P. R., and N. V. NORRIS: Estimation of small amounts of 0,0-diethyl 0-(p-nitrophenyl) thiophosphate. *Analyt. Chem.* **20**, 753 (1948). — BRATTON, A. C., E. K. MARSHALL jr., D. BABITT and A. R. HENDRICKSON: A new coupling



Abb. 3. R_f -Werte von sauren Nitrierungsprodukten von Metasystox, Emulgator und Extrakten aus Mageninhalten

component for sulfanilamide determination. J. biol. Chem. **128**, 537 (1939). Vgl. Med.-Chem. Untersuchungsmethoden, E. Merck. — FISCHER, K., u. W. SPECHT: Kritische Bemerkungen zum Metasystoxnachweis. Vortr. von K. FISCHER, 35. Tagg der Dtsch. Ges. gerichtl. u. soz. Med., Marburg, 1956. Arch. Toxikol. **16**, 278 (1957). — LICHTENBERG, H.: Bestimmung von E 605 und Metasystox. Arch. Kriminol. **120**, 110 (1957). — MACHATA, G.: Über den Nachweis von E 605 und Systox in der gerichts-chemischen Praxis. Arch. Toxikol. **16**, 119 (1956). — SCHREIBER, H.: Nascierender Wasserstoff in der toxikologischen Analyse. Arch. Toxikol. **16**, 346 (1957). — SCHWERTFEGER, E.: Modifizierte eindimensionale Papierchromatographie für quantitative Zwecke. Naturwiss. **41**, 17 (1954). — SPECHT, W.: Chemisch-toxikologische Studie an 900jährigen Mumienrelikten. Vortr. 37. Tagg der Dtsch. Ges. gerichtl. u. soz. Med., Zürich, 1958. — VÖLKSEN, W.: Nachweis der E 605-Vergiftung. Dtsch. Apoth.-Ztg **93**, 393 (1953). — WEINIG, E.: Die Nachweisbarkeit von Giften in exhumierten Leichen. Vortr. 36. Tagg der Dtsch. Ges. gerichtl. u. soz. Med., Heidelberg, 1957. Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. **47**, 397 (1958).

Dr. GERHARD HAUCK, Institut für gerichtliche Medizin,
Freiburg i. Br., Katharinenstraße 23