

<b>Zeitschrift:</b>	Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène
<b>Herausgeber:</b>	Bundesamt für Gesundheit
<b>Band:</b>	49 (1958)
<b>Heft:</b>	5
<b>Artikel:</b>	Thiometon : Verhalten in der Pflanze, Bestimmung von Spritzrückständen
<b>Autor:</b>	Jucker, O.
<b>DOI:</b>	<a href="https://doi.org/10.5169/seals-982542">https://doi.org/10.5169/seals-982542</a>

### **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. [Mehr erfahren](#)

### **Conditions d'utilisation**

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. [En savoir plus](#)

### **Terms of use**

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. [Find out more](#)

**Download PDF:** 27.01.2026

**ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>**

# Thiometon

## Verhalten in der Pflanze, Bestimmung von Spritzrückständen

Von O. Jucker

(Agrochemisches Laboratorium der Sandoz AG, Basel)

### I. Systemische Insektizide und deren Bestimmungsmethoden

#### 1. Eigenschaften systemischer Insektizide

Systemische Insektizide sind definiert als solche, die durch die Pflanze aufgenommen, durch den Saftstrom in die feinsten Verästelungen verteilt, dort gespeichert, und vor allem gegenüber saugenden Insekten, wie *Blattläusen*, *Blattläusen*, sowie gegenüber *Spinnmilben*, noch längere Zeit wirksam bleiben.

Auf Grund ihres Verhaltens in der Pflanze lassen sie sich in zwei Hauptgruppen einteilen.

Die erste Gruppe umfasst diejenigen Verbindungen, die unverändert durch den Saftstrom transportiert werden und als solche zur Wirkung gelangen. Hierher gehören, soviel bis heute bekannt ist, vor allem Phosdrin und die Essigsäureamid-Derivate von Dithiophosphorsäuren.

Die seit mehreren Jahren im Handel befindlichen systemischen Insektizide Demeton, Methyldemeton und Thimet gehören in die zweite Gruppe und sind dadurch gekennzeichnet, dass sie in der Pflanze Umwandlungen erfahren und als neue toxische Verbindungen, sogenannte Metabolite zur Wirkung gelangen.

Mit dieser zweiten Gruppe von Verbindungen beschäftigte sich u.a. Tietz in Deutschland, der die Translokation von radioaktivem Thiono-Demeton von der Wurzel ins Blatt<sup>1)</sup> sowie das Verhalten von Iso-Methyldemeton in der Pflanze untersuchte<sup>2)</sup>.

Metcalf, March und Fukuto<sup>3)</sup> an der University of California Citrus Experiment Station, untersuchten in einer, mehrere Publikationen umfassenden, klassischen Arbeit das Verhalten der zwei Demeton-Isomeren, von Disyston und von Thimet in Pflanzen und Tieren (speziell Insekten) mit Hilfe von radioaktiven Verbindungen, Gegenstromverteilung, Cholinesterase-Hemmung und Papierchromatographie.

Die äusserst interessanten Ergebnisse besagen kurz zusammengefasst, dass:

- die beiden Isomeren von Demeton von der Pflanze sehr rasch aufgenommen und in unveränderter Form nur sehr kurze Zeit nachgewiesen werden können.
- an deren Stelle sogenannte Metabolite, in der Pflanze gebildete Umwandlungsprodukte treten, die im Verlaufe der Untersuchungen als Oxydationsprodukte erkannt und mit synthetischen Produkten identifiziert werden konnten.

- diese sekundären, für die insektizide Wirksamkeit verantwortlichen Produkte langsam hydrolysieren und als ungiftige Phosphorsäure-Derivate ausgeschieden werden.
- Iso-Methyldemeton in der Pflanze, ähnlich wie Demeton, abgebaut wird.

Diese Befunde sind nicht nur vom wissenschaftlichen Standpunkte aus bemerkenswert, sondern für die Untersuchungen von Spritzrückständen von grosser Bedeutung.

## 2. Methoden zur Rückstandsbestimmung systemischer Insektizide

Für die Bestimmung von Spritzrückständen der seit etwa 10 Jahren in steigender Vielfalt für die verschiedensten Verwendungszwecke in die landwirtschaftliche Praxis eingeführten Phosphorsäureester besteht eine grosse Anzahl von Bestimmungsmethoden<sup>4)5)</sup>, von denen die wichtigsten im Folgenden kurz beschrieben werden sollen.

### *A. Mit radioaktiven Verbindungen:*

Wie oben ausgeführt, ist das Verhalten der wichtigsten *systemischen* Insektizide mit Hilfe radioaktiver Verbindungen untersucht worden. An einer Vielzahl von Pflanzen (Gemüsen) wurden die Abbaugeschwindigkeiten und damit die nach verschiedenen Zeitpunkten zu erwartenden Rückstandsmengen bestimmt.<sup>2)3)</sup>

### *B. Durch Bestimmung der Cholinesterase-Hemmung:*

Für die routinemässige Rückstandsanalyse von mit systemischen Insektiziden behandelten Gemüsen steht nur eine sehr beschränkte Zahl brauchbarer Methoden zur Verfügung. Nach Schechter<sup>6)</sup> besteht z.B. für Demeton keine spezifisch chemische Methode, die analytisch auswertbar wäre. Daher verwendet man zu dessen Nachweis im Erntegut die von Giang und Hall<sup>7)</sup> an anderen Phosphorsäureestern entwickelte und von Hensel<sup>8)</sup> auf die Analyse von Demeton-Rückständen übertragene Cholinesterase-Hemmehode<sup>9)</sup>.

Auch diese Methode, die die Eigenschaft der Phosphorsäure-Insektizide, Cholinesterase zu blockieren, ausnützt, ist nicht spezifisch, da nach ihr alle Phosphorsäureester erfasst werden können, die eine genügend grosse, z.B. eine 50 %ige Cholinesterase-Hemmung bei 0,1 ppm hervorrufen. Verwendet man zudem zur Festlegung der Eichkurve Demeton an Stelle der Oxydationsprodukte, die, wie oben ausgeführt, als Rückstände auftreten, so kann diese Methode, obwohl sie keine spezielle Reinigung des Pflanzenmaterials erfordert, nur unter Vorbehalten Anwendung finden.

### *C. Durch Papierchromatographie:*

Obwohl die Papierchromatographie zur Aufklärung des Verhaltens radioaktiver systemischer Insektizide in Pflanzen ausgedehnte Verwendung gefunden hat, finden sich in der Literatur nur wenige Arbeiten, die sich der Papierchromatographie ohne radioaktive Verbindungen bedienen.

Es seien in diesem Zusammenhang die Arbeiten (die allerdings nicht Rückstandanalysen betreffen) von *Gage*<sup>10)</sup> und *Metcalf*<sup>11)</sup> an Parathion und seinen Homologen und *Cook*<sup>12)</sup> an Demeton erwähnt.

In der kürzlich von *Müller*<sup>13)</sup> erschienenen, ausführlichen Arbeit werden verschiedene, allerdings nicht systemische Insektizide (DDT, Chlorthion, Diazinon, Malathion und Parathion) als Reinsubstanzen durch Papierchromatographie nebeneinander nachgewiesen und getrennt, und ausführliche Extraktions- und Reinigungsmethoden zu deren Isolierung aus Pflanzenmaterial angegeben.

Quantitative Analysenvorschriften zur rein papierchromatographischen Bestimmung von Rückständen *systemischer* Insektizide bestehen dagegen bis heute nicht.

Da eine zuverlässige Analyse die tatsächlichen Rückstände zu erfassen hat, kann es sich nicht nur darum handeln, allfällige noch abwaschbare Spritzrückstände des unveränderten Wirkstoffes, sondern auch die von der Pflanze aufgenommenen, eventuell umgewandelten Rückstände 1. ihrer Konstitution nach zu bestimmen, und 2. Methoden zu deren mikrochemischem Nachweis zu finden.

In der vorliegenden Arbeit werden diese beiden Forderungen erfüllt, und zudem Extraktions- und Reinigungsmethoden zur Routineanalyse von Thiometon-Spritzrückständen angegeben.

## II. Thiometon

In Weiterentwicklung der hauptsächlich von *G. Schrader*<sup>14)</sup> bearbeiteten und in die Praxis des Pflanzenschutzes eingeführten Körperklasse der Phosphorsäureester wurden in den Laboratorien der Sandoz AG eine grosse Anzahl Phosphorsäureester synthetisiert, wobei sich vor allem 0,0-Dimethyl-S-aethyl-mercaptopaethyl-dithiophosphat (I) als äusserst interessant erwies.

Diese neue Verbindung hat die Bezeichnung *Thiometon* erhalten und stellt den aktiven Bestandteil des Handelspräparates *Ekatin*<sup>\*)</sup> dar, welches vor allem durch seine bemerkenswerte systemische Wirkungsweise und seine relative Un giftigkeit gegenüber Warmblütlern bekannt geworden ist.

### 1. Eigenschaften von Thiometon

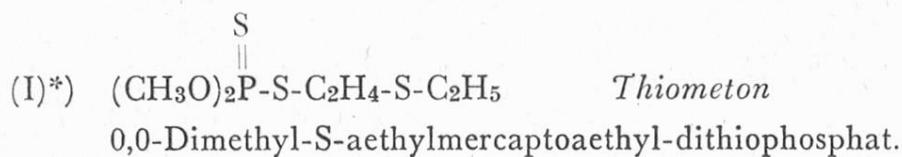
#### A. Toxikologie:

Die toxikologischen Eigenschaften von Thiometon, die für ein modernes Pflanzenschutzmittel von ausserordentlicher Bedeutung sind, wurden kürzlich im Vergleich mit andern Phosphorsäureestern in einem Vortrag über die «Toxikologie neuerer Pflanzenschutzmittel»<sup>15)</sup> und in einer, speziell Thiometon und Ekatin betreffenden, ausführlichen Arbeit von *C. Klotzsche*<sup>16)</sup> bekannt gemacht.

<sup>\*)</sup> Ekatin: aus Sicherheitsgründen blau gefärbt, enthaltend 20 % Thiometon und 80 % Verdünnungsmittel + Emulgatoren.

### B. Chemische Eigenschaften:

Die wichtigsten chemischen Eigenschaften von Thiometon seien im Folgenden kurz zusammengefasst:



Sdp. 0,08 mm: 106—108°.

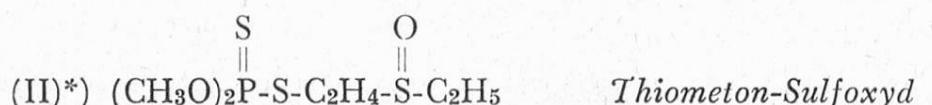
$n_D^{20}$ : 1,5515.

d<sup>20</sup>: 1,208.

### Löslichkeit in Wasser:

Mischbar mit den gebräuchlichsten organischen Lösungsmitteln.

Da es wahrscheinlich schien, dass sich Thiometon in der Pflanze ähnlich verhalten werde, wie die von *Metcalf*<sup>3)</sup> untersuchten Verbindungen, die alle durch den Pflanzenstoffwechsel in oxydierte Formen übergeführt werden, wurden zu Identifizierungszwecken alle sich von Thiometon ableitenden Oxydationsprodukte hergestellt und charakterisiert.

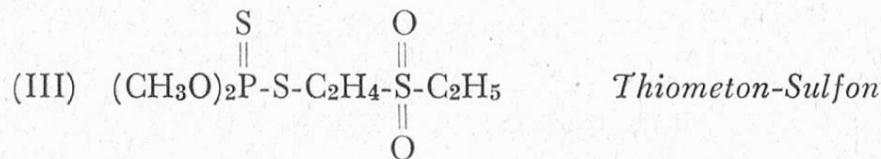


0,0-Dimethyl-S-(ethyl-sulfoxyl-ethyl)-dithiophosphat.  
(nicht destillierbar).

$n_D^{20}$ : 1,5593.

d<sup>20</sup>: 1,290.

Löslichkeit in Wasser: etwa 3,2 %.

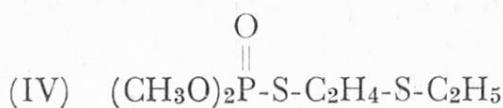


0,0-Dimethyl-S-(aethyl-sulfonyl-aethyl)-dithiophosphat.  
(umkristallisiert aus Alkohol).

Smp.: 62—63°.

Löslichkeit in Wasser: etwa 0,08 %.

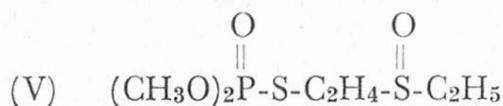
\*) Die römische Numerierung der Verbindungen wird in den Tabellen und im Text beibehalten.



0,0-Dimethyl-S-aethyl-mercaptoproethylthiolphosphat.  
(gereinigt durch Hochvakuumdestillation).

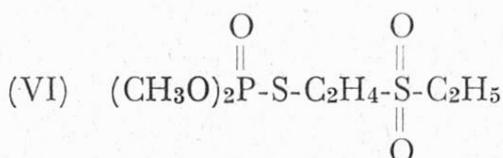
Sdp., 0,15 mm: 118—120°.

$n_D^{20}$ : 1,5052.



0,0-Dimethyl-S-(aethyl-sulfoxyl-aethyl)-thiolphosphat.  
(gereinigt durch Chromatographie an Aluminiumoxyd).

$n_D^{20}$ : 1,5151.



0,0-Dimethyl-S-(aethyl-sulfonyl-aethyl)-thiolphosphat.  
(gereinigt durch Umkristallisieren aus Alkohol).

Smp.: 50,5—51,5°.

Sdp., 0,01 mm: 115°.

Als Ergänzung zu den chemischen und physikalischen Eigenschaften wurden die IR.-Absorptionsspektren aufgenommen und in Fig. 1 zusammengestellt \*).

\*) Die IR.-Spektren wurden in unserer Spektralanalytischen Abteilung (Dr. H. G. Leemann) mit einem *Perkin-Elmer* Mod. 21 mit NaCl Prisma aufgenommen.

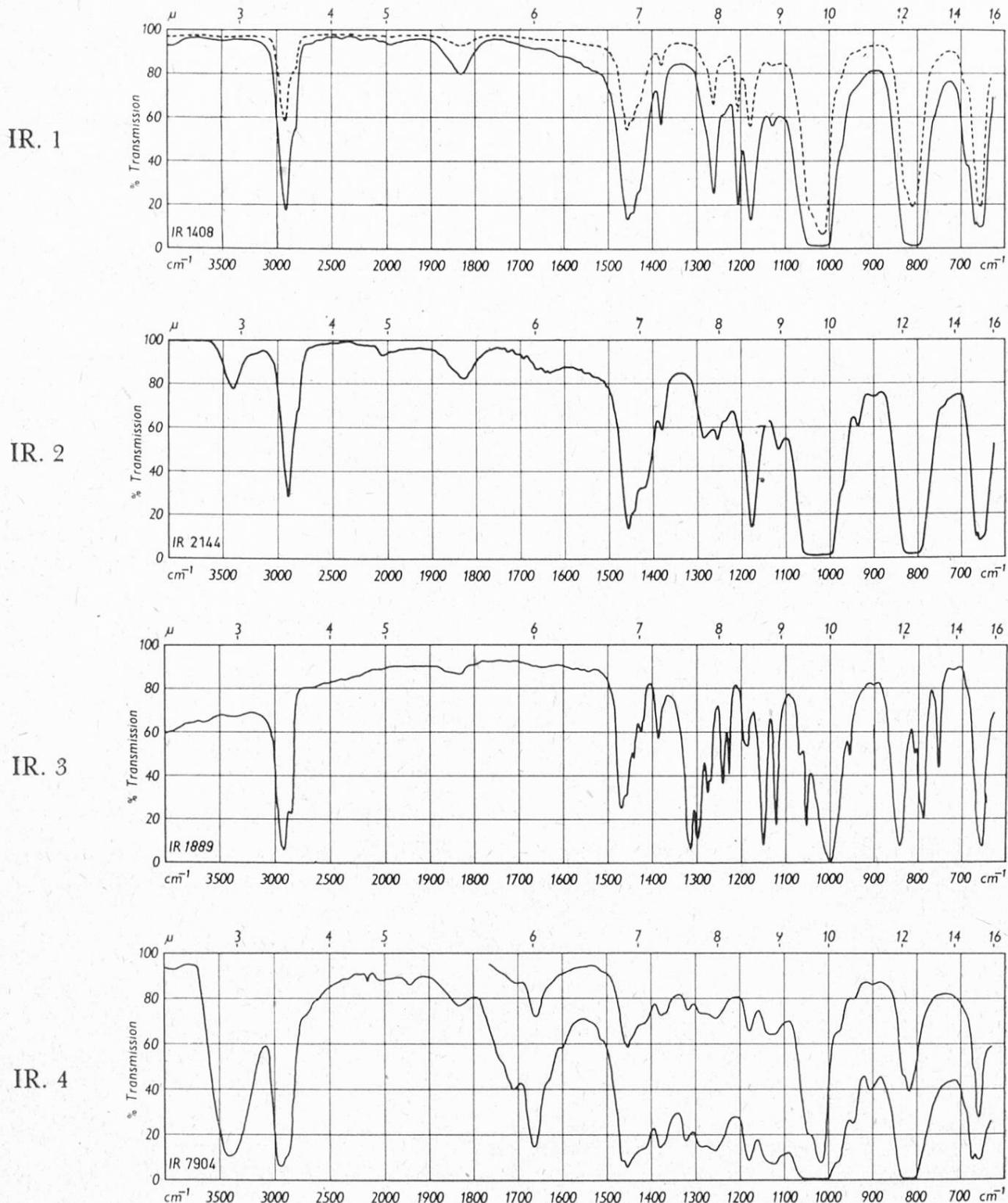


Fig. 1

IR.-Absorptionsspektren von Thiometon und seinen Oxydationsprodukten

- IR. 1 Thiometon (I)
- IR. 2 Thiometon-Sulfoxid (II) } (als Flüssigkeit)
- IR. 3 Thiometon-Sulfon (III) (in KBr)
- IR. 4 Pflanzenextrakt, Hauptmetabolit (als Flüssigkeit)

### C. Cholinesterase-Hemmung:

Auch Thiometon und seine Oxydationsprodukte besitzen die für Phosphorsäureester typische Eigenschaft, die Aktivität von Serumcholinesterase zu hemmen. In der folgenden Tabelle sind die mit Pferdeserum \*) nach der Methode von Hensel <sup>8)</sup> bestimmten Konzentrationen, die eine 50 %ige Hemmung hervorufen, zusammengestellt.

Verbindung	50 % Hemmung ( $I_{50}$ )	
	p.p.m.	Mol. Konz.
Thiometon I	24	$3,4 \cdot 10^{-5}$
Sulfoxyd II	100	$13,2 \cdot 10^{-5}$
Sulfon III	120	$16,4 \cdot 10^{-5}$
Vergleich: Demeton	0,1	$1,5 \cdot 10^{-7}$

Die Hemmkraft von Thiometon, und vor allem auch diejenige der Oxydationsprodukte II und III, ist sehr gering. Das vergleichsweise aufgeführte Demeton vermag dagegen schon bei einer Konzentration von 0,1 p.p.m., also einer etwa 100 mal geringeren Menge, den gleichen Hemmeffekt zu erzielen.

## 2. Nachweis von Thiometon und seiner Oxydationsprodukte

### A. Durch Cholinesterase-Hemmung:

Die aus vorstehender Tabelle ersichtliche geringe Hemmkraft von Thiometon und seiner Oxydationsprodukte erlaubt nicht kleinere Konzentrationen als etwa 10 p.p.m. Thiometon auf enzymatischem Wege zuverlässig nachzuweisen. Eine Rückstandsanalyse kann daher alleine aus diesem Grunde nicht in Frage kommen.

### B. Farb- oder Fällreaktionen:

Es zeigte sich, dass eine grosse Zahl geprüfter Reagenzien keine für unsere Verbindungen spezifische Farb- oder Fällreaktionen ergeben, eine kolorimetrische Analyse daher ausgeschlossen werden musste. Unter diesen Umständen erschien die Trennung und Identifizierung der Verbindungen (I-VI) nur unter Verwendung der *Papierchromatographie*, empfindliche Sprühreagenzien vorausgesetzt, als aussichtsreich.

\*) zu beziehen beim Seruminstutut in Bern.

### C. Papierchromatographie:

Von einer grossen Zahl in Frage kommender Sprühreagenzen erwiesen sich für unsere Zwecke nur wenige als empfindlich genug. Die zum Nachweis phosphorylierter Zucker entwickelte und auch im Zusammenhang mit Phosphor-insektiziden verwendete Perchlorsäure/Ammonmolybdat-Methode<sup>17)</sup> erwies sich für Thiometon als ungeeignet.

#### Sprühreagens 1:

Eine rasche und empfindliche Methode zum Nachweis organischer, schwefelhaltiger Phosphorsäureester beruht auf deren Bromierung und anschliessender Behandlung mit Fluorescein. Diese Methode hat sich nicht nur bei Demeton, zu dessen Nachweis die Methode ausgearbeitet wurde<sup>12)</sup>, sondern auch zur Sichtbarmachung weiterer Verbindungen, wie Parathion, Chlorthion, Diazinon und Malathion bestens bewährt<sup>13)</sup>.

Thiometon und, was nicht ohne weiteres zu erwarten ist, auch seine direkten, am Thioetherrest oxydierten Abkömmlinge (II) und (III) und die am Phosphor oxydierten Verbindungen (IV, V und VI) lassen sich nach dieser Methode sichtbar machen.

#### Sprühreagens 2:

Ein in der Handhabung sehr einfaches Reagens stellt das von *Tietz* und *Mühlmann*<sup>2)</sup> zum Nachweis von Phosphorsäureestern eingeführte und zur Sichtbarmachung der Verbindungen (I-V) gut geeignete Kaliumplatinhexajodid dar.

Dieses Reagens hat gegenüber der Bromierungsmethode den Vorteil, dass allfällige geringe pflanzliche Verunreinigungen, wie sie bei Rückstandsanalysen auftreten können, die Identifizierung der Thiometonoxydationsprodukte weniger stören.

*Tabelle 1*  
*Sprühreagenzen und deren Empfindlichkeit*

Verbindung (vergl. S. 302/303)	Sprühreagens 1		Sprühreagens 2	
	Nachweis	Empfindlichkeit $\gamma$	Nachweis	Empfindlichkeit $\gamma$
I	+	1	+	1
II	+	1	+	1
III	+	1	+	2
IV	+	2	+	1-2
V	+	1	+	1
VI	+	3	—	

+= nachweisbar —= nicht nachweisbar

Wie die Tabelle 1 zeigt, gelingt es, Thiometon und seine synthetischen Oxydationsprodukte auf einem Papierbogen in Mengen von etwa 1  $\gamma$  entweder mit Sprühreagens 1 oder 2 nachzuweisen <sup>\*)</sup>). Die gleiche Empfindlichkeit wird erreicht nach erfolgter Chromatographie, unter Verwendung einer im Abschnitt 3 aufgeführten Trennmethode.

### 3. Methode zur Trennung von Thiometon und seiner synthetischen Oxydationsprodukte durch Papierchromatographie

Als Besonderheit beim Nachweis insektizider Phosphorsäureester durch Papierchromatographie sei die beinahe ausschliessliche Verwendung der «reversed-phase»- oder Chromatographie mit «umgekehrter Phase» erwähnt. Das Papier wird mit wasserabstossenden Substanzen imprägniert; dadurch wird die weniger polare Phase zur stationären gemacht, während die wässrige wandert.

So verwendete *Metcalf* <sup>3)</sup> in seinen Arbeiten an Demeton, Thimet und Disyston, Papier, welches mit Silikon oder Prophylenglykol imprägniert war, *Cook* (loc. cit.), ebenfalls an Arbeiten über Demeton, Mineralöl, und *Müller* (loc. cit.) zur Trennung verschiedener Insektizide Mineralöl und ebenfalls Silikonöl.

Als Fliessmittel, d.h. als bewegliche Phase, kommen wässrige Alkohole, sonstige wässrige Mischungen, oder, wie in unserem Falle, Wasser in Frage.

Nicht imprägniertes Papier verwendete *Tietz* <sup>2)</sup> für die Trennung der radioaktiven Iso-Methyldemeton-Metabolite, wobei unter Verwendung von Butanol-Wasser als Fliessmittel gute Trenneffekte erreicht wurden.

Es stellte sich für uns das Problem, ein papierchromatographisches Trennungsverfahren auszuarbeiten, das erlaubt, auch bei Gegenwart von allfälligen Verunreinigungen aus pflanzlichem Material, Thiometon und seine verschiedenen Oxydationsprodukte nebeneinander nachzuweisen und quantitativ zu bestimmen.

#### A. Imprägniermittel:

Um Thiometon von seinen Oxydationsprodukten (II-VI) zu trennen, stehen zwei Imprägniermittel zur Verfügung.

Imprägniermittel 1:

Dow-Silikon Nr. 550, als 4 % Aetherlösung.

Imprägniermittel 2:

Eine Mischung von 1 Teil 4 % Silikon Nr. 550 und 4 Teilen 4 % Dibutyl-

<sup>\*)</sup> Mit dem kürzlich zum Nachweis von Phosphorinsektiziden vorgeschlagenen 2,6-Dibrom-N-Chlor-p-chinonimin lassen sich alle Thiometonabkömmlinge, also auch VI, als rot-gelbbraune, nicht sehr scharf ausgeprägte Flecken nachweisen. Die Empfindlichkeit (etwa 10  $\gamma$ ) ist jedoch für unsere Zwecke ungenügend <sup>18)</sup>.

phthalat in Aether.<sup>\*)</sup> (Speziell geeignet, um die Wanderungsgeschwindigkeit noch weiter zu vermindern.)

### *B. Fliessmittel:*

#### Fliessmittel 1:

Alkohol/Aceton/Wasser 1 : 1 : 2 (v/v)<sup>12)</sup>.

Damit kann Thiometon von der Mischung seiner Oxydationsprodukte II und III, diese jedoch unter sich nicht sehr deutlich getrennt werden. Dieses Fliessmittel ist für Silikon imprägnierte Papier, nicht aber für Dibutylphthalat/Silikon-Papier verwendbar.

#### Fliessmittel 2:

Wasser.

Dieses trennt die Oxydationsprodukte II und III sehr gut voneinander, die Derivate V und VI wandern deutlich höher, Thiometon I bleibt auf der Startlinie. Dieses Fliessmittel ist auch für Dibutylphthalatpapier verwendbar. (vgl. Tafel I, Fig. 2).

#### Fliessmittel 3:

Eine kürzlich zu unserer Kenntnis <sup>\*\*)</sup> gelangte Fliessmittelkombination Bush B<sub>1</sub><sup>19)</sup> <sup>\*\*\*)</sup> vermag die Verbindungen I-VI auf ein und demselben Chromatogramm sehr schön zu trennen. Das Bemerkenswerte an diesem Fliessmittel besteht darin, dass das Papier nicht imprägniert zu werden braucht, man also die Chromatographie mit «gewöhnlicher» Phase ausführt. (vgl. Tafel I, Fig. 3).

In Tabelle 2 sind die mit verschiedenen Fliess- und Imprägniermitteln auf Whatman-Papier Nr. 1 erhaltenen  $R_f$ -Werte der Reinsubstanzen zusammengestellt; dabei ist zu beachten, dass die  $R_f$ -Werte, besonders bei der «reversed» Papierchromatographie, als absolutes Mass nur beschränkt gültig und eher als orientierende Werte zu gebrauchen sind<sup>20)</sup>.

Vor allem bei der Identifizierung von aus Pflanzen isolierten Insektizidmetaboliten, die meistens durch geringe Begleitstoffe verunreinigt sind, welche eine Erniedrigung der  $R_f$ -Werte bewirken, ist Vorsicht geboten. Diese Unsicherheiten lassen sich durch gleichzeitig auf dem Papier laufende, gleicherweise aufgearbeitete Vergleichssubstanzen beseitigen.

<sup>\*)</sup> A. Stoll, A. Rüegger, Helv. 37, 1725 (1954), verwenden zur Trennung der natürlichen Mutterkornalkaloide mit Dimethylphthalat imprägnierte Papier.

<sup>\*\*)</sup> Wir danken auch an dieser Stelle Herrn Dr. Eichenberger, Insektizidlabor des Stadtchemikers in Zürich, für die freundliche Orientierung.

<sup>\*\*\*)</sup> Zusammensetzung: obere Schicht aus: 250 Vol. T. Toluol  
250 Vol. T. Benzin (80-100<sup>0</sup>)  
350 Vol. T. Methanol  
150 Vol. T. Wasser.

# Tafel I

## Papierchromatographische Trennung der Thiometon-Oxydationsprodukte

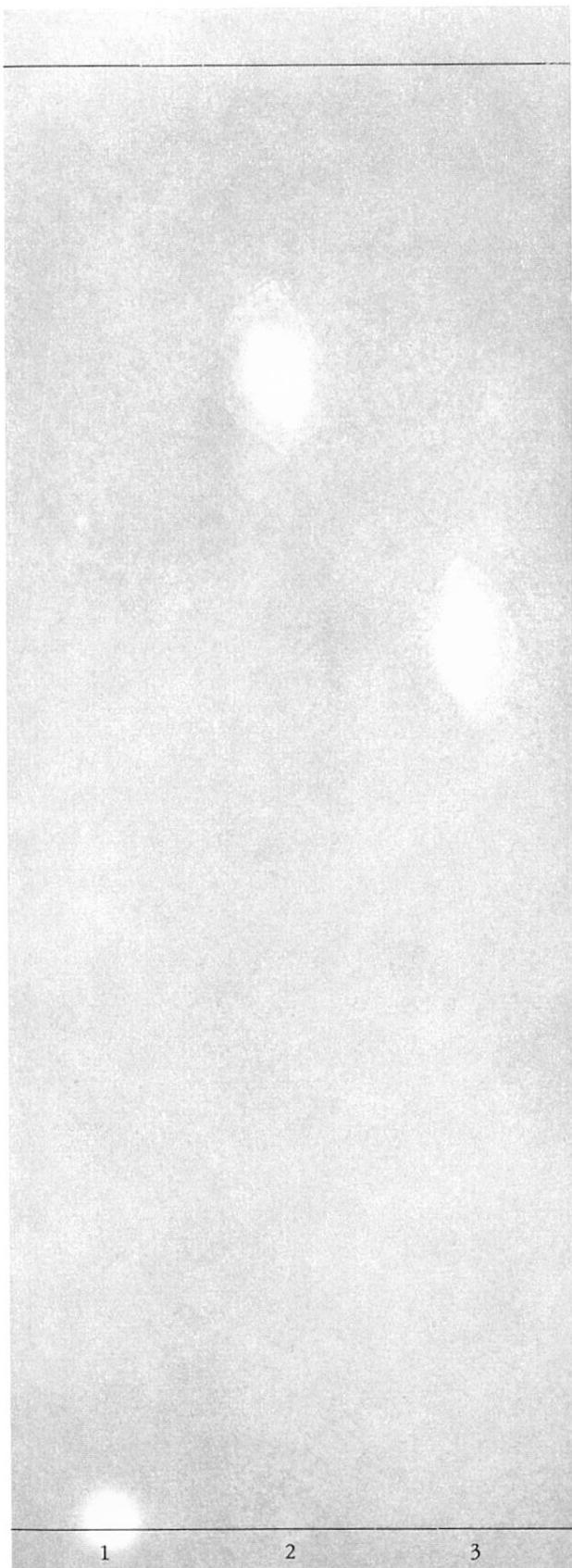


Fig. 2  
Fliessmittel : 2

- 1 : Thiometon (I)  
2 : Thiometon-Sulfoxyd (II)  
3 : Thiometon-Sulfon (III)

Whatman Nr. 1, Silikon imprägniert, absteigend,  
Temp.  $22 \pm 2^\circ$ .

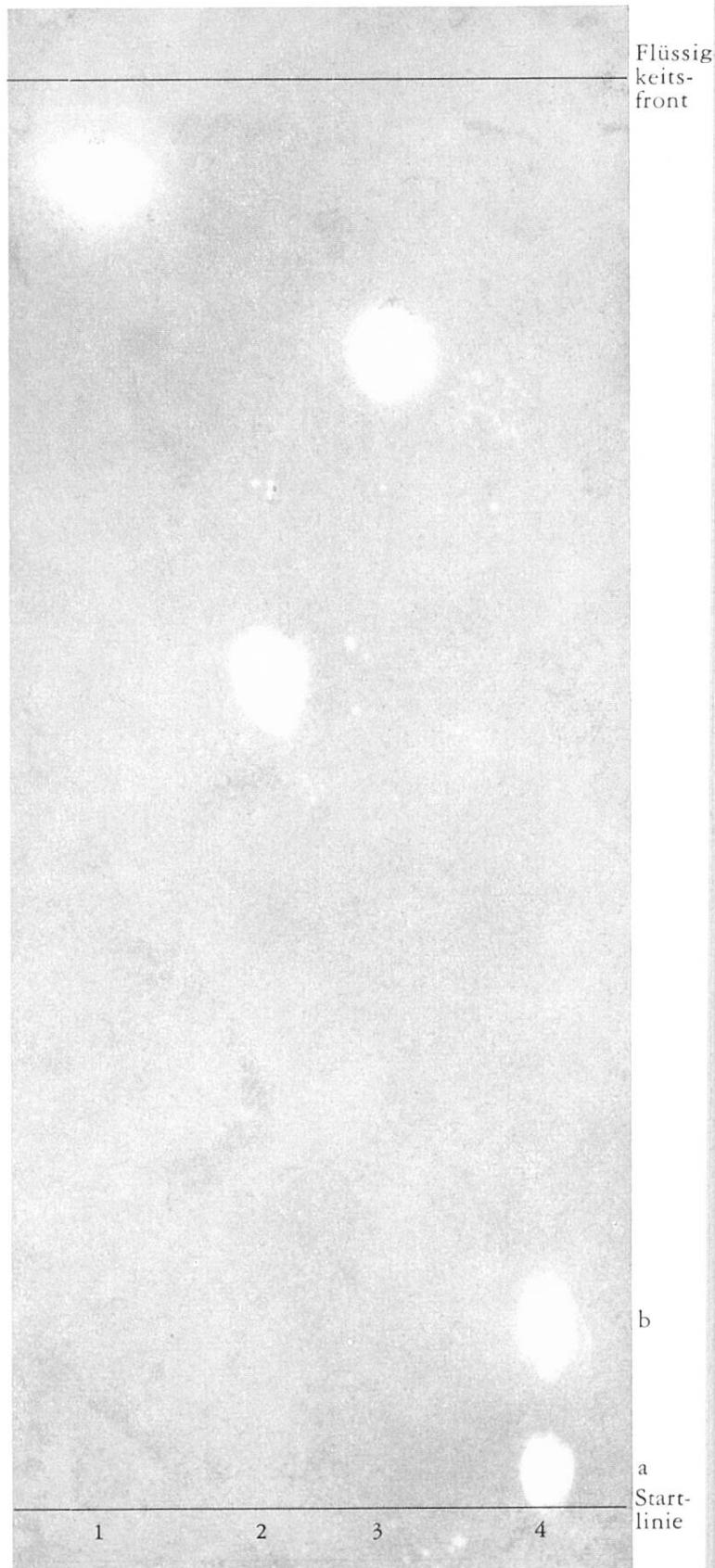


Fig. 3  
Fliessmittel : 3

- 1 : Thiometon (I)  
2 : Thiometon-Sulfoxyd (II)  
3 : Thiometon-Sulfon (III)  
4a : Isomethyldemeton-Sulfoxyd (V)  
4b : Isomethyldemeton-Sulfon (VI)  
Whatman Nr. 1, nicht imprägniert, absteigend,  
Temp.  $22 \pm 2^\circ$ .

Tafel II  
Das Verhalten von Thiometon in der Pflanze

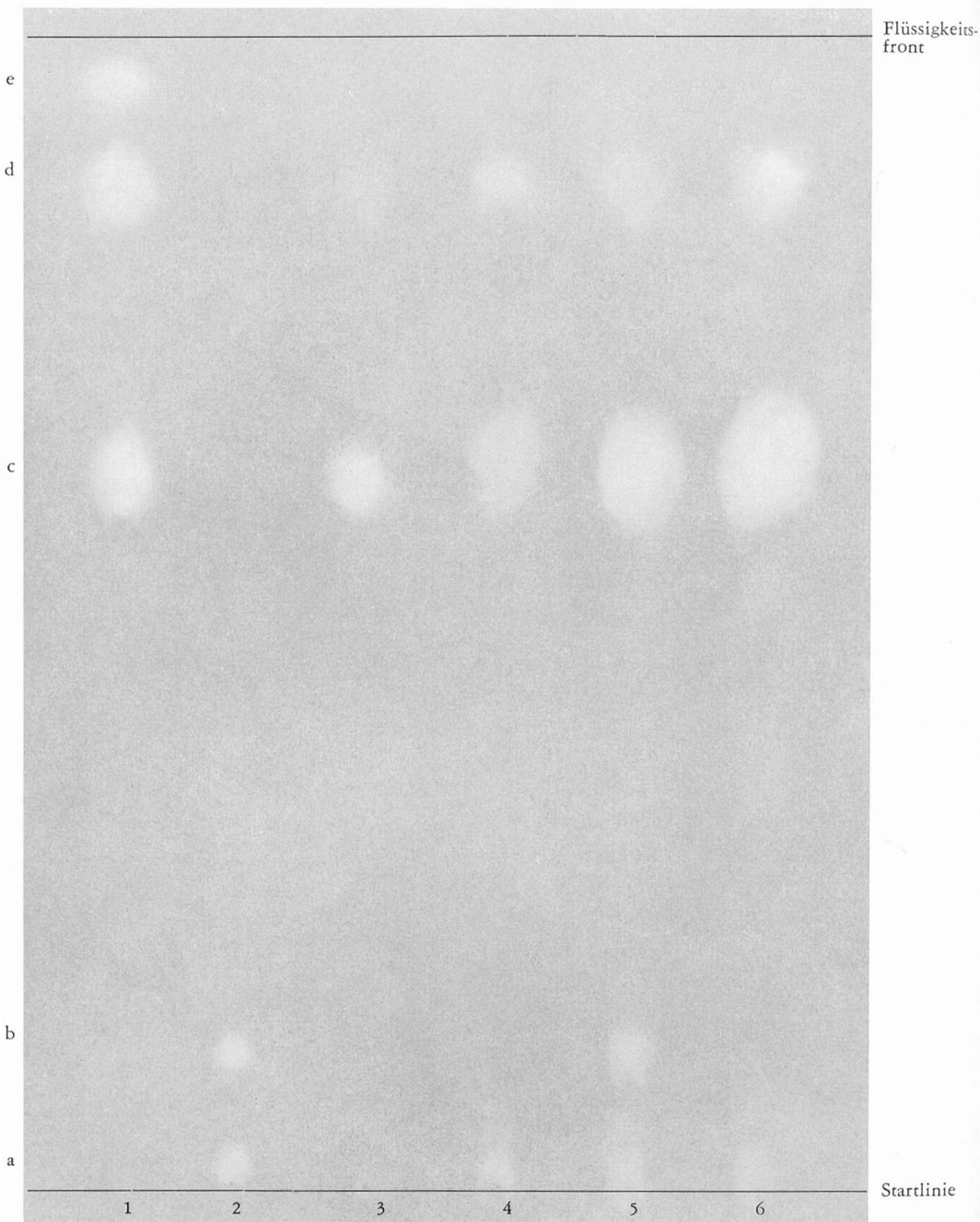


Fig. 4

- 1c : Thiometon-Sulfoxid (II)  
d : Thiometon-Sulfon (III)  
e : Thiometon (I)  
2a : Isomethyldemeton-Sulfoxid (V)      }  
b : Isomethyldemeton-Sulfon (VI)      }  
3 : Thiometon belichtet  
4 : Tradeskantienextrakt nach 3 Tagen  
5 : Tradeskantienextrakt nach 8 Tagen  
6 : Tradeskantienextrakt nach 20 Tagen

Whatman 1 Papier, nicht imprägniert, Fliessmittel 3, absteigend, Temp. 24°.

Tabelle 2

*R<sub>f</sub>-Werte der Reinsubstanzen auf Whatman-1-Papier mit den Fliessmitteln 1, 2 und 3*

Verbindung (vergl. S. 302/303)	Silikon imprägniert Fliessmittel *)		Silikon/Dibutyl- phthalat imprägniert Fliessmittel *)	Nicht imprägniert Fliessmittel **)
	1	2	2	3
I	0,14	0,00	0,00	0,96
II	0,93	0,75	0,64	0,60
III	0,86	0,59	0,11	0,87
IV	0,90	0,71	0,54	0,91
V	0,92	0,91	0,92	0,02
VI	0,91	0,88	0,89	0,15

\*) Temp. 20° \*\*) Temp. 24°

Die mit den Fliessmitteln 2 und 3 getrennten und mit Brom und Fluorescein behandelten Verbindungen wurden photographiert und deren Verhalten ist aus Fig. 2 und 3 zu ersehen.

Die Entscheidung, welches der drei Fliessmittel angewendet werden soll, hängt weitgehend vom Zweck der Untersuchung ab. Für routinemässige Rückstandsuntersuchungen eignet sich sowohl Fliessmittel 2 mit Silikon-imprägniertem Papier, als auch Fliessmittel 3 mit nichtimprägniertem Papier. Die im experimentellen Teil in Tabelle 4 und 5 zusammengestellten Rückstandsuntersuchungen wurden nach der ersten Methode bestimmt. Für Untersuchungen, die eine Trennung sämtlicher Metabolite erheischen (vgl. z.B. Tafel II, Fig. 4), eignet sich vor allem das Fliessmittel 3, welches jedoch einen möglichst temperaturkonstanten Untersuchungsraum erfordert; andernfalls entmischt sich das Fliessmittel, was einen verschlechterten Trenneffekt zur Folge hat.

#### 4. Das Verhalten von Thiometon in der Pflanze

Im Gegensatz zu den meisten grundlegenden Untersuchungen an insektiziden Phosphorsäureestern und deren Umwandlungsprodukten in Pflanzen, verwendete man in dieser Arbeit keine radioaktiven Verbindungen. Die vorstehend beschriebenen Methoden zur Trennung der synthetischen Thiometonoxydationsprodukte und deren Nachweis auf dem Papierchromatogramm ermöglichen es jedoch, in Verbindung mit einer schonenden, diese Oxydationsprodukte erfassenden Aufarbeitungsmethode, das Verhalten von Thiometon in der Pflanze zu untersuchen.

Zu diesem Zweck wurden junge, etwa 30 cm hohe, in Erde eingetopfte Tradeskantien mit je 100 ccm einer 0,1 % Ekatin-Lösung angegossen. Nach bestimmten Zeitabschnitten wurden eine Anzahl Pflanzen 3 cm über der Erde ab-

geschnitten und nach der im experimentellen Teil (für Bohnen) beschriebenen Methode extrahiert und aufgearbeitet, worauf ein aliquoter Teil des Extraktes papierchromatographisch untersucht wurde.

Diese Versuchsanordnung sollte Aufschluss geben über die bei andauernder Zuführung von Thiometon aus der begossenen Erde in der Pflanze daraus gebildeten Umwandlungsprodukte. Ueber die Geschwindigkeit des Abbaues oder das vollständige Verschwinden des Phosphorsäureesters aus der Pflanze kann unter diesen Bedingungen natürlich nichts ausgesagt werden.

Die  $R_f$ -Werte der Insektizid Metabolite, die aus den 3, 8 und 20 Tagen nach der Behandlung abgeschnittenen Tradeskantien isoliert wurden, sind aus der folgenden Tabelle ersichtlich.

*Tabelle 3*

(vgl. auch Tafel II, Fig. 4)

*$R_f$ -Werte und Verhältniszahlen der Thiometonmetabolite aus Tradeskantien \*)*

Synthetische Verbindung	Thiometon belichtet	Metabolite isoliert nach Tagen		
		3	8	20
II 0,60	0,60	0,64 1	0,63 1	0,64 1
III 0,87	0,87	0,88 1/20	0,88 1/5	0,88 1/2
V 0,02		0,02 1/10	0,02 1/10	0,02 1/2
VI 0,15		—	0,15 1/10	—

\*) erhalten auf Whatmann 1 mit Fliessmittel 3, Temp. 24°.

Vergleicht man die  $R_f$ -Werte der synthetischen Oxydationsprodukte (S. 309) mit denjenigen der gefundenen Metabolite, so ist es leicht, an Hand der ähnlichen  $R_f$ -Werte deren Uebereinstimmung zu ersehen.

Die gegenseitige Lage der Punkte ist derart übereinstimmend (vgl. Fig. 4), dass die Zuordnung der Metabolite zu den synthetischen Oxydationsprodukten II, III, V und VI, wie in Tabelle 3 dargestellt, erfolgen darf und deren Identität als weitgehend gesichert angesehen werden kann.

Die Bestimmung der relativen Mengen der vorhandenen Metabolite wurde an Hand der Fleckengrösse vorgenommen, wobei die jeweilige Fleckengrösse des dem synthetischen Thiometon-Sulfoxid II entsprechenden Metaboliten als 1 angenommen wurde.

Zur Bestätigung der Struktur des Hauptmetaboliten II wurden 50 Tradeskantienstücke, wie oben beschrieben, mit Ekatin begossen, nach 3 Tagen geschnitten und der durch mehrere zusätzliche Reinigungsoperationen mit Petroläther, Wasser und Chloroform erhaltene Extrakt von 12 mg. im Infrarot untersucht und dabei die Kurve 4 in Fig. 1 erhalten.

Aus Tabelle 3 und Fig. 4 gehen folgende wichtige Tatsachen hervor, die das Verhalten von Thiometon in der Pflanze betreffen.

1. Weder in der nach 3, noch in der nach 20 Tagen untersuchten Probe liess sich unverändertes Thiometon nachweisen.
2. Der Hauptmetabolit während der ganzen Dauer des Versuches ist sowohl identisch mit einem der beiden durch sechsständiges Belichten von Thiometon an der Sonne erhaltenen Umwandlungsprodukte, als auch mit dem synthetisch hergestellten Thiometon-Sulfoxid II.
3. Das zweite, beim Belichten von Thiometon entstehende Oxydationsprodukt stellt Thiometon-Sulfon III dar.
4. Nach drei Tagen konnten spurenweise, im weiteren Verlaufe des Versuches jedoch in grösserer Menge die aus dem Hauptmetaboliten durch Oxydation am Phosphor (Thiolsulfoxid V) bzw. einer weiteren Oxydation am Sulfoxid-Schwefel (Thiono-Sulfon III) sich ableitenden Verbindungen nachgewiesen werden.
5. Die Oxydation am Sulfidschwefel des Thiometons muss, verglichen mit der Oxydation am Phosphor, bevorzugt rasch verlaufen, denn die dem Thiometon entsprechende Thiolverbindung IV konnte nie nachgewiesen werden.
6. Das vollständig oxydierte Thiol-Sulfon VI ist nachweisbar, jedoch nur spurenweise vorhanden.
7. Obschon durch geringe pflanzliche Stoffe in der Region von  $1650\text{ cm}^{-1}$  und zwischen  $1300$  und  $1400\text{ cm}^{-1}$  verunreinigt, lässt sich die IR.-Kurve 4, aufgenommen von Pflanzenextrakt, sehr gut mit der IR.-Kurve 2 der synthetischen Verbindung vergleichen, wodurch die Identität des Hauptmetaboliten mit Thiometon-Sulfoxid bestätigt wird.

Die in Fig. 4 nebeneinander dargestellten Abbaureultate vermögen deutlich die zentrale Stellung von Thiometon-Sulfoxid im Abbaumechanismus von Thiometon hervorzuheben.

Die ausgeprägt dominierende Rolle von Thiometon-Sulfoxid als Hauptmetabolit und daher auch als Hauptrückstandskomponente wird jedoch erst recht deutlich, wenn Früchte unter feldmässigen Bedingungen mit Thiometon behandelt und deren Proben nach verschiedenen Zeitabschnitten analysiert werden. Es zeigte sich dabei, dass das Thiometon-Sulfoxid II alle übrigen Metabolite zusammen mengenmässig im Verhältnis von etwa 1 : 10 übertrifft, und z.B. Thiometon-Sulfon und das Thiol-Sulfoxid V nur in äusserst kleinen Mengen nachgewiesen werden können.

Dass der Bestimmung von Thiometon selber keine Bedeutung zukommt, wurde durch Versuche an Äpfeln erhärtet, die zeigten, dass Thiometon (5 p.p.m.) zu Apfelbrei zugemischt, nach erfolgter Aufarbeitung nicht mehr unverändert, sondern nur in Form des Thiometon-Sulfoxides nachweisbar war.

Die Rückstandsanalyse von mit Ekatin behandelten Früchten, deren Resultate in Tab. 4 und 5 am Ende des experimentellen Teiles dargestellt sind, beruht daher in erster Linie auf der Bestimmung von Thiometon-Sulfoxid.

## 5. Experimenteller Teil

Im folgenden Abschnitt wird im Detail die Analysenvorschrift zur Bestimmung von Ekatin-Spritzrückständen beschrieben. Sie umfasst Extraktion und Reinigung (Cleanup) des Pflanzenmaterials, papierchromatographische Trennung und planimetrische Auswertung der Resultate. Diese auf der Trennung und dem Nachweis der Metabolite durch Papierchromatographie beruhende Methode stellt an die Reinigung der Pflanzenextrakte ganz besonders hohe Anforderungen. Die gewählte Cleanup-Methode erlaubt nicht nur, Thiometon-Sulfoxid II praktisch quantitativ, vgl. Fig. 6 und 7, sondern auch die weiteren Oxydationsprodukte, z.B. III und V, im gleichen Arbeitsgang zu erfassen und nachzuweisen; dabei handelt es sich um Rückstände, die sich sowohl auf als auch in den Pflanzen befinden.

Das zu untersuchende Früchte- oder Blattmaterial wird zusammen mit Benzol und Natriumsulfat zerkleinert, der entstehende Brei mechanisch geschüttelt, filtriert, das Filtrat eingedampft, auf eine Aluminiumoxydkolonne gebracht und mit Acetonitril eluiert. Der Acetonitrilrückstand wird mit Petroläther, Wasser und Chloroform noch weiter gereinigt. Ein aliquoter Teil des beinahe farblosen und von störenden, pflanzlichen Verunreinigungen weitgehend befreiten Extraktes wird mit Hilfe der «reversed-phase»-Papierchromatographie analysiert.

Zur quantitativen Bestimmung der Rückstände werden die nach dem Be-sprühen des Papiers erhaltenen Flecken planimetrisch ausgemessen und mit denjenigen des auf dem gleichen Chromatogramm in bekannter Menge mitge-laufenen Thiometon-Sulfoxid verglichen.

### *A. Aufarbeiten des Früchte- und Blattmaterials*

(Am Beispiel von Bohnen beschrieben)

#### a) Reagenzien und Apparatur:

Benzol:	Handelsware, mit $\text{KMnO}_4$ oxydiert und 1× destilliert.
Natriumsulfat:	wasserfrei, Handelsware.
Acetonitril:	purum, Handelsware, Sdp. 79-81°.
Chloroform:	Handelsware.
Petrolaether:	Handelsware, Sdp. 32-35°. 1× destilliert.
Aluminiumoxyd:	«Merck» standardisiert nach Brockmann.
Weithalsflasche:	1 Ltr. mit Deckel.
Büchner-Nutsche, Durchmesser 14 cm.	
Scheidetrichter:	50 ccm, 100 ccm.
Chromatographierrohr:	Länge 40 cm, Durchmesser 2 cm.
Kuderna-Danish-Verdampfer *),	750 ccm mit gerader Kolonne, Schnyderkolonne mit 4 Böden.

\*) Vgl. 5) *Gunther and Blinn*, wo sich S. 231 Abbildungen von Kuderna-Danish-Kolben und Schnyderkolonne befinden.

Rückstandskölbchen 10 ccm.  
Messkolben 20 ccm.

b) *Ausführung:*

100 g Bohnen werden in kleine Stücke geschnitten und zusammen mit  
150 g Natriumsulfat und  
200 ccm Benzol während drei Minuten im Mixer zerkleinert.

Der feine, dickflüssige Brei wird in die Weithalsflasche gegossen, der Mixbecher mit 50 ccm Benzol nachgewaschen und mit der Hauptmenge vereinigt. Die gut verschlossene Flasche wird während zwei Stunden mechanisch intensiv geschüttelt.

Der entwässerte Fruchtbrei wird nun auf einer Büchner-Nutsche, welche durch einen geraden Vakuumvorstoss direkt mit dem Kuderna-Kolben verbunden ist, am Wasserstrahlvakuum möglichst trocken gesaugt, nochmals mit 200 ccm Benzol während 2 Stunden geschüttelt und wiederum filtriert.

Das klare, hellgelbe Filtrat wird am Wasserstrahlvakuum unter Stickstoff über eine gerade 30 ccm lange Kolonne bei 40° Badtemperatur zur Trockene eingedampft. Allfällige Spritzer in Kolben und Kolonne werden durch die Zufügung von 5 ccm Aceton und kurzem Rückflussen und Abkühlen im Rückstandskölbchen vereinigt und zur Trockene eingedampft.

Der quantitativ im Rückstandskölbchen befindliche Extrakt wird mit Acetonitril in kleinen Proben von total 20 ccm auf eine Aluminiumoxydkolonne gebracht (hergestellt aus 10 g Aluminiumoxyd, eingefüllt mit Acetonitril), mit 150 ccm Acetonitril eluiert und direkt in einen Kuderna-Kolben abgelassen und auf die gleiche Weise wie das Benzol am Vakuum zur Trockene eingedampft. (Bei der Analyse von jungen, stark färbenden und viel harzigen Rückständen ergebenden Blattmaterialien wird der Acetonitrilextrakt vor dem Durchgang durch die Aloxxkolonne mit Vorteil zentrifugiert).

Der von allen Acetonitrilspuren befreite, wenig gefärbte Rückstand wird mit 20 ccm Petrolaether in kleinen Portionen in einen Scheidetrichter pipettiert und die gefärbte Petrolaetherlösung mit 6 × 5 ccm Wasser intensiv geschüttelt, sorgfältig abgetrennt und die vereinigten, klaren, farblosen Wasserextrakte mit 5 × 10 ccm Chloroform geschüttelt.

Die vereinigten Chloroformextrakte werden im Kuderna-Danish-Kolben über eine Schnyderkolonne, ohne Vakuum auf etwa 4 ccm eingedampft und diese quantitativ in einen Messkolben 20 ccm überpipettiert, mit Aceton zur Marke aufgefüllt und nach Abschnitt B, C analysiert.

## B. Chromatographie

Ueber die Technik der Chromatographie soll nichts weiter ausgeführt werden, detaillierte Angaben darüber finden sich im Buch von *F. Cramer*<sup>20)</sup> und in der Arbeit von *Müller*<sup>13)</sup>.

### a) Reagenzien und Apparatur:

Whatman Nr. 1 Chromatographiepapier,

Dow Corning-Silikon Nr. 550, als 4 % Aetherlösung (v/v)\*)

Chromatographiegefäß irgendwelcher Art, worin aufsteigend oder absteigend gearbeitet werden kann, z.B. Chromatographiewanne nach «Dumas Zürich».

Reagensgläser 13 × 130 mm, spitz ausgezogen mit 11/10 Normalschliff.

Mikropipette (vgl. Fig. 5).

### b) Ausführung:

Das in Streifen von 12 × 50 cm geschnittene Whatman-Papier wird zur Imprägnierung 1 mal durch die 4 % Silikonlösung möglichst gleichmässig durchgezogen und 15 Minuten zum Trocknen aufgehängt. Beim *absteigenden* Verfahren werden in 8 cm Entfernung vom unteren Ende des Papierstreifens die Startlinie und darauf in Abständen von 2,5 cm die Startpunkte mit Bleistift eingezeichnet. Beim *aufsteigenden* Verfahren befindet sich die Startlinie 2,5 cm vom unteren Papierrand entfernt.

Ein aliquoter Teil des nach Abschnitt A erhaltenen Extraktes wird im spitz ausgezogenen Reagensglas mit Hilfe eines trockenen Luftstromes sorgfältig eingedampft, und das kleine Volumen von etwa 20 mm<sup>3</sup> mit der feinen Pipette (Fig. 5) in kleinen Portionen auf das vorbehandelte Papier gebracht.

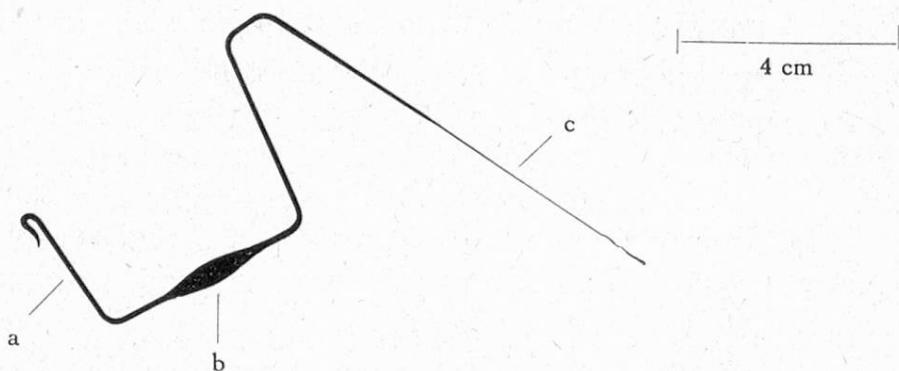


Fig. 5

Die Pipette wird am zugeschmolzenen Bogen a) gefasst und mit dem Teil b) in eine Schale mit Eiswasser getaucht; gleichzeitig bringt man die Kapillare c) sorgfältig in das aufzusaugende Flüssigkeitsvolumen. Durch die Volumenver-

\*) Sehr gute Erfolge werden auch ohne Imprägnierung und unter Verwendung des Lösungsmittelgemisches Bush B<sub>1</sub> erzielt. (s. S. 308)

minderung in b) wird eine kleine Menge Flüssigkeit in c) eingesaugt, deren Volumen durch die Eintauchdauer in Eiswasser beliebig reguliert werden kann. Durch Berühren von b) mit den Fingern wird das Flüssigkeitsvolumen durch die Kapillare c) in kleinsten Tropfen auf das Papier gebracht. Zur Vermeidung grosser Startpunkte (diese sollen 1 cm Durchmesser nicht überschreiten), wird die Probe mit Vorteil in 2 bis 4 Portionen aus dem Reagensglas gesaugt. Mit 2 mal 1 Tropfen Aceton wird die Reagensglasspitze ausgespült und so der Rückstand quantitativ auf das Papier gebracht. Auf zwei weiteren Startpunkten wird Thiometon-Sulfoxyd II, z.B. 2 und 5 Mikrogramme, als Vergleichssubstanz aufgetragen.

Das solchermassen beschickte, am oberen Rande angeschriebene Papier wird zur Entfernung allen Lösungsmittels während 10 Minuten bei Zimmertemperatur aufgehängt und daraufhin chromatographiert.

### c) Die mobile Phase:

Als Fliessmittel wird destilliertes Wasser verwendet.

Die Flüssigkeitsfront wird etwa 30 cm über die Startlinie (absteigend) laufen gelassen (Dauer etwa 4 Stunden), sorgfältig der Apparatur entnommen, auf einem horizontalen Rost mit Hilfe eines kleinen Ventilators getrocknet und daraufhin mit einem der zwei Sprühreagenzien (Abschnitt C) besprüht.

### C. Sichtbarmachen der Flecken \*)

#### Sprühreagens 1: <sup>12)</sup>

Brom,

Fluorescein

— Vorratslösung: 0,33 g/100 ccm N/10 Natronlauge in dunkler Flasche,

— Spritzlösung: 3 ccm Vorratslösung in 97 ccm Aethylalkohol,

Sprühflasche,

Pulverflasche, 5 Liter,

Philips-Schwarzlichtlampe HPW 125 W, Typ 57202 E/70.

Die getrockneten Papierbogen werden 1 bis 2 Sekunden in die mit Bromdampf (etwa 2 g Brom/5 Ltr.) gefüllte Pulverflasche getaucht, 2 Minuten im Abzug aufgehängt und vorsichtig mit der Fluoresceinlösung besprüht. Werden die richtigen Mengen Brom und Fluorescein verwendet, so erscheinen die Phosphorinsektizide (vgl. Tab. 1) als gelb fluoreszierende Punkte auf rosa Untergrund oder als blau-schwarze Flecken auf gelblichem Hintergrund unter der Schwarzlichtlampe. Die Farbflecken sind nur wenige Tage sichtbar. Sie müssen zur allfälligen Dokumentation photographiert werden.

\*) Sprühreagens 3 : 0,5 % 2,6-Dibrom-N-chlor-p-chinonimin in Chlorbenzol. (Reagens erhältlich bei «Fluka» St.Gallen). Zum Nachweis der Oxydationsprodukte aus Pflanzenmaterial ungeeignet.

## *Sprühreagens 2: <sup>2)</sup>*

Kaliumplatin-Jodid-Lösung, bestehend aus:

0,5 g K<sub>2</sub>PtJ<sub>6</sub> <sup>\*)</sup>,

2 ccm Jodwasserstoffsäure, aufgefüllt mit Wasser auf 1000 ccm,  
Sprühflasche.

Der getrocknete Papierbogen wird mit dem Sprühreagens 2 kräftig besprüht und bei Zimmertemperatur trocknen gelassen. Die aus Tabelle 1 ersichtlichen Verbindungen erscheinen nach einigen Minuten als schwach gelbgrün gefärbte Flecken auf rosa Untergrund. Die Empfindlichkeit ist gleich gross wie bei Reagens 1. Die mit Reagens 2 entstehenden Flecken sind grösser, jedoch etwas undeutlicher als diejenigen nach 1-Behandlung. Auch diese Flecken sind photographierbar und verschwinden nach einigen Tagen.

Die quantitative Auswertung der Chromatogramme erfolgt nach der in Abschnitt D beschriebenen Weise.

## *D. Die Empfindlichkeit der Analysenmethode A bis C*

Die Empfindlichkeit, bzw. die Ausbeute der Extraktionsmethode ist für jedes Pflanzenmaterial, dessen Rückstände bestimmt werden sollen, zu überprüfen.

Zu diesem Zweck werden 100 g Früchte mit z.B. 50 Mikrogrammen Thiometon-Sulfoxyd vermischt, im Mixer zerkleinert und nach vorliegender Analysenmethode aufgearbeitet. Zur Bestimmung der Ausbeute wird ein aliquoter Teil der Probe chromatographiert und der Flächeninhalt des entstehenden Fleckens auf Millimeterpapier übertragen und mit den Flecken der auf dem gleichen Chromatogramm mitgelaufenen Testsubstanz bekannten Gehaltes verglichen. Die mit Birnen und Bohnen erhaltenen Ergebnisse sind aus Fig. 6 und 7 ersichtlich.

Die Resultate zeigen, dass Metabolit-Konzentrationen von 0,5 p.p.m. in 100 g Früchten unter Verwendung von Bruchteilen der zur Verfügung stehenden Extraktmenge in mindestens 95 %iger Ausbeute nachgewiesen werden können.

Nimmt man eine gute Sichtbarkeit der Metabolitflecken von 2 Mikrogrammen an und verwendet man zur Analyse z.B. die Hälfte des Endextraktes, so lassen sich aus 100 g Fruchtematerial Rückstände in der Größenordnung von 0,04 p.p.m. deutlich nachweisen.

## *E. Resultate von Rückstandsbestimmungen (vgl. Tab. 4 und 5)*

Die Versuche wurden im Versuchsgut «Klushof» der Sandoz AG in Aesch/BL durchgeführt. Wie aus den Tabellen ersichtlich, wurde Ekatin sowohl alleine, als auch in Mischbrühen mit den in Frage kommenden Fungiziden verwendet. Die Spritzungen erfolgten mit der Rückenspritze, wobei pro Buschbaum etwa 3 bis 4 Liter, pro Rebstock etwa 0,6 Liter Brühe verwendet wurden.

Die Probeentnahme im Felde erfolgte nach den allgemein gebräuchlichen Gesichtspunkten <sup>5)</sup>.

<sup>\*)</sup> zu beziehen bei der Firma Bender & Hobein, Zürich.

### Tafel III



Flüssigkeitsfront

#### *Nachweis von Spritzrückständen in Birnen*

Zur Analyse wurden verwendet:

Birnen: 100 g

Thiometon-Sulfoxyd: 50 γ ergebend eine

Konzentration von: 0,5 p.p.m.

Endextrakt: 20 ccm.

Von diesem Endextrakt wurden 4 ccm =  $\frac{1}{5}$  der Gesamtmenge, entsprechend theoretisch 10 γ, eingedampft und chromatographiert.

Resultat:

Startpunkt 1: Vergleichsmenge

Thiometon-Sulfoxyd(10 γ).

Startpunkt 2: Birnenextrakt.

Ausbeute: ca. 100 %.

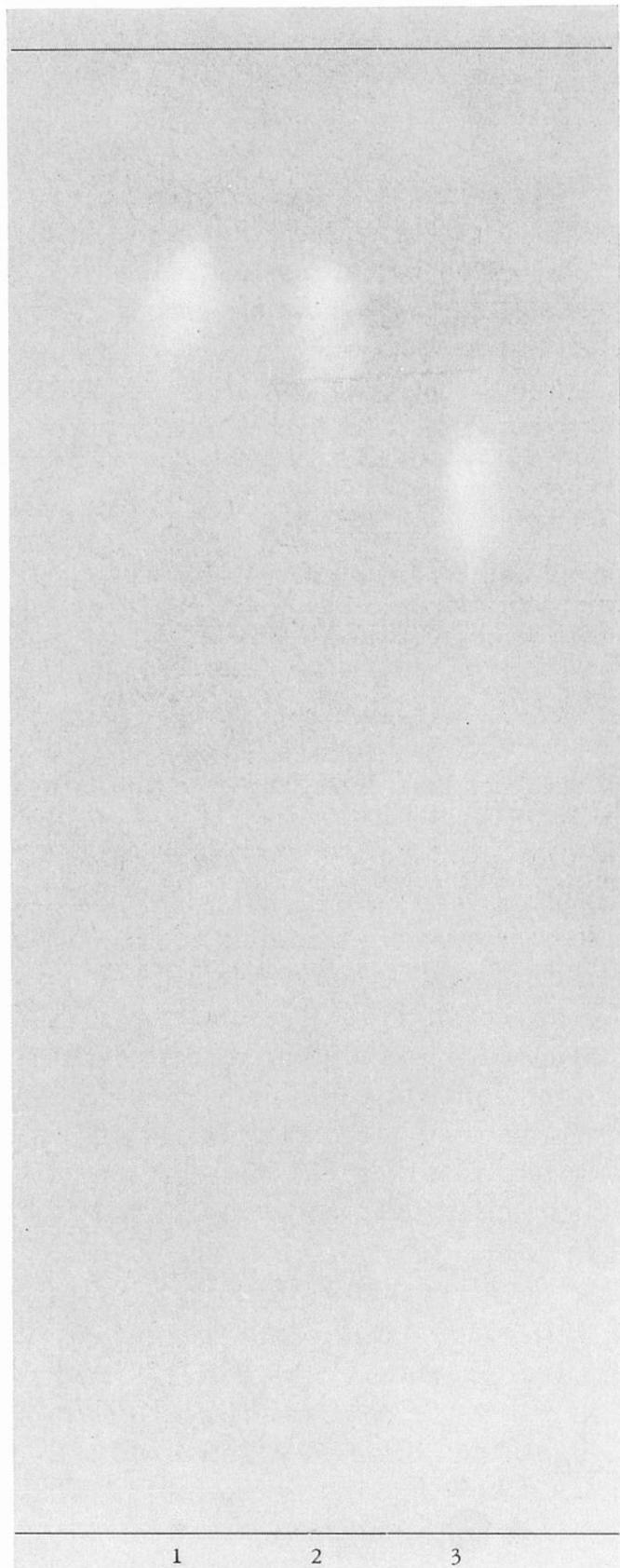
Der verminderte  $R_f$ -Wert der Probe ist auf geringe pflanzliche Verunreinigungen zurückzuführen.

Versuchsanordnung:

Whatman 1, Silikon imprägniert, absteigend mit  
Fliessmittel 2, Temp.  $22 \pm 2^\circ$ .

Fig. 6

## Tafel IV



Flüssigkeitsfront

### *Nachweis von Spritzrückständen in Bohnen*

Zur Analyse wurden verwendet:

Bohnen: 100 g

Thiometon-Sulfoxid: 50 γ ergebend eine

Konzentration von: 0,5 p.p.m.

Endextrakt: 20 ccm

Von diesem Endextrakt wurden 4 ccm =  $1/5$  der Gesamtmenge, entsprechend theoretisch 10 γ, eingedampft und chromatographiert.

Resultat:

Startpunkt 1: 8 γ } Thiometon-Sulfoxid als

Startpunkt 2: 10 γ } Vergleichssubstanz

Startpunkt 3: Bohnenextrakt.

Ausbeute: 95 bis 100 %.

Der verminderte  $R_f$ -Wert der Probe ist auf geringe pflanzliche Verunreinigung zurückzuführen.

Versuchsanordnung:

Whatman 1, Silikon imprägniert, absteigend mit Fließmittel 2, Temp.  $22 \pm 2^\circ$ .

Fig. 7

*Tabelle 4*

a) *Birnen*, Sorte: Williams Butterbirnen

*Spritzdaten:*

Nachblütenspritzung: 31.5.57  
 Obstmadenspritzung: 13.7.57

Dazu je eine entsprechende zusätzliche fungizide Behandlung am 26.7.57, wobei die nur mit Ekatin behandelten Bäume diese fungizide Spritzung nicht erhielten.

Spritzmittel	Behandlungsdaten	Probeentnahme	Tag <sup>e</sup> nach letzter Ekatin- behandlung	Toxische Rückstände mg/kg = p.p.m. Thiometon- Sulfoxyd
<i>Ekatin 0,1 %</i>	31.5.	23.7. 30.8.*)	54 92	0,2 <0,05
	31.5. und 13.7.	14.8. 30.8.*)	33 49	0,3 <0,05
<i>Mischbrühe aus: Ekatin 0,1 % und Thiovit 0,5 %</i>	31.5.	23.7. 30.8.*)	54 92	0,2 <0,05
	31.5. und 13.7.	14.8. 30.8.*)	33 49	0,2 <0,05
<i>Thiovit 0,5 %</i>	26.7.			

\*) Ordentliches Erntedatum.

*Tabelle 5*  
b) *Trauben, Sorte: Gutedel*

*Spritzdaten:*

Gegen rote Spinne: 21.5.57  
 Gegen den Heuwurm: 8.7.57  
 Gegen den Sauerwurm: 17.7.57

Dazu je eine entsprechende zusätzliche fungizide Behandlung am 23.7.57, wobei die nur mit Ekatin behandelten Stöcke diese fungizide Spritzung nicht erhielten.

Spritzmittel	Behandlungsdaten	Probeentnahme	Tagen nach letzter Ekatin-behandlung	Toxische Rückstände mg/kg = p.p.m. Thiometon-Sulfoxid
<i>Ekatin 0,1 %</i>	21.5 und 8.7.	27. 8. 1.10.	51 85	0,1 <0,1
	21.5., 8.7. und 17.7.	22.10.*)	97	0,08
Mischbrühe aus: <i>Ekatin 0,1 %</i> und <i>Cu-Sandoz 0,4 %</i>	21.5. und 8.7.	27. 8. 1.10.	51 85	0,3 0,05
	21.5., 8.7. und 17.7.	22.10.*)	97	0
<i>Cu-Sandoz 0,4 %</i>	23.7.			
Mischbrühe aus: <i>Ekatin 0,1 %</i> und <i>Blaukupfer/Zineb 0,6 %</i> <i>Blaukupfer/Zineb 0,6 %</i>	21.5. und 8.7.	27. 8. 1.10.	51 85	0,1 0,08
	21.5., 8.7. und 17.7. 23.7.	22.10.*)	97	<0,04

\*) Ordentliches Erntedatum.

Aus den vorliegenden Versuchen ist ersichtlich, dass:

- Birnen 33-, bzw. 49 Tage nach der Behandlung nur noch so geringe feststellbare Rückstände enthalten, dass sie ohne Bedenken der menschlichen Ernährung zugeführt werden können. Die nach 33 Tagen noch feststellbaren Mengen von 0,3 mg/kg liegen weit unterhalb der in den USA für Demeton (0,75 p.p.m.) in Nahrungsmitteln bewilligten Rückstandsmengen.
- Birnen, nach dem normalen Spritzplan mit Ekatin alleine oder zusammen mit Fungiziden behandelt, zur Zeit der Ernte praktisch keine Rückstände mehr enthalten.
- die Verhältnisse bei Trauben ganz ähnlich liegen, und dass Rückstände zur Zeit der Ernte praktisch nicht vorhanden sind und in jungem Wein vollständig fehlen.
- der Zusatz von Fungiziden die Rückstandsbestimmung nicht stört und die Rückstandsmengen nicht beeinflusst.

c) Zuckerrüben

Die im Jahre 1957 in Zusammenarbeit mit der Versuchsanstalt Lausanne durchgeführten Rückstandsuntersuchungen an zweimal mit Ekatin behandelten Zuckerrüben ergaben einen sehr raschen Anfangsabbau von Ekatin-Rückständen. Schon wenige Tage nach der Behandlung liegen die Rückstandsmengen in der Größenordnung von 0,2 p.p.m. und sinken dann allerdings langsamer weiter ab.

Von irgendwelcher praktischer Bedeutung dürften diese minimalen Mengen weder für den menschlichen, noch tierischen Konsum sein, insbesondere, wenn man die geringe Giftigkeit des Thiometon-Sulfoxydes II \*) und das Nichtgespeichertwerden im tierischen Gewebe berücksichtigt.

Detaillierte Angaben über die Versuchsanordnung und die gefundenen Rückstandswerte werden von anderer Stelle demnächst veröffentlicht werden.

---

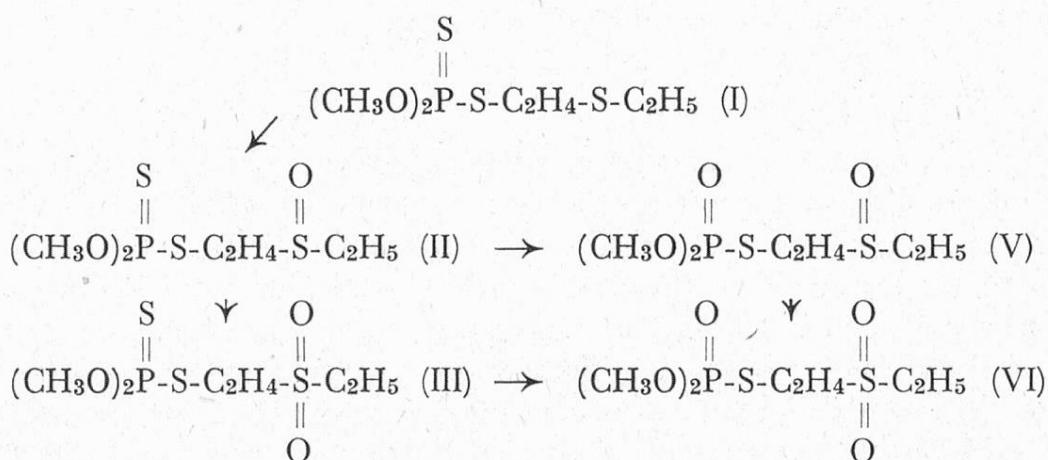
\*) Orientierende Versuche im pharmakol. Labor der Firma Sandoz ergaben, dass die LD<sub>50</sub> von Sulfoxyd und Sulfon bei oraler Applikation an der weissen Maus in ähnlicher Größenordnung liegt wie bei Thiometon.

## Zusammenfassung

0,0-Dimethyl-S-aethylmercaptoaethyl-dithiophosphat, «Thiometon» (I) ist ein neues systemisches Insektizid.

Dessen Verhalten in der Pflanze wurde untersucht. Es gelang, vier Umwandlungsprodukte gleichzeitig aus *Tradescantia* zu isolieren, papierchromatographisch zu trennen und mit empfindlichen Sprühreagenzien sichtbar zu machen. Die Identifizierung dieser Metabolite mit synthetischen Oxydationsprodukten gelang einerseits durch Vergleich der  $R_f$ -Werte und im Falle des Hauptmetaboliten auch durch Vergleich der IR.-Absorptionsspektren.

Unverändertes Thiometon konnte aus der Pflanze nicht isoliert werden. Thiometon wird in der Pflanze sehr rasch zum Thiometon-Sulfoxid (II) und dieses zum Thiometon-Sulfon (III) oxydiert. Die zwei weiteren noch nachweisbaren Verbindungen stellen die aus den Verbindungen II und III durch Oxydation am Thiono-Schwefel sich ableitenden Thiolverbindungen V und VI dar.



Eine, sich auf Thiometon-Sulfoxid (II) als Hauptmetabolit stützende Analysenvorschrift zur Bestimmung von *Ekatin*-Spritzrückständen, bestehend aus Extraktion, Reinigung, papierchromatographischer Trennung und planimetrischer Auswertung der Resultate, wird im Detail beschrieben. Die Methode ist auf die verschiedensten pflanzlichen Materialien mit guter Empfindlichkeit anwendbar. Es lassen sich damit aus 100 g Analysenmaterial noch 4 Mikrogramme an Rückständen nachweisen, was einer Konzentration von 0,04 p.p.m. entspricht.

Die Resultate, einiger nach dieser Methode durchgeföhrten Rückstandsanalysen von Birnen — Trauben, werden tabellarisch aufgeführt.

## Résumé

La Thiométon (I; Diméthylthiophosphate de S-éthylmercaptoéthyle) est un nouvel insecticide systémique.

Son comportement dans les plantes a été étudié ici. On est parvenu à isoler chez les *Tradescantia* sp. quatre produits de transformation qui sont tous quatre simultanément présents; ils ont été séparés par chromatographie sur papier et révélés au moyen d'un réactif sensible. On a identifié ces métabolites avec les produits d'oxydation (II, III, V,

VI) de la thiométone obtenus par synthèse, d'une part par les valeurs de  $R_f$  et de l'autre — dans le cas du sulfoxyde de thiométone (II) — par le spectre d'absorption infrarouge.

On ne retrouva pas de thiométone non transformée dans la plante; ce produit y est très rapidement oxydé en son sulfoxyde (II) et celui-ci à son tour en Thiométone-sulfone (III). Les troisième et quatrième métabolites décelés ont été synthétisés à partir des corps II et III par oxydation au niveau du soufre thiono en les combinaisons thiols V et VI correspondantes.

On décrit une méthode de dosage des résidus d'Ekatine (préparation commerciale d'insecticide à base de thiométone) qui consiste à évaluer la teneur en Thiométone-sulfoxyde (II); ce dernier est celui des quatre métabolites qui apparaît en plus forte quantité. La méthode comprend l'extraction, la purification, la séparation chromatographique sur papier puis l'évaluation planimétrique des spots de II; elle est applicable avec une bonne sensibilité à divers matériels de plantes; on décèle encore 4 microgrammes de résidu dans 100 g de matière à analyser, ce qui correspond à une concentration de 0,04 partie par million.

Les résultats de telles déterminations faites sur des récoltes de poires et de raisins sont donnés dans les tableaux 4 et 5.

### Summary

0,0-dimethyl-S-ethyl-mercaptoethyl phosphorodithioate «Thiometon» (I) is a new systemic insecticide and the active constituent of *Ekatin*. Its behaviour in plants has been investigated. By means of a special purifying method and paper chromatography it is possible to isolate and separate four metabolites. These four compounds were compared with pure synthetic oxydation products and identified by paper chromatography. In addition infrared analysis was used for the principal metabolite.

Unchanged thiometon could in no case be isolated from treated *Tradescantia* sp. Thiometon is rapidly oxidized in the plant to thiometon sulfoxide (II) and thiometon sulfone (III). Both compounds are further oxidized at the thionosulfur to the thiol-esters (V) and (VI).

An analytical method for the determination of *Ekatin* residues, by means of extraction, purification, and paper chromatography, is described in detail. The method is sensitive to 4 micrograms in 100 grams of plant material, corresponding to 0,04 p.p.m.

Residue determinations in samples of pears and grapes were made with this method and the results obtained are listed in two tables.

### Literatur

- 1) *H. Tietz*, Höfchen-Briefe, **7**, 1 (1954).
- 2) *H. Tietz, R. Mühlmann*, Höfchen-Briefe, **9**, 116-140, 286 (1956).
- 3) *R. L. Metcalf* und Mitarb., *J. Agr. Food. Chem.*, **2**, 732 (1954).  
*J. Econ. Entomol.*, **47**, 1045 (1954). **48**, 347, 355, 364 (1955).  
**49**, 147 (1956). **50**, 338, 399 (1957).
- 4) *Zusammenfassungen verschiedener Themen «Advances in Pest Control Research»*, Interscience Publ., N. Y. **1**, S. 81, 147, 305 (1957).

- 5) *F. A. Gunther and R. C. Blinn*: «Analysis of insecticides and acaricides», Chem. Analysis, Vol. 6, Intersc. Publ., N. Y.-London, 1955.
- 6) Vgl. 4). *M. S. Schechter, I. Hornstein*, Analysis of Pesticides Residues, S. 353-447.
- 7) *P. A. Giang, S. A. Hall*, Anal. Chem., **23**, 1830 (1951).
- 8) *J. Hensel* et al. «Microestimation of Demeton Residues»,, Chemagro Corp. 1956.
- 9) Vgl. auch: *L. I. Butler, W. E. Westlake*, J. Econ. Entomol., **50**, 737 (1957).
- 10) *J. C. Gage*, Biochem. J., **54**, 426 (1953).
- 11) *R. L. Metcalf, R. B. March*, Science, **117**, 527 (1953).
- 12) *J. W. Cook*, J. Ass. Off. Agric. Chem., **37**, 984 (1954).
- 13) *R. Müller, G. Ernst, H. Schoch*, diese Mitt. **48**, 152 (1957).
- 14) *G. Schrader*, Die Entwicklung neuer Insektizide auf Grundlage organischer Fluor- und Phosphorverbindungen. Monographie zu «Angewandte Chemie» und «Chemie-Ingenieur-Technik», Nr. **62**, (1952).
- 15) *C. Klotzsche*, Vortrag, gehalten am IV. Intern. Pflanzenschutzkongress in Hamburg, 1957.
- 16) *C. Klotzsche*, diese Mitt., **49**, 72 (1958).
- 17) *C. S. Hanes, F. A. Isherwood*, Nature **164**, 1107 (1949).  
*K. K. Otter*, Nature **176**, 1078 (1955).
- 18) *J. J. Menn, W. R. Erwin, H. T. Gordon*, J. Agr. Food. Chem. **5**, 601, (1957).
- 19) *I. E. Bush*, Biochem. J. **50**, 370 (1952).
- 20) *Cramer*, «Papierchromatographie» 4. Auflage, Verlag Chemie 1958.