

CHROM. 4248

VERFAHREN ZUR ERZIELUNG GUT REPRODUZIERBARER R_F -WERTE
BEI SERIENMÄSSIG DURCHGEFÜHRTER DÜNNSCICHT-
CHROMATOGRAPHIEROUTINEMETHODE ZUR IDENTIFIZIERUNG INSEKTIZIDER
CHLORKOHLLENWASSERSTOFFE

W. EBING

*Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Institut für Pflanzenschutzmittelforschung,
D 1000 Berlin 33 (B.R.D.)*

(Eingegangen am 16. Juni 1969)

SUMMARY

A method yielding high reproducible R_F values suitable for thin-layer chromatography in series. Routine method for identification of chlorinated hydrocarbon pesticides

A general method is described. By using preferably monocomponent solvents R_F values of high reproducibility are obtainable. Maximum deviations from the mean value are not more than $3 hR_F$, mean deviations from the mean values are equal to $0.8 hR_F$, standard deviations are of ± 1.2 . The technique needs cheap and simple laboratory equipment only, and a large number of plates may be chromatographed daily in routine analysis. This method is applied to the identification of at least sixteen chlorinated hydrocarbon pesticides by their R_F values.

EINLEITUNG

Auf dem 3. Internationalen Symposium über die "Reproduzierbarkeit in der Papier- und Dünnschichtchromatographie", 2.-5. Oktober 1967 in Liblice, wurde heftig über die Frage diskutiert, inwieweit die—nur durch besondere Massnahmen erreichbare—gute Reproduzierbarkeit der R_F -Werte angestrebt werden sollte. Zur dünnschichtchromatographischen Screening-Analyse von völlig unbekanntem Proben, in denen Komponenten aus einem Spektrum von viel mehr als zehn Stoffen erwartet werden, müssen die R_F -Werte zur Identifizierung herangezogen werden, da bereits die Unterbringung aller Vergleichsstoffe den Platz für die Proben auf einer Dünnschichtplatte stark einengt. Oft differieren die R_F -Werte etlicher der erwarteten Komponenten bei solchen Screening Tests nur wenig. Besonders aus diesem Grunde ist eine gleichbleibende Trennleistung des dünnschichtchromatographischen Systems und eine geringe Streuung der R_F -Werte unabhängig von tages- oder jahreszeitlich bedingten Klimaschwankungen und vom Experimentator notwendig. Mehrere Au-

toren^{1-10,27} berichteten über folgende, auf die Reproduzierbarkeit Einfluss nehmenden Faktoren: Qualität (Porosität, Chargenabhängigkeit) des Adsorbens, Schichtdicke, Reinheitsgrad der Fliessmittel, Kammersättigungsgrad, Chromatographiertechnik, Kammervolumen, Abstand des Startes vom Eintauchspiegel, Temperatur, Vorbedampfung durch Wasser (Feuchte) und Fliessmittelkomponenten. Besonders die Arbeiten von GEISS *et al.*^{4,5,9-11} befassten sich grundlegend mit den wichtigsten Faktoren der Vorbedampfung. In der von ihnen entworfenen KS-Kammer^{*5,12} können unterschiedliche Vorbedampfungsverhältnisse nebeneinander auf der gleichen Dünnschichtplatte geschaffen werden. In der von diesen Autoren gleichfalls beschriebenen GS-Klimakammer^{**5} kann auf einer Platte einheitlich unter exakt kontrollierbaren Bedingungen chromatographiert werden. Beide Kammern sind vergleichsweise teuer und werden für das klimakontrollierte Chromatographieren durch jeweils eine einzige Platte u.U. über mehrere Stunden gegenüber der zeitlich nachfolgenden Dünnschichtplatte blockiert.

Für die serienmässige dünnschichtchromatographische Identifizierung vieler Chlorkohlenwasserstoffinsektizidwirkstoffe in unbekanntenen Proben mit hohem Plattendurchsatz pro Tag entwickelten wir daher ein Verfahren, das den Gebrauch der genannten kostenaufwendigen Kammern vermeidet. Auch bei unserem Verfahren werden alle für die Reproduzierbarkeit wesentlichen Faktoren exakt kontrolliert. Man kann sie variabel nach Wunsch einstellen und damit das Trennergebnis in der beabsichtigten Weise optimieren.

In dieser Veröffentlichung sind unsere zwei Jahre währenden Erfahrungen mit diesem Verfahren berücksichtigt. POGACAR *et al.*²⁰ bedienten sich der Tube-Dünnschichtchromatographie für reproduzierbares Arbeiten. Wir beschäftigten uns ebenfalls mit dieser Methode. Für das Variieren der Schichten in Röhren schien uns jedoch die Ausarbeitung einer gut kontrollierbaren Schichtherstellungsmethode zu aufwendig. Ferner lässt sich bei den Tubes das Klima während der Probenaufgabe nicht kontrollieren. Aus diesen Gründen wendeten wir uns wieder planen Schichten zu.

Zur Beurteilung der Leistungsfähigkeit eines dünnschichtchromatographischen Analysenverfahrens sind Chlorkohlenwasserstoffinsektizide ein besonders geeigneter Prototyp, da die Trennung dieser Verbindungen hauptsächlich auf ihrer Adsorptions-Desorptionswechselwirkung mit dem Adsorbens selbst, weniger auf verteilungschromatographischen Prozessen beruht. Die erstgenannte Wechselwirkung wird begreiflicherweise durch adsorbierte Feuchtigkeit (oder andere Vorbedampfung) besonders empfindlich beeinträchtigt, wie bereits von REICHEL⁷ gezeigt wurde. Bei einigen von REICHEL nicht untersuchten Chlorkohlenwasserstoffinsektiziden ist die R_F -Wert-Abhängigkeit auch bei geringen Änderungen im Feuchtegehalt so gross, dass wir uns nicht entschliessen konnten, ein feuchteklimatisiertes Labor als Klimatisierungskammer für die Schichten zu benutzen. Erfordert eine Trennung besonders hohe Feuchten, dann wäre die Methode von REICHEL dem Laboratoriumspersonal kaum zuzumuten, und schliesslich müssten in die meisten europäischen Laboratorien mit unverhältnismässig hohem Kostenaufwand hochwertige Klimaanlage erst nachträglich installiert werden. Darüberhinaus ist die Gleichmässigkeit von Temperatur und Feuchte in derart grossen Räumen technisch noch immer problematisch.

Nachstehend wird zunächst das dünnschichtchromatographische Rahmen-

* Beziehbare von der Firma Camag, Muttenz, Schweiz.

** Beziehbare von der Firma Desaga, Heidelberg.

verfahren, mit dem sich hohe Reproduzierbarkeit im Serienbetrieb erzielen lässt, beschrieben und begründet. Im Anschluss werden die Arbeitsvorschrift zur Identifizierung der Chlorkohlenwasserstoffinsektizide und die damit erreichbaren Ergebnisse mitgeteilt.

RAHMENVERFAHREN

(1) Das Sorptionsmaterial wird stets von der gleichen Quelle unter gleicher Signatur bezogen. Das Schüttgewicht der gewünschten Siebfraction (s. Abschn. 2) wird festgestellt. Aus den Dimensionen der Glassplatte und der gewünschten ("Pseudo"-) Schichtdicke (nicht exakt zutreffende Annahme: die Packungsdichten bei der Ermittlung des Schüttgewichtes und auf der fertigen Platte seien gleich) ergibt sich die Gewichtsmenge des pro Platte anzuwendenden Sorptionsmaterials. An sehr feuchten Tagen sollte das Gut unmittelbar vor der Ermittlung des Schüttgewichts 1 h bei 80° am Rotationsverdampfer evakuiert werden. Im Falle einer im Schüttgewicht von der Bezugscharge abweichenden Folgecharge muss eine korrigierte Menge Sorptionsmittel pro Plattenfläche angewendet werden. Nach einiger Übung (vgl. Abschn. 3 und 4) erhält man innerhalb einer Platte eine gleichmässige Schichtverteilung, als wir sie je mit dem Streichverfahren herstellen konnten. Darüberhinaus ist eine bessere Kontrolle über die Identität der Schichtdicken der Platten untereinander gegeben. Über die Gleichmässigkeit solcher Platten gibt Tabelle I Auskunft. Auf jenen

TABELLE I

PRÜFUNG DER GLEICHMÄSSIGKEIT DER SCHICHTEN VON GEGOSSENEN DÜNNSCHICHTPLATTEN

Vergleich der h_{RF} -Werte von Isobenzan auf 11 Bahnen verteilt über die gesamte Breite von 20 × 20 cm-Platten, durchgeführt an drei verschiedenen Tagen.

Platte	Bahn-Nr.											Mittelwert	Mittl. Abweichung vom Mittelwert	Grösste Abweichung
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11			
1 (23. Febr.)	28	28	28	29	29	29	29	29	30	30	30	29	0.5	1
2 (27. Febr.)	29	29	29	29	30	30	30	30	30	30	33	30	0.6	3
3 (28. Febr.)	30	31	31	30	30	30	29	29	29	31	31	30	0.6	1

Platten war die Korngrössenverteilung noch weniger eng fraktioniert, als wir das heute tun. Die Homogenität unserer jetzt hergestellten Platten ist nur wenig schlechter als die von kommerziellen Fertigplatten.

(2) Man verwende Siebfractionen mit Korngrössenverteilung nur innerhalb eines Intervalls von 10 μm . Geeignet sind die Fractionen 50–60 μm , 40–50 μm , 30–40 μm , 20–30 μm . Bei Anwendung engfraktioniertem Materials wird gute Haltbarkeit der Schicht sowie Konstanz der Wanderungsgeschwindigkeit der Fliessmittelfront (Abweichung der Geschwindigkeiten von Platte zu Platte < 1%!) erreicht und die Zahl der Platten, die bei der Trennung nicht die Normen (Auswahlbedingungen s. Abschn. 10!) erfüllen, wird verringert. Mit der Wahl der Fraction werden die chromatographische Entwicklungszeit (kleine Korngrösse \rightarrow kleine Fliessmittelgeschwindigkeit) und die Trennung kritischer Paare beeinflusst. Dieser Effekt ist bisher wenig

beachtet worden. Er übertrifft den Einfluss des angewendeten Suspensionsmittels (z.B. Chloroform statt Wasser) auf die Homogenität der Schicht und damit auf die Güte der Trennung, wie er von VERSINO *et al.*²¹ berichtet wird. Mit bestimmten Suspensionsmitteln wird dort nur eine möglicherweise für die Haftung—und damit die homogene Kapillaraktivität—günstigere Korngrößenverteilung entlang der Dickenkoordinate der Schicht erreicht.

(3) In einem 75 ml-Erlenmeyerkolben wird die für eine Platte abgewogene Menge Sorptionsmaterial mit dem optimal ermittelten Volumen Suspensionsmittel (Wasser, organisches Lösungsmittel, Gemisch Wasser—organisches Lösungsmittel je nach Art des Schichtmaterials) versetzt. Das Suspensionsmittelvolumen ist optimal, wenn die Suspension einerseits nicht von der Platte fließt und sich andererseits leicht visuell homogen über die gesamte Fläche verteilen lässt.

(4) Die Suspension wird 1 min geschüttelt und dann mit einem Schwung entlang einer 20 cm-Kante auf die sorgfältig gesäuberte (s. Abschn. 11!) Glasplatte gegossen. Durch mehrfaches Hin- und Herkippen der Glasplatte über einen dunklen Untergrund wird das Sorptionsmaterial visuell erkennbar gleichmässig verteilt. Sofort anschliessend wird die Platte auf einer austariert waagerechten Ebene zugfrei zum Lufttrocknen abgelegt. Trockenzeit: im allgemeinen (bei gewöhnlichen Suspensionsmitteln): über Nacht. Die waagerechte Unterlage kann z.B. mit Hilfe einer grossen dicken Glasplatte auf einem Nivellierdreieck in einem zugfrei abgedichteten Laborabzug erstellt werden.

(5) Alle lufttrockenen Platten werden nach Abkratzen der erforderlichen Ränder und Markierung der Ziellinie zunächst 16 h (über Nacht) über $H_2SO_4 \rho = 1.84$ vorgetrocknet und damit in den gleichen Ausgangszustand—unabhängig vom Raumklima—gebracht. Wir tun dies in Packungen von 10 Stück in dem Desaga-Trockengestell, welches in einen luftdicht verschliessbaren (Glas-) Kasten der Abmessungen $25 \times 25 \times 25$ cm so eingestellt wird, dass die Platten sich senkrecht über der Oberfläche der Säure befinden. Alle 1–2 Tage muss das spezifische Gewicht der Säure geprüft und ggf. neu eingestellt werden. Eine Hitzetrocknung fördert die Tendenz zum Abblättern der Schichten; sie ist ferner weniger gleichförmig, wenn nicht ein Ventilatorumluft-trockenschrank verwendet wird. Aber auch dort ist der Wasserentzug an den Platten weniger gut kontrollierbar. Ausserdem wird beim Überführen der Platten in das nächste Vorbehandlungssystem das dort herrschende Gleichgewicht durch heisse Platten stärker gestört. Starke Änderung der Vortrocknungszeit kann eine Verschlechterung der Schichthaftung sowie einen hemmenden Einfluss auf die Wanderungsgeschwindigkeit des Fließmittels ausüben.

(6) Anschliessend erfolgt eine stets gleichbleibende Zeit lang die Äquilibrierung der Platten mit einem bestimmten Luftfeuchtegehalt, der sich als vorteilhaft für die beabsichtigten Trennungen erweist. Dies geschieht in einem abgedichteten, in jedem Labor leicht selbst herzustellenden Kasten der ungefähren Grösse $1 \times 0.5 \times 0.5$ m. Wir benutzen den in Fig. 1 abgebildeten Glaskasten. Für das Photographieren wurde die Vordertür abgenommen. In der rechten hinteren Ecke der Kammer befindet sich auf einem Sockel ein offener PVC-Bottich der Grundfläche mindestens 25×25 cm, einer Höhe von mindestens 20 cm und mit einem durch die rechte Aussenwand der Kammer geführten (und abgedichteten) Ablasshahn. Der Bottich ist zu Dreivierteln mit der Klimaschwefelsäure gefüllt. Das Flügelrad an der rechten Seitenwand wird mit geringer, stets gleichbleibender Umdrehungszahl von einem rechts ausserhalb angebrachten Rührwerksmotor angetrieben. Eine genaue Feuchtigkeitskontrolle mit dem

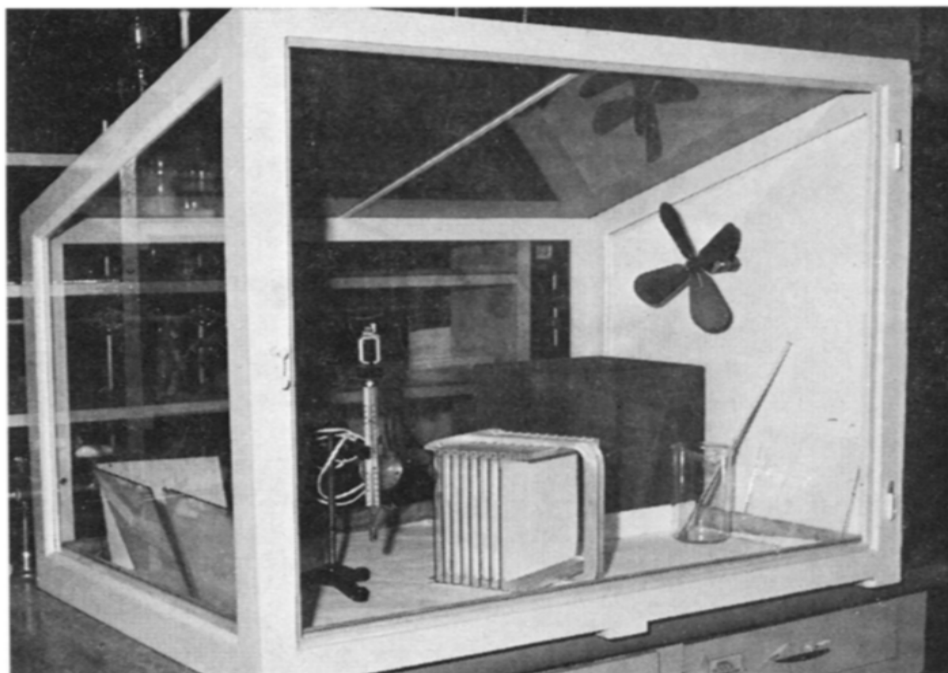


Fig. 1. Klimatisierungskammer für Dünnschichtplatten.

im Hintergrund sichtbaren Hygrometer ist nicht möglich. Wir ermitteln mit ihm lediglich die zur Äquilibration nötige Zeit nach dem Einstellen der Platten (z.B. im Vordergrund). Die genaue Feuchtekontrolle geschieht durch Spindeln (im allgemeinen einmal täglich: abends) der Dichte der Klimaschwefelsäure, die durch Zugießen von wenigen Millilitern Wasser bzw. H_2SO_4 unter Rühren (vgl. Glasstab vor dem Bottich!) stets genau eingestellt wird. Oft bewährt sich eine H_2SO_4 von $\rho = 1.35$. Sie ruft eine rel. Feuchte von ca. 47% hervor. Das Einstellen von Feuchtigkeitswerten $< 15\%$ relativ verbietet sich, da dann Einflüsse der Raumluft innerhalb der wenigen Sekunden der Überführung der Platten zur nächsten Behandlungsstufe (s. Abschn. 7!) nicht mehr vermieden werden können und somit die Reproduzierbarkeit schlechter wird. Wir äquilibrieren meist $1\frac{1}{2}$ h vor der Probenaufgabe. $\frac{1}{2}$ h vorher braucht die Kammer, um bei laufendem Ventilator ein Feuchtegleichgewicht herzustellen.

(7) Zur Probenaufgabe wird die Analysenplatte schnell in die sog. "Präparierbox" (Desaga, Best.-Nr. 1240 80) überführt. Diese Box wird schon $\frac{1}{4}$ h vorher und während des Auftragens mit einem Strom von 400 ml N_2 /min gespült. Der Stickstoff passiert unmittelbar davor zwei Waschflaschen mit H_2SO_4 derselben Dichte wie diejenige in der Klimakammer. Das Ausbringen der Proben 3.0 cm vom unteren Rand Rand entfernt erfolgt mittels Kapillarpipetten von konstantem Volumen (1 oder 3 μl) durch ein Loch der Auftrageschiene dieser Box. In Hinsicht auf die leichte Zersetzlichkeit mancher Pflanzenschutzmittelwirkstoffe und zur Erzielung möglichst niedriger Nachweisgrenzen ist eine geringe Verweilzeit der Proben am Start wünschenswert. Dies ist bei den aufwendigen Kammern von GEISS nicht realisierbar. Unser Verfahren erfüllt diesen Wunsch. Raumluftinflüsse während der Probenauftragszeit, die die Vorklimatisierung der Platten merkbar beeinträchtigen, werden auf die beschriebene Weise weitgehend vermieden. Selbstverständlich ist auch die Dichte der Klimaschwefelsäure in den Waschflaschen alle 1-2 Tage zu überprüfen.

(8) Chromatographiert wird im Sandwich-Verfahren, System Camag. Als Konterplatten werden entweder unbehandelte oder gleicherweise beschichtete Glasplatten verwendet, welche letztere der gleichen Vorbehandlung unterworfen waren wie die Analysenplatten. Die genau senkrechte Aufstellung erfahren die 2 mm-Sandwiches auf genau waagrecht austarierter Unterlage. Stets frisches Fließmittel wird vor dem Einstellen der Sandwiches in die Tröge immer genau 1 cm hoch eingefüllt. Im Sandwich-Verfahren ist die grösste Gewähr für die Konstanz der Verhältnisse während der Chromatographierzeit gegeben. Besonders Temperatureinflüsse wirken sich hier nur wenig aus. Das System ist unumschränkt anwendbar beim Arbeiten mit Einkomponentenfließmitteln. Viele Mehrkomponenten-Systeme zeigen oft unerwünschte Entmischungserscheinungen, die überdies die Reproduzierbarkeit beeinträchtigen können. An einer Möglichkeit zur reproduzierbaren Chromatographie mit allen Mehrkomponenten-Fließmittelsystemen wird z.Zt. gearbeitet.

(9) Die Raumtemperatur ist bei allen Schritten des Verfahrens innerhalb eines Intervalls von 5° zu halten.

(10) Für die Identifizierung einer bestimmten Stoffgruppe wird ein Vertreter dieser Klasse von mittlerem R_F -Verhalten und chemisch-physikalischer Beständigkeit ausgewählt. Diese Standardsubstanz wird auf jede Analysenplatte einmal für eine mittlere Bahn aufgetragen. Aus einer grossen Zahl von Versuchen (8–10) wird dessen Soll- R_F -Wert gemittelt. Dabei wird auch die Sollzeit ermittelt, die die Fließmittelfront zwischen Probenaufgabeort und Ziellinie benötigt. Nur solche Platten gelangen zur Auswertung, deren Standard nicht mehr als ± 1 vom hR_F -Sollwert und deren Laufzeit nicht mehr als $\pm 2\%$ von der Sollzeit abweichen. Eine Relativierung der R_F -Werte ist im allgemeinen für die Reproduzierbarkeit unergiebig, da viele Substanzen auf Störeinflüsse bei der Dünnschichtchromatographie in sehr unterschiedlichem Ausmass reagieren (also $\Delta R_{F(st)} \neq \Delta R_{F(a,b...)}$). Auch die von BRENNER *et al.*²² vorgeschlagene Standardisierung über die R_M -Werte: $R_M = \log (1/R_F - 1)$; $(R_M)_t - (R_M)_{st} = (R_k)_t - (R_k)_{st}$ verbessert die Ergebnisse gegenüber den ursprünglichen R_F -Werten nicht, vermutlich weil die Trennung der Chlorkohlenwasserstoffinsektizide nur in geringem Masse auf flüssig-flüssig-Verteilungsprozessen beruht. Die Ausschussquote der nicht auswertbaren Platten liegt nicht höher als 30%, neuerdings—seitdem wir durchweg engfraktioniertes Sorptionsmaterial verwenden—sogar erheblich niedriger. Es folgen Durchschnittsangaben betreffend die Reproduzierbarkeit über Monate hinweg:

Selbstgegossene Platten

Grösste Abweichung vom Mittelwert	ca. 3 hR_F
Durchschnitt der mittleren Abweichungen vom Mittelwert ($\overline{M.A.}$)	ca. 0.8 hR_F
Mittlere Standardabweichung (\bar{s})	ca. 1.2

Fertigplatten

Grösste Abweichung vom Mittelwert	ca. 2 hR_F
Durchschnitt der mittleren Abweichungen vom Mittelwert ($\overline{M.A.}$)	ca. 0.4 hR_F
Mittlere Standardabweichung (\bar{s})	ca. 0.9

(11) Zur Reinigung der Glasplatten wird zunächst die Schicht mit einem Holzspatel abgestreift und unter fließendem, ca. 40° warmem Wasser gespült. Mit einem

Reinigungsmittel wie "Vim" (ohne Sand) und einer weichen Bürste wird bis zur befriedigend ausfallenden "Wasser-Ablauf-Probe" (ohne Schlieren!) gesäubert, mit destilliertem Wasser nachgespült und in das Desaga-Abtropf-Gestell aus Metall gebracht. Dort werden die Platten noch beidseitig mit Methanol abgespült, ehe sie trocknen. Zweckmässigerweise trägt man bei der Reinigung Gummihandschuhe.

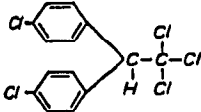
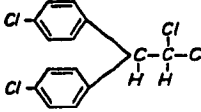
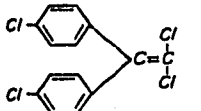
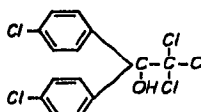
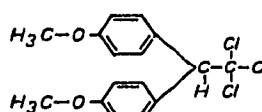
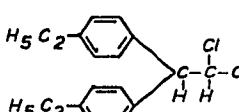
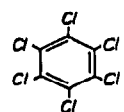
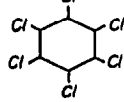
(12) Nach dem beschriebenen Chromatographier-Verfahren wurden auch Fertigplatten der Firma Merck: DC-Alu-Folien erfolgreich eingesetzt.

VERFAHREN ZUR IDENTIFIZIERUNG DER CHLORKOHLLENWASSERSTOFFINSEKTIZIDE

In Tabelle II sind die verwendeten Wirkstoffe beschrieben.

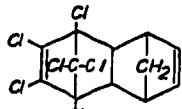
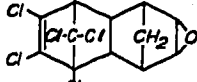
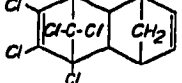
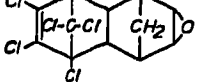
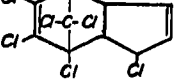
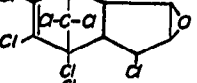
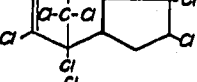
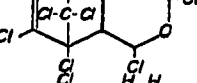
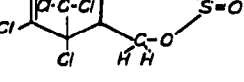
TABELLE II

VERWENDETE WIRKSTOFFE

Wirkstoffe	Formel	Herkunft	Verwendete Qualität
DDT		Schering "techn."	Umkristallisiert aus Methanol und Tetrachlor- kohlenstoff Schmp. 105-107°
DDD		Geigy, Basel "99.8%"	Original Schmp. 109-110°
DDE		Geigy, Basel "rein, 99.3%"	Original Schmp. 89-90°
Dicofol		BBA, Braunschweig "Kelthane, rein"	Original Schmp. 76-77°
Methoxychlor		Geigy, Basel "rein, 99.8%"	Original Schmp. 89°
Pertlan		Rohm & Haas "techn."	Auf Tonplatten gereinigt Schmp. 55-58°
Hexachlorbenzol		BBA, Braunschweig	Original Schmp. 226-227°
Lindan		Marktredwitz "ca. 99%"	Original Schmp. 113-114°

(Vortsetzung auf S. 88)

TABELLE II (Vortsetzung)

Isodrin		BBA, Braunschweig "rein"	Original Schmp. > 200°
Endrin		Schering "techn. 99%"	Umkristallisiert aus Methanol Zers. 200°
Aldrin		Shell "techn. 94%"	Umkristallisiert aus Aceton und Heptan- Methanol Schmp. 103-104°
Dieldrin		Marktrechwitz "ca. 96%"	Umkristallisiert aus Methanol und Heptan- Methanol Schmp. 173-174°
Heptachlor		Cela "72%"	Umkristallisiert aus Butanol und 50%igem Alkohol Schmp. 93-94°
Heptachlorepid		Velsicol "96.2%"	Original Schmp. 161-162°
Chlordan		Velsicol "reference grade"	Original
Isobenzan		Shell "Telodrin techn."	Umkristallisiert aus Benzol Schmp. 122-124°
Endosulfan		Shell "rein, Isomere I + II im Verh. 2:1"	Original Schmp. 86-96°
Toxaphen	chloriertes Camphen Merck	"techn. ca. 95%"	Original

System I

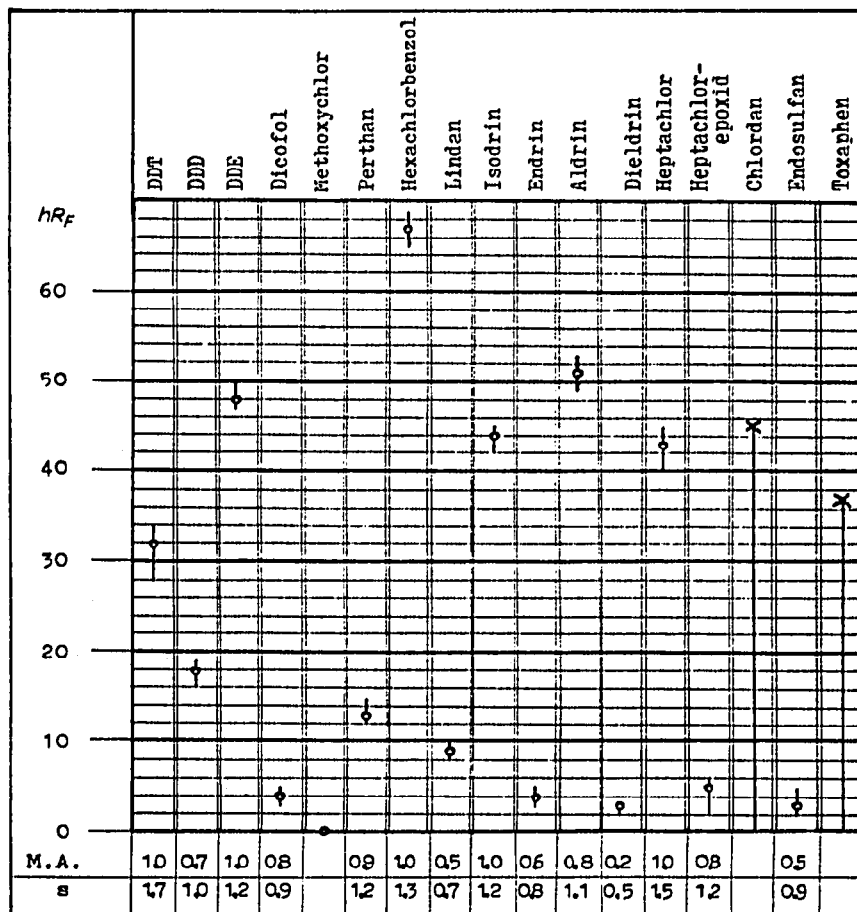
4.0 g Kieselgel G suspendiert in 15 ml Essigester für eine 20 × 20 cm-Platte; Vorklima: $H_2SO_4 \rho = 1.35$; Konterplatte analog; Fließmittel: Cyclohexan; Strecke: 10 cm sollen in 42 min durchflossen sein; Standard: Isobenzan, Sollwert $hR_F = 30$; hR_F -Wert-Schema: Tabelle III.

System II

3.26 g Magnesiumsilikat DC Woelm 30-40 μm , suspendiert in 15 ml 90%igem Äthanol für eine 20 × 20 cm-Platte; Vorklima: $H_2SO_4 \rho = 1.35$; Konterplatte analog*; Fließmittel: Cyclohexan; Strecke: 10 cm sollen in 2½ h durchflossen sein; Standard: DDD, Sollwert $hR_F = 25$; hR_F -Wert-Schema: Tabelle IV.

* Bei diesem System wurde erstmals eine zweite Analysenplatte als Konterplatte mit der ersten zu einem Sandwich vereinigt: Beide Platten hatten stets ideale Sollwerte und gute R_F -Werte. Nahezu 50% Zeit- und Materialeinsparung!

TABELLE III

 hR_F -WERTE DER CHLORKOHLLENWASSERSTOFF-INSEKTIZIDE IM SYSTEM I*System III*

Polyamid-DC-Alufolie F 254, Merck, Schichtdicke 0.15 mm, 20 × 20 cm; Vorklima: $H_2SO_4 \rho = 1.35$; Konterplatte: 7.5 g Polyamid DC Woelm, suspendiert in 45 ml Chloroform-Methanol (2:3) wurden auf 5 Platten gestrichen. Vorklima: analog Fertigplatte; Fließmittel: 80%iges Äthanol; Strecke: 10 cm sollen in 3 h durchflossen sein; Standard: Lindan, Sollwert $hR_F = 35$; hR_F -Wert-Schema: Tabelle V.

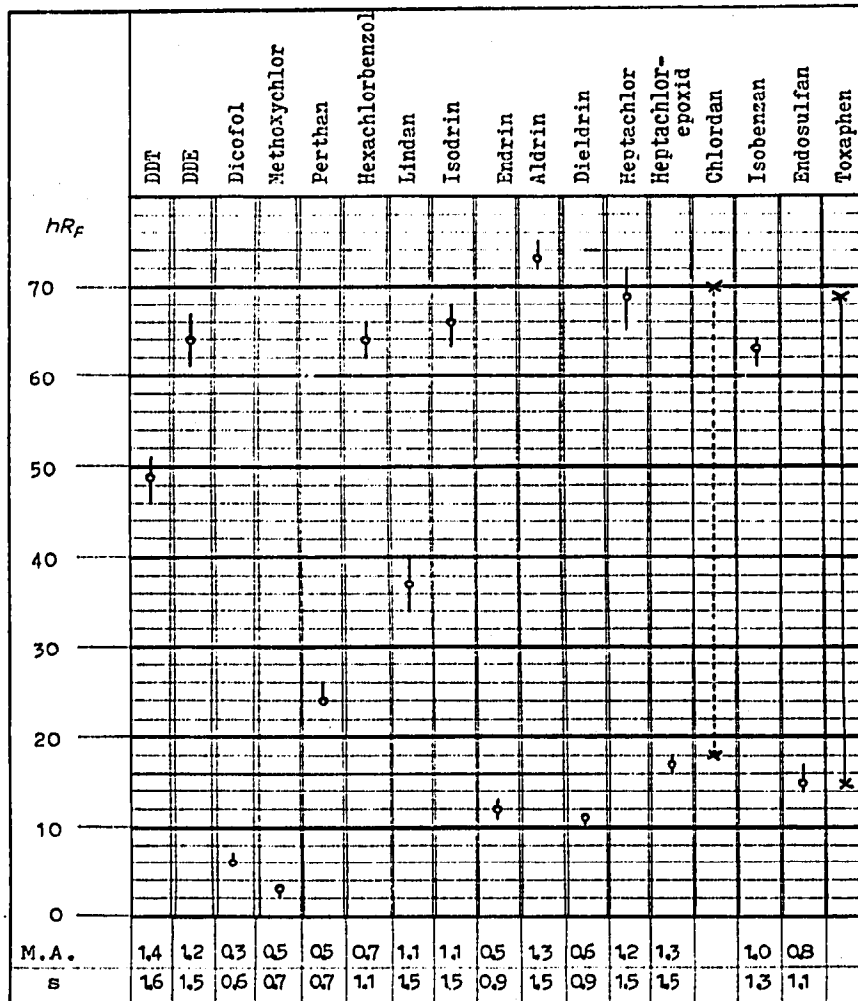
System IV

Kieselgel-DC-Alufolie, Merck, Schichtdicke 0.25 mm, 20 × 20 cm; Vorklima: $H_2SO_4 \rho = 1.35$; Konterplatte: unbeschichtete Glasplatte; Fließmittel: Cyclohexan-Aceton (9:1); Strecke: 10 cm sollen in 50 min durchflossen sein; Standard: Isobenzan, Sollwert $hR_F = 67$; hR_F -Wert-Schema: Tabelle VI.

Die Flecke wurden sichtbar gemacht mit nachstehenden Sprühmitteln nebeneinander oder alternativ:

(a) Mit 0.25 mg Rhodamin B pro 20 × 20 cm imprägnierte Platten wurden leicht mit ca. 20 ml Wasser aus ca. 40–50 cm Entfernung besprüht. Betrachtet wird unter einer UV-Lampe, deren Strahlenquelle von $\lambda = 254$ nm 15 cm entfernt ist. Untere Nachweisgrenze bei 0.1 μg .

TABELLE IV

 hR_F -WERTE DER CHLORKOHLLENWASSERSTOFF-INSEKTIZIDE IM SYSTEM II

(b) Ca. 15 ml 0.005% wässrige Rhodamin B-Lösung wurde aus ca. 35 cm Entfernung gesprüht. Anschliessend erfolgte Nachsprühen mit ca. 1 ml 10%iger Soda-lösung. Erkennung wie unter (a). Untere Nachweisgrenze 0.3–0.1 μg .

(c) In eine Lösung von 0.2 g Na in absolutem Äthanol wird kurz vor dem Sprühen 0.1 g N,N-Dimethyl-*p*-phenylendiaminhydrochlorid zugefügt. Ca. 5 ml dieser Lösung werden im Abstand von ca. 35 cm auf die Platte gesprüht, danach noch reichlich Wasser. Nach 1–20 min Bestrahlung mit ungefiltertem UV-Licht (evtl. ist nachzufeuchten) sind bei Tageslicht braune Flecke auf sandfarbenem Untergrund sichtbar. Untere Nachweisgrenze 0.1–0.6 μg .

RESULTATE UND DISKUSSION

In den Tabellen III–VI sind für die Chromatographiersysteme I–IV die hR_F -Mittelwerte der Substanzen, gekennzeichnet durch ein \bigcirc , eingetragen. Die daran anschliessenden senkrechten Striche geben die jeweiligen festgestellten Streuamplituden (also grösste Abweichung vom Mittelwert nach beiden Seiten) wieder. In der vorletzten

TABELLE V

hR_F -WERTE DER CHLORKOHLENWASSERSTOFF-INSEKTIZIDE IM SYSTEM III

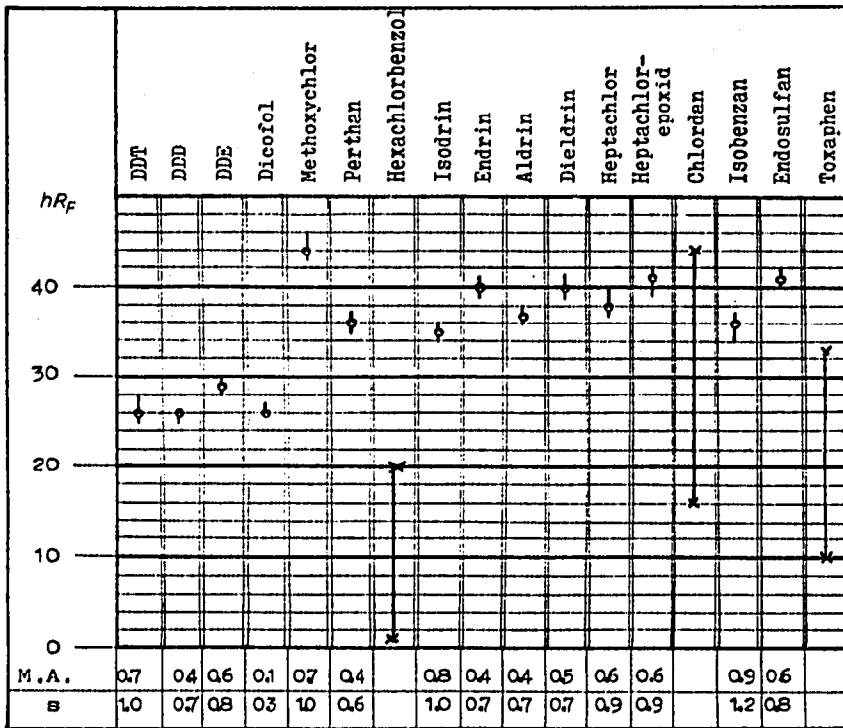
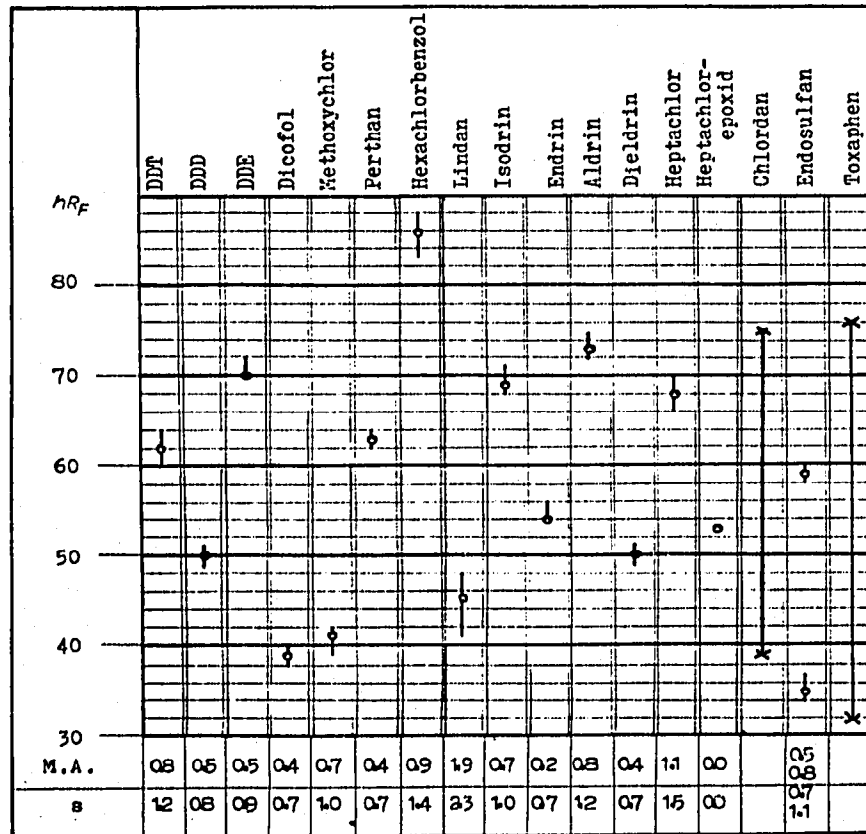


TABELLE VI

hR_F -WERTE DER CHLORKOHLENWASSERSTOFF-INSEKTIZIDE IM SYSTEM IV



Spalte charakterisiert die mittlere Abweichung vom Mittelwert ($\overline{M.A.}$; in hR_F -Einheiten) die Häufigkeit und das Ausmass der Streuungen. In der untersten Spalte finden sich die den einzelnen Wirkstoffen zugehörigen Standardabweichungen.

$$s = \sqrt{\frac{\sum (hR_F - \overline{hR_F})^2}{n-1}}$$

Allen Angaben liegen die Werte zugrunde, die an mindestens 10 verschiedenen Tagen gewonnen wurden.

Mit diesen Systemen können alle der in jeweils einem der vier Systeme interferierenden Komponenten letztendlich voneinander unterschieden werden. So werden die in System I interferierenden Isodrin-Heptachlor bei den Systemen II und III schon besser differenziert. Endrin, Endosulfan, Dieldrin, Dicofol und Heptachlorepoxyd—in System I schwer unterscheidbar—sind in II oder III gut bis befriedigend, in IV z.T.

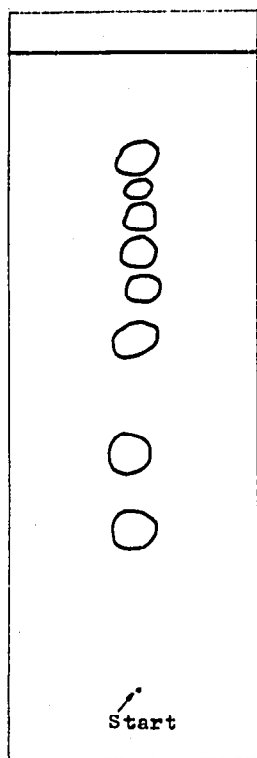


Fig. 2. Dünnschichtchromatogramm von Chlordan an Magnesiumsilikat. Fließmittel: Cyclohexan.

sehr gut voneinander getrennt. DDT-Isobenzan trennen sich in II und III gut; für Dieldrin-Endrin ist System IV nötig. Bei Gegenwart von Chlordan und Toxaphen sind die übrigen Wirkstoffe nicht erkennbar. Chlordan zeichnet sich vor Toxaphen dadurch aus, dass es sich im System II in 8 Komponenten zerlegen lässt (vgl. Fig. 2), während Toxaphen in allen Systemen ein Band darstellt. Die Bereiche, in denen solche "Bänder" zu erwarten sind, werden in den Tabellen III bis VI mit $\times - \times$ gekennzeichnet.

Selbstgegossene Polyamidplatten gelangen uns bisher ohne Binder nur mit zu geringer Haftfestigkeit, so dass gut reproduzierbare Werte nur mit Fertigplatten er-

halten wurden. Anwendung einer beschichteten Konterplatte ist hier vorteilhaft, um die Chromatographierzeit erträglich zu halten.

Zur guten Fixierung der Alu-Folien hat sich ein kleiner Trick bewährt: Ein Tropfen Fließmittel zwischen Glasplatte und glatter Folienseite hält die Folie schon bei der Probenaufgabe in Position.

Die beschriebene Kombination der 4 Systeme soll als ein Muster gelten, wie man mindestens 16 Vertreter einer Wirkstoffklasse dünn-schichtchromatographisch mit grosser Sicherheit bereits auf Grund ihrer R_F -Werte identifizieren kann. Durch Vortrennen schon auf Grund markanter Löslichkeitsunterschiede etwa nach der Art, wie bei THIER UND BERGNER²³ angegeben, kann man einige Pflanzenschutzmittelwirkstoffklassen voneinander trennen, z.B. die Chlorkohlenwasserstoffinsektizide von den Phosphorsäureesterinsektiziden. Für die letzteren hat übrigens GUTH²⁴ einen Trennungsgang nach Art der klassischen Analyse auf dünn-schichtchromatographischem Wege ausgearbeitet. Wir halten unser R_F -Wert-System für vielseitiger und sicherer, da es auch nach Hinzukommen neuer Vertreter dieser Wirkstoffklasse oder bei Einbeziehen weiterer Metaboliten unbeeinträchtigt funktioniert und zudem den Vorzug der übersichtlichen Einfachheit besitzt.

Wir glauben, dass auch in Gegenwart von nennenswerten Mengen an Pflanzeninhaltsstoffen in den Proben die R_F -Werte wenig beeinflusst werden. Zumindest wurde dies von MENDOZA *et al.*²⁵ für die Phosphorsäureesterwirkstoffe nachgewiesen.

Kürzlich²⁶ wurden Pflanzenschutzmittel aller Wirkstoffklassen an Florisil, einem Magnesiumsilikat, chromatographiert. Die bekannte Chargenunterschiedlichkeit des Florisils zwang erwartungsgemäss diese Autoren, ein Farbstoff-Testgemisch mit zu chromatographieren. Nicht zuletzt wegen seines basischen Charakters halten wir Florisil—ebenso wie die meisten Al_2O_3 -Sorten—für das Chromatographieren mancher leicht zersetzlicher Wirkstoffe nicht für geeignet.

DANK

Besonderer Dank gebührt Frl. R.-M. ARLT und Frau A.-M. TURGAY für äusserst geschickte und sorgfältige Mitarbeit. Ferner danke ich den in Tabelle II genannten Firmen für die freundliche Überlassung der Wirkstoffe.

ZUSAMMENFASSUNG

Es wurde ein Rahmenverfahren zur Erzielung sicher reproduzierbarer R_F -Werte mit vorzugsweise einkomponentigen Fließmitteln beschrieben. Die grössten Abweichungen vom Mittelwert betragen nicht mehr als $3 hR_F$, die mittleren Abweichungen vom Mittelwert $0.8 hR_F$, die mittleren Standardabweichungen ± 1.2 . Das Verfahren benötigt nur einfache und billige Laborhilfsmittel und erlaubt einen hohen Plattendurchsatz pro Tag für Routineuntersuchungen. Mit Hilfe dieses Rahmenverfahrens wurde ein kombiniertes System zur Identifizierung von mindestens 16 Chlorkohlenwasserstoffinsektiziden auf Grund ihrer gesicherten R_F -Werte entwickelt.

LITERATUR

1 M. BRENNER, A. NIEDERWIESER, G. PATAKI UND A. R. FAHMY, *Experientia*, 18 (1962) 469.

J. Chromatog., 44 (1969) 81-94

- 2 I. S. BARK, R. J. T. GRAHAM UND D. McCORMICK, *Talanta*, 12 (1965) 122.
- 3 D. C. ABBOTT UND J. THOMSON, *Residue Rev.*, 11 (1965) 1.
- 4 F. GEISS, H. SCHLITT UND A. KLOSE, *Z. Anal. Chem.*, 213 (1965) 321.
- 5 F. GEISS, H. SCHLITT UND A. KLOSE, *Z. Anal. Chem.*, 213 (1965) 331.
- 6 M. S. J. DALLAS, *J. Chromatog.*, 17 (1965) 267.
- 7 W. L. REICHEL, *J. Chromatog.*, 26 (1967) 304.
- 8 J. H. VAN DIJK UND W. J. MIJS, *Z. Anal. Chem.*, 236 (1968) 419.
- 9 F. GEISS, *J. Chromatog.*, 33 (1968) 9.
- 10 F. GEISS UND H. SCHLITT, *J. Chromatog.*, 33 (1968) 208.
- 11 F. GEISS UND H. SCHLITT, *Chromatographia*, 1 (1968) 387.
- 12 F. GEISS UND H. SCHLITT, *Chromatographia*, 1 (1968) 392.
- 13 R. KLAUS, *J. Chromatog.*, 34 (1968) 539.
- 14 K. MACEK, *J. Chromatog.*, 33 (1968) 257.
- 15 A. WAKSMUNDZKI UND J. RÓŻYŁO, *J. Chromatog.*, 33 (1968) 90.
- 16 G. WOHLLEBEN, *Z. Anal. Chem.*, 243 (1968) 498.
- 17 R. A. DE ZEEUW, *J. Chromatog.*, 32 (1968) 43.
- 18 R. A. DE ZEEUW, *J. Chromatog.*, 33 (1968) 222.
- 19 R. A. DE ZEEUW, *Anal. Chem.*, 40 (1968) 915.
- 20 P. POGACAR, B. KIENLE, P. KRAPP UND K. LÜHRSEN, *J. Chromatog.*, 29 (1967) 287.
- 21 C. VERSINO, L. FOGLIANO UND F. GIARETTI, *Riv. Combust.*, 20 (1966) 527.
- 22 M. BRENNER, G. PATAKI UND A. NIEDERWIESER, in G. B. MARINI-BETTÒLO (Herausgeber), *Thin-Layer Chromatography*, Elsevier, Amsterdam, 1964, S. 116.
- 23 H. P. THIER UND K. G. BERGNER, *Deut. Lebensm.-Rundschau*, 62 (1966) 399.
- 24 J. A. GUTH, *Pflanzenschutz Ber.*, 35 (1967) 129.
- 25 C. E. MENDOZA, P. J. WALES UND D. F. BRAY, *Analyst*, 93 (1968) 688.
- 26 D. J. HAMILTON UND B. W. SIMPSON, *J. Chromatog.*, 39 (1969) 186.
- 27 S. SANDRONI UND F. GEISS, *Chromatographia*, 2 (1969) 165.

J. Chromatog., 44 (1969) 81-94