

CHROM. 4664

Dünnschichtchromatographische Trennungen und Detektionsmethoden in der Gruppe der Carbamat- und Harnstoffherbizide

Zur Trennung von Gemischen herbizider N-Phenylcarbamate und Phenylharnstoffe wurden schon mehrfach dünnschichtchromatographische Systeme empfohlen¹⁻⁶. Es ist aber häufig erforderlich, die Wirkstoffe auch von solchen Verbindungen zu trennen, die als Nebenprodukte in den technischen Wirkstoffen enthalten sind bzw. als Abbauprodukte bei der hydrolytischen oder thermischen Spaltung entstehen. Die bisher beschriebenen Verfahren zeigten bei unseren Versuchen keine befriedigenden Resultate. Dagegen hat sich die von uns erprobte Methode der zweifachen eindimensionalen Entwicklung des Chromatogramms mit dem gleichen Fließmittel bei einer Reihe von Trennungen in der Gruppe der Carbamat- und Harnstoffherbizide und ihrer Metaboliten ausgezeichnet bewährt.

Beim Nachweis von Spuren der Wirkstoffe oder ihrer Umwandlungsprodukte spielt ausserdem die Nachweisempfindlichkeit der Detektionsmethoden häufig eine entscheidende Rolle. Deshalb wurden die Nachweisgrenzen bei der Anwendung verschiedener Detektionsreagenzien anhand einiger ausgewählter Wirkstoffe ermittelt und verglichen.

Trennsystem

Schicht. 0.25 mm Kieselgel G (Merck), 30 min bei 120° aktiviert und über Blaugel aufbewahrt.

Fließmittel. Benzol-Aceton (95:5).

Trennvorgang. Nach dem Auftragen der Substanzen wird die Schicht 30 min bei Kammersättigung äquilibriert. Anschliessend wird bei $20 \pm 1^\circ$ zweimal aufsteigend —mit einer Zwischentrocknung— über 10 cm chromatographiert.

Die Tabelle I zeigt eine Auswahl der erzielten Trennergebnisse.

TABELLE I

R_F-WERTE VON CARBAMAT- UND HARNSTOFFHERBIZIDEN UND EINIGEN IHRER ABBAUPRODUKTE

<i>Herbizid oder Metabolit</i>	<i>R_F × 100</i>
Propham	85
Anilin	68
Methoxyfenuron [N-Phenyl-N'-methoxy-N'-methylharnstoff]	47
Proximpham [O-(N-Phenylcarbamoyl)-propanonoxim]	41
N,N'-Diphenylharnstoff	23
Fenuron	6
Phenylharnstoff	0
Chlorpropham	78
3-Chloranilin	60
3,3'-Dichlor-N,N'-diphenylharnstoff	32
3,4-Dichloranilin	58
Linuron	45
3,3',4,4'-Tetrachlor-N,N'-diphenylharnstoff	27
Diuron	12
Metobromuron	49
Chloroxuron	13

Der Nachweis von Hydrolyseprodukten der Carbamat- und Harnstoffherbizide spielt vor allem bei der Untersuchung von Wirkstoffrückständen im Boden und im Erntegut eine Rolle, wobei man dem toxikologisch bedenklichen Anilin bzw. den substituierten Anilinen besondere Aufmerksamkeit widmen muss.

Im Zusammenhang mit der gaschromatographischen Analyse der Wirkstoffe dieser Stoffklassen sind auch thermische Spaltprodukte von Bedeutung, weil es in vielen Fällen möglich ist, die schwerflüchtigen oder thermisch labilen Wirkstoffe in der gaschromatographischen Apparatur quantitativ zu zersetzen und ihre chromatographischen Spaltprodukte zu bestimmen. Dabei können als gaschromatographische Fraktionen Aniline oder die entsprechenden Phenylisocyanate auftreten⁷. Ihre dünn-schichtchromatographische Unterscheidung bereitet Schwierigkeiten, weil die einander entsprechenden Aniline und Phenylisocyanate in dem oben beschriebenen sowie in anderen erprobten Trennsystemen gleiche R_F -Werte aufweisen und sich auch gegenüber den üblichen Detektionsmitteln völlig gleich verhalten.

Die Identifizierung gelingt jedoch, wenn man die Dünnschichtplatten vor oder nach der Trennung in eine Entwicklungskammer stellt, die mit konzentrierter wässriger Ammoniaklösung beschickt ist. Dabei setzen sich die Phenylisocyanate zu den Monophenylharnstoffen um, die sich von den Anilinen sowohl im Retentionsverhalten wie auch in der Reaktionsfähigkeit mit verschiedenen Detektionsmitteln deutlich unterscheiden.

Nachweismethoden

Die bisher empfohlenen Verfahren zur Detektion herbizider N-Phenylcarbamate und Phenylharnstoffe lassen sich in vier Gruppen zusammenfassen:

(1) Thermische Zersetzung der Wirkstoffe in der Dünnschicht zum Anilin und Bildung der gelben Schiffschen Basen durch Besprühen mit *p*-Dimethylaminobenzaldehyd (Verfahren nach HENKEL¹).

(2) Hydrolytische Spaltung der Wirkstoffe zum Anilin und Bildung eines roten Azofarbstoffes mit 1-Naphthol. Die Empfindlichkeit dieses zuerst von FONO *et al.*⁸ beschriebenen Verfahrens wurde von ASKEW *et al.*³ durch die Anwendung von Jodwasserstoffsäure bei der hydrolytischen Zersetzung gesteigert.

(3) Besprühen mit Ninhydrinlösung und anschließendes Erhitzen. Für dieses Verfahren werden von KATZ² und ASKEW *et al.*³ unterschiedliche Varianten vorgeschlagen.

(4) Nachweis halogenhaltiger Verbindungen mit AgNO_3 -Sprühreagens nach MITCHELL⁹ und Bestrahlen mit UV-Licht. FINOCCHIARO UND BENSON⁵ zeigten, dass sich auch die kernhalogenierten N-Phenylcarbamate- und Phenylharnstoff-Herbizide auf diese Weise sehr empfindlich detektieren lassen. Die Nachweisgrenzen liegen bei $0.1 \mu\text{g}$.

Die drei erstgenannten Verfahren wurden an Hand einiger ausgewählter Beispiele vergleichend untersucht, indem die Nachweisgrenzen nach vorheriger Dünnschichtchromatographie in 0.25 mm -Kieselgelschichten festgestellt wurden. Als Nachweisgrenze bezeichnen wir in der Dünnschichtchromatographie die kleinste Menge der chromatographierten Verbindung, die nach der Detektion von mehreren Personen mit Sicherheit erkannt wird. Das in der Pestizid-Analytik viel gebräuchliche AgNO_3 -Sprühreagens wurde in den Vergleich nicht mit einbezogen, weil es als Gruppen-

reagens nur für halogenhaltige Carbamat- und Harnstoffherbizide geeignet ist.

Als Detektionsmittel von universellem Nachweisvermögen für organische Verbindungen wurden Jod-Schwefelsäure und eine extrem verdünnte Lösung von Rhodamin B (Lit. 10) mit herangezogen, die den gleichzeitigen Nachweis von Wirkstoffen aus anderen Verbindungsklassen ermöglichen.

Reagenzien und ihre Anwendung

p-Dimethylaminobenzaldehyd. 1 g des Reagens wird in einem Gemisch aus 30 ml Äthanol, 3 ml konzentrierter Salzsäure und 180 ml *n*-Butanol gelöst. Die Platten werden nach der chromatographischen Trennung besprüht. Eventuell vorhandene Aniline oder Phenylisocyanate erscheinen sofort als gelbe Flecke. Anschliessend wird im Trockenschrank 30 min auf 120° erhitzt. Dabei treten die Flecke der Carbamat- und Harnstoffverbindungen hervor.

Jodwasserstoffsäure. 25 ml Jodwasserstoffsäure, Dichte 1.7, werden mit 25 ml Eisessig versetzt und mit 50 ml Wasser verdünnt.

Natriumnitrit. 5 g Natriumnitrit werden in 100 ml 0.2 *N* Salzsäure gelöst. Die Lösung wird täglich frisch bereitet.

1-Naphthol. 5 g 1-Naphthol werden in 100 ml Methanol gelöst. Die Lösung kann einige Tage im Kühlschrank aufbewahrt werden. Die Schicht wird mit wenig Jodwasserstoffsäure besprüht, eine Deckplatte aufgelegt und 30 min auf 120° erwärmt. Nach dem Abkühlen wird mit Natriumnitritlösung besprüht und bei mässiger Wärme getrocknet. Beim anschliessenden Aufsprühen von 1-Naphthollösung erscheinen rötliche Flecke.

Ninhydrin. 0.5 g Reagens werden in 95 ml *n*-Butanol gelöst und mit 10%iger Essigsäure auf 100 ml aufgefüllt. Nach dem Besprühen wird 10 min auf 140° erhitzt (Variante nach KATZ²).

Jod-Schwefelsäure. Gemisch aus gleichen Teilen einer 0.5 *N* Lösung von Jod in Aceton und einer 20%igen Schwefelsäure.

Rhodamin B. 0.005%ige wässrige Lösung.

Ergebnisse und Diskussion

Die Nachweisgrenzen von sechs ausgewählten Herbiziden in 0.25 mm Kieselgeschichten sind in der Tabelle II angegeben. Der Vergleich der Nachweisgrenzen zeigt, dass die von HENKEL¹ empfohlene Methode der thermischen Zersetzung und Kondensation zur Schiffschens Base (I) einen empfindlichen Gruppennachweis ermöglicht. Da die Durchführung einfach ist und Unsicherheiten beim Nachweis nie auftraten, wird diese Methode von uns bevorzugt.

Bei der Untersuchung von Boden- oder Pflanzenextrakten kann der Nachweis als gelbe Schiffschens Base durch gelb oder bräunlich gefärbte Coextraktivstoffe gestört werden. In solchen Fällen wendet man vorteilhaft das etwas aufwendigere Verfahren des Nachweises als Azofarbstoff an (II), bei dem rote bis rotviolette Flecke entstehen. Das Verfahren ist ebenfalls sehr empfindlich, erfordert aber für seine sichere Anwendung einige Sorgfalt. Vor dem Diazotieren sind vor allem Reste von Jod, die aus der Jodwasserstoffsäure stammen, gründlich zu entfernen.

In der Reihe III wurden die Schichten vor dem Diazotieren lediglich wie beim Verfahren I 30 min auf 120° erwärmt. Es zeigt sich, dass der Verzicht auf die Anwen-

TABELLE II

NACHWEISGRENZEN AUF 0.25 mm KIESELGELSCHICHTEN

Nachweisverfahren	Nachweisgrenze (μg)					
	Propham	Chlorpropham	Proximpham	Fenuron	Diuron	Meto-bromuron
I <i>p</i> -Dimethylamino-benzaldehyd; Thermische Zersetzung	0.2	0.2	0.4	0.3	0.3	0.3
II Hydrolyse mit HI; NaNO_3 /1-Naphthol	0.1	0.1	0.2	0.2	0.4	0.2
III Thermische Zersetzung; NaNO_3 /1-Naphthol	0.7	0.4	0.5	2.0	0.7	0.4
IV Ninhydrin	— ^a	— ^a	— ^a	0.4	1.0	1.5
V Jod-Schwefelsäure	2.0	1.0	1.0	0.2	0.3	1.0
VI Rhodamin B	0.5	0.3	3.0	4.0	2.0	1.5

^a Mengen unter 5 μg nicht nachweisbar.

derung der Jodwasserstoffsäure die Nachweisempfindlichkeit vermindert. Ausserdem entstehen in der Nähe der Nachweisgrenze nicht immer deutliche Flecke.

Das Ninhydrin-Sprühreagens (Verfahren IV) ist den Verfahren I und II deutlich unterlegen. Hinzu kommt, dass dieses Reagens durch seine positive Reaktion mit Aminen, Aminosäuren und Aminosukern für den Nachweis von Herbizid-Rückständen zu wenig spezifisch ist.

Bei Verwendung von Aluminiumoxid als Schichtmaterial lassen sich die Wirkstoffe nicht in allen Fällen mit der gleichen Empfindlichkeit nachweisen. So gelingt die Bildung der Azofarbstoffe nur in Verbindung mit der vorangehenden thermischen Zersetzung der Wirkstoffe, wobei die Nachweisgrenzen im Vergleich zu Kieselgelschichten etwa den zehnfachen Wert annehmen. Nach der Anwendung von Jodwasserstoffsäure versagt der Nachweis gänzlich, weil ein Teil des Jods in der Aluminiumoxidschicht so fest gebunden wird, dass es sich auch im Warmluftstrom nicht verflüchtigt und die nachfolgende Farbreaktion verhindert. Überraschenderweise führt auch die Reduktion des Jods durch Besprühen mit Thiosulfatlösung nicht zum Erfolg.

Unbefriedigende Ergebnisse werden auch mit dem Ninhydrin-Sprühreagens auf Aluminiumoxidschichten erhalten. Zum Beispiel sind bei Tageslicht erst Mengen zwischen 10 und 50 μg Fenuron als undeutliche Flecke zu erkennen. Bei Betrachtung im UV-Licht liegt die Nachweisgrenze von Fenuron bei 5 μg .

Dagegen gelingt die Detektion als Schiffsche Base auf Aluminiumoxid-Dünnschichten ebenso zuverlässig und empfindlich wie auf Kieselgel, wenn man die Schicht erst nach der thermischen Zersetzung mit dem Reagens besprüht.

Frl. CHR. ZINN und Fr. H. MÜLLER sei für ihre sorgfältige Mitarbeit gedankt.

Wissenschaftlich-Technisches Zentrum
Pflanzenschutz- und Schädlings-
bekämpfungsmittel, 3013 Magdeburg (D.D.R.)

DIETER SPENGLER
ALFRED JUMAR

- 1 H. G. HENKEL, *Chimia (Aarau)*, 18 (1964) 252.
- 2 S. E. KATZ, *J. Assoc. Offic. Agr. Chemists*, 49 (1966) 452.
- 3 J. ASKEW, J. H. RUZICKA UND B. B. WHEALS, *J. Chromatog.*, 37 (1968) 369.
- 4 D. C. ABBOTT, K. W. BLAKE, K. R. TARRANT UND J. THOMSON, *J. Chromatog.*, 30 (1967) 136.
- 5 J. M. FINOCCHIARO UND W. R. BENSON, *J. Assoc. Offic. Anal. Chemists*, 50 (1967) 888.
- 6 I. C. COHEN UND B. B. WHEALS, *J. Chromatog.*, 43 (1969) 233.
- 7 D. SPENGLER UND A. JUMAR, *Arch. Pflanzenschutz*, 5 (1969) 445.
- 8 A. FONO, A. SÄPSE UND T. S. MA, *Mikrochim. Acta*, (1965) 1098.
- 9 L. C. MITCHELL, *J. Assoc. Offic. Agr. Chemists*, 40 (1957) 294.
- 10 K. BALLSCHMITER UND G. TÖLG, *Z. Anal. Chem.*, 215 (1966) 305.

Eingegangen am 9. Dezember 1969

J. Chromatog., 49 (1970) 329-333