

CHROM. 5755

ROUTINEMETHODE ZUR DÜNNSCICHTCHROMATOGRAPHISCHEN IDENTIFIZIERUNG DER PESTIZIDRÜCKSTÄNDE AUS DEN KLASSEN DER TRIAZINE, CARBAMATE, HARNSTOFFE UND URACILE

WINFRIED EBING

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

(Eingegangen am 5. Oktober 1971)

SUMMARY

Routine method for identification of pesticide residues of triazine, carbamate, urea, and uracil type compounds by thin-layer chromatography

For a reliable and reproducible identification by thin-layer chromatography ten systems for the separation and detection of sixty-one pesticides—mostly herbicidal—have been developed, based on a general technique described previously. Two or three systems for each group of pesticides enable the analyst to differentiate almost all of the sixty-one compounds unambiguously, only three pairs of substances remaining unresolved. These results can be obtained by statistical evaluation of the variabilities in the R_F values of these systems.

EINLEITUNG

Die Forderung der Entwicklung von Analysenmethoden für multiple Pestizidrückstände ist nicht neu (s. Lit. 1, mit weiterer Hinweise auf "screening methods", und Lit. 2). Besonders in der letzten Zeit wurde erkannt, dass die kombinierte Anwendung unterschiedlicher Wirkstoffe, die Probleme kontaminierter Nachfolge- oder Unterkulturen, die Erkennung unsachgemässer Applikationen, die unvermeidbaren Abdrifts bei Flugzeugeinsatz für Pflanzenschutzmassnahmen sowie die Ermittlung der ubiquitären Verbreitung von Pestiziden oder deren Folgeprodukte analytische Kontrollmassnahmen erfordern, bei denen die zahlreich in der Literatur beschriebenen singulären Methoden versagen. So wird denn auch in zunehmendem Masse das Schwergewicht in der internationalen Rückstandsanalytik auf die Entwicklung solcher Methoden gelegt, die in einem einzigen Analysengang jeweils eine möglichst grosse Gruppe von Pestizidwirkstoffen in vergleichbarer Empfindlichkeitsgrössenordnung nebeneinander zu erfassen gestatten^{3,4}.

Vorzugsweise wird für diese Entwicklung die Gaschromatographie zu Hilfe genommen. Nach allgemeiner Übereinkunft der Analytiker sollte zumindest jedes

positive Ergebnis durch wenigstens eine weitere, von der ersten unabhängige Methode bestätigt werden. Eine informative Übersicht über die bisher versuchten methodischen Wege gibt McCULLY⁵. Für den geschilderten Zweck ist die Massenspektrometrie hervorragend geeignet, da sie bei hoher Empfindlichkeit eine Fülle von Informationen über die Struktur der vorliegenden Komponenten zu ermitteln gestattet (vgl. z.B. Lit. 6). Statt solcher kostspieliger Methoden wird jedoch mehr und mehr die investitionsarme und vergleichsweise einfach auszuführende Dünnschichtchromatographie (DC) bevorzugt.

Erst wenige DC-Verfahren wurden bekannt, die sich reproduzierbar für wirklich multiple Identifizierungen von Pestiziden eignen. Im Rahmen einer komplexen "Generalmethode" für vierzig biozide Phosphorverbindungen von ASKEW *et al.*⁷ wird auch die DC zur Identifizierung herangezogen, ohne dass jedoch mit Hilfe der drei ausgearbeiteten Systeme leicht interferierende Substanzen differenziert werden können. Dagegen gelingt neuerdings ANTOINE⁸ die Auflösung von fünfundzwanzig insektiziden Phosphorsäureestern bereits mit vier von sieben Systemen. SZOKOLAY UND MADARIČ⁹ hingegen separieren dreizehn Chlorkohlenwasserstoffinsektizide an zwei Systemen ein- und zweidimensional einwandfrei. ABBOTT und Mitarbeiter¹⁰ unterscheiden vier Harnstoff-Herbizide, drei Carbamate und zwei Uracile bei der Prüfung von acht Fliessmitteln und beschreiben Detektionsverfahren. THIER¹¹ kann mit einer kombinierten Methode sechzehn herbizide Säuren und Phenole DC teilweise identifizieren. SANDRONI UND SCHLITT¹² identifizieren sicher und reproduzierbar mit Hilfe der Vario-KS-Kammer an je einem Dünnschichtsystem acht Chlorkohlenwasserstoffinsektizide bzw. acht insektizide Phosphorsäureester plus Carbaryl. Ein interferierendes Wirkstoffpaar konnte nicht differenziert werden.

EBING¹³ beschrieb im Jahre 1969 ein mit einfachen Mitteln durchzuführendes Rahmenverfahren, mit Hilfe dessen er als erstes Anwendungsbeispiel sicher und reproduzierbar an vier Systemen sechzehn Chlorkohlenwasserstoffinsektizide identifizieren konnte. (In dieser Arbeit wurde über zwei weitere DC-Multimethoden referiert.) Unter Zugrundelegung des dort beschriebenen Rahmenverfahrens wurden jetzt Systeme entwickelt, die die sichere und reproduzierbare Identifizierung von sechzehn herbiziden plus einem fungiziden Triazin-Wirkstoffen plus Amitrol, von sieben herbiziden plus neun insektiziden Carbamaten plus fünf herbiziden Thiocarbamaten, von achtzehn herbiziden Harnstoffderivaten, sowie schliesslich von vier herbiziden Uracilderivaten ermöglichen. Nur bei drei kritischen Paaren aller untersuchten Fälle war die Differenzierung statistisch nicht gesichert oder überhaupt nicht möglich.

Wenn es uns geraten erschien, wurden die Systeme in zuhelfendem Masse auf der Basis von Fertigplatten ausgearbeitet, um den Arbeitsaufwand für die DC weiter zu verringern und der technologischen Entwicklung in der Analytik der Gegenwart Rechnung zu tragen. Die gute Qualität solcher Fertigplatten wurde bereits früher¹² beschrieben. Auf Grund der bisher hier gemachten, zahlenmässig aber noch nicht ausreichenden Erfahrungen scheinen die Chargenunterschiede zwischen den einzelnen Plattenlieferungen in der Grössenordnung der Variationsbreite innerhalb jeder einzelnen Charge zu liegen.

Nachstehend werden die Identifizierungssysteme für die einzelnen Wirkstoffgruppen beschrieben und die erhaltenen Ergebnisse diskutiert. Die Methode ist für solche Extrakte anwendbar, die eine übliche Florisilsäulenchromatographie oder eine

diesem Reinigungseffekt äquivalente Behandlung erfahren haben. Weniger gereinigte Extrakte können verwendet werden, wenn nicht mehr als das Äquivalent von 0.1 g Pflanzenmaterial zur Chromatographie zu gelangen braucht. Die verwendeten Wirkstoffe sind in den meisten Fällen Herstellermuster, die—falls erforderlich—auf den analytischen Reinheitsgrad gebracht wurden. Aus Gründen des grossen Umfanges an Material wird auf die Angabe der Quellen und physikalischen Reinheitskriterien für die eingesetzten Stoffe verzichtet. Als Fliessmittel dienten ausschliesslich destillierte p.a.-Lösungsmittel; die Reagentien waren vom höchstmöglich kommerziell erhältlichen Reinheitsgrad.

VERFAHREN ZUR IDENTIFIZIERUNG DER TRIAZIN-HERBIZIDE

System I

Kieselgel-DC-Alufolie mit organischem Binder (Woelm), Schichtdicke 0.2 mm, 20 × 20 cm; Vorklima: H₂SO₄, $\rho = 1.6$; Konterplatte: unbeschichtet; Fliessmittel: Isopropyläther; Strecke: 10 cm; Fliesszeit: 52 min $\pm 10\%$; Standard: herbizider Triazinwirkstoff GS-14260, Sollwert hR_F 29. Sonstige Bedingungen: Rahmenverfahren¹³. Detektionsmittel: (1) 0.5% Malachitgrün in Aceton sparsam sprühen, (2) Brom-Dämpfe und (3) sofort auswerten.

System II

Kieselgel-DC-Alufolie mit organischem Binder (Woelm), Schichtdicke 0.2 mm, 20 × 20 cm; Vorklima: H₂SO₄, $\rho = 1.35$; Konterplatte: unbeschichtet; Fliessmittel: Nitromethan; Strecke: 10 cm; Fliesszeit: 54 min $\pm 6\%$; Standard: Methabenzthiazuron, Sollwert hR_F 60. Sonstige Bedingungen: Rahmenverfahren¹³. Detektionsmittel: (1) 0.01% Rhodamin B in Wasser mässig sprühen und (2) Auswertung bei Bestrahlung mit UV-Licht von $\lambda = 254$ nm in 15 cm Abstand*.

System III

1.0 g Polyamid (Woelm DC), Korngrösse original $< 40 \mu\text{m}$, plus 0.02 g Fluoreszenzindikator Woelm, suspendiert in 9.5 ml Methanol für eine 20 × 20 cm-Platte; Vorklima: H₂SO₄, $\rho = 1.6$; Konterplatte: unbeschichtet; Fliessmittel: 60%iges Äthanol; Strecke: 10 cm; Fliesszeit: 54 min $\pm 16\%$; Standard: Atrazin, Sollwert hR_F 54. Sonstige Bedingungen: Rahmenverfahren¹³. Detektionsmittel: (1) Auswertung der Fluoreszenzlöschung bei Bestrahlung mit UV-Licht von $\lambda = 254$ nm in 15 cm Abstand; Amitrol konnte nur nach Besprühen mit 0.05%iger wässrig-alkoholischer Rhodamin-B-Lösung und anschliessender Betrachtung unter dem UV-Licht nachgewiesen werden.

Tabelle I enthält die Ergebnisse der Reproduzierbarkeitsversuche an mindestens zehn verschiedenen Tagen. Neben den statistisch gesicherten hR_F -Werten stehen die statistischen mittleren Abweichungen dhR_F sowie die grössten festgestellten Abweichungen ΔhR_F vom statistisch gesicherten Mittelwert und schliesslich die bei unseren Versuchen festgestellten unteren Nachweisgrenzen (in μg). Die letzteren aus den Systemen I und III befinden sich mit den Angaben von FREI und Mitarbeiter¹⁴ in recht befriedigender Übereinstimmung.

* Desaga-DC-Bestrahlungs Lampe MinUvis, Best.-Nr. 13 12 00.

TABELLE I

TRIAZIN-HERBIZIDE: hR_F -WERTE, MITTLERE ($\pm dhR_F$) UND GRÖSSTE (ΔhR_F) ABWEICHUNGEN NACHWEISGRENZEN (IN μg) BEI DEN SYSTEMEN I-III

Wirkstoff	I				II				III			
	hR_F	dhR_F	ΔhR_F	μg	hR_F	dhR_F	ΔhR_F	μg	hR_F	dhR_F	ΔhR_F	μg
		\pm				\pm				\pm		
Norazin	15	1.0	2	1	58	1.0	4	1	59	1.2	2	1
Simazin	17	0.9	2	1	52	1.0	2	1	56 ^a	0.9	3	1
Propazin	31	0.8	2	2	73	1.2	3	2	51	2.9	6	1
Trietazin	54	1.6	3	2	85	0.8	3	1	47	1.2	2	0.3
Atrazin	25	1.1	2	1	65	0.9	2	1	54	0.6	1	1
Ipazin	62	1.9	4	2	92	0.5	1	1	48	0.9	2	0.3
Chlorazin	85	2.4	5	2	100			0.5	41	1.3	3	0.4
Anilazin	71	2.2	6	1	100			0.5	22 ^b	1.3	4	0.4
Simeton	3	0.4	1	1	21	0.6	2	1	71	1.4	3	1
Atraton	4	0.4	1	1	27	0.8	2	2	69	1.7	3	1
Prometon	6	0.7	2	0.3	34	1.4	3	0.2	67	1.5	3	1
Norametryn	14	0.9	3	0.2	53	2.6	4	0.2	50	1.1	2	1
Simetryn	15	1.2	3	0.2	53	1.8	7	0.3	47	0.8	2	0.2
Ametryn	22	0.6	1	0.4	66	1.9	5	0.3	46	1.1	2	0.2
GS 14260	29	0.7	1	1	75	1.8	5	0.6	39	1.0	2	0.2
Prometryn	30	1.9	5	1	76	1.7	5	0.6	45	1.4	3	0.3
Metho- protryn	6	0.7	1	0.3	34	2.5	6	0.3	59	2.3	4	0.3
Amitrol	6	0.9	2	2	34	2.7	7	2	92	1.1	2	2

^a Substanz schweift bis gegen hR_F -Wert Null.

Bei dem Versuch der Unterscheidung zwischen den Wirkstoffen dieser Gruppe bzw. bei der Zuordnung des Fleckes eines unbekanntes Triazin-Herbizids beginne man mit dem hR_F -Werte-Vergleich bei System I. Anschliessend werden Mehrdeutigkeiten unter Zuhilfenahme der Werte von System II und—wenn nötig—System III aufgelöst.

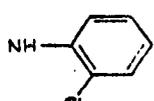
Nach einmaliger Chromatographie in System I ist zwischen Norazin und Simazin unter Berücksichtigung der mittleren und grössten Abweichungen ihrer hR_F -Werte nicht zu unterscheiden. Das gleiche gilt in System II. Chromatographiert man die fragliche Komponente jedoch in System II mehrmals (vier- bis fünfmal) so kann auf Grund ihrer statistisch gesicherten Schwankungsmöglichkeit (Norazin, hR_F -Mittelwert $58 - 1 = 57$; Simazin, hR_F -Mittelwert $52 + 1 = 53$) zweifelsfrei zwischen ihnen entschieden werden. Auf analoge Weise kann entsprechend dieser statistischen Betrachtungsweise zwischen Norametryn und Simetryn einwandfrei unterschieden werden, wenn man die Mittelwerte ihrer hR_F -Einzelwerte aus vier bis fünf Versuchen in System III bildet. Entsprechendes gilt für Propazin/Prometryn in System III und für Simazin/Norametryn in System I. Lediglich Simazin/Simetryn sind gar nicht zu differenzieren, da wegen des Schweifens von Simazin im System III eine Erkennung beider Wirkstoffe nebeneinander nicht möglich ist. Alle anderen Komponenten dieser Stoffklasse sind an mindestens einem dieser drei Systeme auch schon beim Vergleich der Ergebnisse einmaliger Chromatographie-Versuche und unter Berücksichtigung der festgestellten grössten Abweichungen (Ausreisser) einwandfrei und sicher voneinander zu unterscheiden.

Für den Nachweis einiger Triazin-Herbizide werden—statt der hier angegebene-

nen—eine Silbernitrat- und eine Chlorierungsmethode in Variationen^{15,16} als wesentlich empfindlichere Nachweismethoden beschrieben. Wir konnten ähnlich gute Ergebnisse bei der Anwendung auf *alle* Triazinwirkstoffe reproduzierbar nicht erhalten. Ferner sei noch erwähnt, dass MANNER¹⁷ aus einundneunzig untersuchten, meist mehrkomponentigen Fließmitteln acht solche ermittelte, die jeweils acht Triazin-Herbizide bis auf jeweils ein kritisches Paar differenzieren. Die Kombination von zwei solcher Systeme sollte also die Identifizierung dieser acht Triazine ermöglichen.

TABELLE II

TRIAZIN-HERBIZIDE: BEZIEHUNGEN ZWISCHEN STRUKTUREN UND hR_F -WERTEN IN DEN SYSTEMEN II, I (IN RUNDEN KLAMMERN) UND III (IN ECKIGEN KLAMMERN)

$R-C_{(4)}$	$C_{(10)}-R^1$	$-Cl$	$-OCH_3$	$-SCH_3$
H_7C_2-NH	$NH-C_2H_5$	Simazin 52 (17) [56]		Simetryn 53 (15) [47]
H_3C $CH-NH$ H_3C H_3C	$NH-CH_3$	Norazin 58 (15) [59]	Simeton 21 (3) [71]	Norametryn 53 (14) [50]
H_3C $CH-NH$ H_3C	$NH-C_2H_5$	Atrazin 65 (25) [54]	Atraton 27 (4) [69]	Ametryn 66 (22) [46]
H_3C $CH-NH$ H_3C	$NH-CH$ CH_3 CH_3	Propazin 73 (31) [51]	Prometon 34 (6) [67]	Prometryn 76 (30) [45]
H_3C $C-NH$ H_3C	$NH-C_2H_5$			GS 14260 75 (29) [39]
$H_3CO \cdot H_3C_3 \cdot NH$	$NH-CH$ CH_3 CH_3			Methoprotryn 34 (6) [59]
H_5C_2 N	$NH-C_2H_5$	Trietazin 85 (54) [47]		
H_5C_2 N H_5C_2	$NH-CH$ CH_3 CH_3	Ipazin 92 (62) [48]		
H_5C_2 N H_5C_2	N C_2H_5 C_6H_5	Chlorazin 100 (85) [41]		
H_5C_2 N H_5C_2	NH 	Anilazin 100 (71) [22]		

Über die Sicherheit der R_F -Werte wird nichts gesagt. Abgesehen davon, dass sich die meisten dieser Flüssmittel nicht für unser Rahmenverfahren¹³ eignen, ist deren Trennvermögen für die doppelte Anzahl Wirkstoffe fraglich. Auch ABBOTT und Mitarbeiter¹⁸ untersuchten acht Systeme auf ihre Trenneigenschaft gegenüber acht Triazin-Wirkstoffen. Keine Kombination davon ist offensichtlich geeignet, alle Komponenten mit Sicherheit signifikant zu differenzieren.

Neben diesen Ermittlungen über die Trennleistungen scheint noch eine Betrachtung der hR_F -Werte in Abhängigkeit von der Struktur der Triazin-Wirkstoffe lohnend (Tabelle II). Wir erkennen, dass in jeder Untergruppe (-zin=Cl, -ton=OCH₃, -tryn=SCH₃) der hR_F -Wert mit zunehmendem Substitutionsgrad steigt. Dies wird besonders mit System II (Nitromethan auf Kieselgelschicht) deutlich. Aber auch System I (Isopropyläther auf Kieselgel) bestätigt in etwa diese Relationen. Ausnahmen bleiben die Sonderstrukturen von Methoprotryn und dem fungizidwirksamen Anilazin. Die vorstehend geschilderten hR_F -Wert-Verschiebungen befinden sich in Übereinstimmung mit den korrespondierenden Änderungen der bioziden Eigenschaften dieser Wirkstoffreihen. Ferner kann festgestellt werden, dass überraschenderweise die Substitution von -Cl durch -SCH₃ im hetero-aromatischen Ring kaum einen Einfluss auf das chromatographische Verhalten ausübt. -SCH₃ spielt also hier die Rolle eines Pseudohalogens. Demgegenüber ist der polare Substituenteneinfluss der Methoxygruppe deutlich stärker ausgeprägt. Folgerichtig zeigt das Verhalten an umgekehrten Phasen die gegenläufige Tendenz.

VERFAHREN ZUR IDENTIFIZIERUNG ALLER CARBAMAT-WIRKSTOFFE

Hier sollte in erster Linie ein Verfahren zur Identifizierung herbizidwirksamer Verbindungen geschaffen werden. Es zeigte sich, dass schon mit zwei sehr unterschiedlichen Systemen nicht nur alle zwölf getesteten N-Phenylcarbamate und Thiolcarbamate, sondern auch die vier einbezogenen insektizidwirksamen N-Monomethylcarbamate bequem differenziert werden konnten. Die fünf weiterhin mituntersuchten N,N-Dimethylcarbamate bereiteten dagegen Schwierigkeiten. Da die Versuche zur Ausarbeitung eines reproduzierbar arbeitenden dritten Systems mit grosser Mühe verbunden waren und ihre nicht voll befriedigenden Ergebnisse im Verhältnis zum Aufwand zu wenig zusätzliche Information und Sicherheit zu liefern vermochten, beschränken wir uns auf die Empfehlung nur zweier Systeme.

System IV

Kieselgel-DC-Alufolie mit organischem Binder (Woelm), Schichtdicke 0.2 mm, 20 × 20 cm; Vorklima: H₂SO₄, $\rho = 1,6$; Konterplatte: unbeschichtet; Flüssmittel: Cyclohexan-Isopropyläther (2:1); Strecke: 15 cm; Flüsszeit: 188 min $\pm 18\%$; Standard: CEPC, Sollwert hR_F 19. Sonstige Bedingungen: Rahmenverfahren¹³. Detektionsmittel: Durch eine orientierende Sprühung mit Rhodamin B (vgl. System II oder V) kann man sich informieren, aus welcher Pestizidgruppe Wirkstoffe vorhanden sind— hR_F -Werte < 10: insektizide Carbamate; hR_F -Werte 20–40: N-Phenylcarbamate; hR_F -Werte > 45: Thiolcarbamate. Je nach dem Ergebnis der Vorprüfung kann nach der erneuten Chromatographie ein speziell geeignetes Detektionsmittel angewendet werden. N-Phenylcarbamate: (1) 30 min Erhitzen auf 150°, (2) eine Lösung von 1 g *p*-(N,N-Dimethylamino)-benzaldehyd plus 5 ml HCl ($\rho =$

1.19) plus 95 ml absolutem Äthanol wird reichlich auf die noch heisse Platte gesprüht und (3) ggf. wird noch bis zu 30 min auf 180° erhitzt. Thiolcarbamate: (1) mit einer Lösung von 0.5% Palladium-(II)-chlorid in Wasser, der auf je 50 ml dreissig Tropfen 25%ige HCl zugesetzt wurden, mässig stark sprühen und (2) Erkennung geringer Mengen erst nach einiger Zeit. Insektizide Carbamate: Es sollte die Detektion mit Esterasen, z.B. nach WALES *et al.*¹⁰, GEIKE²⁰ oder MENDOZA UND SHIELDS²¹ angewendet werden, deren Empfindlichkeit sich im unteren Nanogrammbereich befindet. Allerdings ist diese Detektion zuweilen störanfällig gegen biozidwirksame Verunreinigungen. Statistisch gesicherte Ergebnisse über diese Detektion liegen hier noch nicht vor. Es werden stattdessen für diese Carbamate in der Tabelle die Nachweisgrenzen der Rhodamin-B-Besprühung mitgeteilt.

System V

1.0 g Polyamid (Woelm DC), Korngrösse original < 40 μm , plus 0.02 g Fluoreszenzindikator Woelm, suspendiert in 9.5 ml Methanol für eine 20 \times 20 cm-Platte; Vorklima: H₂SO₄, $\rho = 1.6$; Konterplatte: unbeschichtet; Fliessmittel: 50%iges Äthanol; Strecke: 15 cm; Fliesszeit: 110 min $\pm 10\%$; Standard: Barban, Sollwert hR_F 17. Sonstige Bedingungen: Rahmenverfahren¹³. Detektionsmittel: (1) Auswertung der Fluoreszenzlöschung bei Bestrahlung mit UV-Licht von $\lambda = 254$ nm in 15 cm Abstand und (2) Isolan und die Thiolcarbamate werden durch zusätzliches Besprühen mit 0.05%iger wässrig-alkoholischer Rhodamin-B-Lösung erkannt.

TABELLE III

CARBAMATE: hR_F -WERTE, MITTLERE ($\pm dhR_F$) UND GRÖSSTE (ΔhR_F) ABWEICHUNGEN, NACHWEISGRENZEN (IN μg) BEI DEN SYSTEMEN IV UND V

Wirkstoff	IV				V			
	hR_F	dhR_F	ΔhR_F	μg	hR_F	dhR_F	ΔhR_F	μg
		\pm				\pm		
CEDC	19	0.2	1	2	26	1.0	2	0.8
Propham	36	0.6	1	0.6	50	1.1	2	1
Chlorpropham	37	1.0	2	0.6	34	1.1	3	0.6
CPPC	27	0.2	1	0.8	27	0.9	2	0.4
Chlorbufam	33	0.7	2	0.8	28	1.5	3	0.4
Barban	21	0.5	2	0.8	17	0.4	1	0.3
Phenmedipham	2	0.5	1	0.2	17	1.4	3	0.2
Promecarb	8	0.5	1	0.3	59	1.9	4	0.2
Methiocarb	3	0.3	1	1	71	1.5	2	0.5
Zectran	5	0.1	1	1	60	1.8	6	0.2
Carbaryl	3	0.2	1	0.5	46	1.1	3	1
Pyramat	0			1	89	1.4	3	0.2
Dimetan	0.7	0	0.3	0.5	86	1.2	2	0.2
Isolan	1	0.3	1	1	88	1.1	2	0.2
Dimetilan	0	0	0.7	1	93	0.6	2	0.5
Pyrolan	3	0.1	1	0.5	78	1.3	3	0.5
EPTC	49	0.8	2	1	75	2.1	4	2
Vernolate	55	0.9	3	2	73	3.8	6	2
Pebulate	51	0.6	3	2	71	1.8	3	1
Diallat	61; 69	1.1; 1.5	4; 4	2	54	1.2	5	0.5
Triallat	69	1.1	4	2	48	1.2	3	0.3

Tabelle III enthält die Ergebnisse der Reproduzierbarkeitsversuche an mindestens zehn verschiedenen Tagen in analoger Form wie bei Tabelle I.

Das Wirkstoffpaar Chlorpropham/Chlorbufam kann statistisch aus Wiederholungsversuchen sowohl mit System IV als auch mit System V leicht differenziert werden. Bei Pyramat/Dimetilan, Pyramat/Isolan und Diallat/Triallat gelingt dies ebenfalls mit System V ohne Schwierigkeiten, desgl. bei Vernolate/Pebulate mit System IV. Die Differenzierung auf statistischem Wege von Pyramat/Isolan mit System IV und von EPTC/Pebulate mit System V gelingt dagegen nur bei äusserst sorgfältiger Auswertung, die von Dimetan/Isolan praktisch nicht mehr. Die gelegentliche Verwendung von Polyamid aus anderen Lieferquellen gestattet uns in den genannten Fällen zwar gerade noch eine mässig befriedigende statistische Unterscheidung, doch bleiben die Verhältnisse bei diesen N,N-Dimethylcarbamaten kritisch. Im System IV trennen sich die *cis-trans*-Isomeren des Diallats.

VERFAHREN ZUR IDENTIFIZIERUNG DER HARNSTOFF-HERBIZIDE

System VI

Kieselgel-DC-Alufolie mit organischem Binder (Woelm), Schichtdicke 0.2 mm, 20 × 20 cm; Vorklima: H₂SO₄, $\rho = 1.35$; Konterplatte: unbeschichtet; Sandwichplattenabstand 28 mm (zwanzig Distanz-Pappstreifen Camag); Fliessmittel: Cyclohexan-Essigester (1:1); Strecke: 10 cm; Fliesszeit: 38 min $\pm 16\%$; Standard: Metoxymarc, Sollwert *hR_F* 58. Sonstige Bedingungen: Rahmenverfahren¹³. Detektionsmittel: (1) 30 min auf 200° erhitzen, (2) eine Lösung von 1 g *p*-(N,N-Dimethylamino)-benzaldehyd + 5 ml HCl ($\rho = 1.19$) + 95 ml absolutem Äthanol wird reichlich auf die noch heisse Platte gesprüht. Norea, Benzthiazuron, Methabenzthiazuron und Cycluron gehen diese Azomethin-Reaktion nicht ein. Sie werden anschliessend in der Kälte durch Sprühen mit 0.005%iger wässriger Rhodamin-B-Lösung und Betrachtung unter dem UV-Licht, $\lambda = 254$ nm, erkannt.

SPENGLER UND JUMAR²² beschreiben eine geringe Abwandlung der Azomethin-Detektion, die möglicherweise etwas umfassender nachzuweisen gestattet. Dagegen empfehlen ASKEW *et al.*²³ eine hydrolytische Spaltmethode in der Hitze mit Jodwasserstoffsäure mit anschliessendem Ninhydrin-Nachweis der stickstoffhaltigen Spaltprodukte, deren Anwendungsbereich sich auch auf Carbamate und stickstoffhaltige Phosphorsäureester erstreckt. Abgesehen von schlechter Reproduzierbarkeit hatten wir auch öfter Schwierigkeiten bei der technischen Durchführung dieser Spaltungsreaktion.

System VII

Polyamid-DC-Alufolie F 254 (Merck), Schichtdicke 0.25 mm, 20 × 20 cm; Vorklima: H₂SO₄, $\rho = 1.35$; Konterplatte: unbeschichtet; Fliessmittel: Cyclohexan-Dichlormethan (3:1); Strecke: 10 cm; Fliesszeit: 60 min $\pm 7\%$; Standard: Methabenzthiazuron, Sollwert *hR_F* 49. Sonstige Bedingungen: Rahmenverfahren¹³. Detektionsmittel: Auswertung der Fluoreszenzlöschung bei Bestrahlung mit UV-Licht $\lambda = 254$ nm in 15 cm Abstand. Norea und Cycluron werden auch nach zusätzlichem Sprühen mit Rhodamin-B-Lösung im unteren μ g-Bereich nicht erkannt.

System VIII

2.8 g Kieselgel H (Merck), 20–32 μm^* , plus 0.7 g Kieselgel H-Feingutanteil (Korngrösse < 20 μm) suspendiert in 14 ml Wasser für eine 20 × 20 cm-Platte; lufttrockene Schicht in Form einer Leerchromatographie mit Nitromethan vorgewaschen; Vorklima: H_2SO_4 , $\rho = 1.6$; Konterplatte: analog (es werden zwei Analysenplatten in Form eines Sandwich gleichzeitig chromatographiert); Fliessmittel: Nitromethan; Strecke: 10 cm; Fliesszeit: 12 min $\pm 4\%$; Standard: Methabenzthiazuron, Sollwert hR_F 52. Sonstige Bedingungen: Rahmenverfahren¹³. Detektionsmittel: (1) eine Lösung von 3 g Ninhydrin + 95 ml absolutem Alkohol + 5 ml Eisessig mässig stark sprühen, (2) 30 min auf 180° erhitzen, (3) zuerst erschienene Flecke auswerten, (4) erneut 30 min auf 150° erhitzen und (5) restliche Flecke auswerten. Die meisten Flecke sind nahe der Nachweisgrenze noch im Durchlicht erkennbar, Neburon und Chlorbromuron jedoch im Auflicht.

Tabelle IV enthält die Ergebnisse unserer Reproduzierbarkeitsversuche an mindestens zehn verschiedenen Tagen.

TABELLE IV

HARNSTOFF-HERBIZIDE: hR_F -WERTE, MITTLERE ($\pm dhR_F$) UND GRÖSSTE (ΔhR_F) ABWEICHUNGEN NACHWEISGRENZEN (IN μg) BEI DEN SYSTEMEN VI–VIII

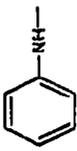
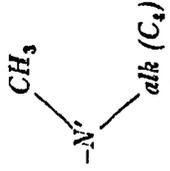
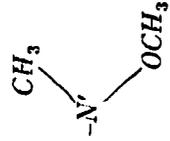
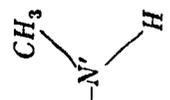
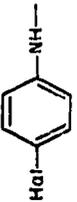
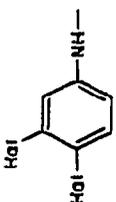
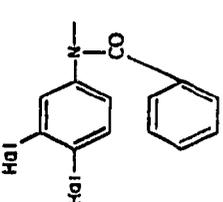
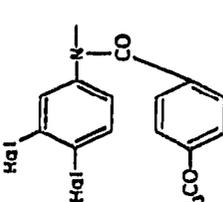
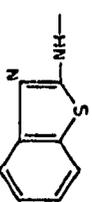
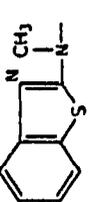
Wirkstoff	VI				VII				VIII			
	hR_F	dhR_F	ΔhR_F	μg	hR_F	dhR_F	ΔhR_F	μg	hR_F	dhR_F	ΔhR_F	μg
Norea	30	± 1.2	3	1	—	\pm			10	± 0.6	2	0.3
Benzthiazuron	31	0.9	2	1	0			1	24	0.8	2	0.3
Methabenzthiazuron	54	1.2	2	1	49	0.7	1	1	52	0.6	1	0.2
Fenuron	34	1.2	3	1.5	19	0.8	2	1	28	1.6	4	0.1
Monuron	34	0.8	2	1.5	10	0.5	1	1	37	2.2	5	0.1
Monolinuron	84	0.8	1	1.5	56	1.1	2	1	86	3.0	4	0.3
Diuron	43	1.3	2	1.5	6	0.3	1	1	57	2.6	6	0.1
Linuron	90	1.2	3	1.5	46	0.7	1	1	88	2.6	5	0.5
Neburon	95	0.6	1	1.5	15	0.5	1	0.5	85	2.2	5	0.5
Metobromuron	88	2.7	1	1.5	56	0.7	2	0.5	84	2.2	5	0.5
Fluometuron	47	1.4	4	1.5	13	0.7	1	1	58	1.4	2	0.1
Chlorbromuron	88	2.4	5	1.5	44	1.0	2	1	92	1.0	4	0.8
Cycluron	27	1.4	2	1	—			1	8	0.6	1	0.2
Chloroxuron	36	1.1	2	1.5	21	0.8	2	0.5	39	1.8	5	0.1
Buturon	95	1.3	7	1.5	17	0.9	1	1	92	2.0	4	0.3
Siduron	96	1.2	2	1.5	2	0.4	1	1	79	3.7	8	0.3
Benzomarc	77	2.1	4	1.5	82	0.6	1	1	85	1.8	4	0.1
Metoxymarc	58	0.8	1	1.5	78	0.8	2	1	82	1.7	4	0.2

Die kritischen Paare Neburon/Buturon und Norea/Cycluron lassen sich im Wiederholungsverfahren in den Systemen VIII bzw. VI statistisch einwandfrei unterscheiden. Dagegen gelingt dies in keinem System exakt bei Linuron/Chlorbromuron. Darüberhinaus können alle übrigen Wirkstoffe dieser Gruppe mühelos identifiziert werden. Linuron/Chlorbromuron können auch durch keines der von HANCE²⁴ ge-

* Klassiert mit Luftstrahlsiebmaschine Labortyp 200 der Firma Alpine, Augsburg.

TABELLE V

HARNSTOFF-HERBIZIDE: BEZIEHUNGEN ZWISCHEN STRUKTUREN UND $\log R_F$ -WERTEN IM KIESELGELSYSTEM VIII UND POLYAMIDSYSTEM VII (IN KLAMMERN)

$C_{10}(\text{alk})\text{-NH-}$ $C_8(\text{alk})\text{-NH-}$			Norea 10 Cycluron 8		
		Buturon 96 (17)	Chloroxuron 39 (21)	Monolinuron 86 (56)	Metobromuron 84 (56)
		Neburon 85 (15)	Diuron 57 (6)	Linuron 88 (46)	Chlorbromuron 92 (44)
			Benzomarc 85 (82)		
			Metoxymarc 82 (78)		
					Benzthiazuron 24 (0)
					Methabenzthiazuron 52 (49)

prüften vierzehn Fliessmittel getrennt werden. Dagegen gelingt ihm die zufriedenstellende Unterscheidung von neun weiteren Harnstoff-Herbiziden an zwei Systemen. Die sehr gute Trennung von Neburon/Buturon wird mit 40%igem Äthanol an paraffin-imprägnierten Platten erreicht. In unserem Rahmenverfahren führte die Verwendung solcher Schichten zu einer erheblichen Verschlechterung der Reproduzierbarkeit. Norea wurde von HANCE nicht geprüft.

Interessant ist die Betrachtung der Abhängigkeiten der hR_F -Werte von den Substitutionen im Harnstoff-Molekül. In Tabelle V wurde versucht, die untersuchten Harnstoff-Herbizide (bis auf zwei nicht kategorisierbare Mischtypen: Siduron und Fluometuron) in ein Derivat-Typen-Schema einzuordnen. Besonders deutlich werden mit dem Chromatographiersystem VIII (Nitromethan auf Kieselgelschicht) gewisse Regelmässigkeiten bei den hR_F -Werten als Funktion der Strukturen erkennbar. Zunehmender Halogensubstitutionsgrad im Aromatenteil erhöht die hR_F -Werte; dagegen spielt die Art des Halogens (Cl, Br; ja selbst $-\text{OC}_6\text{H}_4\text{Cl}$) kaum eine Rolle. Während mit fortschreitender N-Substitution durch Aromaten stets eine deutliche Erhöhung der hR_F -Werte einhergeht, werden diese hingegen bei fehlender Aromatisierung trotz höherer C-Zahl drastisch niedriger. Eine deutliche Vergrösserung der Wanderungsgeschwindigkeit wird auch bei Ersatz einer N-ständigen CH_3 -Gruppe durch $-\text{OCH}_3$ oder $-\text{C}_4$ beobachtet. Ein entsprechender Ersatz von $-\text{CH}_3$ durch $-\text{H}$ dagegen bedingt logischerweise—trotz grossem, sonstigem Molekülrest—verhältnismässig niedrige hR_F -Werte. Das zu System VIII nicht einwandfrei inverse Polyamid-System VII (das Fliessmittel besteht aus Cyclohexan-Dichlormethan, 3:1) führt im allgemeinen zu ähnlichen Ergebnissen. Nur die zu sehr starken Polaritätsänderungen führenden Halogensubstitutionen im Aromatenteil kehren hier den Verlauf der hR_F -Wert-Änderungen um. Ferner scheint die Wirkung freier N-H-Bindungen beträchtlich (H-Brückenbildung mit Polyamid).

VERFAHREN ZUR IDENTIFIZIERUNG DER URACIL-HERBIZIDE

Die vier zur Zeit praxisüblichen Wirkstoffe können bereits an einem einzigen System ausreichend sicher differenziert werden. Es werden zwei Systeme empfohlen.

System IX

Kieselgel-DC-Alufolie mit organischem Binder (Woelm), Schichtdicke 0.2 mm, 20×20 cm; Vorklima: H_2SO_4 , $\rho = 1.6$; Konterplatte: unbeschichtet; Fliessmittel: Toluol-Essigester (3:1); Strecke: 15 cm; Fliesszeit: 118 min $\pm 8\%$; Standard: Bromacil, Sollwert hR_F 25. Sonstige Bedingungen: Rahmenverfahren¹³. Detektionsmittel: (1) 0.5% Malachitgrün in Aceton sparsam sprühen, (2) Brom-Dämpfe und (3) sofort auswerten.

System X

1.0 g Polyamid (Woelm DC), Korngrösse original $< 40 \mu\text{m}$, plus 0.02 g Fluoreszenzindikator Woelm, suspendiert in 9.5 ml absolutem Äthanol für eine 20×20 cm-Platte; Vorklima: H_2SO_4 , $\rho = 1.35$; Konterplatte: unbeschichtet; Fliessmittel: 33%iges Äthanol; Strecke: 15 cm; Fliesszeit: 94 min $\pm 14\%$; Standard: Terbacil, Sollwert hR_F 38. Sonstige Bedingungen: Rahmenverfahren¹³. Detektionsmittel: Auswertung der Fluoreszenzlöschung bei Bestrahlung mit UV-Licht $\lambda = 254$ nm in

15 cm Abstand unter Zuhilfenahme einer Sprühung mit 0.01% Rhodamin B in Alkohol-Wasser.

Tabelle VI enthält die Ergebnisse unserer Reproduzierbarkeitsversuche an mindestens zehn verschiedenen Tagen. Für die reproduzierbar sichere Identifizierung der zugehörigen Wirkstoffe gab es keine Probleme. Eine die Reproduzierbarkeit verschlechternde zweidimensionale Chromatographie²⁵ ist nicht erforderlich.

TABELLE VI

URACIL-HERBIZIDE: hR_F -WERTE, MITTLERE ($\pm dhR_F$) UND GRÖSSTE (ΔhR_F) ABWEICHUNGEN NACHWEISGRENZEN (IN μg) BEI DEN SYSTEMEN IX UND X

Wirkstoff	IX				X			
	hR_F	dhR_F	ΔhR_F	μg	hR_F	dhR_F	ΔhR_F	μg
		\pm				\pm		
Isocil	21	0.2	1	3	47	1.2	2	0.6
Bromacil	25	0.4	1	3	40	0.8	2	1
Terbacil	30	0.7	1	3	38	0.8	1	1
Lenacil	15	0.2	1	3	33	0.9	2	2

DANK

Für die mühevollen und sorgfältigen experimentellen Bearbeitungen des umfangreichen Materials schulde ich Frau R.-M. ARLT besonderen Dank. Ferner danke ich den Firmen Aglukon, Badische Anilin- und Sodafabrik, Bayer, Chemagro, Ciba-Geigy, Dupont de Nemours, Hercules, Hoechst, Monsanto, Pechiney und Progil, Schering, Spiess und Sohn, Stauffer Chemicals und Union Carbide für die entgegenkommende Überlassung von Wirkstoffen.

ZUSAMMENFASSUNG

Für die sichere und reproduzierbare dünnschichtchromatographische Identifizierung von einundsechzig—vorwiegend herbizidwirksamen—Pestiziden wurden auf der Grundlage eines früher beschriebenen Rahmenverfahrens zehn Trenn- und Nachweissysteme entwickelt. Gruppenweise werden die Wirkstoffe mithilfe von jeweils zwei bis drei Systemen differenziert. Sorgfältige Untersuchungen der Varianzbreiten ermöglichen die irrtumsfreie Zuordnung aller Wirkstoffe mit Ausnahme von drei nicht auflösbaren Stoffpaaren.

LITERATUR

- 1 B. L. SAMUEL UND H. K. HODGES, *Res. Rev.*, 17 (1967) 35.
- 2 M. S. SCHECHTER UND M. E. GETZ, *J. Ass. Offic. Anal. Chem.*, 50 (1967) 1056.
- 3 J. W. COOK, D. C. ABBOTT, R. C. BLINN, J. BURKE UND K. A. McCULLY, *Int. Union Pure Appl. Chem. Inf. Bull.*, 32 (1968) 133.
- 4 D. C. ABBOTT, *J. Ass. Offic. Anal. Chem.*, 53 (1970) 1004.
- 5 K. A. McCULLY, *World Rev. Pest. Control*, 8 (1969) 59.
- 6 S. W. BELLMAN UND T. L. BARRY, *J. Ass. Offic. Anal. Chem.*, 54 (1971) 499.
- 7 J. ASKEW, J. H. RUZICKA UND B. B. WHEALS, *Analyst (London)*, 94 (1969) 275.
- 8 O. ANTOINE UND G. MEES, *J. Chromatogr.*, 58 (1971) 247.
- 9 A. SZOKOLAY UND A. MADARIČ, *J. Chromatogr.*, 42 (1969) 509.

- 10 D. C. ABBOTT, K. W. BLAKE, K. R. TARRANT UND J. THOMSON, *J. Chromatogr.*, 30 (1967) 136.
- 11 H.-P. THIER, *Deut. Lebensm. Rundsch.*, 66 (1970) 393.
- 12 S. SANDRONI UND H. SCHLITT, *J. Chromatogr.*, 55 (1971) 385.
- 13 W. ERING, *J. Chromatogr.*, 44 (1969) 81.
- 14 R. W. FREI, N. S. NOMURA UND M. M. FRODYMA, *Mikrochim. Acta*, (1967) 1099.
- 15 R. DELLEY, K. FRIEDRICH, B. KARLHUBER, G. SZÉKELY UND K. STAMMBACH, *Z. Anal. Chem.*, 228 (1967) 23.
- 16 S. KOUDELA, *J. Chromatogr.*, 53 (1970) 589.
- 17 L. P. MANNER, *J. Chromatogr.*, 21 (1966) 430.
- 18 D. C. ABBOTT, J. A. BUNTING UND J. THOMSON, *Analyst (London)*, 90 (1965) 356.
- 19 P. J. WALES, H. A. MCLEOD UND W. P. MCKINLEY, *J. Ass. Offic. Anal. Chem.*, 51 (1968) 1239.
- 20 F. GEIKE, *J. Chromatogr.*, 53 (1970) 269.
- 21 C. E. MENDOZA UND J. B. SHIELDS, *J. Chromatogr.*, 50 (1970) 92.
- 22 D. SPENGLER UND A. JUMAR, *J. Chromatogr.*, 49 (1970) 329.
- 23 J. ASKEW, J. H. RUZICKA UND B. B. WHEALS, *J. Chromatogr.*, 37 (1968) 369.
- 24 R. J. HANCE, *J. Chromatogr.*, 44 (1969) 419.
- 25 F. G. VON STRYK UND G. F. ZAJACZ, *J. Chromatogr.*, 41 (1969) 125.

J. Chromatogr., 65 (1972) 533-545