

CHROM. 9158

FLÜSSIGCHROMATOGRAPHISCHE PARAMETER HERBIZIDER WIRKSTOFFGRUPPEN

I. HARNSTOFFHERBIZIDE

JOSEF PRIBYL und FRITZ HERZEL

Institut für Wasser-, Boden- und Lufthygiene des Bundesgesundheitsamtes, Corrensplatz 1, 1 Berlin 33 (B.R.D.)

(Eingegangen am 8. Dezember 1975; geänderte Fassung eingegangen am 1. März 1976)

SUMMARY

Liquid chromatographic parameters of groups of herbicidal active substances. I. Urea herbicides

Because of the polarity of herbicidal urea derivatives, liquid chromatography is the most suitable method for their determination. The separation of a number of active substances is described. A versatile applicable ternary solvent mixture is used as the mobile phase. Several columns are tested for their separation performances and their capability to retain active substances and some known degradation products. To fully utilize the sensitivity of the photometric detector the UV spectra of the tested compounds are determined.

PROBLEMSTELLUNG

Im Gegensatz zu anorganischen oder metallorganischen Verbindungen, die sich anhand charakteristischer Eigenschaften im allgemeinen recht gut mit Hilfe der Atomabsorptionsspektrometrie, zum Teil sogar im Gemisch analysieren lassen, gelingt dies bei organischen Stoffen aufgrund geringer Unterscheidungsmerkmale meist nicht direkt. Sollen kleinste Konzentrationen aus Umweltproben (Boden- oder Wasserextrakte, Luftadsorbate) erfasst werden, so gilt es, nach einer Vorreinigung zunächst eine Trennung des Stoffgemisches herbeizuführen und möglichst zugleich auch die quantitative Bestimmung. Als Verfahren, das diesen Zweck erfüllt, kommt somit lediglich die Chromatographie in Frage.

Die meisten Insektizide sind aufgrund ihres relativ stark lipophilen Charakters auf dem Wege der Gas-Flüssigchromatographie bestimmbar; hinzu kommt, dass hierfür sehr empfindliche und zudem teilspezifische Detektoren zur Verfügung stehen, wie z.B. der Elektroneneinfangdetektor für Organochlorinsektizide sowie phosphorspezifische Detektoren. Von den herbiziden Wirkstoffen lassen sich viele nicht ohne vorherige Derivatisierung unzersetzt gaschromatographisch (GC) bestimmen; ihre Flüchtigkeit ist infolge höherer Polarität oder intramolekularer Wasserstoffbrücken-

TABELLE I

UNTERSUCHE VERBINDUNGEN UND DEREN WICHTIGSTE PHYSIKALISCHE EIGENSCHAFTEN

Abkürzungen: MG = Molekulargewicht; F = Schmelzpunkt (°C); L = Wasserlöslichkeit bei 25° (ppm); Max = Absorptionsmaximum (nm); ϵ_{\max} = Extinktionskoeffizient im Absorptionsmaximum (cm²/mg); ϵ_{254} = Extinktionskoeffizient bei 254 nm (cm²/mg).

Verbindung	Strukturformel	MG	F	L	Max	ϵ_{\max}	ϵ_{254}
Buturon		236.7	146	35	246	48	37
Chloroxuron		290.8	151	4	247	36	33
Cycluron		198.3	138	155	226	2	0
Diuron		233.1	152	42	248	32	30
Linuron		249.1	93	75	248	42	40
Methabenzthiazuron		221.3	120	59	268	87	50
Metobromuron		259.1	95	336	247	39	37
Monolinuron		214.7	76	580	246	80	53
Monuron		198.7	177	230	245	75	53
Neburon		275.2	102	5	251	34	33
4-Chloranilin		127.6	70		244	32	26
3,4-Dichloranilin		162.0	62		249	30	26
Harnstoff		60.1	132		226	2	0

bildung begrenzt. Hier bietet sich die Flüssigchromatographie (Flüssig-Flüssig- und Flüssig-Festchromatographie) als sehr leistungsfähige Methode an.

Publikationen über die Trennung und Bestimmung von Harnstoffherbiziden mittels Flüssigchromatographie sind äusserst spärlich. In Fachzeitschriften ist u.W. bisher lediglich von Kirkland¹ eine entsprechende Arbeit bekannt. Darüber hinaus fanden wir noch ein ähnliches Trennbeispiel von vier herbiziden Harnstoffderivaten in einer Informationsschrift der Fa. Siemens².

Die im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Wirkstoffe und Derivate sind in Tabelle I aufgeführt.

PARAMETER

Mobile Phase

An das Elutionsmittel müssen im vorliegenden Falle die folgenden Anforderungen gestellt werden:

(1) Es wurde grundsätzlich angestrebt, die zwar universell einsetzbare, meist jedoch langwierigere, schwerer beherrschbare und apparativ komplizierte Gradientenelution zu umgehen. Die Elution mit Lösungsmitteln bzw. -gemischen konstanter Zusammensetzung besitzt zudem den Vorzug einer besseren Reproduzierbarkeit.

(2) Das Lösungsvermögen soll den zu trennenden Substanzen angepasst sein, so dass man zu vernünftigen Elutionszeiten kommt.

(3) Soweit der in der Flüssigchromatographie vielfach verwendete UV-Detektor zum Einsatz kommt, dürfen die Lösungsmittel keine Absorption in dem für die Messung vorgesehenen Spektralbereich aufweisen. Meist gilt das für Wellenlängen von mehr als 245 nm.

(4) Im Routinebetrieb fallen Lösungsmittelmengen an, die nicht nur aus Umweltgesichtspunkten, sondern auch aus wirtschaftlichen Erwägungen eine Wiederverwendung sinnvoll erscheinen lassen. Das Lösungsmittelgemisch sollte sich daher möglichst einfach wieder aufbereiten lassen, z.B. durch Destillation.

(5) Schliesslich sollte das Elutionsmittel keine korrosiven Eigenschaften gegenüber den Werkstoffen besitzen, mit denen es in Berührung kommt. Diesem Problem kommt — besonders beim Einsatz von Elutionsmitteln, die halogenhaltige Lösungsmittel enthalten — höhere Bedeutung zu als man zunächst angenommen hatte.

In den beiden vorgenannten Publikationen werden Äther, z.T. mit Isooctan gemischt, als Elutionsmittel verwendet. Wir haben mit diesen Lösungsmitteln gearbeitet und gefunden, dass sie sowohl hinsichtlich Handhabbarkeit als auch Reproduzierbarkeit namentlich für einen längeren Einsatz nicht allzu zweckmässig sind. Als geeigneter erwiesen sich für den vorliegenden Zweck Gemische aus Dichlormethan und Hexan mit einem geringfügigen Alkoholzusatz. Nach eingehender Prüfung verschiedenster Mischungen stellte sich das auch von Toth³ verwendete Verhältnis 79:20:1 von Dichlormethan, Hexan und Äthanol als optimal heraus. Es erfüllt ausserdem die Bedingung der Wiederverwendbarkeit sehr gut, da sich das Gemisch relativ einfach destillativ trennen und reinigen lässt.

Säulenfüllungen

Es wurden die verschiedensten stationären Phasen auf ihre Leistungsfähigkeit getestet. Daten über Art und Herstellung der Säulen sind in Tabelle II zusammen-

TABELLE II
EINGESETZTE TRENNSÄULEN

Säule	Träger		Belegung			Packungs- Säulenvordruck (in bar) bet. technik Durchflussgeschwindigkeit (ml/Std.)								
	Material	Masse	Art	Mittlerer Durchmesser (µm)	Herkunft	Art	%	Herkunft	10	20	30	50	100	
1	Glas	25 cm × 3 mm	Lichrosorb SI-60	10	Merck* 9307	vom Hersteller silanisiert	—	—	Slurry	12	25	40	68	125
2	Glas	25 cm × 3 mm	Lichrosorb SI-60	5	Merck 9388	—	0	—	Slurry	12	25	40	70	130
3	Glas	25 cm × 3 mm	Lichrosorb SI-60	5	Merck 9388	FraktonitriI 10 III	10	Merck 9787	Slurry	15	30	50	75	145
4	Glas	50 cm × 3 mm	Lichrosorb SI-60	5	Merck 9388	—	0	—	Slurry	18	40	70	125	—
5	Glas	25 cm × 3 mm	Perisorb A	30-40	Merck 12431	vom Hersteller belegt	—	—	trocken mit Vibrator	8	12	18	25	42
6	Glas	25 cm × 3 mm	Polyamid 6	5-20	Macherey, Nagel & Co.**	—	0	—	Slurry	10	16	20	30	50
7	Glas	50 cm × 3 mm	Bio-Beads SX-12	40	Bio-Rad Labs.***	—	0	—	Slurry	3	6	10	16	—
8	Stahl	25 cm × 2 mm	Mikropak CN	10	Varian [†] 07 000 11000	fertig bezogen	—	—	—	12	24	37	65	125

* Darmstadt, B.R.D.

** Düren, B.R.D.

*** München, B.R.D.

† Palo Alto, Calif., U.S.A.

gestellt. Wir verwendeten Stahlsäulen von 25 cm Länge und einem Innendurchmesser von 2 mm, vielfach jedoch auch Glassäulen (im Stahlmantel) von gleicher Länge und einer lichten Weite von 3 mm. Letztere sind nur bis zu 130 atü belastbar.

Die Beschickung der Säulen mit stationärer Phase geschah z.T. durch Einrütteln des trockenen Materials mit Hilfe eines Vibrators und der Wasserstrahlpumpe, zum grösseren Teil jedoch nach verschiedenen Slurry-Techniken. Es gelang uns selbst bei absolut gleichbleibenden Verfahren nicht, stets Säulen mit gut reproduzierbaren Trenneigenschaften zu erhalten. Es wurden deshalb von jedem Säulentyp prinzipiell zwei oder mehr Exemplare hergestellt. Für die Ermittlung der chromatographischen Daten wurde dann die leistungsfähigste und damit für die Charakterisierung ihrer Füllung typischste Säule ausgewählt.

Zum Unterschied zur GC zeigte sich, dass die Trennstufenzahl einer Säule viel stärker substanzabhängig ist. Die Berechnung der Trennstufenzahl (Tabelle III) erfolgte nach einem der üblichen Verfahren^{4,5}.

Geräte

Zu den Untersuchungen wurde der Flüssigchromatograph 8500 der Firma Varian verwendet mit dem Spektralphotometerdetektor 635. Die beiden Küvetten haben bei einer Schichtlänge von 1 cm ein Fassungsvermögen von 8 μ l. Messungen unter 245 nm wurden möglich, da das Photometer als Zweistrahlgerät nach dem Kompensationsprinzip arbeitet.

Fig. 1 zeigt ein typisches Chromatogramm. Um die Nachweisempfindlichkeit zu optimieren, wurden die UV-Spektren der verschiedenen Verbindungen aufgenommen. Sie sind in Fig. 2 wiedergegeben. Die Extinktionskoeffizienten beim Absorptionsmaximum (ϵ_{\max}) sowie bei der sehr gebräuchlichen Wellenlänge 254 nm (ϵ_{254}) enthält Tabelle I.

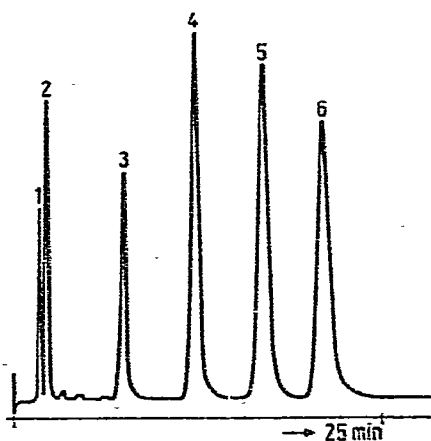


Fig. 1. Typisches Chromatogramm von Harnstoffherbiziden. Varian-Gerät 8500 mit Spektralphotometer 635; Messung bei 247 nm; stationäre Phase, Lichrosorb SI-60; mobile Phase, Hexan-Dichlormethan-Äthanol (20:79:1); Fließgeschwindigkeit, 20 ml/Std. 1 = Metobromuron (0.5 μ g); 2 = 4-Chloranilin (0.5 μ g); 3 = Methabenzthiazuron (1.5 μ g); 4 = Diuron (1 μ g); 5 = Monuron (1 μ g); 6 = Fenuron (1.5 μ g).

TABELLE III

TRENNPARAMETER DER VERWENDETEN SÄULEN

(a) Trennstufenzahl (bei Durchfluss 30 ml/Std. und Dosierung 500 ng/2 μ l); (b) Retentionszeit bei Durchfluss 30 ml/Std.

Verbindung	1		2		3		4		5		6		7		8	
	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
Buturon	350	1.7	680	3.3	1800	2.6	400	6.2	250	1.6	80	2.3	25	4	800	1.8
Chloroxuron	340	2.8	1200	10.0	1800	9.0	680	19.8	700	2.5	80	2.8	25	4	740	3.8
Cycluron	340	2.0	750	6.8	800	5.6	450	13.3	150	1.1	80	2.4	25	4	750	2.3
Diuron	340	2.8	1000	9.6	1800	8.6	500	19.2	600	2.3	80	2.7	25	4	740	3.6
Linuron	290	1.6	800	2.9	900	2.4	360	5.9	250	1.6	80	2.2	25	4	500	1.6
Methabenzthiazuron	290	2.0	1200	6.3	1100	5.5	650	12.5	350	1.8	80	2.6	25	4	450	2.2
Metobromuron	290	1.6	800	3.6	700	2.5	430	6.8	250	1.6	80	2.2	25	4	450	1.6
Monolinuron	300	1.7	800	3.1	800	2.5	430	6.1	250	1.5	80	2.2	25	4	600	1.7
Moniuron	310	3.1	1250	11.8	2200	10.9	700	22.3	700	2.8	80	3.0	25	4	650	4.3
Neburon	500	1.9	1300	3.3	3000	2.7	640	6.5	450	1.2	80	2.3	25	4	1500	1.9
4-Chloranilin	290	1.9	900	3.4	900	2.8	430	6.7	200	1.5	80	2.3	25	4	560	1.9
3,4-Dichloranilin	370	1.6	900	3.0	1900	2.4	430	5.8	200	1.5	80	2.2	25	4	1000	1.7
Harnstoff	390	2.5	700	6.1	2100	6.0	400	11.9	200	1.4	80	2.5	25	4	1000	2.6

Säule (Nr. aus Tabelle II)

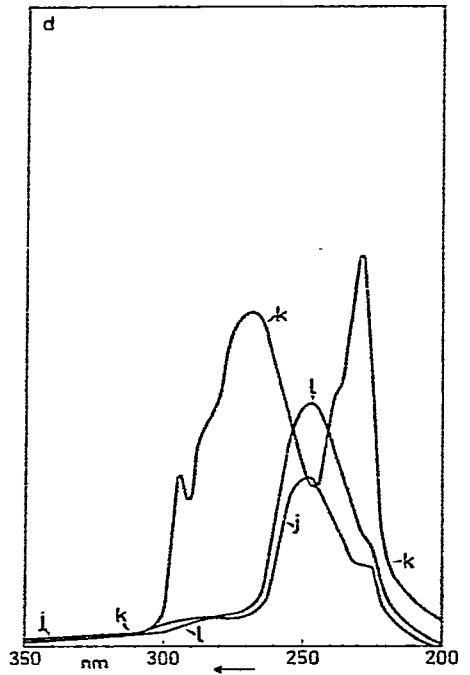
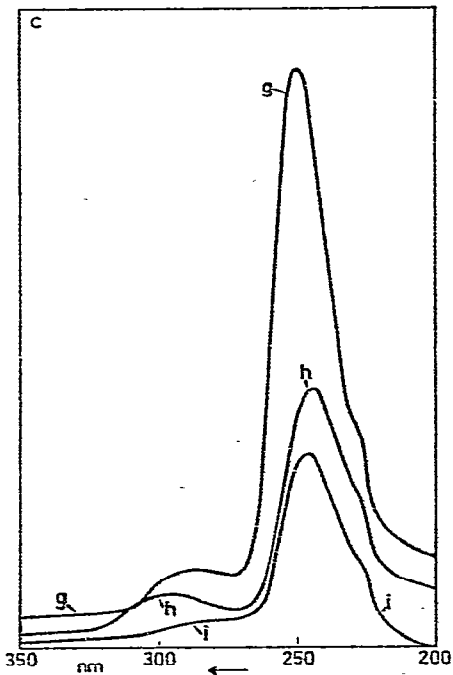
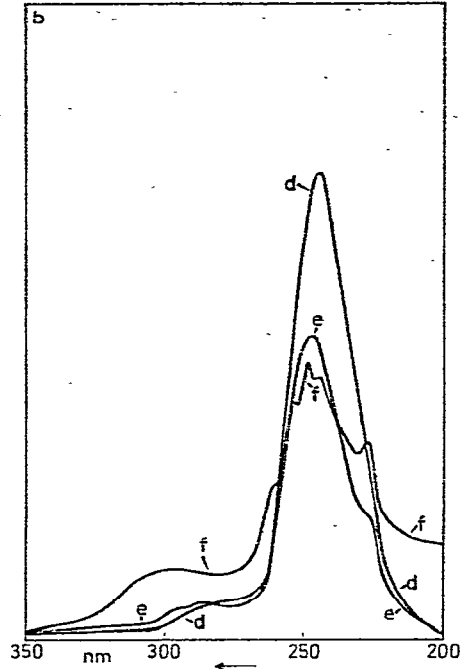
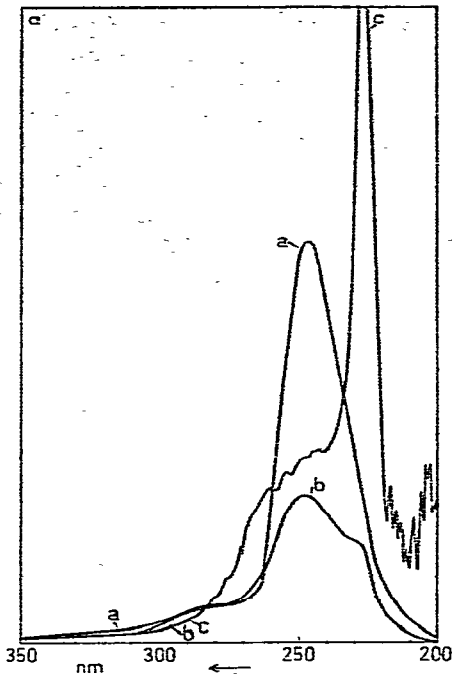


Fig. 2a-d. UV-Spektren einiger Harnstoffherbizide. a = Buturon; b = Chloroxuron; c = Cycluron; d = Monolinuron; e = Linuron; f = 3,4-Dichloranilin; g = Neburon; h = 4-Chloranilin; i = Monuron; j = Diuron; k = Methabenzthiazuron; l = Metobromuron.

Reproduzierbarkeit

Für Buturon ist der Detektor bis etwa 800 ng linear. Aus der Streuung der Messwerte errechnete sich eine relative Standardabweichung von 4%. Die Nachweisgrenze für Buturon liegt bei etwa 15×10^{-12} Mol.

DANK

Dem Bundesminister für Forschung und Technologie sei an dieser Stelle für die finanzielle Unterstützung der Arbeit gedankt.

ZUSAMMENFASSUNG

Für die Bestimmung der herbiziden Harnstoffderivate wird aufgrund deren Polarität zweckmässigerweise die Flüssigchromatographie herangezogen. Es wird die Trennung einer Reihe von Wirkstoffen beschrieben. Als mobile Phase dient ein vielseitig geeignetes ternäres Lösungsmittelgemisch. Verschiedene Säulen werden auf ihre Trennleistung geprüft und auf ihr Retentionsverhalten gegenüber den Wirkstoffen sowie einigen bekannten Abbauprodukten. Um die Empfindlichkeit des Photometerdetektors voll auszuschöpfen, wurden die UV-Spektren der geprüften Verbindungen aufgenommen.

LITERATUR

- 1 J. J. Kirkland, *J. Chromatogr. Sci.*, 7 (1969) 7.
- 2 Siemens AG, *Analysentechn. Mitt.*, Nr. 85, Bild 25.
- 3 L. Toth, persönliche Mitteilung.
- 4 E. Cremer und L. Roselius, *Angew. Chem.*, 70 (1958) 42.
- 5 A. B. Littlewood, in D. H. Desty (Herausgeber), *Gas Chromatography*, Butterworths, London, 1958, S. 23.