

CHROM. 10,449

VERGLEICHENDE CHROMATOGRAPHISCHE UNTERSUCHUNGEN BEI *s*-TRIAZINEN*

H. JORK und B. ROTH

Universität des Saarlandes, Fachbereich 15, Analytische und Biologische Chemie, 66 Saarbrücken 11 (B.R.D.)

(Eingegangen am 1. August 1977)

SUMMARY

Comparative chromatographic analyses of s-triazines

The applicabilities of gas chromatography (GC), high-performance liquid chromatography (HPLC), thin-layer chromatography (TLC) and high-performance thin-layer chromatography (HPTLC) for residue analysis of *s*-triazine herbicides are compared. With the conditions discussed the detection limit for the 14 *s*-triazines was determined as follows: 0.02–0.03 ng in GC alkali flame-ionization detection, 0.8 ng in GC flame-ionization detection, 1 ng in HPLC (UV detection), 3–5 ng in HPTLC (UV detection) and 8–13 ng in TLC (UV detection). The linear range in GC (AFID) was 10^4 whereas in the three liquid chromatographic methods it was 10^2 . The reproducibility with a confidence limit of $P = 95\%$ had a coefficient of variation of $\pm 5\%$. In routine analysis requiring a large number of separations HPTLC has advantages, because the time for a single separation is only 40 sec.

EINLEITUNG

Im Verlauf der letzten 30 Jahre hat der Einsatz von Pestiziden stark zugenommen. Das gilt nicht nur für die Insektizide und Fungizide, sondern in gleicher Weise für die Herbizide, zu denen die *s*-Triazine gehören. Diese Unkrautvertilgungsmittel sind biologisch hochaktive Verbindungen, deren Bestimmung im Rahmen der Rückstandsanalytik von Interesse ist.

Für die Untersuchung von Spurensubstanzen werden die verschiedenen chromatographischen Verfahren eingesetzt. Sie dienen einerseits der Anreicherung und Abtrennung der zu untersuchenden Verbindungen von einem Überschuss an vorgegebenen Ballaststoffen, zum anderen aber auch der qualitativen Trennung und quantitativen Bestimmung der Einzelkomponenten. Die nachfolgenden Untersuchungen beschäftigen sich zunächst mit der Analytik der Reinsubstanzen. Dabei werden die Resultate verglichen und die vier chromatographischen Methoden einander gegenübergestellt. Bewusst wurden hierfür strukturell sehr ähnliche Substanzen

* Vorgetragen beim 12th International Symposium on Advances in Chromatography, Amsterdam, 7.–10. November 1977; die Mehrzahl der Symposium-Beiträge ist veröffentlicht worden in *J. Chromatogr.*, Vol. 142 (1977).

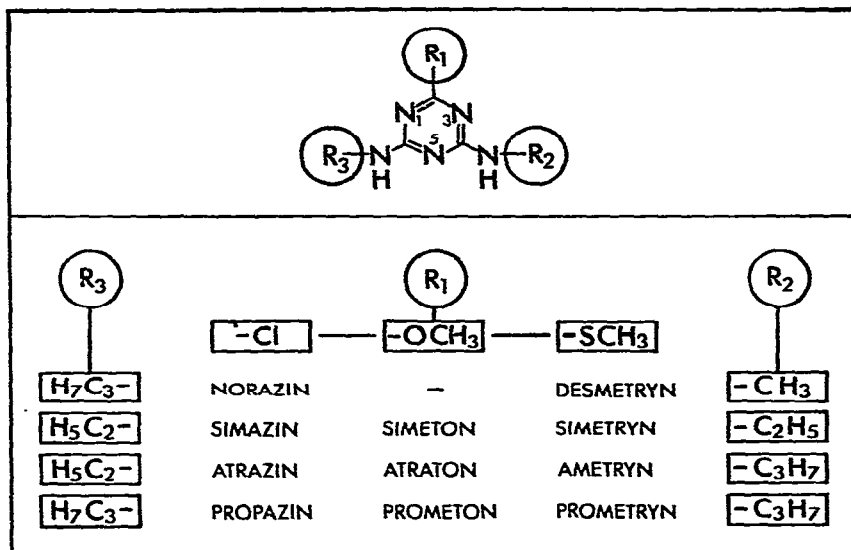


Fig. 1. Zusammenstellung der elf eingesetzten *s*-Triazine mit sekundären Aminogruppen.

gewählt. Eine Übertragung der Ergebnisse auf praktische Anwendungsbeispiele erfolgt später¹⁻³.

PHYSIKALISCH-CHEMISCHE KENNDATEN DER *s*-TRIAZINE

Die *s*-Triazine sind chemisch und physikalisch eng miteinander verwandt. Auf Grund der verschiedenen R₁-Substituenten lassen sie sich in drei Gruppen einteilen.

TABELLE I

ZUSAMMENSTELLUNG DER PHYSIKALISCH-CHEMISCHEN KENNDATEN FÜR DIE UNTERSUCHTEN *s*-TRIAZINE

Name	Molekulargewicht	Schmelzintervall (°C)	Dampfdruck bei 20° (torr)	Dipolmoment (Debye)	pK-Wert	Wasserlöslichkeit bei pH 7 (mg/l)
Trietazin	229.7	102-103	n.b.*	4.77	1.9	29
Ipazin	243.7	71- 73	n.b.	n.b.	1.9	28
Chlorazin :	257.8	15- 18	n.b.	4.43	1.7	22
Simazin	201.7	225-227	$6.1 \cdot 10^{-9}$	n.b.	1.8	5
Norazin	201.7	116-118	n.b.	n.b.	n.b.	22
Atrazin	215.7	173-175	$3.0 \cdot 10^{-7}$	4.63	1.7	35
Propazin	229.7	212-214	$2.9 \cdot 10^{-8}$	4.52	1.5	5
Simeton	197.2	88- 90	$2.4 \cdot 10^{-6}$	n.b.	4.2	2347
Atraton	211.3	94- 96	$2.9 \cdot 10^{-6}$	n.b.	4.2	1606
Prometon	225.3	91- 92	$2.3 \cdot 10^{-6}$	2.94	4.2	678
Desmetryn	213.3	84- 85	$1.0 \cdot 10^{-6}$	n.b.	3.1	512
Simetryn	213.3	77- 79	$7.1 \cdot 10^{-7}$	n.b.	n.b.	444
Ametryn	227.3	85- 87	$8.4 \cdot 10^{-7}$	3.15	4.1	195
Prometryn	241.4	118-120	$1.0 \cdot 10^{-6}$	3.54	4.1	40

* n.b. = nicht bestimmt.

Fig. 1 zeigt die *s*-Triazine, die als R_2 - und R_3 -Substituenten sekundäre Aminogruppen besitzen. Ausser diesen elf Substanzen wurden Trietazin, Ipazin und Chlorazin als vierte Gruppe mit in die Untersuchungen einbezogen. Sie besitzen ebenfalls Chlor als R_1 -Substituenten, weisen jedoch als weitere Gruppierung tertiäre Aminogruppen auf⁴. Die wichtigsten Daten der *s*-Triazine sind in Tabelle I zusammengestellt. Sie lassen erkennen, dass sich der Schmelzpunkt und auch der Dampfdruck nicht parallel zum Molekulargewicht verändern. Das Dipolmoment ist bei den chlorhaltigen *s*-Triazinen höher als bei denen, die schwefel- oder sauerstoffhaltige R_1 -Substituenten besitzen. Die Wasserlöslichkeit ist schlecht. Maximal lösen sich 0.23 g Simeton in 1000 ml Wasser. Deutlich besser ist die Löslichkeit in Methanol, Aceton, Chloroform und Xylol. Auf Grund der aromatischen Struktur besitzen alle *s*-Triazine gute Absorptionseigenschaften. Im Bereich maximaler Absorption ($\lambda_{\max} = 220\text{--}240\text{ nm}$) liegt der molare dekadische Extinktionskoeffizient bei $\epsilon = 3\text{--}4 \cdot 10^4$.

QUALITATIVE CHROMATOGRAPHISCHE UNTERSUCHUNG DER *s*-TRIAZINE

Auf Grund der chemisch-physikalischen Charakteristika ist zu erwarten, dass die Auftrennung eines *s*-Triazin-Gemisches in seine Einzelkomponenten sowohl gaschromatographisch als auch mit Hilfe einer flüssigen mobilen Phase erfolgen kann.

Gaschromatographische (GC) Auftrennung

Zur GC der *s*-Triazine wurde auf Grund der verhältnismässig hohen Schmelzpunkte und niedrigen Dampfdrucke eine hoch siedende stationäre Phase mittlerer Polarität eingesetzt. Gewählt wurde Versamid 900, ein Polyamid, das bereits von Henkel und Ebing⁵ mit Erfolg angewandt worden war und auch im vorliegenden Fall gute Ergebnisse zeigte (Fig. 2). Das gilt insbesondere für die isotherme Abtrennung der Einzelsubstanzen innerhalb der vier *s*-Triazin-Gruppen (Tabelle II). Auch der

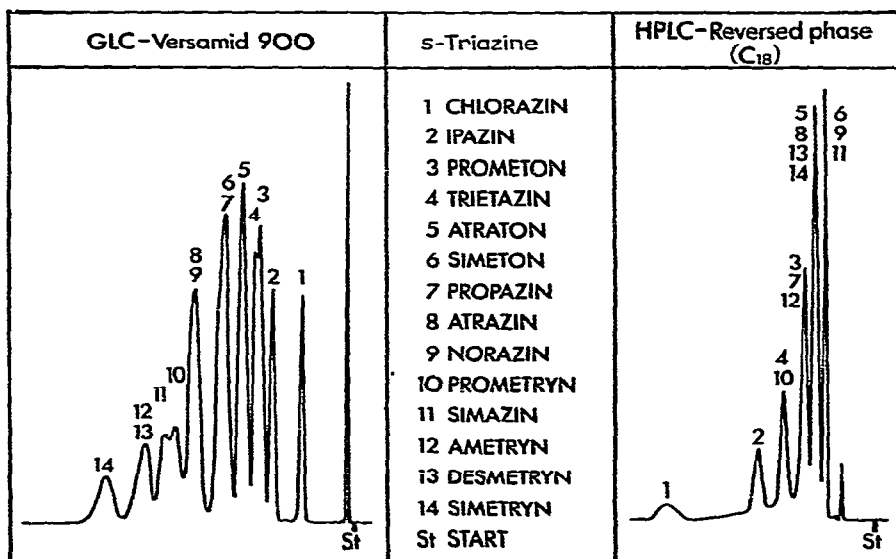


Fig. 2. Verteilungs-chromatographische Auftrennung der vierzehn *s*-Triazine mit Hilfe der GC- und HPLC.

Simetryn-Peak, der mit einer Netto-Retentionszeit von $t'_R = 457$ sec als letzte Bande im Chromatogramm auftritt, zeigte kaum ein Tailing. Die Anwendung eines Temperaturprogrammes erübrigte sich, zumal die kritischen Paare Atrazin und Norazin (Gruppe II) sowie Ametryn und Desmetryn (Gruppe IV) auch damit nicht getrennt werden konnten¹. Eine Differenzierung dieser Verbindungen gelingt mit Hilfe der Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie (HPLC).

TABELLE II

NETTO-RETENTIONSZEITEN t'_R UND k' -WERTE DER 14 UNTERSUCHTEN *s*-TRIAZINE IN RELATION ZUR SUBSTANZGRUPPEN-ZUGEHÖRIGKEIT

Gruppe	R_1 -Substituent	Verbindung	t'_R (sec)	k'
I	-Cl	Chlorazin	88	6.29
		Ipazin	145	10.36
		Trietazin	172	12.29
II	-Cl	Propazin	238	17.00
		Atrazin/Norazin	292	20.86
		Simazin	346	24.71
III	-OCH ₃	Prometon	172	12.29
		Atraton	202	14.43
		Simeton	232	16.57
IV	-SCH ₃	Prometryn	319	22.79
		Ametryn/Desmetryn	385	27.50
		Simetryn	457	32.64

Hochdruck-flüssigkeitschromatographische Auftrennung

Zur Auftrennung von *s*-Triazinen wurde die HPLC bisher nur selten eingesetzt⁶⁻⁸. Dieses junge Analysenverfahren⁹⁻¹¹ bietet jedoch eine echte analytische Alternative zur GC. All die Substanzen, die einen niedrigen Dampfdruck besitzen und sich in der Wärme oder an der Luft leicht zersetzen, sollten flüssigkeitschromatographisch untersucht werden.

Zur Auftrennung der 14 *s*-Triazine bieten sich als stationäre Phase chemisch modifizierte Trägermaterialien an. Verwandt wurde μ Bondapak C-18, ein Kieselgel, dessen oberflächenständige Silanolgruppen mit Octadecylsilan umgesetzt worden waren¹². Als mobile Phase wurde 70% Methanol verwandt (Fig. 2), da für die quantitative Spurenanalyse kurze Retentionszeiten erwünscht waren. Hierbei wurde Chlorazin nach 348 sec als letzte Komponente eluiert. Die Auftrennung innerhalb der erwähnten vier Gruppen war ausreichend. Nicht getrennt werden konnten Norazin und Simazin (Gruppe II) sowie Desmetryn und Simetryn (Gruppe IV). Bei diesen beiden kritischen Paaren ist die Summe der Methylengruppen in R_2 und R_3 konstant, so dass bei der "reversed-phase"-Technik keine Differenzierung zu erwarten war. Hier lieferte die GC auf Grund der unterschiedlichen Dampfdrucke dieser Substanzen bessere Ergebnisse. Der Einfluss des Substituenten in R_1 bewirkt eine Überlappung der einzelnen homologen Reihen (vgl. Fig. 2). Durch Veränderung des Methanol-Wasser-Verhältnisses im Eluenten ist unter Umständen eine bessere Abtrennung möglich. In Tabelle III sind die Netto-Retentionszeiten t'_R sowie die k' -Werte für die untersuchten Wasser-Methanol-Systeme wiedergegeben.

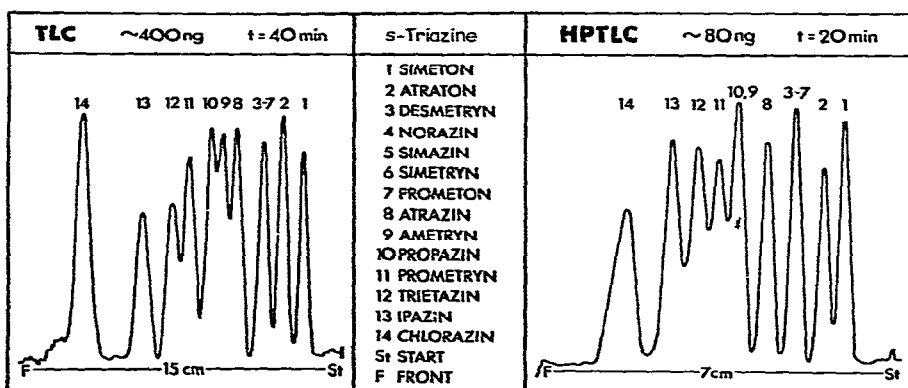
TABELLE III

 NETTO-RETENTIONSZEITEN t'_R UND k' -WERTE DER 14 UNTERSUCHTEN *s*-TRIAZINE IN ABHÄNGIGKEIT VOM METHANOLGEHALT DER MOBILEN PHASE

Methanolgehalt (%)	t'_R (sec)	k'	t'_R (sec)	k'	t'_R (sec)	k'
Gruppe I						
	Trietazin		Ipazin		Chlorazin	
100	7	0.11	7	0.11	13	0.21
90	24	0.43	29	0.51	47	0.83
80	55	0.98	69	1.23	125	2.23
70	123	2.16	169	2.96	348	6.11
60	302	5.39	462	8.25	1056	18.9
Gruppe II						
	Norazin/Simazin		Atrazin		Propazin	
100	2	0.03	2	0.03	7	0.11
90	12	0.21	13	0.23	16	0.28
80	20	0.36	27	0.48	35	0.63
70	35	0.61	53	0.93	75	1.32
60	71	1.27	112	2.0	178	3.18
Gruppe III						
	Simeton		Atraton		Prometon	
100	7	0.11	7	0.11	12	0.2
90	14	0.25	16	0.28	18	0.33
80	22	0.39	28	0.5	36	0.64
70	30	0.53	52	0.91	75	1.32
60	70	1.25	111	1.98	171	3.05
Gruppe IV						
	Desmetryn/Simetryn		Ametryn		Prometryn	
100	5	0.08	5	0.08	10	0.16
90	16	0.28	18	0.32	21	0.38
80	29	0.52	38	0.68	48	0.86
70	57	1.00	81	1.42	117	2.05
60	122	2.18	191	3.41	296	5.29

Dünnschichtchromatographische Auftrennung (TLC und HPTLC)

Die Dünnschichtchromatographie besitzt gegenüber der GC und HPLC den Vorteil, dass zur gleichen Zeit nebeneinander 15 Proben bzw. bei der HPTLC je nach Plattenformat bis zu 36 Untersuchungsansätze chromatographiert werden können.


 Fig. 3. Adsorptions-chromatographische Auftrennung der vierzehn *s*-Triazine auf TLC- und HPTLC-Kieselgel-Schichten.

Damit sind diese beiden Verfahren zur qualitativen Auftrennung von *s*-Triazin-Gemischen und zur routinemässigen Untersuchung bzw. Chargenkontrolle die Methoden der Wahl. Fig. 3 zeigt die Auftrennung der *s*-Triazine auf Kieselgel-Schichten mit Pentan-Chloroform-Acetonitril (5:4:1) als Fliessmittel.

Die HPTLC-Platten sind in ihrer Trennleistung den herkömmlichen TLC-Platten deutlich überlegen¹³⁻¹⁷. Das gilt insbesondere für den unteren hR_F -Wert-Bereich. Die Auftragemenge ist fünf- bis zehnmal niedriger, so dass eine Überladung der Schicht kaum noch gegeben ist. Auch der Anteil der Ballaststoffe ist entsprechend vermindert, so dass Störungen der Chromatographie weniger häufig auftreten. Da die Entwicklungszeit eines Chromatogrammes nur halb so lang ist wie bei den "Makro-TLC"-Platten, können doppelt so viele Proben in der gleichen Zeit analysiert werden. Dass dieser Vorteil nicht durch eine mindere Trennleistung "erkauft" wird, zeigt Tabelle IV. Sie kann durchaus mit derjenigen der GC verglichen werden. Allerdings ist auch hier, wie bei der HPLC, eine Differenzierung von Simazin und Norazin (Gruppe II) sowie Simetryn und Desmetryn (Gruppe IV) nicht möglich.

TABELLE IV

TRENNUNG DER *s*-TRIAZINE IM GEMISCH UND INNERHALB DER EINZELNEN GRUPPEN AUF TLC- BZW. HPTLC-KIESELGELSCHICHTEN

Gruppe	R_1 -Substituent	Verbindung	hR_F -Wert*		k' -Wert**	
			TLC	HPTLC	TLC	HPTLC
I	-Cl	Chlorazin	67	69	0.5	0.4
		Ipazin	52	57	0.9	0.8
		Trietazin	44	50	1.3	1.0
II	-Cl	Propazin	36	39	1.8	1.6
		Atrazin	29	32	2.4	2.1
		Simazin	23	25	3.3	3.0
		Norazin	22	24	3.5	3.2
III	-OCH ₃	Prometon	25	22	3.0	3.5
		Atraton	17	15	4.8	5.7
		Simeton	12	10	7.3	9.0
IV	-SCH ₃	Prometryn	40	44	1.5	1.3
		Ametryn	32	38	2.1	1.6
		Simetryn	23	25	3.3	3.0
		Desmetryn	22	24	3.5	3.2

* Die angegebenen hR_F -Werte sind die Mittelwerte aus drei nacheinander durchgeführten Bestimmungen.

** Errechnet aus der Beziehung $k' = 1/R_F - 1$ (Lit. 9, 14), obwohl sie für die Dünnschichtchromatographie nur unter Vorbehalt gilt.

QUANTITATIVE CHROMATOGRAPHISCHE UNTERSUCHUNGEN

Die quantitative Bestimmung einzelner *s*-Triazine setzt voraus, dass Kenntnis über die Nachweisgrenze und den Linearitätsbereich der Eichgeraden sowie über die Reproduzierbarkeit der Messwerte vorliegen.

Nachweisgrenze und Linearität

Die Nachweisgrenze ist keine absolute Kennzahl einer Methode, sondern die Substanzmenge, die unter den gegebenen arbeitstechnischen Möglichkeiten gerade

noch erfasst werden kann. Sie ist u.a. abhängig von (1) der Applikation der Probe, die möglichst punktförmig erfolgen soll; (2) der räumlichen Diffusion der Probe, die mit steigender Analysenzeit zunimmt; und (3) gerätespezifischen Parametern, die bei den einzelnen Detektorsystemen unterschiedlich sind.

Die Höhe des für eine Messsubstanz erhaltenen Signals soll im Bereich der Nachweisgrenze zwei- bis dreimal grösser sein als die Amplitude der Basislinienstruktur. Von hier ausgehend erstreckt sich der Linearitätsbereich bis zu der Substanzmenge, deren Messsignal von der Fortführung der ermittelten Eichgeraden um mehr als 5% abweicht. Innerhalb dieses Anzeigebereiches arbeitet der Detektor für alle Substanzkonzentration gleich empfindlich.

Linearitätsbereich bei GC-Untersuchungen. Zur Bestimmung des Linearitätsbereiches wird von einer Verdünnungsreihe ausgegangen, so dass das Applikationsvolumen konstant gehalten werden kann. Fig. 4 zeigt eine Gegenüberstellung der entsprechenden Werte für die zwei im Vergleich zueinander benutzten Detektoren. Die Nachweisgrenze liegt für die untersuchten *s*-Triazine bei Verwendung eines Alkali-Flammenionisations-Detektors (AFID) zwischen 18 und 38 pg. Sie nimmt mit steigendem k' -Wert ab und variiert mit dem Molekulargewicht, da der Detektor in erster Näherung auf die Stickstoff-Atome der Verbindung anspricht. Bisher wurden Werte zwischen 200 und 500 pg ermittelt¹⁸. Mit dem Flammenionisations-Detektor (FID) konnten nur 800–850 pg nachgewiesen werden¹. Der AFID ist also 20- bis 40mal empfindlicher als der FID. Er liegt damit etwa im Arbeitsbereich des Coulson-Leitfähigkeits-Detektors¹⁹.

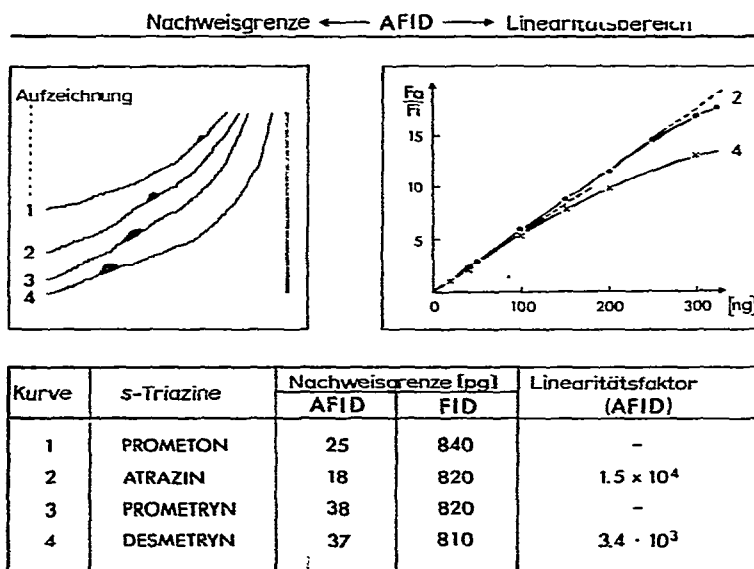


Fig. 4. Bestimmung der Nachweisgrenze und des Linearitätsbereiches für vier *s*-Triazine bei der GC-Analyse.

Die obere Grenze des Linearitätsbereiches kann beim Desmetryn mit 165 ng angegeben werden. Beim Atrazin ist trotz nahezu gleichen Molekulargewichts ein Abknicken der Eichgeraden erst bei 300 ng zu beobachten. Hier spielen wieder die

unterschiedlichen Verweilzeiten im chromatographischen System und die Molekulargewichte eine Rolle. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch Tindle *et al.*¹⁸.

Linearitätsbereich bei HPLC-Untersuchungen. Im Gegensatz zu den GC-Arbeiten mit dem AFID, bei denen jede Ionisierung der stickstoffhaltigen *s*-Triazine innerhalb der Flamme zu einem Messsignal führt, ist der in der Flüssigkeitschromatographie häufig eingesetzte UV-Detektor substanzspezifisch. Er arbeitet weitgehend unabhängig von der Temperatur und Strömungsgeschwindigkeit. Zur Messung dient die jeweilige Wellenlänge maximaler Absorption. Hier besitzt der molare dekadische Extinktionskoeffizient ϵ den grössten Wert. Konzentrationsdifferenzen werden am empfindlichsten angezeigt.

Die in Fig. 5 wiedergegebenen Werte für den molaren Extinktionskoeffizient beziehen sich auf Küvettenmessungen, die mit einem Beckman-25-Photometer durchgeführt wurden. Da in der HPLC bei der Mehrzahl der eingesetzten Detektoren mit grösserer Bandbreite gearbeitet wird, verringert sich hier der effektive ϵ -Wert. Die Anzeige ist also systemabhängig.

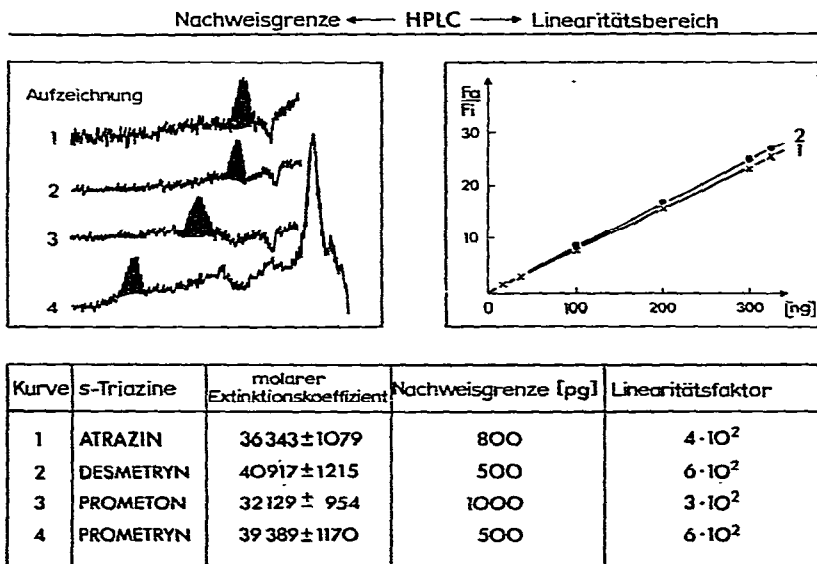
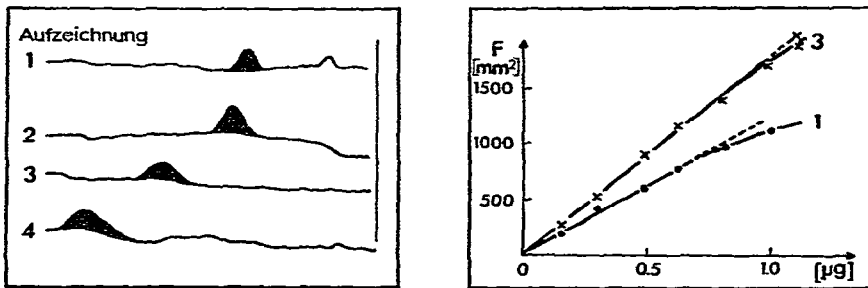


Fig. 5. Bestimmung der Nachweisgrenze und des Linearitätsbereiches für vier *s*-Triazine bei der HPLC-Analyse.

Um eine niedrige Nachweisgrenze zu erhalten, wurde nicht nur die Detektorspezifität und die Dimensionierung der Durchflussküvette beachtet, sondern auch das übrige chromatographische System so ausgelegt, dass eine optimale Trennung bei möglichst geringer Verdünnung der Probe erfolgen konnte^{20,21}. Das Ergebnis ist in Fig. 5 wiedergegeben. Hiernach liegt die Nachweisgrenze bei den *s*-Triazinen zwischen 0.5 und 1 ng. Der Linearitätsbereich erstreckt sich über mehr als 3 · 10² Konzentrationseinheiten. Die Peakverbreiterung, die mit zunehmendem k' -Wert auftritt, stört im angegebenen Untersuchungsbereich nicht.

Linearitätsbereich bei TLC- und HPTLC-Untersuchungen. Zur Detektion der einzelnen *s*-Triazine werden ausser den visuellen Verfahren bevorzugt photometrische

Methoden eingesetzt^{23,27}. Auch hier wird die Wellenlänge maximaler Absorption zur substanzspezifischen Messung verwandt. Fig. 6 gibt die Absorptions-Ortskurven für vier charakteristische *s*-Triazine wieder. Danach liegt die Nachweisgrenze auf herkömmlichen Kieselgel TLC-Platten bei 10–13 ng. Für Fluoreszenzminderungsmessungen waren bisher 250–400 ng *s*-Triazin pro Chromatogramm-Zone angegeben worden²³. Wird auf HPTLC-Platten gearbeitet, so kann die Nachweisgrenze bis auf 3–5 ng gesenkt werden. Durch die geringere Korngrösse wird eine zwei- bis dreimal kleinere Bodenhöhe und damit entsprechend höhere Trennzahl des Sorbens erreicht. Die Laufstrecke der mobilen Phase wird bei gleich gutem oder besserem Trennerfolg auf wenige Zentimeter verringert. Damit verkürzt sich auch die Zeit der Entwicklung, und die Diffusion der einzelnen Substanzen nimmt ab. Weniger Ballaststoffe stören die Analyse, weil die Auftragemenge um den Faktor 5–10 verringert werden kann. Voraussetzung bleibt allerdings auch hier die punktförmige Applikation der Untersuchungslösung. Sie spielt bei den HPTLC-Platten mit basaler Konzentrierungszone keine so entscheidende Rolle. Bei diesen Schichten erfolgt das Zusammenschieben der Substanzen zu einem Strich an der Phasengrenze.



Kurve	<i>s</i> -Triazine	Nachweisgrenze [ng]		Linearitätsfaktor	
		TLC	HPTLC	TLC	HPTLC
1	DESMETRYN	8	3	$1.2 \cdot 10^2$	$3 \cdot 10^2$
2	PROMETON	13	5	$1.2 \cdot 10^2$	$4 \cdot 10^2$
3	ATRAZIN	10	4	$1 \cdot 10^2$	$5 \cdot 10^2$
4	PROMETRYN	8	3	-	$6 \cdot 10^2$

Fig. 6. Bestimmung der Nachweisgrenze und des Linearitätsbereiches für vier *s*-Triazine bei der TLC-Analyse (HPTLC-Werte zum Vergleich angegeben).

Durch die Verringerung der Korngrösse erfolgen zusätzlich eine homogenere und vollständigere Remission der Messstrahlung^{24,25}. Allerdings bedarf es bei derartig kleinen Chromatogramm-Zonen und einer Messwellenlänge um $\lambda = 220$ nm einer deutlichen Verstärkung des Photostromes. Damit wird das Detektorrauschen erhöht bzw. bei entsprechender Spannungsdämpfung die Registrierzeit verlängert.

Zur Festlegung des Linearitätsbereiches wurde wieder von einer Verdünnungsreihe ausgegangen. Wichtig ist bei diesen Untersuchungen, dass gleich kleine Startzonen aufgetragen werden, die hR_F -Werte innerhalb einer Versuchsreihe nur unwesentlich streuen und die entwickelten Chromatogramm-Zonen die gleiche Flächen-

grösse besitzen. Diese Forderung ergibt sich aus der Kubelka-Munk-Funktion²⁶. Sie gilt in gleicher Weise für die zumeist angewandten Ersatzfunktionen²⁷⁻³⁰. Da die Fleckfläche im Chromatogramm nur begrenzt konstant gehalten werden kann, erstreckt sich der Linearitätsbereich in der "Makro-TLC" auch nur über 100 Konzentrationseinheiten. Bei Verwendung der HPTLC-Platten ist eine Ausweitung des Bereiches auf 400-500 Konzentrationseinheiten möglich. Beide Angaben gelten nur, wenn der hR_F -Wert der zu untersuchenden Substanzen zwischen 30 und 80 liegt und nach der Data-Pair-Methode^{31,32} gearbeitet wird.

Reproduzierbarkeit

Jede Analyse ist *a priori* mit einem Fehler behaftet. Zu unterscheiden sind die systematischen und zufälligen Fehler. Als Mass für den zufälligen Fehler gilt die Reproduzierbarkeit. Zufällige Fehler können sowohl bei der Volumen-Dosierung und chromatographischen Entwicklung als auch bei der Detektion und nachfolgenden Auswertung der Peaks auftreten. Wie gross diese zufälligen Fehler zusammen sein können, soll im folgenden gezeigt werden.

Reproduzierbarkeit bei der GC-Analyse. Um den zufälligen Fehler der Einzelwerte zu bestimmen, wurde von einer vorgegebenen Untersuchungslösung ausgegangen, deren Konzentration im optimalen Messbereich des jeweiligen Detektors lag. Die erhaltenen Messwerte sind in Tabelle V zusammengestellt. Sie zeigen, dass der

TABELLE V

ZUSAMMENSTELLUNG DER ZUFÄLLIGEN FEHLER BEI DER GAS-CHROMATOGRAPHISCHEN ANALYSE

n	FID			AFID		
	Peakfläche (rel. Integratorwerte)		Flächen- verhältnis	Peakfläche (rel. Integratorwerte)		Flächen- verhältnis
	Atrazin	Trietazin	Atrazin Trietazin	Atrazin	Trietazin	Atrazin Trietazin
1	$x_1 = 7917$	9475	0.8356	5816	6068	0.9585
2	7926	9425	0.8409	5319	5606	0.9488
3	7926	9275	0.8546	5101	5307	0.9612
4	7402	8870	0.8345	5361	5742	0.9336
5	8048	9488	0.8483	5403	5651	0.9561
	Prometryn	Prometon	Prometryn Prometon	Trietazin	Atrazin	Trietazin Atrazin
1	$x_2 = 11246$	10631	1.0578	5599	5280	1.0604
2	11539	10887	1.0599	5875	5233	1.1227
3	11083	10387	1.0670	5134	4867	1.0549
4	11767	11077	1.0623	5529	5054	1.0938
5	12054	11362	1.0610	5755	5320	1.0817
\bar{x}_1	7844	9307	0.8428	5400	5675	0.9516
\bar{x}_2	11538	10869	1.0616	5578	5151	1.0827
\bar{s}_1	± 253	± 258	± 0.0086	± 260	± 274	± 0.0111
\bar{s}_2	± 391	± 379	± 0.0035	± 283	± 189	± 0.0274
V.K. ₁ (%)	± 3.22	± 2.78	± 1.02	± 4.82	± 4.82	± 1.16
V.K. ₂ (%)	± 3.39	± 3.49	± 0.32	± 5.07	± 3.66	± 2.53

Variationskoeffizient bei der Verwendung des FID zwischen V.K. = ± 2.8 und $\pm 3.5\%$ liegt, während die entsprechenden Werte für den AFID zwischen V.K. = ± 3.7 und $\pm 5.1\%$ anzusetzen sind. Der grösste Fehler liegt offensichtlich bei der Dosierung und Injektion entsprechend kleiner Volumina gegen einen verhältnismässig hohen Eingangsdruck. Er tritt dann nicht in Erscheinung, wenn mit einem internen Standard gearbeitet wird (Tabelle V, Spalte 4 bzw. 7). Im vorliegenden Fall bieten sich die *s*-Triazine als Standardsubstanzen an. Gewählt werden Verbindungen mit nahezu gleichen Rückhaltezeiten, die deutlich von der Untersuchungssubstanz abgetrennt sind. Die zufälligen Fehler betragen in diesem Fall V.K. = ± 0.3 – 1.0% (FID), bzw. ± 1.2 – 2.5% (AFID).

Reproduzierbarkeit bei der HPLC-Analyse. In gleicher Weise wie bei der GC wurde auch bei der HPLC die Reproduzierbarkeit der Einzelmesswerte bestimmt. In Tabelle VI sind die Ergebnisse für eine isobare Versuchsdurchführung angegeben. Bei achtmaliger Injektion von $2 \mu\text{l}$ Untersuchungslösung direkt in den Einspritzblock (keine Probenschleife!) wurde für Trietazin ein Variationskoeffizient V.K. = $\pm 10.7\%$ bestimmt. Entsprechende Werte wurden auch bei anderen *s*-Triazinen ermittelt und sind unbefriedigend. Die Reproduzierbarkeit lässt sich jedoch dadurch verbessern, dass zunächst in die $10\text{-}\mu\text{l}$ -Injektionsspritze $2 \mu\text{l}$ Lösungsmittel aufgezogen werden, bevor die Untersuchungslösung eingesogen wird. Die erhaltenen Werte sind in Tabelle VI, Spalte 2, zusammengestellt. Sie stimmen mit denen, die für Atrazin ermittelt wurden, vollkommen überein und liegen bei V.K. = $\pm 2.5\%$.

TABELLE VI

ZUSAMMENSTELLUNG DER ZUFÄLLIGEN FEHLER BEI DER HPLC-ANALYSE

Einzelheiten s. Text.

<i>n</i>	Peakfläche (rel. Integratorwerte)				Atrazin
	Trietazin*	Trietazin**	Atrazin**	Trietazin**	Trietazin
1	543.10	609.91	607.58	375.92	1.6163
2	573.86	611.81	596.92	375.73	1.5887
3	440.12	624.37	609.93	383.44	1.5907
4	483.21	642.27	619.18	383.52	1.6145
5	465.96	609.14	624.20	392.36	1.5909
6	527.51	644.31	644.38	397.76	1.6200
7	586.74	622.42	641.12	396.67	1.6163
8	582.32	650.49	630.46	387.96	1.6251
\bar{x}	525.35	628.84	621.72	386.67	1.6079
<i>s</i>	± 56.38	± 16.71	± 16.62	± 8.56	± 0.0150
V.K. (%)	± 10.73	± 2.67	± 2.67	± 2.21	± 0.93

* Ohne Voraufzug von $2 \mu\text{l}$ Lösungsmittel.** Mit Voraufzug von $2 \mu\text{l}$ Lösungsmittel.

Eine weitere Verbesserung der Reproduzierbarkeit ergibt sich durch das Arbeiten mit einem internen Standard. Die zufällig auftretenden Fehler konnten so auf V.K. = $\pm 0.93\%$ reduziert werden. In diesem Wert sind die Fehler des chromatographischen Systems, des Detektors und der Registrierung mit nachfolgender Peakflächenbewertung enthalten.

Reproduzierbarkeit bei der TLC- und HPTLC-Analyse. Im Gegensatz zur GC

und HPLC stellen die TLC und HPTLC, wie sie zumeist durchgeführt werden, "offene Chromatographiesysteme" dar. Das hat zur Folge, dass äussere Einflussfaktoren wie Luftfeuchtigkeit, Kammersättigung und Konditionierung des Systems die Substanzverteilung im Sorbens, die Lage im Chromatogramm sowie die Auftrennung der Einzelkomponenten ändern können^{33,34}. Die Reproduzierbarkeit von zehn Einzelmesswerten des gleichen Chromatogrammes liegt bei der "Makro-TLC" unter V.K. = $\pm 2.5\%$ und bei der HPTLC zwischen V.K. = ± 4.0 und $\pm 4.5\%$. Diese Werte wurden erhalten (Tabelle VII), wenn jeweils zwei und mehr Substanzen entwickelt wurden, deren Zonen direkt benachbart übereinander im Chromatogramm lagen. Bei der Entwicklung nur eines *s*-Triazins — ohne Begleitsubstanzen — liegt die Reproduzierbarkeit auf HPTLC-Schichten bei V.K. = $\pm 1.2\%$ (vgl. auch Lit. 17, 32). Der Vergleich dieser Ergebnisse zeigt, dass beim Arbeiten mit internem Standard im Gegensatz zur GC und der HPLC keine wesentliche Verbesserung der Reproduzierbarkeit erreicht wird¹. Vorteile bringt jedoch das Auswerten nach der Data-Pair-Methode^{17,31,32}. Dieses Verfahren arbeitet so, dass bei Doppelauftragungen zur Mittelwertbildung nicht zwei benachbarte Chromatogramm-Zonen herangezogen werden, sondern jeweils zwei Flecke ausgewertet werden, deren räumlicher Abstand eine Plattenhälfte beträgt. Auf diese Weise werden ausser den Dosierfehlern, die beim Auftragen entstehen, die oben erwähnten Chromatographiefehler weitgehend kompensiert. Allerdings können nur halb so viele Proben zur gleichen Zeit untersucht werden. Die entsprechenden Werte sind für die "Makro-TLC" und die HPTLC bei vier verschiedenen Substanzen in Tabelle VII wiedergegeben.

TABELLE VII

ZUSAMMENSTELLUNG DER ZUFÄLLIGEN FEHLER BEI DER TLC- UND HPTLC-ANALYSE

<i>n</i>	TLC			HPTLC		
	Peakfläche (rel. Integratorwerte)		Atrazin	Peakfläche (rel. Integratorwerte)		Atraton
	Atrazin	Propazin	Propazin	Atraton	Simeton	Simeton
1	531	589	0.9015	504	485	1.04
2	513	580	0.8845	491	463	1.06
3	527	584	0.9024	454	482	0.94
4	531	580	0.9155	459	451	1.02
5	531	610	0.8705	499	498	1.00
6	527	594	0.8872	495	459	1.08
7	515	620	0.8306	512	504	1.02
8	531	594	0.8939	511	504	1.01
9	519	603	0.8607	468	477	0.98
10	514	605	0.8496	468	455	1.03
\bar{x}	524	596	0.8796	486	478	1.02
<i>s</i>	± 7.75	± 12.89	± 0.0264	± 21.86	± 20.17	± 0.04
V.K. (%)	± 1.48	± 2.16	± 3.00	± 4.50	± 4.22	± 3.89
Data-Pair-Methode	± 1.18	± 1.46	± 2.20	± 3.17	± 2.32	± 3.10
V.K. (%)						

TABELLE VIII

ALLGEMEINE CHARAKTERISTIKA DER VIER CHROMATOGRAPHISCHEN VERFAHREN BEI DER UNTERSUCHUNG VON δ -TRIAZINEN

Gesichtspunkte	GC	HPLC	TLC	HPTLC
Voraussetzung für den Einsatz	Substanzen müssen unzersetzt verdampfbar sein	Substanzen müssen löslich sein	Substanzen müssen löslich sein	Substanzen müssen löslich sein
Anfälligkeit gegen äussere Faktoren	geschlossenes System, kaum gegeben	geschlossenes System, kaum gegeben	offenes System, deutlich vorhanden	offenes System, deutlich vorhanden
Auswahlmöglichkeit bei der stationären Phase	gross	mittelgross	verhältnismässig klein	noch gering
Ausnutzung der stationären Phase	gesamte Säulenlänge	gesamte Säulenlänge	nur bis zur Chromatogramm-Zone	nur bis zur Chromatogramm-Zone
Probenaufgabe	kontinuierlich möglich, in strömende mobile Phase	kontinuierlich möglich, in strömende mobile Phase	diskontinuierlich, auf stationäre Phase (Ausnahme: BN-Kammer)	diskontinuierlich, auf stationäre Phase (Ausnahme: U-Kammer)
Strömungsgeschwindigkeit der mobilen Phase	konstant, sofern nicht programmiertes Arbeiten	konstant, sofern nicht programmiertes Arbeiten	nicht konstant (Ausnahme: Durchlauf-Entwicklung)	nicht konstant
Konstanz der k' -Werte	gut	gut	ausreichend	befriedigend
Anzahl der gleichzeitig untersuchten Proben	1	1	12-15	bis 36
Veränderung der stationären Phase	aufwendig	aufwendig	leicht möglich	leicht möglich
Kombination verschiedener stationärer Phasen	mehrere Säulen hintereinander	mehrere Säulen hintereinander	kontinuierlicher und abgestufter Sorbensgradient	Zwei-Phasen-Platten
Auswahlmöglichkeit der mobilen Phase	gering, nicht notwendig	mittelgross, abhängig vom Detektorsystem	vielseitig	vielseitig
Materialkosten	teuer trotz Mehrfachbenutzung der stationären Phase	teuer trotz Mehrfachbenutzung der stationären Phase	billig (ohne Berücksichtigung der DC-Spektroskopie)	billig (ohne Berücksichtigung der DC-Spektroskopie)
Trenntechniken	keine (Ausnahme: T-Gradient)	wenig (Druck- und Temperaturprogrammierung, Gradientelution)	zahlreich (Mehrfach- und Stufentechnik, 2-dimensionale Entwicklung usw.)	zahlreich (PMD-Technik, Ringentwicklung)
Qualitative Charakterisierung	kaum möglich, es sei denn durch online-MS-Kopplung, IR-ATR*-Technik	kaum möglich, es sei denn durch online-Spektroskopie	leicht möglich (mikrochem. Reaktionen, DC-Spektroskopie)	möglich (Fluoreszenz-Reaktionen, DC-Spektroskopie)
Detektorsysteme:				
universell	TCD, FID	Refraktometer, Adsorptions-Detektor	Reagentien	begrenzt Reagentien
spezifisch	ECD, AFID, FPD	UV- und Fluoreszenz-Detektoren	DC-Spektroskopie	DC-Spektroskopie

* ATR = attenuated total reflectance.

**VERGLEICH DER CHROMATOGRAPHISCHEN VERFAHREN UND SCHLUSSDISKUS-
SION**

Zur qualitativen Trennung von 14 strukturell sehr nahe verwandten *s*-Triazininen wurde die GC, HPLC, TLC und HPTLC eingesetzt. Ein allgemeiner Vergleich dieser Verfahren ist in Tabelle VIII wiedergegeben. Die speziell für die *s*-Triazin-Trennung erhaltenen Ergebnisse sind in Tabelle IX zusammengefasst. Sie zeigen u.a., dass zur Untersuchung von Pikogramm-Mengen nur die GC mit einem stickstoff-spezifischen Detektor in Frage kommt. Die Reproduzierbarkeit und die Linearität der Detektoranzeige sind gut. Allerdings nehmen Serienuntersuchungen verhältnismässig viel Zeit in Anspruch, weil eine Analyse etwa 8 min dauert.

Günstiger ist hier bereits die HPLC zu beurteilen. Der Arbeitsaufwand ist etwa der gleiche, die Peakausbildung ist genau so gut wie bei der GC. Kritische Paare des einen Verfahrens lassen sich mit dem anderen Verfahren auftrennen und bestimmen. Für quantitative Untersuchungen sollen mindestens 10–20 ng *s*-Triazin zur

TABELLE IX

**SPEZIELLE CHARAKTERISTIKA DER VIER CHROMATOGRAPHISCHEN VERFAHREN
BEI DER UNTERSUCHUNG VON *s*-TRIAZINEN**

<i>Gesichtspunkte</i>	<i>GC</i>	<i>HPLC</i>	<i>TLC</i>	<i>HPTLC</i>
Säulen- bzw. Plattenmaterial und Format	gepackte Glas-säulen 180 × 0.4 cm	Stahlsäulen, 30 × 0.42 cm	Glasplatten 20 × 20 cm	Glasplatten 10 × 10 bzw. 10 × 20 cm
Stationäre Phase und Trennprinzip	Polyamid (Versamid 900); Verteilung	μBondapak C-18; Kieselgel 60 F ₂₅₄ , Phasenumkehr	Kieselgel 60 F ₂₅₄ , Adsorption	Kieselgel 60 F ₂₅₄ , Adsorption
Trennstrecke und -zeit	180 cm; 8 min	30 cm; 6 min	15 cm; 40 min	7 cm; 20 min
Teilchengrösse (μm)	200	10	10–30	5
Bodenhöhe (μm)	500	100		
Trennzeit pro Analyse (sec)	480	360	160 (bei 15 Proben)	40 (bei 30 Proben)
Nachweisgrenze (ng)	FID : 0.80–0.85 AFID: 0.02–0.03	UV: 0.5–1.0	UV: 8–13	UV: 4–6
Linearitätsfaktor	FID : bis 10 ⁷ AFID: 0.5–2 · 10 ⁴	UV: 3 · 10 ²	UV: 1 · 10 ²	UV: 4 · 10 ²
optimaler Einsatzbereich bei quantitativen Untersuchungen (ng)	0.5–5.0	10–50	100–500	40–200
Reproduzierbarkeit der Einzelwerte (V.K., %)	FID : ±2.8–3.5 AFID: ±3.7–5.1	±2.2–2.7	±1.5–2.5	±4.0–4.5
Reproduzierbarkeit bei Verwendung eines internen Standards (%)	FID : ±0.3–1.0 AFID: ±1.2–2.5	±0.93	±1.2–1.5 (Data-Pair-Methode)	±2.5–3.5 (Data-Pair-Methode)

Verfügung stehen. Die direkte Applikation von Pflanzenextrakten ist nicht zu empfehlen, da die Ballaststoffe bereits nach einer Analyse die stationäre Phase funktionsunfähig machen. Hier sollte versucht werden, mit einer Vorsäule eine gewisse Reinigung zu erreichen³⁵.

Zur Serienuntersuchung vieler Einzelproben oder Handelsprodukte bzw. zur Chargenkontrolle eignen sich die TLC und HPTLC besonders gut. Sie liefern brauchbare Trennungen. Mit einem einzigen Fließmittelansatz lassen sich auf dem gleichen Chromatogramm 15 bzw. 30 Proben zur gleichen Zeit chromatographieren. Das bedeutet, dass die Entwicklungszeit pro Analyse bei HPTLC-Platten maximal 1 min beträgt. Werden das Auftragen der Untersuchungslösungen und die Registrierung der Absorptions-Ortskurven hinzugerechnet, so beträgt der Zeitaufwand 2–3 min. Der Bedarf an mobiler und stationärer Phase ist deutlich geringer und billiger als bei der GC und HPLC. Allerdings werden für quantitative Untersuchungen bei der "Makro-TLC" 0.1–0.5 µg und bei der HPTLC 50–200 ng *s*-Triazin benötigt. In diesem Fall ist die zu erzielende Reproduzierbarkeit mit derjenigen der GC und HPLC zu vergleichen. Der Linearitätsbereich ist etwa genau so gross wie bei der HPLC. Ein besonderer Vorteil bei diesen Verfahren ist die direkte Spektrenaufnahme von der Schicht her. Zur Identifizierung von Substanzen stehen damit ausser dem hR_F - bzw. k' -Wert und halbspezifischen Farbreaktionen die Absorptions- oder Fluoreszenzspektren zur Verfügung. Störsubstanzen können bei der quantitativen Analyse häufig dadurch ausgeschlossen werden, dass eine substanzspezifische Wellenlänge zur Messung gewählt wird. Damit besitzt jedes der vier genannten chromatographischen Verfahren seinen speziellen Anwendungsbereich in der *s*-Triazin-Analytik und sollte auch dort optimal eingesetzt werden.

EXPERIMENTELLER TEIL

Gaschromatographie

Geräte. Aerograph 2800 mit FID und AFID (Varian, Darmstadt, B.R.D.), Servogor-S-Schreiber (Metrawatt, Nürnberg, B.R.D.), Minigrator (Spectra-Physics, Darmstadt, B.R.D.).

Säulen und stationäre Phase. Glassäulen, 1.80 m × 4 mm I.D.; stationäre Phase: 2.5% Versamid 900 auf Diatoport S, Korngrösse 60–80 mesh.

Mobile Phase und Brenngas-Einstellung. Mobile Phase: Stickstoff, 99.996%, Strömungsgeschwindigkeit: 30 ml/min. FID: Synthetische Luft, 300 ml/min; Wasserstoff 99.999%, 30 ml/min. AFID: Synthetische Luft, 240 ml/min; Wasserstoff 99.999%, 40 ml/min. Dieses Basisverhältnis der Gase muss eventuell optimiert werden³⁶.

Arbeitstemperaturen. Ofenraum: 195°; Probeneinlassteil: 230°; FID bzw. AFID: 240°.

Elektrometer- und Schreibereinstellung. Elektrometer: 10^{-10} – 10^{-12} ; Attenuation: 8–64 ×; Schreibervollausschlag: 1 mV; Papiervorschub: 10 mm/min.

Untersuchungslösungen und Einspritzvolumina.

Qualitative Trennung: AFID: Je 5.0 mg *s*-Triazin in 100.0 ml Methanol p.a. lösen; Einspritzvolumen: 2.0 µl.

Bestimmung der Nachweisgrenze: AFID: 7.5 µg *s*-Triazin in 100.0 ml Methanol p.a. lösen; Einspritzvolumen: 0.2–0.4 µl. FID: 0.5 mg *s*-Triazin in 100.0 ml Methanol p.a. lösen; Einspritzvolumen: 0.15–0.2 µl.

Bestimmung des Linearitätsbereiches: AFID: 2.0–30.0 mg *s*-Triazin in 100.0 ml Methanol p.a. lösen; Einspritzvolumen: 2.0 μ l.

Bestimmung der Reproduzierbarkeit: AFID: 2.5 mg *s*-Triazin in 100.0 ml Methanol lösen; Einspritzvolumen: 2.0 μ l. FID: 20.0 mg *s*-Triazin in 100.0 ml Methanol p.a. lösen; Einspritzvolumen: 250 μ l.

Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie

Geräte. Waters Pumpe Typ 6000 (Waters, Königstein/Taunus, B.R.D.), Zwei-
strahl-Spektralphotometer SF 770 (Schoeffel, Trappenkamp, B.R.D.), Kompenso-
graph III Schreiber (Siemens, Erlangen, B.R.D.), Infotronics CRS 108 RT, S/N 3389,
Integrator (Infotronics, Shannon Airport, Irland), Tischrechner Modell 353 (Addo,
Malmö, Schweden).

Säulen und stationäre Phase. V2A-Stahlsäulen, 30 cm \times 4.2 mm I.D., aufge-
bohrt; stationäre Phase: μ Bondapak C-18, Korngrösse 10 μ m.

Mobile Phase. Methanol-Wasser (7:3), Strömungsgeschwindigkeit: 3.30 ml/
min.

Untersuchungslösungen und Einspritzvolumina.

Qualitative Trennung: Je 40.0 mg *s*-Triazin in 100.0 ml Methanol p.a. lösen;
Einspritzvolumen: 2.0 μ l.

Bestimmung der Nachweisgrenze: 45.0 μ g *s*-Triazin in 100.0 ml Methanol p.a.
lösen; Einspritzvolumen: 2.0–3.0 μ l.

Bestimmung des Linearitätsbereiches: 2.0–30.0 mg *s*-Triazin in 100.0 ml
Methanol p.a. lösen; Einspritzvolumen: 2.0 μ l.

Bestimmung der Reproduzierbarkeit: 5.0 mg *s*-Triazin in 100.0 ml Methanol
p.a. lösen; Einspritzvolumen: 2.0 μ l.

Dünnschicht- und Hochleistungs-Dünnschichtchromatographie

Geräte. Grundausrüstung (Desaga, Heidelberg, B.R.D.), KM 3-Spektral-
photometer (C. Zeiss, Oberkochen, B.R.D.), Messanordnung: M-Pr(R); Strahlungs-
quelle: H 30 DS-Brenner; Empfänger: SEV-1 P 28; Servogor-S-Schreiber (Metra-
watt), Minigrator (Spectra-Physics).

Methode. Aufsteigende, eindimensionale Entwicklung bei Kammersättigung;
Einfach- und Mehrfach-Entwicklung in TLC- bzw. HPTLC-Trogkammer.

Stationäre Phase. Kieselgel F₂₅₄-Fertigplatten, 20 \times 20 cm (E. Merck, Darm-
stadt, B.R.D.), HPTLC-Kieselgel 60 F₂₅₄-Fertigplatten, 10 \times 10 cm bzw. 10 \times 20 cm
(E. Merck).

Mobile Phase. Pentan-Chloroform-Acetonitril (5:4:1).

Laufstrecke und Laufzeit. 150 mm bei "Makro-1 LC": 40 min, 70 mm bei
HPTLC: 20 min.

Nachweis. (a) Fluoreszenzminderung, (b) Aufnahme der Absorptions-Orts-
kurven bei $\lambda = 226$ bzw. 240 nm.

Untersuchungslösungen und Auftragevolumina.

Qualitative Trennung: Je 40.0 mg *s*-Triazin in 100.0 ml Methanol p.a. lösen;
Auftragevolumen TLC: 1.0 μ l; HPTLC: 250 nl.

Bestimmung der Nachweisgrenze: TLC: 0.5–1.5 mg *s*-Triazin in 100.0 ml
Methanol p.a. lösen; Auftragevolumen: 1.0 μ l. HPTLC: 0.4–4.0 mg *s*-Triazin in
100.0 ml Methanol p.a. lösen; Auftragevolumen: 250 nl.

Bestimmung des Linearitätsbereiches: TLC: 10.0–80.0 mg *s*-Triazin; 100.0 ml Methanol p.a. lösen; Auftragevolumen: 1.6 μ l. HPTLC: 40.0–320.0 mg *s*-Triazin in 100.0 ml Methanol p.a. lösen; Auftragevolumen: 250 nl.

Bestimmung der Reproduzierbarkeit: TLC: 40.0 mg *s*-Triazin in 100.0 ml Methanol p.a. lösen; Auftragevolumen: 1 μ l. HPTLC: 20.0 mg *s*-Triazin in 100.0 ml Methanol p.a. lösen; Auftragevolumen: 270 nl.

DANK

Herrn Prof. I. Halász und Herrn Prof. H. Engelhardt danken wir herzlich für die Möglichkeit, die HPLC-Untersuchungen in ihren Laboratorien ausführen und die Ergebnisse mit ihnen diskutieren zu können. Frau R. Gross danken wir für ihre geschickte und sorgfältige Durchführung einzelner Versuche, die einer zusätzlichen Absicherung der Untersuchungsergebnisse dienen.

ZUSAMMENFASSUNG

Die vorliegenden Untersuchungen beschäftigen sich mit dem vergleichsweisen Einsatz der Gas- (GC), Hochdruck-Flüssigkeits- (HPLC), Dünnschicht- (TLC) und Hochleistungs-Dünnschichtchromatographie (HPTLC). Gearbeitet wird mit 14 *s*-Triazin-Herbiziden, deren Nachweisgrenze unter den angegebenen Bedingungen bei folgenden Werten liegt: GC (Alkali-Flammenionisations-Detektor; AFID): 0.02–0.03 ng; GC (Flammenionisations-Detektor): 0.8 ng; HPLC (UV-Detektor): 1 ng; HPTLC (UV-Detektor): 3–5 ng; TLC (UV-Detektor): 8–13 ng. Der Linearitätsbereich, der sich bis zu einer Substanzmenge erstreckt, für die das Messsignal von der extrapolierten Kalibriergeraden um mehr als 5% abweicht, reicht in der GC (AFID) bis zum 10^4 -fachen Wert der Nachweisgrenze, während er bei den drei flüssigkeitschromatographischen Methoden nur um den Faktor 10^2 höher ist. Die Reproduzierbarkeit liegt bei einer statistischen Sicherheit von $P = 95\%$ bei allen eingesetzten chromatographischen Verfahren unter Variationskoeffizient $= \pm 5\%$. Sie kann bei Verwendung eines internen Standards (GC und HPLC) bzw. bei Einsatz der Data-Pair-Methode (TLC und HPTLC) noch um den Faktor 2 verbessert werden. Für Routineanalysen besitzt die HPTLC den Vorteil, dass mehr als 30 Proben gleichzeitig entwickelt werden können. Die Chromatographiezeit beträgt umgerechnet auf eine einzelne Probe dann nur noch 40 sec.

LITERATUR

- 1 B. Roth, *Vergleichende chromatographische Untersuchungen der s-Triazine im Hinblick auf die Einsatzmöglichkeit in der Drogenanalytik*, Dissertation, Saarbrücken, 1977.
- 2 H. Jork und B. Roth, *Z. Anal. Chem.*, im Druck.
- 3 B. Roth und H. Jork, *Arch. Pharmaz.*, in Vorbereitung.
- 4 L. S. Jordan in F. A. Gunther, *Residue Reviews*, Bd. 32, Springer, Berlin, Heidelberg, New York, 1970.
- 5 H. G. Henkel und W. Ebing, *J. Gas Chromatogr.*, 3 (1964) 215.
- 6 T. H. Byast, *Analyst (London)*, 100 (1975) 325.
- 7 T. H. Byast und E. G. Cotterill, *J. Chromatogr.*, 104 (1975) 211.
- 8 T. Vitali, E. Gaetani, C. F. Laureri und C. Branca, *Il Farmaco, Ed. Sci.*, 31 (1976) 58.

- 9 H. Engelhardt, *Hochdruck-Flüssigkeits-Chromatographie*, Springer, Berlin, Heidelberg, New York, 1975.
- 10 J. J. Kirkland, *Modern Practice of Liquid Chromatography*, Wiley-Interscience, New York, London, Sydney, Toronto, 1971.
- 11 L. R. Snyder und J. J. Kirkland, *Introduction to Modern Liquid Chromatography*, Wiley-Interscience, New York, London, Sydney, Toronto, 1974.
- 12 K. Karch, *Unpolare stationäre Phasen in der Hochdruck-Flüssig-Chromatographie*, Dissertation, Saarbrücken, 1974.
- 13 H. Halpaap und G. Rippahn, *Kontakte (Merck)*, (1976) 16.
- 14 R. E. Kaiser, *Einführung in die Hochleistungs-Dünnschicht-Chromatographie*, Institut für Chromatographie, Bad Dürkheim, 1976.
- 15 J. Rippahn und H. Halpaap, *J. Chromatogr.*, 112 (1975) 81.
- 16 J. Rippahn und H. Halpaap, in R. E. Kaiser, *Einführung in die Hochleistungs-Dünnschicht-Chromatographie*, Institut für Chromatographie, Bad Dürkheim, 1976.
- 17 A. Zlatkis und R. E. Kaiser, *J. Chromatography Library, Vol. 9, HPTLC—High Performance Thin-Layer Chromatography*, Elsevier, Amsterdam, Oxford, New York, 1977.
- 18 R. C. Tindle, C. W. Gehrke und W. A. Aue, *J. Ass. Offic. Anal. Chem.*, 51 (1968) 682.
- 19 R. Greenhalgh und W. P. Cochran, *J. Chromatogr.*, 70 (1972) 37.
- 20 B. L. Karger, M. Martin und G. Guiochon, *Anal. Chem.*, 46 (1974) 1640.
- 21 C. A. M. Meyers, J. A. R. J. Hulsman und J. F. K. Huber, *Z. Anal. Chem.*, 261 (1972) 347.
- 22 H. Jork, *Z. Anal. Chem.*, 221 (1966) 17.
- 23 R. W. Frei und C. D. Freeman, *Mikrochim. Acta*, 6 (1968) 1214.
- 24 H. Jork, *J. Chromatogr.*, 48 (1970) 372.
- 25 H. Jork und Lj. Kraus, *Methodicum Chemicum*, Bd. 1, Thieme-Verlag, Stuttgart, 1973.
- 26 H. Jork, *J. Chromatogr.*, 82 (1973) 85.
- 27 U. Hezel, *Angew. Chem.*, 85 (1973) 334; *Int. Ed.*, 12 (1973) 298.
- 28 E. Stahl und H. Jork, *Zeiss Informationen*, 16 (1968) 52.
- 29 W. Tausch, *Chimia*, 23 (1969) 17.
- 30 W. Tausch, *Messtechnik*, 2 (1972) 38.
- 31 H. Bethke, W. Santi und R. W. Frei, *J. Chromatogr. Sci.*, 12 (1974) 392.
- 32 U. Hezel, in R. E. Kaiser, *Einführung in die Hochleistungs-Dünnschicht-Chromatographie*, Institut für Chromatographie, Bad Dürkheim, 1976.
- 33 F. Geiss, *Die Parameter der Dünnschicht-Chromatographie, eine moderne Einführung in Grundlagen und Praxis*, Vieweg, Wiesbaden, 1972.
- 34 E. Stahl, *Dünnschicht-Chromatographie, ein Laboratoriumshandbuch*, Springer, Berlin, Heidelberg, New York, 2. Aufl., 1967.
- 35 J. F. K. Huber, *Vortrag anlässlich des I. Donausymposiums, Szeged, 1976*.
- 36 *Instruction Manual, Varian Aerograph 2800*, Varian Aerograph, Walnut Creek, Calif., 1970.
- 37 H. Jork, *Möglichkeiten der quantitativen Dünnschicht-Chromatographie—Photometrische Methoden*, GDCh-Fortbildungskurs, Saarbrücken, 1976.