

CHROM. 13,256

UNTERSUCHUNGEN MIT HILFE DER HOCHLEISTUNGS-FLÜSSIGCHROMATOGRAPHIE ZUM VERHALTEN VON METRIBUZIN BEI EINIGEN WASSERAUFBEREITUNGSMETHODEN

WOLFGANG MAASFELD, WERNER DÜLME und ANTONIUS KETTRUP*

Fachbereich Naturwissenschaften II, Angewandte Chemie, Universität-Gesamthochschule Paderborn, D-4790 Paderborn (B.R.D.)

SUMMARY

High-performance liquid chromatographic determination of the behaviour of metribuzin during some water treatment processes

An extraction procedure with subsequent high-performance liquid chromatography for the determination of herbicide metribuzin in water samples is described. For concentrations from 2.5 µg/l to 10 µg/l the recovery was 77.7%–85.5% with standard deviations of 4.5%–13.3%.

In further investigations concerning the behaviour of this herbicide during some water treatment processes no elimination of metribuzin was observed during slow sand filtration or chlorination whereas adsorption on activated carbon resulted in a quantitative removal. Metabolites which were formed during slow sand filtration and chlorination were identified by UV spectroscopy and mass spectrometry.

EINLEITUNG

In einigen Regionen Deutschlands wird in verstärktem Masse zur Trinkwassergewinnung das Verfahren der künstlichen Grundwasseranreicherung angewendet. Bei diesem Prozess wird Oberflächenwasser, z.B. Flusswasser, einem Langsandsandfilter zugeleitet. Das auf diese Weise aufbereitete Wasser versickert dann in den Untergrund, wo es schliesslich als Grundwasser zu Sammelbrunnen geleitet wird. Da einige Arbeiten^{1,2} gezeigt haben, dass durchaus mit der Präsenz von Herbiziden in einigen unserer Flüsse zu rechnen ist, ist eine grössere Kenntnis über ihr Verhalten und Verbleiben von grosser Wichtigkeit. Ziel dieser Arbeit war eine Studie über das Verhalten eines Herbizids während der Wasseraufbereitung.

Der herbizide Wirkstoff Metribuzin (4-Amino-3-methylthio-6-*tert.*-butyl-1,2,4-triazin-5-(4H)-on) ist die wirksame Komponente des Handelspräparats Sencor®. Dies findet Verwendung bei der Unkrautbekämpfung in Kartoffeln, Tomaten und Sojabohnen.

Alle bisherigen Bestimmungsmethoden für Metribuzin (vornehmlich in Pflanzen und Böden) beinhalten eine gaschromatographische Detektion³⁻⁸, und nur zwei dieser Arbeiten berichten über eine gleichzeitige Erfassung von Metribuzin und seinen

Metaboliten^{7,8}. Eine Methode zur Bestimmung dieses Herbizids im Wasser ist unseres Wissens nach nur von Jarczyk⁸ publiziert. Daher könnte eine einfache und empfindliche Bestimmung mittels Hochleistungs-Flüssigchromatographie (HPLC) eine Alternative oder gar Verbesserung darstellen. Um dies zu zeigen, wurden alle chromatographischen Messungen mit Hilfe der HPLC durchgeführt.

EXPERIMENTELLER TEIL

Geräte und Materialien

Als Flüssigchromatograph diente ein Gerät der Firma Hewlett-Packard (Böblingen, B.R.D.), Modell 1084 A mit einem eingebauten Festwellenlängendetektor (254 nm). Alle Chromatogramme wurden bei einer Temperatur von 40°C Säulentemperatur durchgeführt. Die verwendete Stahlsäule hatte eine Länge von 150 mm, einen Innendurchmesser von 4.6 mm und wurde jeweils mit Swagelok® Reduzierstücken, die eine 2 µm Fritte enthielten, verschlossen. Die Säulenfüllung erfolgte mit LiChrosorb RP-18 5 µm (E. Merck, Darmstadt, B.R.D.) nach der Methode von Cassidy *et al.*⁹. Als Eluens wurde ein Wasser-Methanol-Gemisch (60:40) verwendet. Der Fluss betrug 1 ml/min, das Injektionsvolumen 10 µl. Alle Lösungsmittel waren zur Rückstandsanalyse geeignet. Metribuzin (99.8% Reinheit) sowie drei Metaboliten (95% Reinheit) wurden von der Firma Bayer (Leverkusen, B.R.D.) zur Verfügung gestellt. Die Aktivkohle, pulverisiert, Reinheitsgrad "zur Analyse", wurde von der Firma E. Merck bezogen.

Methodenentwicklung

Zur Bestimmung des Wirkstoffs in Wasser wurde eine Extraktion mit Dichlormethan gewählt. Dazu wurde die Wasserprobe (1 l) dreimal mit dem Lösungsmittel ausgeschüttelt (100 ml, 50 ml, 50 ml). Die organische Phase wurde jeweils über eine Glasfritte mit Natriumsulfat in einen 250-ml Birnenkolben abgelassen und abschliessend (nach der dritten Extraktion) mit Hilfe eines Rotationsverdampfers bis zur Trockene eingengt (Wasserbadtemperatur, 50°C).

Der Rückstand wurde dreimal mit jeweils 10 ml Methanol in einen 50-ml Kolben überführt und anschliessend wiederum bis zur Trockene eingengt. Abschliessend erfolgte die Aufnahme in 2 ml Methanol.

Zur Überprüfung, ob diese drei Ausschüttelungen den Wirkstoff quantitativ aus der Probe extrahieren, wurden alle Extraktionsschnitte einzeln dem oben beschriebenen Verfahren unterworfen und zusätzlich noch eine vierte Extraktion mit 50 ml Dichlormethan durchgeführt. Ferner wurde nach der Überführung des Wirkstoffs aus dem 250-ml Kolben in den 50-ml Kolben der 250-ml Kolben am Rotationsverdampfer nochmals zur Trockene gebracht, ein eventuell verbliebener Rückstand in 2 ml Methanol aufgenommen und chromatographisch untersucht. Die Ergebnisse sind in Tabelle I wiedergegeben. Die Wiederfindungen aller Extraktionsschritte sind dabei zu 100% aufsummiert.

In Tabelle II sind die Wiederfindungen als auch die Reproduzierbarkeit des Verfahrens bei verschiedenen Konzentrationen dargestellt. Da es unserer Ansicht nach durchaus sinnvoll ist, die jeweiligen Standardabweichungen der einzelnen Schritte des Verfahrens (Extraktion, Chromatographie) als auch die Gesamtstandardabweichung zu kennen, wurden diese in folgender Weise berechnet¹⁰.

TABELLE I

ÜBERPRÜFUNG DER EINZELNEN EXTRAKTIONSSCHRITTE (2 PARALLELPROBEN)

Anmerkung: Die in dieser Tabelle zu 100% aufsummierte Gesamtextraktion entspricht jeweils in der Wiederfindung dem Wert "Mittel" in Tabelle II.

Konz. ($\mu\text{g/l}$)	Extraktionsanteile der Gesamtextraktion (%)				
	1.	2.	3.	4.	1.*
2.5	90.5	7.4	2.1	—	—
	93.8	5.6	0.6	—	—
5	97.5	2.3	0.2	—	—
	97.3	2.2	0.5	—	—
10	95.5	4.5	—	—	—
	98.6	1.4	—	—	—

* Rückstand in 250-ml Kolben nach Überführung.

TABELLE II

WIEDERFINDUNG VON METRIBUZIN (FÜNF PARALLELPROBEN)

Konz. ($\mu\text{g/l}$)	Wasser	Bereich (%)	Mittel (%)	S_1 (%)	S_2 (%)	S (%)
2.5	Dest.	75.2–80.4	77.7	2.8	4.7	5.5
	Ruhr	66.1–88.5	79.6	12.2	5.2	13.3
5	Dest.	79.5–89.8	84.0	6.6	5.1	8.4
	Ruhr	73.2–95.6	85.5	10.8	4.3	11.6
10	Dest.	76.7–85.9	82.8	5.0	1.6	5.2
	Ruhr	77.0–81.1	79.9	2.4	3.8	4.5

Die Standardabweichung S_1 errechnet sich nach

$$S_1 = \sqrt{\frac{\sum_{a=1}^N (x_a - \bar{x})^2}{N - 1}}$$

wobei N der Anzahl Parallelproben entspricht, x_a den Mittelwert der Analysenwerte einer Probe und \bar{x} den Mittelwert aller x_a -Werte darstellen. S_1 ist also die Standardabweichung des Extraktionsverfahrens.

Die Standardabweichung des chromatographischen Verfahrens S_2 wird berechnet nach

$$S_2 = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N \delta^2}{n - N}}$$

wo δ die Differenz zwischen dem Analysenwert einer Injektion der Probe und dem Mittelwert aller Analysenwerte dieser Probe, n die Gesamtzahl der Injektionen und N die Anzahl der Parallelproben sind.

Die Gesamtstandardabweichung S wird dann bestimmt als¹¹

$$S = \sqrt{S_1^2 + S_2^2}$$

Anwendungsbeispiel der entwickelten Methode

Um das Verhalten von Metribuzin während der künstlichen Grundwasseranreicherung mittels Langsamsandfiltration zu untersuchen, benutzten wir eine halbertechnische Versuchsanlage, die folgendermassen aufgebaut war: sie bestand aus einer 50 cm starken Sandschicht, gefolgt von einer 2 m starken Kiesschicht, die wiederum durch eine 80 cm Schicht grober Kiesel gestützt wurde. Die Oberfläche des Beckens betrug 1 m² und es wurde kontinuierlich mit Ruhrwasser gespeist. Die Infiltrationsgeschwindigkeit betrug 10 cm/h. Die Dosierung der wässrigen Metribuzinlösung erfolgte direkt in den Filtereinlauf, so dass dort eine Konzentration von $\approx 5 \mu\text{g/l}$ Metribuzin vorhanden war. Die Probenahme erfolgte einmal täglich im Überstau, in 10 cm und 20 cm Sandtiefe mit Hilfe eingebauter Fritten, sowie am Ablauf des Beckens. Die Dosierphase dauerte sieben Tage.

Die Durchführung einer Chlorung erfolgte durch Zugabe von hypochloriger Lösung zu 1 l dest. Wasser, das 5 μg bzw. 5 mg Metribuzin enthielt. Der Gehalt an wirksamen Chlor betrug 0.3 mg/l bzw. 30 mg/l (entsprechend 0.2 mg/l bzw. 20 mg/l freiem wirksamen Chlor). Die Lösungen wurden mit Salzsäure (1 M) neutralisiert und nach einer Reaktionsdauer von 3 h extrahiert.

Die Adsorptionsversuche erfolgten durch Zugabe von jeweils bekannten Mengen Aktivkohle zu definierten Herbizidkonzentrationen. Nach einer Schütteldauer von einer Stunde wurden die Proben zentrifugiert und die Herbizidkonzentration im Überstand photometrisch bestimmt.

ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Die Ergebnisse der Langsamsandfiltration zeigt Fig. 1. Eine Eliminierung findet nicht statt. Bereits am Tag 1 (die Dosierung begann nach der Probenahme des Tages 0) konnte Metribuzin im Ablauf des Filters nachgewiesen werden. Nach Beendigung der Dosierphase am Tag 7 wurde kein Metribuzin mehr nachgewiesen. Fig. 2 zeigt ein Chromatogramm einer Probe des Tages 2 (20 cm Sandtiefe). Nach Metribuzin wird noch eine weitere Substanz eluiert. Sowohl das UV-Spektrum als auch die Retentionszeit liessen darauf schliessen, dass es sich bei dieser Substanz um Desaminometribuzin handelte. So haben Rosen und Siewierski¹² und Pape und Zabik¹³ gezeigt, dass in wässrigen Lösungen die Einwirkung von UV Licht zu einer Desaminierung von Metribuzin führt. Da es an einigen Tagen während der Dosierphase ebenfalls sehr sonnig war, könnte die Sonneneinstrahlung die Bildung dieses Metaboliten bewirkt haben.

In Fig. 3 sind zwei Chromatogramme der Chlorung wiedergegeben. Während im Chromatogramm a keine statistisch signifikante Abnahme an Metribuzin festgestellt werden konnte, ist im Chromatogramm b Metribuzin nicht mehr vorhanden. Vielmehr wird zu einer geringeren Retentionszeit ein grosser Peak eluiert. Eine massenspektrometrische Untersuchung ergab Signale mittlerer und hoher relativer Intensität von Ionen mit m/z 169 (M^+), 127, 111, 83 und 57. Ein Vergleich mit dem Massenspektrum des Desaminodiketometribuzins, das die gleiche Retentionszeit aufweist wie die neue Substanz, zeigte die gleichen Bruchstücke mit entsprechenden Intensitäten. Das UV-Spektrum bestätigte schliesslich ebenfalls die Bildung von Desaminodiketometribuzin.

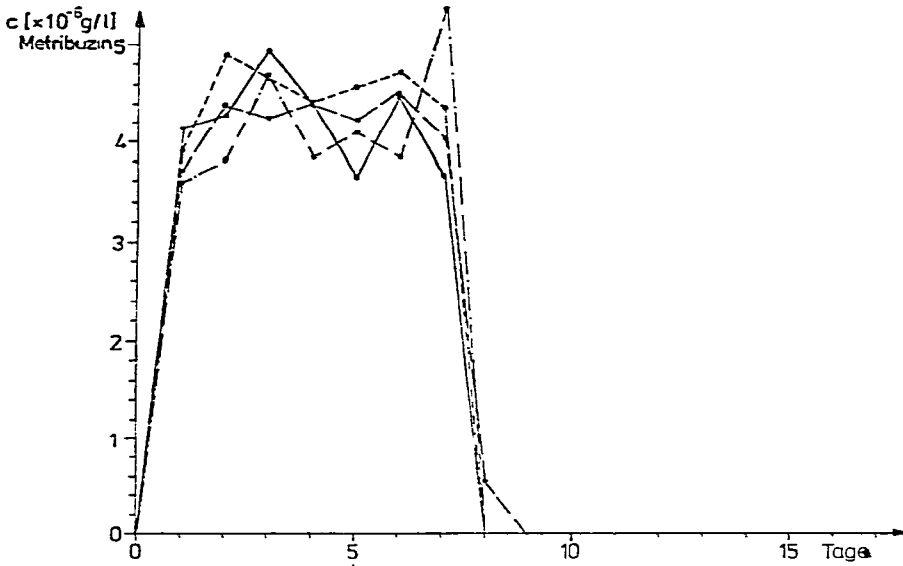


Fig. 1. Verhalten von Metribuzin während der Langsandsandfiltration. — · — · —, Überstau; —, 10 cm; ---, 20 cm; - - - -, Ablauf.

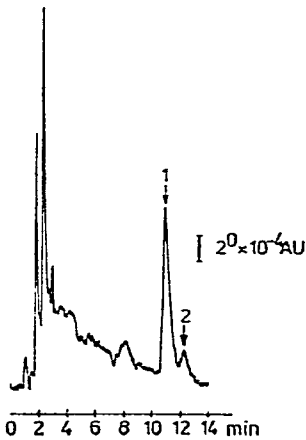


Fig. 2. Chromatogramm von Metribuzin während der Langsandsandfiltration. Chromatographische Bedingungen siehe Text, 1 = Metribuzin, 2 = Desaminometribuzin.

Als Ergebnis der Chlorung bleibt aber dennoch festzuhalten, dass unter realistischen Bedingungen eine Eliminierung des Herbizids nicht stattfindet. Lediglich mit Hilfe der Adsorption an Aktivkohle gelang bei geringen Herbizidkonzentrationen eine quantitative Eliminierung.

Mit dieser Studie wird gezeigt, dass die HPLC als geeignete und empfindliche Methode auch im Bereich der Wasseranalytik gut anwendbar ist.

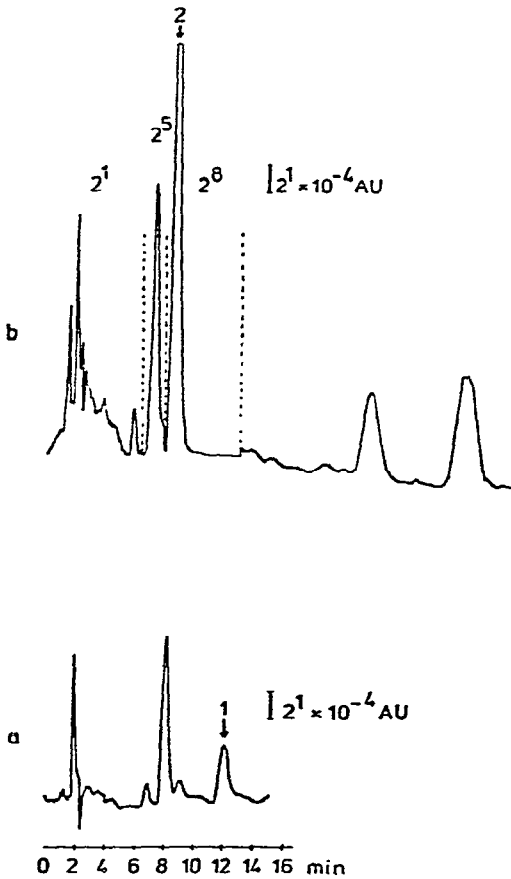


Fig. 3. Chromatogramm von Metribuzin nach der Chlorung. Die gestrichelten Linien zeigen einen Wechsel der Detektorabschwächung an. Chromatographische Bedingungen: siehe Text, 1 = Metribuzin, 2 = Desaminodiketometribuzin. (a) = 5 $\mu\text{g/l}$ Metribuzin, 0.3 mg/l wirksames Chlor; (b) = 5 mg/l Metribuzin, 30 mg/l wirksames Chlor.

DANK

Die Autoren danken der Dortmunder Stadtwerke AG (Institut für Wasserforschung, Wiss. Direktor Dr. K. H. Schmidt) für die Überlassung der Grundwasser-versuchsanlagen sowie für die Unterstützung unserer Arbeiten, Herrn J. Nolte (Institut für Spektrochemie und angewandte Spektroskopie, Dortmund) für die massenspektrometrischen Untersuchungen sowie hilfreiche Diskussionen.

Dem Land Nordrhein-Westfalen sowie dem Fonds der Chemischen Industrie sei für die finanzielle Unterstützung unserer Arbeiten gedankt.

ZUSAMMENFASSUNG

Es wird eine Extraktionsmethode für die flüssigchromatographische Bestimmung des Herbizids Metribuzin aus Wasser beschrieben. Die Wiederfindung lag für

Konzentrationen von 2.5 µg/l bis 10 µg/l zwischen 77.7% und 85.5%. Die Standardabweichungen betragen 4.5%–13.3%.

Weiterhin wurde das Verhalten von Metribuzin bei der Wasseraufbereitung untersucht. Weder bei der Langsandsandfiltration noch bei einer Chlorung konnte eine Eliminierung festgestellt werden; dagegen erfolgte eine Adsorption an Aktivkohle. Metaboliten, die während der Langsandsandfiltration bzw. Chlorung gebildet wurden, konnten mit Hilfe der UV-Spektroskopie sowie der Massenspektrometrie identifiziert werden.

LITERATUR

- 1 H. R. Schulten und I. Stöber, *Z. Anal. Chem.*, 293 (1978) 370.
- 2 H. Kussmaul, M. Hegazi und K. Pfeilsticker, *Vom Wasser*, 44 (1975) 31.
- 3 F. G. von Stryk, *J. Chromatogr.*, 56 (1971) 345.
- 4 J. S. Thornton und C. W. Stanley, *J. Agr. Food Chem.*, 25 (1977) 380.
- 5 K. W. Savage, *Weed Science*, 25 (1977) 55.
- 6 C. A. Anderson, *Anal. Methods Pestic. Plant Growth Regul.*, 8 (1976) 453.
- 7 G. R. B. Webster und G. J. Reimer, *Pestic. Sci.*, 7 (1976) 292.
- 8 H. J. Jarczyk, *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer*, 31 (1978) 83.
- 9 R. M. Cassidy, D. S. Le Gay und R. F. Frei, *Anal. Chem.*, 46 (1974) 340.
- 10 O. G. Koch und G. A. Koch-Dedic, *Handbuch der Spurenanalyse*, Springer, Heidelberg, 1974, p. 15.
- 11 W. Horwitz, in H. Geissbühler (Herausgeber), *Advances in Pesticide Science*, Zürich, July 24–28, 1978, Pergamon, Oxford, 1979, p. 649.
- 12 J. D. Rosen und M. Siewierski, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 6 (1971) 406.
- 13 B. E. Pape und M. J. Zabik, *J. Agr. Food Chem.*, 20 (1972) 72.