

CHROM. 16,901

Note

Bestimmung von Rubigan in pflanzlichen Produkten unter Anwendung der Gas-Flüssigkeitschromatographie

A. NEJITSHEVA*, P. WASSILEVA-ALEXANDROVA und G. MARUDOV

Hochschule für Lebensmittelindustrie, Lehrstuhl für analytische Chemie, Plovdiv (Bulgarien)

(Eingegangen am 29. März 1984)

Rubigan (auch bekannt als Phenarimol) ist ein neues Systemfungizid zur Bekämpfung von Apfelschorf und Mehltau an Obst und Gemüse. Dieses organische Chlorpestizid der aktiven Base α -(2-Chlorphenyl)- α -(4-Chlorphenyl)-5-Pyridinmethanol besitzt eine schützende und heilende Wirkung hinsichtlich der genannten Krankheiten.

Es sind wenig Angaben über die Bestimmung von Rubiganrückständen in pflanzlichen Produkten vorhanden. Ausgenommen der Firmainformationen sind wir in der uns zugänglichen Literatur nur einer Arbeit begegnet, die sich mit der dünn-schichtchromatographischen Bestimmung dieses Fungizids in Pflanzenprodukten befaßt¹.

Wie die chemische Struktur des Pestizids zeigt, sind in seinem Molekül zwei Chloratome enthalten, was die Entwicklung einer gaschromatographischen Methode zu seiner Bestimmung mit Elektroneneinfangdetektor erlaubt. Unsere Erfahrung bei der Analyse von Pestiziden mit ähnlichen Korrelationen²⁻⁴ half uns, geeignete Bedingungen zur Extraktion, Reinigung und gaschromatographischen Bestimmung des Rubigans in Pflanzenprodukten auszuwählen. Dieses Ziel setzten wir uns in der vorliegenden Untersuchung.

EXPERIMENTELLER TEIL

Substanzen und Reagenzien

Standardlösungen von Rubigan (mit einer Reinheit von 98%) in Aceton in Konzentrationen 10, 50 und 100 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$. Alle eingesetzten Reagenzien (Chloroform, Dichlormethan, Aceton, Aethanol, Methanol, Acetonitril und Benzol) sind p.a. Qualität.

Bei der Säulenchromatographie verwendeten wir folgende Adsorbentia: Phlorizil, Zylit (Fluka, Buchs, die Schweiz), Al_2O_3 —neutral (Reanal, Budapest, Ungarn), Cellulose Ectweola (Merck, Darmstadt, B.R.D.) und Aktivkohle (Fluka).

Geräte

Ein Gaschromatograph GCV (Pye Unicam, Cambridge, Großbritannien) mit Elektroneneinfangdetektor wurde verwendet.

Arbeitsweise

Kein Rubigan enthaltende Pflanzenprodukte (Äpfel) werden mit einem Mixer homogenisiert. Dem erhaltenen Brei werden Proben zu 100 g entnommen, denen entsprechend 10, 50 und 100 μg Rubigan zugesetzt werden. Die Extraktion des Pestizids erfolgt durch zweimalige Behandlung der Probe mit je 50 cm^3 Acetonitril auf Schüttelapparat innerhalb von 30 min. Die vereinigten Acetonitrilextrakte werden durch eine Silikagelschicht abfiltriert und das Filtrat wird einer 10%igen 100 cm^3 NaCl-Lösung zugesetzt. Das Pestizid wird aus der erhaltenen Lösung zweimal mit je 80 cm^3 Chloroform extrahiert. Das vereinigte Chloroformextrakt wird bei 40°C bis auf 4–5 cm^3 zur Trockne gedampft und auf eine 1-cm Säule und 5 g Adsorbens (Natriumsulfat-Phlorizil-Zylit-Aktivkohle = 1:1:0.8:0.1) übertragen. Das Rubigan wird mit Chloroform bei einer Geschwindigkeit von 3 cm^3/min eluiert. Das bis zu 70 cm^3 gesammelte Eluat wird in einer Acetonmenge derart gelöst, daß Lösungen mit einer Konzentration von ca. 10 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ erhalten werden.

Aliquote dieser Lösungen werden gaschromatographisch nach Rubigangehalt unter folgenden Bedingungen untersucht: eine 1.5 m \times 4 mm Glassäule; stationäre Phase 3% OV-17, auf Chromosorb-Füller VV (100–120 Maschen); Säulentemperatur 250°C, Injektortemperatur 280°C und Detektortemperatur 350°C. Geschwindigkeit des Trägergases Stickstoff 120 cm^3/min .

ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Bei der Ausarbeitung der gaschromatographischen Methode zur Bestimmung von Rubigan in Pflanzenprodukten setzten wir uns zum Ziel, die Haupttappen der Analyse zu untersuchen, nämlich Extraktion des Pestizids, Reinigung der Pflanzenextrakte und optimale gaschromatographische Bedingungen zu seiner quantitativen Bestimmung.

Die schwache Wasserlöslichkeit und gute Löslichkeit des Fungizids in organischen Lösungsmitteln ermöglichte dessen Extraktion aus Pflanzenprodukten mit hohem Wasser- und Wachsgehalt mittels Benzol, Chloroform, Dichlormethan, Methanol, Aethanol und Acetonitril. Wir verwendeten ebenfalls das von Pavoni¹ eingesetzte gemischte Extraktionsmittel Aceton-(Benzol-Methanol = 9:1) = 2:1. Von den geprüften Lösungsmitteln erwies sich das Acetonitril wegen der leichten und vollständigen Extraktion und der guten ökonomischen Indizes als am besten geeignet.

Die Reinigung der Pflanzenextrakte von den störenden Begleitstoffen —Wachsen, Pigmenten u.a.— erfolgte durch verteilende Acetonitril-Chloroformreinigung und anschließende Säulenchromatographie.

Zur Ermittlung der Bedingungen für Säulenreinigung wurden 0.5, 1 und 2-cm Säulen und als Adsorbentia Phlorizil, Zylit, Cellulose, neutrales Al_2O_3 und Aktivkohle, einzeln und in Gemisch mit zwei oder mehr der aufgezählten Trägern verwendet. Es wurden die folgenden optimalen Bedingungen für Säulenreinigung der Pflanzenextrakte ermittelt: 5 g Adsorbent (Natriumsulfat-Phlorizil-Zylit-Aktivkohle = 1:1:0.8:0.1) an einer 1-cm Glassäule. Die Eluierung des Rubigans (bis zu 100 μg) wurde mit 70 cm^3 Chloroform bei einer analytischen Ausbeute von 98% durchgeführt. Gute Resultate, allerdings mit einem etwas niedrigeren Grad der Entfernung der störenden Stoffe und einer Ausbeute von 92%, erzielten wir durch die Anwendung einer 1-cm Säule, 5 g Adsorbent (Natriumsulfat-Cellulose-Aktivkohle = 1:1:0.1) und Eluierung des Rubigans (bis zu 100 μg) mit 80 cm^3 Chloroform.

TABELLE I

CHARAKTERISCHE PARAMETER DER CHROMATOGRAPHISCHEN BESTIMMUNG DES RUBIGANS MIT ELEKTRONENEINFANGDETEKTOR BEI UNTERSCHIEDLICHEN FLÜSSIGEN PHASEN

| <i>Säulen mit flüssiger Phase</i> | <i>Empfindlichkeit (ng)</i> | <i>Linearität nach Höhe (ng)</i> | <i>Reproduzierbarkeit im Linearbereich (%)</i> | <i>Retentionszeit (min)</i> |
|-----------------------------------|-----------------------------|----------------------------------|--|-----------------------------|
| 3% OV-17 | 0.25 | 0.25-4.00 | 5 | 7.8 |
| 5% QF-1 + 2.5% DC-200 | 0.50 | 0.50-2.00 | 6 | 6.5 |

Die endgültige quantitative Bestimmung des Fungizids in den gereinigten Pflanzenextrakten erfolgte durch Elektroneneinfangdetektor, was durch das Vorhandensein von zwei Chloratomen in dem Molekül des Rubigans ermöglicht wurde.

Um eine geeignete stationäre Phase auszuwählen, erprobten wir vier flüssige Phasen mit unterschiedlicher Polarität: 3% OV-17; 5% QF-1; 3% SE-30 und ein Gemisch aus 5% QF-1 + 2.5% DC-200. Eine gute Trennung des Rubigans von den coextrahierten Stoffen bei hoher Empfindlichkeit der Bestimmung erzielten wir unter Anwendung der stationären Phasen 3% OV-17 und des Gemisches aus 5% QF-1 + 2.5 DC-200.

Die Parameter, die die gaschromatographische Bestimmung des Rubigans kennzeichnen, nämlich Trennzeit, Linearbereich, Empfindlichkeit und Reproduzierbarkeit der Bestimmungen, sind in Tabelle I angegeben.

Die Analyse der in Tabelle I und Fig. 1 angeführten Ergebnisse zeigt, daß der Vorzug der Säule mit stationärer Phase 3% OV-17 wegen der besseren Symmetrie der Zacken, des größeren Linearbereichs und der doppelt höheren Empfindlichkeit der Bestimmung zu geben ist.

Zur Bestimmung der Genauigkeit und Reproduzierbarkeit der Methode wurden die Standardzugaben von 0.1, 0.5 und 1.0 mg/kg verwendet. Diese Mengen entsprechen den Fungizidrückständen, die in den mit Fungizid behandelten Pflanzenprodukten nachgewiesen wurden. Die nach der statistischen Bearbeitung erhaltenen Ergebnisse sind in Tabelle II dargestellt. Daraus ist zu ersehen, daß die von uns empfohlene Analysemethode zur Bestimmung des Rubigans in Pflanzenproben durch zufriedenstellende Genauigkeit (relativer Standardfehler 2.8-7.0%) und Reproduzierbarkeit (relative Standardabweichung 5-6%) bei der Analyse von 0.1 bis 1.0

TABELLE II

RUBIGANGEHALT IN ÄPFELN, BESTIMMT MIT HILFE DER GAS-FLÜSSIGKEITSCROMATOGRAPHIE

| <i>Rubigan (mg/kg)</i> | | <i>Relativer Fehler (%)</i> | <i>Relative Standardabweichung (%)</i> |
|--|---|-----------------------------|--|
| <i>Zugesetzt (\bar{X} von n = 20)</i> | <i>Gefunden (\bar{X} von n = 20)</i> | | |
| 0.100 | 0.093 | 7.0 | 6 |
| 0.500 | 0.478 | 4.4 | 5 |
| 1.00 | 0.972 | 2.8 | 5 |

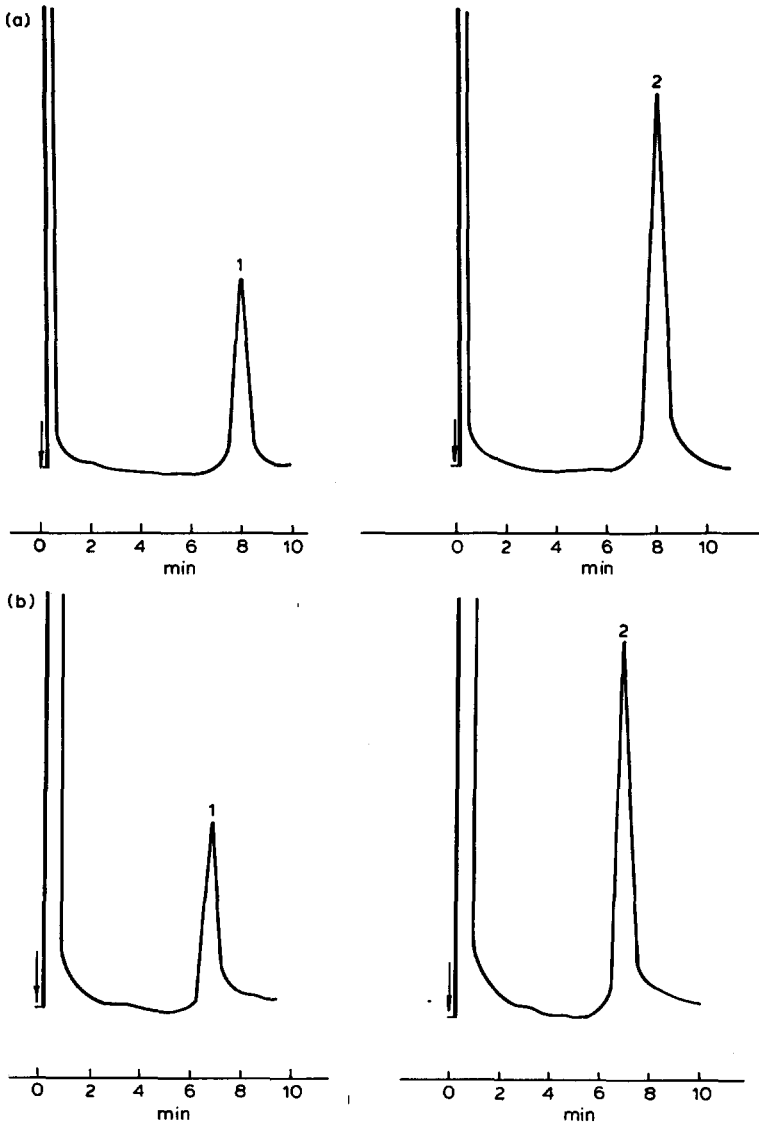


Fig. 1. Chromatogramme verschiedener Rubiganmengen (1-0.5 ng; 2-1.0 ng) in 5 μ l Aceton unter Anwendung unterschiedlicher flüssiger Phasen; (a) flüssige Phase 3% OV-17; (b) flüssige Phase 5% QF-1 + 2.5% DC-200.

mg/kg Rückständen gekennzeichnet ist. Die Empfindlichkeit der entwickelten gaschromatographischen Methode liegt bei 0.0025 mg/kg.

Aus den in Tabelle I und II angeführten Ergebnissen läßt sich schlußfolgern, daß die empfohlene gaschromatographische Methode zur Bestimmung von Rubigan in Pflanzenprodukten zufriedenstellende quantitative Parameter (Genauigkeit und Empfindlichkeit der Bestimmung) aufweist und erfolgreich bei Serienanalysen von Fungizidrückständen eingesetzt werden kann.

LITERATUR

- 1 G. Pavoni, *Boll. Chim. Unione Ital. Lab. Prov.*, 32 (1981) 31.
- 2 P. Wassileva-Alexandrova, A. Nejitscheva, E. Kovatscheva und G. Marudov, *J. Chromatogr.*, 241 (1982) 404.
- 3 A. Nejitscheva und P. Wassileva-Alexandrova, *Wiss. Werke Hochsch. Lebensmittelind.*, 30 (1983) 157.
- 4 A. Nejitscheva, P. Wassileva-Alexandrova und E. Kovatscheva, *Microchim. Acta*, in Druck (1984).