

Bei der nachfolgend abgedruckten Methode handelt es sich um einen urheberrechtlich geschützten Auszug aus der Publikation des Verlages Wiley VCH

Deutsche Forschungsgemeinschaft

Rückstandsanalytik von Pflanzenschutzmitteln

Mitteilung VI der Senatskommission für Pflanzenschutz-,
Pflanzenbehandlungs- und Vorratsschutzmittel

Methodensammlung der Arbeitsgruppe Analytik

11. Lieferung 1991

ISSN 0930-4657

VCH

Mangold, Rote Rüben (Blätter u. Körper),
Zuckerrüben (Blätter u. Körper)
Erde, Wasser

Gaschromatographische
bzw. hochdruck-flüssig-
chromatographische
Bestimmung

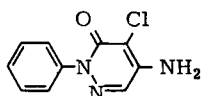
1. Einführung

1.1. Chloridazon (Pyrazon)

Chemische Bezeichnung

5-Amino-4-chlor-2-phenylpyridazin-3-on

Strukturformel



Summenformel

$C_{10}H_8ClN_3O$

Molare Masse

221,65

Schmelzpunkt

205–206 °C

Siedepunkt

keine Angaben

Dampfdruck

10^{-7} mbar bei 20 °C

Löslichkeit

in Wasser sehr schwer löslich (0,04 g/100 ml bei 20 °C);

wenig löslich in Aceton (2,8 g) und Methanol (3,4 g),
schwer löslich in Dichlormethan (0,33 g) und Essig-
säureäthylester (0,6 g),

sehr schwer löslich in Benzol (0,07 g),

jeweils in 100 ml bei 20 °C

Sonstige Eigenschaften

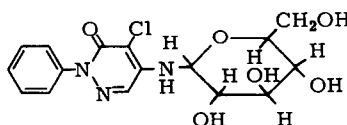
im Sonnenlicht rasche Photolyse

1.2. Metabolit A

Chemische Bezeichnung

5-(N-Glucosyl)-amino-4-chlor-2-phenylpyridazin-3-on

Strukturformel



Summenformel

$C_{16}H_{18}ClN_3O_6$

Molare Masse

383,79

Schmelzpunkt

ca. 220 °C unter Zersetzung

Siedepunkt

keine Angaben

Dampfdruck

keine Angaben

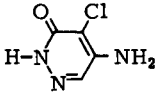
Löslichkeit

in Wasser leicht löslich

Sonstige Eigenschaften

keine Angaben

1.3. Metabolit B

Chemische Bezeichnung	5-Amino-4-chlor-pyridazin-3-on
Strukturformel	
Summenformel	$C_4H_4ClN_3O$
Molare Masse	145,55
Schmelzpunkt	ca. 315 °C unter Sublimation
Siedepunkt	keine Angaben
Dampfdruck	keine Angaben
Löslichkeit	in Wasser sehr schwer löslich (0,049 g/100 ml bei 20 °C)
Sonstige Eigenschaften	gut löslich in verdünntem Alkali

2. Beschreibung der Methode

Rückstände von Chloridazon sowie der Metaboliten A und B werden aus Pflanzenmaterial und Erde mit Methanol extrahiert. Die Methanolextrakte werden geteilt. Die eine Hälfte oder eine Wasserprobe dient der gemeinsamen Bestimmung von Chloridazon und Metabolit A (als Chloridazon), die andere Hälfte der von Metabolit B. Die für die Chloridazon-Bestimmung vorgesehene Hälfte des Extraktes von Pflanzenmaterial wird zunächst durch Fällung von Pflanzenpigmenten bzw. Zuckern vorgereinigt; danach wird der Metabolit A durch saure Hydrolyse zu Chloridazon gespalten. Der so vorbereitete Extrakt, die Hälfte des Erdextraktes sowie eine Wasserprobe werden in saurem Milieu eingengt und danach durch Dichlormethan-Wasser-Verteilung auf einer Extrelut-Säule und Säulenchromatographie an Aluminiumoxid gereinigt. Die Bestimmung von Chloridazon erfolgt gaschromatographisch an einer Quarzkapillare mit einem Elektroneneinfangdetektor.

In der zweiten Hälfte der Extrakte sowie in einer zweiten Wasserprobe ermittelt man den Metabolit B. Hier wird durch Verteilung auf einer Extrelut-Säule, Gelchromatographie an Sephadex LH-20 und Säulenchromatographie an Kieselgel gereinigt und Metabolit B hochdruck-flüssigchromatographisch mit einem UV-Detektor bei 286 nm bestimmt.

3. Geräte

Zerkleinerungsgerät, z. B. Ultra-Turrax T 45 N (Fa. Janke u. Kunkel, Staufen i. Br.)
 Eisbad
 Büchnertrichter Ø 9 cm
 Papierfilter Ø 9 cm, Schwarzband (Fa. Schleicher u. Schüll, Dassel)
 Saugflasche 1 l

Meßkolben 500 ml
Erlenmeyerkolben 500 ml, mit Schliff
Rückflußkugelhühler
Magnetrührer heizbar, z. B. Ika-Combimag RTC, mit Teflon-Rührstäbchen (Fa. Janke u. Kunkel, Staufen i. Br.)
Vakuum-Rotationsverdampfer, Badtemperatur 40–60°C
Glastrichter Ø 12 cm
Faltenfilter Ø 24 cm
Rundkolben 1 l, 500 ml und 250 ml
Erlenmeyerkolben 1 l
Chromatographierrohr i. Ø 18 mm, Länge 30 cm
Spitzkolben 10 ml
Ultraschallbad, z. B. Bransonik 32 (Fa. Branson, Heusenstamm)
Glasspritze 10 ml, z. B. Fa. Fortuna W. G., Co. (erhältlich bei Fa. Waters, Königstein/Taunus)
Membranfilterhalter i. Ø 25 mm mit Membranfiltern Ø 25 mm, z. B. Typ SM 13400 (Fa. Sartorius, Göttingen)
Gelchromatograph, z. B. automatisches Gerät GPC Autoprep 1002A (Fa. Analytical Bio-Chemistry Laboratories, Columbia, Mo., U.S.A.; Vertrieb Fa. N. Foss Electric GmbH, Hamburg). Ausstattung: Probenschleifen 5 ml; Chromatographierrohr i. Ø 25 mm, Länge 45 cm; Säulenfüllung 75 g Sephadex LH-20, vorgequollen in Methanol
Gaschromatograph zum Betrieb mit Kapillarsäulen und mit Elektroneneinfangdetektor
Mikroinjektionsspritze 10 µl
Anlage zur Hochdruck-Flüssigchromatographie mit Autosampler, Pumpe und UV-Detektor mit variabler Wellenlänge

4. Reagenzien

Aceton dest.

Äthanol dest.

Chloroform dest.

Dichlormethan dest.

Isooctan dest.

Methanol dest.

Propanol-(2) dest. (Isopropanol)

Auflösemischung: Dichlormethan-Methanol-Triäthylamin-Gemisch,
91 + 8 + 1 Volumenanteile

Elutionsmittel 1: Chloroform-Äthanol-Gemisch, 98 + 2 Volumenanteile

Elutionsmittel 2: Dichlormethan-Isopropanol-Gemisch, 85 + 15 Volumenanteile

Elutionsmittel 3: Chloroform-Äthanol-Gemisch, 95 + 5 Volumenanteile

Elutionsmittel 4: Chloroform-Methanol-Gemisch, 8 + 2 Volumenanteile

Injektionsgemisch: Isooctan-Isopropanol-Gemisch, 9 + 1 Volumenanteile

Mobile Phase: Dichlormethan-Methanol-Triäthylamin-Gemisch,
940 + 60 + 1 Volumenanteile
Wirkstoff-Standardlösungen: 0,5; 1 und 2 µg/ml Chloridazon in Injektionsgemisch
Metabolit-B-Standardlösungen: 0,5; 1 und 2 µg/ml Metabolit B in Auflösemischung
Salzsäure p. a., 1 mol/l HCl
Natronlauge, 10 mol/l NaOH p. a.
Koagulationslösung: 20 g Ammoniumchlorid p. a. in 1 l Salzsäure (1 mol/l)
Natriumchloridlösung gesättigt
Triäthylamin zur Synthese (Merck-Schuchardt Nr. 808353)
Natriumchlorid p. a., z. B. Merck Nr. 6404
Aluminiumoxid 90 standardisiert nach Brockmann, Aktivitätsstufe II–III, Korngröße
0,063–0,200 mm (Merck Nr. 1097)
Extrelut-Fertigsäulen (Merck Nr. 11737)
Extrelut-Nachfüllpackung (Merck Nr. 11738)
Kieselgel 60 für Säulenchromatographie, Korngröße 0,1–0,2 mm (Macherey-Nagel
Nr. 81534)
Seesand p. a., mit Salzsäure gewaschen und geglüht
Watte
Helium nachgereinigt
Stickstoff nachgereinigt

5. Probenahme

Die Analysenprobe wird nach den Hinweisen der Abschnitte VIII und IX gezogen und vorbereitet. Für Wasseruntersuchungen sind die Hinweise zur Probenahme des Abschnittes X zu beachten.

6. Durchführung der Analyse

6.1. Extraktion

6.1.1. Pflanzenmaterial

50 g der Analysenprobe (G) werden mit 300 ml Methanol mit dem Ultra-Turrax 10 min unter Eiskühlung homogenisiert. Das Homogenat wird durch den Büchner-Trichter mit Schwarzbandfilter abgesaugt. Der Filterkuchen wird zweimal mit je 50 ml Methanol nachgewaschen. Die vereinigten Extrakte werden in den Meßkolben überführt, mit Methanol auf 500 ml (V_{Ex}) aufgefüllt und gut umgeschüttelt.

6.1.2. Erde

50 g der Analysenprobe (G) werden mit 250 ml Methanol in einem 500-ml-Erlenmeyerkolben 60 min auf dem Magnetrührer unter Rühren und unter Rückflußkühlung gekocht. Nach dem Abkühlen wird das Kühlerrohr mit 20 ml Methanol gespült. Das Gemisch wird durch den Büchner-Trichter mit Schwarzbandfilter abgesaugt. Der Filterkuchen wird zweimal mit je 50 ml Methanol nachgewaschen. Die vereinigten Extrakte werden in den Meßkolben überführt, mit Methanol auf 500 ml (V_{Ex}) aufgefüllt und gut umgeschüttelt.

6.1.3. Wasser

Mit je 500 g der Wasserprobe (G) wird direkt nach 6.2.1.4 bzw. 6.3.1.3 verfahren.

6.2. Reinigung für Chloridazon und Metabolit A

6.2.1. Vorbereitung

6.2.1.1. Mangold und Rübenblätter

250 ml des Methanolextraktes aus 6.1.1 (V_{R1}) werden mit 100 ml Koagulationslösung versetzt und im Rotationsverdampfer in einem 1-l-Rundkolben bei 50°C Badtemperatur auf etwa 100 ml eingengt. Dann wird durch ein Faltenfilter in einen tarierten 500-ml-Rundkolben filtriert. Das Filter wird mit etwa 10 ml Wasser nachgewaschen; der Filtrerrückstand wird verworfen. Das wäßrige Filtrat wird 15 min auf dem Magnetrührer unter Rückflußkühlung gekocht, wobei Metabolit A quantitativ zu Chloridazon gespalten wird. Man läßt abkühlen, spült das Kühlerrohr mit etwa 10 ml Wasser nach und engt im Rotationsverdampfer bei 60°C Badtemperatur auf genau 27 g wäßrigen Rückstand ein (entsprechend 25 ml, V_{R2}).

6.2.1.2. Rote Rüben und Zuckerrüben (Körper)

250 ml des Methanolextraktes aus 6.1.1 (V_{R1}) werden im Rotationsverdampfer in einem 1-l-Rundkolben bei 50°C Badtemperatur auf etwa 10 ml eingengt. Man gibt 20 ml Natriumchloridlösung zu und schwenkt zum Lösen des Rückstandes gut um. Danach gibt man 400 ml Aceton zu und schüttelt 1 min lang kräftig. Nach kurzem Absetzen wird die Acetonlösung abdekantiert. Der halbkristalline wäßrige Rückstand wird nochmals mit 150 ml Aceton extrahiert. Beide Acetonlösungen werden in einem 1-l-Erlenmeyerkolben vereinigt und zur vollständigen Fällung von Zucker und Natriumchlorid mindestens 60 min stehen gelassen. Anschließend wird durch ein Faltenfilter in einen tarierten 1-l-Rundkolben filtriert. Das Filter wird mit etwa 20 ml Aceton nachgewaschen.

Das Filtrat wird im Rotationsverdampfer bei 40°C Badtemperatur auf 5–10 ml eingengt. Man gibt 50 ml Salzsäure zu und kocht 15 min auf dem Magnetrührer unter Rückflußkühlung, wobei Metabolit A quantitativ zu Chloridazon gespalten wird. Man läßt abkühlen, spült das Kühlerrohr mit etwa 10 ml Wasser nach und engt im Rota-

tionsverdampfer bei 60°C Badtemperatur auf genau 25 g wäßrigen Rückstand ein (entsprechend 25 ml, V_{R2}).

6.2.1.3. Erde

250 ml des Methanolextraktes aus 6.1.2 (V_{R1}) werden mit 25 ml Salzsäure versetzt und in einem tarierten 500-ml-Rundkolben im Rotationsverdampfer bei 50°C Badtemperatur auf genau 25 g (entsprechend 25 ml, V_{R2}) eingengt.

6.2.1.4. Wasser

500 g der Analysenprobe (G) werden in einem tarierten 1-l-Rundkolben mit 25 ml Salzsäure versetzt und im Rotationsverdampfer bei 60°C Badtemperatur auf genau 25 g (entsprechend 25 ml, V_{R2}) eingengt.

6.2.2. Reinigung an einer Extrelut-Säule

Eine leere Extrelut-Säule wird am unteren Ende mit einem Rundfilter \varnothing 10 mm und der Filterhalterung verschlossen. 3 g Extrelut werden in die Säule gefüllt und mit 3 g Seesand etwa 2 mm hoch überschichtet. Man gibt 4 ml Natronlauge auf die Seesandschicht und läßt einsickern. Danach wird die Säule mit einer Extrelut-Nachfüllpackung (etwa 12 g) aufgefüllt. Die Füllung wird nun mittels des Korbeinsatzes und eines Rundfilters von 24 mm \varnothing fixiert.

20,0 ml (V_{R3}) der wäßrigen Extrakte von 6.2.1 werden auf die Extrelut-Säule pipettiert. Man läßt die Flüssigkeit in die Säule einsickern. Nach 15 min wird viermal mit je 25 ml Dichlormethan eluiert. Die vereinigten Eluate werden in einem 250-ml-Rundkolben aufgefangen und im Rotationsverdampfer bei 40°C Badtemperatur zur Trockene eingedampft.

6.2.3. Säulenreinigung an Aluminiumoxid

Man verschließt den unteren Auslauf des Chromatographierrohrs mit einem Wattenpfropfen, füllt das Rohr zur Hälfte mit Chloroform und läßt 10 g Aluminiumoxid einrieseln. Das überstehende Chloroform wird bis etwa 1 mm über der Säulenfüllung abgelassen.

Der Rückstand aus 6.2.2 wird in 5 ml Chloroform gelöst und die Lösung auf die Säule gegeben. Man läßt einsickern und wäscht noch dreimal mit je 5 ml Chloroform nach, wobei jedesmal der Kolben mit ausgespült und die Chloroformlösung bis zur Aluminiumoxidschicht abgelassen wird. Anschließend eluiert man mit 100 ml Elutionsmittel 1. Das gesamte Eluat wird in einem 250-ml-Rundkolben aufgefangen und im Rotationsverdampfer bei 40°C Badtemperatur auf 1–2 ml eingengt. Die Lösung wird mit wenig Dichlormethan quantitativ in das Spitzkölbchen überführt und im Rotationsverdampfer zur Trockene eingedampft.

6.3. Reinigung für Metabolit B

6.3.1. Vorbereitung

6.3.1.1. Pflanzenmaterial

250 ml des Methanolextraktes aus 6.1.1 (V_{R1}) werden in einem tarierten 1-l-Rundkolben mit 6,5 g Natriumchlorid versetzt und im Rotationsverdampfer bei 50°C Badtemperatur bis zum wäßrigen Rückstand eingengt. Er wird mit Wasser auf 24,5 g eingestellt.

6.3.1.2. Erde

250 ml des Methanolextraktes aus 6.1.2 (V_{R1}) werden in einem tarierten 1-l-Rundkolben mit 6,5 g Natriumchlorid und 25 ml Salzsäure versetzt und im Rotationsverdampfer bei 50°C Badtemperatur auf 24,5 g eingengt.

6.3.1.3. Wasser

500 g der Analysenprobe (G) werden in einem tarierten 1-l-Rundkolben mit 6,5 g Natriumchlorid und 25 ml Salzsäure versetzt und im Rotationsverdampfer bei 60°C Badtemperatur auf 24,5 g eingengt.

6.3.2. Reinigung an einer Extrelut-Säule

Die wäßrigen Lösungen aus 6.3.1 gibt man auf eine Extrelut-Fertigsäule und läßt einsickern. Nach 15 min wird viermal mit je 25 ml Dichlormethan voreluert. Dabei wird jedesmal der Rundkolben mit dem Dichlormethan ausgewaschen, um Wasserreste aus dem Kolben auf die Säule zu überführen. Das Voreluat wird verworfen. Anschließend eluiert man sechsmal mit je 25 ml Elutionsmittel 2. Das Eluat wird in einem 250-ml-Rundkolben aufgefangen und im Rotationsverdampfer bei 40°C Badtemperatur zur Trockene eingedampft. Der Rückstand wird in 10,0 ml Methanol (V_{R4}) unter Zuhilfenahme des Ultraschallbades gelöst.

6.3.3. Reinigung durch Gelchromatographie

Die Methanollösung aus 6.3.2 wird mittels einer 10-ml-Glasspritze durch ein Membranfilter filtriert. 5,0 ml davon (V_{R5}) werden dann über die Probenschleife in den Gelchromatographen gegeben.

Man eluiert die Gelsäule mit Methanol bei einer Elutionsgeschwindigkeit von 5,0 ml/min (Säuleneingangsdruck 0,8 bar). Dabei werden folgende Geräteparameter eingestellt:

Verwerfen („Dump“)	41 min entsprechend 205 ml
Auffangen („Collect“)	20 min entsprechend 100 ml

Das Eluat wird in einem 250-ml-Rundkolben aufgefangen und im Rotationsverdampfer bei 50°C Badtemperatur zur Trockene eingedampft.

Die Geräteparameter werden von Zeit zu Zeit überprüft, indem man 250 µg Metabolit B in Methanollösung aufgibt und dessen Elution mit einem angeschlossenen UV-Detektor bei 280 nm verfolgt.

6.3.4. Säulenreinigung an Kieselgel

Man verschließt den unteren Auslauf des Chromatographierrohres mit einem Wattepfropfen und läßt 10 g Kieselgel trocken einrieseln. Der Abdampfrückstand von 6.3.3 wird in 2 ml Methanol gelöst, die Lösung mit 60 ml Chloroform verdünnt und auf die Säule gegeben. Man läßt einsickern und wäscht den Rundkolben und die Kieselgelsäule mit 25 ml Elutionsmittel 3 nach. Man läßt die Säule trockenlaufen und verwirft den Vorlauf. Anschließend wird mit 150 ml Elutionsmittel 4 eluiert. Dieses Eluat wird in einem 250-ml-Rundkolben aufgefangen und im Rotationsverdampfer bei 50°C Badtemperatur auf etwa 1–2 ml eingengt. Die Lösung wird mit wenig Methanol quantitativ in das Spitzkölbchen überführt und im Rotationsverdampfer zur Trockene eingedampft.

6.4. Gaschromatographische Messung für Chloridazon

Der Abdampfrückstand aus 6.2.3 wird in 2,0 ml (V_{End}) Injektionsgemisch gelöst. Ein Anteil dieser Lösung (V_i) wird – ggf. nach Verdünnen mit Injektionsgemisch – in den Gaschromatographen injiziert.

Meßanordnung und -bedingungen (s. hierzu Abschnitt V)

Gerät	Varian 3700
Säule	Quarzkapillare, i. Ø 0,28 mm, Länge 25 m, belegt mit SE-54, Filmdicke 0,5 µm
Säulentemperatur	270°C
Einspritzblocktemperatur	300°C
Detektor	Elektroneneinfangdetektor ECD (^{63}Ni) Temperatur 300°C
Trägergas	Helium, Vordruck 1 bar
Spülgas	Stickstoff, 30 ml/min
Septumspülung	Helium, 0,5 ml/min
Splitausgang	Helium, 25 ml/min
Verstärkung	$32 \cdot 10^{-12}$
Schreiber	1 mV, Papiervorschub 5 mm/min
Einspritzvolumen	1 µl
Retentionszeit für Chloridazon	7 min 30 s

6.5. Hochdruck-flüssigchromatographische Messung für Metabolit B

Der Abdampfrückstand aus 6.3.4 wird in 2,0 ml (V_{End}) der Auflösemischung unter Zuhilfenahme des Ultraschallbades gelöst (an der Kolbenwand darf kein fester Belag

mehr anhaften). Ein Anteil dieser Lösung (V_i) wird in den Hochdruck-Flüssigchromatographen injiziert.

Meßanordnung und -bedingungen (s. hierzu Abschnitt V)

Gerät	Anlage zur HPLC mit LC-Pumpe 410 und Autosampler MSI 660 (Fa. Kontron, Eching)
Säule	2 Stahlsäulen HPLC Silica Spheri-5, i. Ø 3,2 mm, Länge 10 cm (Fa. Brownlee Labs, Santa Clara, Ca., U.S.A.), hintereinander geschaltet
Mobile Phase	Dichlormethan-Methanol-Triäthylamin-Gemisch, 940 + 60 + 1 Volumenanteile
Durchflußrate	1,8 ml/min
Säuleneingangsdruck	etwa 80 bar
Probenaufgabevolumen	100 µl
UV-Detektor	Uvikon LC-720 (Fa. Kontron, Eching)
Wellenlänge	286 nm
Verstärkung	0,01 E
Schreiber	10 mV, Papiervorschub 5 mm/min
Retentionszeit für 5-Amino-4-chlor-pyrid- azin-3-on (Metabolit B)	3 min 13 s

7. Auswertung

7.1. Auswerteverfahren

Die Auswertungen erfolgen über die peak-Höhen mit Hilfe von Eichkurven, die man vor jeder Meßreihe mit Verdünnungen der Wirkstoff- bzw. Metabolit-B-Standardlösungen aufnimmt, z. B. bei der gaschromatographischen Messung von Chloridazon im Bereich von 25–200 pg und bei der hochdruck-flüssigchromatographischen Messung von Metabolit B im Bereich von 50–200 ng.

7.2. Ausbeute und niedrigste bestimmte Konzentration

Die Ausbeuten wurden durch Zusätze von Chloridazon bzw. Metabolit B zu unbehandelten Kontrollproben bestimmt, s. Tabellen 1 und 2.

Tabelle 1. Ausbeuten bei Zusätzen von 0,05–0,5 mg/kg Chloridazon zu Pflanzenmaterial und Erde und von 0,5–5 µg/kg Chloridazon zu Wasser.

Untersuchungsmaterial	Ausbeuten in %	
	Spannweite	Mittelwert
Zuckerrüben (Körper)	86–104	95
(Blätter)	86–100	92
Rote Rüben (Körper)	81–109	96
(Blätter)	71– 76	74
Mangold	63–106	85
Erde	96–103	98
Wasser	83– 87	85

Tabelle 2. Ausbeuten bei Zusätzen von 0,05–0,5 mg/kg Metabolit B zu Pflanzenmaterial und Erde und von 0,5–5 µg/kg Metabolit B zu Wasser.

Untersuchungsmaterial	Ausbeuten in %	
	Spannweite	Mittelwert
Zuckerrüben (Körper)	67–104	86
(Blätter)	77– 83	79
Rote Rüben (Körper)	70– 78	73
(Blätter)	62– 85	74
Mangold	81– 91	86
Erde	73– 91	81
Wasser	80– 92	84

Die untere Grenze des praktischen Arbeitsbereiches lag für Pflanzenmaterial und Erde bei 0,05 mg/kg und für Wasser bei 0,5 µg/kg, s. hierzu Abschnitte V und XI.

7.3. Berechnung der Rückstände

Der Rückstand R in mg/kg Chloridazon bzw. Metabolit B wird wie folgt berechnet:

$$\text{für Chloridazon} \quad R = \frac{W_A \cdot V_{Ex} \cdot V_{R2} \cdot V_{End} \cdot F}{V_{R1} \cdot V_{R3} \cdot V_i \cdot G}$$

$$\text{für Metabolit B} \quad R = \frac{W_A \cdot V_{Ex} \cdot V_{R4} \cdot V_{End} \cdot F}{V_{R1} \cdot V_{R5} \cdot V_i \cdot G}$$

hierin bedeuten:

G = Einwaage der Analysenprobe in g

V_{Ex} = Volumen des aufgefüllten Methanolextraktes in ml

V_{R1} = daraus entnommenes Teilvolumen in ml

- V_{R2} = bei der Vorbereitung nach 6.2.1 erhaltenes Volumen in ml
- V_{R3} = zur Reinigung an der Extrelut-Säule nach 6.2.2 entnommenes Teilvolumen von V_{R2} in ml
- V_{R4} = bei Reinigung an der Extrelut-Säule nach 6.3.2 erhaltenes Volumen in ml
- V_{R5} = zur Gelchromatographie nach 6.3.3 entnommenes Teilvolumen von V_{R4} in ml
- V_{End} = Endvolumen der gereinigten Extraktlösung in ml
- V_i = in den Gaschromatographen bzw. Hochdruck-Flüssigchromatographen injiziertes Teilvolumen von V_{End} in μ l
- W_A = der Eichkurve entnommene Menge Chloridazon bzw. Metabolit B für die Analysenlösung in ng
- F = vom Untersucher bestimmter Ausbeutefaktor (s. Abschnitt V)

8. Besondere Hinweise

Laboratorien, die nicht über die Einrichtung zur Kapillargaschromatographie verfügen, können die gaschromatographische Chloridazon-Bestimmung auch an gepackten Säulen durchführen. Dafür geeignete Bedingungen sind:

Glassäule i. \varnothing 2,5 mm, Länge 90 cm; Säulenfüllung 5% Silar-5 CP auf Gas-Chrom Q, 100–120 mesh; Säulentemperatur 240°C; Einspritzblocktemperatur 260°C; Elektreneinfangdetektor ECD (^{63}Ni) Temperatur 260°C; Trägergas Argon-Methan-Gemisch (9 + 1 Volumenanteile), 120 ml/min; Retentionszeit für Chloridazon etwa 11 min.

Bei den meisten Substraten kann auch Chloridazon hochdruck-flüssigchromatographisch bestimmt werden. Die Bedingungen unterscheiden sich in folgenden Punkten von den in 6.5 genannten:

Mobile Phase Isooctan-Isopropanol-Methanol-Gemisch, 88 + 10 + 2 Volumenanteile; Durchflußrate 2 ml/min; Säuleneingangsdruck etwa 20 bar; Verstärkung 0,03 E; Retentionszeit für Chloridazon 6 min 36 s.

Bei der gaschromatographischen Bestimmung von Metabolit A (als Chloridazon) kann im Laufe der Messung eine nachlassende Empfindlichkeit und das Auftreten breiter peaks mit starkem Tailing beobachtet werden. Ein Abbrechen des Säulenansfangs um ca. 2 cm kann die Empfindlichkeit wieder wesentlich verbessern (s. Literaturangabe).

Bei der Reinigung des Metaboliten B an der Extrelut-Säule nach 6.3.2 kann durch die salzsaure Lösung aus dem Extrelutmaterial Eisenchlorid herausgelöst werden. Dieses muß durch die anschließende Gelchromatographie nach 6.3.3 entfernt werden, um bei der hochdruck-flüssigchromatographischen Bestimmung ein Ausfallen von Eisenchlorid auf der Säule zu verhindern und eine Herabsetzung der Trennleistung zu vermeiden.

9. Literatur

F. Kuhlmann, Rückstandsbestimmung von Pyrazon und seinen Metaboliten in Zuckerrüben, *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 173, 35–39 (1981).

10. Bearbeiter

BASF Aktiengesellschaft, Landwirtschaftliche Versuchsstation, Limburgerhof, *W. Keller* und *S. Otto*