

Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Fachgruppe für chemische Mittelprüfung, Braunschweig

Analysenmethode zur Bestimmung von Propyzamidrückständen in verschiedenen pflanzlichen Lebensmitteln, Wasser und Boden*)

Determination of residues of Propyzamid in various crops, water, and soil

Von H. G. Nolting und W. D. Weinmann

Zusammenfassung

Es wird eine gaschromatographische Methode zur Bestimmung von Propyzamid [N-(1,1-Dimethylpropinyl)-3,5-dichlorbenzamid] in verschiedenen pflanzlichen Erzeugnissen beschrieben. Nach Mazerierung mit Aceton und Extraktion mit Dichlormethan werden die störenden Begleitstoffe an einer Florisilsäule abgetrennt und der Wirkstoff gaschromatographisch bestimmt. Die Ausbeuten betragen bei Zugabe von 0,01–0,1 mg/kg Wirkstoff 84–100%. Die untere Bestimmungsgrenze liegt bei 0,01 mg/kg.

Abstract

A gas chromatographic method for the determination of Propyzamid [N-(1,1-dimethylpropinyl)-3,5-dichlorbenzamide] in various crops is described. It involves maceration of the sample in acetone, extraction in methylene chloride, clean up on a florisil column and estimation by gas-liquid chromatography using an electron capture detector.

In plant samples fortified with 0,01 to 0,1 mg/kg a.i., recoveries between 84–100% have been obtained. The method is sensitive to 0,01 mg/kg.

1. Einleitung

Propyzamid [N-(1,1-Dimethylpropinyl)-3,5-dichlorbenzamid] wird im Acker- und Gemüsebau zur Vorsaatanwendung und als Nachauflauf-Herbizid in Dosierungen von 1,0–5,0 kg/ha Kerb 50 W gegen einige breitblättrige Unkräuter sowie eine Reihe von ein- und mehrjährigen Gräsern, insbesondere Quecke, eingesetzt, ferner in ausdauernden Kulturen (Ziergehölzen, Schutzpflanzungen, Obstbau) während der Vegetationsruhe (VISITE et al. 1970, Techn. Bull ROHM and HAAS 1970, SWITENBANK et al. 1971).

Der Wirkstoff soll bei kühler und feuchter Witterung im Spätherbst, Winter oder zeitigen Frühjahr angewendet werden, da nur bei niedrigen Temperaturen in Verbindung mit ausreichender Feuchtigkeit eine gute Wirksamkeit entwickelt wird. Ausreichende Feuchtigkeit ist auch Voraussetzung für einen schnellen Abbau des Herbizids im Boden, da es unter trockenen Witterungsbedingungen nicht so weit abgebaut oder aus dem Wurzelbereich abtransportiert wird, daß empfindliche Nachfrüchte ohne Schaden angebaut werden können (BÖTTGER et al. 1970).

Die Bestimmung der Rückstände von Propyzamid in pflanzlichem Material ist in der Literatur mehrfach beschrieben

worden. Entweder wurde der reine Wirkstoff oder sein nach Hydrolyse und Veresterung entstehender Ester, Methyl-3,5-dichlorbenzoat, gaschromatographisch bestimmt.

Zwei Arbeiten des „Institut National De la Recherche Agronomique“, Versailles, befassen sich mit dem direkten Nachweis von Propyzamid in Rüben und Kartoffeln (Anonym 1970) sowie in Raps (Anonym 1973). Die Kartoffel- und Rübenextrakte wurden nach der Extraktion ohne besondere Reinigung in den Gaschromatographen injiziert. Geeignete Reinigungsmethoden zur Abtrennung der störenden Pflanzeninhaltsstoffe werden nicht beschrieben. Die Wiederfindungsraten betragen 51% bei Rüben und 55% bei Kartoffeln. Die Rapsextrakte wurden durch Extraktions- und Verteilungsschritte gereinigt. Es wurde eine Nachweisgrenze von 0,02 mg/kg für Rapskörner und 0,05 mg/kg für das Rapsöl ermittelt; Ausbeuten werden nicht angegeben.

In anderen Arbeiten (ADLER et al. 1972, BURROWS et al. 1972, Anonym 1976) wird der Wirkstoff in Anwesenheit von Schwefelsäure und Methanol hydrolysiert und verestert und das entstehende Methyl-3,5-dichlorbenzoat nach Destillation, Extraktion und Reinigung an einer Florisilsäule gaschromatographisch mit einem Elektroneneinfangdetektor bestimmt. Die Metaboliten werden gleichfalls in den Ester umgewandelt und so mit erfaßt (YIH et al. 1970, YIH et al. 1971). Die Bestimmungsgrenze dieser Methode liegt bei etwa 0,01 mg/kg, die Wiederfindungsraten liegen zwischen 70 und 85%. Es wurden pflanzliche und tierische Lebensmittel sowie Boden untersucht. Diese Analysenmethode ist durch die Hydrolyse und Veresterung des Wirkstoffs (16 h unter Rückfluß kochen) recht zeitaufwendig. Der Analysenfehler wird nicht angegeben; er dürfte in vielen Fällen relativ groß sein, da die Analyse nur ca. 5–25 g Proben zu untersuchen erlaubt.

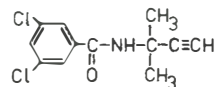
Ziel der Arbeit war es, eine Methode zur Bestimmung von Propyzamidrückständen zu entwickeln, die weniger aufwendig ist, gute Ausbeuten gibt, eine angemessene Probengröße berücksichtigt und die Metaboliten – nicht in der Höchstmengenverordnung – nicht mit erfaßt.

2. Material und Methode

2.1. Propyzamidwirkstoff

Chemische Bezeichnung N-(1,1-Dimethylpropinyl)-3,5-dichlorbenzamid

Strukturformel



*) Die Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft unterstützt.

Summenformel	$C_{12}H_{11}Cl_2NO$
Molekulargewicht	256,13
Schmelzpunkt	155–156 °C
Siedepunkt	nicht destillierbar
Dampfdruck	$1,1 \cdot 10^{-4}$ mbar bei 25 °C
Löslichkeit	in Wasser 1,5 mg in 100 ml bei 25 °C leicht löslich in Aceton, Äthanol, Chloroform, Cyclohexanon, Methanol, mäßig löslich in Benzol, Tetrachlorkohlenstoff, Xylol, wenig löslich in Petroläther.
Sonstige Eigenschaften	farbloses Pulver, wird durch starke Säuren und Alkalien hydrolysiert.

2.2. Untersuchtes Material

Äpfel, Erdbeeren, Erde, Johannisbeeren (rote), Kopfsalat, Pfirsiche, Pflaumen, Raps (grün und Samen), Wasser, Weinbeeren.

2.3. Beschreibung der Methode

Nach Mazerieren der Probe in Gegenwart von Aceton und anschließender Filtration wird das Aceton im Vakuum entfernt. Der Wirkstoff wird aus dem wäßrigen Rückstand mit einem Petroläther/Dichlormethan-Gemisch ausgeschüttelt; bei ölhaltigen Proben erfolgt eine Acetonitril-Petroläther-Verteilung. Das Lösungsmittel wird abgedampft und der Rückstand durch Chromatographie an einer Florisilsäule gereinigt. Die Bestimmung des Wirkstoffgehaltes erfolgt gaschromatographisch mit einem Elektroneneinfangdetektor.

2.4. Geräte

Zerkleinerungsgerät, z. B. handelsübliches Küchenmixgerät mit lösungsmitteldichtem Glasbecher, Schüttelmaschine, Porzellanfilternutsche \varnothing 9 cm, Saugflasche 1 L, Schwarzbandfilter \varnothing 9 cm, Scheidetrichter 500 ml, Rundkolben 500 und 250 ml mit Schliff, Vakuum-Rotationsverdampfer, Chromatographierrohr i. \varnothing 18 mm, Länge 40 cm, Meßkolben 10 ml und Gaschromatograph mit Elektroneneinfangdetektor.

2.5. Reagenzien

Aceton p. a.; Acetonitril p. a.; Dichlormethan p. a.; Essigsäureäthylester p. a.; Petroläther rein, dest., Siedebereich 40–60 °C; Petroläther/Dichlormethan 8 + 2 (v/v); Dichlormethan/Essigester 95 + 5 (v/v); Wirkstoff-Standardlösung: 0,1–1,0 μ g/ml Propyzamid in Aceton; Natriumsulfat p. a., wasserfrei; Celite 545 (Fa. Serva, Heidelberg); Florisil 100–200 mesh, 8 h bei 130 °C aktiviert; Stickstoff nachgereinigt.

3. Durchführung der Analyse

3.1. Extraktion

3.1.1. Pflanzliches Material (ausgenommen ölhaltiges Material, Samen)

100 g der Probe werden im Mixergerät mit 10 g Celite und 200 ml Aceton 3 min lang mazeriert. Das Mazerat wird über eine Filternutsche mit Schwarzbandfilter abgesaugt und der Filterkuchen mit 100 ml Aceton nachgewaschen. Man engt den Extrakt am Rotationsverdampfer bei 30–35 °C Badtem-

peratur und Wasserstrahlvakuum so weit ein, bis nur noch ein wäßriger Rückstand übrigbleibt. Hierbei sollte der Rotationsverdampfer öfters belüftet werden, da Siedeverzug auftreten kann. Man überführt den Rückstand mit 100 ml der Petroläther/Dichlormethanmischung in einen 500-ml-Scheidetrichter und schüttelt 2 min. Die obere Phase wird abgetrennt und die wäßrige Phase noch zweimal mit je 100 ml des Lösungsmittelgemisches 2 min lang extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und durch ein Faltenfilter, das zuvor mit etwas Natriumsulfat beschickt wurde, filtriert. Filterinhalt und Kolben spült man mit 80 ml des Lösungsmittelgemisches nach. Das Filtrat wird am Rotationsverdampfer bei 30–35 °C Badtemperatur und Wasserstrahlvakuum bis fast zur Trockne eingengt und dann der letzte Rest des Lösungsmittels durch Aufblasen eines leichten Stickstoffstromes vertrieben.

3.1.2. Ölhaltiges Pflanzenmaterial, Samen (z. B. Raps)

50 g der Probe werden zusammen mit 20 g Natriumsulfat geschrotet und mit 200 ml Aceton 2 min mazeriert. Nach dem Abnutschen spült man Becher und Rückstand mit 100 ml Aceton und engt den Extrakt wie unter 3.1.1. beschrieben bis eben zur Trockne ein.

Man überführt den Rückstand mit 100 ml Petroläther in einen 500-ml-Scheidetrichter und schüttelt dreimal mit je 100 ml Acetonitril 2 min aus. Die vereinigten Acetonitrilphasen werden mit wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Filterinhalt und Kolben spült man mit ca. 80 ml Acetonitril nach und dampft das Filtrat im Rotationsverdampfer zur Trockne ein.

3.1.3. Erde

100 g der Probe werden 60 min mit 30 ml dest. Wasser und 200 ml Aceton auf der Laborschüttelmaschine extrahiert. Die Aufarbeitung erfolgt wie unter 3.1.1. beschrieben.

3.1.4. Wasser

200 g einer Wasserprobe werden dreimal mit je 100 ml des Petroläther/Dichlormethangemisches 2 min extrahiert. Der Extrakt wird anschließend wie unter 3.1.1., 2. Absatz, beschrieben, behandelt.

3.2. Reinigung

Man füllt ein Chromatographierrohr mit ca. 50 ml Petroläther/Dichlormethan 8 + 2, rieselt 20 g Florisil ein, übersticht ca. 2 cm mit Natriumsulfat und läßt das überstehende Lösungsmittel bis zur Höhe des Natriumsulfats ab. Der Rückstand von 3.1. wird in 5 ml der Petroläther/Dichlormethanmischung aufgenommen und auf die Säule gegeben. Man wäscht jeweils mit 5 ml des Lösungsmittelgemisches nach und eluiert die Verunreinigungen mit 100 ml der Petroläther/Dichlormethanmischung. Diese Fraktion wird verworfen.

Der Wirkstoff wird anschließend mit 200 ml Dichlormethan/Essigester 95 + 5 von der Säule eluiert. Das Eluat wird wie oben beschrieben zur Trockne eingedampft.

3.3. Gaschromatographische Messung

Der Rückstand von 3.2. wird mit Aceton aufgenommen und damit auf 10 ml aufgeführt. Ein Anteil dieser Lösung wird in den Gaschromatographen injiziert. Die Messung erfolgte mit Carlo-Erba-Fraktovap 2150 unter Verwendung einer Glassäule von 2 mm i. \varnothing und einer Länge von 1,5 m; Säulenfüllung 10 % DC-200 auf Chromosorb W-HP, 100–120 mesh.

Säulentemperatur	160 °C
Einspritzblocktemperatur	225 °C
Detektor	Elektroneneinfangdetektor ECD HT – 20 (⁶³ Ni) ECD Control Modell 250 Spannung 50 V DC Temperatur 250 °C
Trägergas	Stickstoff 65 ml/min, Vordruck 3 kp/cm ²
Attenuator	64–512
Schreiber	1 mV, Papiervorschub 5 mm/min
Retentionszeit für Propyzamid	6 min 36 s
Einspritzvolumen	1–3 µl

Tabelle 1. Wiederfindungsraten in verschiedenem pflanzlichen Material, Erde, Wasser

Erntegut	Propyzamid zugesetzt mg/kg	Anzahl Analysen	Ausbeuten in %
Äpfel	0,01–0,1	4	91 ± 4
Erdbeeren	0,01–0,1	4	90 ± 4
Erde	0,01–0,1	4	99 ± 1
Johannisbeeren (rote)	0,1	3	95 ± 2
Kopfsalat	0,01–0,1	8	91 ± 3
Pfirsiche	0,1	2	86
Pflaumen	0,01–0,1	3	84 ± 1
Raps (grün)	0,1	2	84
Raps (Samen)	0,01–0,1	4	87 ± 2
Wasser	0,01–0,1	3	100
Weinbeeren	0,01–0,1	4	91 ± 3

Die Auswertung der Gaschromatogramme erfolgte über die Bestimmung der peak-Fläche und Vergleich mit den peak-Flächen des Wirkstoffs aus Standardlösungen, die 0,1–1,0 µg/ml Propyzamid in Aceton enthalten. Von den gereinigten Extraktlösungen und den Standardlösungen sind möglichst gleiche Volumina zu injizieren.

4. Ergebnisse und Diskussion

In Tab. 1 sind die Ergebnisse von Ausbeutebestimmungen wiedergegeben. Die Zusätze an Wirkstoff zu unbehandeltem Material lagen im Bereich von 0,01–0,1 mg/kg.

Die Ausbeute liegt somit bei dem untersuchten Material zwischen 84 und 100%, im Durchschnitt bei 91%, und ist als gut bis sehr gut zu bezeichnen. Bei allen Erntegütern wurden Mehrfachbestimmungen durchgeführt, wie aus Tab. 1 ersichtlich ist. Die Werte lassen eine gute Reproduzierbarkeit der Ergebnisse erkennen.

Die Reinigung der Extrakte an einer Florisilsäule eignet sich gut zur Abtrennung der störenden Begleitstoffe. Sowohl bei Äpfeln (s. Abb. 1) als auch bei den anderen in Tab. 1

aufgeführten Erntegütern treten keine Störpeaks im Bereich des Wirkstoffsignals auf.

Bis zu Zusätzen von 0,01 mg/kg Propyzamid zum Erntegut (s. Abb. 1 d) läßt sich das Chromatogramm einwandfrei auswerten. Dieser Wert ist die untere Grenze des praktischen Arbeitsbereiches.

Die Methode ist wesentlich weniger zeitaufwendig als die bisher bekannten Methoden, die bei guter Empfindlichkeit reproduzierbare Werte ergeben (ADLER et al. 1972, BURROWS et al. 1972 und Anonym 1976). Sie beinhaltet keine langwierigen Reinigungsschritte oder Umsetzungen und ist somit für Serienanalysen gut geeignet. Nach den bisherigen Erfahrungen können fünf Proben pro Laborkraft und Tag analysiert werden.

Literatur

ADLER, I. L., GORDON, C. F., HAINES, L. D., und WARGO J. P., Determination of Residues from Herbicide N-(1,1-Dimethylpropyl)-3,5-Dichlorobenzamide by Electron Capture Gas-Liquid Chromatography; J. Assoc. Off. Anal. Chem., 55, 802, (1972).

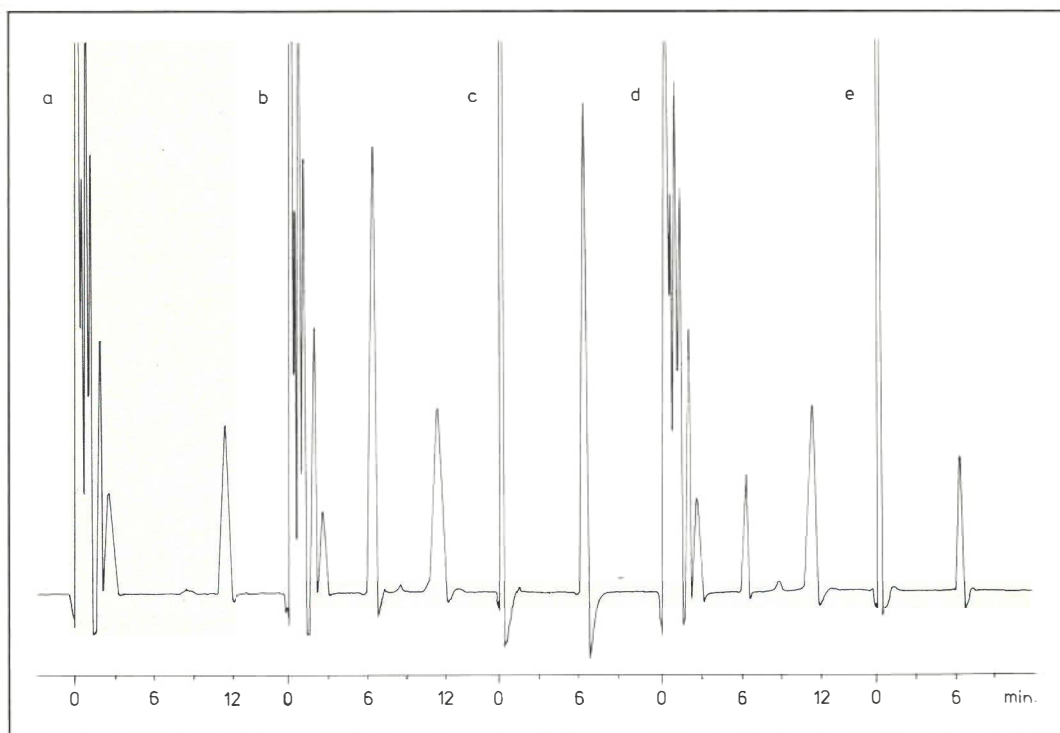


Abb. 1. Darstellung typischer Gaschromatogramme von Propyzamid in Äpfeln.
a) unbehandelte Probe
b) unbehandelte Probe + 0,1 mg/kg Propyzamid
c) Standard 3 ng
d) unbehandelte Probe + 0,01 mg/kg Propyzamid
e) Standard 0,5 ng

Anonym, „Etude Sur Les Residues De RH 315 Dans Pommes De Terre Et Betteraves Rouge“; Institut National De La Recherche Agronomique, Versailles, 1970.
 Anonym, „Rückstände von Propyzamid-Kerb in pflanzlichen Produkten, Raps“; Institut National De La Recherche Agronomique, Versailles, 1973.
 Anonym, „Methode De Dosage Des Residues De Propyzamide“; Institut National De La Recherche Agronomique, Versailles, 1976.
 BÖTTGER, W., und BAEUMER, K., Bodenbearbeitung zur Nachfrucht und Rückstandswirkung eines persistenten Herbizides in einem Trockenjahr; Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd. (Braunschweig), **29**, 165 (1977).
 BURROWS, I. E., YOUNG, D. E. und CARK, F. M., The Determination of Residues of RH-315 in Blackcurrants, Raspberries and Gooseberries; sowie The Determination of Residues of Kerb in Apples and

Pears; Huntingdon Research Centre, Huntingdon England (1972).
 SWITHENBANK, L., VISITE, V. L., Relationship of Chemical Structure and Herbicidal Activity in Dimethylpropynylbenzamidates; J. Agr. Food Chem. **19**, (5), 417 (1971).
 Techn. Bull. Rohm and Haas 9. 1969, Kerb selective experimental herbicide (formerly coded RH 315); Weed Abst. **19** (2) 125 (70).
 VISITE, K. L., CROVETTI, A. J. und HORROM, B. W., Dimethylpropynylbenzamidates: A New Group of Herbicides; Science **167**, 280 (70).
 YIH, R. Y., SWITHENBANK, C., and MCRAE, D. H., Transformations of the Herbicide N-(1,1-dimethylpropynyl)-3,5-dichlorbenzamide in Soil; Weed Science **18**, 604 (1970).
 YIH, R. Y., SWITHENBANK, C., Identification of Metabolites of N-(1,1-Dimethylpropynyl)-3,5-dichlorbenzamide in Soil and Alfalfa; J. Agr. Food Chem. **19**, 314 (1971).

Mitteilungen

Die Abteilung für Pflanzenschutzmittel und -geräte der Biologischen Bundesanstalt gibt bekannt:

Neununddreißigste Bekanntmachung über die Zulassung der Pflanzenbehandlungsmittel*)

(Vom 1. August 1978, veröffentlicht im Bundesanzeiger Nr. 151 vom 15. August 1978)

Auf Grund des § 10 Abs. 2 des Pflanzenschutzgesetzes in der Fassung der Bekanntmachung vom 2. Oktober 1975 (BGBl. I S. 2591; 1976 I S. 1059), zuletzt geändert durch das Gesetz vom 16. Juni 1978 (BGBl. I S. 749), wird in der Anlage 1 bekanntgemacht, welche Pflanzenbehandlungsmittel seit der Achtunddreißigsten Bekanntmachung vom 29. Mai 1978 (Bundesanzeiger Nr. 110 vom 16. Juni 1978) zugelassen sind oder deren Zulassung beendet ist.

2. Die Liste der zugelassenen Pflanzenbehandlungsmittel – Anlage zur Dreißigsten Bekanntmachung über die Zulassung der Pflanzenbehandlungsmittel vom 1. Februar 1977 – ist, wie in der Anlage 2 angegeben, zu ergänzen bzw. zu ändern.

Braunschweig, den 1. August 1978

Biologische Bundesanstalt
 für Land- und Forstwirtschaft
 Abteilung für Pflanzenschutzmittel
 und Anwendungstechnik
 gez. Dr. Voss

*) Pflanzenbehandlungsmittel sind Pflanzenschutzmittel und Wachstumsregler. Hierzu gehören auch Zusatzstoffe.

Anlage 1

Bezeichnung des Pflanzenbehandlungsmittels	Wirkungsbereich	Zul.-Nr.	Inhaber der Zulassung (weitere Kennbuchstaben bezeichnen die Vertriebsunternehmen)
<i>Zulassungen</i>			
Atrazin 500 M flüssig	H	02954-60	WAC
Banvel DPT	H	02929	PDD, CME
CCC Rustica	W	02941	RST
Celathion Spritzpulver	I	02579	CME
Cito-Wühlmaustod	R	0878-61	PRO
Compo Rasen-Regulat Embark Spezial	W	02937-60	SDF
DPT Berghoff	H	03030-60	CBA
Du-Ter Extra	F	02808	PDD

Bezeichnung des Pflanzenbehandlungsmittels	Wirkungsbereich	Zul.-Nr.	Inhaber der Zulassung (weitere Kennbuchstaben bezeichnen die Vertriebsunternehmen)
Feeli Frühjahrs-Spritzmittel	I	02963-60	FLO
Herbamix-MPT 350	H	03031	KVK
Moos Vernichter	H	03137	JOB
Parathion A	I	0528-60	WAC
Pomicoll	F	02921	SCH
Raid Insektenkiller für Haus- und Ziergarten	A, I	03047	JOH
Shell MP-Kombi I	H	03017	DSC
Temik 10 GGF	A, I, N	02981	UCD, CME, SCH

<i>Beendigung von Zulassungen</i>			
Cito-Wühlmaustod	R	01056	PRO
Lonacol	F	01449	BAY

Anlage 2

Änderungen und Ergänzungen

1. der Handelsbezeichnung

Bayleton, 02714	in	Bayleton-Spritzpulver
Luxan Keimhemmer S. C., 0814	in	Luxan Gro Stop
Unkraut-frei, 0025-61	in	Wege-Unkraut-frei

2. zum Inhaber der Zulassung bzw. zu den Vertriebsunternehmen

blitol-Brennesselfrei	hinzufügen:	BLI
blitol-Insektenfrei	hinzufügen:	BLI
blitol Rasendünger plus	hinzufügen:	BLI
blitol Schneckenkorn-Neu	hinzufügen:	BLI
blitol Total-Unkrautfrei für Wege	hinzufügen:	BLI
DAC 2787	hinzufügen:	DIA

3. zu der Liste der Inhaber der Zulassung bzw. der Vertriebsunternehmen:

hinzufügen:	BLI	blitol Gesellschaft mbH Rossdorfer Straße 48 6101 Messel bei Darmstadt
	DIA	Diamond Shamrock Europe S. A. B 1430 Wauthier-Breine (Belgien)
	JOB	Josef Bermel Postfach 35 4534 Recke
	JOH	Johnson Wax GmbH Postfach 19 04 20 5650 Solingen 19