

KURZE MITTEILUNGEN

*Bis am 20. des Monats bei der Redaktion eingehende kurze Mitteilungen werden in der Regel am 15. des folgenden Monats veröffentlicht
Es werden auch Manuskripte aus dem Auslande angenommen*

Dünnschichtchromatographisches Verhalten herbizidwirksamer Verbindungen**3. Mitteilung*: Säuren**

Der Bedeutung der Phenoxyalkancarbonsäuren als Herbizide entsprechend groß ist die Zahl der Arbeiten über säulen- und papierchromatographische Methoden zur Trennung und Bestimmung dieser Verbindungsklas-

se. Zur Dünnschichtchromatographie dieser Gruppe ist uns dagegen nur wenig bekanntgeworden.

J. KAWASHIRO und Y. HOSOGAI¹ untersuchen neben anderen chlorierten organischen Pestiziden auch 2,4-D-

* Eingegangen am 18. Februar 1965. 2. Mitt. H. G. HENKEL, *Chimia* 18 (1964) 252-4.

¹ J. KAWASHIRO und Y. HOSOGAI, *Shokuhin Eiseigaku Zasshi* 5 (1964), 54-8; s. auch *Chem. Abstr.* 61 (1964) 6262c.

Tabelle 1. Phenoxyalkancarbonsäuren

		$R_f \times 100$ -Werte in System			
		1	2	3	4
2-Methyl-4-chlorphenoxyessigsäure	MCFA	15	44	52	40
2,4-Dichlorphenoxyessigsäure	2,4-D	0	22	45	36
2,4,5-Trichlorphenoxyessigsäure	2,4,5-T	0	21	40	48
2-[2-Methyl-4-chlorphenoxy]-propionsäure	α -MCPFP	43	70	62	48
3-[2-Methyl-4-chlorphenoxy]-propionsäure	β -MCPFP	56	81	75	33
2-[2,4-Dichlorphenoxy]-propionsäure	2-(2,4-DP)	27	53	56	46
2-[2,4,5-Trichlorphenoxy]-propionsäure	2-(2,4,5-TP)	27	54	54	59
4-[2-Methyl-4-chlorphenoxy]-buttersäure	γ -MCPB	70	88	83	31
4-[2,4-Dichlorphenoxy]-buttersäure	4-(2,4-DB)	69	85	83	28
4-[2,4,5-Trichlorphenoxy]-buttersäure	4-(2,4,5-TB)	69	86	85	36

Säure, die bei dem verwendeten Fließmittelsystem aber am Start zurückbleibt. Wir haben daher an Hand der bekannteren Derivate dieser Klasse einige Trennsysteme entwickelt und verschiedene Sprühreagenzien auf ihre Anwendbarkeit hin geprüft. Da neben diesen Säuren auch einige substituierte chlorhaltige Benzoesäurederivate im zunehmenden Maße eine Rolle als Herbizide spielen, haben wir die bekanntesten von ihnen in diese Untersuchung mit einbezogen.

Experimentelle Ergebnisse und Diskussion

Zur Trennung der Phenoxyalkancarbonsäuren können folgende Systeme angewendet werden (die Mengenangaben beziehen sich auf handgeessene Platten der Größe 10×20 cm; Lautstärke 10 cm).

System 1: 2 g Kieselgur G (Merck) mit 20 mg Na-Acetat werden in 8 ml Wasser aufgeschlämmt. Die Platten werden an der Luft vorgetrocknet und 20 Min. bei 120° aktiviert. Nach einer Abkühlungszeit von etwa 10 Min. werden die Substanzen aufgetragen. Steigmittel: Heptan-Eisessig (100:1); Laufzeit: 10 Min.

System 2: Plattenherstellung und Behandlung wie bei System 1. Steigmittel: Heptan-Eisessig (100:2,5); Laufzeit: 10 Min.

System 3: 500 mg Polyamid-Pulver (Woelm) werden in 6 ml Äthanol aufgeschlämmt. Die Platten werden an der Luft getrocknet. Steigmittel: 1,1,2,2-Tetrachloräthan-Eisessig (20:1); Laufzeit 40 Min.

System 4: 2 g Kieselgel G (Merck) + 20 mg H_3PO_4 . Das Kieselgel wird in 2 ml 1% wss. H_3PO_4 und 5 ml Wasser aufgeschlämmt. Die an der Luft vorgetrockneten Platten werden 20 Min. bei 120° aktiviert. Nach etwa 10 Min. Abkühlung im Exsikkator werden die Substanzen aufgetragen. Steigmittel: Diisopropyläther-Petroläther Kp. 40° bis 60° (1:1); Laufzeit: 15 Min.

Die in Tabelle 1 zusammengestellten R_f -Werte wurden durch jeweils 15 bis 20 Einzelbestimmungen gewonnen. Bei den H_3PO_4 -haltigen Platten sind die R_f -Werte deutlich von der Luftfeuchtigkeit im Arbeitsraum abhängig. Eine sehr gute Reproduzierbarkeit wurde dagegen mit den Polyamidplatten erhalten. Die Trenneigenschaften der mit Na-Acetat gepufferten Kieselgur-G- und der Polyamid-Platten sind weitgehend identisch. Die R_f -Werte der Essigsäure-Derivate im System 3 fallen linear mit steigenden Dissoziationskonstanten, wie

Tabelle 2. Benzoesäurederivate

		$R_f \times 100$ in System	
		5	6
3-Amino-2,5-dichlorbenzoesäure	Amiben	22	30
3-Nitro-2,5-dichlorbenzoesäure	Dinoben	46	51
2-Methoxy-3,6-dichlorbenzoesäure	Mediben	51	60
2-Methoxy-3,5,6-trichlorbenzoesäure	Metriben	49	59
2,3,6-Trichlorbenzoesäure	TBA	34	68
Benzoessäure	—	77	55
4-Nitrobenzoesäure	—	66	—
4-Chlorbenzoesäure	—	—	40

sie von M. MATELL und S. LINDENFORS² für diese Verbindungen berichtet werden. Mit steigender C-Zahl der Seitenkette nehmen die R_f -Werte zu, und der Einfluß der Substituenten am Phenylkern auf sie nimmt ab. Während mit den Systemen 1 bis 3 die Trennung der di- und trichlorhaltigen Verbindungen wenig befriedigend ist, erhält man mit dem völlig andere Trenneigenschaften zeigenden System 4 gute Ergebnisse. Auf diesen H_3PO_4 -haltigen Platten zeigen sich keine entsprechenden Beziehungen zwischen R_f -Werten und C-Zahl der Seitenkette bzw. Dissoziationskonstanten. Die Anwendung von System 4 ist auch da von Interesse, wo Phenoxyalkancarbonsäuren neben ihren Estern nachgewiesen werden sollen, wie am Beispiel der 2,4-D-Säure und einiger ihrer Ester gezeigt wird (Tabelle 3).

C. A. BACHE³ verwendet zur Bestimmung von Amiben Benzol-Eisessig (5:1) auf Silicagel-Platten. Wir haben

Tabelle 3

	$R_f \times 100$ in System 4
2,4-D-Säure	36
2,4-D-äthylester	60
2,4-D-propylester	73
2,4-D-n-butylester	77
2,4-D-amylester	81

² M. MATELL und S. LINDENFORS, *Acta Chem. Scand.* 11 (1957) 324-8.

³ C. A. BACHE, *J. Assoc. Offic. Agr. Chemists* 47 (1964) 355.

zur Trennung der untersuchten Benzoesäuren außerdem folgende Systeme als geeignet gefunden:

System 5: Polyamid-Platten wie bei System 3. Steigmittel: 1,1,2,2-Tetrachloräthan-Eisessig (100:4); Laufzeit: etwa 45 Min.

System 6: 2 g Kieselgel G (Merck) + 40 mg H_3PO_4 . Das Kieselgel wird in 4 ml 1% wss. H_3PO_4 und 3 ml Wasser aufgeschlämmt. Die weitere Behandlung erfolgt wie unter System 4 beschrieben. Steigmittel: Diisopropyläther-Petroläther Kp. 40° bis 60° (1:1); Laufzeit: 15 Min.

Eine befriedigende Trennung von Mediben und Metriben gelang nicht. Die R_f -Werte sind in Tabelle 2 zusammengestellt. Zum Vergleich wurden Benzoesäure und *p*-Chlor- bzw. *p*-Nitrobenzoesäure mitchromatographiert.

Neben diesen Systemen wurden die Eigenschaften von «Florisil TLC» untersucht. Es zeigt sowohl im luftgetrockneten wie auch im aktivierten Zustand (30 Min. bei 150°) Trenneigenschaften, die nicht wesentlich von denen des Kieselgel H (Merck) abweichen. Die Schichten sind sehr empfindlich, so daß die Detektionsmittel nur mit größter Vorsicht aufgesprüht werden können.

Bei der Prüfung von Reagenzien, die uns für diese Verbindungen als geeignet erschienen, zeigte sich, daß bei den Phenoxyalkancarbonsäuren Empfindlichkeitsunterschiede bis zu einer Zehnerpotenz auftreten. Eine systematische Abhängigkeit von der Art der Substitution und Länge der Seitenkette läßt sich jedoch nicht erkennen. Bei den Benzoesäurederivaten erklären sich die abweichenden Nachweismöglichkeiten und -grenzen aus den sehr verschiedenen Substituenten. Wir haben deshalb eine größere Anzahl von Reagenzien geprüft. Die Ergebnisse sind in den Tabellen 4 und 5 zusammengestellt.

Tabelle 4
Nachweisgrenzen der Phenoxyalkancarbonsäuren (in μg)

	Reagenz:				
	A ^a	B ^a	C	D ^b	E
MCFA	0,3	0,3	0,5	0,1	2,5 ^d
2,4-D	0,15	0,3	2,5	0,3	1,25
2,4,5-T	0,07	0,3	0,5	0,5	1,25
α -MCPP	0,07	0,5	0,1	0,1	2,5 ^e
β -MCPP	0,15	1,25	2,5	0,3; 0,1 ^c	0,5
2-(2,4-DF)	0,3	1,25	1,25	0,3	5,0
2-(2,4,5-TP)	0,07	1,25	1,25	0,3	2,5
γ -MCPB	0,04	0,5	1,25	0,3; 0,1 ^c	1,25
4-(2,4-DB)	0,04	0,5	0,5	1,25; 0,5 ^c	1,25
4-(2,4,5-TB)	0,04	0,5	0,5	1,25; 0,5 ^c	1,25

a) In System 1 gemessen. b) Auf Polyamid-Platten. c) Vor dem Besprühen bei 254 nm. d) Nur bei 120° erhitzt. e) Bei 120° erhitzt; nur im sichtbaren Licht als brauner Fleck.

Reagenz A. Eine 0,05prozentige wss. Rhodamin-B-Lösung wird nach dem Belüften der Platte aufgesprüht. Die Substanzen werden im sichtbaren Licht als weiße, in einigen Fällen auch als rote Flecke auf rosafarbenem Grund angezeigt und verschwinden wieder nach etwa 30 Min. Bei den Phenoxyalkancarbonsäuren wird durch das Betrachten unter der UV-Lampe

Tabelle 5. Nachweisgrenzen der Benzoesäure-Derivate (in μg)

	Reagenz:				
	A ^a	D ^b	F ^a	G ^a	H ^a
Amiben	2,5	0,07	0,6	2,5	0,15
Dinoben	0,6	0,3	1,25	2,5	0,05 ^c
Mediben	2,5	0,3	2,5	1,25	—
Metriben	0,6	0,3	5,0	1,25	—
TBA	2,5	0,6	10,0	1,25	—

a) In System G. b) auf Polyamid-Platten. c) Nach Reduktion durch Besprühen mit $SnCl_2$ -Lösung.

(254 nm) keine Verbesserung erreicht; Dinoben, Mediben und Metriben können dagegen mit der doppelten Empfindlichkeit nachgewiesen werden. Der Nachweis kann auf allen beschriebenen Platten verwendet werden, jedoch ist die Empfindlichkeit auf den H_3PO_4 -haltigen Trägern etwas geringer.

Reagenz B. 20 ml Phenoxyäthanol und 1,7 g $AgNO_3$ in 195 ml Aceton und 5 ml Wasser (hergestellt nach L. C. MITCHELL⁴) werden auf die belüftete Platte aufgesprüht; danach wird 10 Min. mit ungefiltertem UV-Licht bestrahlt (Hanau-Quarzlampe). Die Substanzen erscheinen als braune Flecke auf hellgrauem Grund, im Dunkeln mehrere Tage haltbar. Die Nachweisgrenze für die Phenoxyalkancarbonsäuren liegt auf Kieselgur-G-Platten (System 1 und 2) zwischen 0,3 und $1,0 \mu g$. H_3PO_4 vermindert die Empfindlichkeit um eine Zehnerpotenz. Für die Benzoesäuren ist das Reagenz nur wenig geeignet (Nachweisgrenze 5 bis $10 \mu g$).

Reagenz C. 5prozentige wss. Lösungen von $FeCl_3$ und $K_3[Fe(CN)_6]$ werden nacheinander aufgesprüht. Die Phenoxyalkancarbonsäuren geben nach etwa 10 bis 15 Min. tiefblaue Flecke auf hellerem, grünblauem Untergrund. Auf H_3PO_4 -haltigen Platten versagt das Reagenz.

Reagenz D. Nach 20 min. Bestrahlen mit ungefiltertem UV-Licht wird die Platte mit 0,5prozentiger wss. Echtblausalz-B-Lösung und danach mit $n/10$ -KOH-Lösung besprüht. Es erscheinen braune Flecke auf hellerem Untergrund. — Diese von G. R. BELL⁵ beschriebene photochemische Zersetzung konnte auf alle von uns untersuchten Phenoxyalkancarbonsäuren angewendet werden, obwohl BELL beobachtet hatte, daß nur Säuren mit einer COOH-Gruppe in α -Stellung zur O-Brücke in die Phenole gespalten wurden. Diese Reaktion gaben außerdem alle untersuchten Benzoesäurederivate. Die durch die photochemische Zersetzung der Phenoxyalkancarbonsäuren bzw. der Benzoesäuren entstandenen Produkte sind bereits durch ihre Fluoreszenz bei 254 nm gut sichtbar. Bei den Benzoesäuren ist dieser Nachweis empfindlicher als die Sprühreaktion. Die Nachweismethode ist für Polyamid-Platten gut geeignet.

Reagenz E. Die Platten werden mit 0,5prozentiger $K_2Cr_2O_7$ -Lösung in 20prozentiger H_2SO_4 besprüht, 10 Min. auf 150° erhitzt und unter der UV-Lampe (254 nm) betrachtet. Die Nachweisgrenzen liegen auf Kieselgur G/Na-Acetat-Platten für die Phenoxyalkancarbonsäuren zwischen 1 und $5 \mu g$. Auf H_3PO_4 -haltigen Platten ist die Empfindlichkeit geringer. Bei den Benzoesäuren liegt sie zwischen 2,5 und $5 \mu g$, bei Dinoben und Mediben bedeutend schlechter.

Reagenz F. Eine Lösung von 20 mg Methylumbelliferon in 35 ml Alkohol, mit Wasser auf 100 ml aufgefüllt, wird aufgesprüht und die Platte unter der UV-Lampe (254 nm) betrachtet. Die Nachweisgrenze für Benzoesäuren auf H_3PO_4 -haltigen Platten liegt zwischen 0,5 und $10 \mu g$.

⁴ L. C. MITCHELL, *J. Assoc. Offic. Agr. Chemists* 44 (1961) 643–712.

⁵ G. R. BELL, *Botan. Gaz.* 118 (1956), 133–6; *Chem. Abstr.* 51 (1957) 6067 d.

Reagenz G. 0,5% Toluidin in Alkohol werden aufgesprüht und die Platte 5 Min. mit ungefiltertem UV-Licht bestrahlt. Mit diesem von J. KAWASHIRO und Y. HOSOGAI¹ für chlorhaltige Pestizide beschriebenen Sprühreagenz geben sowohl die Phenoxyalkancarbonsäuren wie auch die Benzoesäuren auf H₃PO₄-haltigen Platten dunkelbraune Flecke. Für Polyamid-Platten ist dieser Nachweis ungeeignet; auf Kieselgur, G/Na-Acetat-Platten hat er eine geringere Empfindlichkeit. Die Nachweisgrenze liegt für alle Phenoxyalkancarbonsäuren bei 1,25 µg.

Reagenz H. Salzsaurer *p*-Dimethylaminobenzaldehyd-Lösung in Äthanol/Butanol⁶ ist ein empfindliches Sprühreagenz für Amiben und Dinoben. Für Amiben liegt die Nachweisgrenze nach dem Besprühen der Platte und 15 min. Erhitzen auf 120° bei 0,1 µg. Die gleiche Empfindlichkeit wird für Dinoben erreicht, wenn man die Platte vorher zur Reduktion der NO₂-Gruppe mit 1prozentiger schwach salzsaurer SnCl₂-Lösung besprüht und danach wie vorstehend mit *p*-Dimethylaminobenzaldehyd behandelt.

⁶ Anfärbereagenzien für Dünnschicht- und Papierchromatographie, E. Merck AG, Darmstadt.

Da für Rückstandsuntersuchungen die Kombination der Dünnschichtchromatographie mit anderen Methoden von Bedeutung ist, haben wir auch die Möglichkeit einer zerstörungsfreien Identifizierung durch Besprühen mit Wasser, wie sie auch schon von R. J. GRITTER und R. J. ALBERS⁷ beschrieben wurde, geprüft. Die Nachweisgrenzen liegen hier für Phenoxyalkancarbonsäuren und Benzoesäuren zwischen 0,5 und 1 µg.

Wir danken Fräulein M. UNGEFUGT für die sorgfältig durchgeführten Experimente. Die verwendeten Wirkstoffe wurden uns freundlicherweise von verschiedenen Firmen zur Verfügung gestellt.

HANNES G. HENKEL

Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft,
Institut für Pflanzenschutzmittelforschung
(Wissenschaftlicher Leiter: Dr. W. FISCHER), Berlin-Dahlem*

⁷ R. J. GRITTER und R. J. ALBERS, *J. Chromatogr.* 9 (1962) 392.

* Postanschrift: 1 Berlin 33, Königin-Luise-Straße 19.