

OZNACZANIE ETYLENOTIOMOCZNIKA (ETV) CHROMATOGRAFIA
GAZOWĄ W POSTACI POCHODNEJ TRÓJMETYLOSILILOWEJ

Bożena Rycaj

Instytut Ochrony Roślin, Oddział w Sośnicowicach

Etylenotiomocznik (ETV), czyli 2-tiono-imidazolidyna, jest jednym z głównych produktów degradacji etylenobisdwutiokarbaminianów (EBDC) [3, 10]. Rozpad EBDC postępuje zarówno na roślinach traktowanych preparatami grzybobójczymi, jak również w formach użytkowych tych preparatów składowanych w magazynach. Jak wykazały badania, etylenotiomocznik ma własności kancerogenne i teratogenne [4, 5] i z tego względu jest konieczność jego ścisłego oznaczania. Istnieją metody analityczne do bezpośredniego i pośredniego oznaczania ETV. Metody chromatograficzne do bezpośredniego oznaczania tego związku odznaczają się mniejszą czułością, lecz są równocześnie prostsze w wykonaniu [2, 6, 14]. Do oznaczania pozostałości ETV stosuje się głównie metody pośrednie za pomocą różnego rodzaju pochodnych [8, 12, 13].

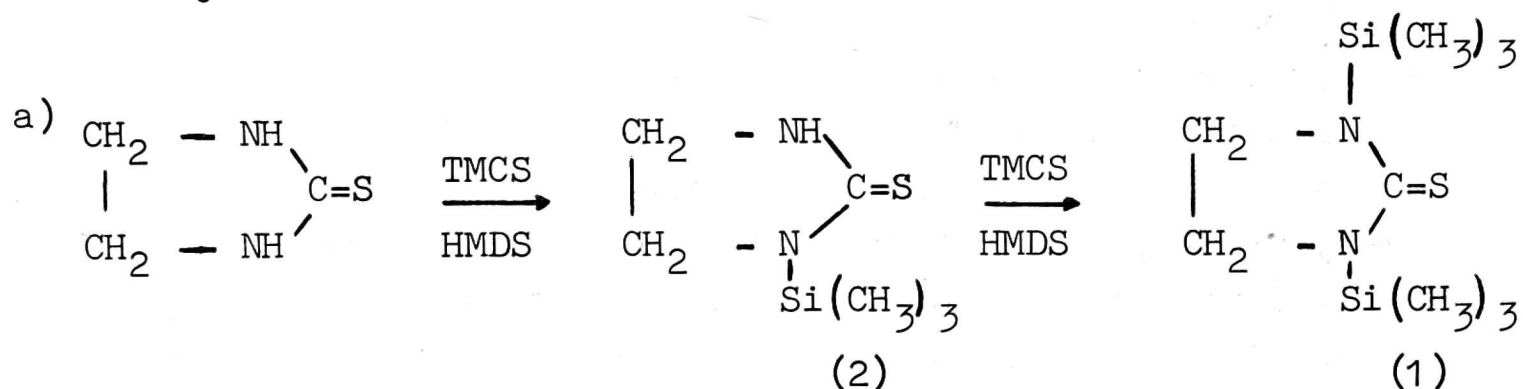
Przedmiotem niniejszej pracy jest metoda oznaczania ETV za pomocą pochodnej N,N-bis(trójmetylosililo)2-tiono-imidazolidyny. Różnego typu reakcje sililacji (tworzenia pochodnych trójmetylosililowych) omówione zostały w monografii Pierce'a [15], Millera [11], Kaszutiny [7] oraz Krasnodębskiego i współpr. [9], którzy podają możliwości analitycznego zastosowania mieszaniny sililujących produktów „Chemipan” do różnych grup związków. Możliwości wykorzystania pochodnej sililowej imidazolu oraz wydajność reakcji podał Birkofer [1] stosując do sililacji sześciometylodwusilazan (HMDS).

W części doświadczalnej użyto chromatografu gazowego Perkin-Elmer typ 900 z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym i następujące odczynniki:

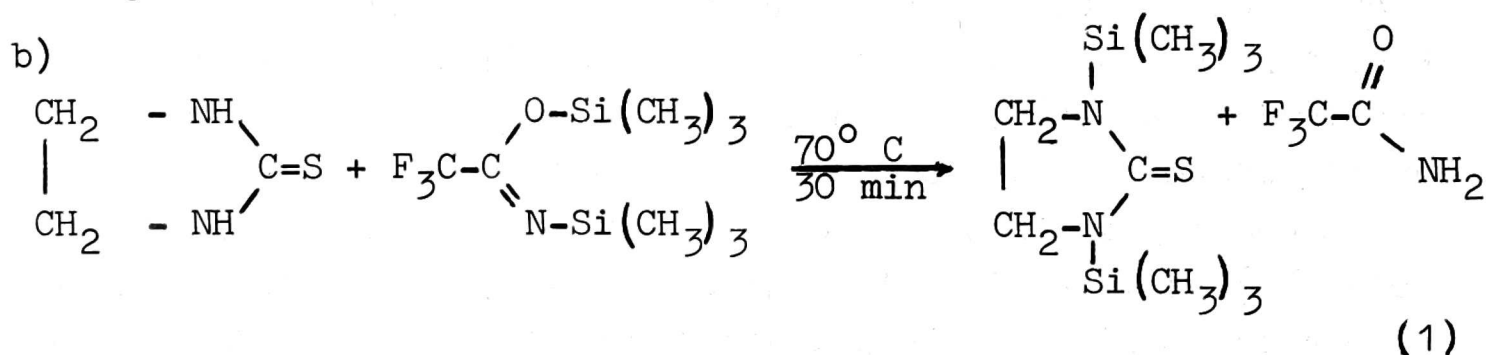
- mieszanina sililująca BA-11 oraz HTP-319 „Chemipan”,
- etylonotiomocznik (Merck),
- 9-fluorenone (Fluk),
- wzorzec pochodnej N,N-bis(trójmetylosililo)2-tiono-imidazolidyny, czystość około 95%,
- benzen cz.d.a.,
- chloroform cz.d.a.

PRZEBIEG REAKCJI

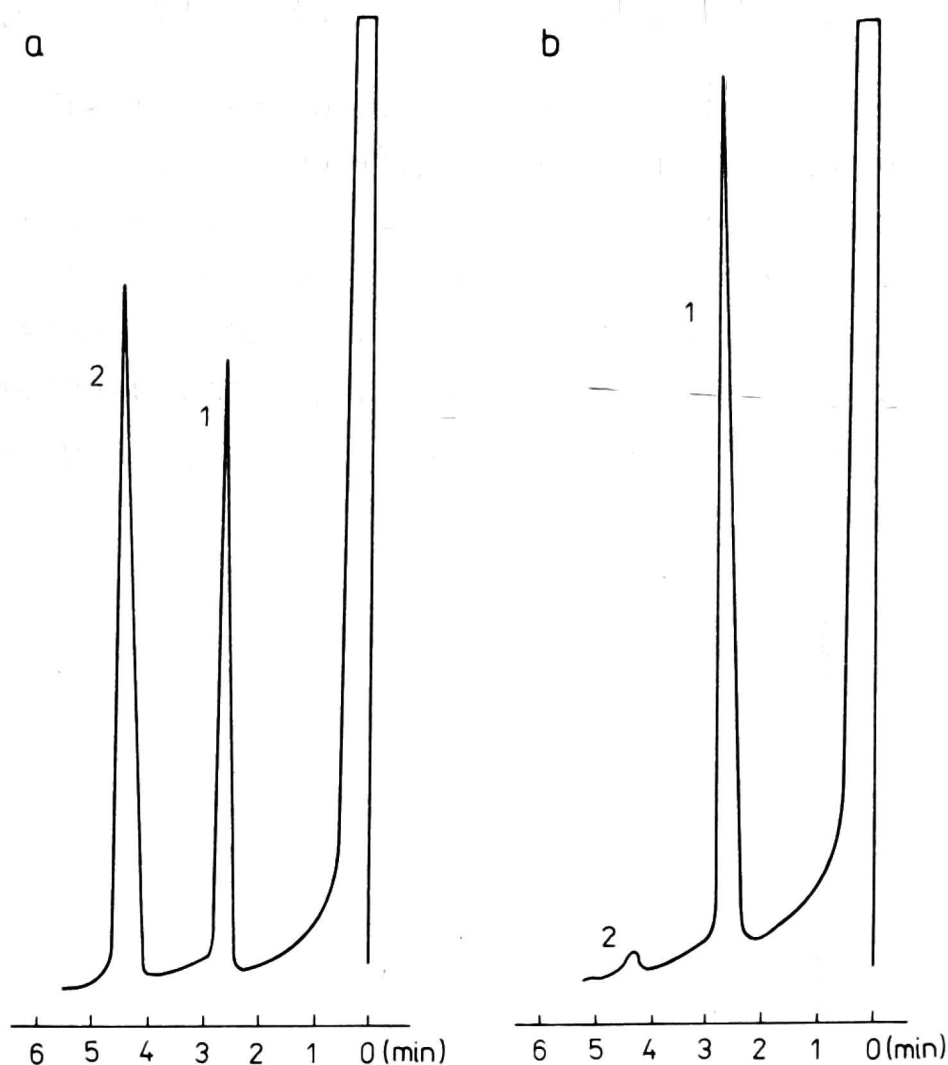
Najczęściej stosowanymi do sililacji odczynnikami są sześciometylodwusilazan (HMDS) i trójmetylochlorosilan (TMCS). Reakcja ETV z mieszaniną tych substancji (HTB-319) przebiega wolno z utworzeniem na etapie pośrednim pochodnej monosililowej, a następnie dwusililowej:



Dzięki zastosowaniu do sililacji silnego donora grup trójmetylosililowych, jakim jest bis-trójmetylosililo-trójfluoroacetamid (BSTFA) w mieszaninie sililującej BA-11 otrzymano jako końcowy produkt reakcji pochodną N,N-bis(trójmetylosililo)2-tiono-imidazolidynę wg reakcji:



Chromatogramy obu produktów sililacji pokazano na rysunku 1.



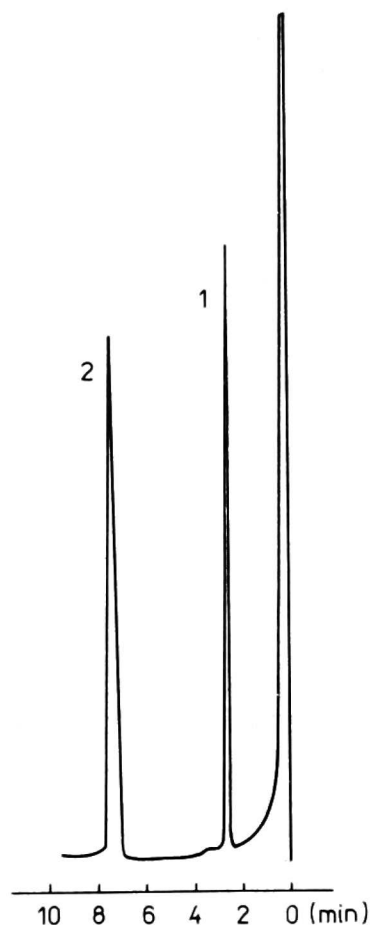
Rys.1. Chromatogramy pochodnych trójmetylosililowych ETU; a - produkty sililacji ETU za pomocą mieszaniny HMDS i TMCS, b - produkty sililacji ETU za pomocą BSTFA; 1 - N,N bis-(trójmetylosililo)-2-tiono-imidazolidyna (bis TMS ETU); 2 - N-(trójmetylosililo)-2-tiono-imidazolidyna (TMS ETU)

W a r u n k i c h r o m a t o g r a f o w a n i a. Chromatograf Perkin-Elmer z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym kolumna szklana 1 m x 4 mm; wypełnienie: 3% OV-17 na Gas Chrom Q 80/100 mesh; temperatura kolumny 170°C; dozownika 200°C; mieszalnika 200°C, gaz nośny azot 35 ml/min, ; czułość 10x32, szybkość papieru 1 cm/min, skorygowane czasy retencji; (t'_R) pochodnej bis TMS ETU t'_R - 2,6 min, pochodnej mono TMS ETU t'_R - 4,2 min.

Otrzymana pochodna bis-TMS ETU jest dobrze rozpuszczalna w chloroformie, benzenie, CCl_4 , CS_2 , słabiej w hexanie. W rozpuszczalnikach polarnych zawierających ślady wody rozkłada się do ETU.

WYKONANIE KRZYWEJ KALIBRACJI METODĄ WZORCA WEWNĘTRZNEGO

Przygotowano roztwory podstawowe pochodnej bis-TMS ETU w benzenie zawierające $4 \text{ mg}/1 \text{ cm}^3$ oraz $1 \text{ mg}/1 \text{ cm}^3$ oraz roztwór podstawowy wzorca wewnętrznego 9-fluorenonu w benzenie zawierający $5 \text{ mg}/1 \text{ cm}^3$. Do cylindrów miarowych o pojemności 10 cm^3 dodano pipetą po $1,0 \text{ cm}^3$ roztworu wzorca wewnętrznego, a następnie odpowiednie ilości pochodnej ETU i dopełniono do 5 cm^3 mieszaniną benzen: chloroform (1:1). Z tak przygotowanych roztworów dozowano po $2 \mu\text{l}$. Są one trwałe przez około 6 godz.



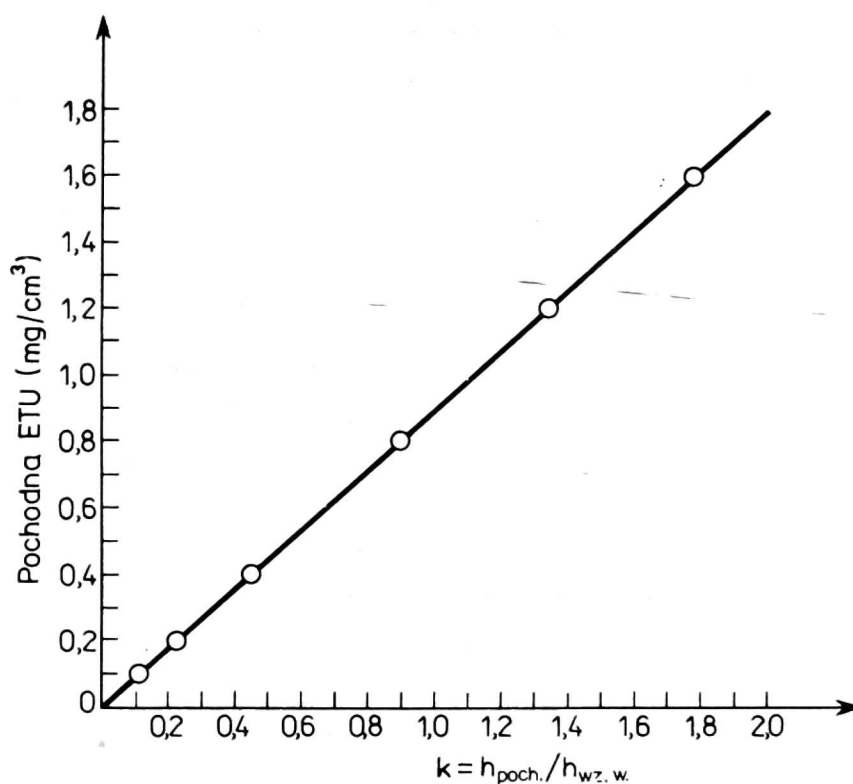
Rys.2. Chromatogram mieszaniny wzorcowej;
 1 - pochodna bis-TMS ETU $1,2 \text{ mg}/1 \text{ cm}^3$,
 2 - wzorzec wewnętrzny Fluorenon-9
 ($1 \text{ mg}/1 \text{ cm}^3$)

Wyznaczono zależność liniową między stężeniem pochodnej a współczynnikiem kalibracji k (stosunek wysokości piku pochodnej do wysokości piku wzorca wewnętrznego) oraz obliczono współczynnik korelacji. Obliczone równanie prostej regresji ma postać

$$k = 1,147 \text{ rc} + 0,0033,$$

gdzie:

- k - współczynnik kalibracji,
- c - stężenie pochodnej ETU mg/cm^3 ,
- r - współczynnik korelacji = 0,9999.



Rys. 3. Krzywa kalibracji pochodnej bis-TMS ETU metodą wzorca wewnętrznego

WYZNACZENIE WYDAJNOŚCI REAKCJI SILILACJI

Reakcja tworzenia pochodnej trójmetylosililowej ETU przebiega w obecności nadmiaru odczynnika do sililacji oraz w podwyższonej temperaturze. Z roztworu podstawowego etylenotiomocznika w metanolu o stężeniu $4 \text{ mg}/1 \text{ cm}^3$ pobrano do pojemnika do sililacji $0,5 \text{ cm}^3$, tj. 2 mg ETU i odparowano metanol dokładnie do sucha za pomocą nadmuchu suchego azotu. Następnie pojemnik szybko zakręcono nie dopuszczając, aby powietrze dostało się do wnętrza i dodano strzykawką $0,4 \text{ cm}^3$ mieszaniny sililującej BA-11. Całość wytrząsano przez około 5 min do rozpuszczenia ETU i pozostawiono w suszarce w temperaturze 70°C na okres 30 min. Po ochłodzeniu dodano pipetą 1 cm^3 roztworu wzorca wewnętrznego (tj. 5 mg), zakręcono pojemnik, wymieszano i przeniesiono do cylindra miarowego, dopełniając do 5 cm^3 za pomocą mieszaniny benzen : chloroform (1:1). Z tak przygotowanych roztworów dozowano na chromatograf po $2 \mu\text{l}$. Wydajność reakcji obliczono ze wzoru:

$$R\% = \frac{h_{\text{poch}} \cdot m_{\text{wz.w.}} \cdot f \cdot 100}{h_{\text{wz.w.}} \cdot 0,965},$$

gdzie:

h_{poch} - wysokość piksu pochodnej ETU (cm),

$h_{\text{wz.w.}}$ - wysokość piksu wzorca wewnętrznego (cm),

$m_{\text{wz.w.}}$ - stężenie wzorca wewnętrznego w roztworze (mg/cm^3),

f - współczynnik korekcyjny obliczony z krzywej kalibracji,

$$f = \frac{h_{\text{wz.w.}} \cdot m_{\text{poch}}^{0,95}}{h_{\text{poch}} \cdot m_{\text{wz.w.}}} = 0,817$$

0,965 - teoretyczne stężenie pochodnej ETU (mg/cm^3) po silylacji 2 mg ETU.

Wydajność reakcji otrzymywania pochodnej ETU-N,N-bis/trójmetylosililo/2-tiono-imidazolidyny z 2 mg etylenotiomocznika charakteryzują następujące dane:

pochodna ETU mg/cm^3	wydajność %	pochodna ETU mg/cm^3	wydajność %
0,919	95,33	0,964	99,98
0,913	94,61	0,972	100,74
0,921	95,41	0,914	94,73
0,927	96,09	0,939	97,36
0,960	99,56	0,945	97,92
0,913	94,61	0,929	96,27
0,967	100,20	0,933	96,68
0,965	100,00	0,943	97,72
0,939	97,36		

wydajność średnia 97,32%

WNIOSKI

1. Etylenotiomocznik ulega reakcji sililacji polegającej na podstawieniu w grupie iminowej w miejsce atomu wodoru grupy trójmetylosililowej - $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$;

2. Etylenotiomocznik pod wpływem mieszaniny HMDS i TMCS ulega częściowej sililacji z utworzeniem na etapie przejściowym pochodnej monosililowej, a w reakcji z BSTFA powstaje pochodna N,N-bis-trójmetylosililo -2-tiono-imidazolidyna (bis-TMS ETU).

3. Przy oznaczaniu pochodnej bis TMS ETU metodą chromatografii gazowej stwierdza się liniową zależność między stężeniem badanego związku i odpowiedzią detektora, a równanie prostej regresji ma postać $k = 1,147 c + 0,0033$.

4. W obecności nadmiaru odczynnika do sililacji (BSTFA) reakcja tworzenia pochodnej N,N-bis-trójmetylosililo ETU przebiega ilościowo do końca z wydajnością 97,32%.

LITERATURA

1. Birkofer L., Richter P., Ritter A.: "Aktivierung" N-haltiger Heterocyclen durch Silylierung. Chem. Berich., 1960, 99, 12, 2804-2809.
2. Boutoyan W.R., Looker J.B.: Degradation of commercial ethylene-bisdithiocarbamate formulations to ethylenethiourea under elevated temperature and humidity. J. Agric. Food Chem., 1973, 21, 3, 338-341.
3. Engst R., Schnaak W.: Residues of dithiocarbamate fungicides and their metabolites on plant foods. Res. Rev., 1974, 52, 45-67.
4. Gowers D.S., Gordon C.F.: Wybrane aspekty zdrowia publicznego a produkcja i stosowanie fungicydów etylenobis-dwutiokarbaminianu cynkowego i manganowego. Materiały z XIX Sesji Nauk. IOR, 1979, 497-522.
5. Graham S.L., Hansen W.H., Davis K.J., Perry C.H.: Effects of one-year administration of ethylenethiourea upon the thyroid of the rat. J. Agric. Food. Chem., 1973, 21, 3, 324-329.
6. Hirvi T., Pyysalo M., Savolainen K.: A glass capillary gas-liquid chromatography method for determining ethylene thiourea without derivatization. J. Agric. Food. Chem., 1979, 27, 1, 194-195.

7. Kaszutina M.W., Ioffe S.L., Tartakowskij W.A.: Silirowanije organiczeskich sojedinienij - Usp. Chim., 1975, XLIV, 1620-1648.
8. King R.R.: Derivatization of ethylenethiourea with m-trifluoromethyl-benzyl chloride for analysis by elektroncapture gas chromatography. J. Agric. Food. Chem., 1977, 25, 73-75.
9. Krasnodębski P., Grochowski E., Bolesławska T.: Zastosowanie mieszanic sililujących do analizy chromatograficznej cukrów, aminokwasów i steroidów. Przem. Chem., 1976, 55, 12, 600-602.
10. Marshal W.D.: „Advances in Pesticide Science” Pergaman-Press, 1978, Zurich, 601-607.
11. Miller V., Pacakova V.: Trimethylsilyllderivaty v plynove chromatografii. Chem. Listy, 1973, 11, 1121-1137.
12. Newsome W.H.: Determination of ethylenethiourea residues in plants. J. Agric. Food. Chem., 1972, 20, 967-969.
13. Onley J.H., Vip J.: Determination of ethylenethiourea residues in foods, using thin-layer and gas chromatography. J. Ass. Offic. Anal. Chem., 1971, 54, 165-169.
14. Onley J.H.: Gas-liquid chromatographic method for determining ethylene thiourea in potatoes, spinach, applesauce, and milk; colaborative study. J. Ass. Offic. Anal. Chem., 1977, 60 1111-1115.
15. Pierce A.: Silylation of organic compounds, 1968, Pierce Chemical Company, Rockford.

Б. Рыцай

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЭТИЛЕНОТИОМОЧЕВИНЫ (ЭТВ) В ФОРМЕ ПРОИЗВОДНОЙ ТРИМЕТИЛОСИЛИТОВОЙ С ПОМОЩЬЮ ГАЗОВОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

Р е з ю м е

Этиленотиомочевина (ЭТВ) является одним из главных производных этилено-бис-тио-карбаматов и имеет карциногенное и тератогенное действие. ЭТВ очень чувствительный к реакции сылиляции а его производные очень легко можно обнаружить с помощью хроматографического метода.

B. Rycaj

DETERMINATION OF ETYLENOTHIUREA (ETV) AS TRIMETHYLSILITE
DERIVATIVE USING GAS CHROMATOGRAPHY

S u m m a r y

Ethylenothiourea (ETV) is one of the main derivatives of ethyleno-bis-di-thio-carbamates and has carcinogenic and teratogenic effect. ETV is very liable to silylation reaction and its derivatives are easily detected using gas chromatography method.