

CHROM. 5058

Dünnschichtchromatographisch-enzymatischer und gaschromatographischer Nachweis von 4,4'-Dichlorbenzophenon und seinen Abbauprodukten

Die Chlorkohlenwasserstoff-Insektizide stellen wegen ihrer grossen Persistenz ein ernstes Problem für die Umwelt dar, nicht zuletzt deswegen, weil das stabilste Endprodukt der Abbaukette ebenso unbekannt ist wie dessen Wirkung. GEIKE¹ konnte zeigen, dass Chlorkohlenwasserstoffe auf Dünnschichtplatten die Rinderleber-Esterase beeinflussen und nach UV-Bestrahlung in relativ starke Esterasehemmer übergehen. Weiter konnte gezeigt werden, dass die Chlorkohlenwasserstoff-Insektizide nach UV-Bestrahlung Trypsin hemmen². In allen diesen Fällen entstehen zahlreiche, bisher nichtidentifizierte Bestrahlungsprodukte. Obwohl die anderen Chlorkohlenwasserstoffe sicher nicht weniger schädlich sind als DDT, ist gerade dieser Wirkstoff in die allgemeine Diskussion geraten — wahrscheinlich weil in letzter Zeit über seine Wirkung alarmierende Nachrichten publiziert wurden.

Nach UV-Bestrahlung entstehen nicht nur eine Reihe von Esterase-¹ und Trypsin-hemmenden² Substanzen aus DDT, sondern es wird auch die Lactoperoxydase gehemmt und das Absorptionsspektrum verändert³. Arbeiten von CHISHOLM *et al.*⁴ und FLECK⁵ zeigten, dass unter dem Einfluss von UV- und Sonnenlicht aus DDT unter anderem 4,4'-Dichlorbenzophenon entsteht, doch liegen bisher keine Daten über seine Wirkung auf Enzyme vor. Vorliegende Arbeit untersucht daraufhin auf dünnschichtchromatographischer Basis die Wirkung dieser Substanz und möglicher Abbauprodukte auf verschiedene Enzyme.

4,4'-Dichlorbenzophenon (Eastman Organic Chemicals, Rochester) wurde in einer Konzentration von 10 und 1 mg/ml Aceton gelöst. Mengen von 100 bis 4 µg Substanz wurden auf Kieselgel G-Platten¹ aufgetragen und in Cyclohexan-Aceton (10:4) chromatographiert. Nach dem Entwickeln wurde zunächst mit Puffer und anschliessend mit Rinderleber-Esterase¹, Trypsin² (E.C. 3.4.4.4 — Merck, Darmstadt) oder saurer Phosphatase (E.C. 3.1.3.2 — Boehringer; 2 U/mg mit 1 mg/ml Na-Acetat-Puffer pH 4.8 bei 5–7 ml/Platte) besprüht und eine halbe Stunde inkubiert. Danach wurde das jeweilige Substrat gesprüht (im Falle der Phosphatase 10 mg/ml Nitrophenylphosphat bei 5–7 ml/Platte). Die UV-Bestrahlung erfolgte nach oder vor und nach dem Entwickeln, wie an anderer Stelle beschrieben^{1,2}, wobei in diesem Falle das Besprühen mit Puffer stets unmittelbar vor der Enzymapplikation erfolgt.

Weder mit Trypsin noch mit saurer Phosphatase, die von einer Reihe von Chlorkohlenwasserstoff-Insektiziden und deren UV-Bestrahlungsprodukten gehemmt wird⁶, konnte unter Normalbedingungen oder nach UV-Bestrahlung eine Hemmung durch 4,4'-Dichlorbenzophenon festgestellt werden. Von den drei untersuchten Enzymen wird lediglich die Rinderleber-Esterase beeinflusst. Wie aus der Tabelle I hervorgeht, sind unter Normalbedingungen zwei Hemmflecke auf der Platte festzustellen, die nicht mit dem durch Rhodamin B nachgewiesenen 4,4'-Dichlorbenzophenon übereinstimmen. Von diesen beiden Hemmflecken ist der untere erheblich kleiner und etwas schwächer. Im Gaschromatogramm können bei Applikation von 1 µg neben dem 4,4'-Dichlorbenzophenon sogar drei Substanzen nachgewiesen werden, von denen die stärkste etwa 45 %, die zweite etwa 12 % und die dritte schliesslich knapp 4 % des 4,4'-Dichlorbenzophenonpeaks ausmachte. Werden 10 µg in den Gas-

TABELLE I

WIRKUNG VON 4,4'-DICHLORBENZOPHENON UND ZWEIER ANDERER SUBSTANZEN NACH VERSCHIEDENEN VORBEHANDLUNGEN AUF RINDERLEBER-ESTERASE

Nachweisgrenze bei 4 µg Auftragsmenge.

Substanz	Ohne Vorbehandlung	UV nach dem Entwickeln	UV vor und nach dem Entwickeln	<i>h</i> R _F -Werte nach UV	<i>h</i> R _F -Werte Rhodamin B
4,4'-Dichlorbenzophenon	—	++	++	70	70
Substanz X-1	++	++	++	14.6	—
Substanz X-2	+	+	+	11	—

chromatographen eingespritzt, so nehmen vornehmlich die erst- und zweitgenannte Substanz stark ab und sind bei 20 bzw. 50 µg Einspritzmenge nicht mehr zu finden, während die dritte Fremdschubstanz erhalten bleibt. Diese Erscheinung, dass der Anteil der Abbauprodukte bei grösseren Einspritzmengen prozentual abnimmt, ist in der Gaschromatographie von Pflanzenschutzmitteln gelegentlich festzustellen⁷, ein völliges Verschwinden konnte bisher jedoch nicht beobachtet werden*. Alle drei Begleitsubstanzen lassen sich nicht mit Rhodamin B nachweisen. Erst nach UV-Bestrahlung erscheint neben den ursprünglichen Hemmflecken, an deren Intensität sich nichts ändert, auch 4,4'-Dichlorbenzophenon als Hemmfleck. Die Nachweisgrenze liegt bei einer Auftragsmenge von 4 µg auf die Dünnschichtplatten. Legt man die Anteile zugrunde, die sich aus dem Gaschromatogramm mit 1 µg Substanz ergeben, dann liegt der Nachweis für die Abbauprodukte bei etwa 1,1 bzw. 0,3 µg, wobei angenommen wurde, dass den beiden gefundenen Hemmflecken die zwei neben dem 4,4'-Dichlorbenzophenon auftretenden Hauptpeaks im Gaschromatogramm zuzuordnen sind. UV-Bestrahlung vor und nach dem Entwickeln führt gegenüber den Ergebnissen, wo nur nach dem Entwickeln bestrahlt wurde, zu keiner Änderung in der Hemmintensität der vorhandenen oder zum Auftreten neuer Flecke.

Aufgrund der vorliegenden Ergebnisse erscheint es unwahrscheinlich, dass es sich bei den unter Normalbedingungen auftretenden Esterasehemmern um Verunreinigungen von der Synthese des 4,4'-Dichlorbenzophenons her handelt, da die untersuchte Substanz aufgrund der Angaben der Hersteller keine grösseren Verunreinigungen besitzt und nach Bestrahlung mit UV-Licht ebenfalls in Esterasehemmer übergeht. Eine Identifizierung dieser Abbauprodukte wird für die Zukunft angestrebt, um dann mit reinen Substanzen eingehendere Untersuchungen über ihre Wirkung auf Enzyme durchführen zu können.

Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft,
Institut für Pflanzenschutzmittelforschung, DI Berlin 33 (B.R.D.)

F. GEIKE

- 1 F. GEIKE, *J. Chromatog.*, 44 (1969) 95.
- 2 F. GEIKE, *J. Chromatog.*, 52 (1970) 447.
- 3 F. KIERMEIER, R. KERN UND G. WILDBRETT, *Z. Naturforsch.*, 17B (1962) 794.
- 4 R. D. CHISHOLM, R. H. NELSON UND E. E. FLECK, *J. Econ. Entomol.*, 42 (1949) 154.
- 5 E. E. FLECK, *J. Amer. Chem. Soc.*, 71 (1949) 1034.
- 6 F. GEIKE, in Vorbereitung.
- 7 W. EBING, persönliche Mitteilung.

Eingegangen am 21. September 1970

* Bei einer acht Wochen später durchgeführten gaschromatographischen Untersuchung der gleichen Lösungen liess sich ausser 4,4'-Dichlorbenzophenon keine weitere Substanz nachweisen. Die erhebliche Schwanzbildung des Lösungsmittel- und 4,4'-Dichlorbenzophenonpeaks, die sogar über die früheren Substanzpeaks hinausreicht, spricht jedoch für einen weiteren Abbau.