

## BEITRÄGE ZUR ÖKOLOGISCHEN CHEMIE—XXV<sup>1</sup> UMWANDLUNG UND RÜCKSTANDSVERHALTEN VON ENDRIN-<sup>14</sup>C IN BAUMWOLLE

A. BAYLESS, I. WEISGERBER, W. KLEIN und F. KORTE

Institut für ökologische Chemie, Schloss Birlinghoven

(Received in Germany 5 September 1969; Received in the UK for publication 17 September 1969)

**Zusammenfassung**—Bei drei Applikationen wurden auf die Blattoberseiten von Baumwollpflanzen insgesamt 12.6 mg endrin-<sup>14</sup>C/Pflanze fein verteilt aufgetragen. 12 Wochen nach der letzten Applikation wurden noch 33% der applizierten Radioaktivität wiedergefunden, 26% auf und in den Blättern, die übrige in Stengeln, Kapseln, Fasern, Samen und Erde. Die wiedergefundene Radioaktivität besteht neben Endrin aus mindestens 5 weiteren Substanzen. Das Hauptabbauprodukt ist mit dem Keto-Umlagerungsprodukt des Endrins identisch.

**Abstract**—A total of 12.6 mg of Endrin-(<sup>14</sup>C) per plant was applied in 3 equal portions on the upper leaf surfaces of cotton plants. 12 Weeks after the last application 33% of the applied radioactivity was recovered, 26% on and in the leaves; the remainder was found in the stalks, pods, fibres, seeds and soil. The recovered activity consists of endrin and at least 5 conversion products, one of which is identical with the keto-rearrangement product of endrin.

IN FRÜHEREN Arbeiten untersuchten wir Rückstandsverhalten, Verteilung und Umwandlung von Endrin-<sup>14</sup>C in Weisskohl<sup>2</sup> und in Tabak.<sup>3</sup> Endrin wird häufig in Kombinationspräparaten mit Parathion zur Bekämpfung von Baumwollschädlingen eingesetzt. Über die chemische Veränderung von Endrin nach Applikation auf Baumwolle ist bisher nur das Auftreten geringer Mengen des Photoumlagerungsprodukts von Endrin auf den Blattoberflächen bekannt.<sup>4</sup> Es war von Interesse zu erfahren, ob Endrin nach Blattapplikation auch in Baumwollpflanzen aufgenommen und umgewandelt wird und wie hoch die Rückstände von Endrin und Abbauprodukten in den Samen und Fasern sind.

Zur Klärung dieser Fragen wurden 11 Baumwollpflanzen kurz nach dem Ansatz von Blütenknospen mit je 4.2 Endrin (<sup>14</sup>C) behandelt, das in kleinsten Tröpfchen in acetonischer Lösung auf die Blattoberseiten aufgetragen wurde. Anschliessend wurden die Pflanzen mit Parathion besprüht. Nach 2 und weiteren 6 Wochen wurde die Insektizidbehandlung in gleicher Weise wiederholt. 12 Wochen nach der letzten Applikation wurden die Pflanzen aufgearbeitet, indem Blätter, Stengel, Wurzeln, Kapseln, Samen und Fasern getrennt erschöpfend extrahiert wurden und die Radioaktivität in den Extrakten gemessen wurde.

Eintauchen der Blätter in Methanol vor den Homogenisation ermöglichte es, die auf der Blattoberfläche verbliebene Radioaktivität getrennt von der aufgenommenen zu messen.

1. *Rückstandsverhalten und Verteilung.* Die in den Proben gefundenen Radioaktivitäten und Rückstände, bezogen auf das Molekulargewicht von Endrin, sind in Tab. 1 zusammengestellt.

TABELLE 1. VERTEILUNG DER RADIOAKTIVITÄT UND RÜCKSTÄNDE IN BAUMWOLLE UND ERDE NACH APPLIKATION VON ENDRIN-<sup>14</sup>C.

Probe		% Bez. auf appl. Akt.	% Bez. auf wiedergef. Akt.	Konzentration (ppm)*
Lebende Blätter	aussen	5.4	16.2	19.5†
	innen	4.7	14.3	17.1
Abgestorbene Blätter	aussen	10.4	31.5	129.0†
	innen	5.8	17.7	72.2
Stengel		0.1	0.27	0.33
Wurzeln		n.n.	n.n.	n.n.
Kapseln		0.02	0.06	4.9
Fasern		0.001	0.003	0.36
Samen		0.0002	0.0006	0.033
Erde		6.6	20.0	0.0053
Gesamte wiedergefundene Radioaktivität		33.0	100.0	33.9 (ohne Erde)

\* ppm bezogen auf das Molekulargewicht von Endrin.

† ppm bezogen auf das Gewicht der Blätter.

Aus der Tabelle 1 geht hervor, dass von der applizierten Aktivität nur noch 33% in Pflanzen und Erde wiedergefunden werden konnten. Insgesamt 79.7% der wiedergefundenen Radioaktivität befanden sich auf und in den Blättern, der grösste Teil und auch die höchste Konzentration auf und in dünnen Blättern, die während des Versuchs abgestorben waren. Die Rückstände auf und in abgestorbenen Blättern sind besonders hoch (ca. 200 ppm), da die Applikationsdosis höher lag als in der Praxis, unter Gewächshausbedingungen höhere Rückstände als im Freien zu erwarten sind und es früher gezeigt wurde,<sup>2</sup> dass lebende Pflanzen aktiv an der Erniedrigung der Rückstände beteiligt sind. Der Methanolextrakt der Samen bestand aus einer methanolischen Phase und einem Öl, welches mit Cyclohexan aufgenommen wurde. In der methanolischen Phase konnte keine Radioaktivität nachgewiesen werden, während im Öl ca. 0.03 ppm, bezogen auf den Samen, vorhanden waren.

In diesem Zusammenhang ist zu bemerken, dass bei niedrigen Rückstandswerten in Gesamtproben mit geringem Gewicht (z.B. Samen und Fasern) ein grosser Messfehler anzunehmen ist, da die Zielgenauigkeit bei Szintillationszählungen niedriger Aktivität bekanntlich schlecht ist.

2. *Umwandlung.* In den Pflanzen und der Erde konnten radio-dünnschichtchromatographisch neben Endrin 2 Gruppen von Abbauprodukten nachgewiesen werden. Die erste Gruppe ist nur wenig hydrophiler als Endrin selbst, während die Substanzen der zweiten Gruppe sehr hydrophil sind. Die Anteile der beiden Gruppen an der Radioaktivität der einzelnen Extrakte sind in Tab. 2 angegeben. Für Extrakte, die

nur eine geringe Radioaktivität enthielten, war die getrennte quantitative Bestimmung von Endrin und Substanzgruppe 1 nicht möglich.

TABELLE 2. UMWANDLUNGSRATEN IN PFLANZENORGANEN UND ERDE NACH BLATTAPPLIKATION VON ENDRIN-( $^{14}\text{C}$ ) AUF BAUMWOLLE

Probe		% Endrin*	% Umwandlungsprodukte*		
			Gruppe 1	Gruppe 2	Gesamt
Lebende Blätter	aussen	79	15	6	21
	innen	71	20	9	29
abgestorbene Blätter	aussen	75	19	6	25
	innen	75	12	13	25
Stengel		85	12	3	15
Kapseln		90		10	> 10
Fasern		88		12	> 12
Erde		81	16	3	19
gesamte wiedergefundene Radioaktivität		76	17	7	24

\* % bezogen auf Radioaktivität des betreffenden Extrakts.

Gruppe 2 besteht aus mindestens 2 Komponenten, Gruppe 1 aus 3 Substanzen (A, B, C). In 5 dünnstichtchromatographischen Systemen (3 Laufmittelgemische Kieselgel G, 2 Laufmittelgemische Aluminiumoxid) waren A und B nicht zu trennen und  $R_f$ -identisch mit Endrin keton. Nach der Isolierung konnte A durch fraktionierte Kristallisation rein erhalten werden und gab gaschromatographisch nur einen Peak mit der Retentionszeit von Endrinketon. Das Massenspektrum und IR-Spektrum von A ist mit dem einer authentischen Probe von Endrinketon identisch.

Auch auf endrinbehandelten Apfelbaumblättern<sup>5</sup> sowie in geringen Mengen in Weisskohl<sup>2</sup> wurde ein Umwandlungsprodukte gefunden mit dem chromatographischen Verhalten von Endrinketon.

B konnte nicht frei von Endrinketon isoliert werden. Das Massenspektrum des Gemischs zeigt jedoch, dass B ein höheres Molekulargewicht als A hat und das chlorierte Grundgerüst des Endrins enthält.

#### BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

**Radioaktivitätsbestimmung.** Die Lösungen wurden mit Szintillationszählern Tri-Carb 3214 und 3380 (Packard) und folgender Szintillatorlösung gemessen: 8 g Omnifluor (NEN), 100 g Naphthalin, 100 ml Methanol, 1000 ml Dioxan. Die Dünnschichtchromatogramme wurden ausgewertet mit dem DC-Scanner mit  $2\pi$ -Durchflusszählrohr. Zur quantitativen Auswertung wurden die radioaktiven Zonen der DC in Zählgläser überführt und im Szintillationszähler gemessen. Dünnschichtchromatogramme von schwach aktiven Lösungen wurden nach Unterteilung des Chromatogramms in 1 cm breite Zonen nur in der beschriebenen Weise im Szintillationszähler ausgewertet.

**Dünnschichtchromatographie.** Die Dünnschichtchromatographie wurde durchgeführt: 1. auf Kieselgel

G "Merck" mit den Laufmittelsystemen: I: Benzol; II: Benzol/Essigester 3:1; III: Essigester/Methanol 3:1. 2. auf Aluminiumoxid (Merck, Typ E) mit den Laufmittelsystemen: IV: n-Hexan/Azeton 4:1; V: Cyclohexan.

*Kulturbedingungen und Aufarbeitung der Baumwollpflanzen.* 11 Baumwollpflanzen wuchsen in Kästen von  $45 \times 30 \times 20$  cm, die in einem Treibhaus aufgestellt waren (Temp.  $\geq 21^\circ$ ). Während der ersten 6 Wochen nach der Keimung wurden die Pflanzen 12 Stunden/Nacht verdunkelt. Kurz vor Ansatz der Blütenknospen wurden auf jede Pflanze 600  $\mu$ l einer Lösung von 17 mg Endrin- $(^{14}\text{C})$  (spez. Aktivität 1,85 mC/mM) und 313 mg inaktivem Endrin in 50 ml Azeton mit einer 100  $\mu$ l Hamilton-Spritze in kleinen Tröpfchen auf die Blattoberseiten appliziert.

Anschließend wurden die Pflanzen mit insgesamt ca. 30 ml einer Suspension von 0.38 ml E 605 forte liq. (Bayer) in 500 ml Wasser besprüht. 14 Tage später wurden die Pflanzen in gleicher Weise mit Endrin und E 605 forte behandelt. Eine dritte Applikation erfolgte nach weiteren 6 Wochen, als die Pflanzen bereits erste Früchte angesetzt hatten. 12 Wochen nach der letzten Applikation wurden die Pflanzen aufgearbeitet, indem abgestorbene Blätter, lebende Blätter, Stengel, Wurzeln, Kapseln, Fasern und Samen getrennt mit einem Ultra-Turrax in Methanol homogenisiert und mit einem Soxhlet-Extraktor 48 Stunden lang unter Rückfluss mit dem gleichen Methanol extrahiert wurden. Abgestorbene und lebende Blätter wurden vor der Homogenisation in Methanol getaucht. Ein Teil der gut durchmischten Erde wurde in gleicher Weise 48 Stunden extrahiert. Die Radioaktivität aller Extrakte und Tauchlösungen wurde bestimmt, indem 100–500  $\mu$ l jeder Probe im Szintillationszähler ausgezählt und die Zerfallsrate auf das Gesamtvolumen der Probe umgerechnet wurde. Die Aktivität des Erdextraktes wurde auf die gesamte Erde umgerechnet.

Die Gaschromatographie wurde ausgeführt mit dem Gerät Aerograph 1520 (Varian) und einer Glassäule 1.50 m,  $\phi$  4 mm, Chromosorb W + 2% DC 550, Trägergas  $\text{N}_2$  und EC-Detektor. Injector:  $200^\circ$ ; Detektor:  $210^\circ$ ; Säule  $180^\circ$ .

Massenspektrometrie. Atlas CH4, Direkteinlass  $75^\circ$ , Ionenquelle  $230^\circ$ .

*Danksagung*—Herrn Prof. Dr. G. Fischbeck danken wir für die freundliche Überlassung eines Gewächshausplatzes für die Züchtung der Baumwolle. Herrn Prof. Dr. E. Schulze und Herrn Dr. E. Grosse-Braukmann danken wir für Hinweise zur Baumwollzucht. Für Hilfe bei der experimentellen Durchführung danken wir Frau B. Saueressig.

#### LITERATUR

- <sup>1</sup> XXIV. Mitteilung: G. Altmeier, W. Klein und F. Korte, Metabolismus von Endrin in perfundierten Rattenlebern, *Tetrahedron Letters* No. 49, 4269 (1969).
- <sup>2</sup> I. Weisgerber, W. Klein, A. Djirsarai und F. Korte, *Liebigs Ann.* 713, 175 (1968).
- <sup>3</sup> I. Weisgerber, W. Klein und F. Korte, *Ibid.*, im Druck.
- <sup>4</sup> J. M. Bann, S. C. Lau, J. C. Potter, H. W. Johnson, A. E. O'Donnell, F. T. Weiss, *J. Agr. Food Chem.* 6, 196 (1958).
- <sup>5</sup> R. B. Harrison, D. C. Holmes, J. Roburn, J. O'G Tatton, *J. Sci. Food Agric.* 18, 10 (1967).