

CHROM. 5339

DÜNNSCICHTCHROMATOGRAPHISCH-ENZYMATISCHER NACHWEIS
VON CARBAMATENII. NACHWEIS HERBIZIDER CARBAMATE MIT RINDERLEBER-
ESTERASE

F. GEIKE

*Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Institut für Pflanzenschutzmittelforschung,
D 1 Berlin 33 (B.R.D.)*

(Eingegangen am 8. März 1971)

SUMMARY

Thin-layer chromatographic-enzymatic identification of carbamates. II. Identification of carbamate herbicides with bovine liver esterase

Carbamate-type herbicides can be detected by means of a thin-layer chromatographic-enzymatic inhibition technique with bovine liver esterase. The minimum quantities detected were in the range of 3–100 μg for the N-phenylcarbamates and 5–30 μg for the thiolcarbamates, depending on pretreatment. Under normal assay conditions and after bromine treatment N-phenylcarbamates show a more intense colour. No activation of the esterase takes place, however, and it is supposed that this phenomenon is due to a reaction between enzymatic degradation products and Fast Blue Salt B. After UV irradiation these substances are real inhibitors. The thiolcarbamates studied show inhibitory activity against bovine liver esterase. After UV irradiation only Diallate and Triallate are stronger inhibitors, while Eptam, Vernolate, and Pebulate remain unaffected. Bromine treatment has only a slight effect. Kinetic studies with Eptam and Vernolate show that thiolcarbamates are degraded to other antiesterase substances and it is supposed that the degradation products are the sulphoxides and/or sulphones.

EINLEITUNG

Über die Wirkung der herbiziden Carbamate ist noch immer relativ wenig bekannt. Die ersten Arbeiten liessen vermuten, dass es sich bei dieser Wirkstoffklasse um Mitosegifte handelt, da es nach Propham-Behandlung zu mitotischen Aberrationen in bestimmten Wurzel- und Schösslingszellen von Avena und Allium kommt¹. Als Ursache dieser Veränderungen wird eine Beeinträchtigung der Wirkung der Spindelfasern und damit das Ausbleiben einer Trennung der Chromosomen in der Metaphase angesehen¹. Dieser Eingriff in den Spindelmechanismus dürfte nach IVENS UND BLACKMAN² auf einer Wechselwirkung der Carbamate mit Spindelproteinen und einer sich daraus ergebenden intramolekularen Präzipitation und Faltung der Proteinketten unter Spindelintegration beruhen. Da andererseits Äthyl-phenylcarbamate

das Wachstum von Gerste schon in Konzentrationen hemmt, die noch keinen Einfluss auf die Spindel haben, müssen daneben noch andere Hemmmechanismen vorliegen². Ein erhöhter Gehalt an reduzierenden Zuckern und Sucrose deutet auf eine Blockierung des Kohlenhydratabbaus hin³. Ausserdem findet man eine deutliche Reduzierung der Atmung³. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch SWANSON *et al.*⁴, die feststellten, dass Chlorpropham bei Baumwollwurzeln die Atmung um 50 % hemmt, ein Effekt, der auf einer Hemmung der Glycolyse durch Eingreifen in die Phosphorylierung von Hexosen beruhen könnte⁴. Auch eine Verstärkung der Phosphatase-Aktivität mit einem gleichzeitigen Anstieg von Phosphat und freien Zuckern konnte bei Reis-Sämlingen nach Propham-Behandlung festgestellt werden⁵.

Den bisher geschilderten Beobachtungen über die Wirkung herbizider Carbamate auf Stoffwechselfvorgänge bei Pflanzen dürfte zweifelsohne eine gewisse Bedeutung zukommen, doch scheint ihr Eingriff in den Photosyntheseprozess für ihre Wirkung als Herbizide viel tiefgreifender zu sein. Von den Alkyl-N-chlorphenyl-carbamat-herbiziden ist seit langem bekannt, dass sie die Hill-Reaktion hemmen^{6,7}. Allerdings weisen auch diese Autoren^{6,7} darauf hin, dass der Wirkungsmechanismus der Carbamat-Herbizide nicht so einfach ist und nicht ausschliesslich auf einer Hemmung der Photosynthese beruht, sondern dass die Substanzen in zahlreiche Stoffwechselprozesse der Zelle eingreifen.

Während über die Wirkung der herbiziden Carbamate in Pflanzen wenigstens schon einige Hinweise vorliegen, ist über ihre Beeinflussung tierischer Enzyme bisher noch nichts bekannt. Vorliegende Arbeit berichtet erste Ergebnisse über die Wirkung von herbiziden Carbamaten auf Rinderleber-Esterase auf dünn-schichtchromatographischer Basis.

MATERIAL UND METHODEN

Reagenzien

Alle verwendeten Lösungsmittel und Chemikalien waren analysenrein und stammten von der Firma Merck, Darmstadt. Zur Plattenbeschichtung wurde Kieselgel G nach Stahl mit *ca.* 13 % CaSO₄ und einer mittleren Korngrösse von 10–40 μ von der gleichen Firma genommen.

Enzym- und Substratlösung

Die Herstellung der Enzympräparation und Substratlösung erfolgte in Anlehnung an ACKERMANN⁸, doch wurde, wie schon früher beschrieben⁹, das Homogenisieren der Leber und die Verdünnung der Enzympräparation mit Phosphatpuffer pH 7.0 durchgeführt. Für das Besprühen der Platten wird eine etwa 1:60 verdünnte Enzymlösung genommen.

Wirkstofflösungen und Dünnschichtchromatographie

Die untersuchten Wirkstoffe (Tabelle I) wurden in Konzentrationen von 10 mg/ml in Aceton gelöst, auf handgegossene Kieselgel G-Platten⁹ aufgetragen und in verschiedenen Laufmittelsystemen (Tabelle II) chromatographiert.

Durchführung des enzymatischen Hemmtestes

Die Platten wurden nach dem Entwickeln sofort oder nach halbstündiger Bestrahlung mit UV-Licht der Wellenlängen 254/366 nm einer Desaga Uvis-Lampe bei

TABELLE I

NAME UND STRUKTUR DER UNTERSUCHTEN HERBIZIDEN CARBAMATE

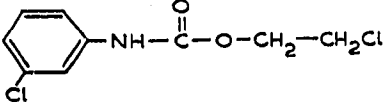
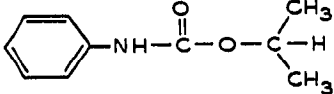
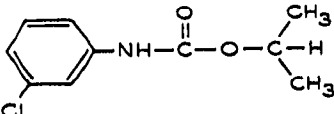
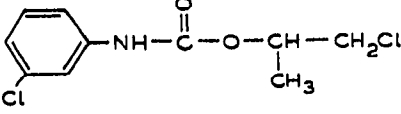
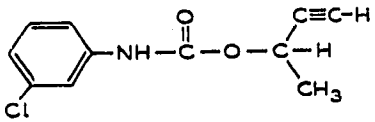
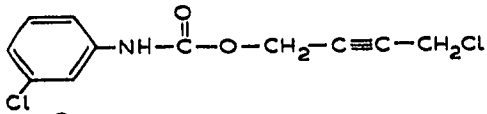
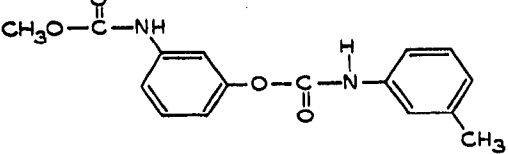
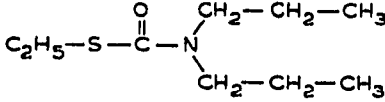
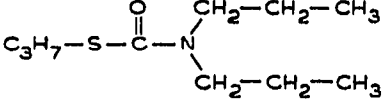
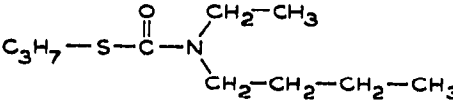
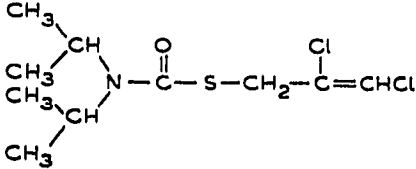
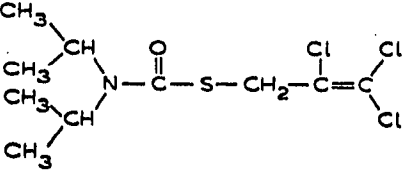
Trivial-Name	Chemische Bezeichnung	Strukturformel
CEPC	N-(3-Chlorphenyl)-2-chloräthylcarbamate	
Propham (IPC)	N-Phenyl-isopropylcarbamate	
Chlorpropham (CIPC)	N-(3-Chlorphenyl)-isopropylcarbamate	
CPPC	N-(3-Chlorphenyl)-1-methyl-2-chloräthylcarbamate	
Chlorbufam	N-(3-Chlorphenyl)-1-methylpropin-(2)-ylcarbamate	
Barban	N-(3-Chlorphenyl)-4-chlorbutin-(2)-ylcarbamate	
Phenmedipham	N-(3'-Methylphenyl)-3-methoxycarbamylaminophenylcarbamate	
Eptam (EPTC)	S-Äthyl-N,N-dipropylthiolcarbamate	
Vernolate	S-Propyl-N,N-dipropylthiolcarbamate	
Pebulate (PEBC, Tillam)	S-Propyl-N,N-butyläthylthiolcarbamate	
Diallat	S-2,3-Dichlorallyl-N,N-diisopropylthiolcarbamate	
Triallat	S-2,3,3-Trichlorallyl-N,N-diisopropylthiolcarbamate	

TABELLE II

VERWENDETE LAUFMITTELSYSTEME (v/v) ZUR TRENNUNG DER UNTERSUCHTEN HERBIZIDEN CARBAMATE

Nr.	Laufmittelsysteme
1	Cyclohexan
2	Äthylmethylketon
3	Benzol-Aceton (95:5)
4	Benzol-Aceton (66:34)
5	Benzol-Dichlormethan (30:120)
6	Benzol-Chloroform (30:120)
7	Chloroform-Acetonitril (20:10)
8	Chloroform-Wasser (untere Phase) (90:50)
9	Cyclohexan-Dioxan (70:30)
10	Cyclohexan-Äthyläther (10:90)
11	Cyclohexan-Aceton (80:20)
12	Cyclohexan-Aceton-Toluol (50:10:10)
13	Cyclohexan-Aceton-Toluol-Äthylacetat (20:20:10:10)

einem Abstand Strahler-Platte von 15 cm zunächst leicht mit Puffer, anschliessend mit Enzymlösung besprüht und nach halbstündiger Inkubation bei 37° in der von ACKERMANN⁸ beschriebenen Weise weiterbehandelt. Die Brombehandlung der Platten erfolgt in der an anderer Stelle¹⁰ beschriebenen Weise.

ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Unter den hier angewandten Bedingungen reagieren grundsätzlich alle untersuchten herbiziden Carbamate mit der Rinderleber-Esterase. Die Nachweisempfindlichkeit liegt für alle Wirkstoffe im Mikrogrammbereich.

Die N-Phenylcarbamate zeigen in ihrer Wirkung auf die Rinderleber-Esterase weitgehende Übereinstimmung (Tabelle III). Für alle Verbindungen liegt die Nachweisgrenze bei 10 µg — lediglich Propham mit 40 µg und Phenmedipham mit 100 µg machen in diesem Zusammenhang eine Ausnahme. Die Empfindlichkeit ist damit nur wenig schlechter als bei den Chlorkohlenwasserstoffen⁹. Betrachtet man jedoch zum Vergleich die Nachweisgrenzen für die insektiziden Carbamate, so liegt diese mit Rinderleber-Esterase um etwa drei Zehnerpotenzen günstiger¹⁰. Diese erheblichen Unterschiede in der Nachweisempfindlichkeit zwischen herbiziden und insektiziden Carbamaten sind jedoch angesichts der Tatsache, dass letztere über eine Hemmung der Acetylcholinesterase wirken sollen, mehr als verständlich.

Während die insektiziden Carbamate nach UV-Bestrahlung stark an Antiesterase-Aktivität einbüßen¹⁰, kommt es bei den N-Phenylcarbamaten zu einer leichten Aktivierung (Tabelle III). Damit verhalten sie sich ähnlich wie die Chlorkohlenwasserstoffe⁹. Brombehandlung dagegen führt mit einer Ausnahme zu einer leichten Verschlechterung der Nachweisempfindlichkeit (Tabelle III), eine Eigenschaft, die sich auch bei den insektiziden Carbamaten findet¹⁰.

Die N-Phenylcarbamate nehmen beim Nachweis mit Rinderleber-Esterase eine gewisse Sonderstellung ein. Diese zeigt sich besonders nach Brombehandlung, aber in gewissem Umfange auch bei den unbehandelten Wirkstoffen. Nach Brombehandlung zeigen sich nicht die beim Nachweis durch Esterasehemmung üblichen weissen

TABELLE III

UNTERE NACHWEISGRENZEN VON SIEBEN N-PHENYLCARBAMATEN NACH VERSCHIEDENEN VORBEHANDLUNGEN INFOLGE BEEINFLUSSUNG DER RINDERLEBER-ESTERASE

Nachweisgrenze in μg ; Laufmittelsystem Benzol-Aceton (95:5).

I = Farbintensivierung nach Ausfärbung der Platte; (I) = Farbintensivierung, die manchmal an die Stelle von Hemmflecken tritt, bzw. "Hofbildung".

<i>Wirkstoff</i>	<i>Ohne Vorbehandlung</i>	<i>Nach Brombehandlung</i>	<i>Nach UV-Bestrahlung</i>
CEPC	10 (I)	15 I	6
Propham	40	50 (I)	30
Chlorpropham	10 (I)	15 I	6
CPPC	10 (I)	15 (I)	6
Chlorbufam	10 (I)	15 I	6
Barban	10 (I)	10 I	3
Phenmedipham	100 (I)	(3)	6

Hemmflecke, sondern es ist in der Regel eine intensivere Ausfärbung der Flecke zu beobachten, die sich deutlich vom Untergrund abhebt. Von einer Aktivierung des Enzyms kann jedoch nicht die Rede sein, da die Herbizidflecke nicht von Anfang an durch eine schnellere Ausfärbung auffallen, sondern erst nach Ausfärbung der Platte permanente blaue Flecke auf rotvioletterm Grund auftreten — ähnlich der Ausfärbung in der Lösungsmittelfront. Beim Nachweis ohne Vorbehandlung kommt es bei allen N-Phenylcarbamaten gelegentlich zu solchen Farbintensivierungen, die dann an die Stelle der Hemmflecke treten. Neben der gelegentlichen Farbintensivierung im Gesamtfleck findet man häufig eine Hofbildung; d.h. um die Hemmflecke bildet sich ein intensiv blaugefärbter Ring. Die Ursache für diese Farbintensivierung ist unbekannt. Da sie jedoch nur bei den N-Phenylcarbamaten auftritt, ist anzunehmen, dass diese Erscheinung für die Gruppe charakteristisch ist. Es ist zu vermuten, dass es zwischen Esterase und dem N-Phenylcarbamat zu einer Reaktion kommt, ähnlich jener zwischen Esterase und den insektiziden Carbamaten¹¹ und Phosphorsäureestern¹². Während es jedoch bei den Insektiziden zu einer mehr oder weniger stabilen Acylierung des Enzyms kommt, dürfte diese bei den Herbiziden aufgrund des Phenylrestes nur sehr instabil sein und unter Bildung des entsprechenden Isocyanats und schliesslich des Anilins hydrolysiert werden. Letzteres könnte mit Echtblausalz B, einem Diazo-Reagenz für Phenole und kupplungsfähige Amine, unter Farbstoffbildung reagieren. Um die Richtigkeit dieser Hypothese zu prüfen, wurden die N-Phenylcarbamate in Konzentrationen von 10–100 μg auf Dünnschichtplatten aufgetragen, mit Bromwasser behandelt und anschliessend eine Stunde mit 1:30 verdünntem Enzym inkubiert. Nach dem Besprühen mit Echtblausalz B zeigen Barban ab 50 μg und CEPC ab 70 μg aufwärts schwache blaue Flecke, Phenmedipham hingegen ab 50 μg aufwärts bräunliche Flecke auf weissem Grund. Ohne Esterase sind dagegen keinerlei Flecke festzustellen. Entsprechendes gilt für eine Inkubation der Platten mit normalem Substrat ohne Enzymgabe. Ob das Substrat eine Rolle bei dieser Carbamat-Spaltung spielt und wenn ja welche, bleibt abzuwarten. Durch die Einwirkung von Brom könnte die enzymatische Bildung von Anilin-Derivaten in bisher unbekannter Weise erleichtert werden. Da jedoch bei den unbehandelten N-Phenylcarbamaten in vielen Fällen zumindest eine Hofbildung zu beobachten ist, darf an-

genommen werden, dass die Carbamate bei geringen Konzentrationen, wie sie am Rande der Flecke herrschen dürften, in geringem Umfange auch ohne vorherige Veränderung des Wirkstoffes durch Bromeinwirkung zu Anilin-Derivaten gespalten werden. Diese Derivate würden dann durch die Kupplung mit Echtblausalz zu einer Blaufärbung führen und dadurch die Hofbildung hervorrufen. Bei den höheren Konzentrationen im Zentrum der Flecke scheint es hingegen zu einer echten Hemmung des Enzyms zu kommen, da hier keine Farbausbildung auftritt. Eine Klärung der Frage, ob unter Einwirkung der Rinderleber-Esterase Anilin-Derivate entstehen, ist zwar von grosser Bedeutung, muss jedoch späteren Arbeiten vorbehalten bleiben, da es hier primär um einen Nachweis der Carbamat-Herbizide geht und erst in zweiter Linie toxikologische und Stoffwechsel-Fragen zur Debatte stehen.

Die untersuchten Thiolcarbamate reagieren wesentlich einheitlicher als die N-Phenylcarbamate. Vor allem handelt es sich bei ihnen um echte Esterasehemmer, deren Nachweisgrenze allerdings um den Faktor 3 höher liegt als bei den meisten N-Phenylcarbamaten (Tabelle IV). Nach UV-Bestrahlung gehen nur Diallat und Triallat in stärkere Antiesterase-Substanzen über, während alle übrigen Wirkstoffe keine Veränderung zeigen. Durch Brombehandlung scheinen die Thiolcarbamate eher eine leichte Verbesserung der Nachweisempfindlichkeit zu erfahren. Damit unterscheiden sie sich deutlich von den N-Phenylcarbamaten.

TABELLE IV

UNTERE NACHWEISGRENZEN VON FÜNF THIOLCARBAMATEN NACH VERSCHIEDENEN VORBEHANDLUNGEN INFOLGE HEMMUNG DER RINDERLEBER-ESTERASE

Nachweisgrenze in μg ; Laufmittelsystem, Benzol-Aceton (95:5).

Wirkstoff	Ohne Vorbehandlung	Nach Brombehandlung	Nach UV-Bestrahlung
Eptam	30	20	30
Vernolate	30	20	30
Pebulate	20	20	20
Diallat	30	30	6
Triallat	30	20	5

Während sich die N-Phenylcarbamate durch die Farbintensivierung nach Brombehandlung und die Hofbildung bei den unbehandelten Wirkstoffen auszeichnen, zeigen die Thiolcarbamate eine andere interessante Eigenschaft. Schon bei der Ermittlung der unteren Nachweisgrenze in Benzol-Aceton (95:5) fiel auf, dass die Wirkstoffe nach einiger Zeit neben dem ursprünglichen einen weiteren Hemmfleck zeigten. Diese Erscheinung trat besonders auffällig bei der Bestimmung der hR_F -Werte in den verschiedenen Laufmitteln hervor. Schon nach wenigen Tagen mussten die Lösungen neu angesetzt werden, da zwei Flecke auftraten. Oft traten sogar schon am Tage der Neueinwaagen zwei Substanzflecke auf. Daraufhin wurden Eptam und Vernolate etwas eingehender untersucht, wobei die Beurteilung visuell nach der Stärke der Hemmflecke erfolgte. Die in Tabelle V wiedergegebene Kinetik des Auftretens eines zweiten Hemmfleckes unter verschiedenen Bedingungen zeigt, dass der Hemmfleck mit dem hohen hR_F -Wert, der dem Originalwirkstoff zugeschrieben wurde, oft erst nach einigen Tagen seine volle Hemmwirkung erreicht. Weiter ergibt sich,

TABELLE V

AUFTRETEN EINES UMWANDLUNGSPRODUKTES MIT ANTIESTERASE-WIRKUNG BEI ZWEI THIOLCARBAMATEN IN ABHÄNGIGKEIT VON DER ZEIT BEI UNTERSCHIEDLICHER MÖGLICHKEIT DER SAUERSTOFFEINWIRKUNG

Auftragmenge, 0.1 mg; Laufmittelsystem, Benzol-Dichlormethan (30:120).

+++ starke, ++ mittlere, + schwache, (+) gerade noch sichtbare Hemmflücke; kT nicht getestet.

Wirkstoff	Ansatz in	hR _F	Tage												
			0	2	5	9	12	16	19	22	26				
Eptam	10-ml-Kolben	62	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
	Enghals	15	-	-	-	-	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
	1-ml-Zylinder	62	+	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
	Weithals	15	+	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Vernolate	10-ml-Kolben	65	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
	Enghals	15	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	1-ml-Zylinder	65	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
	Weithals	15	+	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++

TABELLE VI

hR_F-WERTE DER UNTERSUCHTEN HERBIZIDEN CARBAMATE IN VERSCHIEDENEN LAUFMITTELSYSTEMEN

Auftragmenge, 0.1 mg.

Wirkstoff	Laufmittel	Tage													
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	
CEPC	0	100	65	84	94	81	64	100	67	45	62	93	55	52	88
Propham	0	100	66	95	78	69	100	100	68	45	70	94	62	58	90
Chlorpropham	0	100	72	95	83	74	100	100	73	43	71	95	60	64	92
CPPC	0	100	71	86	95	85	100	100	34	71	65	94	39	51	79
Chlorbufam	0	100	71	94	84	73	100	100	72	45	63	95	58	55	90
Barban	0	100	73	84	95	86	100	100	39	73	62	61	30	47	76
Phenmedipham	0	100	28	84	35	24	100	100	15	37	44	81	25	20	77
Eptam	0	100	26	76	97	62	100	100	22	71	89	100	30	27	76
Vernolate	0	100	25	81	97	65	100	100	83	48	93	100	85	85	97
Pebulate	0	100	27	82	97	77	100	100	75	48	91	100	84	85	96
Diallat	0	100	89	83	96	27	100	100	16	86	87	85	30	85	78
Triallat	0	100	92	97	92	91	100	100	28	90	93	100	88	88	76

dass der zweite Hemmfleck beim Ansatz in einem 1-ml-Weithalsmesszylinder wesentlich schneller und intensiver auftritt als beim Ansatz in einem 10-ml-Enghalsmesskölbchen. Aufgrund der Tatsache, dass die Proben im Kühlschrank im Dunkeln standen und nur bei Bedarf ins Licht kamen, dürften weder Licht noch Temperatur eine grössere Rolle bei dieser Umwandlung spielen. Vielmehr ist anzunehmen, dass der Luftsauerstoff der entscheidende Faktor ist und eine Oxidation der Thiolcarbamate zum Sulfoxid und/oder Sulfon für das Auftreten des zweiten Hemmflecks verantwortlich ist. Theoretisch sollte man drei Flecke erwarten. Dieser Fall trat jedoch während der Bestimmung der hR_F -Werte in den verschiedenen Laufmitteln nur ein einziges Mal ein. Die Tatsache, dass man in den ersten Tagen einen deutlichen Anstieg in der Antiesterase-Aktivität feststellen kann (Tabelle V), lässt vermuten, dass das Thiolcarbamat selbst gar nicht die Esterase hemmt, sondern erst die Oxidationsprodukte die Inhibitoren darstellen. Da nach UV-Bestrahlung mit Ausnahme von Diallat und Triallat bei keinem Thiolcarbamate eine Verstärkung der Hemmintensität zu beobachten ist (Tabelle IV), gewinnt die Interpretation an Wahrscheinlichkeit, dass bereits Oxidationsprodukte vorlagen. Vom chemischen Standpunkt dürfte der Mercaptoschwefel sehr schnell ins Sulfoxid übergehen, das seinerseits sehr schnell weiter zum Sulfon oxidiert würde.

Versuche zur dünnschichtchromatographischen Trennung der untersuchten Wirkstoffe in einer Reihe von Laufmittelsystemen brachten keine befriedigenden Ergebnisse, wie aus Tabelle VI hervorgeht. Aus der Tabelle ist zu ersehen, dass unter diesen Bedingungen nur einige Substanzen von den übrigen getrennt werden können. Die Ergebnisse zeigen allerdings auch, dass sich speziell das Laufmittel 9 (Cyclohexan-Dioxan, 70:30) zu Untersuchungen über das Auftreten von Abbauprodukten und Verunreinigungen bei den einzelnen Wirkstoffen eignet und sich für Stoffwechseluntersuchungen bei den Thiolcarbamaten auch das Laufmittel 5 (Benzol-Dichlormethan, 30:120) sehr gut verwenden lässt.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass hiermit erstmals die Wirkung von herbiziden Carbamaten auf Rinderleber-Esterase demonstriert wurde. Die Erfassungsgrenzen liegen dabei in einem vertretbaren Rahmen, obwohl chemische Nachweise zum Teil erheblich empfindlicher sind.

DANK

Mein besonderer Dank gilt Fräulein I. BLEICH für die sorgfältige Mitarbeit bei der Durchführung der Versuche.

ZUSAMMENFASSUNG

Die untersuchten herbiziden Carbamate lassen sich dünnschichtchromatographisch-enzymatisch mit Rinderleber-Esterase nachweisen, wobei die Nachweisgrenzen je nach Vorbehandlung zwischen 3 und 100 μg für die N-Phenylcarbamate und 5 und 30 μg für die Thiolcarbamate liegen. N-Phenylcarbamate zeigen ohne Vorbehandlung und nach Brombehandlung eine Farbintensivierung, die allerdings nicht auf einer Enzymaktivierung beruht. Vielmehr ist anzunehmen, dass dieses Phänomen auf einer Reaktion zwischen enzymatischen Abbauprodukten und Echtblausalz B beruht. Durch UV-Bestrahlung gehen diese Substanzen in echte Esterase-Hemmer über. Die

untersuchten Thiolcarbamate zeigen deutliche Antiesterase-Wirkung, und nur Diallat und Triallat gehen nach UV-Bestrahlung in stärkere Hemmer über, während Eptam, Vernolate und Pebulate unbeeinflusst bleiben. Brombehandlung hat nur einen geringen Einfluss. Kinetikuntersuchungen mit Eptam und Vernolate zeigen, dass die Thiolcarbamate zu anderen Antiesterase-Substanzen abgebaut werden, wobei es sich bei diesen Abbauprodukten möglicherweise um das Sulfoxid und/oder Sulfon handelt.

LITERATUR

- 1 W. B. ENNIS, *Amer. J. Bot.*, 35 (1948) 18.
- 2 G. W. IVENS UND G. E. BLACKMAN, *Nature*, 166 (1950) 954.
- 3 A. S. CRAFTS, *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 4 (1953) 253.
- 4 C. R. SWANSON, W. C. SHAW UND J. H. HUGHES, *Weeds*, 2 (1953) 253.
- 5 C. TOMIZAWA UND H. KOIKE, *Bull. Nat. Inst. Agr. Sci. (Japan), Ser. C*, (1954) 25.
- 6 J. S. C. WESSELS UND R. VAN DER VEEN, *Biochim. Biophys. Acta*, 19 (1956) 548.
- 7 D. E. MORELAND UND K. L. HILL, *J. Agr. Food Chem.*, 7 (1959) 832.
- 8 H. ACKERMANN, *J. Chromatogr.*, 36 (1968) 309.
- 9 F. GEIKE, *J. Chromatogr.*, 44 (1969) 95.
- 10 F. GEIKE, *J. Chromatogr.*, 53 (1970) 269.
- 11 I. B. WILSON, M. A. HARRISON UND S. GINSBURG, *J. Biol. Chem.*, 236 (1961) 1498.
- 12 R. D. O'BRIEN, *Insecticides — Action and Metabolism*, Academic Press, New York, 1967.

J. Chromatogr., 58 (1971) 257-265