

CHROM. 6162

AUSNUTZUNG DER ENZYMHEMMUNG VON PHENOXYALKANCARBON-  
SÄURE-HERBIZIDEN ZU DEREN DÜNNSCICHTCHROMATOGRAPHISCH-  
ENZYMATISCHEM NACHWEIS

F. GEIKE

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

(Eingegangen am 19. Mai 1972)

## SUMMARY

*The utilization of the inhibition of some enzymes by phenoxyalkanecarboxylic acid herbicides for their thin-layer chromatographic-enzymatic identification*

The thin-layer chromatographic-enzymatic inhibition technique using bovine liver esterase, alkaline and acid phosphatase, trypsine,  $\alpha$ - and  $\beta$ -amylase, and urease is studied for the detection of phenoxyalkanecarboxylic acid herbicides. With the exception of amylases, which are only weakly inhibited or not inhibited, all of the above-mentioned enzymes can be used for herbicide detection. Of all the enzymes studied, detection by inhibition of the acid phosphatase is most sensitive. In general, irradiation of the herbicides with UV light does not have much influence on the detection limits.

## EINLEITUNG

Über die Wirkung der Phenoxyalkancarbonsäuren, zu deren bekanntesten Vertretern 2,4-Dichlor- (2,4-D) und 2,4,5-Trichlorphenoxyessigsäure (2,4,5-T) gehören, ist mit Ausnahme der beiden genannten recht wenig bekannt. Chlorphenoxy-säuren hemmen die Hill-Reaktion, doch konnte keine Korrelation zwischen herbizider Aktivität und der Fähigkeit, die Hill-Reaktion zu hemmen, festgestellt werden<sup>1</sup>. Eine etwas grössere Übereinstimmung scheint in der Auffassung zu herrschen, dass 2,4-D über eine Veränderung des Indol-3-essigsäure-Gehaltes in höheren Pflanzen wirkt<sup>2-5</sup>. Bekannt ist auch die stimulierende Wirkung auf die Nucleinsäure-Polymerasen<sup>6-9</sup>. Intensive Stoffwechseluntersuchungen, in deren Verlauf Photosynthese, Ionenabsorption, Protein-, RNA- und DNA-Synthese gemessen wurden, deuten darauf hin, dass die Pflanzen durch abnormes Wachstum in der Wurzel-Spross-Achse sterben<sup>10</sup>. Auch ein Wurzelverfall der behandelten Pflanzen wurde festgestellt<sup>11,12</sup>, wobei dieser vor allem auf einen steilen Anstieg der Cellulase-Aktivität zurückgehen dürfte, der wiederum zu einer Durchlässigkeit der Zellwände und damit zu einem Austritt von Nucleotiden und Enzymen führt<sup>12</sup>.

Ein bevorzugtes Gebiet für Untersuchungen zum Wirkungsmechanismus ist der Einfluss auf den Kohlenhydratstoffwechsel, doch finden sich hier eine Reihe von Widersprüchen. Einerseits wird berichtet, dass nach 2,4-D-Behandlung der Glucose-Stoffwechsel über den Pentosephosphat-Cyclus stimuliert wird<sup>13</sup>, während andere eine Hemmung von Glycolyse und Pentosephosphat-Cyclus durch höhere 2,4-D-Konzentrationen feststellen, wobei die Glycolyse stärker gehemmt wird<sup>14</sup>.

Recht interessant sind die toxikologischen Daten für einige Phenoxysäuren. Die akute und chronische Toxizität von 2,4-D wird für Labortiere als gering angegeben, wobei kaum Unterschiede zwischen den verschiedenen Salzen und Estern gegenüber dem reinen Wirkstoff bestehen<sup>15</sup>. Die Toxizität gegenüber Fischen ist dagegen recht erheblich. Eine Zusammenstellung dieser Daten und Untersuchungen zur Toxizität gegenüber Karpfen findet sich bei SCHULZ<sup>16</sup>.

2,4,5-T ist in jüngster Zeit sehr in die Diskussion geraten, da man eine teratogene Wirkung feststellte<sup>17</sup>, die jedoch zunächst auf Verunreinigungen mit 2,3,7,8-Tetrachlordibenzo-*p*-dioxin zurückgeführt wurde<sup>18</sup>. Diesen Ergebnissen stehen Befunde entgegen, wonach sowohl das Dioxin als auch gereinigtes 2,4,5-T zu den Schädigungen führten<sup>19</sup>, und es wurde sogar die Ansicht vertreten<sup>20</sup>, dass zwischen den beiden Verbindungen eine synergistische Wirkung bestehen könnte. In einer neueren Arbeit wird gezeigt, dass sich 2,4,5-T selektiv im Dottersackepithel anhäuft<sup>21</sup>, woraus sich ein ähnlicher teratogener Wirkungsmechanismus wie für Trypanblau ergäbe, das sich dort ebenfalls anhäuft<sup>22</sup>. Für 2,4-D ist schliesslich noch eine Hemmung der Phosphorylase von Muskeln festgestellt worden<sup>23,24</sup>.

In vorliegender Arbeit werden die Phenoxyalkancarbonsäuren nach einem Screening-Verfahren auf ihre Wirkung auf eine Reihe von Enzymen und auf die Möglichkeit untersucht, diese Enzymhemmung für einen Nachweis dieser Verbindungen auszunutzen.

## MATERIAL UND METHODEN

### *Reagenzien*

Alle verwendeten Lösungsmittel und Chemikalien waren analysenrein und stammten von der Firma Merck, Darmstadt. Zur Plattenbeschichtung wurde Kiesel Gel G nach Stahl mit *ca.* 13% CaSO<sub>4</sub> und einer mittleren Korngrösse von 10–40  $\mu$  von der gleichen Firma genommen.

### *Wirkstofflösungen und Dünnschichtchromatographie*

Die in Tabelle I aufgeführten Phenoxyalkancarbonsäuren und ihre Ester wurden in Konzentrationen von 10 mg/ml in Aceton gelöst und bei Bedarf mit dem gleichen Lösungsmittel verdünnt. Die Wirkstoffe werden auf handgegossene Kiesel Gel G-Platten<sup>25</sup> aufgetragen und in Cyclohexan–Aceton (10:4) chromatographiert.

### *Durchführung des enzymatischen Hemmtests*

Die Platten werden nach dem Entwickeln sofort oder nach einstündiger Bestrahlung mit UV-Licht der Wellenlängen 254/366 nm einer Fluotest Universal-Lampe (Hanau) bei einem Abstand Strahler–Platte von *ca.* 20 cm zunächst leicht mit Puffer und anschliessend mit Enzymlösung besprüht. Nach einer Inkubation von 30 min bei 25° und 80–90% Luftfeuchte wird mit Substrat nachgesprüht und in

TABELLE I

NAME UND STRUKTUR DER UNTERSUCHTEN PHENOXYALKANCARBONSÄURE-HERBIZIDE

Trivial-Name	Chemische Bezeichnung	Strukturformel
2,4-D	2,4-Dichlorphenoxyessigsäure	
2,4,5-T	2,4,5-Trichlorphenoxyessigsäure	
MCPA	2-Methyl-4-chlorphenoxyessigsäure	
Dichlorprop <i>α</i> -(2,4-D)-P 2,4-DP	2-(2,4-Dichlorphenoxy)-propionsäure	
Fenoprop 2,4,5-TP <i>α</i> -(2,4,5-T)-P	2-(2,4,5-Trichlorphenoxy)-propionsäure	
Mecoprop <i>α</i> -MCPP CMPP	2-(4-Chlor-2-methylphenoxy)-propionsäure	
2,4-D-isopropyl	2,4-Dichlorphenoxyessigsäure-isopropylester	
2,4-D-butyl	2,4-Dichlorphenoxyessigsäure- <i>n</i> -butylester	
2,4,5-T-butyl	2,4,5-Trichlorphenoxyessigsäure- <i>n</i> -butylester	
2,4,5-T-hexyl	2,4,5-Trichlorphenoxyessigsäure- <i>n</i> -hexylester	

(Fortsetzung auf S. 336)

TABELLE I (Fortsetzung)

MCPA-hexyl	2-Methyl-4-chlorphenoxyessigsäure- <i>n</i> -hexylester	
MCPA-(2-butoxyäthyl)	2-Methyl-4-chlorphenoxyessigsäure-2-butoxyäthylester	
Mecoprop-äthyl	2-(4-Chlor-2-methylphenoxy)-propionsäure-äthylester	
Mecoprop-(3-oxybutyl) MCCP-(3-oxybutyl)	2-(4-Chlor-2-methylphenoxy)-propionsäure-3-hydroxy- <i>n</i> -butylester	
Mecoprop-(2-butoxy-äthyl) MCCP-(2-butoxyäthyl)	2-(4-Chlor-2-methylphenoxy)-propionsäure-2-butoxyäthylester	
Mecoprop-hexyl	2-(4-Chlor-2-methylphenoxy)-propionsäure- <i>n</i> -hexylester	
$\gamma$ -(2,4-D)-B 2,4-DB	4-(2,4-Dichlorphenoxy)-buttersäure	
$\gamma$ -(2,4,5-T)-B 2,4,5-TB	4-(2,4,5-Trichlorphenoxy)-buttersäure	
$\gamma$ -MCPB	4-(2-Methyl-4-chlorphenoxy)-buttersäure	

einigen Fällen direkt oder nach weiterer Inkubation unter obigen Bedingungen ausgewertet.

#### Enzym- und Substratlösungen

Für die Untersuchungen mit Rinderleberesterase erfolgte die Herstellung der

Enzympräparation und Substratlösung in Anlehnung an ACKERMANN<sup>26</sup>, doch wurde, wie schon früher beschrieben<sup>25</sup>, das Homogenisieren der Leber und die Verdünnung der Enzympräparation mit 0.02 M Phosphatpuffer pH 7.0 durchgeführt. Als Substrat diente Naphthylacetat und als Kopplungsreagenz Echtblausalz B. Für das Besprühen der Platte wurde eine etwa 1:60 verdünnte Enzymlösung (w/v) genommen.

Der dünn-schichtchromatographisch (DC)-enzymatische Nachweis mit Hilfe der Phosphatase-Hemmung erfolgte mit saurer Phosphatase aus Kartoffeln (EC 3.1.3.2—Boehringer, 2.0 U/mg) und alkalischer Phosphatase aus Kälbermucosa (EC 3.1.3.1—Serva, 1.0 U/mg) unter Verwendung von Nitrophenyl- bzw. Naphthylphosphat als Substrat, wobei im Falle des Naphthylphosphats Echtblausalz B als Kopplungsreagenz zugegeben wird. Die Methode des enzymatischen Hemmtests wurde an anderer Stelle ausführlich beschrieben<sup>25</sup>.

Die Trypsin-Untersuchungen wurden mit Trypsin aus Rinderpankreas (EC 3.4.4.4—Merck, 2.0 U/mg) durchgeführt. Als Substrat diente eine Suspension von N<sup>α</sup>-Benzoyl-DL-arginin-4-nitroanilidhydrochlorid in Puffer. Eine eingehende Beschreibung des Hemmtests findet sich in einer früheren Arbeit<sup>28</sup>.

Als Enzymquelle für den Nachweis mit Hilfe der Amylase-Hemmung diente α-Amylase aus *Bacterium subtilis* (EC 3.2.1.1—Merck, 170 U/mg) oder β-Amylase aus Gerste (EC 3.2.1.2—Merck, 28 U/mg) und als Substrat eine Lösung von löslicher Stärke in dem jeweiligen Puffer. Eine ausführliche Beschreibung der Durchführung des enzymatischen Hemmtests erfolgte an anderer Stelle<sup>29</sup>.

Für den Urease-Hemmtest wird eine Lösung von Urease (EC 3.5.1.5—Serva, 250 U/mg) in Phosphatpuffer pH 7.0 als Enzymquelle und eine solche von Harnstoff in einer 0.01% igen Bromthymolblau-Lösung als Substrat verwendet. Auch diese Methode wurde ausführlich an anderer Stelle beschrieben<sup>30</sup>.

## TABELLE II

UNTERE NACHWEISGRENZE (μg) DER UNTERSUCHTEN WIRKSTOFFE INFOLGE HEMMUNG DER RINDERLEBERESTERASE

Laufmittel: Cyclohexan-Aceton (10:4). I = Farbintensivierung.

Wirkstoff	Ohne Vorbehandlung	Nach UV-Bestrahlung
2,4-D	6	6
2,4,5-T	8	6
MCPA	8	3
Dichlorprop	7	5
Fenoprop	8	5
Mecoprop	7	2
2,4-D-isopropyl	80	60
2,4-D-butyl	60	60
2,4,5-T-butyl	80	50
2,4,5-T-hexyl	80 I	80 I
MCPA-hexyl	90	60
MCPA-(2-butoxyäthyl)	40	30
Mecoprop-äthyl	80	40
MCPP-(3-oxybutyl)	70	60
MCPP-(2-butoxyäthyl)	50	30
Mecoprop-hexyl	80 I	20
2,4-DB	8	8
2,4,5-TB	10	8
MCPB	20	5

TABELLE III

UNTERE NACHWEISGRENZE ( $\mu\text{g}$ ) DER UNTERSUCHTEN WIRKSTOFFE MIT UND OHNE UV-BESTRAHLUNG INFOLGE HEMMUNG DER ALKALISCHEN UND SAUREN PHOSPHATASE

Substrat: Nitrophenylphosphat bzw. Naphthylphosphat; Laufmittelsystem: Cyclohexan-Aceton (10:4). I = Farbintensivierung.

Wirkstoff	Ohne Vorbehandlung				Nach UV-Bestrahlung			
	Alkalische Phosphatase		Saure Phosphatase		Alkalische Phosphatase		Saure Phosphatase	
	Nitrophenyl- phosphat	Naphthyl- phosphat	Nitrophenyl- phosphat	Naphthyl- phosphat	Nitrophenyl- phosphat	Naphthyl- phosphat	Nitrophenyl- phosphat	Naphthyl- phosphat
2,4-D	30	20	10	40	30	20	10	30
2,4,5-T	30	20	8	20	30	20	10	30 I
MCPA	30	20	8	30	30	30	10	40
Dichlorprop	30	20	10	30	30	30	10	40
Fenoprop	10	20	4	6	10	20	6	6
Mecoprop	10	30	8	40	10	60	10	40
2,4-D-isopropyl	100	80	2	10	100	120	10	50 I
2,4-D-butyl	100	80	4	40 I	100	80	10	50 I
2,4,5-T-butyl	100	80	2	50 I	100	80	8	50 I
2,4,5-T-hexyl	80	80	2	40 I	80	70	4	6
MCPA-hexyl	150	80	8	8	—	70	6	4
MCPA-(2-butoxyäthyl)	—	80	60	90	—	80	90	70 I
Mecoprop-äthyl	—	80	50	80	—	80	70	60
MCPP-(3-oxybutyl)	150	80	80	100	100	80	90	80
MCPP-(2-butoxyäthyl)	150	80	60	80	100	80	70	70
Mecoprop-hexyl	80	100	6	60	100	60	4	50
2,4-DB	40	—	6	40	50	70	8	90 I
2,4,5-TB	40	—	6	40	50	60	8	90 I
MCPB	40	—	4	40	50	60	6	90 I

## ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Der DC-enzymatische Hemmtest kann wie andere Verfahren zum Nachweis biologisch aktiver Substanzen herangezogen werden, doch besitzt er zusätzlich den Vorteil, erste Hinweise über mögliche Wirkungen auf das jeweilige Enzym zu liefern.

Wie aus Tabelle II hervorgeht, wird die Rinderleberesterase durch alle untersuchten Wirkstoffe beeinflusst, wobei 2,4,5-T-hexyl und Mecoprop-hexyl eigenartigerweise eine Farbintensivierung hervorrufen, die aufgrund der Art der Fleckenausbildung sicher nicht als eine Aktivierung der Esterase anzusehen ist. Die Nachweisgrenzen liegen für die freien Säuren erheblich niedriger als für die Ester, was eine stärkere Enzymhemmung bedeutet. Da dennoch die akute und chronische Toxizität kaum Unterschiede zwischen beiden aufweist<sup>15</sup>, könnte dies ein Hinweis dafür sein, dass es im Körper zu einer schnellen Hydrolyse der Ester kommt. Eine UV-Bestrahlung der Wirkstoffe führt in den meisten Fällen zu einer leichten und in manchen Fällen sogar zu einer stärkeren Verbesserung der Nachweisempfindlichkeit.

Auch beide Phosphatasen werden durch die Phenoxysäuren und ihre Ester gehemmt (Tabelle III). Bei der alkalischen Phosphatase gestaltet sich der Nachweis mit Naphthylphosphat als Substrat und Echtblausalz B als Kopplungsreagenz mit einigen Ausnahmen durchweg empfindlicher als der Nachweis mit Nitrophenylphosphat. Auch in Falle der alkalischen Phosphatase bestätigen sich die bei der Leberesterase gemachten Beobachtungen, dass die Phenoxysäure-Ester im Vergleich zu den freien Säuren das Enzym in den meisten Fällen weniger stark hemmen. Eine UV-Bestrahlung hat in der Regel keinen Einfluss auf die Nachweisempfindlichkeit, obwohl in manchen Fällen leichte Veränderungen nach beiden Seiten in der Hemmintensität festzustellen sind.

Ein Nachweis infolge Hemmung der sauren Phosphatase gestaltet sich in den meisten Fällen empfindlicher, wobei auffällt, dass man nicht mehr eine so klare Trennung zwischen freien Säuren und den Estern in der Hemmintensität beobachten kann. Auffällig ist auch, dass der Nachweis mit Nitrophenylphosphat in der Regel empfindlicher ausfällt. Eine UV-Bestrahlung führt vielfach zu einer Nachweisverschlechterung.

Nicht unerwähnt bleiben sollte auch die Farbintensivierung, die bei einigen Wirkstoffen mit Naphthylphosphat/Echtblausalz B auftritt (Tabelle III). Wie schon bei der Leberesterase scheint auch hier keine echte Aktivierung vorzuliegen, da diese Wirkstoffe bei Verwendung von Nitrophenylphosphat als Substrat deutliche Hemmflecke liefern.

Die Ergebnisse über die Beeinflussung der Phosphatase-Aktivität durch 2,4-D, das in diesem Zusammenhang am besten untersucht wurde, sind recht unterschiedlich. Während einerseits 2,4-D einen Anstieg der Phosphatase-Aktivität bewirken soll<sup>31</sup>, finden andere Autoren eine deutliche Verminderung<sup>32</sup>, wobei die Ergebnisse in beiden Fällen keine direkte Wechselwirkung zwischen Enzym und Wirkstoff wiedergeben, sondern Enzymspiegelmessungen darstellen.

Die Wirkung auf proteolytische Enzyme wird in Form dieses DC-enzymatischen Nachweises erstmals untersucht. Dabei zeigt sich, dass Trypsin von allen Wirkstoffen gehemmt wird (Tabelle IV). Wie schon bei den anderen Enzymen tierischer Herkunft (Esterase, alkalische Phosphatase) erwiesen sich die freien Säuren auch beim Trypsin-Hemmtest im Vergleich zu den Estern als stärkere Inhibitoren. Auch hier hat UV-

TABELLE IV

UNTERE NACHWEISGRENZE ( $\mu\text{g}$ ) DER UNTERSUCHTEN WIRKSTOFFE INFOLGE HEMMUNG VON TRYPSIN

Laufmittel: Cyclohexan-Aceton (10:4).

Wirkstoff	Ohne Vorbehandlung	Nach UV-Bestrahlung
2,4-D	10	30
2,4,5-T	8	8
MCPA	10	20
Dichlorprop	10	30
Fenoprop	8	10
Mecoprop	8	30
2,4-D-isopropyl	70	60
2,4-D-butyl	70	70
2,4,5-T-butyl	70	70
2,4,5-T-hexyl	70	70
MCPA-hexyl	80	80
MCPA-(2-butoxyäthyl)	80	80
Mecoprop-äthyl	80	80
MCPP-(3-oxybutyl)	80	80
MCPP-(2-butoxyäthyl)	80	80
Mecoprop-hexyl	90	130
2,4-DB	20	20
2,4,5-TB	20	8
MCPB	20	10

Bestrahlung nur einen recht geringen Einfluss auf die Nachweisempfindlichkeit.

Recht wenig eignen sich die Amylasen zum Nachweis der Phenoxyalkancarbonsäure-Herbizide (Tabelle V). Die  $\alpha$ -Amylase wird nur von sechs der insgesamt neunzehn untersuchten Wirkstoffe leicht gehemmt, und durch UV-Bestrahlung kommt nur noch eine weitere Substanz als Inhibitor hinzu. Mit  $\beta$ -Amylase lassen sich die Phenoxysäure-Herbizide etwas empfindlicher als mit  $\alpha$ -Amylase nachweisen, wobei UV-Bestrahlung keinen Einfluss auf die Hemmintensität hat. Diese Ergebnisse würden mit denen von NEELEY *et al.*<sup>33</sup> in Einklang stehen, wonach eine Behandlung von Bohnen mit 2,4-D zu einer Verminderung der  $\beta$ -Amylase-Aktivität führt, und sie ständen in nur geringem Gegensatz zu Ergebnissen von WORT UND COWIE<sup>32</sup>, wonach die  $\beta$ -Amylase-Aktivität in Weizen nach 2,4-D-Behandlung zunächst ansteigt, um am 8. Tag nach Applikation deutlich unter die Aktivität der Kontrollen abzusinken.

Die Urease wiederum wird von allen untersuchten Phenoxyalkancarbonsäure-Herbiziden gehemmt (Tabelle VI), doch gestaltet sich der Nachweis nur mit wenigen Substanzen einigermassen empfindlich. UV-Bestrahlung führt bei zwölf Wirkstoffen zu einer leichten Nachweisverbesserung, während es bei sechs Wirkstoffen zu einer Verschlechterung kommt. Deutliche Unterschiede zwischen den freien Säuren und den Estern sind nicht festzustellen.

Die Ergebnisse zeigen, dass sich mit Ausnahme der Amylasen alle Enzyme zum DC-enzymatischen Nachweis dieser Herbizid-Gruppe eignen. Weiter zeigen sich gewisse Unterschiede im Verhalten der Enzyme tierischer Herkunft zu denen pflanzlicher Herkunft.

TABELLE V

UNTERE NACHWEISGRENZE ( $\mu\text{g}$ ) DER UNTERSUCHTEN WIRKSTOFFE INFOLGE HEMMUNG VON AMYLASE

Laufmittel: Cyclohexan-Aceton (10:4).

Wirkstoff	Ohne Vorbehandlung		Nach UV-Bestrahlung	
	$\alpha$ -Amylase	$\beta$ -Amylase	$\alpha$ -Amylase	$\beta$ -Amylase
2,4-D	—	70	80	70
2,4,5-T	80	70	60	70
MCPA	80	70	80	70
Dichlorprop	—	70	—	70
Fenoprop	60	70	60	70
Mecoprop	80	70	80	70
2,4-D-isopropyl	—	120	—	100
2,4-D-butyl	—	120	—	100
2,4,5-T-butyl	—	120	—	100
2,4,5-T-hexyl	—	100	—	80
MCPA-hexyl	—	100	—	100
MCPA-(2-butoxyäthyl)	—	—	—	—
Mecoprop-äthyl	80	100	80	—
MCCP-(3-oxybutyl)	—	—	—	—
MCCP-(2-butoxyäthyl)	—	100	—	100
Mecoprop-hexyl	60	70	60	100
2,4-DB	—	70	—	70
2,4,5-TB	—	70	—	70
MCPB	—	70	—	70

TABELLE VI

UNTERE NACHWEISGRENZE ( $\mu\text{g}$ ) DER UNTERSUCHTEN WIRKSTOFFE INFOLGE HEMMUNG DER UREASE

Laufmittel: Cyclohexan-Aceton (10:4).

Wirkstoff	Ohne Vorbehandlung		Nach UV-Bestrahlung	
	$\alpha$ -Amylase	$\beta$ -Amylase	$\alpha$ -Amylase	$\beta$ -Amylase
2,4-D	60	70	70	70
2,4,5-T	40	10	10	10
MCPA	60	40	40	40
Dichlorprop	70	50	50	50
Fenoprop	10	20	20	20
Mecoprop	90	60	60	60
2,4-D-isopropyl	90	60	60	60
2,4-D-butyl	90	80	80	80
2,4,5-T-butyl	80	60	60	60
2,4,5-T-hexyl	50	70	70	70
MCPA-hexyl	60	80	80	80
MCPA-(2-butoxyäthyl)	100	80	80	80
Mecoprop-äthyl	80	50	50	50
MCCP-(3-oxybutyl)	80	90	90	90
MCCP-(2-butoxyäthyl)	80	80	80	80
Mecoprop-hexyl	60	50	50	50
2,4-DB	50	80	80	80
2,4,5-TB	80	50	50	50
MCPB	100	60	60	60

## DANK

Mein besonderer Dank gilt Frau R. RAUBE für die sorgfältige Mitarbeit bei der Durchführung der Versuche.

## ZUSAMMENFASSUNG

Der dünnschichtchromatographisch-enzymatische Hemmtest mit den Enzymen Rinderleberesterase, alkalische und saure Phosphatase, Trypsin,  $\alpha$ - und  $\beta$ -Amylase sowie Urease wird zum Nachweis der Phenoxyalkancarbonsäure-Herbizide herangezogen. Mit Ausnahme der Amylasen, die nur schwach und teilweise überhaupt nicht gehemmt werden, eignen sich alle Enzyme zum Nachweis, wobei dieser mit saurer Phosphatase am empfindlichsten ausfällt. Eine UV-Bestrahlung der Wirkstoffe beeinflusst den Nachweis in den meisten Fällen nur wenig.

## LITERATUR

- 1 D. I. ČRANIKOW, D. F. GERCUSKIJ UND V. I. KOSTINA, *Chim. v. sel' skom Choz*, 4 (1966) 59.
  - 2 J. H. M. HENDERSON UND D. C. DEESE, *Nature*, 174 (1954) 967.
  - 3 J. H. M. HENDERSON, J. M. MÜLLER UND D. C. DEESE, *Science*, 120 (1954) 710.
  - 4 P. SCHARF UND G. GÜNTHER, *Biochem. Physiol. Pflanzen.*, 161 (1970) 320.
  - 5 N. M. EIDEL'NANT, T. A. VENCHIKOVA UND S. G. KHLISTOVSKAYA, *Agrokhimiya*, 7, No. 5 (1970) 113.
  - 6 S. H. WEST, J. B. HANSON UND J. L. KEY, *Weeds*, 8 (1960) 333.
  - 7 J. L. KEY, C. Y. LIN, E. M. GIFFORD UND R. DENGLER, *Bot. Gaz.*, 127 (1966) 87.
  - 8 T. J. O'BRIEN, B. C. JARVIS, J. H. CHERRY UND J. B. HANSON, *Biochim. Biophys. Acta*, 169 (1968) 221.
  - 9 H. R. LEFFLER, T. J. O'BRIEN, D. V. GLOVER UND J. H. CHERRY, *Plant Physiol.*, 48 (1971) 43.
  - 10 J. CARDENAS, F. W. SLIFE, J. B. HANSON UND H. BUTLER, *Weed Sci.*, 16 (1968) 96.
  - 11 M. C. WILLIAMS, F. W. SLIFE UND J. B. HANSON, *Weeds*, 8 (1960) 244.
  - 12 H. D. COBLE UND F. W. SLIFE, *Weed Sci.*, 19 (1971) 1.
  - 13 T. E. HUMPHREYS UND W. M. DUGGER, JR., *Plant Physiol. (Suppl.)*, 31 (1956) 22.
  - 14 J. B. BOURKE, J. S. BUTTS UND S. C. FANG, *Plant Physiol.*, 37 (1962) 233.
  - 15 V. K. ROWE UND T. A. HYMAS, *Amer. J. Vet. Res.*, 15 (1954) 622.
  - 16 D. SCHULZ, *Dissertation*, Inst. Vet.-Pathol. F. U., Berlin, 1969.
  - 17 K. D. COURTNEY, D. W. GAYLOR, M. D. HOGAN, H. L. FALK, R. R. BATES UND J. MITCHELL, *Science*, 168 (1970) 864.
  - 18 J. E. JOHNSON, *U.S. Congress 1970, Statement before the Subcommittee of Energy, Natural Resources and Environment of the Senate Commerce Committee, April 15, 1970.*
  - 19 K. D. COURTNEY et al., *U.S. Congress 1970, Statement before the Subcommittee of Energy, Natural Resources and Environment of the Senate Commerce Committee, April 15, 1970.*
  - 20 S. EPSTEIN, *U.S. Congress 1970, Statement before the Subcommittee of Energy, Natural Resources and Environment of the Senate Commerce Committee, April 15, 1970.*
  - 21 N. G. LINGQUIST UND S. ULLBERG, *Experientia*, 27 (1971) 1439.
  - 22 E. GOLDMANN, *Beitr. Klin. Chir.*, 64 (1909) 192.
  - 23 R. HEENE, *Naturwissenschaften*, 53 (1966) 308.
  - 24 R. HEENE, *Naturwissenschaften*, 53 (1966) 477.
  - 25 F. GEIKE, *J. Chromatogr.*, 44 (1969) 95.
  - 26 H. ACKERMANN, *J. Chromatogr.*, 36 (1968) 309.
  - 27 F. GEIKE, *Z. Anal. Chem.*, 255 (1971) 134.
  - 28 F. GEIKE, *J. Chromatogr.*, 52 (1970) 447.
  - 29 F. GEIKE, *Z. Anal. Chem.*, 256 (1971) 203.
  - 30 F. GEIKE, *Z. Anal. Chem.*, 258 (1972) 284.
  - 31 K. L. OLSEN, *Abstr. West. Sect. Meet. Amer. Soc. Plant Physiol.*, 1950.
  - 32 D. J. WORT UND L. M. COWIE, *Plant Physiol.*, 28 (1953) 135.
  - 33 W. B. NEELY, C. D. BALL, C. L. HAMNER UND H. M. SELL, *Science*, 111 (1950) 118.
- J. Chromatogr.*, 72 (1972) 333-342