

MODERNE METHODEN DER PFLANZENANALYSE

HERAUSGEGEBEN VON

K. PAECH M. V. TRACEY

ERSTER BAND

BEARBEITET VON

G. BRAUNITZER - J. GLOVER - M. J. R. HEALY - E. HECKER - H. HELLMANN
R. HILL - E. C. HUMPHRIES - R. H. KENTEN - G. KORTUM
M. KORTUM-SEILER - K. PAECH - N. W. PIRIE - J. SMALL
R. L. M. SYNGE - F. R. WHATLEY

MIT 215 ABBILDUNGEN

1956

MODERN METHODS OF PLANT ANALYSIS

EDITED BY

K. PAECH

M. V. TRACEY

VOLUME I

CONTRIBUTORS

G. BRAUNITZER - J. GLOVER - M. J. R. HEALY - E. HECKER - H. HELLMANN

R. HILL - E. C. HUMPHRIES - R. H. KENTEN - G. KORTUM

M. KORTUM-SEILER - K. PAECH - N. W. PIRIE - J. SMALL

R. L. M. SYNGE - F. R. WHATLEY

WITH 215 FIGURES

Einleitung.

Viele bedeutende Errungenschaften der modernen Biologie sind erst nach Erfindung und Anwendung von leistungsfähigen Methoden möglich geworden. Man kann zwar nicht sagen, daß wir in einem „Zeitalter der Methoden“ leben, aber jeder Schritt zur Lösung eines wichtigen biologischen Problems mußte und muß durch die Entwicklung einer geeigneten Methode vorbereitet werden. Es gibt nicht viele „klassische“ Verfahren, die sich in der physiologisch-chemischen Forschung erhalten haben. Physik und Chemie entdecken immer wieder spezifische, genauere und bequemere analytische Möglichkeiten, die von Biochemikern übernommen und für die Anwendung auf Pflanzenmaterial abgewandelt werden. Wenn solche neuen Methoden in rein analytischen Zeitschriften veröffentlicht werden, so sind sie zwischen analytischen Verfahren für alle möglichen Gebiete der Chemie, vom Petroleum bis zu Schwermetalllegierungen, verborgen. Erscheinen sie aber als methodischer Teil in den Arbeiten über spezielle biochemische Probleme, so gibt oft weder der Titel der Arbeit noch die Zusammenfassung einen Hinweis auf die wertvolle Methode und ihre Anwendungsmöglichkeiten. Neue leistungsfähige Methoden erreichen deshalb oft nicht unmittelbar alle die Forscher, die bei ihren Arbeiten größten Nutzen daraus ziehen könnten.

Das waren die entscheidenden Überlegungen, die zur Planung dieses Handbuchs führten. Nach unseren Erfahrungen besteht ein Bedürfnis für eine moderne Sammlung zuverlässiger Methoden der Pflanzenanalyse vor allem auch in weiten Kreisen der angewandten Botanik, von landwirtschaftlichen und Gartenbau-Instituten bis zu pharmazeutischen und technischen Untersuchungsanstalten, die mit pflanzlichem Material zu tun haben.

Abgesehen von der Stoffwechselphysiologie, für die natürlich seit jeher chemisch-analytische Methoden unerlässlich waren, haben sich inzwischen auch andere Zweige der reinen Botanik so entwickelt, daß sie auf die genaue Kenntnis der chemischen Zusammensetzung der Pflanzen oder bestimmter Inhaltsstoffe angewiesen sind. Das gilt für die Genetik, die Wachstumsphysiologie und sogar für die Taxonomie. Einerseits die zerstreute Publikation der analytischen Methoden und andererseits die fehlende Übung in der Beurteilung der Leistungsfähigkeit chemischer Verfahren machen es für Neulinge auf dem Gebiet der Pflanzenanalyse manchmal schwierig, die für ihre Zwecke am besten geeignete Methode aufzufinden oder auszuwählen. Die in diesem Handbuch gebotene Sammlung kann deshalb wohl auch dazu dienen, den Weg zur Lösung von Problemen der reinen Botanik auf denjenigen Gebieten zu ebnen, wo die chemische Zusammensetzung der Pflanzen nur als Indikator anderer Funktionen als des Stoffwechsels von Bedeutung ist. Über einige Gruppen von Pflanzenstoffen sind unsere Kenntnisse noch recht mager, z. B. über Tannine und Melanine. Wenn auch für sie geeignete Methoden aufgeführt werden, so hoffen wir, damit die Untersuchungen über Vorkommen, Entstehung und Funktion dieser Stoffe in den Pflanzen zu fördern.

Es kann nicht die Absicht dieses Handbuches sein, ein biochemisches System der Pflanzenstoffe zu bieten oder die Physiologie des pflanzlichen Stoffwechsels darzustellen, sondern hier sollen rein analytische Gesichtspunkte vorherrschen.

Unser Ziel war, eine möglichst umfassende, zuverlässige und zeitgemäße Hilfe für die Laboratoriumsarbeit zu schaffen. Wir sind den Autoren der einzelnen Kapitel zu größtem Dank verbunden, daß sie die Last auf sich genommen haben, die Methoden und Verfahren so zusammenzustellen, daß ihre persönliche Kenntnis und Erfahrung in der experimentellen Biochemie den Benutzern des Werkes in weitestem Umfange zugute kommen wird. In dankenswerter Weise haben sich die Autoren einer ausführlicheren, für sie viel verlockenderen Diskussion der dynamischen Seite der Pflanzenstoffe, ihrer Biogenese und ihres Umsatzes, enthalten.

Das in manchen Teilen überholte „Handbuch der Pflanzenanalyse“ von G. KLEIN (Springer, Wien 1931/33), an dessen Stelle das vorliegende Werk treten soll, wurde neben seinen analytischen Beiträgen oft noch mehr wegen seiner zusätzlichen Angaben über das Vorkommen und die Funktion von Pflanzenstoffen geschätzt. Das rasche Fortschreiten in der Erkenntnis der dynamischen Biochemie ebenso wie die täglich wachsende Zahl neuer Pflanzenstoffe, die von den verschiedensten Seiten her entdeckt werden, würden jeden Versuch, dem KLEINschen Handbuch in dieser Richtung zu folgen, zu einem uferlosen Unternehmen stempeln. Deshalb wurden alle nichtanalytischen Zusätze bewußt ausgelassen; nur kurze Listen bestimmter Pflanzenstoffe sind bei einigen Kapiteln angefügt worden. Das erschien uns vor allem dort angebracht, wo es sich um jüngst entdeckte Gruppen von Pflanzenstoffen handelt, oder wo die Angaben erfahrungsgemäß so weit verstreut sind, daß die Listen als solche einen besonderen Wert bekommen. Im ganzen Werk sind aber reichlich Literaturzitate angeführt, die ein Aufsuchen der chemischen und physikalischen Kenngrößen und anderer Daten der einzelnen Substanzen erleichtern sollen. Im übrigen sind in den regelmäßig erscheinenden Ergänzungswerken zu „Beilsteins Handbuch der organischen Chemie“ Formeln und Daten der Naturstoffe zu finden.

Erfahrungsgemäß erfordert fast jedes Pflanzenmaterial eine gewisse Modifikation und Anpassung des analytischen Vorgehens. Diese Notwendigkeit scheint uns jedoch den Wert der hier gebotenen Sammlung von Methoden nicht wesentlich zu beeinträchtigen, denn die Abwandlungen sind im allgemeinen nicht prinzipiell, und sie bauen auf alle Fälle auf bestehende und erprobte Verfahren auf. Die in diesem Werk aufgenommenen Methoden sind kritisch gesichtet, ohne daß die dargebotene Auswahl zu stark beschnitten worden wäre. Erst wenige Methoden haben den Wert von Standard-Methoden für die betreffenden Substanzen erreicht. Dank der großen Erfahrung der Mitarbeiter konnten meist die Grenzen der Verfahren angedeutet und mögliche Fehlerquellen bei der Anwendung auf neues, noch unbekanntes Material aufgezeigt werden. Es ist beabsichtigt, in Zukunft durch Herausgabe von Ergänzungsbänden die Fortschritte in der Pflanzenanalyse von Zeit zu Zeit gesammelt zugänglich zu machen, so daß das vorliegende Werk die Grundlage eines immer dem Stand der Zeit entsprechenden Handbuchs für das Laboratorium bleibt.

Obwohl bei der Anordnung des außerordentlich mannigfaltigen Stoffes ein möglichst konsequentes System angestrebt worden ist, ließ es sich nicht vermeiden, daß manchmal physiologisch zusammengehörige Verbindungen in getrennten Kapiteln untergebracht oder daß physiologisch heterogene Substanzen nebeneinandergestellt werden mußten. Im allgemeinen ist der chemischen Gruppierung der Vorzug gegeben worden. In einigen Fällen erschien es uns angebracht, physiologisch verwandte Stoffe (Antibiotica, Wuchsstoffe) vereint zu behandeln. Für Vitamine und Enzyme sind keine besonderen Kapitel eingerichtet worden. Die Enzyme werden als Klasse bei den Eiweißen und im übrigen soweit behandelt, als sie analytisch für die Bestimmung ihrer Substrate in Betracht kommen. Da die Vitamine und die mit ihnen meist verwandten Coenzyme weder unter

chemischen noch unter pflanzenphysiologischen Gesichtspunkten eine einheitliche Gruppe darstellen, werden sie nicht in einem Kapitel vereint, sondern jeweils mit den chemisch verwandten Verbindungen zusammengestellt.

Die verschiedenen Beiträge zu diesem Handbuch sind weder in der Auffassung der Aufgabe noch in der Ausgestaltung ganz uniform. Eine gewisse Einheitlichkeit ist natürlich angestrebt und wohl auch erreicht worden, aber die Persönlichkeit des Autors gibt jedem Kapitel sein besonderes Gepräge, und die Herausgeber haben ihren Ehrgeiz nicht darein gesetzt, durch ein starres Schema die individuelle Gestaltung zu verwischen.

Die Herausgeber und der Verlag sind den Herren Dr. A. C. CHIBNALL, F.R.S., Cambridge, und Professor Dr. Dr. h. c. W. RUHLAND, Unterdeufstetten, für die bereitwillige Unterstützung des Handbuches zu großem Dank verbunden. Professor M. THOMAS, F.R.S., Newcastle-upon-Tyne, und Mr. N. W. PIRIE, F.R.S., Rothamsted, haben bei der Planung des Werkes ihren wertvollen Rat geliehen, für den wir ihnen aufrichtigen Dank sagen. Dem Verlag danken wir dafür, daß das Werk rasch und in bester Aufmachung erscheint.

Tübingen und Rothamsted, Juli 1954.

K. PAECH

M. V. TRACEY

Introduction.

Many outstanding advances in modern biology have been made as a result of the invention and application of efficient methods. This does not necessarily mean that we are living in an age of methods but every stride towards the solution of an important biological problem has been, and will have to be, prepared by the forging of the appropriate method. There are not very many 'classical' techniques that have become part of the standard equipment of biological research. Again and again chemistry and physics provide more specific, more exact, and more convenient analytical devices that are taken over by biochemists and modified to suit plant material. If published in purely analytical journals these recent methods are hidden in a welter of other methods applying to all fields of analysis from petroleum to heavy metal alloys. When they appear in the methods section of papers on specialised biochemical subjects they may be obscured by a title and discussion giving no hint of the presence of a valuable method or of its general applicability. As a result new methods very often do not immediately reach those manifold groups of research workers to whom they would be of the greatest use.

These are the considerations that led to the plan of this handbook. We are convinced that there is a real need for a collection of reliable up-to-date methods for plant analysis in large areas of applied biology ranging from agricultural and horticultural experiment stations to pharmaceutical and technical institutions concerned with raw materials of plant origin.

Apart from the study of plant metabolism in which analytical methods are essential many branches of pure botany, originally not concerned with the chemical composition of plants, have developed in such a way as to depend on accurate knowledge of the nature and amounts of plant constituents. This applies among others to genetics, the physiology of growth, and taxonomy. The scattered publication of analytical methods and lack of experience in judging chemical methods makes it hazardous for many of the newcomers in the field of plant analysis to find or select the best available methods for their purposes. The collection offered in this handbook may help to pave the way for tackling problems in those fields of pure botany where chemical components are useful as indicators of the varied activities of the living plant cell.

It is not in the scope of this work to produce a handbook of plant metabolism or a biochemical system of plant substances. Had it been, then the structure of the book and the arrangement of the contents would have been more logical than that which has been imposed by the purely analytical considerations that prevail in the present work, for example, mineral substances could not have been separated from many other sections. The ambition of the editors, however, was to produce a laboratory manual of the highest standard possible. We are greatly indebted to the authors of the various chapters for their willingness to undertake the task of discussing the detailed techniques of analysis in such a way that the user of these volumes will be able to make the greatest use of the authors' experience and knowledge of experimental biochemistry. The purpose of the work is furthered by the fact that the authors have avoided discussing problems of the

biogenesis and metabolism of the substances with which they are concerned, tempting and fruitful though these physiological considerations may have appeared to them.

The outdated „Handbuch der Pflanzenanalyse“ by G. KLEIN, whose place is being filled by the present work, was appreciated partly because it has ample non-analytical supplementary notes on the occurrence and function of plant substances. The rapid progress in dynamic aspects of biochemistry and the ever growing wealth of newly discovered plant substances from many sources would render fragmentary any attempt to follow KLEIN in this respect. Therefore non-analytical notes have been deliberately excluded, though brief lists of some compounds have been attached to some chapters. This has been done where the substances in question have been only recently discovered or when information regarding them is so widely scattered that the lists have a value of their own. Ample references to original papers are given throughout the work to facilitate further search for data — a task which will be assisted by the forthcoming edition of „Beilstein“.

It is true that each particular plant material may require some modification of the usual methods and techniques. Nevertheless this necessity does not reduce the value of the collection given here, for the modifications will generally be slight and not fundamental, and be based on existing techniques. The methods set forth in the present work have been critically selected, some of them have reached the status of standard methods for the substances concerned. Owing to the wide experience of the contributors, proper emphasis has been laid on the limitations of the techniques described and reference has been made, where possible, to pitfalls likely to be met with in their application to unknown plant material. For the future it is intended to issue supplementary volumes to make advances in plant analysis accessible.

In certain fields our knowledge of plant substances is still very sparse, e. g. the tannins and melanins. It is hoped that the appearance of suitable methods for their analysis will stimulate the elucidation of their structure and metabolism. No chapters on enzymes and vitamins have been included. The former are treated only as a class of proteins or as analytical means for the estimation of their substrates. Vitamins and the related coenzymes are not treated separately since they are not an uniform group from either a chemical or physiological standpoint. They are treated in conjunction with chemically related plant components.

The various contributions are not uniform in either style or approach. The author's personality gives each an individual form and attempts by the editors to impose a rigid mould and extinguish individual preferences have been avoided.

The editors are greatly indebted to Dr. A. C. CHIBNALL, F. R. S., Cambridge, and to Professor Dr. W. RUHLAND, Unterdeufstetten, for their readiness to support 'Modern Methods of Plant Analysis'. Professor M. THOMAS, F.R.S., Newcastle-upon-Tyne, and Mr. N. W. PIRIE, F.R.S., Rothamsted, have willingly given valuable advice and help in the planning of the work. Finally we wish to express gratitude to Springer-Verlag.

Rothamsted and Tübingen, July 1954.

M. V. TRACEY
K. PAECH

- Natural Phenylpropane Derivatives.** By Dr. GEORGE DE STEVENS and Professor F. F. NORD, New York, N. Y., USA.
- Lignans.** By Professor H. ERDTMAN, Stockholm, Schweden.
- Anthocyanins, Chalcones, Flavones, and Related Water-Soluble Plant Pigments.** By Professor T. A. GEISSMAN, Los Angeles, USA.
- Lignin.** Von Professor Dr. K. FREUDENBERG, Heidelberg.
- Natürliche Gerbstoffe.** Von Professor Dr. OTTO Th. SCHMIDT, Heidelberg.
- Anthrakglykoside und Dianthrene.** Von Professor Dr. W. SCHMID, Tübingen.
- Growth Substances in Higher Plants.** By Professor Dr. POUL LARSEN, Bergen, Norway.
- Antibiotics.** By Dr. F. A. SKINNER, Rothamsted, Great Britain.

Vierter Band. — Volume IV.

- Peptides (Bound Amino Acids) and Free Amino Acids.** By Dr. R. L. M. SYNGE, F. R. S., Bucksburn, Aberdeenshire, Great Britain.
- Proteins.** By N. W. PIRIE, F. R. S., Rothamsted, Great Britain.
- Seed Proteins.** By Dr. J. PACE, St. Albans, Herts., Great Britain.
- Methods of Determining the Nutritive Value of Proteins.** By Dr. J. DUCKWORTH, Bucksburn, Aberdeenshire, Great Britain.
- Urea and Ureides.** By M. V. TRACEY, Rothamsted, Great Britain.
- Chlorophylls.** By Dr. J. H. C. SMITH and A. BENITEZ, California, Stanford, USA.
- Haematin Compounds.** By Dr. E. F. HARTREE, Cambridge, Great Britain.
- Nucleic Acids, their Components and Related Compounds.** By Dr. R. MARKHAM, Cambridge, Great Britain.
- Adenosine Diphosphate, Adenosine Triphosphate.** By Professor H. G. ALBAUM, Brooklyn, New York, USA.
- Codehydrasen I und II (Diphospho-pyridin-nucleotid und Triphospho-pyridin-nucleotid).** Von Professor Dr. K. HASSE, Karlsruhe.
- Thiamine and its Derivatives.** By Sir R. A. PETERS, F. R. S. BABRAHAM, Cambs., Great Britain, and Dr. J. R. P. O'BRIEN, Oxford, Great Britain.
- The Alkaloids.** By Dr. B. T. CROMWELL, Hull, Great Britain.
- Amine und Betaine.** Von Professor Dr. E. WERLE, München.
- Pantothensäure und Coenzym A.** Von Professor Dr. E. WERLE, München.
- Riboflavin, Folic Acid and Biotin.** By Dr. F. M. STRONG, Madison, Wisc., USA.
- Melanins.** By Professor M. THOMAS, F. R. S., Newcastle-upon-Tyne, Great Britain.
- Blausäure-Verbindungen.** Von Privatdozent Dr. P. SEIFERT, Heidelberg.
- Senföle, Lauchöle und andere schwefelhaltige Pflanzenstoffe.** Von Professor Dr. A. STOLL und Dr. E. JUCKER, Basel.

Mitarbeiter von Band I. Contributors to Volume I.

- Dr. G. BRAUNITZER, Max-Planck-Institut für Virusforschung,
Tübingen, Melanchthonstr. 36.
- Dr. J. GLOVER, Biochemistry Department, The University,
Liverpool (England).
- Mr. M. J. R. HEALY, Rothamsted Experimental Station,
Harpenden, Herts. (England).
- Dr. E. HECKER, Max-Planck-Institut für Biochemie,
Tübingen, Gmelinstr. 8.
- Professor Dr. H. HELLMANN, Chem. Institut d. Univ. Tübingen.
- Dr. R. HILL, F. R. S., Department of Biochemistry,
Tennis Court Road, Cambridge (England).
- Dr. E. C. HUMPHRIES, Rothamsted Experimental Station,
Harpenden, Herts. (England).
- Mr. R. H. KENTEN, Rothamsted Experimental Station,
Harpenden, Herts. (England).
- Professor Dr. G. KORTÜM, Chem. Institut d. Univ. Tübingen.
- Dr. M. KORTÜM-SEILER, Chem. Institut d. Univ. Tübingen.
- Professor Dr. K. PAECH †, Botanisches Institut,
Tübingen, Wilhelmstr. 5.
- Mr. N. W. PIRIE, F. R. S., Rothamsted Experimental Station,
Harpenden, Herts. (England).
- Professor J. SMALL †, Department of Botany,
Queen's University, Belfast (Northern Ireland).
- Dr. R. L. M. SYNGE, F. R. S., The Rowett Institute,
Bucksburn, Aberdeenshire (Scotland).
- Dr. F. R. WHATLEY, Department of Plant Nutrition,
3048 Life Sciences Bldg. University of California,
Berkeley 4, Calif. (USA).

Inhaltsverzeichnis. — Contents.

Allgemeine Maßnahmen und Bestimmungen bei der Aufarbeitung von Pflanzenmaterial.	
Von K. PAECH	1
A. Aufbewahrung und Konservierung des Untersuchungsgutes	1
B. Die Angabe von Analysenresultaten und die Bezugsgrößen	5
C. Die Aufteilung des Untersuchungsmaterials in Fraktionen	10
I. Allgemeines	10
II. Fraktionierung der Zellkomponenten	12
III. Chemische Fraktionen	16
D. Aufarbeitung unter Schutz von Sauerstoff	19
E. Bestimmung der Trockensubstanz und des Wassergehaltes	21
Literatur	25
General Methods for Separation. Making and Handling Extracts. By N. W. PIRIE	26
A. Disintegration of Tissues	26
1. Mechanical Methods	26
2. Enzymic Disintegration	29
3. Chemical Disintegration	30
4. Comparison of Methods of Subdivision	30
5. Terminology	31
B. The Preparation and Concentration of Extracts	31
I. The Preparation of Extracts	31
II. Concentration of Extracts	33
1. Free Evaporation	34
2. Distillation in Vacuo	34
3. Freezing	36
4. Ultrafiltration	37
C. Procedures Used in Fractionation	38
I. Dialysis	38
II. Centrifugation	40
III. Precipitation from Aqueous Solution	46
D. Drying	49
1. Drying at Room Temperature or Above	49
2. Freeze-drying or Drying by Sublimation	51
3. The Determination of Dry Matter	53
References	54
Electrical-Transport Methods. By R. L. M. SYNGE	55
I. Principles	56
1. Control of Environmental Solution and of Conductivity	57
2. Electrical Transport in Presence of Immobilizing Agents and Membranes	57
II. Apparatus and Procedures	58
1. Fractionations without Added Electrolyte	58
2. Fractionations with Added Electrolyte	58
References	64
Multiplikative Verteilung. Von E. HECKER	66
A. Grundlagen der Methoden	66
I. Der NERNSTsche Verteilungssatz; Parameter der Verteilung	66
II. Bestimmung von Verteilungskoeffizienten	70

B. Verfahren der multiplikativen Verteilung	73
C. Apparaturen	79
I. Apparaturen für Verfahren mit schubweise bewegten Phasen	79
II. Apparaturen für Verfahren mit gleichförmig bewegten Phasen	83
D. Auswahl von Lösungsmittelsystemen	87
E. Die CRAIG-Verteilung als Methode zur Reinheitsprüfung	90
Literatur	93
Die chromatographische Analyse in Säulen. Von G. BRAUNTZER	95
A. Allgemeiner Teil	95
I. Die Arten der chromatographischen Trennung	95
II. Die drei Typen der Entwicklung der Banden bei der chromatographischen Analyse	97
III. Apparate und allgemeine Methodik	99
B. Spezieller Teil	106
I. Die Durchführung der Adsorptionsanalyse	106
II. Die Durchführung der Verteilungsanalyse	112
III. Die Durchführung der Austauschanalyse	117
Bibliographie	125
Literatur	126
Papierchromatographie. Von H. HELLMANN	127
A. Allgemeine Beschreibung	128
B. Zubehör	130
I. Das Papier	130
II. Die Entwicklungskammer	132
III. Das Lösungsmittel	137
C. Vorbereitung der Substanz und Durchführung der Papierchromatographie	142
D. Die Auswertung der Chromatogramme	144
E. Quantitative Papierchromatographie	147
Literatur	148
Colorimetric, Absorptimetric and Fluorimetric Methods. By J. GLOVER	149
A. Laws of Absorption	150
Nomenclature of Absorption Curves	151
B. Colorimetry	152
I. Comparison with a Series of Liquid Standards	153
II. Balancing Method	154
III. Comparison with Solid Standards	156
IV. General Precautions in Colorimetric Techniques	157
C. Filter Photometry	157
I. Single Photocell Colorimeters	158
II. Two Photocell Colorimeters	161
1. Optically Balanced Type	162
2. Electrically Compensated	166
III. Diffraction Grating Colorimeters	168
IV. Errors in Photometric Analysis	170
D. Spectrophotometry	172
I. Visible and Ultra-violet Regions	173
1. Light Source	173
2. Dispersion System	174
3. Photometric Systems	175
4. Errors in Spectrophotometry	189
5. Applications of Spectrophotometry	200
II. Infrared Spectrophotometry	218
1. Instrumentation	219
2. Preparation of Samples	223
3. Operation of the Infrared Spectrophotometer	225
4. Applications of Infrared Spectroscopy	228

E. Fluorimetry and Fluorospectrophotometry	235
1. General Procedure	235
2. Factors Affecting Fluorescence in Solution	236
3. Quantitative Fluorimetry	237
References	241
Refraktometrie und Interferometrie. Von G. KORTÜM und M. KORTÜM-SEILER	245
A. Theoretische Grundlagen	245
B. Refraktometrie	251
I. Meßprinzip	251
II. Einzelne Geräte	251
1. PULFRICH-Refraktometer	251
2. ABBE-Refraktometer	255
3. JELLEY-Refraktometer	258
III. Skalenmethode zur Untersuchung von Diffusionsvorgängen	260
IV. TÖPLERSche Schlierenmethode	260
C. Interferometrie	264
I. Interferenz durch Beugung	264
II. Interferenz durch Mehrfachreflexion	269
1. Interferometer nach JAMIN	270
2. Anordnung nach MACH	271
3. Das MICHELSONSche Interferometer	271
III. Untersuchung von Diffusions- und Wanderungsvorgängen	271
Literatur	276
Polarimetrie. Von G. KORTÜM und M. KORTÜM-SEILER	278
A. Theoretische Grundlagen	278
B. Herstellung von polarisiertem Licht	282
I. Linear polarisiertes Licht	282
II. Elliptisch- und zirkular-polarisiertes Licht	285
C. Experimentelle Bestimmung der optischen Drehung	286
I. Meßprinzip	286
II. Verschiedene Ausführungsformen von visuellen Polarimetern	288
III. Einzelheiten zur Meßtechnik	291
IV. Polarimetrie im ultravioletten Spektralbereich	292
V. Bestimmung des Zirkulardichroismus	296
VI. Polarimetrie im infraroten Spektralbereich	297
Literatur	298
Nephelometrie. Von G. KORTÜM und M. KORTÜM-SEILER	299
A. Allgemeines	299
B. Methodisches	301
I. Trübungsmessungen	301
II. Streuungsmessungen	301
Literatur	304
Principles of Biological Assay. By M. J. R. HEALY	305
A. The Nature of a Biological Assay	305
B. Direct Assays	306
C. Indirect Assays with a Quantitative Response	308
I. Response Linearly Related to the Logarithm of the Dose	308
1. Computation of the 6-point Assay	309
2. The 4-point Assay	311
II. Response Linearly Related to the Dose	312
III. The Use of Homogeneous Groups of Subjects	313
1. Estimation of Error in Randomized Block Assays	315
2. Latin Squares, Cross-over Designs, Incomplete Blocks	316
IV. The Planning of Assays with a Quantitative Response	317
D. Indirect Assays with a Quantal Response	318
I. Calculation of a Probit Assay	319
II. Alternative Methods for Evaluating Quantal Assays	323

E. The Conduct of Biological Assays	323
References :	324
Methods of Involving Labelled Atoms. By J. GLOVER	325
A. Methods for Radioactive Isotopes	325
I. Detection of Radioactive Isotopes	326
1. Electroscopes	327
2. GEIGER-MÜLLER Counters	332
3. Proportional Counters	337
4. Gas Counting	339
5. Scintillation Counters	343
II. Sample Preparation	344
1. Material and Sampling	344
2. The Preparation of the Radioactive Gas for Filling the Counter Tube	349
III. Correction Procedures	351
1. Geometrical Efficiency and Standardisation	351
2. Other Count Corrections	353
3. Assessment of Error Due to Statistical Variations	355
4. Corrections for Decay of the Radioactive Source	355
VI. Autoradiographic Methods	356
1. Autoradiography of Large Tissue Sections and Paper Chromatograms	357
2. Autoradiography of Histological Sections	358
3. Quantitative Estimation of Radioactive Substances Distributed in Histological Sections and in Paper Chromatograms	359
V. Disposal of Radioactive Waste and Health Hazard	361
B. Methods for Stable Isotopes	361
I. Indirect Methods for Deuterium	361
Preparation and Purification of Water Samples for Analysis	363
II. Mass Spectrometric Method	364
1. Apparatus	365
2. Sources of Error	366
3. Examination of Samples	368
4. Method of Calculating and Presenting Results	372
References	372
Estimation of pH Values (Living Tissues and Saps). By J. SMALL	375
A. The New pH	375
B. Electrometric Methods	377
I. Substances	377
II. Apparatus	377
III. Method	378
IV. Other Electrodes	381
C. Indicator Methods	383
I. Indicator Papers	383
II. Comparators	383
III. Capillators	385
IV. SMALL'S Range Indicator Method (1926)	385
V. Micromanipulation	391
VI. Natural Indicators	391
References	392
Oxidation-Reduction Potentials. By ROBERT HILL	393
A. Measurement of Oxidation-Reduction Potentials	394
1. The Hydrogen Electrode	394
2. The rH Scale	396
3. Oxidation-Reduction Equilibria	397
4. The Relation of the E'_0 and rH Values of Systems to Change in pH	398
5. Oxidation-Reduction Titration Curves at Constant pH	399
6. Buffer Systems for Oxidation-Reduction Potentials and Indicator Dyes for rH	401
7. The Oxygen Electrode	402

B. Experimental Methods	403
I. General Type of Apparatus Required	403
II. Application of Oxidation-Reduction Electrode Potential Measurements for Determination of Reaction Rates	405
C. Properties of Some Individual Systems	407
1. Haem Compounds	407
2. Flavines and Coenzymes	409
3. Benzoquinones	409
4. Naphthoquinones	410
5. Ascorbic Acid	411
6. Glutathione	411
References	413
Gasometric Analysis in Plant Investigation (WARBURG, VAN SLYKE, Microdiffusion Methods and Ethylene). By R. H. KENTEN	415
A. The WARBURG Constant Volume Respirometer and other Manometers	415
I. The Apparatus and its Calibration	415
II. Methods in Analysis	417
III. Respiration and Photosynthesis	420
IV. Some Other Types of Manometric Apparatus	425
1. The BARCROFT and Other Differential Respirometers	425
2. Constant Pressure Respirometers	426
3. HEATLEY's Membrane Microrespirometer	426
4. Capillary Ultramicrorespirometry	427
5. Cartesian Diver	427
Summary	428
B. The Measurement of Oxygen and Carbon Dioxide Exchange in Respiration and Photosynthesis	428
C. Extraction and Analysis of Gas from Plant Tissue and Sap	431
D. The VAN SLYKE Manometric Apparatus	432
I. Principle and Procedure	432
II. Determination of Free α -Amino-acids with Ninhydrin	433
III. Determination of Other Substances	436
E. Microdiffusion Methods	438
I. Apparatus and Procedure	438
II. Determination of Ammonia	439
III. Determination of Other Substances	441
F. Ethylene	444
I. Distribution	444
II. Methods of Detection	445
III. Quantitative Determination	446
IV. Chemical Identification	449
References	450
Cytochemical Methods. By F. R. WHATLEY	452
A. Methods for Microscopic Examination of Tissue Sections	452
I. Methods of Obtaining Tissue Sections	453
II. Physical Methods of Examination	454
1. Polarising Microscope	454
2. Phase Contrast Microscope	455
3. Fluorescence Microscopy	455
4. Light Absorption Method	456
5. X-Ray Absorption Spectroscopy	456
6. Microincineration	456
7. Electron Microscopy	457
8. Radioautography	457
III. Chemical Methods of Examination	457

B. Methods Involving the Separation of Cell Constituents	460
I. Methods Using Single Cells	460
1. Analysis of Vacuole Contents	461
2. Microdissection of Cells	461
3. Separation of Individual Cells from Tissues	461
4. Chemical Analysis	461
II. Large Scale Mechanical Separation of Cell Constituents	462
1. Isolation of Nuclei	463
2. Isolation of Mitochondria	463
3. Isolation of Microsomes	464
4. Isolation of Chloroplasts	464
C. General Conclusions	465
References	466
Mineral Components and Ash Analysis. By E. C. HUMPHRIES	468
A. Introduction	468
1. Occurrence of Ash Constituents	468
2. Sampling Plant Material	468
3. Grinding Plant Samples	469
B. General Preparations	470
I. Ashing Plant Material	470
1. Dry Ashing	471
2. Sulphated Ash	471
3. Ashing with Alkali	472
4. Wet Digestion	472
II. Concentration Methods for Detection and Estimation of Trace Elements	473
1. 8-Hydroxyquinoline Method	473
2. 8-Hydroxyquinoline, Tannic Acid and Thionalide	474
3. Diphenylthiocarbazone (Dithizone) Method	474
C. Methods of Analysis	474
1. The Flamephotometer	474
2. The Polarograph	476
D. Detection and Estimation of the Major Elements	477
I. Calcium	477
II. Magnesium	477
III. Total Nitrogen	479
IV. Nitrate	481
V. Nitrite	483
VI. Potassium	483
VII. Sodium	485
VIII. Sulphur	486
IX. Chloride	487
X. Phosphorus	487
E. Determination of the Trace Elements	488
I. Aluminium	489
II. Boron	490
III. Cobalt	491
IV. Copper	492
V. Iron	495
VI. Manganese	495
VII. Molybdenum	496
VIII. Selenium	498
IX. Zinc	499
References	502
Sachverzeichnis (deutsch-englisch)	503
Subject Index (English-German)	523

Allgemeine Maßnahmen und Bestimmungen bei der Aufarbeitung von Pflanzenmaterial.

Von

K. Paech.

Mit 1 Textabbildung.

A. Aufbewahrung und Konservierung des Untersuchungsgutes.

Wo immer es angeht, wird man bei einer Analyse, die etwas über den Zustand der lebenden Pflanze aussagen soll, von frisch geerntetem Material ausgehen. Schon das *Welken* der Pflanzenteile zieht in manchen Stoffwechselbereichen anomale Umsetzungen nach sich, die die Zusammensetzung entweder durch Produktion von Verbindungen, die im frischen Zustand nicht vorhanden sind, oder durch Minderung bzw. Schwund vorhandener Inhaltsstoffe gegenüber der frischen Pflanze wesentlich verändern können. Stabile Verbindungen wie Zellulose und Lignin werden davon natürlich kaum betroffen, aber schon Stärke, Eiweiße, organische Säuren und erst recht andere noch leichter umsetzbare Substanzen werden meist schon nach einigen Stunden Welken bei Zimmertemperatur abgebaut, und zwar oft ganz abweichend vom normalen Stoffwechsel. Obwohl häufig beobachtet wurde, daß beim Welken besonders Hydrolysen begünstigt sind, ist es doch nicht möglich, etwas Bestimmtes über Art und Ausmaß des Stoffumsatzes welkender Pflanzenteile anzugeben. Man muß immer auf Überraschungen gefaßt sein. (Vergl. dazu Bd. I, S. 2.)

Wieder andere Veränderungen sind beim *Trocknen* der Pflanzen zu befürchten. Bei geschickter Leitung des Trockenprozesses brauchen diese Abweichungen vom frischen Zustand nicht einmal tiefer in die Zusammensetzung der Trockensubstanz einzugreifen als die durch das Welken hervorgerufenen. Es hängt weitgehend von der speziellen Fragestellung ab, ob das zu untersuchende Material eine Konservierung verträgt oder ob nur frische Pflanzenteile sinnvolle Analysenergebnisse versprechen. Schonendes Trocknen wird meist als eine harmlose und erträgliche Form der Haltbarmachung angesehen. Bestimmte Veränderungen, wie die Denaturierung mancher Eiweiße und die Inaktivierung von Enzymen müssen dabei jedoch in Kauf genommen werden. Während der Dauer der Lagerung können dann jedoch noch mancherlei andere Veränderungen eintreten. In der pharmazeutischen Anwendung der Pflanzenanalyse stellt die getrocknete Droge oft das „natürliche“ Untersuchungsmaterial dar. Da sogar flüchtige ätherische Öle dank ihres Einschlusses in Exkretbehältern der Pflanzen trotz längerer Trockenlagerung offenbar erhalten bleiben, läßt sich im allgemeinen gegen ein Trocknen vor der Analyse stabiler Verbindungen nicht viel einwenden. Sogar die licht- und sauerstoffempfindlichen Carotinoide lassen sich in rasch und schonend getrocknetem Material, das allerdings nicht längere Zeit aufbewahrt