

MODERN METHODS OF PLANT ANALYSIS

FOUNDED BY

K. PAECH M. V. TRACEY

CONTINUED BY

H. F. LINSKENS M. V. TRACEY

VOLUME VI

IN COOPERATION WITH

B. D. SANWAL

CONTRIBUTORS

U. BEISS - F. BENDALL - W. BJÖRK - F. BOHLMANN - H. G. BOMAN
R. BRAUN - W. HEINEN - M. HESSE - E. HOFMANN - J. R. HUDSON - R. KNAPP
R. LAMBERT - H. F. LINSKENS - C. O. MILLER - G. PFLEIDERER - B. D. SANWAL
H. SCHMID - S. SHIBATA - H. STERN - W. SUCROW - J. TOBIŠKA
M. V. TRACEY - F. W. ZILLIKEN

WITH 89 FIGURES



SPRINGER-VERLAG
BERLIN · GOTTINGEN · HEIDELBERG

1963

MODERNE METHODEN DER PFLANZENANALYSE

BEGRÜNDET VON

K. PAECH M. V. TRACEY

FORTGEFÜHRT VON

H. F. LINSKENS M. V. TRACEY

6. BAND

UNTER MITARBEIT VON

B. D. SANWAL

BEARBEITET VON

U. BEISS - F. BENDALL - W. BJÖRK - F. BOHLMANN - H. G. BOMAN
R. BRAUN - W. HEINEN - M. HESSE - E. HOFMANN - J. R. HUDSON - R. KNAPP
R. LAMBERT - H. F. LINSKENS - C. O. MILLER - G. PFLEIDERER - B. D. SANWAL
H. SCHMID - S. SHIBATA - H. STERN - W. SUCROW - J. TOBIŠKA
M. V. TRACEY - F. W. ZILLIKEN

MIT 89 ABBILDUNGEN



SPRINGER-VERLAG
BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

1963

Alle Rechte, insbesondere das der Übersetzung in fremde Sprachen, vorbehalten
Ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages ist es auch nicht gestattet, dieses
Buch oder Teile daraus auf photomechanischem Wege (Photokopie, Mikrokopie)
zu vervielfältigen

© by Springer-Verlag oHG, Berlin · Göttingen · Heidelberg 1963
Library of Congress Catalog Card Number A 55—6022

Softcover reprint of the hardcover 1st edition 1963

ISBN-13: 978-3-642-94879-4 e-ISBN-13: 978-3-642-94878-7

DOI: 10.1007/ 978-3-642-94878-7

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw.
in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der
Annahme, daß solche Namen im Sinn der Warenzeichen- und Markenschutz-
Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt
werden dürfen

Vorwort zu den Bänden 5, 6 und 7.

Die Pläne für die ersten vier Bände der „Modernen Methoden der Pflanzenanalyse“ wurden vor einer Reihe von Jahren entworfen, der letzte Band erschien schließlich im Jahre 1956. Prof. Dr. KARL PAECH, der eigentliche Initiator des Gesamtwerkes, erlebte das vollständige Erscheinen nicht mehr. Sein allzu früher Tod war ein großer Verlust für die biochemische Pflanzenphysiologie. Das Hinscheiden wurde als besonders schmerzlich von jenen empfunden, die das Glück hatten, mit ihm auf seinen mannigfaltigen Interessengebieten zusammenarbeiten zu dürfen.

Prof. Dr. H. F. LINSKENS, Universität Nijmegen (Holland), hat als Mitherausgeber die Nachfolge von Prof. PAECH angetreten.

In den Jahren seit der Veröffentlichung der ersten vier Bände haben sich zahlreiche Methoden in der Pflanzenanalyse durchgesetzt, deren Entwicklung sich damals noch in den Anfangsstadien befand oder erst abzeichnete. Der Band 5 wurde daher als Ergänzung zum Band 1 geplant und umfaßt allgemeine Analysen-Methoden. Im Band 6 sind weiterhin Stoffgruppen behandelt, so daß dieser eine Ergänzung zu den Bänden 2—4 darstellt.

In der ursprünglichen Planung des Gesamtwerkes waren die Methoden der Enzymologie ausgeklammert. Der Rahmen wurde nunmehr erweitert: Im Band 6 werden zunächst die allgemeinen Methoden der Enzymchemie behandelt, während Band 7 die einzelnen Enzymgruppen bei Pflanzen umfaßt.

Die Herausgeber glauben, daß die vorgelegten Ergänzungsbände dazu beitragen, die „Modernen Methoden der Pflanzenanalyse“ als ein nützliches Laboratoriumshilfsmittel auf dem neuesten Stand zu halten. Die Aufnahme der pflanzlichen Enzymologie wird für viele Untersucher, so hoffen wir, eine willkommene Bereicherung sein.

Wir waren besonders glücklich, für die Vorbereitung der enzymologischen Teile uns der tätigen Mitarbeit von Herrn Prof. SANWAL, University of Manitoba, Winnipeg, Man., (Canada) erfreuen zu können.

H. F. LINSKENS
M. V. TRACEY

Nijmegen und Sydney, 1962

Introduction to Volumes V, VI and VII.

The first four Volumes of "Modern Methods of Plant Analysis" were planned some years ago, the last volume appearing early in 1956. Professor PAECH, the initiator of the work, did not live to see publication completed; his early death was a great loss to plant biochemistry and one that was felt particularly sharply by those who had been fortunate enough to be associated with him in his many active fields of interest. Professor LINSKENS of the R. K. University, Nijmegen, has replaced Professor PAECH as co-editor.

During the years that have elapsed since the publication of the first four volumes many methods, then in the early stages of development or only foreshadowed, have become widely used. Volume V has been planned to supplement and bring up to date the original Vol. I which was concerned with analytical methods of general application. Volume VI is concerned in part with adding to the range of groups of compounds dealt with in Volumes II—IV. The work as originally planned did not include a consideration of methods for the detection and assay of enzymes. The scope of the work has now been enlarged and in Volume VI will also be found a treatment of general methods of enzyme chemistry while in Vol. VII individual groups of enzymes are covered.

It is hoped and believed that the publication of these three additional volumes will make "Modern Methods of Plant Analysis" even more useful than was indicated by the encouraging reception of the earlier volumes. A welcome feature to many will be the widening of its scope by the inclusion of material on enzyme methods.

We were fortunate in being able to secure the assistance of Professor SANWAL of the University of Manitoba in the preparation of those sections concerned with enzymes.

Sydney and Nijmegen, 1962.

M. V. TRACEY
H. F. LINSKENS

Enzym-Nomenklatur.

Während der Drucklegung dieses Bandes erschien der "Report of the Commission on Enzymes of the International Union of Biochemistry 1961" (Pergamon Press, Oxford-London-New York-Paris 1961).

Die Einarbeitung der als Empfehlungen von der Kommission vorgelegten neuen Nomenklatur der Fermente in den vorliegenden Band 6 und den Band 7 der „Modernen Methoden der Pflanzen-Analyse“ würde deren Erscheinen beträchtlich verzögert haben.

Daher wurde eine Zusammenfassung der Vorschläge, einschließlich einer Liste der Zahlenschlüssel, dem Band 7 als Anhang beigegeben.

Nomenclature of Enzymes.

During the preparation of this work the "Report of the Commission on Enzymes of the International Union of Biochemistry 1961" was published (Pergamon Press, 1961). Unfortunately the adoption of the recommendations in the text of this Volume and Volume VII would have long delayed publication.

A summary of the recommendations therefore has been added as an appendix to Volume VII.

Inhaltsverzeichnis. — Contents.

Aus der Einleitung zu den Bänden I—IV	1
From the Introduction to Volumes I—IV	2
Siliciumverbindungen. Von W. HEINEN. Mit 4 Abbildungen	4
A. Übersicht und Vorkommen	4
B. Einlagerungsform und Funktion	5
C. Eigenschaften und Löslichkeit der Siliciumverbindungen	7
D. Herstellung von Kiesel-Gel-Nährböden und Silikatnährlösungen	8
I. Kiesel-Gel-Platten	8
II. Silicat-Lösungen	8
III. Quarz-Lösungen	9
1. Quarzwasser-Lösungen	9
2. Quarz-Kohlenhydrat-Lösungen	9
E. Extraktion und Isolierung von Siliciumverbindungen	9
I. Fraktionierte Extraktion verschiedener Si-Verbindungen	9
1. Gesamt-Silicat	9
2. Säureempfindliches und organisches Silicat zusammen	10
3. Organisches Silicat	10
4. Auswertung	10
II. Isolierung organischer Kieselsäureverbindungen	10
F. Qualitative Si-Bestimmungsmethoden	10
I. Mikronachweis durch Tüpfelanalyse	10
1. Kieselsäure neben Phosphorsäure	10
2. Phosphorsäure neben Kieselsäure	11
II. Mikroskopischer Kieselsäurenachweis im Aschebild (Spodogramm)	11
III. Röntgenographischer Kieselsäure-Nachweis	11
IV. Tracer-Methodik	12
G. Quantitative Bestimmungsmethoden für Si-Verbindungen	13
I. Aufschluß des Untersuchungsmaterials	13
II. Colorimetrische Bestimmung	14
1. Prinzip, Störfaktoren und Fehlerquellen	14
a) Prinzip	14
b) Störungen	14
c) Fehlerquellen	15
2. Bestimmung von Silicat neben Phosphat	15
a) Methode nach HARRISON u. STORR	15
b) Methode nach MILTON	15
c) Methode nach ENGEL	15
d) Methode nach BAUMANN	17
3. Getrennte Bestimmung von Kieselsäure neben Phosphorsäure	17
a) Methode nach MARTIN u. DOTY	17
b) Modifikation nach HEINEN	18
c) Methode nach ENGEL	18
d) Serienversuche	19
III. Gravimetrische Bestimmung	19
Literatur	19
Determination of Sulfhydryl Groups. By HERBERT STERN. With 4 Figures	21
A. Classification and Distribution of Thiols	21
B. Chemical Properties of Thiols	23
I. Oxidation	24

II. Mercaptide Formation	25
III. Alkylating Agents	25
C. Qualitative Determinations of Thiols	26
I. Soluble Thiols	27
1. General Test for Thiols—Nitroprusside Reaction	27
2. General Test for Disulfides	27
3. Test for Cystine, Cysteine and Cysteinylglycine	27
II. Fixed Thiols	28
1. Nitroprusside Reaction	28
2. Histochemical Identification	28
a) BENNET'S Reagent 1-(4-chloromercuriphenylazo)-Naphthol-2. "Mercury Orange"	31
b) BARNETT-SELIGMAN Reagent. 2,2'-Dihydroxy-6,6'-Dinaphthyl Disulfide (DDD)	31
3. Chromatographic Separation	32
a) Extraction of Soluble Thiols	33
b) Localization of Thiol Imides on Paper	33
c) Procedures	34
D. Quantitative Estimations of Thiols	38
I. Titrimetry	38
1. Oxidation of Soluble Thiols	38
a) Iodate Titration	38
b) Iodosobenzoic Acid Titration	39
2. Oxidation of Protein Sulfhydryls	40
II. Colorimetric Methods	41
1. Soluble Thiols	42
2. Protein Thiols	42
III. Enzymatic Methods	44
IV. Amperometric Titrations	45
Special Techniques Used in Conjunction with Thiol Determination	48
a) Homogenization of Tissues	48
b) Reduction of Thiols	48
References	50
Phosphatide und Glykolipide. Von ULRICH BEISS. Mit 3 Abbildungen	52
A. Einführung	52
I. Vorkommen komplexer Lipide	52
II. Fermente des Lipidstoffwechsels	54
1. Lecithinase A	55
2. Lecithinase B	55
3. Lecithinase C	56
4. Lecithinase D	56
B. Gewinnung der Lipide	56
I. Extraktion	56
II. Reinigung der Lipidextrakte	58
C. Säulenchromatographie	59
I. Trennung in Stoffklassen	59
Fraktionierung von Lipidgemischen	60
II. Abtrennung einzelner Lipidkomponenten	61
Trennung von cholinhaltigen und nicht-cholinhaltigen Phosphatiden an der Al_2O_3 -Säule	62
III. Bauelementanalyse	63
1. Hydrolyse	63
a) Saure Hydrolyse	63
b) Alkalische Hydrolyse	64
2. Identifizierung der Hydrolyseprodukte	64
3. Quantitative Bestimmungen von Lipidbestandteilen	64
a) Mikrobestimmung von Phosphor	64
b) Bestimmung von Aminostickstoff	65
c) Bestimmung von Serin und Äthanolamin in DNP-Lipiden	65
d) Bestimmung von Serin und Äthanolamin	66

e) Bestimmung von Cholin	66
f) Bestimmung von Inosit	67
g) Bestimmung von höheren Fettaldehyden	67
h) Bestimmung des Gehaltes an veresterten Fettsäuren	68
D. Papierchromatographie	68
I. Qualitative Methoden	69
II. Quantitative Bestimmung	73
a) Imprägnierung des Papiers	73
b) Chromatographie	74
c) Phosphor-Bestimmung	74
III. Nachweisreaktionen	75
1. Allgemeiner Nachweis von Lipiden	75
2. NH_2 -haltige Gruppen	75
3. Cholin	75
4. Acetalphosphatide	76
5. Ungesättigte Lipide	76
6. Phosphorsäureester	76
E. Dünnschichtchromatographie	77
F. Papierelektrophorese	78
Literatur	78
Natürlich vorkommende Acetylenverbindungen. Von F. BOHLMANN u. W. SUCROW	81
A. Gewinnung und Identifizierung	82
I. Methoden der Isolierung	82
1. Allgemeines über das Arbeiten mit Polyacetylenverbindungen	82
2. Gewinnung eines Extraktes	83
a) Höhere Pflanzen	83
b) Niedere Pflanzen	83
3. Isolierung reiner Verbindungen	83
a) Chromatographische Trennung	84
b) Gegenstromverteilung	85
II. Konstitutionsermittlung	85
1. Physikalische Methoden	85
2. Reinheitskriterien	88
3. Hydrierung und Gaschromatographie	88
4. Weitere chemische Methoden	89
III. Zustand und Konzentration in der Pflanze	92
1. Zustand	92
2. Konzentration	92
B. Vorkommen und Verteilung im Pflanzenreich	93
I. Die bekannten natürlichen Acetylenverbindungen	93
II. Verteilung in höheren Pflanzen	93
Literatur	107
Natürliche Chromone. Von M. HESSE u. H. SCHMID. Mit 5 Abbildungen	109
A. Vorkommen der Chromone	110
B. Formeln und Eigenschaften der natürlichen Chromone	111
C. UV- und IR-Spektren von Chromonen	117
I. UV-Spektren	117
II. IR-Spektren	119
1. Hydroxylgruppe	119
2. γ -Pyron-Carbonylgruppe	121
D. Farbreaktionen und Chromatographie der Chromone	121
I. Farbreaktionen	121
1. Alkali	121
2. <i>m</i> -Dinitrobenzol	121
3. GIBBS-Test	122
4. Wasserstoffsuperoxyd	122

5. Eisen(III)-chlorid	122
6. Titan(III)-chlorid	122
II. Papier- und Dünschichtchromatographie der Chromone	122
E. Isolierung der Chromone	124
I. Extraktion	124
II. Trennung	124
F. Pharmakologie und therapeutische Anwendung von Chromonen	125
G. Biogenese	126
Literatur	128
Orchinol. Von RICHARD BRAUN. Mit 1 Abbildung	130
A. Einführung	130
B. Gewinnung und Isolierung von Orchinol	131
I. Kultur der Orchideen	131
II. Produktion	131
1. Sterilisation	131
2. Inkubation	131
III. Isolierung	132
1. Extraktion der Knollen	132
2. Reindarstellung	132
3. Chemische und physikalische Eigenschaften	132
IV. Nachweis	133
1. Biologischer Test	133
2. Qualitativer Nachweis	133
3. Quantitative Bestimmung	134
a) Auf Grund der Fluoreszenz	134
b) Auf Grund der UV-Absorption	134
Literatur	134
Humulones, Lupulones and Other Constituents of Hops. By J. R. HUDSON. With 5 Figures 135	
A. Sampling	135
B. The Hop Resins	136
I. Estimation of Total Resins	137
II. Estimation of Total Soft Resins	138
III. Analysis for α -Acids	138
1. Extraction of the α -Acids	139
2. Polarimetric Evaluation	140
3. Estimation by Spectrophotometry	142
4. Conductometric Analysis	144
IV. Estimation of Individual α -Acids	145
1. Analysis by Countercurrent Distribution	145
2. Estimation by Gas Chromatography	147
3. Further Methods for Resolution of α -Acids	149
V. Analysis for β -Acids	150
1. Spectrophotometric Analysis for β -Acids	150
2. Estimation of Individual Lupulones	151
Gas Chromatography Method	151
VI. Significance of Results of Resin Analyses	151
C. Essential Oils of Hops	152
References	153
Lichen Substances. By S. SHIBATA. With 10 Figures	155
A. Microchemical Investigation of Lichen Substances	157
I. Thalline Reactions	157
II. Microchemical Examination of Lichens under Microscope	157
1. Procedure	158
2. Some Examples of Microchemical Examination	160
III. Paper Chromatography of Lichen Substances	162
Procedure in the Paper Chromatography of Lichen Substances	163

B. General Procedures of Extraction, Isolation and Purification of Lichen Substances	166
C. Structural System of Lichen Substances	168
1. γ -Lactonic Acid Derivatives, and Di- and Tri-basic Fatty Acids	168
2. Triterpenoids	170
3. Polyhydric Alcohols	171
4. Aliphatic Sulfur Containing Compound	171
5. Pulvinic Acid Derivatives	171
6. Lichen Depsides	171
7. Depsone	177
8. Depsidones	178
9. Quinones	180
10. Xanthone Derivative	181
11. Chromanone Derivative	182
12. Dibenzofuran Derivatives	182
13. Diketopiperazine Derivative	183
D. Experimental Procedures for the Chemical Investigation of Lichen Substances	183
I. Extraction, Isolation, and Purification.	183
1. Depsides, and Depsidones	183
2. Lichen Triterpenoid	185
3. Quinones	186
4. Dibenzofuran Derivatives	187
II. Degradation Reactions of Lichen Substances	188
1. Hydrolytic Cleavage of Depsides	188
2. Cleavage of Depsidones	188
III. Synthesis of Lichen Depsides	190
References	191
Kinetin and Kinetin-Like Compounds. By CARLOS O. MILLER. With 2 Figures	194
A. Biological Assay Systems	194
1. Tobacco Wound Tissue System	195
2. Soybean Callus Tissue System	196
3. Radish Leaf Disk Test	198
4. Bean Leaf Disk Test	198
5. Germination Tests	199
6. Chlorophyll Preservation Test	199
7. Formation of Buds in Mosses	200
8. Formation of Buds in Tobacco Tissues	200
B. Chemical and Physical Properties.	201
References	202
Gibberelline. Von RÜDIGER KNAPP. Mit 2 Abbildungen	203
A. Chemische Eigenschaften der Gibberelline	204
B. Isolierung der Gibberelline aus Pflanzen und aus Substraten von Pilz-Kulturen	207
I. Isolierung aus Gibberella-Kulturen	207
II. Isolierung aus höheren Pflanzen	207
1. Isolierung nach WEST u. PHINNEY (1959) und LANG (1960)	208
2. Isolierung nach CROSS, GALT u. Mitarb. (1962)	208
C. Chemische und physikalisch-chemische Nachweis-Methoden	209
D. Biologische Nachweis-Methoden	210
I. Oryza-Test	211
II. Zea-Test	211
III. Pisum-Test	211
IV. Pharbitis-Test	212
V. Weitere Testpflanzen	212
VI. Nachweis mit abgeschnittenen Pflanzenteilen	212
VII. Intensität der Wirkung der einzelnen Gibberelline auf verschiedene Test- Pflanzen	213
E. Vorkommen der Gibberelline im Pflanzenreich	213
I. Verbreitung der Gibberelline	213

II. Mengen von Gibberellinen in höheren Pflanzen auf Grund biologischer Nachweise	215
Literatur	216
Pflanzliche Toxine. Von RICHARD BRAUN.	219
Allgemeiner Teil.	219
A. Niedermolekulare Stoffe	219
B. Stoffe mit einem mittleren Molekulargewicht	219
C. Hochmolekulare, nichtenzymatische Stoffe	220
D. Enzyme	220
Spezieller Teil.	220
I. Isolierung und Nachweis einzelner Toxine	220
1. Alternariasäure	220
2. Cochliobolin	221
3. Diaporthin	222
4. Enniatine	223
5. Fusarinsäure	225
6. Fusarubin	228
7. Javanicin	229
8. Lycocarasin	230
9. Pseudomonas solanacearum-Polysaccharid	231
10. Skyrin	232
11. Victorin	233
12. Wildfeuer-Toxin	234
II. Pflanzenpathogene Mikroorganismen, in deren Kulturflüssigkeiten phytotoxische Stoffe vorhanden sind	236
Bakterien	236
Pilze	237
Literatur	240
Phyttagglutinine. Von JOSEF TOBIŠKA. Mit 1 Abbildung	244
A. Einleitung	244
I. Begriff, Nomenklatur	244
II. Vorkommen	244
B. Chemische Natur und Eigenschaften	245
C. Methoden der Phyttagglutiningewinnung	248
I. Phyttagglutinine aus den Samen der Cormophytenarten	248
1. Allgemeine Bemerkungen	248
2. Rohextrakte	249
a) Originalmethode nach RENKONEN	249
b) Methode von BOYD und REGUERA	249
c) Methode von LI und OSGOOD	250
d) Methode von TOBIŠKA	250
e) Ultraschallmethode nach LUKÁČI	250
3. Gereinigte bzw. angereicherte Extrakte	251
a) Dialyse	251
b) Reinigung nach RENKONEN und KOULUMIES	251
c) Isolation der Phyttagglutinine als Mucoproteide nach RIGAS und OSGOOD	252
d) Isolation der Phyttagglutinine als Proteine nach RIGAS und OSGOOD	252
e) Isolation der Phyttagglutinine durch Äthanol-fällung nach BIRD	253
f) Isolation der Phyttagglutinine durch Agar-Elektrophorese nach HERZOG und SOUČEK	254
g) Andere Methoden	255
II. Phyttagglutinine aus anderen Teilen der Cormophyta	256
a) Blätter	256
b) Zweige	256
c) Wurzel	256
d) Milchsaft (Latex)	256
e) Knollen	256

III. Phytagglutinine aus höheren Pilzen (Ascomycetes, Basidiomycetes)	256
IV. Konservierung der Extrakte	257
D. Methoden der Phytagglutinin-Testung	257
I. Komplette (direkte) Phytagglutinine	258
a) Standard-Methode	258
b) Tropfenmethode	260
c) Objektträgermethode	260
II. Inkomplette (indirekte) Phytagglutinine	261
a) Nachweis der inkompletten Phytagglutinine mittels eines „Supplementmilieus“	261
b) Partielle Verdauung der roten Blutkörperchen durch Papain oder Trypsin	261
III. Nachweis von sehr kleinen Phytagglutinin-Mengen	262
COOMBS-Test	262
E. Absorption der wenig spezifischen Extrakte	263
F. Inhibitoren der Phytagglutination	264
I. Einleitung, Vorkommen	264
II. Methoden der Testung	264
G. Titration des Phytagglutininextraktes nach LI und OSGOOD zum Zwecke der Leukocytenseparation aus dem Blute	266
Literatur	266

Isolierung und Analyse von Bakterienzellwänden. Von F. ZILLIKEN und

R. LAMBERT. Mit 12 Abbildungen	268
A. Organisation und Zusammensetzung bakterieller Zellwände	268
B. Isolierung bakterieller Zellwände	271
I. Mechanische Zerkleinerung nach SALTON und HORNE	272
II. Mechanische Zerkleinerung und Reinigung mittels proteolytischer Enzyme nach CUMMINS und HARRIS	272
III. Zerkleinerung mit Ultraschall und proteolytische Reinigung nach M. IKAWA und E. E. SNELL	273
IV. Zerkleinerung mittels des Zentrifugenaufsatzes nach SHOCKMAN et al.	274
V. Kombinierte Zerkleinerung mittels Ultraschall in Gegenwart von Glas-Teilchen	274
VI. Gradienten-Sedimentierung in Saccharose	274
VII. Autolyse und proteolytische Verdauung	275
C. Physikalische Eigenschaften und Kriterien der Reinheit	275
D. Chemische Analyse der Hauptbestandteile	276
I. Aminosäuren	276
1. Qualitative Bestimmung	276
2. Quantitative Bestimmung	277
3. Bestimmung von D-Aminosäuren	278
a) D-Alanin	279
b) D-Glutaminsäure	279
c) α - ϵ -Diaminopimelinsäure (DAP)	280
d) ϵ -(Aminosuccinyl-L-Lysin)	280
4. Bestimmung der endständigen Aminosäuren mit 2,4-Dinitrofluorbenzol (DNFB)	281
II. Aminosucker	282
1. MORGAN-ELSON-Methode	282
2. ELSON-MORGAN-Methode	283
a) Colorimetrische Bestimmung	283
b) Papierchromatographischer Nachweis	284
III. Neutralzucker	284
IV. Teichonsäuren	284
a) Isolierung	285
b) Saure Hydrolyse	285
c) Basische Hydrolyse	285
d) Papierchromatographie	285

E. Analyse mit Hilfe von Enzymen	286
I. Lysozym	286
1. <i>Mikrococcus lysodeicticus</i>	288
2. Isolierung von dialysierbaren Zellwand-Mucopeptiden aus intakten Mikroorganismen	288
3. Kinetische Studien mit Lysozym	288
4. Lysozym an Gram-negativen Bakterien	288
5. Darstellung der „ghosts“ mit Hilfe von Lysozym unter osmotischem Schutz	289
6. Bildung von Spheroblasten in Gegenwart von Versene, Lysozym und Spermin	289
II. Phagen-Enzyme	289
F. Analyse der Biosynthese mit Hilfe von Isotopen	290
G. Zusammenfassung und Ausblick	292
Literatur	293

I. General Methods of Enzymology.

Der Nachweis enzymatischer Aktivität. Von W. HEINEN. Mit 1 Abbildung	295
A. Einleitung	295
I. Definition	296
II. Chemische Natur der Enzyme	296
III. Eigenschaften der Enzyme	297
B. Suche nach einem Enzym	301
C. Gruppenteste	302
Literatur	308
Allgemeine Charakterisierung eines Enzyms. Von W. HEINEN. Mit 10 Abbildungen	310
A. Die Reaktionsspezifität	310
B. Bestimmung der optimalen Reaktionsbedingungen	310
C. Zur Bestimmung der Stabilität des Enzyms	314
D. Die Substratspezifität	319
E. Bestimmung der Enzymkonzentration	319
F. Die Lokalisationsbestimmung der Enzyme	320
Literatur	322
Manometrische Methoden	323
Spektroskopische Methoden	323
Thunberg-Technik (Methylenblau-Methode). Von W. HEINEN und H. F. LINSKENS. Mit 7 Abbildungen	324
1. Prinzip	324
2. Technik der Thunberg-Methode	324
a) Das Vakuumrohr	324
b) Der Thermostat	325
c) Die Indicator-Lösung	326
d) Enzymlösungen	327
e) Pufferlösungen	327
f) Substratlösungen	327
3. Durchführung des Entfärbungstestes	327
4. Auswertung	329
5. Fehlerquellen	329
6. Verwandte Methoden	330
Literatur	330
Interpretation of Results. By M. V. TRACEY	331
A. No Detectable Activity: Enzyme Absent	331
B. Partial or No Activity: Enzyme Present	331
I. Present as Inactive Precursor	331

II. Enzyme Present: Partially Active or Inactive under Assay Conditions . . .	332
1. Adsorption	332
2. Inhibition	332
3. Disruption of Cellular Organisation	333
4. Activity Dependent on Spontaneous Change in Substrate	334
5. Physical State of Substrate	334
6. Miscellaneous Factors	337
C. Present but giving High Assay	338
D. Present in widely Varying Amounts	338
E. One Activity from More than One Enzyme or More than One Activity from One Enzyme	339
F. Conclusions that May be Drawn from the Presence of an Enzyme	339
References	340

II. General Methods of Preparation and Purification.

General Methods of Preparation. By B. D. SANWAL. With 4 Figures	342
A. Culture of Material	343
I. Higher Plants	343
II. Algae	343
III. Bacteria	344
1. Pure Cultures	344
2. Enrichment Cultures	346
IV. Fungi	347
B. Preparation of Cell-Free Extracts	348
I. Higher Plants	348
II. Microorganisms	350
1. Lytic Procedures	350
a) Autolysis	350
b) β -Lysis by Bacteriophage	350
c) Enzymic and Chemical Lysis	351
2. Mechanical Disruption	352
a) Sound Waves	352
b) Agitation with Glass Beads	353
c) Mill Grinding	353
d) Mechanical or Hand Grinding with Abrasives	354
e) Mechanical Pressure	354
3. Dried Cell Preparations	355
C. Isolation of Particles	356
I. Centrifugation	356
1. Differential Centrifugation	356
2. "Layering" and Density-Gradient Centrifugation	357
II. Isolation of Nuclei	358
1. Isolation in Non-Aqueous Medium	359
2. Isolation in Aqueous Medium	359
III. Isolation of Chloroplasts	360
1. Higher Plants	360
a) Isolation of Chloroplasts in Non-Aqueous Medium	360
b) Isolation of Chloroplasts in Aqueous Medium	361
2. Algae and Bacteria	362
IV. Isolation of Mitochondria	363
1. Etiolated and Non-Chlorophyllous Tissues	363
2. Pigmented Tissues	365
3. Microorganisms	365
V. Microsomes and Other Particulate Preparations	366
VI. Intracellular Localization of Enzymes in Subcellular Particles	367
1. Light and Electron Microscopy	367
2. Chemical Tests	368
3. Enzymic Tests	369
4. Functional Integrity of the Subcellular Particles	370
References	370

General Aspects of Enzyme Purification and Characterization. By HANS G. BOMAN and WALTER BJÖRK. With 8 Figures	374
I. Precipitation Methods	375
1. Precipitation by Inorganic Salts	376
2. Precipitation by Organic Solvents	378
II. Selective Denaturation of Impurities	379
III. Gel Filtration	379
IV. Preparative Electrophoresis	380
1. Zone Electrophoresis in Supporting Media	381
2. Continuous Electrophoresis	383
V. Adsorption Methods	383
VI. Liquid-Liquid Partition	385
VII. Criteria of Homogeneity	386
1. Physical-Chemical Methods	387
2. Immunological Methods	388
VIII. Characterization of Pure Enzymes	389
IX. Concluding Remarks	389
References	390
Purification of Enzymes by Ion Exchange Chromatography. By HANS G. BOMAN. With 9 Figures	393
I. Ion Exchange Chromatography of Proteins	394
1. Principles of Ion Exchange Chromatography	394
2. Different Types of Ion Exchangers	397
II. Methods of Development	398
1. Starting-buffer Development	398
2. Gradient Development	399
3. Step-wise Development	402
a) Steps with Negligible Interaction between Developer and Adsorbent	402
b) Steps with an Evident Interaction between Developer and Adsorbent	405
III. Experimental Technique	406
1. Equipment for Protein Chromatography	406
2. Choice of Buffers	406
3. Methods of Analysis	407
4. Pretreatment, Packing and Regeneration of Column Materials	407
5. Planning and Performance of Experiments	408
IV. Interpretation of Chromatograms	410
1. Chromatographic Homogeneity	411
2. Artificial Zoning of a Single Substance	411
3. Heterogeneity of Enzymes	412
V. Concluding Remarks	413
References	414
Die Analyse von Enzymen im Boden. Von ED. HOFMANN	416
I. Prinzip des Nachweises von Bodenenzymen	417
II. Entnahme und Vorbereitung der Bodenproben	417
III. Der qualitative Nachweis von Bodenenzymen	418
1. Qualitativer Nachweis von Saccharase	418
2. Qualitativer Nachweis von Amylase sowie α - und β -Glykosidasen	419
3. Qualitativer Nachweis von Proteinasen, Urease und Phosphatasen	419
IV. Methoden für die quantitative Bestimmung von Enzymaktivitäten	420
1. Saccharaseaktivität	420
2. β -Glucosidase-Aktivität	420
3. Aktivität von α -Glucosidase, α - und β -Galaktosidase sowie Amylase	421
4. Ureaseaktivität	421
5. Protease-Aktivität	421
6. Phosphatase-Aktivität (Phospho-Monoesterase)	421
V. Bestimmungsmethoden für weitere Enzyme im Boden	422
Literatur	423
Inhibition and Activation of Enzymes. By FAY BENDALL. With 1 Figure	424
A. Introduction	424
B. Inhibition	425

I. Non-Competitive Inhibitors	428
1. Inhibitors of Groupings on Enzyme Molecules	428
a) —SH Inhibitors	428
b) S—S Inhibitors	432
2. Inhibitors of Enzymes and Enzyme Systems Affecting Primarily Groups of Enzymes Having Definite Functions	433
a) Inhibitors of Esterases	433
b) Inhibitors of Oxidizing Enzymes	434
c) Inhibitors of Protein Synthesis	441
II. Competitive Inhibitors	443
C. Activation	446
I. Inorganic Activators	446
II. Organic Activators	447
D. Latency	452
References	454
III. Estimation of Metabolites by Enzymes	
Enzymic Assays of Amino Acids and Keto Acids. By B. D. SANWAL.	456
I. Amino Acids	457
1. L-Aspartic Acid	457
a) Manometric Methods	457
b) Spectrophotometric Method	459
2. L-Glutamic Acid	459
3. L-Glutamine	460
4. L-Asparagine	461
5. L-Arginine	462
6. L-Histidine	463
7. L-Lysine	464
8. L-Tyrosine and L-Phenylalanine	465
9. L-Ornithine	465
10. L-Tryptophan	466
11. L- and D-Threonine	467
II. Keto Acids	468
1. Pyruvic Acid	468
2. Hydroxypyruvic Acid	469
3. Ketoglutaric Acid	469
References	471
Enzymatische Bestimmung von Metaboliten. Von G. PFLEIDERER	472
A. Allgemeine Übersicht	472
Optischer Test	474
B. Beschreibung der einzelnen Bestimmungen	475
I. Coenzyme	475
1. Pyridoxal-Phosphat	475
2. Coenzym A	476
3. Diphospho-pyridin-nucleotid und Triphospho-pyridin-nucleotid (oxydierte und reduzierte Form)	476
4. Thiamin-Pyrophosphat	478
5. Flavinadenin-Dinucleotid (FAD)	478
6. Flavin-Mononucleotid (FMN)	479
II. Adenylsäuren	479
1. Bestimmung von ATP, ADP und AMP	479
2. Adenosin-di-phosphat und Phospho-enol-brenztraubensäure (PBTS)	480
3. Adenosin-Monophosphat	481
III. Acetaldehyd	481
IV. Methylglyoxal	481

V. Äthylalkohol	482
VI. Organische Säuren	483
1. L(+)-Milchsäure	483
2. L(—)-Äpfelsäure	483
3. Isocitronensäure	484
VII. Zucker und Zuckerphosphate	484
1. Glucose, Fructose, Glykogen	484
2. Glucose-6-phosphat und Fructose-6-phosphat	486
3. Dioxyacetonphosphat, 3-Phosphoglycerinaldehyd und Fructose-1,6-Diphosphat	486
4. Ribose-5-phosphat, Xylulose-5-phosphat und 3-Phosphoglycerinaldehyd	486
VIII. Glycerin und L(—)-Glycerophosphat	487
Literatur	487
Sachverzeichnis (Deutsch-Englisch)	489
Subject Index (English-German)	501

Inhalt der übrigen Bände. — Contents of other Volumes.

1. Band.— Volume I.

- Allgemeine Maßnahmen und Bestimmungen bei der Aufarbeitung von Pflanzenmaterial.** Von K. PAECH, Tübingen.
- General Methods for Separation: Making and Handling Extracts.** By N. W. PIRIE, Rothamsted, Great Britain.
- General Methods for Separation. Electrical-Transport Methods.** By R. L. M. SYNGE, Bucksburn Great Britain.
- Multiplikative Verteilung.** Von E. HECKER, Tübingen.
- Die chromatographische Analyse in Säulen.** Von G. BRAUNITZER, Tübingen.
- Papierchromatographie.** Von H. HELLMANN, Tübingen.
- Colorimetric, Absorptimetric and Fluorimetric Methods.** By J. GLOVER, Liverpool, Great Britain.
- Refraktometrie und Interferometrie, Polarimetrie, Nephelometrie.** Von G. KORTÜM und M. KORTÜM-SEILER, Tübingen.
- Principles of Biological Assay.** By M. J. R. HEALY, Rothamsted, Great Britain.
- Methods Involving Labelled Atoms.** By J. GLOVER, Liverpool, Great Britain.
- Estimation of pH Values.** (Living Tissues and Saps.) By J. SMALL, Belfast, Great Britain.
- Oxidation-Reduction Potentials.** By R. HILL, Cambridge, Great Britain.
- Gasometric Analysis in Plant Investigation.** By R. H. KENTEN, Rothamsted, Great Britain.
- Cytochemical Methods.** By F. R. WHATLEY, Berkeley, Calif., USA.
- Mineral Components and Ash Analysis.** By E. C. HUMPHRIES, Rothamsted, Great Britain.

2. Band. — Volume II.

- Mono- and Oligosaccharides and Acidic Monosaccharide Derivatives.** By D. J. BELL, Edinburgh, Great Britain.
- Acyelic Sugar Alcohols.** By S. A. BARKER, Birmingham, Great Britain.
- Inosite und verwandte Naturstoffe.** Von G. DANGSCHAT, Berlin-Frohnau.
- Ascorbinsäure.** Von W. FRANKE, Bonn.
- Phosphorylated Sugars.** By Dr. A. A. BENSON, Pennsylvania, USA.
- Starch, Glycogen, Fructosans and Similar Polysaccharides.** By W. J. WHELAN, Bangor, Caernarvonshire, Great Britain.
- Cellulose and Hemicelluloses.** By M. A. JERMYN, Melbourne, Australia.
- Pektine.** Von F. A. HENGLEIN, Karlsruhe.
- Chitin.** By M. V. TRACEY, Rothamsted, Great Britain.
- The Analysis of Plant Gums and Mucilages.** By E. L. HIRST, Edinburgh, Great Britain, and J. K. N. JONES, Kingston, Ontario, Canada.
- Glycosides as a General Group.** By Dr. A. R. TRIM, Trumpington, Cambs., Great Britain.
- Fats and Other Lipids.** By M. L. MEARA, Middleton, Manchester, Great Britain.
- Volatile Alcohols, Aldehydes, Ketones and Esters.** By D. F. MEIGH, Maidstone, Kent, Great Britain.
- Volatile Acids.** By R. SCARISBRICK, London, Great Britain.
- Nichtflüchtige Mono-, Di- und Tricarbonsäuren.** (Unter Ausschluß chromatographischer Methoden.) Von JOHANNES WOLF, Karlsruhe.
- Non Volatile Mono-, Di- and Tricarboxylic Acids.** (Chromatographic and Ion Exchange Methods). By S. L. RANSON, Newcastle-upon-Tyne, Great Britain.
- Lactones.** By L. J. HAYNES, Edinburgh, Great Britain.

3. Band. — Volume III.

- Die niederen Terpene (ätherische Öle und Harze allgemein).** Von O. MORITZ, Kiel.
- Pyrethrins and Allied Compounds.** By R. F. PHIPERS, Berkhamsted, Herts., Great Britain.
- Triterpene und Triterpen-Saponine.** Von M. STEINER und H. HOLTZEM, Bonn.
- Phytosterine, Steroidsaponine und Herzglykoside.** Von A. STOLL und E. JUCKER, Basel.
- Carotenoids.** By T. W. GOODWIN, Liverpool, Great Britain.
- The Determination of Rubber and Gutta in Plants.** By H. M. BENEDICT, Stanford, California, USA.
- Simple Benzene Derivatives.** By D. D. CLARKE and F. F. NORD, New York, USA.
- Natural Tropolones.** By H. ERDTMAN, Stockholm, Sweden.
- Ein- und zweikernige Chinone.** Von O. HOFFMANN-OSTENHOF, Wien.
- Natural Phenylpropane Derivatives** By GEORGE DE STEVENS and F. F. NORD, New York N. Y., USA.
- Lignans.** By D. ERDTMAN, Stockholm, Sweden.
- Anthocyanins, Chalcones, Flavones, and Related Water-Soluble Plant Pigments.** By T. A. GEISSMAN, Los Angeles, USA.
- Lignin.** Von K. FREUDENBERG, Heidelberg.
- Natürliche Gerbstoffe.** Von OTTO TH. SCHMIDT, Heidelberg.
- Anthraglykoside und Dianthrone.** Von W. SCHMID, Tübingen.
- Growth Substances in Higher Plants.** By POUL LARSEN, Bergen, Norway.
- Antibiotics.** By F. A. SKINNER, Rothamsted, Great Britain.

4. Band. — Volume IV.

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

5. Band. — Volume V.

- Emission and Atomic Absorption Spectrochemical Methods.** By D. J. DAVID, Canberra A.C.T., Australia.
- Mass Spectrometric Methods.** By K. BIEMANN, Cambridge, Mass., USA.
- Plant Spectra: Absorption and Action.** By W. L. BUTLER and K. H. NORRIS, Beltsville, Maryland, USA.