

A kumarin fluorometrikus meghatározása Lange-rendszerű fényelektromos koloriméterrel és a módszer alkalmazása a somkóró kumarintartalmának meghatározására

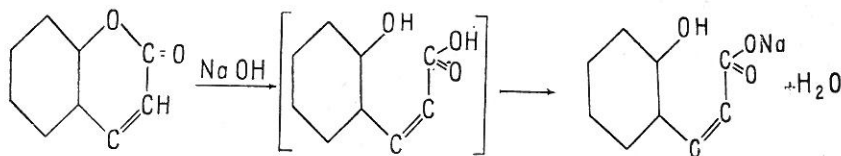
FERENCZ VILMOS és VERES LILLA

Agrokémiai Kutató Intézet Biokémiai Osztálya, Budapest

Állattenyésztésünk fejlesztésének előfeltétele takarmánybázisunk emelése. Ezt a célt szolgálják azok az erőfeszítések, amelyeket növénynevelésünk a kumarinszegény somkóró termelése érdekében kifejtettek (6). Ezen munkának hazánkban igen nagy akadályát jelentette egy olyan sorozatvizsgálatra alkalmas gyors, pontos és megbízható kumarin meghatározási módszer hiánya, amely lehetővé teszi a szükséges nagyszámú vizsgálat elvégzését. Az irodalomból ismeretes módszerek (1., 3., 4.) részben körülményességük miatt, (5) részben a kívánt különleges fluorométer hiánya miatt a célnak nem feleltek meg. A fluorometrikus módszer leegyszerűsített, szubjektív, formában való elbírálása a tapasztalatok szerint csupán tájékoztató vizsgálatokra alkalmas és ezért a nemesítők igényeit nem elégíti ki. Külön nehézséget jelentett a növényben a kumarinon kívül lévő fluoreszkáló anyag jelenléte, amely gyakran megtévesztő eredményre vezetett.

Ezen nehézségeken igyekeztünk segíteni amikor a fluorometrikus módszert a Lange-rendszerű fényelektromos fotométerrel tettük gyorsan és pontosan kiértékelhetővé.

A módszer alapja az az első ízben Ufer (7) által leírt, majd Slatensek és Washburn-tól kvantitatív módszerül alkalmazott (5) reakció, amely folytan a kumarin alkáli-lúgok jelenlétében kumarinsavvá, illetőleg annak UV-fényben sárgászöld fluoreszcenciát mutató alkáli-sózává alakul át.



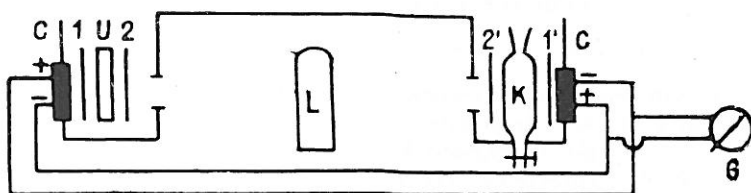
A gerjesztett fluoreszcens-fény intenzitása azonos körülmények között arányos a kumarintartalommal.

A fluoreszcens-fény mérését, valamint a növényekben még előforduló, — részben ismeretlen — fluoreszkáló anyagok zavaró hatásának kiküszöbölését a következő módon oldottuk meg:

A Lange-rendszerű kétcellás fényelektromos fotométer égőjét egy OSRAM Hg-spektrállámpával kicserélve a lencsét eltávolítottuk, és a nagyobb érzékenység érdekében a készülék galvanométere helyett egy 10^{-8} amp. érzékenységgű tükrös galvanométert használtunk. Az üvegeküveták helyett (átbocsájt 3400Å-ig) egy, az UV-fényt kevésbé elnyelő 2mm-es »Plexi-Glas«-ból készült átfolyós küvetát készítettünk, (átbocsájt 2800 Å-ig) amelyet megfelelő fémtokba foglalva két

üvegszűrő között alkalmaztunk. A Hg-lámpa felőli oldalon egy a látható fényt kiszűrő (3600—2800 Å között áteresztő), a cella felőli részén pedig az UV-fény, valamint az idegen fluorescens-fény kiszűrésére alkalmas zöldessárga színű szűrőt alkalmaztunk. Ez utóbbi céljára a fényképezetben használatos UV-szűrők megfelelnek.

Összehasonlító (standard) oldatként — később tárgyalandó okból — célszerű a fenti színszűrők között elhelyezett uránüveget alkalmazni, ennek hiánya esetén azonban átfolyós küvettaiban gyakran cserélt standard oldatok használhatók. A készülék szerkezetét és működési elvét az alábbi vázlat szemlélteti:



I. ábra

A készülék vázlata

K = küvetta, U = uránüveg, L = Hg gőz lámpa, G = galvanométer, C = fényelem (szeléncella)

A Hg-lámpa fényéből a 2—2' színszűrők a látható részt kiszűrik és az UV-sugarak az oldatot ill. uránüveget gerjesztik. Az 1—1' színszűrőkön csupán a fluoreszcens fény jut át, mely a cellákban fotoáramot kelt; ezek különbségét a galvanométer kilengése méri.

A mérés keresztülvitele a kétcellás fényelektromos készüléknél szokásos módon történik:

Az uránüveget a mérendő oldat fluoreszcenciájának megfelelően a cellától kellő távolságra helyezjük el. Ezen távolság beállítása a mérés folyamán várható legtöményebb kumarinoldattal történik, úgy hogy azt a másik cella ellé állítva a galvanométer kitérése 0 értéket mutasson. Az oldat eltávolítása után a fényrekeszt szabályozó korong segítségével az uránüveg (vagy standard-oldat) által mutatott kitérést felfelé kerekítve egy tizes vagy százaskézfőzetre állítjuk. A kitérésnek ezt a nagyságát a mérés folyamán többször ellenőrizni kell és eltérés esetén a fényrekeszt nyílásának változtatásával az eredeti értékre szabályozzuk.

A módszer kipróbálása modell oldatokkal

A standard oldatok készítése H o l l y (7) szerint a következő módon történik:

10 mg kumarint oldunk enyhe melegítés közben kb. 700 ml deszt. vízben, és miután hozzáadunk 16 ml 40%-os nátronlugot, 1 literre töltjük. Ezen törzsoldatból megfelelő hígítással koncentrációs sorozat készíthető. Hígító oldatként 1 literben 16 ml 40%-os nátronlugot tartalmazó oldat használandó.

A törzsoldat közvetlenül az elkészítés után csak fokozatosan veszi fel a maximális fluoreszcencia mértékét (kb. 2,5 óra), napfényen tartva azonban fél óra után használható.

A somkóróból történő kumarin meghatározásánál várható koncentrációs határok között uránüveggel szemben a 2. ábrán feltüntetett koncentrációs görbét nyertük.

1. táblázat

A koncentrációs görbe adatai

(1) Kumarin konc. gamma/ml	(2) Calv. kitérés: skálaegység
0,2	10
0,6	30
1,0	45
1,4	65
1,8	83
2,0	91

2. táblázat

A mérés reprodukálhatósága ugyanazon, törzsoldathól készített koncentráció sorozatnál

(1) Hígítás	(2) Galvanométer-kitérés			
	I.		II.	
	I.	II.	I.	II.
1.	10	10	13	10
2.	30	29	27	30
3.	45	42	44	45
4.	60	55	55	62
5.	83	80	80	80

A fenti adatokat három mérés átlagában, maximálisan ± 2 skálaegység eltéréssel kaptuk, ami a mellékelt koncentrációs görbéből leolvashatóan az 1 gamma/ml feletti régióban az 5%-os hiba alatt van.

A mérés pontosságára jellemző az egyazon törzsoldathól készített 4 koncentrációs sorozat kitűnően egyező mérési adatai (2. táblázat).

A 2 gamma/ml koncentrációig az oldatok maximális fluoreszcencia értékét (gerjedési idő) pillanatok alatt felveszi, míg 2–3 gamma/ml között 0,5 percet, 3 gamma/ml felett pedig 1 percet kell várni a leolvasás előtt.

A törzsoldat és a koncentrációs sorozat sötét helyen tartva 6 napon belül lényeges változást nem mutat (1. 3. táblázat).

3. táblázat

A sötét helyen tartott törzsoldat változása 0–6 nap között

(1) Hígítás	Nap (2)			
	0	2	4	6
	Galvanométer-kitérés (3)			
1	10	10	10	11
2	30	30	28	28
3	45	43	42	43
4	65	62	62	61
5	83	80	80	79
6	91	90	90	88

Az UV-fény hatásának kitett oldat fluoreszcenciája azonban már rövid idő alatt is érezhetően változik, csökken. Ennek oka a kumarinnak UV-fény hatására történő kumarinsavvá, majd kumarinná való visszaalakulása.

Ez a tény teszi célszerűvé az uránüveg standardként való alkalmazását. Ennek hiányában pedig a mérendő oldattal egyidőben cserélt összehasonlító oldat használatát.

Az oldat fluoreszcenciájának mértékét a hőmérséklet 15–40 C° között érezhetően nem változtatja (1. 5. táblázat).

4. táblázat

Az UV fény hatására kitett oldat fluoreszcenciájának változása 0—15 perc között

(1) Hígítás	Perc (2)				(1) Hígítás	Perc (2)			
	0	5	10	15		0	5	10	15
	Galvanométer-kitérés (3)					Galvanométer-kitérés (3)			
1.	100	98	96	95	4.	130	128	127	125
2.	105	100	100	98	5.	138	135	133	132
3.	121	118	115	114	6.	150	145	143	143

5. táblázat

A fluoreszcencia változása 15—40 °C között

C°	15	20	30	40
Galvanométer-kitérés (1)	22	22	23	24

6. táblázat

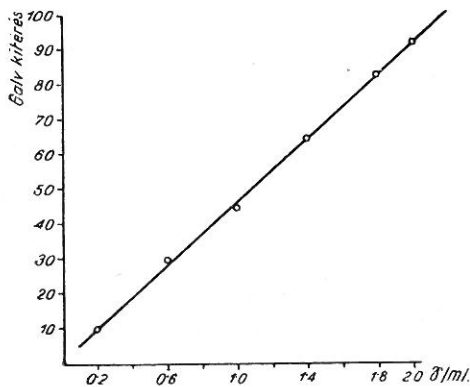
A fluoreszcencia változása a NaOH koncentrációjával

NaOH-koncentráció (1)	0,01 n	0,1 n	0,5 n	1 n
Galvanométer-kitérés (2)	4	105	140	150

Az oldat NaOH koncentrációja a fluoreszcencia mértékét lényegesen befolyásolja :

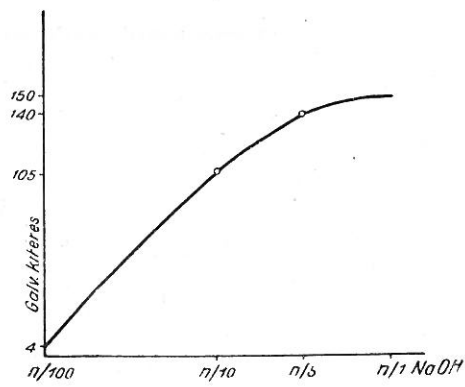
20 gamma kumarin 20—20 ml különböző normalitású NaOH oldatban oldva a 6. táblázatban közölt értékeket adja.

Az összehasonlító vizsgálatoknál tehát elengedhetetlen a NaOH pontos adagolása. A mellékelt görbe alapján célszerűnek látszik a Holly-féle standard oldat normalitását 0,16-ról 0,5-re emelni.



2. ábra

Koncentrációs görbe a kumarin meghatározásához 0—2 gamma/ml koncentráció között



3. ábra

A fluoreszcenz-fény intenzitásának változása NaOH koncentrációval

A módszer alkalmazása a somkóró kumarintartalmának meghatározására

A fenti módszer növényi anyagokon való kipróbálása, tenyészedényekben termesztett 2 hónapos somkóró (*M. lilotus albus*) növényeket használtuk, melyekhez magot a Sopronhorpácsi Kísérleti Gazdaságtól kaptunk.

Vizsgálat tárgyává tettük a kumarin-értékek reprodukálhatóságát a kettévágott levelek két része között, valamint a különböző magasságban lévő levelek kumarintartalmát hasonlítottuk össze.

A növények vizsgálatra való előkészítésére a Slatensek-Washbrun (5) módszert alkalmaztuk.

6mm Ø dugófúróval kivágott zöld levélkarikát, amelynek szárazanyaga jó megközelítéssel 1 mg, kémsóval 1 ml 40%-os NaOH-val leöntve, lazán ledugaszolva, 2 órán át vízfürdőn melegítettünk. (Ha szükségesnek mutatkozott, közben deszt. vízzel kb. az eredeti térfogatra feltöltöttük). Azután 50 ml-es mérőlombikba feltöltve, az oldatot 20 órán át világos helyen állni hagytuk, majd mértük.

Hét darab — szemre egyforma növény — gyökerétől számított második levélből vett két minta külön-külön vizsgálva, 3 mérés átlagában a 7. táblázatban feltüntetett eredményeket adta.

Ezen adatok jól megfelelnek az irodalomban közölt 1% körüli értékeknek.

Ugyanazon növények különböző magasságban lévő leveleit megvizsgálva egyöntetűen az alsó levelek kumarintartalma alacsonyabbnak bizonyult a felső levelekénél.

Tíz növény átlagában a 8. táblázatban feltüntetett értékeket kaptuk.

7. táblázat

7 növény gyökerétől számított második levélből vett 2 minta vizsgálati eredménye

(1) Növény	(2) Galvanométer-kitérés		(3) Átlag	(4) Kumarin- gamma/ml
	I. minta	II. minta		
1. .	10	10,5	10,25	0,20
2. .	13,5	13	13,25	0,23
3. .	13	14	13,5	0,23
4. .	20	19,5	19,75	0,31
5. .	14	15	14,5	0,25
6. .	15	16,5	15,75	0,27
7. .	12,5	13,5	13	0,23

8. táblázat

Ugyanazon növények különböző magasságban lévő leveleinek kumarintartalma

(1) Gyökértől számított levél	(2) Galvanométer- kitérés	(3) Kumarin, gamma/ml
1.	5	0,15
2.	15	0,25
3.	23	0,35
4.	27	0,39
5.	31	0,44

A magasabban ülő levelek növekvő kumarentartalmát már Slatensek (1) is megállapította.

A növényi anyagokkal végzett fenti vizsgálatok igazolják a modelloldatokkal tapasztalt tény, hogy az ismerttetett mérési módszer kiválóan alkalmas a növények kumarintartalmának meghatározására. Egy mérés időtartama maximálisan 1 perc. s így sorozatvizsgálatok végzésére is alkalmas.

Összefoglalás

A somkóró kumarintartalmának meghatározására a Lange-rendszerű fényelektromos kolorimétert használtuk (1. ábra). A készülék üveglencséit eltávolítva, az egyik küvetta tartóba egy Plexi-Glasból készült átfolyós küvetta (K), a másikba urán üveget (U) helyeztünk. Mindkettőnek a Hg-gőz lámpa (L) felőli oldalára egy a látható fényt kiszűrő (2-2'), a cella (c-c') felé eső oldalára pedig egy zöldes sárga színű színszűrőt (1-1') alkalmaztunk. Galvanométerként egy 10^{-8} Amp. érzékenységű műszert használtunk. A mérést a fényelektromos fotométereknél szokásos módon végezve modell oldatokban meghatároztuk:

1. 0—2 γ /ml koncentráció között a standard görbét (2. ábra),

2. hogy a reprodukálhatóság mértéke kielégítő és a hiba 5% alatt van (2. tábl.),
 3. hogy a törzsoldat 6 napon belül változást nem szenved (3. táblázat),
 4. hogy az UV-fény hatására kitétt oldat már 15 perc alatt is lényeges, változást mutat és ezért az uránüveg standard használata szükséges (4. táblázat),
 5. hogy a fluoreszcencia mértéke 15—40° C közötti hőmérsékleten lényegesen nem változik (5. táblázat),
 6. hogy a fluoreszcencia mértéke a NaOH koncentrációval nő (3. ábra).
- A módszert Slatensek-Washburn (5) szerint a növényre alkalmazva az irodalmi adatokkal jól megegyező értéket nyertünk.
- Érkezett : 1952. december 1.*

I r o d a l o m

1. Clayton, J. S. & Larmour, R. K. : *Canad. J. Res.* **13.** C. 89. 1935.
2. Holly, I. : Újítás. Sopronhorpács.
3. Kanovskaja, S. J. & Fedorova, A. M. : *Z. Anal. Chem.* **93.** 176. 1933.
4. Roberts, W. L. & Link, K. P. : *J. Biol. Chem.* 119. 1937.
5. Slatensek, J. M. & Washburn, E. R. : *J. Amer. Soc. Agron.* **36.** 704. 1944.
6. Slatensek, J. M. : *J. Amer. Soc. Agron.* **38.** 596. 1946.
7. Ufer, M. : *Der Züchter.* **6.** 255. 1934.

ФЛУОРОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ КУМАРИНА С ПОМОЩЬЮ ФОТОЭЛЕКТРИЧЕСКОГО КОЛОРИМЕТРА СИСТЕМЫ ЛАНГЕ И ПРИМЕНЕНИЕ ЭТОГО СПОСОБА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ КУМАРИНА В ДОННИКЕ

В. Ференц и Л. Вереш

Отдел Биохимии Агрехимического Научно-Исследовательского Института,
Будапешт

В ы в о д ы

Для определения содержания кумарина в доннике применен нами фотоэлектрический колориметр системы Ланге (рисунок 1). После удаления стеклянных линз аппарата в держатель одной кюветы мы положили протекающую кювету из Плекси-Глаза (К), а в другой — урановое стекло (У). На сторону лампы (L) пара Hg обонх держателей мы применяли видимый свет задерживающий фильтр (2—2'). а на сторону камеры (с—с') — цветной фильтр зеленовато-желтого цвета (1—1'). В качестве гальванометра использован нами прибор с чувствительностью 10⁻⁸ амп.

Измерение произведено нами в образцовых растворах по способу, примененному при фотоэлектрических фотометрах. Мы определили: 1. Стандартную кривую в пределах концентрации 0—2 μ /ml (рисунок 2). 2. Что степень репродуктивности удовлетворительна и ошибка составляет меньше 5% (таблица 2). 3. Что основной раствор в течение 6 дней не подвергается изменению (таблица 3.). 4. Что раствор под действием света УВ уже в течение 15 минут показывает значительное изменение и поэтому необходимо применять урановое стекло в качестве стандарта (таблица 4). 5. Что степень флуоресценции не изменяется в значительной мере при температуре 15—40° C (таблица 5). 6. Что степень флуоресценции повышается по мере увеличения применяемой концентрации NaOH (рисунок 3).

Применив этот метод по Слатенск—Вабурну к растениям, мы получили величины, хорошо совпадающие с литературными данными.

Т а б л и ц а 1. Данные концентрационной кривой. (1) Концентрация кумарина μ /ml. (2) Отброс гальванометра : единица шкалы.

Т а б л и ц а 2. Репродуктивность измерения при серии концентрации, изготовленной в таком же основном растворе. (1) Разведение. (2) Серия отброса гальванометра.

Т а б л и ц а 3. Изменение основного раствора, сохраняемого на темном месте в течение 0—6 дней. (1) Разведение. (2) Через сутки. (3) Отброс гальванометра.

Т а б л и ц а 4. Изменение флуоресценции раствора под действием света УВ в течение 0—15 минут. (1) Разведение. (2) Через минуту. (3) Отброс гальванометра.

Таблица 5. Изменение флуоресценции при температуре 15—40° С. (1) Отброс гальванометра.

Таблица 6. Изменение флуоресценции по мере концентрации NaOH. (1) Концентрация NaOH. (2) Отброс гальванометра.

Таблица 7. Результат исследования 2 образцов, взятых из второго листа, считая от корня 7 растений. (1) Растение. (2) I. образец. (3) II. образец. (4) В среднем. (2) Отброс гальванометра у образцов I. и II. (3) В среднем. (4) Кумарин γ /ml.

Таблица 8. Содержание кумарина листьев разного расположения этих же растений. (1) Лист 1—5, считая от корня. (2) Отброс гальванометра. (3) Кумарин γ /ml.

Рисунок 1. Схема аппарата.

Рисунок 2. Концентрационная кривая для определения кумарина в пределах концентрации 0—2 γ /ml. Ордината: отброс гальванометра: единица шкалы. Абсцисса: кумарин γ /ml.

Рисунок 3. Изменение интенсивности света флуоресценции по мере концентрации NaOH. Ордината: отброс гальванометра: единица шкалы. Абсцисса: концентрация NaOH.

Fluorometric Determination of Coumarin by Lange Photoelectric Colorimeter, and Application of this Method in Establishing the Coumarin Content of Sweet Clover

V. FERENCZ and L. VERES

Agrochemical Research Institute, Section for Biochemistry, Budapest

Summary

A Lange-type photoelectric colorimeter was used for the determination of coumarin content in sweet clover (Fig. 1). The glass lenses of the apparatus were removed, a streaming cuvette (K) of plexiglas was placed in one of the cuvette holders, and an uranium glass standard (U) in the other. Colour filters absorbing visible light rays (2—2') were applied at the side of cuvettes facing mercury vapour lamp (L), whereas greenish-yellow filters were placed (1—1') at the cuvette sides facing the cell (c—c'). The sensitivity of the galvanometer applied ranged 10^{-8} amp.

Measurement carried out in model solutions by the methods usual at photoelectric photometers gave following results:

1. the standard curve (Fig. 2) was established for concentrations from 0 to 2 γ /ml;
2. that the degree of reproducibility is satisfying and the error ranges below 5% (Table 2);
3. that no changes occur in the composition of the stock solution within 6 days (Table 3);
4. that considerable changes occur in the composition of the solution when treated for 15 minutes with ultraviolet rays, thus it is essential to use a standard of uranium glass (Table 4);
5. that the degree of fluorescence does not change essentially in a temperature range from 15 to 40° C (Table 5);
6. that the degree of fluorescence increases with the rising concentration of sodium hydroxide applied (Fig. 3).

When this method was applied on plants according to Slatensek-Washburn (5), the values obtained were in good agreement with data of literature.

Table 1. Data of concentration curve. (1) Concentration of coumarin, γ /ml. (2) Unit of scale: galvanometer reading.

Table 2. Reproducibility, in a series of solutions of various concentration, prepared from the same stock solution. (1) Dilution (2) Galvanometer readings.

Table 3. Changes in stock solution stored in darkness for a period from 0 to 6 days. (1) Dilution. (2) Number of days (3) Galvanometer reading.

Table 4. Changes in fluorescence of solution exposed for 0 to 15 minutes to ultraviolet rays. (1) Dilution. (2) Minutes. (3) Galvanometer reading.

Table 5. Changes in fluorescence at a temperature of 15 to 40° C. (1) Galvanometer reading.

Table 6. Correlation of change of fluorescence with concentration of sodium hydroxide. (1) Sodium hydroxide concentration. (2) Galvanometer reading.

Table 7. Results of investigation of 2 samples taken from second leaves (calculated strting with the root) of 7 plants. (1) Plant. (2) Galvanometer reading, Samples, I and II. (3) Average. (4) Coumarin, γ /ml.

Table 8. Coumarin content in leaves of the same plant, taken from different levels. (1 Leaf no. 1, no. 5, calculated starting with the root. (2) Galvanometer reading. (3) Coumarin, γ /ml.
Fig. 1. Diagram of apparatus.

Fig. 2. Working curve for the determination of coumarin, concentration range 0—2 γ /ml. Ordinate: Galvanometer reading: unit of scale. Abscissa: coumarin, γ /ml.

Fig. 3. Change of intensity of fluorescent light with increasing sodium hydroxide concentrations. Ordinate: Galvanometer reading: unit of scale. Abscissa: sodium hydroxide concentration.

Fluorometrische Bestimmung des Kumarins mittels einem photoelektrischen Kolorimeter, System Lange, ferner die Anwendung dieser Methode zur Bestimmung des Kumarins im Steinklee

V. FERENCZ und L. VERES

Biochemische Abteilung der Agrochemischen Forschungsinstitut, Budapest

Zusammenfassung

Der Cumaringehalt des Steinklees wurde mittels einem photoelektrischen Kolorimeter-System Lange, (Abb. 1) bestimmt. Nach Entfernung der Glaslinsen des Apparates wurde eine Durchflusscuvette (K) aus Plexi-Glas in den einen, und ein Standard aus Uranglas (U) in den anderen Cuvettenhalter eingesetzt. Bei der dem Quecksilberdampf Lampe (L) entgegengesetzten Seite der Cuvetten wurden Lichtfilter angewendet, welche das sichtbare Licht absorbieren (2—2'), während an der — der Zelle (c—c') entgegengesetzten-Seite ein grünlich-gelbes Lichtfilter (1—1) gesetzt wurde. Die Empfindlichkeit des Galvanometers betrug 10^{-8} Amp.

Die in Modellösungen in der bei photoelektrischen Kolorimetern üblichen Weise vollgeführten Messungen ergaben:

1. eine Standardkurve für Konzentrationen 0—2 γ /ml (Abb. 2).
2. dass die Methode genügend reproduzierbare Werte mit unter 5% bleibenden Fehler liefert (Tabelle 2),
3. dass keine erheblichen Umwandlungen in der Stammlösung binnen 6 Tagen bestehen (Tabelle 3),
4. dass die Lösung unter den Einfluss von ultravioletter Bestrahlung in 15 Minuten erheblich umgewandelt wird, darum ist es nötig, ein Standard aus Uranglas zu benützen (Tabelle 4),
5. dass keine wesentlichen Unterschiede in den Fluoreszenzwerte zwischen Temperaturgrenzen 15—40° C bestehen (Tabelle 5).

6. dass der Fluoreszenzwert mit wachsenden NaOH-Konzentrationen auch wächst (Abb. 3). Die Anwendung dieser Methode an Pflanzen nach Slatensck-Washburn (5) gab mit den Literaturangaben gut übereinstimmende Daten.

Tabelle 1. Angaben der Konzentrationskurve. (1) Konzentration des Kumarins, γ /ml. (2) Galvanometer-Ausschlag: Skaleneinheit.

Tabelle 2. Reproduzierbarkeit der Messung in Lösungen verschiedener Konzentration, aus derselben Stammlösung hergestellt. (1) Verdünnung. (2) Galvanometer-Ausschlag.

Tabelle 3. Umwandlung einer Stammlösung in 0—6 Tagen in Finsternis gelagert. (1) Verdünnung. (2) Anzahl der Tagen. (3) Galvanometer-Ausschlag.

Tabelle 4. Änderung der Fluoreszenzwerte einer Lösung durch ultravioletter Bestrahlung für 0—15 Minuten. (1) Verdünnung. (2) Minuten. (3) Galvanometer-Ausschlag.

Tabelle 5. Änderung der Fluoreszenz zwischen Temperaturwerte 15—40° C. (1) Galvanometer-Ausschlag.

Tabelle 6. Änderung der Fluoreszenz mit Konzentrationsänderung von NaOH. (1) NaOH-Konzentration. (2) Galvanometer-Ausschlag.

Tabelle 7. Untersuchungsdaten von zwei Mustern aus 7 Pflanzen, genommen aus den von Wurzel gerechnet zweiten Blättern. (1) Pflanze. (2) Galvanometer-Ausschlag bei Mustern I und II (3) Durchschnittswerte. (4) Cumaringehalt. γ /ml.

Tabelle 8. Cumaringehalt in den Blättern derselben Pflanze, gesammelt aus verschiedener Höhe. (1) 1—5. Blatt, gerechnet vom Wurzel. (2) Galvanometer-Ausschlag (3) Cumaringehalt γ /ml.

Abb. 1. Skizze des Apparates.

Abb. 2. Konzentrationskurve für die Kumarinbestimmung in den Konzentrationsgrenzen 0—2 γ /ml. Ordinate: Galvanometer-Ausschlag: Skaleneinheit. Abscisse: Kumarin, γ /ml.

Abb. 3. Intensitätsänderung des Fluoreszenzlichtes mit der Konzentration der Natronlauge. Ordinate: Galvanometer-Ausschlag: Skaleneinheit. Abscisse: Konzentration der Natronlauge.