Zeitschrift
für
Untersuchung der Nahrungs- und Genußmittel,
sowie der Gebrauchsgegenstände.

Heft 9.

1. Mai 1909.

17. Band.

**Über eine Methode der quantitativen mikroskopischen
Untersuchung von Pflanzenpulvern.**

Von

Prof. Dr. **Arthur Meyer** in Marburg.

[Eingegangen am 3. März 1909.]

Mittels des Mikroskopes werden wohl immer noch nur in seltenen Fällen quantitative Untersuchungen ausgeführt, obgleich die Praxis oft genug Fragen stellt, welche nur mittels einer quantitativen mikroskopischen Analyse beantwortet werden können.

Solche Aufgaben sind z. B. die quantitative Bestimmung zweier verschiedener Stärke- oder Mehlsorten in einem Gemische; die quantitative Bestimmung von Pflanzenpulvern in durch diese verfälschten Gewürzpulvern, pulverförmigen Arzneimitteln oder Futtermitteln.

Für derartige Untersuchungen habe ich eine Methode schon früher in meinem Buche „Die Grundlagen und Methoden für die mikroskopische Untersuchung der Pflanzenpulver“ (1901, S. 125) beschrieben. Die Prinzipien dieser Methode sind die folgenden:

Für das Pulver, dessen in einem anderen Pflanzenpulver enthaltene Menge zu bestimmen ist, wird zuerst ein brauchbares Meßelement ausgewählt, welches einwandfrei erkennbar und mikroskopisch zählbar ist. Ein solches Meßelement muß leicht charakterisierbar und annähernd gleich groß in allen seinen Individuen sein und in dem Pulver stets in annähernd gleicher Menge vorkommen. Stärkekörner, Aleuronkörner, Pollenkörner, Spaltöffnungen, Sklerenchymzellen, Haare, Sekretzellen etc. können unter Umständen als Meßelemente brauchbar sein. Für Maisstärke können wir z. B. die Großkörner wählen, d. h. Körner dieser Stärke, welche größer als 9 Mikromillimeter sind, wenn wir den Gehalt einer mit Maisstärke versetzten Reisstärke an Maisstärke quantitativ bestimmen wollen. Hierauf wird für das Meßelement die Normalzahl bestimmt, z. B. die Normalzahl für die Großkörner der Maisstärke.

Hierzu gebraucht man eine Zählkammer von 0,2 mm Tiefe, auf deren Boden ein Netzmikrometer mit quadratischen Maschen von 0,05 mm Seitenlänge eingeritzt ist. Das Volumen über jedem Quadrate beträgt demnach 0,0005 cem.

Die Normalzahl (g) sagt bei dieser Methode aus, wieviel Meßelemente auf 16 Quadrate der Zählkammer fallen, wenn man die Kammer mit einem Gemische von 50 cem Glycerin und 1 g des trocknen Pulvers füllt, dessen Meßelement in

Betracht kommt. Die Normalzahl für die in der Maisstärke enthaltenen Großkörner ist 115,7.

Will man nun in einem Pulver (z. B. in einem Gemenge von Reisstärke und Maisstärke) den Zusatz des das Meßelement enthaltenden Pulvers quantitativ bestimmen, so mengt man eine passende Menge des trockenen Pulvers mit 50 ccm Glycerin, z. B. 0,21 g (w Gramm) Maisstärke, und untersucht, wieviel Meßelemente auf 16 Quadrate fallen. Es fielen z. B., als die Zählkammer mit der Mischung von 0,21 g des Gemisches von Maisstärke und Weizenstärke auf 50 ccm Glycerin gefüllt wurde, auf 16 Quadrate 5,58 (n) Großkörner der Maisstärke.

Nach der Formel $\frac{100 \cdot n}{g \cdot w}$ läßt sich der Prozentgehalt aus den Größen g, n, w berechnen. Für unser Beispiel ist $g = 115,7$, $n = 5,58$, $w = 0,21$, deshalb $\frac{100 \times 5,58}{115,7 \times 0,21} = 23\%$; also enthielt die Reisstärke 23% Maisstärke.

Anscheinend ist diese Methode, welche bei einiger Übung sehr gute Ergebnisse liefert und dann, wenn die Normalzahl bestimmt ist, sehr schnell ausführbar ist, wenig angewandt und weiter gebildet worden, weil vielleicht ihre Hilfsmittel dem Praktiker etwas fremdartig erschienen.

Nur eine gute Studie, welche sich auf diese Methode bezieht, ist mir bekannt. Harald Huss¹⁾ hat sie für die Bestimmung von Haselnußschalen, in Zimtpulver und von Leinsamen in Baumwollensamenmehl angewendet. Als Meßelement für die Haselnußschalen benutzte er Sklerenchymzellen von 25—30 Mikromillimeter Durchmesser; sie unterscheiden sich von den Sklerenchymzellen des Zimtes durch die relativ engen Tüpfelkanäle. Als Normalzahl fand er 2,43 (für unsere neue Methode würde sich daraus die Normalzahl 15 berechnen). Bei dem Leinsamenmehl wandte er die 4—8 Mikromillimeter großen Globoide der Aleuronkörner als Meßelemente an. Die Normalzahl war für sie 48,4; für unsere neue Gewichtsmethode würde die Normalzahl danach ungefähr 302 betragen.

Die neue Methode, welche ich hier beschreiben will, ist in gewisser Beziehung der älteren ähnlich, nur arbeitet sie nicht mit einem Volumenmeßapparate, sondern mit der Wage. Sie steht somit den gewöhnlichen chemischen Methoden näher, und es ist deshalb anzunehmen, daß sie mehr Verwendung bei den Nahrungsmittelchemikern und landwirtschaftlichen Versuchsstationen finden wird. Freilich wird sie erst dann bequem und einfach werden, wenn eine Reihe der wichtigsten Normalzahlen für die gebräuchlichsten Meßelemente festgelegt sein wird. Diese Arbeit würde die Praxis aber leicht und bald leisten können.

Der einzige Apparat, den man für diese Methode braucht, ist einer von den beiden von mir angegebenen Suchtischen. Den billigeren und einfacheren, aber weniger bequemen „Suchtisch I“ habe ich in meinem Buche²⁾ empfohlen, aber erst im Jahre 1908 zugleich mit dem „Suchtisch II“ kurz beschrieben³⁾. Diese Suchtische sind sehr vorteilhaft zu verwenden, wenn es gilt, Pulver qualitativ auf fremde Bei-

¹⁾ Harald Huss, Über die quantitative Bestimmung von Pulverbestandteilen mittels des Mikroskopes. — Die Landwirtschaftlichen Versuchsstationen 1904. 60, 1—14.

²⁾ Arthur Meyer, Die Grundlagen und die Methoden der mikroskopischen Untersuchung von Pflanzenpulvern. Jena 1901, S. 246.

³⁾ Archiv der Pharmacie 1908, 246, 523.

mengungen zu untersuchen, denn nur mit Hilfe eines solchen Apparates wird man sicher jeden Punkt eines mikroskopischen Präparates durchsuchen, während man bei Führung des Präparates mittels der Hand meist dieselbe Stelle des Präparates mehrmals, viele Stellen aber überhaupt nicht zu sehen bekommt. Wichtiger aber ist die Anwendung der Apparate zur quantitativen Untersuchung von Pulvern.

Ich will zuerst eine kurze Beschreibung der beiden Apparate geben.

Der Suchtisch I.¹⁾

Der Suchtisch I (Fig. 34) besteht zuerst aus einer Platte P, welche dem Objektisch aufliegt. Sie dient einem von vorn nach hinten verschiebbaren Schlitten H mit ihrem rechten und linken Rande zur Führung. Der Schlitten trägt oben und unten eine Leiste, in welcher wiederum der von rechts nach links bewegliche Schlitten S läuft. Der Schlitten S besitzt in der Mitte einen quadratischen Ausschnitt von 20 mm Seitenlänge. Ein Rand von 6 und 3 cm Seitenlänge r ist um diesen Ausschnitt herum vertieft, sodaß ein Objektträger in diese Vertiefung eingelegt werden kann. Der Schlitten S wird durch eine Schraube s von rechts nach links und umgekehrt verschoben, die in einer Mutter m beweglich ist. Zur Bewegung des Schlittens H faßt man die beiden Knöpfe K, welche an ihm befestigt sind, mit dem Zeigefinger und Daumen und zieht den Schlitten vor oder zurück. Der Schlitten H trägt eine kleine federnde Zunge Z, welche in eine Zahnreihe l einschnappt. Ich habe an derselben neuerdings ein Knöpfchen anbringen lassen, mit dem man beim Zurückschieben die Feder aus der Zahnleiste herausheben kann, sodaß diese nicht unnötig abgenutzt wird. Führt man den Schlitten um eine Zahnreihe weiter, so ist die Verschiebung gleich der Breite des Gesichtsfeldes von Objektiv V mit Okular 2; eine Fortbewegung über 4 Zähne entspricht dem Durchmesser des Sehfeldes von Objektiv II mit Okular 2 der Mikroskope von W. & H. Seibert in Wetzlar.

Der Suchtisch II (Perquirator).

Ein vollkommenerer Suchtisch (II) ist von Seibert in Wetzlar auf meine Veranlassung hin ebenfalls gebaut worden. Der Suchtisch II (Fig. 35—37, S. 500 bis 501) ist im wesentlichen ein Kreutztisch mit zwei zueinander senkrechten Bewegungen. Die Bewegung von vorn nach hinten wird, wie bei jedem Kreutztisch durch ein Triebwerk ausgeführt. Die Spindelschraube, welche die seitliche Bewegung bewirkt, ist mit einer Vorrichtung von zwei Zahnrädern verbunden, welche es ermöglicht, die Querbewegung durch den in der Abbildung (Fig. 36) nach unten gerichteten Hebel H um ein bestimmtes Stück weiter zu rücken. Durch Einstellung des Index (J in Fig. 37) auf eine Teilung kann die Wirkung des Hebels so reguliert werden, daß er zwischen 1 und 35 Zähne greift. Die Zahnräder sind nun so im Verhältnis zur Steigung der Schraube hergestellt, daß die Verschiebung um einen Zahn immer 0,1 mm beträgt. So ist es möglich, den Apparat annähernd für jedes beliebige Sehfeld, dessen Durchmesser zwischen 0,1 und 3,5 mm liegt, einzustellen, sodaß dann bei jeder vollständigen Auf- und Abwärtsbewegung des unteren Hebels das Objekt fast genau um die Sehfeldbreite seitlich fortbewegt wird. Bei der Einstellung noch übrig bleibende Bruchteile des Sehfeldes, welche kleiner als 0,1 sind, gleicht man durch geringes Ein- oder Ausschieben des Tubus aus. Noch bequemer

¹⁾ Zu beziehen von W. & H. Seibert in Wetzlar. (Preis 36 Mk.)

Fig. 34.
Suchtisch I.

Fig. 35.
Suchtisch II, ein beweglicher Objekttisch mit genauer automatischer Einstellung
auf den Durchmesser des Sehfeldes.

Fig. 36.

Suchtisch II, von der Seite gesehen.
Bei dieser Stellung der Hebel sind die Zahnräder ausgeschaltet.

Fig. 37.

Suchtisch II, von der Seite gesehen.
Bei dieser Stellung bewegt sich das Objekt um eine Sehfeldbreite nach rechts.

und namentlich auch optisch vorteilhafter läßt sich diese Korrektur durch eine quadratische Irisblende, die im Okular angebracht ist, ausführen, die man auf die Größe der eingestellten Verschiebung nachträglich genau einstellt. Das Okular mit der Quadratblende kann ebenfalls von Seibert in Wetzlar bezogen werden. Des weiteren ist noch folgendes zu bemerken:

Gibt man dem Hebel F der Vorrichtung die in Fig. 36 dargestellte Stellung, so sind die Zahnräder ausgeschaltet und der Kreutztisch kann wie jeder andere Kreutztisch ohne die Einstellvorrichtung benutzt werden. Man sieht auf dem unteren starken Hebelarm H, welcher zum Fortschieben des Zahnrades bestimmt ist, einen kleinen federnden Hebel F liegen, der mit einem Knöpfchen versehen ist. Diese Hebelfeder schnappt in drei Ruhelagen ein. Hier ist nun der federnde Hebel in die mittlere Ruhelage eingestellt und damit bewirkt, daß die beiden Zähne Z der hinter dem großen Hebel liegenden Sperrvorrichtung vom Zahnrad abgehoben sind.

Gibt man dem Hebel F der Vorrichtung die in Fig. 37 dargestellte Stellung, so greift der eine Haken der Sperrvorrichtung (Z in Fig. 36) in das große Zahnrad ein und das Objekt wird nun bei jeder voll ausgeführten Bewegung des großen unteren Hebels H von vorn unten nach oben hinten um eine Sehfeldgröße nach rechts verschoben.

Stellt man den kleinen Hebel F in die linke Ruhelage, so verschiebt sich das Objekt nach links. Man beachte in der Fig. 36 und in der Fig. 37 noch oben links den mit einer mit Knöpfchen versehenen Schraube feststellbaren Index I.

So kompliziert die Einrichtung nach der Beschreibung auch erscheinen mag, so einfach und bequem ist die Handhabung und Einstellung des Apparates, den Seibert in Wetzlar in vorzüglicher Ausführung liefert.

Der Hebel K dient nur zum Andrücken des größeren Rades und wird nicht bedient. Ich habe veranlaßt, daß jetzt an seiner Stelle ein kleines Schraubchen angebracht wird.

Kennt man den Durchmesser des Sehfeldes des Mikroskopes, mit dem man arbeitet, für die betreffende Linsenkombination, so kann man, wie gesagt, mit dem Index sogleich die grobe Einstellung des Suchtisches bewerkstelligen.

Für Instrumente von W. & H. Seibert in Wetzlar sind die Sehfeldgrößen für die gebräuchlichsten Linsenverbindungen folgende:

	Objektiv: I	II	V	V ^{1/2}
u ygens Okular 1:	3,5	2,2	0,55	0,43 mm
" " 2:	2,7	1,8	0,45	0,35 "
" " 3:	2,0	1,2	0,28	0,25 "

Für die Instrumente von Zeiß in Jena:

	Objektiv: A	B	C	D	E
Huygens Okular 2:	2,0	1,5	0,9	0,5	0,35 mm

Ich will nun die neue Methode sogleich an einem praktischen Beispiele erläutern.

Es soll sich um die Aufgabe handeln, festzustellen, wie viel Prozent Saflor (Blüten von *Carthamus tinctorius*) in einem mit Saflor verfälschten Safranpulver enthalten sind.

Bestimmung der Normalzahl.

Wir wählen als brauchbares Meßelement die Pollenkörner des Saflors, da sie sehr charakteristisch und mit den wenigen Pollenkörnern des Safrans durchaus nicht zu verwechseln sind, und bestimmen nun zuerst für sie die Normalzahl.

Unter Normalzahl verstehen wir bei dieser Methode die Zahl, welche angibt, wieviel Meßelemente in 1 mg des das Meßelement enthaltenden Pulvers vorkommen. Die bei 100° getrockneten Blüten von *Carthamus tinctorius* werden gepulvert und durch ein Sieb von 0,15 mm lichter Maschenweite getrieben. Zur orientierenden Bestimmung der Normalzahl wägen wir auf einem Objektträger (62 mm lang, 32 mm breit) 1 mg annähernd genau ab, verrühren das Pulver mittels einer Nadel $\frac{1}{2}$ Minute mit einem Tröpfchen Chloralhydratlösung (5 g Chloralhydrat, 2 g Wasser), fügen eine Spur Glycerin hinzu und decken ein quadratisches Deckglas von 20 mm Seitenlänge so auf, daß keine Spur der Substanz unter dem Rande des Deckglases hervortritt. Wir befestigen nun den Suchtisch II so am Objektische, daß die seitlichen Kanten der Platte des Suchtisches mit den Seitenkanten des Objektisches genau parallel laufen, klemmen das Präparat zwischen die beiden Metallarme fest und stellen die Quadratblende, deren Seitenkanten genau mit den Seitenkanten des Tisches parallel gestellt sind, auf die mittlere Größe ein.

Das Hebelchen F wird nun zunächst in die Mitte gestellt. Hierauf stellen wir mit Objektiv II und Okular 1 von Seibert (oder einer ähnlichen Linsenkombination anderer Firmen) auf ein Pollenkorn ein und bewegen mittels des Suchtisches das Präparat so, daß das Pollenkorn links an der Grenze des quadratischen Sehfeldes liegt und von der linken Grenzlinie gerade halbiert erscheint. Wir stellen jetzt den Hebel F nach rechts (vom Beobachter weg), ebenso den Hebel H nach unten und vorn (Fig. 36), lockern das Schraubchen des Index (J) und schieben den Index so weit nach unten und vorn, daß er den Hebel H berührt. Dann bewegen wir vorsichtig den Hebel H nach uns zu, bis das eingestellte Pollenkorn gerade von der rechten Grenzlinie des Sehfeldes halbiert wird, und klemmen den noch auf dem Hebel H ruhenden Index vorsichtig mittels des Schraubchens an der Skala fest. So ist der Apparat für die Größe des Sehfeldes ganz oder annähernd genau eingestellt. Sind noch kleine Differenzen vorhanden, so korrigieren wir sie durch Veränderung der Blendenweite um die Hälfte der Differenz. Wir bringen hierauf das Hebelchen F in mittlere Stellung und stellen die linke untere Ecke des Deckglases so ein, daß sich ihr Bild mit der oberen rechten Ecke der Blende deckt. Wir stellen dann das Hebelchen F nach links (hinten) und bewegen nun erst das Präparat durch Handhabung des links liegenden Knopfes des in die Zahnleiste eingreifenden Rädchens von vorn nach hinten.

Dabei zählen wir jedes der im Sehfeld erscheinenden Pollenkörner und notieren die Zahl der im Streifen gefundenen Pollen. Dann bewegen wir den vorher wieder ganz nach unten und vorn gedrückten Hebel H ruhig bis zum Index, sodaß sich das Präparat um ein Sehfeld verschiebt und wiederholen alles vorher geschilderte, bis das ganze Präparat durchgezählt ist.

Man braucht übrigens für diesen nur eine ganz annähernde Bestimmung bezweckenden Versuch nur ungefähr 4 der 17 bis 18 Streifen zu durchsuchen. Bei der Ausführung des Versuches fanden sich auf 4 Streifen: 90, 98, 85, 105 Pollen, also durchschnittlich auf dem Streifen 94 Pollen. Wir brauchen diese Zahl, weil es vorteilhaft für die genauen Zählungen ist, wenn man das Pulver so verdünnt, daß

bei Anwendung von 5 mg des verdünnten Pulvers ungefähr auf jeden Streifen 8—10 Meßelemente fallen.

Zu dem Zwecke müssen wir also 1 Gewichtsteil unseres Pulvers mit 49 Gewichtsteilen feinsten Zuckerpulvers (Maschenweite des Siebes für den Zucker 0,08 mm) sehr sorgfältig mischen.

Nun erst gehen wir zur Bestimmung der Normalzahl über. Wir wägen von dem 2%-igen Gemische auf dem Objektträger sehr genau 5 mg ab und zählen, wie vorher, alle im Präparate vorhandenen Pollenkörner. Dasselbe wiederholen wir mit weiteren 9 Präparaten von je 5 mg des Pulvers. Der Versuch ergab für die 10 Präparate folgende Zahlen: 192, 164, 160, 186, 156, 180, 152, 170, 160, 147. Im Durchschnitt wurden also in 5 mg der 2%-igen Mischung 166,8 Pollenkörner, d. h. in 1 mg des reinen Saflors 1668 Pollen gefunden.

Die ein für allemal festgelegte Normalzahl für die Pollen des Saflor ist also 1668.

Untersuchung des verfälschten Pulvers.

Bei der Untersuchung des mit Saflor verfälschten Safranpulvers verfahren wir wesentlich so, wie bei der Bestimmung der Normalzahl. 1 mg des getrockneten Pulvers wird erst annähernd auf die Zahl der in einem Streifen auftretenden Pollenkörner untersucht. Nötigenfalls wird es dann mit der passenden Menge Zucker verdünnt, und 5—10-mal 5 mg werden auf die Zahl der in ihnen enthaltenen Pollenkörner untersucht. Nehmen wir an, wir fänden darnach in 1 mg 32 Pollen, so wären

$$\frac{32 \times 100}{1668} = 1,9\% \text{ Saflor in dem Safranpulver vorhanden gewesen.}$$

Man wird erkennen, daß die Methode an sich recht einfach ist. Es würde, wie gesagt, nur darauf ankommen, für recht viele Verfälschungsmittel die Meßelemente und deren Normalzahl festzulegen, damit der eine Teil der Untersuchung dem Praktiker erspart bliebe. Solche Normalzahlen könnten aber die jetzt zahlreicheren botanisch geschulten Kräfte der Praxis bald in genügender Anzahl bestimmen, wenn sie Interesse für die Methode gewinnen würden.

In einer Abhandlung über „Flores Koso“¹⁾ habe ich die Normalzahl für die Pollenkörner der männlichen Blüten der Kosopflanze, die zur Verfälschung der „Flores Koso“ benutzt werden, auf 44 640 festgesetzt, für gestreifte männliche Blütenstände der Kosopflanze auf 11 480. 1 mg der männlichen Kosoblüten enthält also 44 640 Pollen.

¹⁾ Archiv der Pharmacie 1908, 246, 523.