

schlauch-Anschluss versehen und über denselben mit einer leeren Probenkapillare verbunden, deren anderes Ende man in den Verdampferraum des Gaschromatographen einführt. Aus Gründen der Betriebssicherheit diene Helium anstelle des im übrigen geeigneteren Wasserstoffs als Trägergas. In allen Fällen betrug die Verdampfertemperatur etwa 150 °C, die Abschwächung 1×4 , der Messbereich des Schreibers 1 mV.

Bei der gaschromatographischen Untersuchung der acetylierten Alkohole wurden nacheinander die folgenden Operationen durchgeführt: 1. Man begann eine Zeitmes-

sung und öffnete den Kolonnenofen. 2. Die leere Probenkapillare wurde aus dem Verdampferraum abgezogen und von der Trennkapillare gelöst. 3. Man liess 15 sec verstreichen (vom Moment an gerechnet, wo der Kolonnenofen geöffnet worden war), um den zunächst in der Trennkapillare herrschenden Überdruck auf Atmosphärendruck absinken zu lassen. 4. Die den acetylierten Alkohol enthaltende Probenkapillare wurde mit der Trennkapillare verbunden; das andere Ende der Probenkapillare führte man in den Verdampferraum ein. 5. Man schloss den Kolonnenofen und markierte auf dem Schreiber den Start des Gaschromatogramms.

Das Gaschromatogramm des acetylierten 1-Decanols ist in Figur 2 a abgebildet: Peak A entspricht dem aus 1 ng 1-Decanol gebildeten Decylacetat. Figur 2 b zeigt ein unter denselben Bedingungen aufgenommenes Gaschromatogramm des Ausgangsmaterials: Peak B entspricht 1 ng 1-Decanol⁸.

Summary. An acetylation procedure for nanogram amounts of alcohols is described.

S. HUWYLER

Organisch-chemisches Institut der Universität,
Rämistrasse 76, CH-8001 Zürich (Schweiz),
2. Dezember 1971.

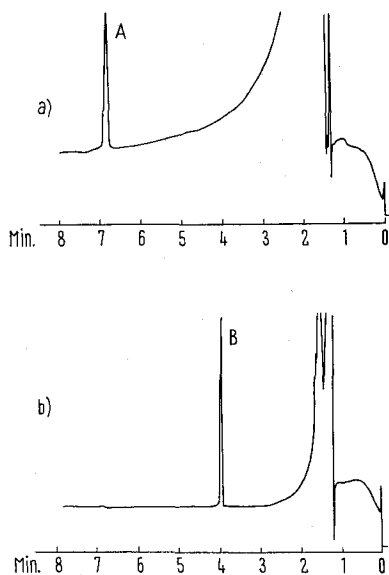


Fig. 2. a) Peak A: Decylacetat, aus 1 ng 1-Decanol entstanden; b) Peak B: 1 ng 1-Decanol.

³ K. GROB und G. GROB, J. Chromat. Sci. 7, 584 (1969).

⁴ K. GROB und G. GROB, J. Chromat. Sci. 8, 635 (1970).

⁵ K. GROB und G. GROB, Chromatographia 5, 3 (1972).

⁶ K. GROB, Helv. chim. Acta 51, 718 (1968).

⁷ Bezugsquelle: H. J. JÄGGI, Laboratorium für Gaschromatographie, CH-5642 Mühlau (Schweiz).

⁸ Herrn Prof. Dr. K. GROB bin ich für Beratungen bei der Durchführung der Gaschromatographie zu grossem Dank verpflichtet. Die Entwicklung von Ultramikromethoden geschieht im Auftrag von Herrn Prof. Dr. M. VISCONTINI und wird vom Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung unterstützt.

A Reassessment of the Use of Modified Tyrode's Solution as a Physiological Medium for Suspension of Isolated Platelets

At the present time one of the most common methods used in the study of factors affecting aggregation *in vitro* is the method of BORN¹ in which changes in light transmission caused by aggregation of stirred platelet-rich-plasma or isolated platelets suspended in physiological media is recorded. The extent of aggregation has been shown to be dependent upon the pH of the suspending medium because maximal aggregation occurs at pH 8.0 while no aggregation occurs below pH 6.4^{2,3} or above pH 10⁴.

In studies using isolated platelets (as well as diluted platelet-rich-plasma) a modification of Tyrode's solution (Composition per liter: 9.0 g NaCl, 0.2 g KCl, 1.0 g NaHCO₃, 0.05 g NaH₂PO₄, 1.0 g dextrose) has been used quite extensively as a physiological medium in which platelets are suspended⁵⁻⁷. However, because sodium bicarbonate (NaHCO₃) is the principal buffer used in this preparation and because elevations of temperature and agitation might result in a loss of carbon dioxide (CO₂) and thus cause an increase in the pH of the suspending medium, it was of interest to determine if a change in pH of the Tyrode's medium would be rapid enough to possibly influence these turbidometric measurements.

The results of these studies are shown in the Figure. The lower curve (closed circles) represents modified Tyrode's solution (arbitrarily adjusted to pH 7.15) maintained at approximately 37°C without agitation. As shown, the pH is unaltered over the first 10 min followed by a gradual increase of 0.15 pH units after 25 min. In the second part of this study an aliquot of modified Tyrode's solution was placed in a cuvette which was then positioned in the sample compartment of a Beckman DBG spectrophotometer maintained at 37°C. Agitation of the

¹ G. V. R. BORN, Nature, Lond. 194, 927 (1962).

² F. A. FLATOW JR. and E. J. FREIREICH, Blood 27, 449 (1966).

³ J. R. McLEAN and H. VELOSO, Life Sci. 6, 1983 (1967).

⁴ L. SKOZA, M. B. ZUCKER, Z. JERUSHALMY and R. GRANT, Thromb. Diath. haemorrh. 18, 713 (1967).

⁵ R. L. KINLOUGH-RATHBONE, M. A. PACKHAM and J. F. MUSTARD, J. Lab. clin. Med. 75, 780 (1970).

⁶ R. L. KINLOUGH-RATHBONE, M. A. PACKHAM and J. F. MUSTARD, Br. J. Haemat. 19, 559 (1970).

⁷ S. RENAUD, K. KUBA, C. GOULET, Y. LEMIRE and C. ALLARD, Circulation Res. 26, 553 (1970).

cuvette contents at a rate identical to that used in platelet aggregation studies was provided by a mixer mounted on a removable sample compartment cover⁸⁻¹⁰. As seen in the Figure (open circles) there is a very rapid increase in pH of the suspending medium with time, which would result in an exaggerated increase in aggregation patterns as the pH of the medium approached that of the aggregation optimum of 8. This could serve as a possible explanation of the observation by KERBY and TAYLOR¹¹ that the degree of aggregation (induced by ADP or palmitate) of washed human platelets suspended in a bicarbonate containing Krebs-Ringer medium was greater than that in a phosphate containing Krebs-Ringer medium.

Introduction of a 95% O₂-5% CO₂ atmosphere in the sample compartment results in a decrease in the pH of the

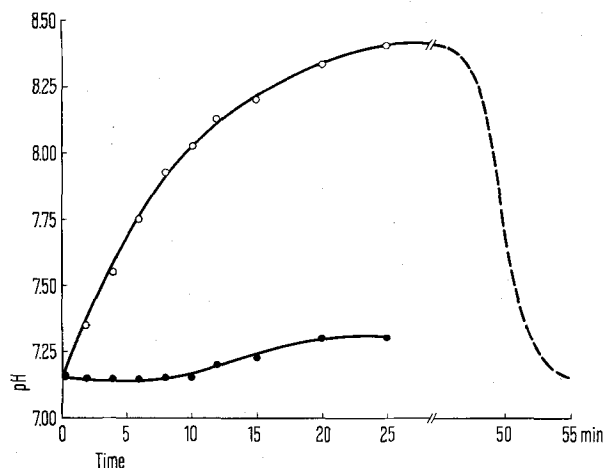
suspending medium (broken-line) and a return to the initial base value. This medium can therefore effectively be used if there is an atmosphere containing a small amount of CO₂ present during turbidometric monitoring of aggregation. Moreover, the presence of oxygen in the gaseous atmosphere would also tend to approximate physiological conditions more closely.

In other studies (not quoted) we have employed *Tris* [*tris* (hydroxy-methyl) aminomethane buffer] (1.45 g/l) in place of NaHCO₃ in the modified Tyrode's solution. At this concentration *Tris* had no effect on platelet aggregation and would thus function to maintain normal pH levels without the requirement for a specific gaseous atmosphere in the sample compartment of the spectrophotometer during turbidometric measurements of platelet aggregation.

Résumé. L'agitation constante de la solution de Tyrodes modifiée, un moyen physiologique fréquemment utilisé pour resuspendre les plaquettes isolées ou pour diluer le plasma riche en plaquettes durant le contrôle turbidométrique de l'aggrégation, cause une augmentation rapide du pH. De ce fait, l'introduction d'un mélange de 95% O₂ à 5% CO₂ dans le compartiment d'échantillon du spectromètre réduit le pH de cette solution à son taux original.

R. E. A. GADD and S. CLAYMAN

Research Laboratories, Food and Drug Directorate,
Tunney's Pasture, Ottawa (Ontario, Canada),
2 December 1971.



Effect of Various Treatments on the pH of modified Tyrode's solution. No agitation at 37°C (Closed circles), agitation at 37°C (open circles) and agitation at 37°C in the presence of a 95% O₂-5% CO₂ atmosphere (broken line).

⁸ M. VAN DYK, R. E. A. GADD and S. CLAYMAN, *Lab. Pract.* 20, 582 (1971).

⁹ S. CLAYMAN, R. E. A. GADD and D. HEBERT, *Pharmacologist* 13, 318 (1971).

¹⁰ R. E. A. GADD, S. CLAYMAN and D. HEBERT, *Experientia* 27, 1339 (1971).

¹¹ G. P. KERBY and S. M. TAYLOR, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 136, 452 (1971).

Technique nouvelle d'étude des phénomènes de transport dans le protonéma des Bryales

La morphogénèse des végétaux supérieurs et des champignons¹ est très souvent contrôlée par des phénomènes de transport de métabolites entre les diverses parties de l'organisme. Un centre de synthèses actives détourne à son profit les éléments nutritifs ou les hormones: une carence peut alors être créée au niveau des organes dominés.

Nombreux sont les résultats qui, pour les Bryales, sont apparemment favorables à cette conception. Les cellules apicales responsables de la croissance des filaments seraient les centres d'appel actif de métabolites. Cependant, chaque filament du protonéma est entouré par un mince film d'eau, et d'intenses phénomènes de diffusion rendent difficilement interprétables les résultats obtenus. Quelque soit la technique utilisée: application de substances diverses sous la forme d'un petit bloc d'agar déposé sur les axes, ou technique des milieux de composition différente, séparés par une discontinuité², la diffusion est telle, au niveau du film aqueux, que les molécules agissent aussi bien en avant qu'en arrière du point d'application.

Les expériences réalisées par BRANDES³ n'ont pas apporté d'amélioration très nette de la technique: les cultures en croissance sur de la cellophane en contact avec

des anneaux de gélose sont mises en présence de ³²P et la radioactivité est testée par autoradiographie. La cellophane permet une trop grande diffusion du phosphate radioactif.

Nous avons mis au point sur le *Ceratodon purpureus* (Hedw.), une technique qui élimine ce phénomène de diffusion. Les cultures de protonéma du *Ceratodon purpureus* (Hedw.) sont réalisées en boîtes de Pétri, étanche «Falcon» (Poly-Labo, Strasbourg) plastique, d'un diamètre égal à 50 mm et d'une hauteur de 12 mm. 3 mm de milieu A (KOFLER³) glucosé à 5 g/l, sont répartis dans chaque boîte de Pétri et recouverts d'une feuille de cellophane stérile selon la technique de BOPP, JAHN et KLEIN⁴. Après l'inoculation, les boîtes sont mises à incuber à l'étuve à 23°C ± 1°C à l'obscurité.

30 h après l'inoculation, les spores germent. Les tubes germinatifs sont de longs filaments ramifiés qui s'orientent verticalement en direction du couvercle sur lequel ils

¹ J. P. LARPENT, *Annls Sci. nat.* 7, 1 (1966).

² H. BRANDES, *Planta* 75, 55 (1967).

³ L. KOFLER, *Revue bryol. lichen.* 28, 1 (1959).