**Full Paper** 

# Ionenselektive Durchflußsensoren mit licht- und sauerstoffunempfindlichen Festkontakten zur pflanzenphysiologischen On-line-Elektroanalytik transmembranöser Ionentransporte während der Photosynthese

## J. G. Schindler, K. Herna und S. Pfaff

Marburg/Lahn, ZABS Zentrum für Angewandte Bioelektrochemische Sensorik Gesellschaft für Forschung, Entwicklung und Produktion mbH

## M. M. Schindler

Marburg/Lahn, Schindler Bio- und Chemosensoren Forschungslabor

## **R. Hedrich und D. Becker**

Würzburg, Lehrstuhl für Molekulare Pflanzenphysiologie und Biophysik, Botanik I

Eingegangen am 22. Juni bzw. 4. September 1998

Ion-Selective Flow-Through Sensors with Solid-State Contacts Insensitive to Light and Oxygen for Plant Physiological On-Line Electroanalysis of Transmembraneous Ionic Transports During Photosynthesis

**Abstract.** A bioelectrochemical multiple measurement system with ion-selective flow-through sensors for determination of pH, ionic activities and concentrations of transmembraneous ionic transports is described. Non-invasive electroanalysis during photosynthesis was realized by development of new solid-state contacts insensitive to light and oxygen. Continuous measurement of  $Ca^{2+}$ ,  $K^+$ ,  $Cl^-$  and pH demonstrates the known intake of potassium ions by *Vicia faba* L. guard cells under the influence of light. Glucose intensifies the effect.

Eine nichtinvasive Analytik in der Biologie und Medizin ist immer dann attraktiv, wenn Messungen an unversehrten Zellen im Gewebeverband durchgeführt werden sollen oder eine fortlaufende Entnahme auch kleiner Blutmengen zur kontinuierlichen Meßwertüberwachung von Risikopatienten zwecks Vermeidung nichtüberwachter Intervalle in der Intensivmedizin und Perinatologie eine unvertretbare Belastung darstellen würde.

Über *in vivo* Messungen der Sauerstoffaufnahme durch die Cornea mittels direkter Oberflächenmessungen oder unter Anwendung einer in Kontaktlinsen befestigten pO<sub>2</sub>-Elektrode haben bereits 1963 Hill und Fatt berichtet [1–3]. 1967/68 erfolgten Beschreibungen über pO<sub>2</sub>-Auflegeelektroden für die Haut sowie transcutane O<sub>2</sub>-Messungen durch Evans und Naylor [4–6], und 1969 erschien eine Arbeit von Huch *et al.* über die Sauerstoffmessung an der hyperämisierten Kopfhaut des Neugeborenen [7].

Bei der Mukoviszidose läßt sich im Hautschweiß ein erhöhter Elektrolytgehalt an Na<sup>+</sup> und Cl<sup>-</sup> nachweisen. Eine direktpotentiometrische Bestimmung von Cl<sup>-</sup> mit der AgCl-Kristall-Membranelektrode auf der Innenseite des Unterarmes ist gegenüber der Na<sup>+</sup>-Messung mit der Glasmembranelektrode wegen deren Hochohmigkeit einfacher durchführbar [8].

Prinzipiell sollte auch eine nichtinvasive Elektroanalytik zur kontinuierlichen Verfolgung transmembranöser Ionentransporte während der Photosynthese an Oberflächen intakter pflanzlicher Gewebe möglich sein. Allerdings muß aber aus pflanzenphysiologischen Gründen eine lichtunempfindliche und sauerstoffunabhängige Funktionsweise der ionenselektiven Sensoren gewährleistet sein.

#### Material und Methodik

Zur bioelektrochemischen Messung der Ionenaktivitäten und -konzentrationen von K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup> und Cl<sup>-</sup> sowie des pH-Wertes stehen Sensoren mit Carrier-PVC-Membranen [9–12] und verschiedenen sauerstoffunabhängigen Festableitungen [13–18] zur Verfügung. Aufgrund ihrer Gehalte an AgCl sind grundsätzlich Einflüsse durch Licht zu erwarten.

Die beschriebenen lichtunempfindlichen und außerdem sauerstoffunabhängigen Festkontakte für ionenselektive Carrier-PVC-Membranen beruhen auf einer elektrisch leitenden und kaltaushärtenden hier jedoch AgCl-freien Vergußmasse mit einem Zinkphosphatzement als Basis [18], der aus den Grundsubstanzen gebranntes ZnO und H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> besteht. Diese Zemente enthalten typischerweise an weiteren Pulverkomponenten MgO, CaF<sub>2</sub>, SiO<sub>2</sub>, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> und Spuren anderer Oxide wie Bi<sub>2</sub>O<sub>3</sub>[19]. In die lichtunempfindliche Zementfestableitung (Zf-Abl<sub>lu</sub>) wurde zur Erhöhung ihrer Leitfähigkeit KCl bis zur Sättigung inkorporiert. Die Kontaktstelle des Silberdrahtes, der im Schutze eines schwarzen PVC-Schlauches verläuft und die Verbindung zum Elektrodenstecker herstellt, wird von der Zf-Abl<sub>lu</sub> (Abb. 1) gegenüber Lichteinflüssen wirksam abgeschirmt.



**Abb. 1** Ionenselektiver Sensor mit lichtunempfindlichem und sauerstoffunabhängigem Festkontakt (Zf-Abl<sub>lu</sub>). Durchmesser von Festkontakt und Durchflußkanal 3 mm.

Die ionenselektiven Membransysteme [9–12] enthalten neben der polymeren PVC-Matrix ionophore Transportmoleküle in einem Weichmacher, wobei zusätzlich in die protonen- und calciumselektiven Membranen integrierte lipophile Anionen vom Typ des Tetraphenylborats [Tetrakis(4-chlorphenyl)borat als Kalium-Salz = TpClpbK] der Repulsion negativer Ladungsträger seitens der Meßlösung dienen. Als Ionophore fungieren zur Messung von Ca<sup>2+</sup> der synthetische elektrisch neutrale Carrier ETH 1001, von K<sup>+</sup> das Transport-Antibiotikum Valinomycin, des pH-Wertes der Protonen-Carrier Trioctylamin und für die Bestimmung von Cl<sup>-</sup> der geladene Ligand Trioctylmethylammoniumchlorid (TOMA-Cl). Weichmacherfunktionen übernehmen in den K<sup>+</sup>- und Ca<sup>2+</sup>-selektiven PVC-Membranen Bis(2-ethylhexyl)sebacat (BEHS) sowie in der Protonen-Carrier-PVC-Membran ein Phthalsäurepolyester (PPE) mit einer Viskosität von 1200–1500 mPa s bei 20 °C. In der Cl<sup>-</sup>-selektiven Membran dient das flüssige TOMA-Cl gleichzeitig als Weichmacher.



Abb. 2 Ionenselektivität der Ca<sup>2+</sup>-, K<sup>+</sup>- und H<sup>+</sup>-selektiven Sensoren auf der Basis von Carrier-PVC-Membranen SBC-054-Ca<sup>2+</sup> [10, 11]: Calciumselektive PVC-Membran mit ETH 1001, TpClpbK und BEHS. SBC-222-K<sup>+</sup> [9]: Kaliumselektive PVC-Membran mit Valinomycin und BEHS. SBC-663-H<sup>+</sup> [12]: Protonenselektive PVC-Membran mit Trioctylamin, TpClpbK und PPE.

Gegenüber den relevanten Störionen sind die Membranselektivitäten in Abb. 2 und 3 als negativer dekadischer Logarithmus des Selektivitätskoeffizienten Kms im Balkendiagramm zusammengestellt. Ein Vergleich der Balkenhöhen von Meß- zu Störionen kennzeichnet das Ausmaß der Störionendiskriminierung. Experimentell erfolgte die Selektivitätsbestimmung gemäß IUPAC-Empfehlung nach der fixierten Interferenz-Methode [20]. Über eine drastische Selektivität gegenüber Na<sup>+</sup> und K<sup>+</sup> verfügt die Protonen-Carrier-PVC-Membran. Die Ca2+selektive Membran darf hinsichtlich der in Abb. 2 aufgeführten Störionen als hochselektiv eingestuft werden, ebenso das K<sup>+</sup>-selektive Membransystem mit Ausnahme gegenüber NH4<sup>+</sup>. Dieses Phänomen dürfte vor allem mit dem geringen Unterschied der Ionenradien von  $K^+(r_{\text{Ion}} = 1,33 \cdot 10^{-10} \text{ m}) \text{ und } \text{NH}_4^+(r_{\text{Ion}} = 1,48 \cdot 10^{-10} \text{ m})$ zu begründen sein. Wie aus Abb. 3 hervorgeht, zeichnet die durch anodische Galvanisierung hergestellte, jedoch lichtempfindliche Silber-/Silberchlorid-Elektrode eine erhebliche Überlegenheit in der Störionendiskriminierung gegenüber der Cl<sup>-</sup>-selektiven PVC-Membran-Elektrode aus. Es ist zu beachten, daß TOMA-Cl sogar NO<sub>3</sub><sup>-</sup> und NO<sub>2</sub><sup>-</sup> gegenüber Cl<sup>-</sup> bevorzugt. Daher sollten diese beiden Störionen im Meßmedium nicht oder in nur vernachlässiger Konzentration vorliegen.



Abb. 3 Vergleich der Ionenselektivität von CI<sup>-</sup>-selektiven Sensoren

SBC-711-Cl<sup>-</sup>: Trioctylmethylammoniumchlorid-PVC-Membran (TOMA-Cl)

SBC-718-Cl-: Silber-/Silberchlorid-Elektrode

Jeder Meßfühler wird in einen die Durchflußkammer enthaltenden Block eingeschraubt und dichtend gegen ihre Berandung angezogen, wobei die ionenselektive Membran einen dachartigen Abschluß der Meßkammer bildet.

In Spritzgußtechnik wurden auf der Basis von Methylmethacrylat, Butadien und Styrol Meßkammerblock und Elektrodenkörper gefertigt, in den die Funktionselemente der Disk-Elektrode integriert werden. Eine seri-



Abb. 4 Ionenselektives Multimeßsystem mit lichtunempfindlichen und sauerstoffunabhängigen Sensoren zur Durchflußanalyse von Ca<sup>2+</sup>, K<sup>+</sup>, H<sup>+</sup> und Cl<sup>-</sup>

elle Anordnung der vier Sensoren führt unter Komplettierung durch eine Ag/AgCl-Bezugselektrode mit 3M KCl als Bezugslösung zur Multimeßkette mit Überführung (Abb. 4). Die Installation der Referenzelektrode in einem schwarzen Kunststoffgehäuse entzieht sie dem Lichteinfluß.

Der nahezu ideal äquitransferente Stromschlüssel-Elektrolyt wird hinter den Meßfühlern über eine in den Durchflußkanal mündende monokapillare Stromschlüsselkontaktzone der Meßlösung zudosiert, so daß die sich stetig erneuernde Stromschlüsselkontaktzone frei Fremdionen oder anderen Verunreinigungen gehalten werden kann. Mit einer dem Durchflußsystem nachgeschalteten Rollenpumpe werden luftblasengetrennt Meß- und Kalibrierlösungen angesaugt sowie der Referenzelektrolyt abtransportiert.

Die in modularer Bauweise konzipierten lichtdurchlässigen ionenselektiven Sensoren sind gegenüber elektrostatischen Aufladungen durch eine metallische Abschirmung geschützt, deren Unterseite einen Beleuchtungsschlitz aufweist, durch den einfallendes Licht über einen Spiegel für das zu untersuchende Pflanzengewebe eingeblendet werden kann.

Die elektrochemische Schreibweise des Multmeßkettenaufbaus

	I	N.	1	Ca <sup>2+</sup> -Membran	Zf-At	ol <sub>lu</sub> IAg
Ag/AgCl	KC	1    Meß-	l	K <sup>+</sup> -Membran	Zf-At	l <sub>lu</sub>  Ag
	1(3 n	nol/l)    lösung	1	H <sup>+</sup> -Membran	l Zf-Ab	ol <sub>lu</sub> IAg
	Ι	1	I	Cl <sup>-</sup> -Membran	∣Zf-Ab	l <sub>lu</sub>  Ag
	$\Delta \phi_1$	$\Delta \phi_2 = \Delta \phi_D$	Δα	$\phi_3 = \Delta \phi_M$	$\Delta \phi_4$	$\Delta \phi_5$

weist die an den Grenzflächen entstehenden und mit  $\Delta \varphi$  bezeichneten Galvanispannungen aus, wobei  $\Delta \varphi_1$ und  $\Delta \varphi_2$  sowie  $\Delta \varphi_4$  und  $\Delta \varphi_5$  für eine einwandfreie Meßtechnik konstant zu halten sind.  $\Delta \varphi_3$  ist die durch Phasentransferkatalyse an der Grenzfläche von Carrier-PVC-Membran/Meßlösung in Abhängigkeit von der Meßionenaktivität  $a_M$  entstehende Potentialdifferenz  $\Delta \varphi_M$ , für die im bioelektrochemischen Gleichgewichtszustand die Nernst-Gleichung gilt.

Die von den vier Impedanzwandlern mit einem Eingangswiderstand von >1000 Teraohm gelieferten elektrischen Gleichspannungen wurden von den beiden zweikanaligen 21-Bit-AD-Wandlern in entsprechende digitale Signale umgesetzt, die über eine serielle Schnittstelle (RS 232) an einen IBM-kompatiblen Rechner übermittelt werden, um rechnergestützt mit Hilfe einer eigens geschriebenen Software eine Meßdatenauswertung vorzunehmen.

Die Kalibrierung der im Multimeßsystem seriell angeordneten Ca<sup>2+</sup>-, K<sup>+</sup>, H<sup>+</sup>- und Cl<sup>-</sup>-selektiven Senoren zur gleichzeitigen Messung der Ionenaktivitäten ( $a_i$ ) und -konzentrationen ( $c_i$ ) sowie des pH-Wertes erfordert bezüglich  $a_i$  und  $c_i$  zwei exakt definierte gepufferte Elektrolytlösungen. Deren Gehalt –  $a_i$  und  $c_i$  – an Ca<sup>2+</sup>-,

EMK

[mV]

40,0

NBS II

Licht

K<sup>+-</sup> und Cl<sup>-</sup> wird jeweils unter Verwendung zweier weiterer wäßriger Kalibrierlösungen ermittelt, in denen die Kationen als vollständig dissoziierte Chloride vorliegen; in analoger Weise folgt separat die Ermittlung der pH-Werte mit NBS-Puffern [21, 22]. Für die wäßrigen CaCl<sub>2</sub>- und KCl-haltigen Elektrolytlösungen werden aus den eingewogenen Ionenkonzentrationen nach der Debye-Hückel-Onsager-Theorie [23–26] unter Berücksichtigung der Ionenstärke die Ionenaktivitäten für Katund Anionen berechnet [13, 27]. Im übrigen ist aus physikalisch-chemischen Gründen der Grundsatz zu beachten, daß die Kalibrierlösungen den Meßlösungen soweit als möglich in der Zusammensetzung anzugleichen sind.

Auf den Sensoren erfolgte anschließend die Positionierung des pflanzlichen Zellmaterials. Dieses ist durch einen Flüssigkeitsfilm von den ionenselektiven Carrier-PVC-Membranen getrennt, der durch Lücken des Gewebestreifens (z.B. in den Randbezirken) in ungehindertem Austausch über eine Celluloseacetat-Membran zum Durchflußkanal steht. Dadurch ist elektrochemisch eine direkte Verbindung zwischen den Sensoren und dem Referenzsystem gewährleistet.

## Präparation und Auftragen des Pflanzenmaterials

Bohnenpflanzen (Vicia faba L.) wurden im Gewächshaus im natürlichen Tagesgang und einer Temperatur von 22 °C am Tage sowie 18 °C in der Nacht kultiviert. Zur Präparation der Epidermisstreifen dienten Blätter von 2-3 Wochen alten Pflanzen. Dazu wurden die Blätter mit H<sub>2</sub>O (dest.) benetzt, die Epidermis der Blattunterseite mit einer Uhrmacherpinzette abgezogen und direkt auf eine feuchte Dialysemembran aus Celluloseacetat transferiert. Im Gegensatz zu den Epidermiszellen bleiben die Schließzellen durch diese Präparationsweise vital. Nach Beschickung der ionenselektiven Elektroden mit Epidermisstreifen beschichteten Dialysemembranen fand unverzüglich der Einbau in die bereits kalibrierte Meßapparatur statt. Die Untersuchungen begannen, nachdem sich unter kontinuierlicher Perfusion der Multimeßkette der elektrochemische Gleichgewichtszustand über einen Zeitraum von ca. 15 min eingestellt hatte.

## Ergebnisse

Unter Belichtung über Spiegel und Beleuchtungsschlitz durch die transparenten Durchflußkammergehäuse mit einem Projektor unter Einhaltung eines adäquaten Abstandes der Lichtquelle zur Vermeidung von Thermoeffekten kann bei AgCl-haltigen Festableitungen und noch ausgeprägter bei metallischen Ag-Festkontakten eine analytisch relevante Verschiebung der EMK in Meßund Kalibrierlösungen gemäß Abb. 5 nachgewiesen werden. Dort wird ferner die Eliminierung der störenden Lichtempfindlichkeit bei Einsatz der Zf-Abl<sub>lu</sub> belegt.

Ag-Fk

NBSII



Wie erwartet, reagieren die Sensoren trotz der Gaspermeabilität ihrer ionenselektiven Carrier-PVC-Membranen nicht auf eine Änderung des Sauerstoffpartialdruckes in den Meßlösungen. Der Nachweis wurde durch mit O<sub>2</sub> beziehungsweise N<sub>2</sub> bei 1 atm und 25 °C äquilibrierten und gepufferten Elektrolytlösungen geführt.

Aufgrund der Entwicklung der hier beschriebenen lichtunempfindlichen und sauerstoffunabhängigen Festkontakte für ionenselektive Sensoren konnte eine kontinuierliche bioelektrochemische Detektion transmembranöser Ionentransporte während der Photosynthese realisiert werden. Am dargestellten Beispiel einer nichtinvasiven Messung wird in Abb. 6 die bekannte [28–30] lichtabhängige Aufnahme von Kaliumionen durch die Schließzellen von *Vicia faba L.* demonstriert, die unter dem Einfluß von Glucose eine weitere Stimulierung erfuhr.



Abb. 6 Lichtabhängige Aufnahme von Kaliumionen in die Schließzellen von Vicia faba L.

Epidermisstreifen unterlagen einer Perfusion mit gepufferter Elektrolytlösung aus 5 mM MES/Tris, pH-Wert = 5,6, 5 mM KCl, 0,1 mM CaCl<sub>2</sub> und 0,5 mM MgCl<sub>2</sub>. Durch Zuschalten einer Kaltlichtquelle (erster Pfeil, links) wurde die Aufnahme von Kaliumionen deutlich stimuliert. Die Zugabe von 1 mM Glucose zur Perfusionslösung (zweiter Pfeil) führte im Licht zu einer weiteren Stimulierung der Kaliumionenaufnahme, während das Abschalten des Lichtes (dritter Pfeil, rechts) die Aufnahme von Kaliumionen inhibierte.

#### Diskussion

Die Gaspermeabilität von Carrier-PVC-Membranen führt an Platin-Festkontakten zu einer elektrochemischen Reaktion, die von der  $O_2$ -Elektrode her bekannt ist:

Pt 
$$O_2 + 4 e^- \longrightarrow 2 O^{2-}$$

Als Folge dessen resultieren in einer Meßlösung trotz konstanter Ionenaktivität durch  $pO_2$ -Änderungen ausgelöste Verschiebungen im Standard-Meßkettenpotential [13]. Auch deshalb scheiden schon Pt-Festkontakte wegen der bei einem Wechsel von Licht- und Dunkelphasen pflanzenphysiologisch verursachten Änderungen des Sauerstoffpartialdruckes im Flüssigkeitsfilm zwischen Zellmaterial und gasdurchlässiger Carrier-PVC-Membran aus. Durch Aufschmelzen von AgCl auf Pt wird eine glasflußartige Schicht erzeugt, die zwar als Sauerstoffdiffusionssperrschicht bzw. -reaktionsbarriere wirksam ist [13-15], aber ebenfalls Lichtempfindlichkeit erwarten läßt. Daran ändert sich auch grundsätzlich nichts bei einem Einsatz von coated glass-Elektroden [13, 16], solange eine Ag/AgCl-Ableitelektrode angewandt wird. Die Lösung des Problems lag daher in der applikationsorientierten Weiterentwicklung der von uns beschriebenen kaltaushärtenden elektrisch leitenden Vergußmasse mit Sauerstoffunabhängigkeit auf der Basis von Metalloxiden wie ZnO, ferner CaF<sub>2</sub> und AgCl [13, 17, 18] unter Verzicht auf die lichtaktive Komponente. Erwartungsgemäß verlangt der dadurch bedingte Anstieg in der Hochohmigkeit des Sensors die Inkorporation von KCl in den Zementfestkontakt zur Erhöhung seiner Leitfähigkeit und den Einsatz von Impedanzwandlern mit Eingangswiderständen >1000 Teraohm.

### Literatur

- [1] R. M. Hill, I. Fatt, Science 1963, 142, 1295
- [2] R. M. Hill, I. Fatt, Nature 1963, 200, 1011
- [3] I. Fatt, The Oxygen Electrode: Some Special Applications. In: W. Feder, Bioelectrodes, Ann. N. Y. Acad. Sci. 1968, 148, 81
- [4] N. T. S. Evans, P. F. D. Naylor, Respir. Physiol. 1967, 3, 21
- [5] N. T. S. Evans, P. F. D. Naylor, Respir. Physiol. 1967, 3, 38
- [6] P. F. D. Naylor, N. T. S. Evans, Br. J. Derm. 1968, 80, 643
- [7] A. Huch, R. Huch, D. W. Lübbers, Arch. Gynäk. 1969, 207, 443
- [8] F. Oehme, G-i-T, Fachz. Lab. 1968, 12, 1162
- [9] B. M. Buchheister, K. Herna, M. M. Schindler, J. G. Schindler, Fresenius J. Anal. Chem. 1993, 347, 141
- [10] J. P. Heidrich, K. Herna, M. M. Schindler, J. G. Schindler, Fresenius J. Anal. Chem. 1993, 347, 299
- [11] J. G. Schindler, K. Herna, E. Reisinger, B. Burk, R. Engisch, J. P. Heidrich, B. M. Buchheister, S. Wortmann, M. M. Schindler, D. Gehrke, H. H. Klein, J. prakt. Chem. **1994**, *336*, 575
- [12] R. Engisch, K. Herna, J. G. Schindler, M. M. Schindler, J. prakt. Chem. **1997**, 339, 121
- [13] J. G. Schindler, M. M. Schindler, Bioelektrochemische Membranelektroden, de Gruyter, Berlin, New York 1983
- J. G. Schindler, W. Schäl, Deutsche Patentschrift DE 2820474 C2 (Prioritätsdatum 10.05.1978)
- [15] J. G. Schindler, W. Schäl, U.S. Patent 4,256,561 (1981)
- [16] J. G. Schindler, M. v. Gülich, W. Schäl, G. Stork, W. Schmid, K.-D. Karaschinski, H.-E. Braun, H. Maier, Fresenius Z. Anal. Chem. 1979, 299, 115
- [17] J. G. Schindler, M. v. Gülich, Fresenius Z. Anal. Chem. 1981, 307, 105
- [18] J. G. Schindler, M. M. Schindler, Fresenius Z. Anal. Chem. 1989, 335, 553
- [19] H.-J. Demmel, K. Eichner, J. Viohl, Zahnzemente. S. 345-376 In: K. Eichner, Zahnärztliche Werkstoffe und ihre Verarbeitung. Hüthig, Heidelberg 1974
- [20] G. G. Guilbault, R. A. Durst, M. S. Frant, H. Freiser, E. H. Hansen, T. S. Light, E. Pungor, G. Rechnitz, N. M. Rice, T. J. Rohm, W. Simon, J. D. R. Thomas, Pure & Appl. Chem. 1976, 48, 127
- [21] O. Müller-Plathe: Säure-Basen-Haushalt und Blutgase. Ge-

- [22] R. A. Durst, J. P. Cali: S. 1508–1513 in: E. F. G. Herington (ed.): Pure & Appl. Chem. 1978, 50, 1485
- [23] P. Debye, E. Hückel, Phys. Z. 1923, 24, 185
- [24] P. Debye, E. Hückel, Phys. Z. 1923, 24, 305
- [25] L. Onsager, Phys. Z. 1926, 27, 388
- [26] L. Onsager, Phys. Z. 1927, 28, 277
- [27] J. G. Schindler, M. M. Schindler, K. Herna, E. Reisinger, U. Kuhlmann, R. Gräf, H. Lange, Biomed. Technik 1991, 36, 271
- [28] R. A. Fischer, Science 1968, 160, 784
- [29] G. D. Humble, K. Raschke, Planta 1973, 115, 47

[30] R. Hedrich, J. l. Schroeder, Annu. Rev. Plant. Physiol. 1989, 40, 539

Korrespondenzanschrift: Prof. Dr. Dr. J. G. Schindler ZABS GmbH Hannah-Arendt-Straße 4 D-35037 Marburg/Lahn FAX: Internat. Code(0)6421 9360-25 E-Mail: zabs@scm.de