Die Photosonde

Ein Versuch, mittels Faseroptiken die photometrische Messung zu vereinfachen

Von H. KELLER

Klinisch-Chemisches Institut, Katharinenhospital Stuttgart

(Eingegangen am 19. Mai 1969)

Herrn Prof. Dr. Hans Netter, Kiel, in Dankbarkeit und Verehrung zur Vollendung des 70. Lebensjahres gewidmet

Nach einer kurzen Übersicht über den Stand der Technik von Faseroptiken wird die Verwendung einer Faseroptik zur photometrischen Messung mit dem Photometer Eppendorf beschrieben.

Der Vorteil dieser Anordnung besteht darin, die Meßgeschwindigkeit zu erhöhen, ohne daß die Präzision abnimmt. Der versuchsweise Aufbau ist auch geeignet, Reflexionsmessungen z. B. an Dünnschicht-Chromatographie-Platten durchzuführen. Weitere Einsatzmöglichkeiten für Faseroptiken im klinisch-chemischen Laboratorium werden kurz diskutiert.

The photo-probe. An attempt to simplify photometric measurement by the use of fibre optics

Following a short review of the present techniques of fibre optics, the use of fibre optics for photometric measurements with the Eppendorf photometer is described.

The advantage of this arrangement is an increased rate of measurement without loss of precision. The experimental arrangement is also suitable for reflection measurements, e. g., on thin layer plates. Further possibilities for the application of fibre optics in the clinical chemical laboratory are briefly discussed.

Lichtleitfasern bestehen aus einer hochbrechenden Glasfaser, die mit einem nichtbrechenden Glasmantel umschmolzen ist. Dadurch entsteht eine praktisch verlustlose Totalreflexion an den Grenzflächen. Da die Grenzschicht ins Innere der Faser verlegt ist, wird sie gegen äußere Einflüsse unempfindlich. Andererseits ist für die (weitgehend) verlustlose Reflexion eine exakte Grenzfläche zwischen Kern- und Mantelglas erforderlich. Sie darf keinerlei Inhomogenitäten enthalten. Die Manteldicke der heute industriell gefertigten Lichtleitfasern beträgt etwa $2\text{ }\mu\text{m}$, die Dicke des Kernglases schwankt zwischen $5\text{ }\mu\text{m}$ und einigen Millimetern. Übersteigt der Durchmesser des Kernglases eine gewisse Grenze, so spricht man nicht mehr von Fasern, sondern von Lichtleitstäben. Dünne Glasfasern sind biegsam genug, um daraus flexible Lichtleiter herzustellen. Damit die Bedingungen für die Totalreflexion weiter bestehen, darf der Biegeradius das 20fache des Faserdurchmessers nicht unterschreiten. Die industriell gefertigten Fasern haben heute meist einen Durchmesser von etwa $70\text{ }\mu\text{m}$, wodurch sehr enge Radien erreicht werden können. Andererseits reicht diese Dicke noch aus, um Rasterbilder zu übertragen, die für viele Fragestellungen eine hinreichend kleine Rasterung besitzen (Übersicht bei 1).

Die Durchlässigkeitskurven flexibler Lichtleiter wurden in den letzten Jahren laufend verbessert. Der Lichtverlust setzt sich aus drei Anteilen zusammen:

1. Dem sogenannten Grundverlust, der durch die Reflexionsverluste am Anfang und Ende des Lichtleiters an den Endflächen entsteht.
2. Dem „Ballastquerschnitt“, der dadurch zustandekommt, daß nicht der gesamte beleuchtete Querschnitt

zur Lichtleitung herangezogen werden kann, da die Hohlräume zwischen den Fasern die wirksame Fläche einschränken.

3. Einem Verlust an Lichtenergie in Abhängigkeit von der Faserlänge. Dabei handelt es sich um Verluste durch Absorption, gestörte Totalreflexion und gebrochene Fasern.

Handelsübliche flexible Lichtleiter können nicht zur Bildübertragung eingesetzt werden, da die Faserordnung dazu nicht ausreicht. Im Gegensatz dazu sind die flexiblen Bildübertragungskabel aus dünnsten Lichtleitfasern ($5\text{--}20\text{ }\mu\text{m}$) zusammengesetzt, die am Anfang und Ende genau geordnet sind.

Dort, wo es nur darauf ankommt, Lichtenergie zu übertragen, kann auf diese Ordnung verzichtet werden und man kann von den sehr viel einfacher herstellbaren (und damit viel billigeren), ungeordneten Lichtleitfasern Gebrauch machen.

Bei der Photometrie in jeder Form spielt die Küvette, die das Meßgut aufnimmt, eine fundamentale Rolle. An ihre Präzision hinsichtlich des Wandabstandes, der Glasqualität und der Halterung im Strahlengang auf der optischen Bank, müssen höchste Ansprüche gestellt werden, wenn zuverlässige Resultate erhalten werden sollen. Die Küvette befindet sich bei den meisten Photometern im Inneren des Meßinstrumentes häufig in einem abgedunkelten, schwer zugänglichen Lichtschacht. Füllung und Entleerung der Küvetten müssen jedoch besonders sorgfältig durchgeführt werden, damit die Verschleppungsfehler klein bleiben. Die Arbeitsgänge sind daher in der Regel sehr viel zeitaufwendiger als der eigentliche Meßvorgang. Schließlich ist die Küvette bestimmend für das benötigte Mindestvolumen des Meßgutes

Es ist überraschend, daß in den 30 Jahren, seit das Photometer zum integralen Instrument analytischer Laboratorien geworden ist, so gut wie nichts an den Küvetten geändert wurde. Eine Prüfung, ob Faseroptiken in der Photometrie eingesetzt werden können, um mit ihrer Hilfe neue, vereinfachte und verbesserte Meßtechniken zu erreichen, liegt nahe.

Grundsätzlich wird davon ausgegangen, das einfallende Licht mittels einer Faseroptik aus dem Instrument herauszuführen, es der Probe zuzuleiten und nach Absorption oder Reflexion in einem zweiten Faserstrang zum Empfänger wieder zurückzuführen (Abb. 1). An welcher

Abb. 1

Die konventionelle Photometrie und der Einsatz von Glasfaser-optiken sind schematisch gegenübergestellt

Stelle dabei die Monochromasierung erfolgt, ist theoretisch zunächst gleichgültig. Soll die Absorption gemessen werden, so kann man sich eines zweiarmigen flexiblen Lichtleiters bedienen und den einen Arm zur Lichtzufuhr und den anderen zur Lichtrückleitung benutzen und die vereinigten Faserbündel in die Probe tauchen. Das aus dem Faserteil A ausfallende Licht (Abb. 2a) durchdringt die Meßlösung, trifft auf eine reflektierende Schicht — z. B. einen Spiegel — und die reflektierten Strahlen werden vom Faserteil B wieder aufgenommen. Ist eine Schichtdicke von 1 cm erwünscht, so muß der Abstand zwischen Faserendfläche und Reflexfläche 0,5 cm betragen. Zu beachten ist, daß naturgemäß nur ein Teil des reflektierten Lichtes über B zum Empfänger gelangt, ein zweiter Teil wird über A wieder zur Lichtquelle zurückgeleitet.

Abb. 2

Photometrie mittels Glasfaseroptik
a) Absorptionsmessung in Lösungen gegen einen Spiegel, b) Absorptionsmessung über Glasfaserstäbe, c) Reflexionsmessung an einer Dünnschicht-Chromatographie-Platte

Eine andere Möglichkeit besteht darin, zwei getrennte Faserstäbe zu benutzen, wie es in der Abbildung 2b dargestellt ist.

Da die Faserstäbe sehr eng gebogen werden können, ist eine solche Anordnung technisch ohne weiteres möglich und wird zweifellos auch zu brauchbaren Resultaten führen. In diesem Fall muß der Abstand allerdings 10 mm betragen (wenn der Lichtweg in dieser Länge gewünscht wird). Der Vorteil dieses Systems dürfte in der übersichtlichen Anordnung bestehen.

Soll in Reflexion gemessen werden, so genügt es, den Lichtleiter in geeignetem Abstand über dem zu messenden Objekt zu fixieren. Auf diese Weise können unschwer Anordnungen zusammengestellt werden, die zur Ausmessung von Dünnschichtchromatogrammen geeignet sind (Abb. 2c).

Für photometrische Zwecke ist es wichtig, den Energieverlust durch Streustrahlung so klein wie möglich zu halten. Die Anordnung der Lichtleitfasern dürfte daher theoretisch dann optimal sein, wenn die Energiezufuhr als Kern, während die Energierückleitung als Mantel ausgebildet ist. Diese Anordnung ist im Augenblick jedoch noch nicht erhältlich.

Die Versuche, über die hier erstmalig berichtet wird, wurden mit einem handelsüblichen zweiarmigen, flexiblen Lichtleiter der Firma Jeanner Glaswerke Schott & Gen., Mainz, durchgeführt. Jeder der beiden Arme ist rund und hat einen Durchmesser von 4 mm, die vereinigten Arme haben einen Durchmesser von 5,8 mm. Die beiden Arme sind mit PVC ummantelt. Die Vereinigungsstelle ist bis ans Ende in einer Messingkopfhülse zusammengefaßt.

Zur Absorptionsmessung wurde über den unteren Teil eine PVC-Kappe geschoben, die in ihrem Inneren einen Spiegel enthält (Abb. 3). Entsprechende Kunststoffhalte-

Abb. 3

Faseroptik mit PVC-Kappe und den Anschlußstücken für das SEV-Gehäuse, für die Linse und das Filter. Am Boden der PVC-Kappe befindet sich ein Spiegel

rungen sorgen für eine Fixierung der beiden Arme des Lichtleiters einerseits am Filter, andererseits am Gehäuse des Sekundär-Elektronen-Vervielfachers des Photometers Eppendorf.

Da das quasi parallele Quecksilberlicht des Photometers nach dem Durchtreten des Filters einen Durchmesser von etwa 21 mm hat, der des Lichtleiters aber nur 4 mm beträgt, gehen bei dieser Anordnung etwa

85% Lichtenergie verloren. Durch entsprechende Verstärkung kann der Verlust zwar kompensiert werden, doch gilt dies nur für die relativ starken Quecksilberbanden, wie z. B. 546 nm oder 578 nm. Die schwächeren Banden können nicht mehr, oder nur noch mit maximaler Verstärkung kompensiert werden. Es hat sich deshalb als zweckmäßig erwiesen, diesen Lichtverlust durch Einschalten einer Sammellinse kurzer Brennweite auszugleichen. Hier wurde dazu eine bikonvexe Glaslinse mit einer Brennweite von 25 mm verwendet. Ihr Durchmesser betrug 21 mm. Sie wurde auf die der Lichtquelle zugekehrten Seite des Filters aufgeklebt und auf diese Weise eine Verstärkung um den Faktor 10 der Lichtausbeute erreicht (Abb. 4 u. 5).

Abb. 4

Faseroptik im Photometer Eppendorf meßbereit montiert

Abb. 5

Die meßbereite Photosonde
Der Meßkopf leuchtet durch Streustrahlung

Die Erprobung der Anordnung lieferte schon beim ersten Versuch ein überraschend gutes Ergebnis. Die wiedergegebene Biuret-Eichkurve (Abb. 6) ist fast identisch mit der Eichkurve, die mit einer Präzisionsküvette mit den gleichen Farblösungen gewonnen wurde. Die geringgradig größere Steilheit der Meßsondenkurve ist zweifellos darauf zurückzuführen, daß die Distanz zwischen Faserende und Spiegel nicht exakt 5,0 mm sondern

Abb. 6

Biuret-Eichkurve

etwas mehr beträgt. (Wahrscheinlich wurde die Dicke der Klebschicht für den Spiegel überschätzt.)

Frappierend ist, mit welcher Geschwindigkeit gemessen werden kann. Die Meßsonde wird von einem Glas in das nächste Glas getaucht; geschwindigkeitsbestimmend ist lediglich die Zeigereinstellung und Ablesung oder das Ausdrucken über einen Analog-Digital-Wandler. Der Verschleppungsfehler scheint nach den vorliegenden Erfahrungen trotz der relativ ungünstigen Anordnung minimal zu sein. (Wenn demnächst eine komfortablere Ausführung zur Verfügung steht, werden auch Messungen in sehr kleinen Gefäßen — z. B. im unteren Drittel eines Eppendorf-Gefäßes — ohne nennenswerten Verschleppungsfehler möglich sein.)

Zur Zeit wird für uns ein Faseroptik-System zusammengestellt, das aus Quarzteilen besteht, um auch im UV-Bereich bis zu 200 nm messen zu können. Die beiden Lichtleiter werden voraussichtlich eine Länge von etwa 50 cm haben und sich in einem massiven ummantelten Quarzstab mit großem Öffnungswinkel vereinigen. Auf diese Weise soll die Lichtausbeute noch weiter verbessert und zugleich die Handhabung der Anlage erleichtert werden. Weiter ist daran gedacht, auf diese Weise auch die Möglichkeit zu schaffen, die Photosonde für automatische Meßplätze heranzuziehen. Besonders im Rahmen der Automation, Mechanisierung und Teilmechanisierung analytischer Laboratorien, dürften die Vorteile der Meßsonde augenfällig sein.

Lichtleiter und Faseroptiken haben heute bereits einen vielfältigen und keineswegs auf die medizinische Endoskopie beschränkten Anwendungsbereich. Sie finden in der Technik als Bildwandler, als Lichtschranken, seit einiger Zeit sogar in der Waffentechnik vielfältige Ver-

wendung. Von besonderem technischem und wirtschaftlichem Interesse wird ihre breitere Nutzung in der Nachrichtentechnik sein. Auch für die Fernsehtechnik wird von Faseroptik, insbesondere von sogenannten Faserplatten, noch einiges erwartet (2).

Auf dem Gebiet der analytischen Chemie sind Faseroptiken bisher nur spärlich angewandt worden: Orientierende Versuche ohne quantitative Auswertung haben HAMMAN und MARTIN (4) mitgeteilt. BEROZA und Mitarbeiter (3) bedienten sich einer Faseroptik zur Auswertung von Dünnschicht-Chromatogrammen, von der Firma Fischer-Scientific ist ein automatischer Titrator be-

schrieben, in dem zwei Glasfaserstäbe in die Titrierlösung eintauchen und den Titrervorgang steuern (Literatur bei 2). Die hier vorgestellte Lösung stellt einen neuen Versuch dar, dessen gutes Gelingen weitere Entwicklungsarbeiten in dieser Richtung rechtfertigen.

Der Verfasser hat Herrn Dipl.-Phys. A. JACOBSEN, Jenaer Glaswerke Schott & Gen., Mainz, für die großzügige Unterstützung dieser Arbeit sehr zu danken. Ebenso ist er für vorzügliche technische Assistenz Frau EVA NEUMANN und Fräulein VERENA WOLF zu Dank verpflichtet. Die Anschlußstücke mit Linse und Spiegel wurden vom Technischen Büro Jörg LIMBERG, Stuttgart-Feuerbach, konstruiert.

Literatur

1. JACOBSEN, A. und W. RIMKUS, *Feinwerktechnik* 71, 111 (1967).
2. CRUM, J. K., *Analytic. Chem.* 41, 26 A (1969). — 3. BEROZA, M., K. R. HILL und K. H. NORRIS, *Analytic. Chem.* 40, 1608 (1968). — 4. HAMMAN, B. L. und M. M. MARTIN, *Analytic. Biochem.* 15, 305 (1966).

Prof. Dr.H. Keller
7 Stuttgart 1
Kriegsbergstraße 60

Unsere Gefriertrocknungsanlage GT 2 ist so vielseitig, weil sie Bauteile für jeden Einsatzbereich hat.

Zweistufige Vakuumpumpe mit Sicherheitsventil und druckseitigem Ölfilter.

PVC-Schlauch (1 m) mit Kleinflanschanschlüssen

Verschlußvorrichtung für Flaschen mit vorher aufgesetzten gerillten Gummistopfen

Elektrisch beheizte Stellplatte aus eloxiertem Aluminium und einer nutzbaren Fläche von 490 cm²

Shell- bzw. Spin-Freezing-Einrichtung für Plasmaflaschen oder Glaskolben

Rechen aus Edelstahl zum Anschluß von 4 Glaskolben

Rechen aus Edelstahl zum Anschluß von 8 Glaskolben

Ganz gleich was Sie gefriertrocknen wollen, ob Pharmazeutika, Bakterien, Gewebe, Seren, Pflanzen, Erdproben, Kleinlebewesen, Insekten oder Lebensmittel – die GT 2 ist einfach universell. Alles bleibt natürlich in Aussehen, Struktur und Zusammensetzung.

Verfahrenstechnische Vorteile:

- Einfache Bedienung
- Eingebaute Sicherheitsventile
- Wesentliche Zeitersparnis (LH-Patent)

- Vorrichtung zum Messen der Temperatur des Eises im Produkt. Sie können das Ende der Trocknung feststellen, den Druck regulieren, den Wärmeübergang verbessern und damit den Trocknungsprozeß beschleunigen.

- Geringer Platzbedarf

Es liegt also ganz bei Ihnen, ob Sie zukünftig erfolgreicher arbeiten wollen.

Übrigens: wenn Sie es wünschen, führen wir für Sie Versuche auch in unseren Labors durch.

Das Fachgespräch

bietet Ihnen die Möglichkeit, Erfahrungen auszutauschen, und schafft die Basis für eine gemeinsame optimale Lösung Ihrer Probleme. Erfahrene Fachleute stehen Ihnen gern zur Verfügung.

LEYBOLD-HERAEUS

5 KÖLN-BAYENTAL · POSTFACH 195

Glucose-6-phosphat Dehydrogenase

Sigma stellt jetzt als erste Firma kristalline Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase sowohl aus Bäcker- als auch aus Torula-Hefe her. Bisher wurde Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase nur aus Brauerei-Hefe hergestellt (Noltman und Mitarbeiter, J. biol. Chemistry 236, 1225 (1961)). Eine vergleichende Untersuchung dieser drei Enzyme könnte sehr aufschlußreich sein. Alle drei Enzyme enthalten NADP und dissoziieren unter Bedingungen hoher Ionenstärke in das Apoenzym, wobei sie ihr gebundenes NADP

abgeben (Yue und Mitarbeiter, Biochemistry, USA, 6, 1174 (1967)). Das Enzym aus Torula ist bei Raumtemperatur sowohl als wäßrige Suspension als auch als Lyophilisat völlig stabil. Unseres Wissens ist das bisher noch nirgendwo erreicht worden. Sigma bietet jetzt die kompletteste Liste von Arten und Aktivitäten von Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase einschließlich höchster Reinheiten und Spezifitäten an.

Vorläufige Beobachtungen am Bäcker- bzw. Torula-Hefe-Enzym zeigen:

1. Das Torula-Enzym ist erstaunlich stabil
2. Das Torula-Enzym benötigt etwa 2 x mehr Glucose-6-phosphat für maximale Aktivität
3. Beide Enzyme unterliegen der „Sulfat-Ionen“-Hemmung, jedoch in unterschiedlichem Maße
4. Die Hemmung des Bäcker-Hefe-Enzyms kann durch Glucose-6-phosphat-Konzentrationen > 3 mM überwunden werden.

Sulfat-Konzentration	Torula G-6-PDH	Sulfat-Effekt Bäcker-Hefe-G-6-PDH	Glucose-6-phosphat-Konzentration
0,001 M	20% Hemmung	66% Hemmung	1×10^{-4} M
0,01 M	80% Hemmung	50% Hemmung	1×10^{-4} M
0,1 M	99% Hemmung	93% Hemmung	1×10^{-4} M

Um die Dissoziation in das Apoenzym bei der hohen Ionenstärke von 70% gesättigter Ammoniumsulfatlösung zu verhindern, haben wir unseren Kristallsuspensionen (Typ VII und XI) drei Mole weiteres NADP pro Mol G-6-PDH hinzugesetzt. Wir bieten auch sulfatfreie Präparate (Typ XII und XV) beider Hefestämme an. Das sind Lyophilisate (15% Salz und 85% Eiweiß), die G-6-PDH teils als Apoenzym, teils als NADP-Enzym enthalten. Sie enthalten kein zugesetztes NADP und sind deshalb sehr geeignet für Untersuchungen mit der Technik des „Enzymatic Cycling“.

Wenn hohe Stabilität erforderlich ist und nur eine geringe Sulfat-Konzentration erreicht werden darf, verwendet man das Torula-Hefe-Enzym. Wenn höhere Sulfat- und sehr geringe Glucose-6-phosphat-Konzentrationen vorliegen, wird das Bäcker-Hefe-Enzym benutzt.

Definition der Enzymeinheit: Eine Einheit oxydiert 1 μ Mol Glucose-6-phosphat pro Minute in Gegenwart von NADP bei pH 7,4 und 25° C.

Produkt Nr.	Produkt	Produkt Nr.	Produkt
G 7750	Typ V: Aus Bäcker-Hefe	100 Einheiten	\$ 5,00
	Unser alter Ammoniumsulfat-Trockenkuchen, unterliegt Sulfat-Hemmung (s. o.).	250 Einheiten	10,00
	Aktivität: > 150 Einheiten/mg Protein. Hexokinase und 6-Phosphogluconat-Dehydrogenase höchstens in Spuren enthalten.	500 Einheiten	17,00
		1000 Einheiten	28,50
		2000 Einheiten	46,25
G 7877	Typ VII: Aus Bäcker-Hefe	150 Einheiten	\$ 9,50
	Kristallsuspension in 3,2 M Ammoniumsulfat.	250 Einheiten	12,50
	Aktivität: 300—400 Einheiten/mg Protein. Sulfat-Hemmung (vgl. o.).	500 Einheiten	21,25
		1000 Einheiten	35,50
		2000 Einheiten	57,75
		5000 Einheiten	147,50
G 6378	Typ XV: Aus Bäcker-Hefe	Aktivität vorherbestimmt, Lyophilisat in Ampullen	
	Kristallisiert, lyophilisiert, sulfatfrei	100 Einheiten	\$ 6,25
	Aktivität: Etwa 200—400 Einheiten/mg Protein. Enthält etwa 15% Magnesiumacetat. Das ist wahrscheinlich das erste Angebot kristalliner G-6-PDH aus Bäcker-Hefe.	250 Einheiten	12,50
	Angebot kristalliner G-6-PDH aus Bäcker-Hefe.	500 Einheiten	21,25
	Wird mit reinem Wasser oder Puffer aufgefüllt.	1000 Einheiten	35,50
		2000 Einheiten	57,75
		5000 Einheiten	147,50
G 8878	Typ XI: Aus Torula-Hefe	150 Einheiten	\$ 7,50
	Kristallsuspension in 2,6 M Ammoniumsulfat.	250 Einheiten	10,00
	Aktivität: Etwa 300—400 Einheiten/mg Protein. Sehr geringe oder keine Beimengung folgender Enzyme: 6-Phosphogluconat-Dehydrogenase, Hexokinase, Phosphoglucomutase, Phosphohexose-Isomerase und NADP-Oxydase.	500 Einheiten	17,00
	Völlig stabil bei Raumtemperatur. Sulfat-Hemmung (s. o.). Dieses Präparat ist ökonomischer als das vergleichbare aus Bäcker-Hefe, ausgenommen für Systeme mit niedriger Substratkonzentration.	1000 Einheiten	28,50
		2000 Einheiten	46,25
		5000 Einheiten	110,00
G 7878	Typ XII: Aus Torula-Hefe	Aktivität vorherbestimmt, Lyophilisat in Ampullen	
	Kristallisiert, lyophilisiert	100 Einheiten	\$ 5,00
	Aktivität: 200—300 Einheiten/mg Protein. Sulfatfrei.	250 Einheiten	10,00
	Augenblicklich enthalten die Chargen etwa 5% Magnesiumacetat und 10% Ammoniumacetat. (Es ist vorgesehen, dieses Präparat in näherer Zukunft ammoniumfrei zu machen.)	500 Einheiten	17,00
	Völlig stabil bei Raumtemperatur, auch nach Auffüllung mit Wasser oder Puffer, wenn bakterienfrei.	1000 Einheiten	28,50
		2000 Einheiten	46,25
		5000 Einheiten	110,00
G 1878	Reinheitsgrad III: Rohpulver, aus Bäcker-Hefe	30 Einheiten	\$ 3,60
	Aktivität: Etwa 0,3—1,0 Einheiten/mg. Enthält gewöhnlich Hexokinase und 6-Phosphogluconat-Dehydrogenase.	300 Einheiten	30,00
		1000 Einheiten	75,00
		5000 Einheiten	300,00

Versand in alle Welt per Luftpost, Fracht und Versicherung frei.

Sigma-Reagenzien sind in der ganzen Welt durch den Fachhandel oder direkt aus St. Louis beziehbar.

Telegramme: SIGMACHEM, St. Louis, Missouri

Die Forschungslaboratorien von

SIGMA CHEMICAL COMPANY

3500 DE KALB ST. • ST. LOUIS 63118, MO. • U.S.A.

MANUFACTURERS OF THE FINEST BIOCHEMICALS AVAILABLE

Vertretung in England:

SIGMA LONDON Chem. Co. Ltd. • 12, Lettice St., London S. W. 6 ENG. • Telephone: RENown-5823 (Rückberechnung)