

# DE INVLOED DER BEMESTING OP HET CAROTINE- EN VITAMINE C- GEHALTE VAN DE PLANT

## PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD VAN  
DOCTOR IN DE LANDBOUWKUNDE  
OP GEZAG VAN DEN RECTOR-MAGNIFICUS  
Dr W. C. MEES R.Azn., HOOGLEERAAR IN DE  
STAATHUISHOUDKUNDE, DE STATISTIEK EN  
HET NEDERLANDSCH AGRARISCH RECHT, TE  
VERDEDIGEN VOOR EEN DAARTOE BENOEMDE  
COMMISSIE UIT DEN SENAAT DER LANDBOUW-  
HOOGESCHOOL OP VRIJDAG 5 JUNI 1936 TE  
DRIE UUR DOOR

J. B. H. IJDO



1936

DRUKKERIJ FIRMA SCHOTANUS & JENS — UTRECHT

*Bij het verschijnen van dit proefschrift is het mij een voorrecht mijn oprechten dank te betuigen aan de Hooggeleerden der Landbouwhoogeschool, die aan mijn wetenschappelijke opleiding hebben medegewerkt.*

*Met eerbied wil ik hier mijn leermeester wijlen Professor Dr. Ir. N. L. SÖHNGEN gedenken.*

*Hooggeleerde WOLFF, voor de gastvrijheid, die Gij mij aan het Hygiënisch Laboratorium te Utrecht voor het bewerken van dit proefschrift hebt verleend en voor het vele, dat ik van U in dezen tijd heb mogen leeren, ben ik U buitengewoon erkentelijk.*

*Hooggeleerde GRIJNS, ik stel het bijzonder op prijs, dat Gij als Promotor hebt willen optreden; in korten tijd heb ik Uw helder oordeel en Uw juiste critiek leeren waardeeren.*

*Aan U Hooggeleerde HUDIG en aan Uw medewerkers, van wie ik in het bijzonder den Heer ROSANOFF wil noemen, betuig ik mijn dank voor de bereidwilligheid waarmede het mij mogelijk gemaakt werd eenige proeven aan het Landbouwscheikundig Laboratorium te verrichten.*

*Hooggeleerde KONINGSBERGER, voor Uw critiek op het „Naschrift” ben ik U zeer erkentelijk.*

*Aan U Zeergeleerde JULIUS, VAN EEKELEN en EMMERIE ben ik zeer verplicht voor veel vriendschappelijken raad.*

*Tenslotte betuig ik mijn dank aan het Personeel van het Hygiënisch Laboratorium te Utrecht, voor de steeds ondervonden medewerking.*

## INLEIDING

De vitaminen kunnen gekarakteriseerd worden als organische componenten van ons voedsel, die, hoewel in geringe quantiteit, voor het organisme onontbeerlijk zijn. In het algemeen zullen deze vitaminen dus in het normale dieet voorkomen en ook in voldoende mate aanwezig zijn om in de behoefte te voorzien. In sommige gevallen echter zijn deze stoffen niet of niet in toereikende hoeveelheid aanwezig en onder die omstandigheden treden deficiëntie-ziekten op.

Bekende voorbeelden van dergelijke deficiëntie-ziekten vindt men in de gevallen van scheurbuik aan boord van schepen gedurende de groote zeereizen in de 16e tot de 18e eeuw en in het optreden van de beri-beri in Ned.-Indië. Deze ziekte kwam ook voor in Voor- en Achter-Indië, Japan, de Congo en Brazilië, terwijl bekend is, dat zij in Siam optrad toen men er daar toe overging de rijstkorrel machinaal te behandelen en te slijpen en bij deze bewerking het zilvervlies, met voor de voeding noodzakelijke bestanddeelen, verloren ging.

Aan *Grijns* komt de eer toe voor het eerst in 1901, naar aanleiding van de fundamenteele onderzoeken van *Eijkman* over de beri-beri, duidelijk geformuleerd te hebben, dat dit een gebreksziekte was, ontstaan door het ontbreken van een noodzakelijk bestanddeel in de voeding, een opvatting, die brak met de oude overtuiging, dat voor het optreden van deze ziekte een positief agens noodzakelijk was.

Na deze eerste onderzoeken is men erin geslaagd het bestaan van een aantal van dergelijke vitaminen aan te toonen.

Van eenige is de chemische samenstelling, van sommige ook de structuurformule bekend. Wat de vitaminen C en B<sub>2</sub> betreft, is het zelfs gelukt hen synthetisch te bereiden.

Naast de biologische methoden van onderzoek, waarbij het voorkomen van een vitamine met behulp van de dierproef aangetoond moet worden, bestaan er nu voor eenige van deze stoffen ook fysische of chemische bepalingswijzen, die het onderzoek aanzienlijk vereenvoudigen.

In 1931 was het *Vermast*, die een aanvang maakte met het systematische chemische onderzoek over het carotinegehalte van de door den mensch gebruikte groenten, hetwelk in dit verband van belang is, omdat het carotine als provitamine A fungeert en deze gele kleurstof in het menschelijk lichaam in het, vrijwel kleurloze, vitamine A wordt omgezet. Voor zijn bepalingen betrok hij het materiaal van den kleinhandel, zonder iets van de herkomst ervan te weten, noch van de omstandigheden waaronder het gegroeid was. Zijn gegevens zijn dus waarschijnlijk als gemiddelden uit onderling verschillende waarden op te vatten.

Daar in den grond waarop de planten groeien wel in de eerste plaats de oorzaak van het optreden van eventueele verschillen kan liggen, leek het van belang na te gaan, of de aard en de quantiteit van de voor de plantenvoeding in den bodem beschikbare ionen eenigen invloed hadden op het carotinegehalte van de gekweekte planten.

Op grond van dezelfde overwegingen werd ook het vitamine C (ascorbinezuur)-gehalte in het hierbeschreven onderzoek opgenomen, voor welk vitamine *v. Eekelen* reeds quantitative chemische bepalingen in de verschillende groenten had verricht.

Daar bij het betrekken van groenten van den tusschenhandel in geen geval en bij het betrekken onmiddellijk van

de kweekkerij slechts zelden, gegevens betreffende den gebruikten bodem kunnen verkregen worden en men bovendien dan steeds met de onvermijdelijke verschillen in klimaat en eventueele kunstmatige bevochtiging te rekenen heeft, is men bij een dergelijk onderzoek op de veldproef of op de potproef aangewezen. De potproef heeft dan boven de veldproef het groote voordeel, dat men een homogenen grond heeft, waarbij men door intens mengen en door een zorgvuldig vullen van de potten niet alleen bereiken kan, dat de physische omstandigheden in de verschillende potten nagenoeg gelijk zijn, doch bovendien, dat de beschikbare zouten gelijkmatig worden verdeeld. Op deze wijze is het mogelijk een uniform plantenmateriaal te verkrijgen, waarbij ook de analyse van kleine hoeveelheden een voldoende betrouwbare uitkomst geeft.

Naast den invloed, die het in meer of mindere mate voorkomen van een voor den plantengroei noodzakelijk ion op het ascorbinezuur- en carotinegehalte van de plant kan uitoefenen, werd ook aandacht geschonken aan de verschillen, die kunnen optreden tengevolge van het bewaren der planten onder diverse omstandigheden.

Voor alle onderzoekingen werd de spinazie als proefplant gebruikt.

---

## HOOFDSTUK I

### HET VITAMINE A

#### a. Algemeen.

*Mc Collum en Davis* maakten in 1913 voor het eerst kennis met het feit, dat bij op een synthetisch dieet van ei-witten, koolhydraten, vetten en zouten levende ratten, het voederen van een aetherextract van eierdooier of boter een stimuleerende werking op den groei had. Spek en olijfolie vertoonden deze eigenschap niet.

*Osborne en Mendel* konden dezelfde werking bovendien voor levertraan aantoonen. Naast de groeistimuleerende functie namen zij ook waar, dat deze factor, die oploste in alcohol, genezing van de xerophthalmie teweegbracht, die bij de kunstmatig gevoede dieren optrad. Een overeenkomstig ziektebeeld was reeds door *Mori*, en later door *Bloch*, bij kinderen waargenomen, die op een eenzijdig dieet leefden; ook hier kon genezing worden verkregen door het toedienen van levertraan of boter en tevens door alenvet en kippenlever (*Mori*).

De in vet oplosbare factor, waaraan deze physiologische functie gebonden was, kreeg den naam van **vitamine A**.

Het optreden van de xerophthalmie bij de rat werd gebruikt als een criterium voor het aantoonen van het vitamine A-gebrek, tot het in 1926 aan *Carr en Price* gelukte, een chemische reactie op het vitamine A te vinden en wel in de mate van blauwkleuring, die een vitamine A-praeparaat geeft met een verzadigde oplossing van antimoontrichloride in chloroform. Deze reactie is echter niet specifiek.

Een specifieke quantitatieve test werd gevonden in de

ultravioletabsorptie in chloroform na verzeepen. Vitamine A heeft een electieven absorptieband bij  $328\text{ m}\mu$ , terwijl de intensiteit van dezen band evenredig is met de hoeveelheid vitamine A, die in de oplossing voorkomt. Deze fysisch-chemische methode is ook gebruikt om de reactie van *Carr en Price* te controleeren, o.a. door *Josephy, Morton en Heilbron* en *Drummond en Morton*.

**b. De physiologische functie van het vitamine A.**

Ómtrent de physiologische werking van het vitamine A is weinig bekend, doch uit de ziekteverschijnselen, die optreden wanneer het ontbreekt, ziet men, dat deze stof een belangrijke rol in het organisme van den mensch en van alle gewervelde dieren moet vervullen.

Vitamine A-deficientie uit zich in een verhoorning van alle epitheliën. Dit verschijnsel treedt ook op in het oog, waardoor xerophthalmie en keratomalacie ontstaan. Daarmede gepaard gaat een vermindering van de resistentie van bepaalde weefsels tegen infectie en er verschijnen dientengevolge banale ontstekingen op verschillende plaatsen van het lichaam. Bovendien wordt de functie van de retina beïnvloed, waardoor hemeralopie, nachtblindheid, ontstaat.

Ook wordt het optreden van nier- en blaassteen bij een bepaald dieet aan het ontbreken van vitamine A geweten.

---

## HOOFDSTUK II

### HET PHYSIOLOGISCH VERBAND TUSSEN CAROTINE EN VITAMINE A

Sommige dierlijke weefsels, en voornamelijk de lever, bevatten vitamine A. *Mc Collum* c.s. namen het eerst de aan deze stof toegekende physiologische werking waar, bij het voederen van cerealia, boonen, plantenbladeren, en — in mindere mate — bij zaden; *Osborne* en *Mendel* vonden hetzelfde bij soyaboonen, spinazie, klaver, lucerne en gras. Bij deze onderzoeken werd echter nog geen onderscheid gemaakt tusschen vet- en wateroplosbaar vitamine.

*Osborne* en *Mendel* vermeden deze fout, door bij 60° gedroogd plantenmateriaal met aether te extraheeren. Zij zagen, dat een dergelijk extract in staat was vitamine A-gebrekssymptomen bij ratten op te heffen.

*Drummond* onderwierp verschillende hiervoor in aanmerking komende stoffen aan een onderzoek, om te pogen het „fat-soluble A” te identificeeren. Wat het carotine betreft vermeldt hij, dat het in gezuiverden toestand geen physiologische werking vertoonde. Hij kwam tot deze, nu als foutief erkende, conclusie, omdat hij paraffine-olie als oplosmiddel gebruikte waaruit het carotine niet geresorbeerd wordt.

*Steenbock* berichtte, dat wit maïsmeel geen vitamine A-werking vertoonde, terwijl dit met geel maïsmeel wel het geval was; naar aanleiding hiervan en in verband met de onderzoeken van *Osborne* en *Mendel* en van hemzelf met *Boutwell* en *Kent*, stelde hij de hypothese op, dat vitamine A een geel plantenpigment, waarschijnlijk carotine zou zijn of

een daarmede verwante stof, misschien een leucoverbinding.

In de nu volgende onderzoeken om deze hypothese te toetsen, is men er niet toe overgegaan dierlijk en plantaardig materiaal afzonderlijk te beoordeelen en hoewel men voor planten inderdaad een samengaan tusschen pigmentgehalte en physiologische activiteit vond, kon men de veronderstelling van *Steenbock* toch niet bevestigen, omdat o.a. bij boter en levertraan deze evenredigheid in het geheel niet opging. (*Steenbock, Sell en Buell; Drummond en Coward*). Op deze onevenredigheid tusschen pigmentgehalte en vitamine A-werking van boter, werd nog den nadruk gelegd door het onderzoek van *Stephenson*, waarbij bleek, dat ontkleurde, carotine-vrije boter nog veel vitamine A bevatte.

Intusschen was uit de onderzoeken van *Steenbock et al.* en van *Mc Collum et al.* gebleken, dat levertraan twee vitaminen bevat, namelijk naast het vitamine A nog het anti-rachitisch werkende vitamine D, die beide voor de normale ontwikkeling noodzakelijk zijn (*Mellanby*). Men mag derhalve alleen de groeibevorderende werking van het vitamine A als maatstaf aannemen, wanneer in de behoefte aan andere noodzakelijke bestanddeelen voorzien is.

In het licht van deze onderzoeken konden *B. v. Euler, H. v. Euler en Hellström* een goede groeibevorderende werking van het carotine vaststellen. Zij namen daarbij nog de — door andere onderzoekers vaak nagelaten — voorzorg, het carotine in de niet ontledend werkende arachisolie op te lossen. Bovendien besloten zij uit het verschil in blauwkleuring met antimoonttrichloride, dat in levertraan niet het aanwezige carotine, doch een verwante stof verantwoordelijk voor deze reactie was.

Met toepassing van een verbeterde biologische methode vond de ontdekking van de vitamine A-werking van carotine van verschillende zijden bevestiging. *H. v. Euler, Demole, Karrer en Walker* stelden bij diverse planten vast, dat de

vitamine A-werking (biologisch op ratten getest) evenredig was met het colorimetrisch bepaalde carotinegehalte. Zij kwamen tot de conclusie, dat een *carotine-bepaling in plantenmateriaal uitsluitel kan geven over de grootte van de vitamine A-werking*.

Volgens *Wolff, Overhoff en v. Eekelen* komen in planten geen aantoonbare hoeveelheden vitamine A voor.

Hoewel dus carotine en vitamine A niet als identiek beschouwd kunnen worden, duiden de feiten er wel op, dat het verwante stoffen zijn.

Met voorbijgaan van andere mogelijkheden moet op het oogenblik wel als de meest waarschijnlijke hypothese worden aangenomen, dat het carotine in het dierlijk lichaam voor een gedeelte in een weinig gekleurd derivaat wordt omgezet, waaraan de vitamine A-werking gebonden is en dat in de lever opgestapeld wordt (*Steenbock, v. Euler, Karrer e.a.*).

Een bewijs voor deze opvatting ligt in de proeven van *Moore*, die aantoonde, dat naarmate de carotine-ingestie toeneemt, ook de  $\text{SbCl}_3$ -reactie van de levervetten toeneemt bij gelijkblijvend carotinegehalte. Het blauwe reactieproduct vertoonde een sterken absorptieband bij 610—630  $\text{m}\mu$ , evenals vitamine A uit levertraan en geen waarneembaren band bij 590  $\text{m}\mu$  (carotine).

Daar hij de voorzorg genomen had, de in de proef gebruikte ratten eerst op een vitamine A-vrij dieet te houden, zoodat het leverextract geen reactie meer gaf met  $\text{SbCl}_3$ , is hier dus het verdwijnen van carotine te verbinden met de vorming van vitamine A.

*Wolff, Overhoff en Van Eekelen* konden hetzelfde aantoonen in geëxtirpeerde stukjes lever van levende konijnen vóór en na het toedienen van carotine, door daarin naast elkaar carotine en vitamine A te bepalen.

## HOOFDSTUK III

### CAROTINE

In 1826 ontdekte *Wackenroder*, dat in *Daucus Carota* een kristallijne, geel-roode stof voorkwam. Aan *Zeise* gelukte het in 1846 de kristallen te isoleeren en van de stof een elementair-analyse uit te voeren, die tot de formule  $C_6H_8$  leidde. *Husemann* bestreed de meening van *Zeise* en gaf aan, dat hij op grond van zijn onderzoekingen aan het carotine de formule  $C_{36}H_{80}O_2$  moest toekennen en het dus geen koolwaterstof was. Beiden namen zij den rhombischen kristalvorm waar.

*Brewster* hield zich het eerst met het spectraalanalytisch onderzoek van bladextracten bezig (1834) en zag in een alcoholische oplossing 5 absorptiebanden. *Sorby* kon met deze methode het bestaan van 2 verschillende gele kleurstoffen waarschijnlijk maken en hoewel hij beide „xanthophyl” noemde, kan hij toch als de ontdekker beschouwd worden van het feit, dat in de groene bladeren beide gele pigmenten naast elkander voorkomen.

*Borodine* bracht eenige verdere opheldering door zijn onderzoek, waarbij bleek, dat van het gele bladpigment een deel gemakkelijk in alcohol oploste, terwijl een ander deel in alcohol moeilijk en beter in benzine oplosbaar was.

*Arnaud* (1885) verkreeg het gele pigment uit spinaziebladeren door extractie van het gedroogde plantenmateriaal met petroleum-aether. Hij stelde met behulp van de elementairanalyse vast, dat aan de stof de koolwaterstofformule  $C_{26}H_{38}$  toegekend moest worden.

*Monteverde* wees er in 1893 wederom op, dat de in de

groene plant voorkomende pigmenten onderscheiden konden worden naar hun relatieve oplosbaarheid in alcohol en in petroleumaether. Aan den in petroleumaether oplosbaren component kende hij, op grond van de physische eigenschappen, den naam „carotine” toe, terwijl de in alcohol overgaande gele kleurstof in navolging van *Kraus* „xanthophyl” werd genoemd.

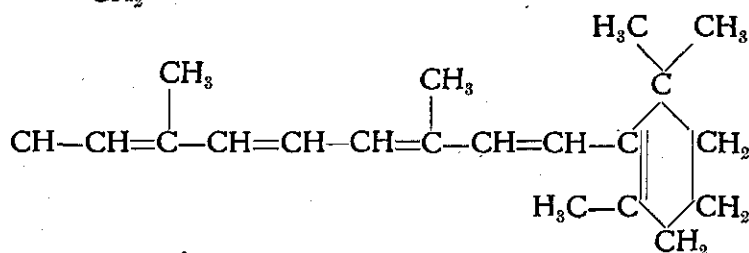
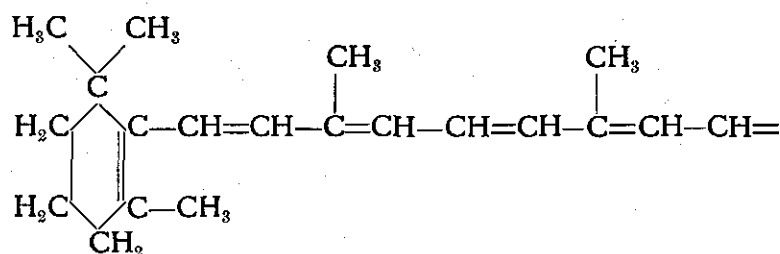
Eerst door *Willstätter* en zijn school werd bewezen, dat voor *Daucus*-carotine de formule  $C_{40}H_{56}$  geldt, terwijl zij dezelfde stof ook uit brandnetelbladeren konden isoleeren.

Voor het tweede gele pigment, het xanthophyl, werd de formule  $C_{40}H_{56}O_2$  gevonden. Bovendien stelde *Willstätter* een aantal eigenschappen van het carotine vast; het een en ander werd door hem, tezamen met *Stoll*, uitvoerig beschreven in zijn „*Untersuchungen über Chlorophyll*”.

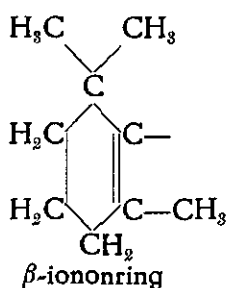
Voor de bereiding van grootere hoeveelheden carotine gaat men gewoonlijk uit van den gelen wortel. Het is evenwel in de laatste jaren gebleken, dat van het carotine verschillende isomeren voorkomen; men heeft een  $\alpha$ -, een  $\beta$ - en in den allerlaatsten tijd een  $\gamma$ -carotine kunnen isoleeren (*Karrer et al.*; *Kuhn en Brockmann*; *Kuhn en Lederer*). Deze isomere carotinen zijn door kristallisatie moeilijk of niet van elkaar te scheiden en daarom heeft bij het bereiden van de afzonderlijke componenten vooral de chromatographische analyse volgens *Tswett* een belangrijke rol gespeeld. Bij deze methode wordt partij getrokken van het verschil in adsorptiesnelheid der carotinen aan eenige stoffen, zooals  $CaCO_3$ ,  $Al_2O_3$  en  $MgO$ ; wordt een oplossing van de carotinen door een kolom van een van deze adsorbentia gezogen, dan zal het  $\alpha$ -carotine sneller doorloopen dan  $\beta$ -carotine, terwijl  $\gamma$ -carotine nog sterker wordt geadsorbeerd.

Wat betreft de constitutie en de chemische eigenschappen van de isomere carotinen diene het volgende:

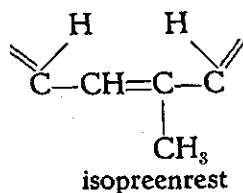
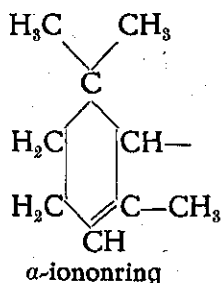
$\beta$ -carotine heeft de formule  $C_{40}H_{56}$ , met een smeltpunt bij  $183^{\circ}\text{C}$ . Er komen in het molecule 11 dubbele bindingen voor en er zijn 2  $\beta$ -iononringsystemen in aanwezig. De aliphatische keten bestaat uit 4 isopreenresten. Het  $\beta$ -carotine is optisch inactief (Karrer et al; Kuhn en Brockmann).



$\beta$ -carotene



$\alpha$ -carotine, dat in de plant steeds vergezeld wordt door  $\beta$ -carotine, heeft dezelfde brutoformule met een smeltpunt  $187-188^{\circ}\text{C}$ . Het is optisch actief. De structuurformule verschilt van die van  $\beta$ -carotine, doordat in plaats van 2  $\beta$ -iononringen hier een  $\alpha$ - en een  $\beta$ -iononring voorkomen (Karrer et al).



$\gamma$ -carotine. Dit isomeer, eveneens met de formule  $\text{C}_{40}\text{H}_{56}$ , is optisch inactief (Winterstein en Ehrenberg; Kuhn en Brockmann). Het molecule bezit 12 dubbele bindingen en heeft slechts één ringsysteem, vermoedelijk een  $\beta$ -ionongroep. Het is een overgangsvorm tussen het  $\beta$ -carotine en lycopine, waarvan het molecule met dezelfde formule  $\text{C}_{40}\text{H}_{56}$  13 dubbele bindingen bezit en géén ringsysteem vertoont (Karrer et al).

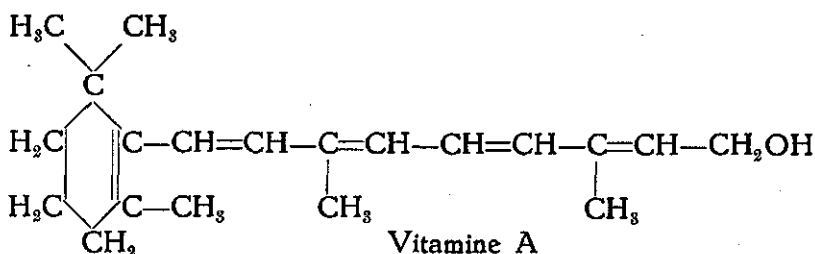
## HOOFDSTUK IV

# DE CHEMISCHE VERWANTSCHAP TUSSCHEN CAROTINE EN VITAMINE A.

De zuiverste vitamine A-paeparaten zijn tot nu toe niet kristallijn, doch als een visceuze lichtgele olie verkregen.

Karrer, Morf en Schöpp stelden de formule  $C_{20}H_{30}O$  op, terwijl voor het moleculairgewicht 320 gevonden werd. Dit laatste getal is in goede overeenstemming met de waarde 333, die Bruins, Overhoff en Wolff vonden met behulp van diffusie-bepalingen. De beide getallen stemmen echter niet geheel overeen met de formule  $C_{20}H_{30}O$ , die een moleculairgewicht van 286 vereischt. Het resultaat van deze onderzoeken is bevestigd door Heilbron c.s.

Volgens bovengenoemde onderzoekers heeft het vitamine A-molecule 5 dubbele bindingen. Het bezit een  $\beta$ -ionongroep en uit het feit, dat het esters kan vormen, blijkt, dat er een OH-groep in voorkomt.



Karrer c.s. kon uitgaande van het  $\beta$ -ionon, synthetisch

het perhydro-vitamine A maken, welke stof identiek bleek te zijn met het perhydroproduct van het natuurlijke vitamine A. De overeenkomst is als een bevestiging van de opgestelde formule te beschouwen.

Volgens deze formule bestaat er een nauw verband tussen  $\beta$ -carotine en vitamine A, omdat door splitsing in het midden en bij opname van 2 moleculen water, uit 1 molecule  $\beta$ -carotine 2 moleculen vitamine A kunnen ontstaan. Uit  $\alpha$ - en  $\gamma$ -carotine kan op deze wijze slechts 1 molecule vitamine A ontstaan. Dit schijnt er dus op te wijzen, dat de vitamine A-werking gebonden is aan het voorkomen van een ongesubstitueerde  $\beta$ -ionon groep.

Deze feiten zijn in overeenstemming met het bij dierproeven geconstateerde verschijnsel, dat  $\beta$ -carotine in eenzelfde quantum een tweemaal grotere biologische werkzaamheid heeft dan  $\alpha$ - of  $\gamma$ -carotine. (*Kuhn en Brockmann*).

---

## HOOFDSTUK V

### HET METEN VAN HET CAROTINE- GEHALTE

De bepalingswijzen van carotine zoowel als van xanthophyl in plantaardig materiaal, berusten op het meten van de intensiteit der gele kleur van deze pigmenten in oplossing.

Bij het bepalen van het pigmentgehalte onderscheidt men drie hoofdbehandelingen, n.l. het maken van het extract, het isoleeren daaruit van de te meten kleurstof in oplossing en het meten van de kleurintensiteit daarvan, waarbij in de oplossing althans geen gekleurde nevenstoffen mogen voorkomen.

Men gaat uit van een ruw extract, dat van de planten-deelen gemaakt wordt met een vloeistof, waarin de pigmenten gemakkelijk oplossen, zooals petroleumaether, aethylaether, aceton met laag watergehalte of alcohol en waarin dan naast de gele kleurstoffen xanthophyl, carotine, eventueele xanthophylesters, lycopine en voor de drie laatstgenoemde extractiemiddelen de flavonen, ook chlorophyl voorkomt.

Bij het maken van het extract, hangt de keuze van de extractievloeistof o.a. daarvan af, of het plantenmateriaal gedroogd of vers in behandeling genomen wordt. De petroleum-aetherextractie van gedroogd en fijngepulverd plantenpoeder zooals door *Vermast* werd uitgewerkt, is bijvoorbeeld met vers materiaal niet mogelijk; daar moet een vloeistof gebruikt worden, die zich met water mengt. Bovendien moeten de plantendeelen fijn verdeeld worden om voor de extractievloeistof toegankelijk te zijn, hetgeen bij gedroogd materiaal geen moeilijkheden oplevert, doch bij het veel taaiere versche

materiaal vaak slechts bereikt kan worden door langdurig aanwrijven met kwartszand in een mortier. Indien dit aanwrijven niet voldoende plaats heeft, kunnen groote fouten optreden.

De scheiding van de in het ruw extract voorkomende componenten geschiedt hoofdzakelijk in twee etappen, op grond van twee fundamenteele principes, hoe ook de modificaties der verschillende methoden mogen zijn. In de eerste plaats wordt de scheiding tusschen het chlorophyl en de gele pigmenten uitgevoerd, gebaseerd op het feit, dat het als phytolmonomethylester van een tweetal verwante tricarbonzuren, de chlorophyllinen, in de planten voorkomende chlorophyl met alkali verzeept kan worden, waarbij de alcohol — phytol — met methanol en de zouten der beide carbonzuren vrijkomen. De beide chlorophyllinezouten zijn, in tegenstelling met de esters en de pigmenten carotine en xanthophyl, in water oplosbaar en kunnen daarmede verwijderd worden, waarbij mede, indien zij in het extract voorkomen, de in water oplosbare flavonen verdwijnen. Volgens *Willstätter en Stoll* verloopt de splitsing der esters onder schudden vrijwel onmiddellijk. Volgens *Vermast* is carotine weinig gevoelig voor alkali, behalve misschien wanneer het bij hoogere temperatuur in petroleumaether verzeept wordt.

De werkwijze, die gevolgd wordt in de tweede etappe van de scheiding der kleurstoffen, die, waarbij carotine en xanthophyl afzonderlijk worden verkregen, berust op de verdeeling van de carotinoïden, volgens *Borodine*, in een alcohol-oplosbare en een in petroleumaether oplosbare groep. In een twee-phasig systeem van petroleumaether en verdund alcohol blijkt het carotine onoplosbaar in den alcohol te zijn, terwijl het xanthophyl daarin juist sterker oplosbaar is dan in den petroleumaether. Aangaande de te gebruiken alcoholconcentraties werden door *Vermast* onderzoekingen verricht waarbij bleek, dat bij 60% geen xanthophyl meer oplost terwijl bij 90% het oplossen van

carotine begint. Op deze wijze is het dus mogelijk het carotine zuiver te krijgen. Veelal wordt voor deze scheiding methylalcohol gebruikt, met aethylalcohol worden echter even goede resultaten verkregen.

Een complicatie doet zich voor wanneer lycopine aanwezig is (tomaat); deze kleurstof gaat evenals het carotine in de petroleumaether-phase en kan hieruit alleen verwijderd worden door gebruik te maken van de chromatografische methode volgens *Tswett*, dank zij de grootere affiniteit voor eenige adsorbentia in vergelijking met carotine.

Een tweede foutenbron is daarin gelegen, dat eventueel voorkomende xanthophylesters eveneens in de petroleumaether-laag overgaan en door hun gele kleur de resultaten beïnvloeden. Dit is te herstellen door de petroleumaetheroplossing van het carotine en de xanthophylesters met loog te behandelen, waardoor de esters gesplitst worden en het vrijkomende xanthophyl met alcohol kan worden verwijderd. Dat zal in die gevallen niet noodig zijn, waar met extracten van groene plantendeelen wordt gewerkt, omdat daar de verzeeping reeds eerder plaats heeft om de afscheiding van het chlorophyl te verkrijgen. De loogbehandeling van de petroleumaetheroplossing behoeft dus alleen uitgevoerd te worden bij analyses van niet-chlorophylhoudend materiaal.

De op deze wijze gereinigde carotineoplossing wordt gemeten door haar te vergelijken met een kleurstandaard, zooals gedaan werd door *Willstätter*, die daarvoor o.a. carotine in petroleumaether of een 0,2 % oplossing van K-bichromaat gebruikte. Deze methode levert echter fouten, terwijl bij het gebruiken van K-bichromaat dit bovendien niet in hetzelfde spectraalgebied absorbeert als carotine. *Van Deventer* raadt het gebruik van methyloranje aan. *Kuhn* en *Brockmann* gebruiken als hun colorimetrischen standaard azobenzol.

De beste waarden verkrijgt men ongetwijfeld door de sterkte

van de carotineoplossing langs spectrophotometrischen weg te meten, zooals reeds in 1923 door *Scherz* beschreven werd. Hij vestigde er de aandacht op, dat bij de vele soorten van colorimetrische bepalingen niet meer dan een betrekkelijke waarde aan de gevonden getallen toegekend mag worden, omdat het moeilijk is bij elke verdunning van het pigment een passende tint van den kleurstandaard in te stellen, wat zich daarin uitte, dat bij verschillende reeksen aflezingen met dezelfde oplossing in den colorimeter en in den spectrophotometer, waarbij voor den eersten een Lovibond Tintometer met standaard carotineoplossing gebruikt werd, bij het gebruik van den colorimeter veel grootere fluctuaties in de waarnemingen voorkwamen. Bij de colorimetrische bepaling van het pigmentgehalte van eenzelfde vloeistof door verschillende personen deden zich nog grootere afwijkingen voor.

Een ander voordeel van de spectrometrische methode is, dat de kleurstof in veel grootere verdunning gemeten kan worden. *Scherz* bepaalde de uitdooving door carotine- en xanthophylooplossingen voor monochromatisch licht van verschillende golflengten en nam uiteindelijk de kwikdamplijn (435,8 m $\mu$ ) als den besten maatstaf aan.

Bij de eigen onderzoeken werd voor de bepalingen gebruik gemaakt van een spectrometer van Zeiss, de Stufenphotometer of Stuphometer volgens *Pulfrich*, zooals deze ook gebruikt werd door *Vermast*, die de met dit toestel verkregen uitkomsten met colorimetrische bepalingen vergeleek en tot analoge conclusies kwam als *Scherz*. Een uitvoerige beschrijving van het apparaat is te vinden in „Die Biologische Arbeitsmethoden” van *Abderhalden*.

Het verschil tusschen dit toestel en den spectrometer bestaat daarin, dat de monochromator vervangen is door een 8-tal lichtfilters, die ieder een spectrumdeel van 400 à 500 A<sup>o</sup> doorlaten en het zichtbare licht in ongeveer 8 gelijke gebieden, in golflengten gemeten, verdeelen. Als lichtbron wordt

een Nitra-lamp gebruikt, waarvan de lichtstralen door twee, naast elkaar opgestelde, plan-parallelle cuvetten gaan. In de eene cuvette wordt het gebruikte, heldere oplosmiddel gebracht en in de andere de te meten kleurstofoplossing. Het uit de cuvetten tredende licht valt door twee objectieven, die voorzien zijn van diaphragma's met verstelbare vierkante opening, waarna de beide lichtbundels door een stelsel van prisma's zoodanig in een oculair worden samengebracht, dat het oog beide bundels, slechts door een smalle deellijn gescheiden, in twee halfronden waarneemt, zooals bij den polarimeter.

Voor het oculair bevindt zich een draaibare schijf, die de filters kan bevatten. Indien de beide cuvetten met een optisch leege en ongekleurde vloeistof gevuld zijn, wordt bij gelijke belichting van de beide objectieven en geheel geopende diaphragma's een volkomen homogeen verlicht veld door het oculair waargenomen. Wordt in één van de cuvetten de te meten gekleurde vloeistof ingevuld, dan zal daardoor een zekere hoeveelheid van het invallende licht geabsorbeerd worden en de eene helft van het gezichtsveld zal donkerder schijnen. Door draaien van een verdeelde trommel kan de opening van het diaphragma voor de andere cuvette, die de volkomen transparante vloeistof bevat, nu zoo verkleind worden, dat beide helften van het gezichtsveld weer even licht zijn. Op deze wijze, heeft men in de vermindering van de diaphragma-opening een maat voor de hoeveelheid door de gekleurde vloeistof geabsorbeerd licht van een bepaald deel van het spectrum, dat door het voorgeplaatste filter wordt bepaald. Het cijfer, dat op de trommel afgelezen wordt, geeft de intensiteit van het doorgelaten licht aan in procenten van de intensiteit van het opvallende licht. De absorptie in procenten is dus 100 verminderd met het gevonden getal.

Ter illustratie van den *gang van een analyse van bladkleur-*

stoffen volg hier de oorspronkelijke bewerking volgens *Willstätter*:

In een mortier van 25 cm doorsnede worden 40 g verse bladeren met 50 cc 40% aceton overgoten en snel met 100 g kwartsand fijngewreven. Na het fijnwrijven, wanneer geen grootere groene stukjes blad meer te herkennen zijn, wordt de tamelijk droge brij nogmaals met 100 cc 30% aceton overgoten en op een *Buchner*-filter door een dunne talklaag afgezogen. Het residu wordt met 100—200 cc 90% aceton nagewassen tot de vloeistof kleurloos afloopt. Deze bewerking heeft ten doel de in water oplosbare bestanddeelen uit het materiaal kwijt te raken en, volgens *Willstätter*, de werkzaamheid van enzymen te remmen.

Als de waterige aceton goed afgezogen is, wordt het mengsel van zand en bladmateriaal eenige minuten met aceton gemacereerd en weer afgezogen. Voor de volledige extractie bij herhaald macereren is 400—600 cc aceton nodig, die de laatste malen met 5—10% water wordt verdund, omdat alleen in aceton met eenig watergehalte de bladkleurstoffen goed oplossen.

Het groene acetoneextract wordt in hoeveelheden van 100—200 cc in 200—250 cc aether uitgegoten en de aceton met gedestilleerd water grootendeels weggewassen. De rest van de aceton wordt verwijderd door, onder voorzichtig omzwenken, het water langs den wand van den scheitrechter te laten loopen, waardoor het optreden van emulsies wordt voorkomen. De aetheroplossing wordt met watervrij natriumsulfaat gedroogd en in een 200 cc maatkolf afgefiltreerd, die tot het merk met aether wordt bijgevuld. De eene helft van dit extract dient voor de chlorophylbepaling en de andere helft voor de bepaling van carotine en xanthophyl.

In dit laatste deel wordt het achtergebleven chlorophyl met 2 cc methylalcoholische kaliloog verzeept onder schudden, eerst met de hand en later gedurende een half uur met de

machine. Na volledige verzeeping wordt de aetherische oplossing van de kalizouten gedecanteerd en deze met aether nagewasschen. Dit procédé is echter niet voldoende om volledige extractie van het xantophyl te bereiken. Daarom wordt aan de chlorophyllinenzouten nogmaals 30 cc aether toegevoegd en vervolgens onder voortdurend schudden water, in kleine hoeveelheden, tot een scheiding verkregen wordt. Ter contrôle wordt de alcalische vloeistof nogmaals met aether geschud, die dan gewoonlijk kleurloos blijft.

De vereenigde aetherextracten worden, ter verwijdering van chlorophylresten, met een weinig looghoudend water gewasschen en het loog met zuiver water verwijderd, het aetherextract in vacuo tot enkele cc ingedampt en opgenomen in 80 cc petroleumaether in een scheitrechter.

De scheiding van carotine en xanthophyl geschiedt nu door de petroleumaetheroplossing te schudden, eerst met 100 cc 85 %, dan met 100 cc 90 % en tweemaal met 50 cc 92 % methanol.

De petroleumaetheroplossing van carotine wordt door tweemaal wasschen met water van methanol bevrijd en is, eventueel na klaren met absoluten alcohol, gereed om gemeten te worden. —

De methode heeft het nadeel, dat zij erop gericht is alle bladkleurstoffen te kunnen bepalen, terwijl, met het oog op de eigen onderzoekingen, alleen het carotine in aanmerking behoeft te komen. Buitendien is de werkwijze niet eenvoudig genoeg, om daarmee snel vele bepalingen te kunnen verrichten.

Aan de door *Vermast* uitgewerkte methode voor de bepaling van carotine in plantenmateriaal, dat door hem na drogen bij 45° met petroleumaether in een Soxhletapparaat werd geëxtraheerd, kleeft ook het nadeel van de groote langdurigheid, die de behandeling vereischt, terwijl het bovendien beter is van versch materiaal uit te gaan.

Daarom werd gebruik gemaakt van de door *Guilbert*

beschreven modificatie van de methode *Scherz*, welke zelf van de methode van *Willstätter* voornamelijk daarin afwijkt, dat *Scherz*, in plaats van het plantenmateriaal alleen met aceton te extraheeren, na aanwrijven met kwartszand en soda en macereeren met aceton, onmiddellijk ook met aether uittrekt. Bovendien doet *Scherz* de chlorophylverzeeping verlopen in de ijskast.

Volgens de methode-*Guilbert* wordt het plantenmateriaal, na aanwrijven in een mortier met kwartszand en alcoholische kali, met meer alcoholische kali gekookt, waarna uit de alcoholische vloeistof en de door het koken gemacereerde massa de pigmenten met aether worden uitgetrokken.

Het koken met de loog heeft, behalve dat het een snelle verzeeping geeft, als voordeel, dat het plantenweefsel wordt gemacereerd en toegankelijk gemaakt voor het extractiemiddel, zoodat de kans op fouten door niet voldoende malen in het mortier, die bij versch blad altijd groot is, hier zeer is verminderd.

Uit de aetherige oplossing kunnen de flavonen en het verzepte chlorophyl onmiddellijk met water worden uitgewassen; de stap, waarin de flavonen verwijderd worden, valt dus hier samen met de verwijdering van het verzepte chlorophyl, dat toch niet gemeten wordt.

De gang van deze bepaling was als volgt:

### Methodiek I

Bladschijven van de te analyseeren planten werden met kwartszand en alcoholische kali in een mortier fijngewreven en daarna gedurende een half uur op een waterbad met een twintigvoudige hoeveelheid verzadigde alcoholische loog gekookt, in een kolf met terugvloeikoeler. (Voor de analyse werd 2 à 3 g plantenmateriaal gebruikt.) Op deze wijze worden de vetten en het chlorophyl, benevens de eventueel voorkomende

xanthophylesters, verzeept. Nu werd 50—100 cc peroxyde-vrije aethylaether toegevoegd en na schudden (1 min.) en bezinken gedecanteerd in een scheitrechter. Dit werd nog tweemaal met kleinere hoeveelheden aether herhaald. Het residu in de kolf werd dan losgemaakt met een weinig 96% aethanol en nog eens twee tot driemaal met aether uitgetrokken tot de vloeistof kleurloos was. In het geheel is  $\pm$  200 cc aether noodig. In den scheitrechter werden daarna 100 cc water bijgevoegd, waarin de zeepen met de flavonen en het chlorophyl overgaan, dit water in een anderen scheitrechter afgelaten en nog eens uitgeschud met aether. De samengevoegde aether-extracten werden tot loogvrij met water uitgewassen.

Van deze oplossing, waarin zich carotine en xanthophyl bevonden, werd, nadat zij met  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  sicc. van water bevrijd was, de aether in vacuo afgedestilleerd en het residu onder koolzuur in 30 tot 40 cc petroleumaether opgenomen. De scheiding tusschen carotine en xanthophyl werd nu bewerkstelligd door deze oplossing eenige malen met 85% en daarna met 90% methanol te wassen (gelijke volumina), waarbij het xanthophyl in den methanol overgaat, terwijl het carotine in de petroleumaether-phase blijft.

Nadat de petroleumaether volledig van xanthophyl was bevrijd (methanol kleurloos), werd de opgeloste alcohol door wassen met water verwijderd en kon de hoeveelheid carotine in de vloeistof bepaald worden, door de intensiteit van de gele kleur in den Zeiss Stufenphotometer te meten. Daartoe werd de oplossing eerst nog gedroogd met  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  sicc.

Gedurende de geheele bewerking werd ervoor gewaakt het carotineëxtract niet aan sterk licht bloot te stellen en zuurstof zooveel mogelijk buiten te sluiten, daar beide een ontledende werking op de stof uitoefenen.

Toch is de hiervóór beschreven methode nog langdurig en relatief kostbaar. Geheel noodeloos wordt het xanthophyl tot

het einde van de bewerking medegevoerd en quantitatief afgescheiden. Daarom werd later ook een andere methode uitgewerkt en in gebruik genomen, die evengoede resultaten opleverde en bovendien een aanzienlijk besparing aan tijd en reagentia gaf.

Bij deze methode werd, na bekoelen, de alcoholische loog met het gedesintegreerde plantenmateriaal met *petroleumaether* geschud. Het carotine lost daarin zeer goed op, waartoe de omstandigheid medewerkt, dat de hoeveelheid water, die in het verwerkte plantenmateriaal voorkomt ( $\pm 90\%$ ) de alcoholconcentratie zoodanig vermindert, dat de oplosbaarheid van het carotine in den alcohol gering wordt. Het xanthophyl daarentegen blijft voor het grootste deel in den alcohol achter, terwijl het verzepte chlorophyl in het geheel niet in den *petroleumaether* overgaat.<sup>1)</sup>

Iets dergelijks doen *Kuhn en Brockmann*, als zij gedroogd plantenmateriaal met methanol en *petroleumaether* aanwrijven en extraheeren en daarna het chlorophyl in den methanol en de xanthophylesters in den *petroleumaether* verzeepen.

Behalve de reeds genoemde, is als een verder voordeel van deze methode aan te merken, dat het afdampen van aether in vacuo achterwege kan blijven, een bewerking die, door de hoogere temperatuur, die erbij geapliceerd wordt en de bijna onvermijdelijken invloed van licht, tot fouten aanleiding kan geven.

De gang van deze werkwijze was als volgt:

## Methodiek II

Evenals bij de hiervoor beschreven methode werden 2—3 g bladschijven aangewreven en gedurende een half uur met

<sup>1)</sup> Om een dergelijke gunstige alcoholconcentratie te verkrijgen is het noodzakelijk minder alcoholische loog te gebruiken dan *Guilbert* (10 : 1) of ná de verzeeping water toe te voegen.

alcoholische loog gekookt, waarbij een 10-voudige hoeveelheid loog gebruikt werd. Na bekoelen werd de massa in de kolf met enkele cc petroleumaether geschud en de onmiddellijk zich geel kleurende petroleumaether, waarvan een deel in den alcohol oplost, in een scheitrechter (1) gedecanteerd. Dit werd 3 à 4 maal herhaald. De volgende petroleumaetherextracten werden, alvorens in (1) gebracht te worden, eerst in een kleinen scheitrechter gedecanteerd (2) en daarin met een gelijk volume 85 % methanol gewasschen. De petroleumaetherextractie werd als geëindigd beschouwd, wanneer alle gele kleur uit den petroleumaether met methanol wegge-wasschen kon worden. De verzamelde petroleumaetherextracten werden met 85 % en 90 % methanol van kleine hoeveelheden xanthophyl gereinigd en de alcohol door eenige malen wasschen met water verwijderd. Na drogen met watervrij natriumsulfaat was de zoo verkregen carotineoplossing gereed om gemeten te worden.

Wanneer het decanteeren van de, uiteraard dunne, petroleumaetherlaag van de alcoholische loog moeilijkheden oplevert, kan de geheele massa uit de kolf waarin het verzeepen heeft plaats gehad in een scheitrechter gebracht worden en daarin met petroleumaether worden geëxtraheerd, waarbij het natuurlijk noodzakelijk is voor de extractie alléén, afwisselend twee scheitrecters te gebruiken, omdat eerst de alcoholische loog afgelaten moet worden vóór de bovendrijvende petroleumaether gewonnen kan worden.

---

## HOOFDSTUK VI

### VITAMINE C

#### a. Historisch overzicht van de ontdekking van het vitamine C.

Reeds vele eeuwen geleden kende men de scheurbuik, vooral op schepen, als een ziekte, veroorzaakt door gebrek aan versch voedsel en men wist ook, dat door het eten van versche groenten en vruchten genezing verkregen kon worden.

In het midden van de 18e eeuw kon *Lind*, uit zijn proeven op scheurbuiklijders met de verschillende toenmaals bekende antiscorbutica, besluiten, dat vooral de sinaasappel een bijzonder gunstige werking had, doch het eerste systematische onderzoek naar de oorzaken van de ziekte dateert pas uit het begin van deze eeuw en werd gedaan door *Holst* en *Frölich*. In navolging van de door *Eijkman* en *Grijns* in hun werk over de beri-beri in Indië toegepaste methode, kwamen zij ertoe, caviae op een dieet van uitsluitend cerealia te houden en zagen na eenigen tijd als gevolg daarvan ziekteverschijnselen optreden, overeenkomende met die van de scheurbuik bij den mensch. Ook de dieren konden zij gezond houden, of bij de zieke dieren genezing bewerkstelligen, door het geven van versche groenten en vruchten of perssap daarvan. Naar aanleiding van hun proeven stelden zij de hypothese op, dat o.a. in versche groenten en vruchten een stof voorkomt, die noodzakelijk is voor het organisme. Deze stof werd later *vitamine C* genoemd.

Ofschoon jaren lang pogingen gedaan werden om het vitamine C te isoleeren, mocht dit niet gelukken en men

bracht het niet verder dan onzuivere concentraten. Wel slaagde men erin eenige belangrijke eigenschappen van de stof vast te stellen, waaronder de groote gevoeligheid voor zuurstof, die reeds door *Holst en Frölich* waargenomen was, een eerste plaats innam. Deze groote oxydabiliteit uitte zich ook daarin, dat actieve vitamine C-concentraten in staat waren een ammoniakale-zilveroplossing en ook phenolindophenol te reduceeren, zooals door *Zilva* ontdekt werd. Hij vond echter geen correlatie tusschen het reductievermogen en de antiscorbutische werking. *Tillmans c.s.* kon in 1930 echter wel een samengaan van reductievermogen ten opzichte van 2,6-dichloorphenolindophenol en antiscorbutische werking bij plantenextracten vaststellen. Hij vond evenals *Zilva*, dat een met deze kleurstof geoxydeerd extract gedurende korten tijd nog antiscorbutische werkzaamheid behield en dat het met  $H_2S$  weer gereduceerd kon worden; bij langer blootstellen aan de lucht verloor het echter deze functie en trad, volgens *Tillmans*, een irreversibele oxydatie op, die het biologisch inactief maakte.

Het voornaamste werk, dat de opheldering van de constitutie van het vitamine C gebracht heeft, is pas in de laatste jaren gedaan.

Einde 1931 dacht *Rygh c.s.* in het methylnornarcotine, een derivaat van het niet giftige opiumalcaloïd narcotine, het vitamine C gevonden te hebben. Deze waarnemingen konden door andere onderzoekers niet bevestigd worden (*Brüggemann; Dalmer en Moll; Tillmans; Zilva*), ook niet na aanvullende mededeelingen over de rol van het glucuronzuur.

Voor de verdere onderzoekingen was het van het grootste belang, dat er in de reductie van het phenolindophenol een eenvoudige chemische bepaling van het vitamine C bestond, waardoor de aandacht op de reduceerende eigenschappen ervan gevestigd bleef.

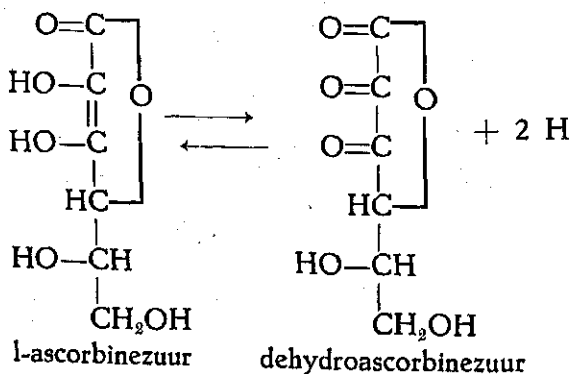
Onafhankelijk van deze onderzoekingen had *Szent-Györgyi*

in 1928, bij zijn studie over de peroxydase-systemen in planten, uit de bijnieren van het rund een stof afgezonderd, die vooral gekarakteriseerd was door sterk reduceerende eigenschappen en een zure reactie. De stof bezat de elementaire samenstelling:  $C_6H_8O_6$  en werd door hem „hexuronzuur” genoemd.

De genoemde eigenschappen, in verband met de onderzoeken van *Tillmans*, brachten hem ertoe het hexuronzuur op antiscorbutische werking te beproeven en het bleek, dat ongeveer 1 mg per dag een cavia voor scheurbuik kon behoeden. *Tillmans c.s.* en *King en Waugh* kwamen vrijwel gelijktijdig tot hetzelfde resultaat. Hierdoor was het dus wel waarschijnlijk gemaakt, dat het hexuronzuur, later ascorbinezuur genoemd, en vitamine C overeenkomstige stoffen waren.

Aan de onderzoeken ter opheldering van de constitutie van het ascorbinezuur hebben vooral *Haworth, Hirst c.s., Karrer, v. Euler en Martius, Micheel en Kraft* medegewerkt.

Als resultaat werd de volgende formule verkregen:



Karakteristiek voor het molecule zijn de twee enolische OH-groepen, die zoowel voor het reduceerend vermogen als voor het zure karakter verantwoordelijk zijn.

Het bewijs voor de juistheid van deze formule werd verkregen door de synthese van het 1-ascorbinezuur door *Reichstein c.s.* en, ongeveer gelijktijdig, door *Haworth c.s.* Dit synthetische product bleek als antiscorbuticum dezelfde werkzaamheid te bezitten als het uit planten gewonnen ascorbinezuur.

Aangaande de rol van het vitamine C in het organisme, moet wel in de eerste plaats aan een optreden als oxydo-reductie-systeem gedacht worden, doch hiermede is alles nog niet verklaard, want bijvoorbeeld d-ascorbinezuur en andere verwante verbindingen zijn onwerkzaam.

#### **b. De physiologische functie van het vitamine C.**

Het vitamine C vormt, althans bij den mensch evenals bij aap en cavia, een noodzakelijk bestanddeel van het dieet. Bij ontbreken ervan treedt scheurbuik op, een ziekte, waarvan de verschijnselen, zooals tandvleeschbloedingen, subcutane bloedingen, pijnlijke en gezwollen gewrichten, reeds sinds langen tijd beschreven zijn.

---

## HOOFDSTUK VII

### DE BEPALING VAN HET VITAMINE C-GEHALTE

#### a. Algemeen

Oorspronkelijk geschiedde de bepaling van het vitamine C-gehalte uitsluitend door middel van de dierproef en wel met caviae. Daarbij werd zoowel van de curatieve als van de prophylactische methode gebruik gemaakt, waarbij dus van de te onderzoeken stof of de minimumdosis bepaald wordt, die het proefdier nog juist scheurbuikvrij kan houden, of aan dieren, die ten gevolge van een vitamine C-vrij dieet aan scheurbuik lijden, van de te onderzoeken stof zooveel gegeven wordt, dat de ziekteverschijnselen verdwijnen. Deze methode heeft, behalve dat zij omslachtig is, ook nog het nadeel, dat men met de wisselende gevoeligheid van de proefdieren moet rekenen.

Het was dan ook een grooten vooruitgang, dat er chemische en spectroscopische methoden gevonden werden om het vitamine C-gehalte te bepalen, van welke de meting door titratie met 2,6-dichloorphenolindophenol volgens *Tillmans*, de meest gebruikte is. Hiermede verkreeg men, met inacht nemen van enkele maatregelen, uitkomsten, die in goede overeenstemming met die van de dierproef waren. De in alcalisch milieu blauwe en in zuur milieu roode kleurstof, wordt door het vitamine C tot den leucovorm gereduceerd; het eindpunt van de titratie is dus het zichtbaar blijven van de blauwe, respectievelijk roode kleur.

Andere bepalingswijzen, eveneens berustende op de reduceerende werking van het ascorbinezuur, zijn o.a. die van *Bezssonoff* met phosphor-wolfraam-molybdeen-zuur en van *Szent-Györgyi* met zilvernitraat. Deze hebben echter alle het nadeel, dat zij minder specifiek zijn dan de titratie-reactie volgens *Tillmans*, zooals deze verbeterd is door *Emmerie*.

Toch is ook deze reactie niet geheel zonder nadeelen, want in de eerste plaats wordt uit den aard van de zaak het reversibel geoxydeerde vitamine C, dat biologisch wel werkzaam is, niet medebepaald en in de tweede plaats is de reactie niet specifiek voor ascorbinezuur, omdat de indicator ontleurd wordt door elk ander oxydatie-reductie-systeem dat een lagere redoxpotentiaal heeft. *Tillmans* gaf reeds een middel om het eerste bezwaar op te heffen. Door de oplossing met  $H_2S$  te behandelen, welke gas later weer verwijderd wordt, omdat het mede den indicator ontleurt, kon hij het reversibel geoxydeerde ascorbinezuur weer reduceeren en zoo voor titratie geschikt maken. Om de tweede foutenbron te vermijden, die optreedt bij het voorkomen van ferrozouten, glutathion, cysteïne, ergothioneïne enz. in de plantaardige en dierlijke weefsels, moet men in zuur milieu titreeren, zooals dit wordt aangegeven door *Svirbely* en *Szent-Györgyi*, *Birch c.s.*, *Harris* en *Ray*, *Wolff c.s.*, *Martius* en *v. Euler*, omdat dan de reactie met het ascorbinezuur snel en de reactie met de ferrozouten en het glutathion langzaam verloopt.

*Emmerie* heeft in de behandeling met mercuriacetaat in zuur milieu een middel gegeven, om vóór de analyse glutathion, cysteïne en ergothioneïne quantitatief te verwijderen, waarbij bovendien vaak kleurstoffen, die bij de titratie storend werken, mede worden neergeslagen. Het ascorbinezuur blijft bij deze behandeling in oplossing, doch wordt door het mercuriacetaat reversibel geoxydeerd. Het moet dus met  $H_2S$  weer gereduceerd worden, waardoor tevens het reeds in de oplossing

aanwezige reversibel geoxydeerde ascorbinezuur voor de bepaling beschikbaar komt.

Toch is men na deze voorzorgen nog niet zeker, dat bij de titratie alleen het vitamine C bepaald wordt, want er kunnen in plantaardige en dierlijke weefsels onbekende, niet biologisch werkzame stoffen voorkomen, die den indicator reduceeren en niet door het mercuriacetaat worden geprecipiteerd. *Martius en v. Euler* en *v. Eekelen en Ruysen* hebben reeds op het voorkomen van dergelijke stoffen, die ontstaan bij het droog verhitten van koolhydraten, gewezen. Zij werden door *v. Euler* „reductonen” genoemd en men moet met de aanwezigheid ervan rekening houden, bij het bepalen van vitamine C in voedingsmiddelen, zooals gebakken brood, gebrande koffieboonen enz.

Behalve met deze chemische methoden, kan de hoeveelheid vitamine C ook langs spectrophotometrischen weg gemeten worden. Volgens *Bowden en Snow* heeft het vitamine C een karakteristiek absorptiespectrum in het ultraviolet bij 265 m $\mu$  en zoo zou men dus, met behulp van de quantitative spectraalanalyse in staat zijn, het ascorbinezuurgehalte te bepalen. *v. Eekelen c.s.* en *Plaut c.s.* vonden goede overeenstemming tusschen de uitkomsten van deze en van de chemische methode; de bepaling lukt echter alleen in die gevallen, waar geen andere stoffen aanwezig zijn, die in hetzelfde spectraalgebied absorbeeren, zooals bijvoorbeeld in de liquor cerebrosplanalis.

#### **b. De bepaling van het ascorbinezuur in de proefplanten.**

Van de uit de potproeven verkregen planten, werd het ascorbinezuurgehalte na extractie door titratie met 2,6-dichloorphenolindophenol bepaald. Voor de analyse werd alleen van de bladschijven gebruik gemaakt, omdat de bladsteelen minder vitamine C bevatten en daarom een wisselend gewichts-

percentage aan steelen in de verschillende monsters, de uitkomsten zou vertroebelen.

TABEL 1  
Verskil in ascorbinezuurgehalte tusschen  
bladsteelen en bladschijven

|                      | mg asc.z./100 g<br>versch materiaal |
|----------------------|-------------------------------------|
| Bladsteelen . . . .  | 8                                   |
| Bladschijven . . . . | 19                                  |

Hoewel in het algemeen vanuit het standpunt van de voedingsfysiologie de cijfers, die verkregen worden uit bepalingen aan gekookte voedingsmiddelen, of althans aan voedingsmiddelen in den staat zooals zij gegeten worden, de meeste waarde hebben, werd er in de hierbeschreven proeven toch niet toe overgegaan de spinaziebladeren vóór de bepaling te koken, omdat de invloed van de bemesting dan minder duidelijk zou worden, daar bij koken een niet nauwkeurig bekende hoeveelheid vitamine C wordt vernietigd.

Een andere maatregel, die genomen moest worden om reproduceerbare waarden voor het vitamine C-gehalte te verkrijgen, bestond daarin, dat de planten zoo snel mogelijk na den oogst geanalyseerd werden, omdat zelfs bij korten tijd bewaren in de ijskast het ascorbinezuur irreversibel geoxydeerd kan worden, waardoor bij titratie aanzienlijk minder wordt gevonden.

*Het verloop van het vitamine C-gehalte van spinaziebladeren bij bewaren in een afgesloten glazen flesch (met vochtige watten om de bladeren frisch te houden) wordt in de volgende tabellen gegeven:*

TABEL 2

In de ijskast (4° C.)

| Aantal dagen<br>van bewaren | mg asc.z./100 g<br>versch klein blad | mg asc.z./100 g<br>versch groot blad |
|-----------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| 0                           | 35                                   | 46                                   |
| 1                           | 29                                   | 43                                   |
| 3                           | 4                                    | 18                                   |
| 5                           | 5                                    | 8                                    |

TABEL 3

In de ijskast (4° C.), bij kamertemperatuur en bij 37° C.

| Aantal dagen<br>van bewaren | mg asc.z./100 g<br>versch blad<br>bij 4° | mg asc.z./100 g<br>versch blad<br>bij kamertemp. | mg asc.z./100 g<br>versch blad<br>bij 37° |
|-----------------------------|------------------------------------------|--------------------------------------------------|-------------------------------------------|
| 0                           | 60                                       | 60                                               | 100                                       |
| 1                           | 45                                       | 49                                               | 40                                        |
| 2                           | —                                        | —                                                | 16                                        |
| 3                           | 49                                       | 23                                               | —                                         |
| 5                           | 21                                       | 8                                                | —                                         |

Dat deze afname van het ascorbinezuurgehalte een gevolg is van oxydatie, blijkt uit de cijfers, die werden verkregen van bladeren, die bij kamertemperatuur bewaard werden, respectievelijk in stikstof-, koolzuur- en zuurstofatmosfeer.

TABEL 4

| Aantal dagen<br>van bewaren | mg asc.z./100 g<br>versch blad<br>onder N <sub>2</sub> | mg asc.z./100 g<br>versch blad<br>onder CO <sub>2</sub> | mg asc.z./100 g<br>versch blad<br>onder O <sub>2</sub> |
|-----------------------------|--------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|
| 0                           | 100                                                    | 100                                                     | 100                                                    |
| 3                           | 100                                                    | 88                                                      | 66                                                     |
| 6                           | 86                                                     | 71                                                      | 15                                                     |

N.B. Voor de bepalingen werden alleen die bladeren gebruikt, die na het bewaren geen sporen van bacterie- of schimmelaantasting vertoonden.

Daar bij de verse spinaziebladeren, die gedurende het onderzoek verwerkt werden, geen verschil gevonden werd in het vitamine C-gehalte vóór of ná behandeling met  $H_2S$  of volledige kwikacetaatbehandeling, werd, na de eerste oriënterende proeven, uitsluitend onmiddellijk na extractie in trichloorazijnzuur milieu getitreerd (*Tillmans-Birch*).

Wel werd van de kwikacetaatmethode gebruik gemaakt, bij de hiervóór vermelde proeven betreffende het optreden van verliezen aan ascorbinezuur in de planten tijdens het bewaren, omdat daar de mogelijkheid bestond, dat in het extract andere reduceerende stoffen voorkomen, die bij de titratie volgens *Tillmans-Birch* mede worden bepaald of dat, aan den anderen kant, een hoeveelheid vitamine C in reversibel geoxydeerden toestand aanwezig is, die dan op deze wijze niét mede bepaald wordt.

### c. Het bereiden en het stellen van den 2,6-dichloorphenol-indophenol-indicator.

Omdat de handelspraeparaten van het 2,6-dichloorphenol-indophenol meestal onzuiverheden bevatten, is het voor het verkrijgen van een oplossing van een bepaalde concentratie niet voldoende de overeenkomstige hoeveelheid van de stof af te wegen, doch is het noodig de indicatorvloeistof tegen een oplossing van ascorbinezuur te stellen, waarvan de sterkte vooraf door titratie met jodium is bepaald.

25 mg 1-ascorbinezuur worden opgelost in 5 % azijnzuur tot een volume van 25 cc, terwijl  $CO_2$  ingeleid wordt, om oxydatie te voorkomen. Bij 5 cc van deze oplossing worden 1 cc 20 % KJ-oplossing en, uit een microburet, 5 cc 0,02 n jodiumoplossing gevoegd. De overmaat jodium wordt met 0,02 n thiosulfaat uit een microburet teruggetitreerd, waarbij zetmeel als indicator dient.

Bij deze titratie in zuur milieu reageert alleen de gereduceerde

vorm van het ascorbinezuur met jodium en wel 1 grammolecule ascorbinezuur met 2 gramatomen jodium.

Daar de ascorbinezuuroplossing niet houdbaar is, wordt onmiddellijk na titratie ervan de indicator ermede gesteld.

130 mg van het natriumzout van 2,6-dichloorphenolindophenol worden opgelost in 500 cc heet gedestilleerd water. Na afkoelen wordt de oplossing gefiltreerd, een mespuntje  $\text{NaHCO}_3$  eraan toegevoegd en gedurende eenige dagen in het donker bewaard. Daarna wordt de vloeistof nogmaals gefiltreerd, een microburet wordt ermede gevuld en uit de microburet kan de indicator tegen de bovenbeschreven bekende ascorbinezuuroplossing gesteld worden. Deze wordt daartoe eerst met gedestilleerd water tienmaal verdund. Van de verdunde oplossing wordt 1 cc in een wit porceleinen schaalje gebracht en 3 cc 3% trichloorazijnzuur eraan toegevoegd, waarna met de indicatoroplossing wordt getitreerd. Bij de genoemde gewichtsverhoudingen gebruikt 1 mg ascorbinezuur ongeveer 10 cc van den indicator.

De indicator wordt in het donker bewaard en minstens éénmaal per week gesteld. Hij mag niet ouder worden dan ongeveer één maand, omdat oudere oplossingen niet geheel door het ascorbinezuur ontkleurd worden, zoodat dan het eindpunt van de titratie onduidelijk wordt, door het optreden van een vuil-bruin-roode tint.

### Methodiek

2 tot 3 g bladschijven werden in een mortier, onder toevoegen van eenige cc 3% trichloorazijnzuur, met ijzervrij kwartszand aangewreven tot het weefsel zoo goed mogelijk gedesintegreerd was. De inhoud van het mortier werd in een maatcylinder gebracht en deze met 3% trichloorazijnzuur aangevuld tot het volume tienmaal het bladgewicht bedroeg. Na goed mengen werd door filtreren of, indien dit moeilijk ging, door centrifugeeren de pulp verwijderd,

zoodat in het filtraat, dat in dit geval meestal voldoende helder was, het ascorbinezuur bepaald kon worden. Daartoe werden 0,5 tot 2 cc in een wit porceleinen schaalteje gebracht en met den indicator getitreerd.

Bij een deel van de onderzoeken (zie hiervóór), werd de nu volgende mercuriacetaatbehandeling toegepast (*Emmerie en v. Eekelen*).

Daar het ascorbinezuur op den duur in het trichloorazijnzuur niet bestendig is, werd de overmaat van het zuur met  $\text{CaCO}_3$  weggenomen tot het extract nog zwak zuur reageerde (congopapier rood, lakmoes rood). Daarna werd, in een wijdmondsche reageerbuis, aan 20 cc van het extract 1 tot 2 cc van een 20 % mercuriacetaatoplossing toegevoegd en snel gefiltreerd. Ook in dit geval moet, indien de filtratie moeilijk gaat, gecentrifugeerd worden. In het filtraat werd een langzame stroom  $\text{H}_2\text{S}$  doorgeleid, tot al het overtollige kwik als sulfide geprecipiteerd was en door filtratie verwijderd kon worden. De thans heldere vloeistof werd met  $\text{H}_2\text{S}$  verzadigd, de buis met een kurk afgesloten en in het donker tot den volgenden dag bewaard. Dan werd de zwavelwaterstof uit de vloeistof verwijderd door een stikstofstroom door te leiden, omdat het  $\text{H}_2\text{S}$  mede den indicator reduceert. Ter controle of inderdaad alle  $\text{H}_2\text{S}$  uitgedreven was, werd gebruik gemaakt van een loodacetaatpapiertje.

0,5 tot 2 cc van het zoo behandelde extract, werden in een wit porceleinen schaalteje met een 10 % trichloorazijnzuuroplossing aangezuurd tot een gehalte van 2 % trichloorazijnzuur en getitreerd.

---

## HOOFDSTUK VIII

### DE POTPROEVEN

Zooals in de inleiding reeds vermeld is, werd het materiaal waaraan de bepalingen werden verricht, verkregen van potculturen, omdat bij die wijze van kweken de omstandigheden, waaronder de groei plaats heeft beter zijn te beheerschen dan bij de cultuur in het vrije veld. Zoo kan gezorgd worden voor een gelijkmatige verdeling van de voedingsstoffen in het voedingsmedium en voor gelijke vochtigheid en temperatuur, waardoor een meer uniform plantenmateriaal ontstaat.

Tot het verkrijgen van een inzicht in de wijze, waarop het carotine- en het vitamine C-gehalte van de planten op de al of niet aanwezigheid van de voor de plant noodzakelijke bodembestanddeelen reageeren, werden planten gekweekt, waaraan één of meer noodzakelijke componenten van het voedingsmedium niet of in onvoldoende mate werden gegeven, zoodat de, uit deze kunstmatige storing van de levensverhoudingen ontstane gevolgen ertoe konden leiden, de in het levende systeem, ten aanzien van de vitaminevorming heerschende wetten, op het spoor te komen.

Van de verschillende wijzen, die mogelijk zijn om een deficiëntie-plant te verkrijgen, werden de methoden toegepast, waarbij gedurende den geheelen duur van den groei de betreffende component werd weggelaten, of waarbij deze in de verschillende potten van een proevenreeks in opklimmende hoeveelheid werd gegeven.

Daarbij werd zoowel in kwartszand gekweekt als in zandgronden waarvan de analyse bekend was en die naast K- en

(behalve in één geval) P-gebrek ook een te lagen kalktoestand vertoonden, terwijl in alle gevallen een voedingsoplossing volgens *Krüger* werd gebruikt.

Om zekerheid te hebben omtrent de te verkrijgen resultaten, moet de potproef aan eenige voorwaarden voldoen.

De potten moeten van een dergelijk indifferent en impermeabel materiaal gemaakt zijn, dat geen zouten in het zich daarin bevindende medium kunnen diffundeeren en ook uit de oplossing geen zouten aan den wand gebonden blijven, die bij een volgend gebruik hun invloed kunnen uitoefenen. Voor de potproef komen dus uit hoofde van deze overwegingen alleen aan beide zijden geglazuurde aardewerkvaten, gemailleerde metalen vaten, of potten van indifferent glas in aanmerking.

Tegen het optreden van een sterke periodieke en plaatselijke verwarming door zonnestraling kan gewaakt worden, door de potten groot te nemen en te voorzien van een glanzend witte buitenzijde, zooals bij de geëmailleerde ijzeren *Mitscherlich*-potten. Bij de kleine potten kan het nadeel van de snellere verwarming ook nog worden opgeheven, door dikwandig vaatwerk te gebruiken, of hen van een isoleerende manchete te voorzien.

Glazen vaten hebben het bijzondere voordeel tegenover alle andere materiaal, dat zij doorzichtig zijn, zoodat men de structuur van den ingevulden grond kan controleeren; een nadeel is, dat de wortels tegen licht en warmte beschermd moeten worden, wat weer kan gebeuren door een isoleerende losse manchete (de *Hudig*-potten worden bovendien in een witgeverfd houten kistje geplaatst) en ook wel door de potten tegen elkander te plaatsen. De lichtinvloed behoeft niet zoozeer schadelijk te zijn voor de wortels, doch bevordert den groei van wieren.

De grootte van de potten, die gebruikt moet worden, is in de eerste plaats afhankelijk van het gewas, dat erin zal worden

gekweekt; voor hetzelfde gewas kan deze grootte binnen zekere grenzen sterk varieeren — volgens *Lemmermann* met een factor 5 — zonder dat de opbrengst erdoor beïnvloed wordt. Ook betreffende de zaaiwijdte zijn o.a. door *Hellriegel*, *Wollny* en *Pfeiffer* dergelijke resultaten vermeld, waarbij een geringer aantal zaden per pot een in gewicht evengroote oogst opleverden. Deze, voor cerealia geldende gegevens, bleken gedurende het onderzoek ook voor de gebruikte proefplant op te gaan. Desniettegenstaande werd, om planten van uniforme grootte te verkrijgen, wat in deze onderzoekingen van belang was, bij de kwartszandproeven de door *Pfeiffer* aangeraden werkwijze gevolgd, waarbij de zaden in gaatjes gelegd worden, die te voren met een schablone gemaakt zijn.

Wat het aantal parallelpotten betreft, is het volgens *Mitscherlich* noodig de proeven in viervoud te doen om betrouwbare resultaten te verkrijgen. Dit is echter alleen noodzakelijk bij opbrengstproeven met graangewassen, waarbij *Mitscherlich* met zeer groote aantallen potten werkt. Het blijkt, dat met een klein aantal potten, door goede verzorging bij zorgvuldig invullen en intens mengen, goed kloppende *duplo's* kunnen verkregen worden.

Bij het gebruikte zaaizaad moet, indien mogelijk, van een zuivere lijn worden uitgegaan; de zaden moeten naar grootte worden gesorteerd en een algemeen gebruikt middel om uniforme individuen te krijgen, is de zaden te laten voorkiemen en gelijke kiemplantjes uit te zoeken. Vóór het voorkiemingsproces wordt het zaad nog met een ontsmettingsmiddel behandeld om het optreden van schimmelziekten, met de daaraan verbonden afwijkingen, te voorkomen.

Na de ontdekking van *v. Liebig*, dat de plant minerale voedselbestanddeelen uit den bodem opneemt, gebruikten *Knop*, *Nobbe*, *Sachs* en *Hellriegel* glazen vaten, gevuld met gedestilleerd water waaraan zouten waren toegevoegd en

slaagden erin in dit minerale medium hogere planten te laten ontkiemen en hun geheelen ontwikkelingscyclus te laten doorloopen. Bij deze wijze van cultuur, de watercultuur, zijn oncontroleerbare neveninvloeden het best uit te schakelen, doch het bezwaar is, dat vele planten in dit milieu niet goed gedijen en daarom is de zandcultuur, die het eerst door *Hellriegel* werd toegepast, in zwang geraakt. Hierbij wordt aan de voedingsoplossing kwartszand toegevoegd, dat zelf indifferent is, waardoor de planten een meer natuurlijk en beter geaëreerd wortelbed krijgen. De zandcultuur is op te vatten als een overgang tusschen de watercultuur en de potcultuur met natuurlijke grond.

Overigens is de indifferentie van het kwartszand alleen tot chemische factoren beperkt, physisch doet het zich, afgezien van den gunstigen invloed als wortelbed, gelden, doordat de voedingsoplossing in een 6 tot 7 maal hogere concentratie gegeven kan worden en de planten dus een hooger osmotischen druk verdragen (*Zinzadze*). Dit wordt waarschijnlijk veroorzaakt door adsorptie, die zich ook daarin laat bemerken, dat de pH van oplossingen, zoodra zij met het zand vermengd worden, naar de neutrale zijde verschuift.

Het te gebruiken kwartszand moet uiteraard vrij zijn van stikstofverbindingen, phosphorverbindingen, kalium, magnesium, zwavel, calcium enz. en dit is meestal niet het geval. *Willfarth* behandelt het daarom met sterk zoutzuur, waarmede het langdurig gekookt wordt; het HCl wordt dan uitgespoeld met water tot geen Cl-reactie meer optreedt en daarna wordt het kwartszand uitgegloeid, omdat anders, hoewel dit element niet meer in aantoonbare hoeveelheid aanwezig is, bij de planten chloorschade optreedt.

Andere onderzoekers, waaronder *Blanck*, bevelen aan, het kwartszand alleen met water te wasschen, omdat de nadeelen van de zoutzuurbehandeling niet door het voordeel van de grootere zuiverheid worden gecompenseerd.

*Lundegardh* gebruikte geklopte kwarts bij zijn proeven over de voedselopname van de planten.

Bij de zandculturen moet, meer dan bij potproeven met normalen grond, rekening worden gehouden met de beperkte watercapaciteit en het opzuigend vermogen. Beide kunnen opgevoerd worden bij gebruik van een kleinere korrelgrootte, doch daaraan is een grens, omdat het gevaar van dichtslaan dan te groot wordt. De potten mogen niet te hoog worden om geen gevaar te lopen, dat het water uitzakt en zich op den bodem verzamelt.

Ter betere aëratie worden vaak één of meer, tot op den bodem reikende, glazen buisjes in de potten gestoken.

Bij het invullen van den te gebruiken voedingsbodem, hetzij kwartzand of normalen grond, het eerste steeds gemengd met de voedingsoplossing om een gelijkmatige verdeling daarvan te verkrijgen en plaatselijk dichtslaan te voorkomen, moet dit zoo geschieden, dat de structuur in den pot en bij de verschillende potten onderling, overal gelijk is.

Bijna alle oudere onderzoekers over het onderwerp van de kunstmatige plantenvoeding hebben een eigen, voor hun proeven blijkbaar bijzonder geschikte voedingsoplossing gebruikt en van dergelijke media zijn er dan ook zeer vele beschreven — bekend zijn o.a. die van *Knop*, *Sachs*, *Hellriegel* en *Crone* — zonder dat er evenwel een samenstelling, die voor alle soorten planten goede resultaten geeft, gevonden is en er dus één uit de vele als de beste aangemerkt kan worden.

Bij de inrichting van de hier beschreven onderzoeken, waarbij zoo te werk werd gegaan, dat, van een volledige, zoogenaamde „Normale” oplossing uitgaande, zouten daaruit werden weggelaten of in opklimmende mate in de verschillende potten werden gegeven, bestaat altijd het bezwaar, dat niet de concentratie van een enkel zout alleen wordt gewijzigd, maar tevens de concentratie van de geheele oplossing wordt veranderd en daarmee de osmotische druk; boven-

dien wordt, waar het in een proef zal gaan om den invloed van het ontbreken van een kation te toetsen, ook mede het anion weggenomen en omgekeerd. Dit bezwaar kan worden opgeheven door in plaats van het weggelaten zout een ander te geven, waardoor de totale concentratie en de osmotische druk hetzelfde blijven, zooals bijvoorbeeld in de door *Brea-zeale* beschreven oplossingen het geval is (*Schropp*); doch dan verandert de samenstelling. Bovendien kan door het weglaten van een bepaald ion, bijv.  $\text{PO}_4'''$  de reactie van het medium veranderen.

Volgens *Mitscherlich* heeft optimale plantengroei plaats, wanneer de vochtigheid van den voedingsbodem 50—70 % van de maximale watercapaciteit bedraagt; volgens andere onderzoekers ligt die optimum-vochtigheid nog hooger. Iederen dag of vaker, indien dat 's zomers tengevolge van de groote verdamping noodzakelijk is, wordt het vochtgehalte op het oorspronkelijke peil gebracht, door na wegen van de potten het verloren gewicht met gedestilleerd water te suppleeren. Het is daarbij volgens *Wagner* niet wenschelijk het water alleen van onderen toe te voeren, door het bijvoorbeeld door de aëratiebuisjes te gieten, doch het moet ook bovenop gegeven worden, omdat anders een vergrooten van de zoutconcentratie naar de oppervlakte toe plaats heeft, tengevolge van de uitdroging van de bovenlaag; om dit tegen te gaan, wordt de pot ook nog met kralen of schilfers van indifferenten steen bedekt, hetgeen tevens den groei van wieren aan het oppervlak tegengaat.

Bij het gebruik van natuurlijke grond in de potproeven, zooals dat het eerst door *Wagner* werd gedaan, moet deze gezeefd en gemengd worden om de noodzakelijke homogene constitutie te verkrijgen; de natuurlijke gesteldheid van den bodem wordt daardoor echter geheel verstoord en daarom al zijn dergelijke proeven niet onmiddellijk met de veldproef vergelijkbaar, afgezien nog van het kunstmatige waterregime.

Bovendien is de hoeveelheid grond, die per plant beschikbaar is, in de potten veel kleiner dan in het vrije veld, waardoor de planten in staat schijnen te zijn in de potculturen relatief aanzienlijk meer voedingsstoffen op te nemen. *Mitscherlich* past daarom voor K- en P-proeven altijd een verdunning met glaszand toe van 1 op 5.

Van den gebruikten grond moet bekend zijn, in welke mate hij die ionen voor de plant beschikbaar kan stellen, die in het onderzoek betrokken worden. Aan een dergelijken grond moet voor de „Normale” gevallen ook een voedingsoplossing gegeven worden.

Als de planten tot vollen wasdom gekomen zijn, worden zij met een schaar van de potten afgeknipt en wordt de opbrengst bepaald, waarna de verdere analyses verricht kunnen worden.

In de eigen onderzoekingen werd in de eerste plaats gebruik gemaakt van kwartzsandculturen, waarbij de proefplant gekweekt werd in aan beide zijden geglazuurde porceleinen potten van 500 cc inhoud, gevuld met zuiver uitgespoeld glaszand van de glasfabriek Leerdam, zooals behandeld en in gebruik aan het Laboratorium voor Landbouwscheikunde te Wageningen. Als voedingsoplossing werd gebruikt een oplossing volgens *Krüger*, uit het Laboratorium van *Hellriegel*, die de volgende samenstelling heeft:

|                          |           |       |         |                    |
|--------------------------|-----------|-------|---------|--------------------|
| $\text{CaHPO}_4$         | 2aq       | . . . | 1,200 g | (slecht oplosbaar) |
| $\text{MgSO}_4$          | 7aq       | . . . | 0,688 „ |                    |
| KCl                      | . . . . . |       | 0,552 „ |                    |
| $\text{NH}_4\text{NO}_3$ | . . . . . |       | 0,752 „ | of                 |
| $\text{NaNO}_3$          | . . . . . |       | 1,650 „ |                    |
| aqua dest.               | . . . . . |       | 1000 „  | pH = 7,2           |

Bij het kweken van de gebreksplanten werden componenten uit deze oplossing weggelaten en werd de vermindering

in totale concentratie en van osmotischen druk op den koop toe genomen.

Vóór het vullen van de potten werd het zand, waarvan per pot ongeveer 700 g noodig was en dat gedurende eenige uren in een opstijgenden waterstroom van organische resten en fijn materiaal was gereinigd en daarna gedroogd, innig gemengd met het onoplosbare  $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{aq}$  en daarna met 125 cc van de voedingsoplossing, die voor de proef in aanmerking kwam, om een gelijkmatige verdeling daarvan te verkrijgen en een plaatselijk dichtslaan van het zand te voorkomen. Het invullen geschiedde laagsgewijze, waarbij het inlinken verkregen werd door de potten op een hardrubber onderlaag aan te stooten. In de potten werden aan de peripherie, tegenover elkaar, twee van het oppervlak tot aan den bodem reikende buisjes met schuin afgesneden ondereinde en 1 cm in doorsnede, geplaatst. In het oppervlak werden, met behulp van een schablone, 10 ondiepe gaatjes gemaakt, waarin de voorgekiemde zaadjes werden gelegd, die vóór het ontkiemen gedurende  $2\frac{1}{2}$  uur met een 0,25% oplossing van het ontsmettingsmiddel „Uspulun” behandeld waren. Daarna werd het potje bedekt met een laagje indifferente steenschilfers, zooals in gebruik aan het Landbouwscheikundig Laboratorium te Wageningen.

Een ander deel van de proeven werd gedaan met natuurlijke grond, zoowel in *Mitscherlich*-potten van 5,65 l inhoud als in glazen *Neubauer*-bakjes van 0,56 l.

De gebruikte natuurlijke gronden, waarvan hieronder enkele gegevens volgen, waren: een humuszandgrond van *Borger-Compagnie*, een phosphorarme grond van *Emmer-Compascuum* en een arme boschgrond van het landgoed „*De Dorskamp*”.

#### *Grond van Borger-Compagnie*

Humus . . . 12,5%

Kalktoestand . —11

|                  |               |                                                              |
|------------------|---------------|--------------------------------------------------------------|
| P-getal . . . .  | 9             | (voldoende, geen $P_2O_5$ -bemesting<br>noodig)              |
| $K_2O$ . . . . . | 1,5 mg p. 1 g | gloeiverlies bij perco-<br>latie met 0,1 n HCl (onvoldoende) |
| MgO . . . . .    | spoor.        |                                                              |
| pH . . . . .     | 5,15          |                                                              |

*Grond van Emmer-Compascuum*

|                 |       |               |
|-----------------|-------|---------------|
| Humus . . . .   | 5,7 ‰ |               |
| P-getal . . . . | 2,5   | (onvoldoende) |
| pH . . . . .    | 4,15  |               |

*Dorskampgrond*

|                 |       |               |
|-----------------|-------|---------------|
| Humus . . . .   | 3,5 ‰ |               |
| Kalktoestand .  | —16   |               |
| P-getal . . . . | 0     |               |
| K-getal . . . . | 11    | (onvoldoende) |
| Deel < 2 $\mu$  | 5,2 ‰ |               |
| Deel < 10 „     | 7,5 ‰ |               |
| pH . . . . .    | 5,3   |               |

Waarbij *kalktoestand* staat voor: Het aantal kg kalk ( $CaO$ ), dat toegevoegd moet worden per 1000 kg humus om een pH van de grondsuspensie = 6,5 te bereiken (*Hudig*).

*P-getal*: Het aantal mg  $P_2O_5$  voorkomende in het, gedurende 24 uur bij 50° C. verkregen, waterig extract (1 : 10) van 100 g luchtdrogen grond (Methode *Hetterschij*).

*K-getal*: Het aantal verdeelingsstreepjes <sup>1)</sup> van een haematocriet waarover het neerslag van K,Na-cobaltinitriet zich uitstrekt, dat verkregen wordt in een waterstofperoxyde-extract van een hoeveelheid grond, die 1 g humus bevat.

(Volgens *Hamburger*, zie *Arrhenius u. Riehm*).

<sup>1)</sup> 1 verdeling van een haematocriet komt overeen met 0.09 mg  $K_2O$ .

Bij de proeven met natuurlijke gronden werden deze eerst gemengd en gezeefd en, na bevochtigd te zijn, laagsgewijze ingevuld en zacht aangedrukt om een gelijkmatige structuur te verkrijgen.

In plaats van de bij de kwartzandproeven gebruikte aëratie-buisjes, werd hier in de potten een cylinder van kwartzand centraal aangebracht, die voornamelijk diende, om bij de watergift een gelijkmatige verticale verdeeling van de vloeistof te bewerken. De aëratie is bij den natuurlijke grond beter, terwijl bij de *Mitscherlich*-potten het feit, dat zij van onder open zijn en bij de *Neubauer*-bakjes de geringe hoogte, een tweede reden geven om de aëratiebuisjes achterwege te laten. Aan deze gronden werd ook de *Krügersche* oplossing gegeven zooals hiervoor beschreven is, omdat zij van alle voor de planten noodzakelijke bestanddeelen te weinig bevatten en alleen de meer gunstige physische gesteldheid en het adsorptievermogen boven zand voorhebben. (Dit geldt niet volledig voor den grond „*Borger-Compagnie*”, die voldoende  $P_2O_5$  bevat). Bovendien moesten zij met behulp van kalk op een voor de proefplant geschikte pH gebracht worden.

Betreffende het een en ander zullen de cijfers bij de beschrijving van de verschillende proeven gegeven worden.

De behandeling van deze proefpotten met natuurlijke grond was overigens gelijk aan die van de kwartzandpotten.

De regeling van het waterregime geschiedde, door na wegen het ontbrekende aan het oorspronkelijke gewicht met gedestilleerd water te suppleeren, waarbij in de kwartzandculturen het water zoowel door de buisjes als onmiddellijk op het oppervlak werd gegeven en bij de culturen met natuurlijke grond het begieten op den kwartzandcylinder plaats had. De kwartzandculturen werden op deze wijze op 80 % van de totale watercapaciteit gehouden.

Als proefplant werd in alle gevallen *Spinacia oleracea*, de spinazie, gebruikt, een éénjarig, tweehuizig gewas, dat snel

en onder verschillende omstandigheden kan groeien en een belangrijke hoeveelheid carotine en vitamine C bevat.

Voor een deel van de proeven werd het zaad (Nunhem's Schietvrees Scherpzaad) welwillend verstrekt door *Professor Sprenger* van het Laboratorium voor Tuinbouwplantenteelt te Wageningen, waardoor een groote zekerheid bestond omtrent de zuiverheid. Later werd ook rondzaad gebruikt, zooals in gebruik aan het Laboratorium voor Landbouwscheikunde te Wageningen.

De spinazieplanten eischen een hooge pH (*Zimmerley*) en verdragen de reactie van het gebruikte voedingsmedium dan ook zeer goed. Gedurende den groei werden de proefpotten in de kas geplaatst.

De planten konden voor de analyse geoogst worden als zij in den rozetvorm een voldoende grootte hadden bereikt, welke op het oog beoordeeld werd en waarbij de grootte van het blad, zooals het op de tuinderij gesneden wordt, als criterium gold. In de kwartszandproeven blijven de planten echter in het algemeen kleiner en bij langer wachten, vooral bij warm weer, komt de spinazie in bloei, gaat schieten, waarbij het vitamine C-gehalte aanzienlijk terugloopt.

TABEL 5

| Planten van gelijken<br>ouderdom | mg vit. C per 1 g<br>versch materiaal |      |
|----------------------------------|---------------------------------------|------|
|                                  |                                       |      |
| bloeiend                         | 0,2                                   | 0,18 |
| niet bloeiend                    | 0,41                                  | 0,50 |

Na den oogst werd de opbrengst gewogen en daarna moesten de planten tot de analyse bewaard worden in de ijskast, in een gesloten flesch met vochtige watten, om een terugloopen van het gehalte aan vitamine C, dat bij bewaren optreedt, zooals hiervóór vermeld, te voorkomen.

## HOOFDSTUK IX

### CRITISCH LITERATUUROVERZICHT

Lang vóór de identificatie van carotine als het provitamine A, werden er al onderzoeken gedaan over den invloed van de vruchtbaarheid van den bodem op het pigmentgehalte van de plant, dat toen alleen in zijn belangrijke functie van assimilatieapparaat de aandacht trok. En hoewel uit dien hoofde vrijwel uitsluitend de groene pigmenten, het chlorophyl  $\alpha$  en  $\beta$ , in het middelpunt van de belangstelling stonden, werden ook eenige malen carotine en xanthophyl mede bepaald, omdat deze beide kleurstoffen bij het assimilatieproces betrokken schenen.

*Ville* (1889) was misschien de eerste, die quantitatieve bepalingen deed over den invloed van de vruchtbaarheid van den bodem op het pigmentgehalte van de plant.

De eerste onderzoeken betreffende het chlorophylgehalte van de plant in verband met den invloed van *kunstmeststoffen*, werden waarschijnlijk uitgevoerd door *Wlodek*.

In 1929 ging *Scherz* bij eenige planten de seizoen-varianties na, die de chloroplastpigmenten kunnen ondergaan en kwam tot de conclusie, dat die voor carotine vrijwel nihil zijn en alleen voor xanthophyl in geringe mate in October optreden. De waargenomen vermindering zou misschien daarmee verklaard kunnen worden, dat in October de bladeren reeds gaan vergelen, waarmee, volgens *Kuhn en Brockmann*, in aanzienlijke mate verestering van het xanthophyl gepaard gaat. Bij de door *Scherz* gevolgde bepalingswijze worden deze xanthophylesters echter bij de verzeeping van het chlo-

rophyl gesplitst en later als xanthophyl bepaald, zoodat de vermindering van het xanthophylgehalte aan nog verder gaande omzettingen geweten moet worden, zooals deze reeds vermeld werden door *Willstätter en Stoll* en later door *Kuhn en Brockmann*.

*Scherz* heeft tevens zijn aandacht geschonken aan den invloed, die K-, P- en N-meststoffen uitoefenen op het pigmentgehalte van de planten en wel in proeven met aardappelen en katoen, waarvan hij, met behulp van zijn hiervóór vermelde analysemethode, voornamelijk het chlorophylgehalte bepaalde en in enkele gevallen ook carotine en xanthophyl. Een deel van zijn proeven is echter waardeloos, omdat hij de te analyseeren bladeren in de zon droogde, waardoor groote carotineverliezen optraden. Naar aanleiding van de enkele proeven waarvoor dat bezwaar niet gold, kwam hij tot de conclusie, dat een hoogere N-bemesting een vergrooting van het carotinegehalte ten gevolge heeft.

De eerste onderzoekingen met betrekking tot de schommelingen van het vitamine C-gehalte in planten als gevolg van de bemesting zijn waarschijnlijk van *v. Hahn en Görbing*. Zij gebruikten de biologische bepalingsmethode met *caviae*, en wel zoo, dat zij de minimumdosis van het op C-waarde te testen plantenmateriaal zochten waarbij de *caviae* nog juist een weinig ziek werden. In hun proeven leggen zij zeer den nadruk op het belang van den kalktoestand. De proefplanten werden verkregen van perceelen „Onbemest” en met dubbele normale bemesting, benevens van perceelen, die een drievoudig verhoogde gift kregen van één van de componenten N, P of K, terwijl deze proefvelden in drievoud werden aangelegd, bij drie kalktoestanden van den bodem, respectievelijk in zuur, neutraal en alcalisch gebied.

Als proefplant werd door hen ook de spinazie gebezigd. Een bezwaar tegen de door hen gevolgde methode is, dat

de spinazie in éénmaal gezaaid werd, waarmede gedurende de geheele proef (50 dagen) de dieren werden gevoed, terwijl de perceelen, die een niet toereikenden oogst opleverden, nog eenmaal bezaaid moesten worden, zoodat dan een deel der caviae planten van anderen ouderdom kregen. Het materiaal was dus gedurende de proef niet geheel vergelijkbaar. Dit geldt overigens alleen voor de eerste proevenserie, omdat in de tweede proevenreeks de spinazie op kleinere perceelen, met een week tusschenruimte gezaaid werd, zoodat geregeld jonge planten beschikbaar waren.

Een grooter bezwaar tegen de eerste proevenreeks is gelegen in het feit, dat de hoeveelheid spinazie, die als anti-scorbucum aan de proefdieren werd gegeven, en wel in twee series respectievelijk van 0,5 g en 1 g per dag, te groot was, waardoor de gewichtscurve van de proefdieren in beide series meestal nog boven die van de contrôledieren ligt, die 2 cc sinaasappelsap kregen. Hoe dus uit deze proeven, waar het vitamine C dus in geen van de gevallen in het minimum was, conclusies kunnen worden getrokken is niet geheel duidelijk en deze zijn te meer zeer moeilijk te beoordeelen, daar nergens het aantal proefdieren vermeld staat, noch de voorbehandeling, die deze hebben ondergaan om bij den aanvang van de proef een ongeveer gelijk vitamine C-niveau bij de verschillende individuen te bereiken.

In de tweede proevenserie werd aan alle dieren dezelfde hoeveelheid spinazie per dag gegeven en wel 0,3 g, waardoor in alle gevallen de gewichtscurve van de proefdieren in vergelijking met de contrôledieren, die hier ook 2 cc sinaasappelsap kregen, sterk daalde. Uit den aard en de snelheid van deze gewichtsafname trokken *v. Hahn en Görbing* hun conclusies, die in verband met de schaarsche gegevens verreikend schijnen en die daarop neerkomen, dat bij uitgebalanceerde bemesting een maximaal vitamine C-gehalte verwacht mag worden, indien de kalktoestand, die van zeer grooten

invloed is, hoog wordt gehouden. Verder besloten zij, dat een éézijdige verhooging van K-, P- of N-bemesting tot een vermindering van het vitamine C-gehalte moest leiden.

Terwijl in de eerste proevenreeks, zooals gezegd, de giften van het te onderzoeken materiaal in alle gevallen te hoog waren en de resultaten niet betrouwbaar, waren de doses in de tweede proevenreeks aanzienlijk te laag, waardoor bij alle dieren scheurbuik optrad. Daar er geen reeksen contrôledieren aangehouden werden, waarbij met een te geringe dosis sinaas-appelsap een bepaalde graad van scheurbuik werd opgewekt, doch alleen contrôle's, die volkomen scheurbuikvrij waren, ontbreekt voor de gewichtscurven van de verschillende spinazieproeven een waardemeting anders dan door onderlinge vergelijking. De onderlinge verschillen zijn bovendien niet van dien aard, dat zij niet met meer waarschijnlijkheid als veroorzaakt door spreiding, bij het niet vermelde en dus waarschijnlijk geringe aantal proefdieren, aangemerkt kunnen worden.

Na een aantal voorloopige mededeelingen publiceerde *Virtanen* met medewerking van *v. Hausen* en *Saastamoinen*, eenige chemische onderzoekingen over het vitamine C- en het carotinegehalte van planten onder verschillende omstandigheden.

De carotinebepaling geschiedde volgens *Willstätter*, terwijl de hoeveelheid ascorbinezuur gemeten werd volgens de oorspronkelijke methode van *Tillmans*, waarbij aanzienlijke fouten kunnen optreden, zooals door *Virtanen* zelf ook vermeld wordt.

Hij vangt aan met eenige gegevens betreffende de schommeling van het vitamine C- en het carotinegehalte gedurende den groei van de plant, waarbij tarwe en erwten als proefobject gebruikt werden en vond voor carotine een groot verschil tusschen minimum en maximum gehalte per gram substantie, met voor tarwe een top vóór en voor erwten

een top kort ná den bloei. Het vitamine C-gehalte, dat ook sterk varieerde, vertoonde eveneens bij tarwe een top vóór en bij erwten een top ná den bloei. Afgezien van de vraag, of deze gegevens volkomen betrouwbaar zijn, blijkt toch wel, dat het voor het verkrijgen van vergelijkbaar cijfermateriaal noodig is planten te analyseeren, die in ongeveer hetzelfde physiologische stadium verkeerden.

Met haver, tarwe en erwten als proefplanten deed hij onderzoekingen betreffende den invloed van de bodemaciditeit op het carotine- en vitamine C-gehalte. Het feit, dat hij de kwartzandculturen met zwavelzuur op de gewenschte pH bracht, zonder te vermelden hoe hij die culturen, waarin de plant altijd zeer verregaand de pH kan modificeeren en aan eigen behoeften kan aanpassen, op de gewenschte aciditeit hield, is eenigszins verwonderlijk.

Uit de proeven bleek, dat zoowel het carotine- als het vitamine C-gehalte een maximum vertoonen bij de voor den groei optimale  $\text{pH} = 6,5$ , terwijl het gebied, waarover de proeven liepen, zich uitstreckte van  $\text{pH} 4$  tot  $\text{pH} 7$ . De mogelijkheid blijft natuurlijk bestaan, dat een deel van de verkregen resultaten eerder aan  $\text{SO}_4^{--}$ -schade te wijten is. In het algemeen is het beter bij dergelijke aciditeitsproeven niet van het slecht bufferende kwartzand gebruik te maken, doch van een natuurlijken zuren grond, die dan met kalk op een hogere pH gebracht kan worden.

Wat de invloed van de N-gift op het gehalte der planten aan beide vitaminen aangaat, wordt, naar aanleiding van hetgeen door *v. Hausen* met erwten gevonden werd, medegedeeld, dat de planten beter groeien en ook meer vitamine C en carotine maken naarmate een N-bron beter voor hen toegankelijk is. De proeven waren zoo ingericht, dat de planten in steriele zandculturen respectievelijk asparaginezuur,  $\text{KNO}_3$ , glutaminezuur,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , caseïne, asparagine, alanine enz. kregen. De uitkomsten wijzen inderdaad op een corre-

latie tusschen vitaminevorming en beschikbare opneembare hoeveelheid N. Daarom is het des te merkwaardiger, dat zij bij verhoogen van de concentratie van eenzelfde N-bron géén uitwerking waarnemen. Over de P- en K-bemesting vermelden zij, dat elke verhooging van de gift boven wat voor optimalen plantengroei noodzakelijk is, een vermindering van het vitaminegehalte ten gevolge heeft.

In den loop van het eigen onderzoek kwam de publicatie van *Pfützer en Pfaff* uit, die bij verschillende groenten onderzochten, welken invloed de bemesting heeft op het carotine- en vitamine C-gehalte. Zij gebruikten chemische bepalingwijzen en maten voor carotine de blauwkleuring met  $\text{SbCl}_3$ , nadat zij het petroleumaetherextract van het met alcoholische loog gekookte plantenmateriaal, dat daarna nog met methanol was gewasschen, hadden afgedampt en de pigmenten in chloroform hadden opgenomen. Zij rekenden de gevonden waarden niet op carotine om, omdat op deze wijze ook nog andere stoffen bepaald worden.

In andere gevallen pasten zij de methode van *Kuhn en Brockmann* toe, waarbij de hoeveelheid carotine in petroleum-aether colorimetrisch bepaald wordt tegen een standaardoplossing van azobenzol.

Voor de vitamine C-bepaling werden de fijn gesneden plantendeelen met verdund azijnzuur gekookt en het filtraat met 0,001 n 2,6 dichloorphenolindophenol (gesteld met Mohr's zout in Na-oxalaatbuffer), onder toevoegen van Na-acetaat tot pH 5,6—6,5, tot blauwkleuring getitreerd. Ook hier werden de gevonden waarden niet op vitamine C omgerekend.

Hoewel tegen de gevolgde werkwijze voor de bepaling van het carotinegehalte weinig bedenkingen zijn, kan dat van de methode, die bij het vitamine C-onderzoek toegepast werd niet gezegd worden. In de eerste plaats is het stuksnijden van de planten, zoolang dat niet in sterk zuur milieu ge-

beurt, geheel verkeerd, omdat daardoor oxydase vrijkomt en vitamine C reversibel wordt geoxydeerd, hetwelk bij de gevolgde meetmethode niet wordt bepaald (*v. Eekelen*). Bovendien is ook de wijze van titreeren, in een milieu met een pH 5,6-6,5, onjuist, omdat in dit geval mede o.a. glutathion en pyrogallol den indicator reduceeren, zooals vermeld werd door *Harris en Ray*, waarom ook in de eigen onderzoeken getitreerd werd in het, door hen aangeraden, trichloorazijnzuurmilieu.

Bij hun cultuurproeven maakten *Pfützer en Pfaff* gebruik van een humuszandgrond met veel N- en weinig P- en K-behoefte en gingen van de gekweekte planten zoowel voor carotine als voor vitamine C de verschillen na, die optraden onder invloed van verschillende stikstofbemestingen of tusschen volledig bemeste en onbemeste perceelen.

Door volledige bemesting en vooral door N-bemesting trad een vergrooting van het carotinegehalte van de verschillende proefplanten op (roode kool, spruiten, suikerbietenbladeren, groene kool, pieterselie en spinazie), terwijl er een parallel gevonden werd tusschen het carotine- en het chlorophylgehalte van de bladeren.

Voor vitamine C vonden zij geen toename onder invloed van de bemesting; ééNZijdige N-gift had bij spinazie zelfs een daling van de titratiewaarde ten gevolge.

---

# HOOFDSTUK X

## BESCHRIJVING EN RESULTATEN VAN DE ONDERZOEKINGEN

### a. Oriënteerende proef.

Allereerst werd een oriënteerende proef genomen, waarbij de planten in kwartzandculturen de voedingsoplossing volgens *Krüger* kregen, waaraan respectievelijk K, Mg, Ca of N ontbrak. Daarnaast werden potten aangehouden, waarin de volledige oplossing gegeven werd.

Het onderzoek ging over 23 potten, ieder met 700 g kwartzand + 125 cc water.

De verschillende giften per pot waren:

| <i>Ca-gebrek</i>                           |         | <i>K-gebrek</i>                           |         |
|--------------------------------------------|---------|-------------------------------------------|---------|
| NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> . . . . .  | 0,094 g | NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> . . . . . | 0,094 g |
| KCl . . . . .                              | 0,069 „ |                                           |         |
| MgSO <sub>4</sub> . 7 aq . . . . .         | 0,086 „ | MgSO <sub>4</sub> . 7 aq . . . . .        | 0,086 „ |
| Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> . . . . . | 0,150 „ | CaHPO <sub>4</sub> . 2 aq . . . . .       | 0,150 „ |
| <i>N-gebrek</i>                            |         | <i>Mg-gebrek</i>                          |         |
|                                            |         | NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> . . . . . | 0,094 g |
| KCl . . . . .                              | 0,069 g | KCl . . . . .                             | 0,069 „ |
| MgSO <sub>4</sub> . 7 aq . . . . .         | 0,086 „ |                                           |         |
| CaHPO <sub>4</sub> . 2 aq . . . . .        | 0,150 „ | CaHPO <sub>4</sub> . 2 aq . . . . .       | 0,150 „ |

*Normaal*
 $\text{NH}_4\text{NO}_3$  . . . . . 0,094 g

 $\text{KCl}$  . . . . . 0,069 „

 $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{ aq}$  . . 0,086 „

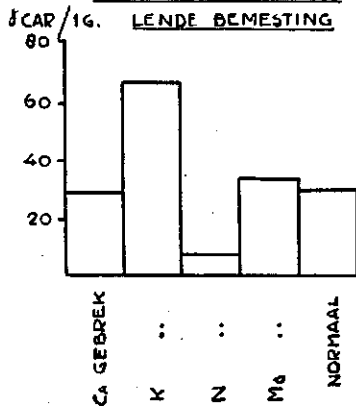
 $\text{CaHPO}_4 \cdot 2 \text{ aq}$  . . 0,150 „

Na 24 dagen werden bij den oogst, met de daarop volgende analyses de onderstaande resultaten verkregen:

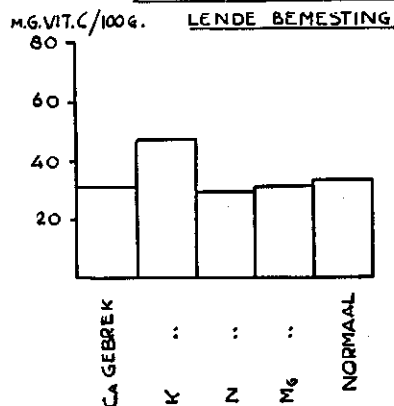
TABEL 6

| Behandeling | Opbrengst<br>blad per pot | Habitus                        | Carotine.<br>γ /1 g<br>versch blad | Vit. C.<br>mg /100 g<br>versch blad |
|-------------|---------------------------|--------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|
| Ca-gebrek . | 4 g                       | normaal                        | 29                                 | 31                                  |
| K-gebrek .  | 1 „                       | klein, donker,<br>dorre randen | 67                                 | 46                                  |
| N-gebrek .  | 1,1 „                     | klein, lichte<br>kleur, steil  | 7                                  | 29                                  |
| Mg-gebrek . | 2 „                       | lichte vlek-<br>ken op blad    | 34                                 | 31                                  |
| Normaal .   | 4 „                       | normaal                        | 31                                 | 33                                  |

CAROTINE GEHALTE VAN  
SPINACIA OL. BY VERSCHIL-



VIT. C GEHALTE VAN  
SPINACIA OL. BY VERSCHIL-



### Commentaar

Uit de gegeven uitkomsten blijkt, dat Ca en Mg onder deze omstandigheden geen invloed uitoefenen op het gehalte van de planten aan de beide bepaalde stoffen, terwijl K en N bij aanwezigheid respectievelijk een daling en een stijging van het carotinegehalte veroorzaken. Bovendien levert de aanwezigheid van K, planten met een iets lager vitamine C-gehalte op. <sup>1)</sup>

#### b. Proeven met stikstofbemesting.

##### I

Een potproef over 11 *Mitscherlich*-potten, gevuld met grond van *Borger-Compagnie*. De potten kregen alle dezelfde behandeling, met uitzondering van de N-bemesting, die in opklimmende mate gegeven werd en wel in 5 potten opklimmend organische N-mest, waarbij de N uitsluitend in den vorm van geadsorbeerde  $\text{NH}_4^+$  aanwezig was en in 5 potten opklimmend een mengsel van  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 + \text{NH}_4\text{NO}_3$  met gelijke hoeveelheden stikstof. De verdere bemesting werd gegeven volgens *Krüger*, met uitzondering van het fosphaat, daar het phosphorzuurgehalte van den gebruikten grond voldoende is.

De verschillende stikstofgiften per pot waren:

| Organisch  | Anorganisch |
|------------|-------------|
| 1. 0 g     |             |
| 2. 0,166 „ | 7. 0,127 g  |
| 3. 0,274 „ | 8. 0,266 „  |
| 4. 0,483 „ | 9. 0,403 „  |
| 5. 0,661 „ | 10. 0,628 „ |
| 6. 0,856 „ | 11. 0,728 „ |

<sup>1)</sup> In dit en in alle volgende gevallen waar gesproken wordt over „toenemende giften van voedingszouten”, wordt deze toename slechts geacht te gaan tot de grens waar een verdere vergroting van de zoutgift den plantengroei nadeelig beïnvloedt.

Uit de analyses werden de volgende cijfers verkregen:

TABEL 7  
Organische N-bemesting

| Nos. | Carotine.<br>γ/l g versch blad | Vit. C. mg/100 g<br>versch blad |
|------|--------------------------------|---------------------------------|
| 1    | 16                             | 49                              |
| 2    | 25                             | 42                              |
| 3    | 35                             | 33                              |
| 4    | 38                             | 37                              |
| 5    | 38                             | 29                              |
| 6    | 33                             | 25                              |

TABEL 8  
Anorganische N-bemesting

| Nos. | Carotine.<br>γ/l g versch blad | Vit. C. mg/100 g<br>versch blad |
|------|--------------------------------|---------------------------------|
| 1    | 16                             | 49                              |
| 7    | 31                             | 31                              |
| 8    | 38                             | 28                              |
| 9    | 42                             | 24                              |
| 10   | 53                             | 28                              |
| 11   | 64                             | 23                              |

## II.

Een potproef over 40 *Neubauer*-bakjes, waarin zoowel het effect van N- als van P-bemesting werd nagegaan.

*Grond: Emmer-Compascuum* met 1,3 g  $\text{CaCO}_3$ .

*Grondbemesting:* Bij aanleg gegeven:

|                                     |       |    |
|-------------------------------------|-------|----|
| KCl . . . . .                       | 100   | mg |
| $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{ aq.}$ | 30    | „  |
| Borax . . . . .                     | 0,25  | „  |
| $\text{MnSO}_4 \cdot 7 \text{ aq.}$ | 0,125 | „  |

Vulling: 50 g glaszand met 10 cc water

450 g grond met 50 cc water

Bij het zaaien nog 50 g vochtige grond en 10 cc water voor de zandzuil.

### BEMESTINGSSCHEMA

|     |          |                |     |          |                 |   |
|-----|----------|----------------|-----|----------|-----------------|---|
| 1.  | geen N   | , geen P       |     |          |                 |   |
| 2.  | 25 mg N, | "              |     |          |                 |   |
| 3.  | 75 "     | "              |     |          |                 |   |
| 4.  | 125 "    | "              |     |          |                 |   |
| 5.  | geen N   | 15 mg $P_2O_5$ | als | 26,62 mg | $Ca(H_2PO_4)_2$ |   |
| 6.  | "        | 30 "           | "   | 53,24 "  | "               | " |
| 7.  | "        | 45 "           | "   | 79,86 "  | "               | " |
| 8.  | "        | 60 "           | "   | 106,48 " | "               | " |
| 9.  | 25 mg N, | 15 "           | "   | 26,62 "  | "               | " |
| 10. | 75 "     | 15 "           | "   | 26,62 "  | "               | " |
| 11. | 125 "    | 15 "           | "   | 26,62 "  | "               | " |
| 12. | 25 "     | 30 "           | "   | 53,24 "  | "               | " |
| 13. | 75 "     | 30 "           | "   | 53,24 "  | "               | " |
| 14. | 125 "    | 30 "           | "   | 53,24 "  | "               | " |
| 15. | 25 "     | 45 "           | "   | 79,86 "  | "               | " |
| 16. | 75 "     | 45 "           | "   | 79,86 "  | "               | " |
| 17. | 125 "    | 45 "           | "   | 79,86 "  | "               | " |
| 18. | 25 "     | 60 "           | "   | 106,48 " | "               | " |
| 19. | 75 "     | 60 "           | "   | 106,48 " | "               | " |
| 20. | 125 "    | 60 "           | "   | 106,48 " | "               | " |

Dit bemestingsschema werd in duplo uitgevoerd, waarbij de eene maal de stikstof in den vorm van  $NH_4NO_3$  werd gegeven en de andere maal in den vorm van een humusstof, waaraan de N, uitsluitend als  $NH_4'$ , geadsorbeerd was.

Bij de analyses, na anderhalve maand, werden de volgende resultaten verkregen:

TABEL 9  
Anorganische N-bemesting

| Nos. | Carotine.<br>γ/lg<br>versch blad | Vit. C.<br>mg/100 g<br>versch blad | Carotine.<br>γ/lg<br>versch blad<br>1) | Vit. C.<br>mg/100 g<br>versch blad<br>1) |
|------|----------------------------------|------------------------------------|----------------------------------------|------------------------------------------|
| 1    | 37                               | 56                                 | 24                                     | —                                        |
| 2    | 65                               | 73                                 | —                                      | —                                        |
| 3    | 80                               | 90                                 | 70                                     | 101                                      |
| 4    | 67                               | 90                                 | —                                      | —                                        |
| 5    | 36                               | 72                                 | —                                      | —                                        |
| 6    | 34                               | 74                                 | —                                      | —                                        |
| 7    | 35                               | 58                                 | 20                                     | 56                                       |
| 8    | 27                               | 61                                 | —                                      | —                                        |
| 9    | 40                               | 74                                 | 24                                     | 84                                       |
| 10   | 107                              | 94                                 | —                                      | —                                        |
| 11   | 96                               | 81                                 | 82                                     | 76                                       |
| 12   | 46                               | 72                                 | —                                      | —                                        |
| 13   | 73                               | 75                                 | 73                                     | 89                                       |
| 14   | 103                              | 116                                | —                                      | —                                        |
| 15   | 51                               | 76                                 | 36                                     | 65                                       |
| 16   | 88                               | 90                                 | 82                                     | 103                                      |
| 17   | 63                               | 105                                | 69                                     | 106                                      |
| 18   | 49                               | 86                                 | —                                      | —                                        |
| 19   | 73                               | 113                                | 67                                     | 109                                      |
| 20   | 71                               | 92                                 | —                                      | —                                        |

1) cijfers van duplobepaling.

TABEL 10  
Organische N-bemesting

| Nos. | Carotine.<br>γ/lg<br>versch blad | Vit. C.<br>mg/100 g<br>versch blad | Carotine.<br>γ/lg<br>versch blad<br>1) | Vit. C.<br>mg/100 g<br>versch blad<br>1) |
|------|----------------------------------|------------------------------------|----------------------------------------|------------------------------------------|
| 1    | 26                               | 71                                 | 28                                     | —                                        |
| 2    | 65                               | 107                                | —                                      | —                                        |
| 3    | 71                               | 119                                | —                                      | —                                        |
| 4    | 95                               | 119                                | 88                                     | 114                                      |
| 5    | 30                               | 80                                 | —                                      | —                                        |
| 6    | 26                               | 80                                 | 26                                     | —                                        |
| 7    | 33                               | 68                                 | —                                      | —                                        |
| 8    | 26                               | 59                                 | 26                                     | —                                        |
| 9    | 38                               | 87                                 | —                                      | —                                        |
| 10   | 77                               | 95                                 | 59                                     | 85                                       |
| 11   | 87                               | 116                                | —                                      | —                                        |
| 12   | 33                               | 63                                 | 39                                     | 59                                       |
| 13   | 63                               | 102                                | —                                      | —                                        |
| 14   | 75                               | 103                                | 84                                     | 102                                      |
| 15   | 44                               | 69                                 | —                                      | —                                        |
| 16   | 65                               | 92                                 | 63                                     | 79                                       |
| 17   | 71                               | 125                                | —                                      | —                                        |
| 18   | 41                               | 70                                 | —                                      | —                                        |
| 19   | 63                               | 117                                | 61                                     | 103                                      |
| 20   | 87                               | 130                                | 95                                     | —                                        |

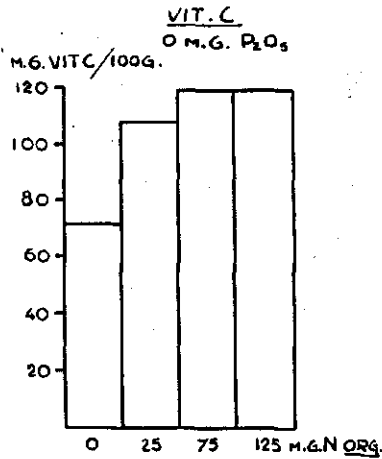
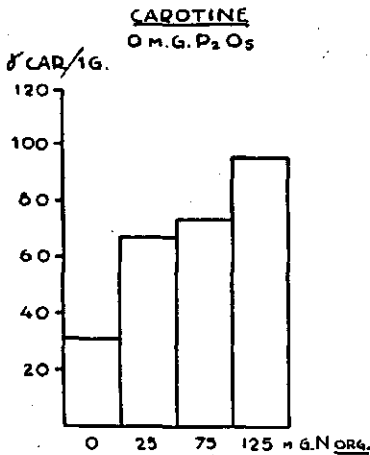
1) cijfers van duplobepaling.

Het verloop van het carotine- en vitamine C-gehalte ten gevolge van de *organische N-bemesting*, bij de verschillende  $P_2O_5$ -giften, wordt in de volgende 5 tabellen duidelijk:

TABEL 11

0 mg  $P_2O_5$ 

| Nos. | mg N | Carotine.<br>γ/1 g<br>versch blad | Vit. C.<br>mg/100 g<br>versch blad | Carotine.<br>γ/1 g<br>versch blad<br><sup>1)</sup> | Vit. C.<br>mg/100 g<br>versch blad<br><sup>1)</sup> |
|------|------|-----------------------------------|------------------------------------|----------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|
| 1    | 0    | 26                                | 71                                 | 28                                                 | —                                                   |
| 2    | 25   | 65                                | 107                                | —                                                  | —                                                   |
| 3    | 75   | 71                                | 119                                | —                                                  | —                                                   |
| 4    | 125  | 95                                | 119                                | 88                                                 | 114                                                 |

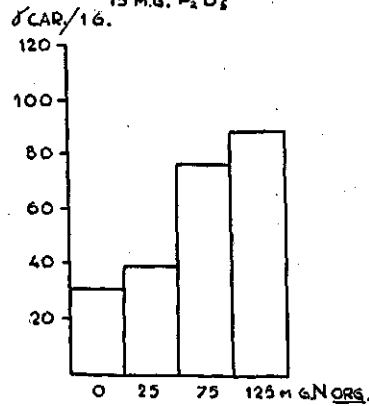


<sup>1)</sup> cijfers van duplobepaling.

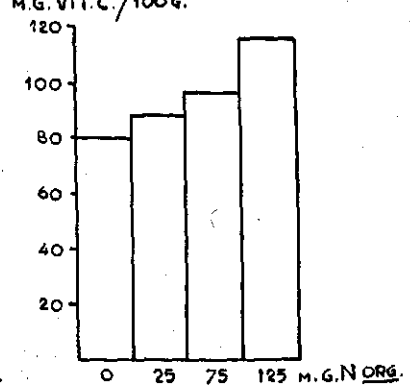
TABEL 12  
15 mg  $P_2O_5$

| Nos. | mg N | Carotine.<br>γ/l g<br>versch blad | Vit. C.<br>mg/100 g<br>versch blad | Carotine.<br>γ/l g<br>versch blad<br><sup>1)</sup> | Vit. C.<br>mg/100 g<br>versch blad<br><sup>1)</sup> |
|------|------|-----------------------------------|------------------------------------|----------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|
| 5    | 0    | 30                                | 80                                 | —                                                  | —                                                   |
| 9    | 25   | 38                                | 87                                 | —                                                  | —                                                   |
| 10   | 75   | 77                                | 95                                 | 59                                                 | 85                                                  |
| 11   | 125  | 87                                | 116                                | —                                                  | —                                                   |

CAROTINE  
15 M.G.  $P_2O_5$



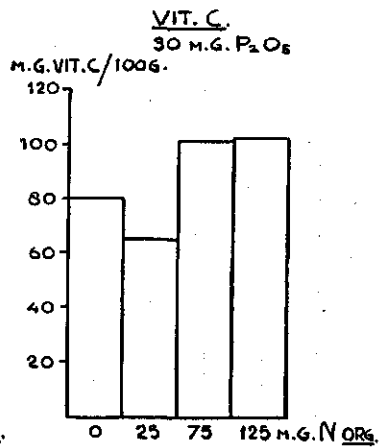
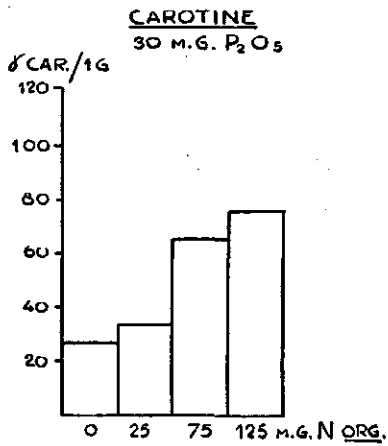
VIT. C  
15 M.G.  $P_2O_5$



<sup>1)</sup> cijfers van duplobepaling.

TABEL 13  
30 mg  $P_2O_5$

| Nos. | mg N | Carotine.<br>γ/1 g<br>versch blad | Vit. C.<br>mg/100 g<br>versch blad | Carotine.<br>γ/1 g<br>versch blad<br><sup>1)</sup> | Vit. C.<br>mg/100 g<br>versch blad<br><sup>1)</sup> |
|------|------|-----------------------------------|------------------------------------|----------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|
| 6    | 0    | 26                                | 80                                 | 26                                                 | —                                                   |
| 12   | 25   | 33                                | 63                                 | 39                                                 | 59                                                  |
| 13   | 75   | 63                                | 102                                | —                                                  | —                                                   |
| 14   | 125  | 75                                | 103                                | 84                                                 | 102                                                 |

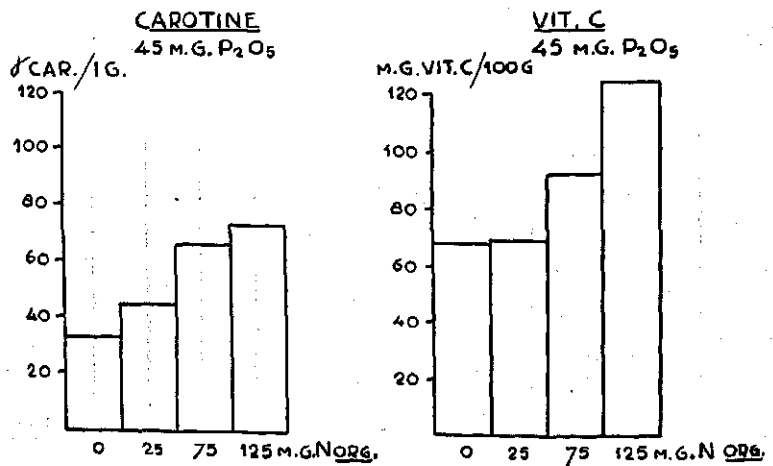


<sup>1)</sup> cijfers van duplobepaling.

TABEL 14

45 mg  $P_2O_5$ 

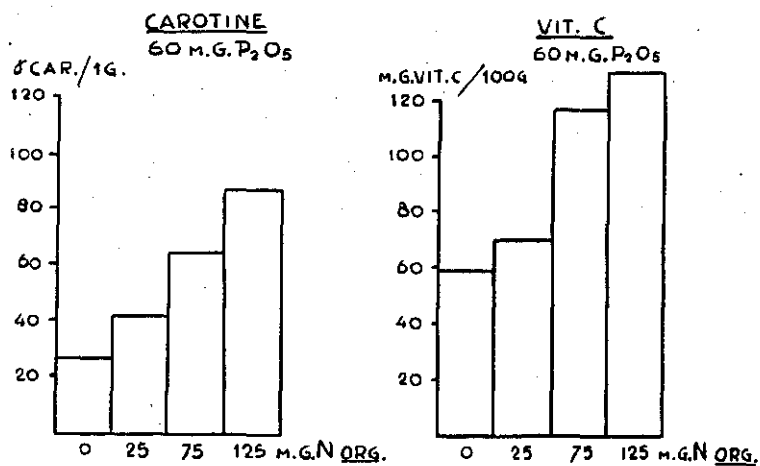
| Nos. | mg N | Carotine.<br>γ/l g<br>versch blad | Vit. C.<br>mg/100 g<br>versch blad | Carotine.<br>γ/l g<br>versch blad<br>1) | Vit. C.<br>mg/100 g<br>versch blad<br>1) |
|------|------|-----------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------------|------------------------------------------|
| 7    | 0    | 33                                | 68                                 | —                                       | —                                        |
| 15   | 25   | 44                                | 69                                 | —                                       | —                                        |
| 16   | 75   | 65                                | 92                                 | 63                                      | 79                                       |
| 17   | 125  | 71                                | 125                                | —                                       | —                                        |



1) cijfers van duplobepaling.

TABEL 15  
60 mg  $P_2O_5$

| Nos. | mg N | Carotine.<br>γ/l g<br>versch blad | Vit. C.<br>mg/100 g<br>versch blad | Carotine.<br>γ/l g<br>versch blad<br>1) | Vit. C.<br>mg/100 g<br>versch blad<br>1) |
|------|------|-----------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------------|------------------------------------------|
| 8    | 0    | 26                                | 59                                 | 26                                      | —                                        |
| 18   | 25   | 41                                | 70                                 | —                                       | —                                        |
| 19   | 75   | 63                                | 117                                | 61                                      | 103                                      |
| 20   | 125  | 87                                | 130                                | 95                                      | —                                        |



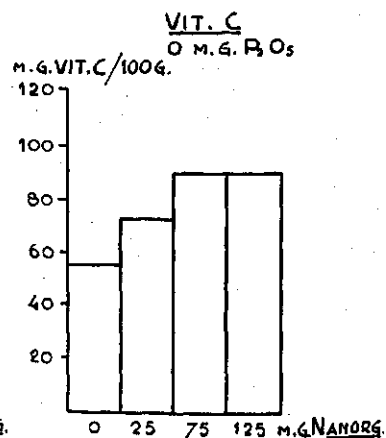
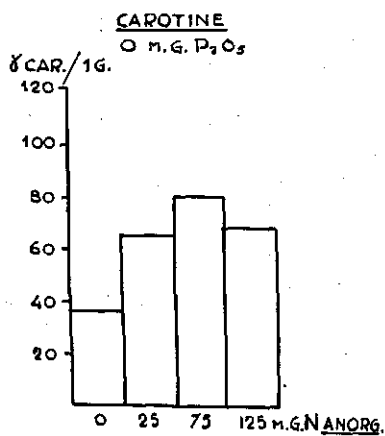
1) cijfers van duplobepaling.

Het verloop van het carotine- en vitamine C-gehalte van de proefplanten tengevolge van *anorganische N-bemesting*, wordt door de 5 volgende tabellen voorgesteld:

TABEL 16

0 mg  $P_2O_5$ 

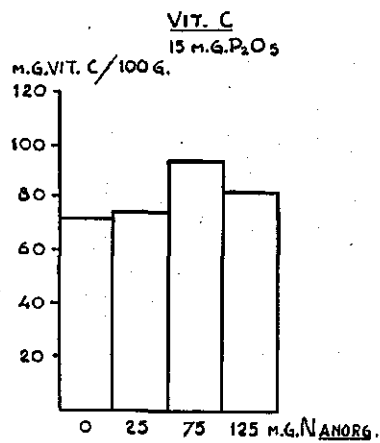
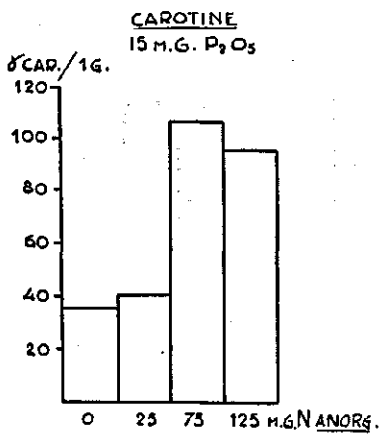
| Nos. | mg N | Carotine.<br>γ/1 g<br>versch blad | Vit. C.<br>mg/100 g<br>versch blad | Carotine.<br>γ/1 g<br>versch blad<br><sup>1)</sup> | Vit. C.<br>mg/100 g<br>versch blad<br><sup>1)</sup> |
|------|------|-----------------------------------|------------------------------------|----------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|
| 1    | 0    | 37                                | 56                                 | 24                                                 | —                                                   |
| 2    | 25   | 65                                | 73                                 | —                                                  | —                                                   |
| 3    | 75   | 80                                | 90                                 | 70                                                 | 101                                                 |
| 4    | 125  | 67                                | 90                                 | —                                                  | —                                                   |



<sup>1)</sup> cijfers van duplobepaling.

TABEL 17  
15 mg  $P_2O_5$

| Nos. | mg N | Carotine.<br>γ/1 g<br>versch blad | Vit. C.<br>mg/100 g<br>versch blad | Carotine.<br>γ/1 g<br>versch blad<br>1) | Vit. C.<br>mg/100 g<br>versch blad<br>1) |
|------|------|-----------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------------|------------------------------------------|
| 5    | 0    | 36                                | 72                                 | —                                       | —                                        |
| 9    | 25   | 40                                | 74                                 | 24                                      | 84                                       |
| 10   | 75   | 107                               | 94                                 | —                                       | —                                        |
| 11   | 125  | 96                                | 81                                 | 82                                      | 76                                       |

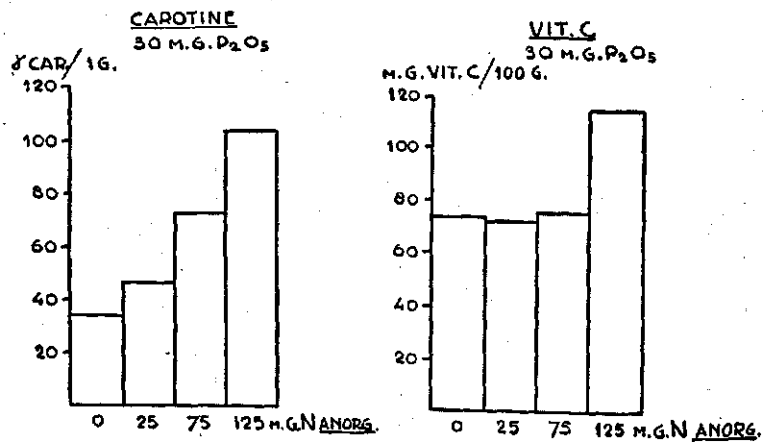


1) cijfers van duplobepaling.

TABEL 18

30 mg  $P_2O_5$ 

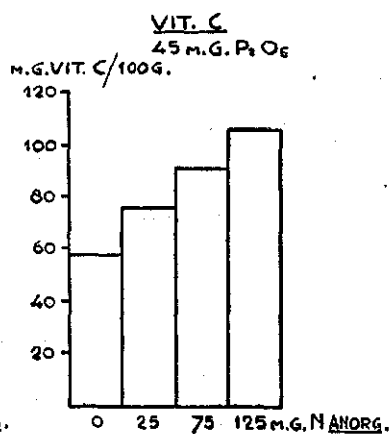
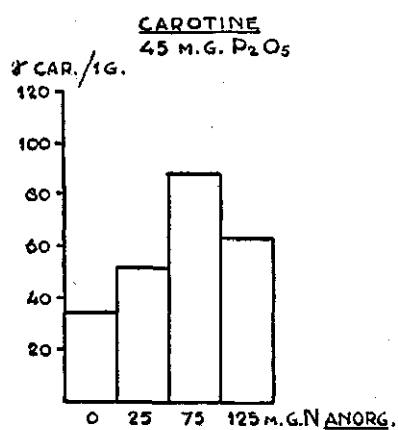
| Nos. | mg N | Carotine.<br>γ/l g<br>versch blad | Vit. C.<br>mg/100 g<br>versch blad | Carotine.<br>γ/l g<br>versch blad<br>1) | Vit. C.<br>mg/100 g<br>versch blad<br>1) |
|------|------|-----------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------------|------------------------------------------|
| 6    | 0    | 34                                | 74                                 | —                                       | —                                        |
| 12   | 25   | 46                                | 72                                 | —                                       | —                                        |
| 13   | 75   | 73                                | 75                                 | 73                                      | 89                                       |
| 14   | 125  | 103                               | 116                                | —                                       | —                                        |



1) cijfers van duplobepaling.

TABEL 19  
45 mg  $P_2O_5$

| Nos. | mg N | Carotine.<br>γ/1 g<br>versch blad | Vit. C.<br>mg/100 g<br>versch blad | Carotine.<br>γ/1 g<br>versch blad<br>1) | Vit. C.<br>mg/100 g<br>versch blad<br>1) |
|------|------|-----------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------------|------------------------------------------|
| 7    | 0    | 35                                | 58                                 | 20                                      | 56                                       |
| 15   | 25   | 51                                | 76                                 | 36                                      | 65                                       |
| 16   | 75   | 88                                | 90                                 | 82                                      | 103                                      |
| 17   | 125  | 63                                | 105                                | 69                                      | 106                                      |



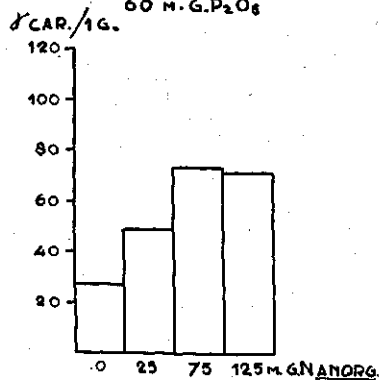
1) cijfers van duplobepaling.

TABEL 20

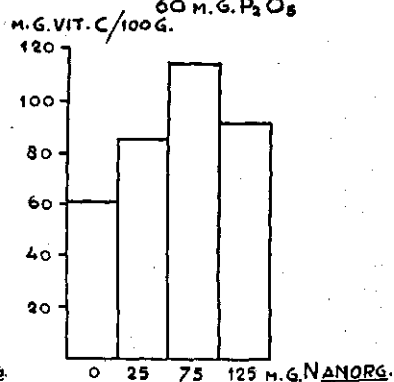
60 mg  $P_2O_5$ 

| Nos. | mg N | Carotine.<br>γ/1 g<br>versch blad | Vit. C.<br>mg/100 g<br>versch blad | Carotine.<br>γ/1 g<br>versch blad<br>1) | Vit. C.<br>mg/100 g<br>versch blad<br>1) |
|------|------|-----------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------------|------------------------------------------|
| 8    | 0    | 27                                | 61                                 | —                                       | —                                        |
| 18   | 25   | 49                                | 86                                 | —                                       | —                                        |
| 19   | 75   | 73                                | 113                                | 67                                      | 109                                      |
| 20   | 125  | 71                                | 92                                 | —                                       | —                                        |

CAROTINE  
60 M.G.  $P_2O_5$



VIT. C  
60 M.G.  $P_2O_5$



1) cijfers van duplobepaling.

## III

Een potproef over 26 *Neubauer*-bakjes, waarin zoowel de invloed van N- als van K-bemesting op de vorming van carotine en vitamine C werd nagegaan.

*Grond*: Dorskampgrond met 800 mg  $\text{CaCO}_3$

*Grondbemesting*: Bij aanleg gegeven: 106,5 mg  $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$   
 13,5 „  $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{ aq}$   
 13,5 „  $\text{MgCl}_2$   
 0,1 „ borax  
 0,05 „  $\text{MnSO}_4 \cdot 7 \text{ aq}$

*Vulling*: 50 g glaszand met 10 cc water.

450 g grond met 50 cc water.

Bij het zaaien nog 50 g vochtige grond en 10 cc water voor de zandzuil.

## BEMESTINGSSCHEMA

|     |      |       |      |                             |     |                            |
|-----|------|-------|------|-----------------------------|-----|----------------------------|
| 1.  | geen | N,    | geen | $\text{K}_2\text{O}$        |     |                            |
| 2.  | 25   | mg N, | „    | „                           |     |                            |
| 3.  | 75   | „     | „    | „                           |     |                            |
| 4.  | 125  | „     | „    | „                           |     |                            |
| 5.  | 25   | „     | 40   | mg $\text{K}_2\text{O}$ als | 74  | mg $\text{K}_2\text{SO}_4$ |
| 6.  | 75   | „     | 40   | „                           | 74  | „                          |
| 7.  | 125  | „     | 40   | „                           | 74  | „                          |
| 8.  | 25   | „     | 80   | „                           | 148 | „                          |
| 9.  | 75   | „     | 80   | „                           | 148 | „                          |
| 10. | 125  | „     | 80   | „                           | 148 | „                          |
| 11. | 25   | „     | 120  | „                           | 222 | „                          |
| 12. | 75   | „     | 120  | „                           | 222 | „                          |
| 13. | 125  | „     | 120  | „                           | 222 | „                          |

Dit bemestingsschema werd in duplo uitgevoerd, waarbij de eene maal de stikstof in den vorm  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  werd gegeven en de andere maal in den vorm van een humusstof, waaraan de N, uitsluitend als  $\text{NH}_4'$ , geadsorbeerd was.

Bij de analyses, na ruim anderhalve maand, werden de volgende resultaten verkregen:

TABEL 21  
Organische N-bemesting

| Nos. | Carotine.<br>γ/l g<br>versch blad | Vit. C.<br>mg/100 g<br>versch blad | Habitus            | Opbrengst<br>versch blad,<br>in g |
|------|-----------------------------------|------------------------------------|--------------------|-----------------------------------|
| 1    | 100                               | 64                                 | klein,             |                                   |
| 2    | 124                               | 100                                | kleur normaal      | 1,43                              |
| 3    | 93                                | 92                                 | klein, donker,     |                                   |
| 4    | 100                               | 81                                 | dorre punten       | 1,71                              |
| 5    | 86                                | 124                                | klein, vrij licht  | 2,29                              |
| 6    | 101                               | 124                                | klein, zeer donker | 3,53                              |
| 7    | 92                                | 148                                | normale kleur      | 5,17                              |
| 8    | 45                                | 113                                | iets donker        | 7,57                              |
| 9    | 94                                | 126                                | donker             | 6,9                               |
| 10   | 82                                | 150                                | normale kleur      | 6,38                              |
| 11   | 49                                | 114                                | " donker "         | 9,28                              |
| 12   | 104                               | 122                                | lichte kleur       | 11,40                             |
| 13   | 94                                | 140                                | donker             | 7,20                              |
|      |                                   |                                    | groot en donker    | 10,31                             |
|      |                                   |                                    |                    | 11,27                             |

TABEL 22  
Anorganische N-bemesting

| Nos. | Carotine.<br>γ/1 g<br>versch blad | Vit. C.<br>mg/100 g<br>versch blad | Carotine.<br>γ/1 g<br>versch blad<br>1) | Vit. C.<br>mg/100 g<br>versch blad<br>1) |
|------|-----------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------------|------------------------------------------|
| 1    | 99                                | —                                  | —                                       | —                                        |
| 2    | 113                               | —                                  | —                                       | —                                        |
| 3    | 80                                | 121                                | —                                       | —                                        |
| 4    | 113                               | —                                  | —                                       | —                                        |
| 5    | 86                                | 105                                | —                                       | —                                        |
| 6    | 106                               | 121                                | —                                       | —                                        |
| 7    | 104                               | 70                                 | 106                                     | —                                        |
| 8    | 62                                | 119                                | —                                       | —                                        |
| 9    | 96                                | 136                                | 106                                     | —                                        |
| 10   | 108                               | 142                                | 122                                     | —                                        |
| 11   | 65                                | 122                                | —                                       | —                                        |
| 12   | 81                                | 134                                | 96                                      | —                                        |
| 13   | 113                               | 140                                | 114                                     | 162                                      |

Het verloop van het carotine- en vitamine C-gehalte van de proefplanten tengevolge van de organische N-bemesting, bij de verschillende K<sub>2</sub>O-giften, wordt in de volgende vier tabellen voorgesteld:

TABEL 23  
0 mg K<sub>2</sub>O

| Nos. | mg N | Carotine.<br>γ/1 g<br>versch blad | Vit. C.<br>mg/100 g<br>versch blad | Opbrengst<br>versch blad<br>in g |
|------|------|-----------------------------------|------------------------------------|----------------------------------|
| 1    | 0    | 100                               | 64                                 | 1,43                             |
| 2    | 25   | 124                               | 100                                | 1,71                             |
| 3    | 75   | 93                                | 92                                 | 2,29                             |
| 4    | 125  | 100                               | 81                                 | 3,53                             |

1) cijfers van duplobepaling.

TABEL 24  
40 mg K<sub>2</sub>O

| Nos. | mg N | Carotine.<br>γ/l g<br>versch blad | Vit. C.<br>mg/100 g<br>versch blad | Opbrengst<br>versch blad<br>in g |
|------|------|-----------------------------------|------------------------------------|----------------------------------|
| 5    | 25   | 86                                | 124                                | 5,17                             |
| 6    | 75   | 101                               | 124                                | 7,57                             |
| 7    | 125  | 92                                | 148                                | 6,9                              |

TABEL 25  
80 mg K<sub>2</sub>O

| Nos. | mg N | Carotine.<br>γ/l g<br>versch blad | Vit. C.<br>mg/100 g<br>versch blad | Opbrengst<br>versch blad<br>in g |
|------|------|-----------------------------------|------------------------------------|----------------------------------|
| 8    | 25   | 45                                | 113                                | 6,38                             |
| 9    | 75   | 94                                | 126                                | 9,28                             |
| 10   | 125  | 82                                | 150                                | 11,40                            |

TABEL 26  
120 mg K<sub>2</sub>O

| Nos. | mg N | Carotine.<br>γ/l g<br>versch blad | Vit. C.<br>mg/100 g<br>versch blad | Opbrengst<br>versch blad<br>in g |
|------|------|-----------------------------------|------------------------------------|----------------------------------|
| 11   | 25   | 49                                | 114                                | 7,20                             |
| 12   | 75   | 104                               | 122                                | 10,31                            |
| 13   | 125  | 94                                | 140                                | 11,27                            |

De invloed van de *anorganische N-bemesting* op het carotine- en vitamine C-gehalte van de proefplanten, bij opklimmende  $K_2O$  giften, komt in de 4 volgende tabellen tot uiting:

TABEL 27

0 mg  $K_2O$ 

| Nos. | mg N | Carotine.<br>γ/1 g<br>versch blad | Vit. C.<br>mg/100 g<br>versch blad |
|------|------|-----------------------------------|------------------------------------|
| 1    | 0    | 99                                | —                                  |
| 2    | 25   | 113                               | —                                  |
| 3    | 75   | 80                                | 121                                |
| 4    | 125  | 113                               | —                                  |

TABEL 28

40 mg  $K_2O$ 

| Nos. | mg N | Carotine.<br>γ/1 g<br>versch blad | Vit. C.<br>mg/100 g<br>versch blad |
|------|------|-----------------------------------|------------------------------------|
| 5    | 25   | 86                                | 105                                |
| 6    | 75   | 106                               | 121                                |
| 7    | 125  | 104                               | 70                                 |

TABEL 29

80 mg K<sub>2</sub>O

| Nos. | mg N | Carotine.<br>γ/l g<br>versch blad | Vit. C.<br>mg/100 g<br>versch blad | Carotine.<br>γ/l g<br>versch blad<br><sup>1)</sup> |
|------|------|-----------------------------------|------------------------------------|----------------------------------------------------|
| 8    | 25   | 62                                | 119                                | —                                                  |
| 9    | 75   | 96                                | 136                                | 106                                                |
| 10   | 125  | 108                               | 142                                | 122                                                |

TABEL 30

120 mg K<sub>2</sub>O

| Nos. | mg N | Carotine.<br>γ/l g<br>versch blad | Vit. C.<br>mg/100 g<br>versch blad | Carotine.<br>γ/l g<br>versch blad<br><sup>1)</sup> |
|------|------|-----------------------------------|------------------------------------|----------------------------------------------------|
| 11   | 25   | 65                                | 122                                | —                                                  |
| 12   | 75   | 81                                | 134                                | 96                                                 |
| 13   | 125  | 113                               | 140                                | 114                                                |

*Commentaar.*

Naar aanleiding van de gegeven cijfers kan opgemerkt worden, dat in het algemeen een verhoogde stikstofgift ook een hoger carotine- en vitamine C-gehalte van de planten met zich brengt.

In de eerste proef in *Mitscherlich*-potten, waar bij stijgend carotinegehalte onder invloed van de N-bemesting het vitamine C-gehalte echter daalt, kan dit verschijnsel naar alle waarschijnlijkheid wel daarmede verklaard worden, dat de planten eenige dagen bij kamertemperatuur bewaard werden, voordat met de analyses aangevangen kon worden. Toen was nog niet bekend, dat het vitamine C in de planten onder die omstandigheden zoo snel wordt geoxydeerd.

<sup>1)</sup> cijfers van duplobepaling.

## c. Proeven met kalibemesting.

## I

Naar aanleiding van de uitkomsten van de oriënteerende proef, werd een onderzoek gedaan, waarbij de planten verkregen werden uit 23 kwartzandculturen, die de volgende behandeling kregen:

## BEMESTINGSSCHEMA

| 0—K <sup>1)</sup>                       | 0,25—K                                  |
|-----------------------------------------|-----------------------------------------|
| NaNO <sub>3</sub> . . . 0,206 g per pot | NaNO <sub>3</sub> . . . 0,206 g per pot |
| KCl . . . . 0        "                  | KCl . . . . 0,017   "                   |
| MgSO <sub>4</sub> .7aq 0,086   "        | MgSO <sub>4</sub> .7aq 0,086   "        |
| CaHPO <sub>4</sub> .2aq 0,150   "       | CaHPO <sub>4</sub> .2aq 0,150   "       |
| 0,5—K                                   | 0,75—K                                  |
| NaNO <sub>3</sub> . . . 0,206 g per pot | NaNO <sub>3</sub> . . . 0,206 g per pot |
| KCl . . . . 0,035   "                   | KCl . . . . 0,051   "                   |
| MgSO <sub>4</sub> .7aq 0,086   "        | MgSO <sub>4</sub> .7aq 0,086   "        |
| CaHPO <sub>4</sub> .2aq 0,150   "       | CaHPO <sub>4</sub> .2aq 0,150   "       |
| 1—K (= Normaal)                         | 1,5—K                                   |
| NaNO <sub>3</sub> . . . 0,206 g per pot | NaNO <sub>3</sub> . . . 0,206 g per pot |
| KCl . . . . 0,069   "                   | KCl . . . . 0,105   "                   |
| MgSO <sub>4</sub> .7aq 0,086   "        | MgSO <sub>4</sub> .7aq 0,086   "        |
| CaHPO <sub>4</sub> .2aq 0,150   "       | CaHPO <sub>4</sub> .2aq 0,150   "       |

<sup>1)</sup> K staat voor de hoeveelheid KCl, die in de volledige oplossing volgens Krüger voorkomt.

Na bijna anderhalve maand, werden bij den oogst, met de daaropvolgende analyses, de in de onderstaande tabel vermelde resultaten verkregen:

TABEL 31

| Be-handeling | Opbrengst<br>g per pot | Eind pH | Carotine.<br>%/1 g<br>versch<br>blad | Vit. C.<br>mg/100 g<br>versch<br>blad | Habitus                             |
|--------------|------------------------|---------|--------------------------------------|---------------------------------------|-------------------------------------|
| 0 —K         | 2,02                   | 7,27    | 45                                   | 44                                    | kl. dan normaal<br>niet zeer donker |
| 0,25—K       | 3,36                   | 7,15    | 39                                   | 38                                    |                                     |
| 0,50—K       | 3,92                   | 7,24    | 35                                   | 42                                    | norm. grootte                       |
| 0,75—K       | 5,54                   | 7,34    | 38                                   | 31                                    |                                     |
| 1,00—K       | 5,33                   | 7,39    | 37                                   | 39                                    |                                     |
| 1,50—K       | 4,75                   | 7,17    | 29                                   | 34                                    |                                     |

## II

Een dergelijke proef, over 29 potten, werd aangezet, waarbij de werking respectievelijk van 0—K, 0,5—K, 1—K (= Normaal), 1,5—K, 2—K en 3—K werd nagegaan.

Het bemestingsschema van de vorige proef werd gebruikt, waarbij 2—K en 3—K respectievelijk 2 en 3 maal zooveel KCl ontvingen, als in de *Krüger*-oplossing voorkomt. In afwijking van het bemestingsschema van de vorige proef, werd  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  in plaats van  $\text{NaNO}_3$  als stikstofbron gebruikt, om het gevaar te ontgaan, dat het Na-ion in de plant de physiologische functie van het K-ion zou vervullen (*Maschhaupt, Remy en Dhein*).

Na twee maanden werden de planten geoogst en geanalyseerd, waarbij de volgende resultaten werden verkregen:

TABEL 32

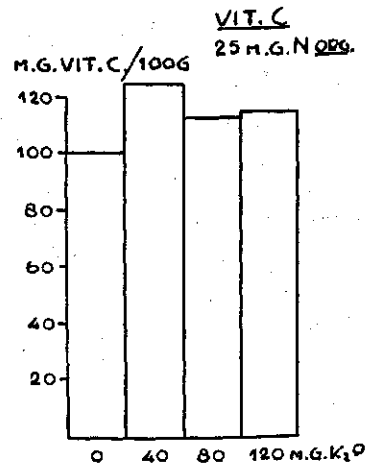
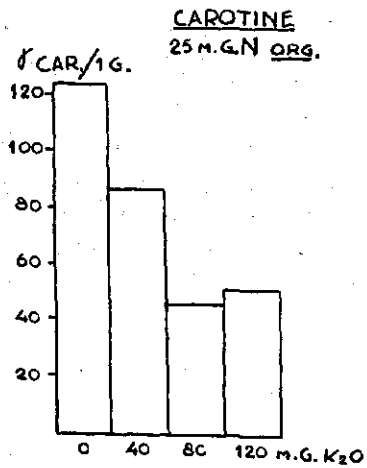
| Behandeling | Opbrengst<br>g per pot | Carotine.<br>γ/l g<br>versch blad | Vit. C.<br>mg/100 g<br>versch blad | Habitus                             |
|-------------|------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|
| 0 -K        | 0,5                    | 52                                | 69                                 | Klein, niet donker<br>goed gegroeid |
| 0,5-K       | 4                      | 64                                | 96                                 |                                     |
| 1,0-K       | 5                      | 53                                | 80                                 | "                                   |
| 1,5-K       | 5,2                    | 63                                | 87                                 |                                     |
| 2,0-K       | 5                      | 60                                | 79                                 |                                     |
| 3,0-K       | 5,5                    | 52                                | 96                                 |                                     |

## · III

Van de potproef, waarbij zoowel het effect van N- als van K-bemesting werd nagegaan en waarvan de bijzonderheden bij de proeven met N-bemesting gegeven zijn (blz. 73), werden uit de tabellen de volgende cijfers genomen, die een indruk geven van het verloop van het carotine- en vitamine C-gehalte van de proefplanten onder invloed van K-bemesting, bij stijgend stikstofniveau, zoowel organisch als anorganisch:

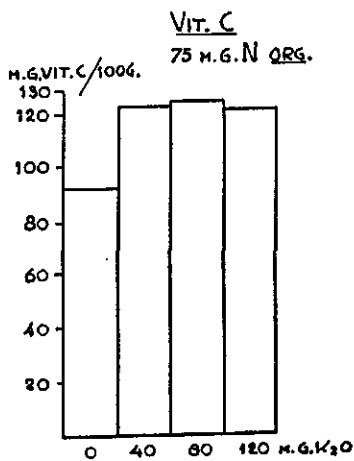
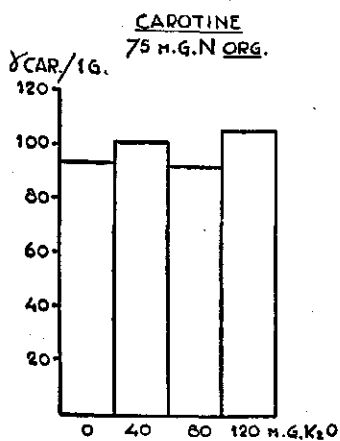
TABEL 33  
25 mg N (Organisch)

| Nos. | mg K <sub>2</sub> O | Carotine.<br>γ/l g<br>versch blad | Vit. C.<br>mg/100 g<br>versch blad | Opbrengst<br>versch blad<br>in g |
|------|---------------------|-----------------------------------|------------------------------------|----------------------------------|
| 2    | 0                   | 124                               | 100                                | 1,71                             |
| 5    | 40                  | 86                                | 124                                | 5,17                             |
| 8    | 80                  | 45                                | 113                                | 6,38                             |
| 11   | 120                 | 49                                | 114                                | 7,20                             |



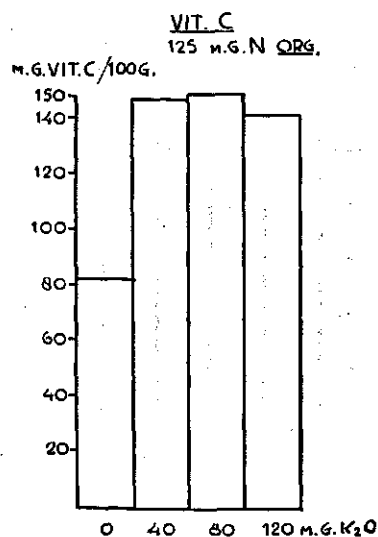
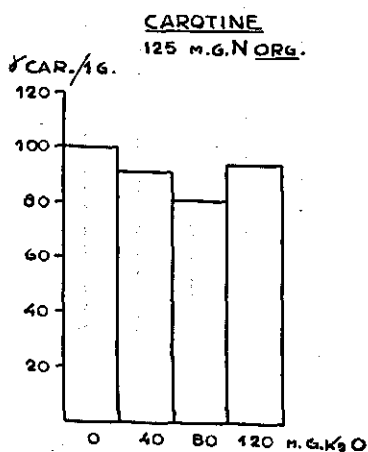
TABEL 34  
75 mg N (Organisch)

| Nos. | mg K <sub>2</sub> O | Carotine.<br>γ/l g<br>versch blad | Vit. C.<br>mg/100 g<br>versch blad | Opbrengst<br>versch blad<br>in g |
|------|---------------------|-----------------------------------|------------------------------------|----------------------------------|
| 3    | 0                   | 93                                | 92                                 | 2,29                             |
| 6    | 40                  | 101                               | 124                                | 7,57                             |
| 9    | 80                  | 94                                | 126                                | 9,28                             |
| 12   | 120                 | 104                               | 122                                | 10,31                            |



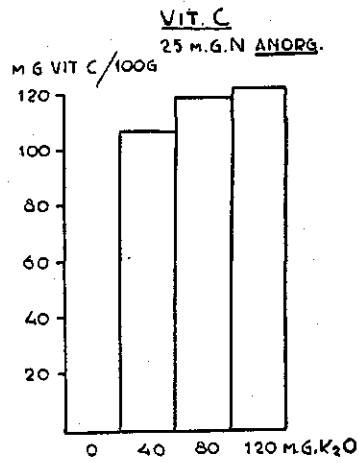
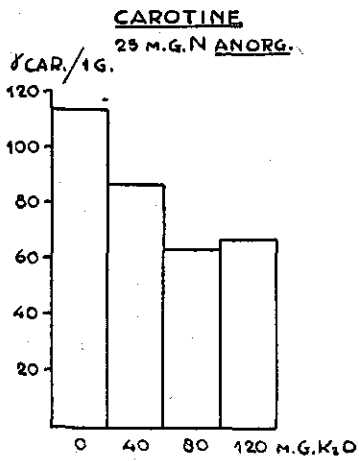
TABEL 35  
125 mg N (Organisch)

| Nos. | mg K <sub>2</sub> O | Carotine.<br>γ/1 g<br>versch blad | Vit. C.<br>mg/100 g<br>versch blad | Opbrengst<br>versch blad<br>in g |
|------|---------------------|-----------------------------------|------------------------------------|----------------------------------|
| 4    | 0                   | 100                               | 81                                 | 3,53                             |
| 7    | 40                  | 92                                | 148                                | 6,9                              |
| 10   | 80                  | 82                                | 150                                | 11,40                            |
| 13   | 120                 | 94                                | 140                                | 11,27                            |



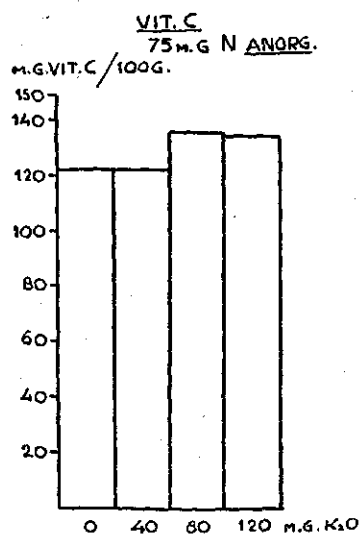
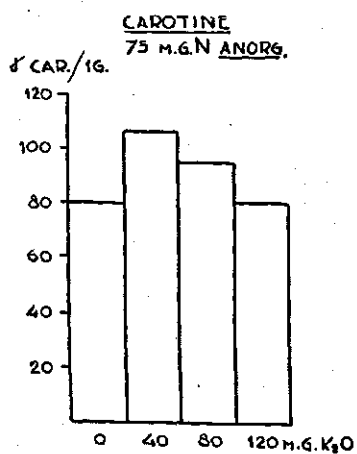
TABEL 36  
25 mg N (Anorganisch)

| Nos. | mg K <sub>2</sub> O | Carotine.<br>γ/1 g<br>versch blad | Vit. C.<br>mg/100 g<br>versch blad |
|------|---------------------|-----------------------------------|------------------------------------|
| 2    | 0                   | 113                               | —                                  |
| 5    | 40                  | 86                                | 105                                |
| 8    | 80                  | 62                                | 119                                |
| 11   | 120                 | 65                                | 122                                |



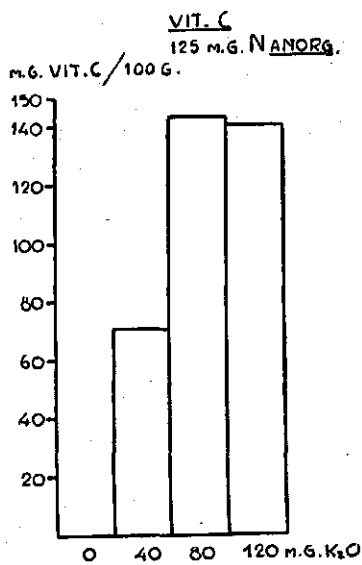
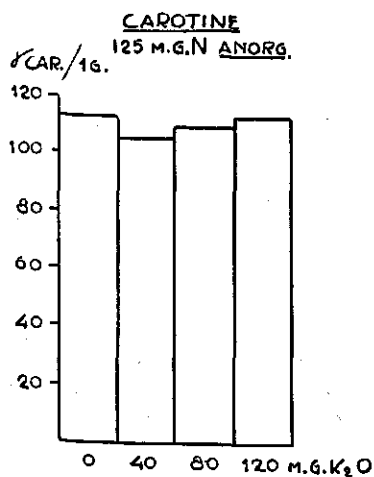
TABEL 37  
75 mg N (Anorganisch)

| Nos. | mg K <sub>2</sub> O | Carotine.<br>γ/1 g<br>versch blad | Vit. C.<br>mg/100 g<br>versch blad |
|------|---------------------|-----------------------------------|------------------------------------|
| 3    | 0                   | 80                                | 121                                |
| 6    | 40                  | 106                               | 121                                |
| 9    | 80                  | 96                                | 136                                |
| 12   | 120                 | 81                                | 134                                |



TABEL 38  
125 mg N (Anorganisch)

| Nos. | mg K <sub>2</sub> O | Carotine.<br>γ/1 g<br>versch blad | Vit. C.<br>mg/100 g<br>versch blad |
|------|---------------------|-----------------------------------|------------------------------------|
| 4    | 0                   | 113                               | —                                  |
| 7    | 40                  | 104                               | 70                                 |
| 10   | 80                  | 108                               | 142                                |
| 13   | 120                 | 113                               | 140                                |



### Commentaar

De uit de tabellen blijkende tendens van het verloop van vitamine C en carotine onder den invloed van de K-bemesting is, met enkele uitzonderingen, zoodanig, dat een toenemende hoeveelheid kalium een vermindering van het carotinegehalte

te zien geeft, terwijl omgekeerd de hoeveelheid vitamine C blijkt te stijgen. De daling van het carotinegehalte is alleen duidelijk bij de planten, die op een voedingsbodem met weinig stikstof werden gekweekt. De stijging van het vitamine C-gehalte daarentegen is, hoewel in de combinatieproef over de geheele linie meer uitgesproken, het duidelijkst in de planten, die bij hoge N-giften groeiden.

#### d. Proeven met fosphaatbemesting

##### I

Allereerst werd een oriënterende potproef genomen, die 10 kwartsandculturen omvatte.

Deze kregen de volgende behandeling:

#### BEMESTINGSSHEMA

| <i>P-gebrek</i>                         | <i>Normaal</i>                          |
|-----------------------------------------|-----------------------------------------|
| NaNO <sub>3</sub> . . . 0,206 g per pot | NaNO <sub>3</sub> . . . 0,206 g per pot |
| KCl . . . . . 0,069 "                   | KCl . . . . . 0,069 "                   |
| MgSO <sub>4</sub> ·7aq 0,086 "          | MgSO <sub>4</sub> ·7aq 0,086 "          |
| CaSO <sub>4</sub> ·2aq 0,150 "          | CaHPO <sub>4</sub> ·2aq 0,150 "         |

Na bijna anderhalve maand, werden bij den oogst met de daarop volgende analyses de onderstaande resultaten verkregen:

TABEL 39

| Be-handeling | Opbrengst per pot in g | Carotine. 7/1 g versch blad | Vit. C. mg/100 g versch blad | Eind pH | Habitus         |
|--------------|------------------------|-----------------------------|------------------------------|---------|-----------------|
| 0—P          | 1,46                   | 52                          | 49                           | 7,14    | klein en donker |
| Norm.        | 5,33                   | 37                          | 39                           | 7,39    |                 |

## II

Een dergelijke proef, over 24 potten, werd aangezet, waarbij de werking respectievelijk van 0—P, 0,5—P, 1—P (= Normaal), 1,5—P, 2—P en 3—P werd nagegaan. Hetzelfde schema als van de vorige proef werd gevolgd, waarbij voor het verkrijgen van een voedingsoplossing met minder  $\text{PO}_4'''$  het  $\text{CaHPO}_4 \cdot 2 \text{aq}$  door gips vervangen werd, zoodat in alle potten van de reeks het Ca-gehalte gelijk was.

Na twee maanden werden de planten geoogst en geanalyseerd, waarbij de volgende resultaten werden verkregen:

TABEL 40

| Behan-<br>deling | Opbrengst<br>p. pot in g. | Carotine.<br>γ/1 g<br>versch blad | Vit. C.<br>mg/100 g<br>versch blad | Habitus        |
|------------------|---------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|----------------|
| 0 —P             | 0,5                       | 75                                | 35                                 | klein, donker  |
| 0,5—P            | 4                         | 77                                | 103                                | middelm. groot |
| Norm.            | 5                         | 53                                | 80                                 | "              |
| 1,5—P            | 4                         | 63                                | 70                                 | "              |
| 2 —P             | 5                         | 67                                | 72                                 | "              |
| 3 —P             | 4,7                       | 67                                | 50                                 | "              |

## III

Van de potproef, waarbij zoowel het effect van N- als van  $\text{P}_2\text{O}_5$ -bemesting werd nagegaan en waarvan de bijzonderheden bij de proeven met N-bemesting gegeven zijn (blz. 59 e.v.), zijn uit de tabellen de volgende cijfers genomen, die een indruk geven van het verloop van het carotine- en vitamine C-gehalte van de proefplanten onder invloed van fosphaatbemesting bij stijgend stikstofniveau, zoowel organisch als anorganisch:

TABEL 41  
0 mg N

| Nos. | mg P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> | Carotine.<br>γ/l g<br>versch blad | Vit. C.<br>mg/100 g<br>versch blad | Carotine.<br>γ/l g<br>versch blad<br><sup>1)</sup> | Vit. C.<br>mg/100 g<br>versch blad<br><sup>1)</sup> |
|------|----------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|----------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|
| 1    | 0                                | 26                                | 71                                 | 28                                                 | —                                                   |
| 5    | 15                               | 30                                | 80                                 | —                                                  | —                                                   |
| 6    | 30                               | 26                                | 80                                 | 26                                                 | —                                                   |
| 7    | 45                               | 33                                | 68                                 | —                                                  | —                                                   |
| 8    | 60                               | 26                                | 59                                 | 26                                                 | —                                                   |

TABEL 42  
25 mg N (Organisch)

| Nos. | mg P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> | Carotine.<br>γ/l g<br>versch blad | Vit. C.<br>mg/100 g<br>versch blad | Carotine.<br>γ/l g<br>versch blad<br><sup>1)</sup> | Vit. C.<br>mg/100 g<br>versch blad<br><sup>1)</sup> |
|------|----------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|----------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|
| 2    | 0                                | 65                                | 107                                | —                                                  | —                                                   |
| 9    | 15                               | 38                                | 87                                 | —                                                  | —                                                   |
| 12   | 30                               | 33                                | 63                                 | 39                                                 | 59                                                  |
| 15   | 45                               | 44                                | 69                                 | —                                                  | —                                                   |
| 18   | 60                               | 41                                | 70                                 | —                                                  | —                                                   |

TABEL 43  
75 mg N (Organisch)

| Nos. | mg P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> | Carotine.<br>γ/l g<br>versch blad | Vit. C.<br>mg/100 g<br>versch blad | Carotine.<br>γ/l g<br>versch blad<br><sup>1)</sup> | Vit. C.<br>mg/100 g<br>versch blad<br><sup>1)</sup> |
|------|----------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|----------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|
| 3    | 0                                | 71                                | 119                                | —                                                  | —                                                   |
| 10   | 15                               | 77                                | 95                                 | 59                                                 | 85                                                  |
| 13   | 30                               | 63                                | 102                                | —                                                  | —                                                   |
| 16   | 45                               | 65                                | 92                                 | 63                                                 | 79                                                  |
| 19   | 60                               | 63                                | 117                                | 61                                                 | 103                                                 |

<sup>1)</sup> Cijfers van duplobepaling.

TABEL 44  
125 mg N (Organisch)

| Nos. | mg $P_2O_5$ | Carotine.<br>γ/l g<br>versch blad | Vit. C.<br>mg/100 g<br>versch blad | Carotine.<br>γ/l g<br>versch blad<br>1) | Vit. C.<br>mg/100 g<br>versch blad<br>1) |
|------|-------------|-----------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------------|------------------------------------------|
| 4    | 0           | 95                                | 119                                | 88                                      | 114                                      |
| 11   | 15          | 87                                | 116                                | —                                       | —                                        |
| 14   | 30          | 75                                | 103                                | 84                                      | 102                                      |
| 17   | 45          | 71                                | 125                                | —                                       | —                                        |
| 20   | 60          | 87                                | 130                                | 95                                      | —                                        |

TABEL 45  
0 mg N

| Nos. | mg $P_2O_5$ | Carotine.<br>γ/l g<br>versch blad | Vit. C.<br>mg/100 g<br>versch blad | Carotine.<br>γ/l g<br>versch blad<br>1) | Vit. C.<br>mg/100 g<br>versch blad<br>1) |
|------|-------------|-----------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------------|------------------------------------------|
| 1    | 0           | 37                                | 56                                 | 24                                      | —                                        |
| 5    | 15          | 36                                | 72                                 | —                                       | —                                        |
| 6    | 30          | 34                                | 74                                 | —                                       | —                                        |
| 7    | 45          | 35                                | 58                                 | 20                                      | 56                                       |
| 8    | 60          | 27                                | 61                                 | —                                       | —                                        |

TABEL 46  
25 mg N (Anorganisch)

| Nos. | mg $P_2O_5$ | Carotine.<br>γ/l g<br>versch blad | Vit. C.<br>mg/100 g<br>versch blad | Carotine.<br>γ/l g<br>versch blad<br>1) | Vit. C.<br>mg/100 g<br>versch blad<br>1) |
|------|-------------|-----------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------------|------------------------------------------|
| 2    | 0           | 65                                | 73                                 | —                                       | —                                        |
| 9    | 15          | 40                                | 74                                 | 24                                      | 84                                       |
| 12   | 30          | 46                                | 72                                 | —                                       | —                                        |
| 15   | 45          | 51                                | 76                                 | 36                                      | 65                                       |
| 18   | 60          | 49                                | 86                                 | —                                       | —                                        |

1) Cijfers van duplobepaling.

TABEL 47  
75 mg N (Anorganisch)

| Nos. | mg P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> | Carotine.<br>γ/l g<br>versch blad | Vit. C.<br>mg/100 g<br>versch blad | Carotine.<br>γ/l g<br>versch blad<br>1) | Vit. C.<br>mg/100 g<br>versch blad<br>1) |
|------|----------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------------|------------------------------------------|
| 3    | 0                                | 80                                | 90                                 | 70                                      | 101                                      |
| 10   | 15                               | 107                               | 94                                 | —                                       | —                                        |
| 13   | 30                               | 73                                | 75                                 | 73                                      | 89                                       |
| 16   | 45                               | 88                                | 90                                 | 82                                      | 103                                      |
| 19   | 60                               | 73                                | 113                                | 67                                      | 109                                      |

TABEL 48  
125 mg N (Anorganisch)

| Nos. | mg P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> | Carotine.<br>γ/l g<br>versch blad | Vit. C.<br>mg/100 g<br>versch blad | Carotine.<br>γ/l g<br>versch blad<br>1) | Vit. C.<br>mg/100 g<br>versch blad<br>1) |
|------|----------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------------|------------------------------------------|
| 4    | 0                                | 67                                | 90                                 | —                                       | —                                        |
| 11   | 15                               | 96                                | 81                                 | 82                                      | 76                                       |
| 14   | 30                               | 103                               | 116                                | —                                       | —                                        |
| 17   | 45                               | 63                                | 105                                | 69                                      | 106                                      |
| 20   | 60                               | 71                                | 92                                 | —                                       | —                                        |

*Commentaar.*

Uit het verloop van de cijfers voor het carotine- en vitamine C-gehalte in de planten is geen wetmatigheid betreffende den invloed van de fosfaatbemesting af te leiden.

Waarschijnlijk is binnen wijde grenzen de invloed van fosfaat gering.

1) Cijfers van duplobepaling.

## HOOFDSTUK XI

### SLOTBESCHOUWING

De gegeven cijfers en de conclusies, die eruit getrokken kunnen worden hebben belang om het practisch nut, dat erin gelegen is, den invloed te kennen, die de verschillende meststoffen op het carotine- en het vitamine C-gehalte van de planten hebben. Door deze methode van onderzoek over verschillende voedergewassen uit te strekken, kan een inzicht verkregen worden, dat het mogelijk maakt, diè bemesting te kiezen, waarbij een product verkregen wordt met groote consumptiewaarde door een hoog vitaminegehalte, hetgeen voor de volksvoeding zeker gewenscht is, hoewel het nog eenigszins voorbarig schijnt met de eischen van *v. Hahn en Görbing* mede te gaan, die naar aanleiding van hun ongetwijfeld poovere resultaten verlangen: „Auf Grund der vorstehenden Versuche ist eine Staatliche Einwirkung auf die Gemüseproduzenten zu fördern, in der Anbau eines Gemüses mit höchstem Vitamingehalt im Interesse der Volksnahrung nahe zu legen wäre”

Uit het voorafgaande blijkt duidelijk, dat in de tot nu toe over het onderwerp verschenen literatuur niet alleen zeer met elkaar strijdige, doch meerendeels foutieve opvattingen voorkomen.

De door *v. Hahn en Görbing* verdedigde stelling, dat elke éézijdige verhooging van één van de elementen N, K of P een daling van het vitamine C-gehalte zou veroorzaken, moet onhoudbaar worden geacht.

Evenzeer onjuist is de opvatting van *Virtanen en v. Hausen*,

dat bij een verhoogde stikstofgift geen verandering van het vitaminegehalte van de planten optreedt, terwijl hetzelfde geldt, wanneer zij o.a. met betrekking tot de K-bemesting zeggen, dat elke gift boven de hoeveelheid, die voor den optimalen plantengroei noodzakelijk is, een verkleining van het vitaminegehalte met zich brengt.

Hoewel de door *Pfützer* en *Pfaff* gevonden resultaten bevestigd kunnen worden voor zoover het carotine aangaat, waar zij, evenals *Scherz*, een vermeerdering onder invloed van de N-bemesting waarnemen, is dat voor cijfers betreffende het vitamine C-gehalte niet het geval. De juistheid van hun bevinding, dat een éézijdige N-gift bij spinazie een vermindering van de titratiewaarde tengevolge heeft, moet betwijfeld worden.

---

## NASCHRIFT

Hoewel met de gegeven cijfers en beschouwingen het in de Inleiding gestelde doel bereikt moet worden geacht, is het toch aantrekkelijk, althans een poging te ondernemen om uit de proeven eenige verdere conclusies op het gebied der planten-fysiologie te trekken en de cijfers te beschouwen in het licht van wat bekend is over den invloed van de bodem-zouten op de zoo belangrijke functie van de plant, de assimilatatie, evenals op het, met de assimilatie onmiddellijk in verband te brengen bestanddeel van de plant, het chlorophyl.

Over den invloed van de voor de plantenvoeding benoodigde zouten op de assimilatie is tot nu toe zeer weinig literatuur verschenen.

*Briggs* was de eerste, die in 1922 de werking naging van K, Mg en Fe. *Gregory en Richards* deden in 1929 voor het eerst onderzoekingen over den invloed van N-, K- en P-gebrek op de assimilatie van *Hordeum* en stelden o.a. vast, dat deze bij stikstofgebrekplanten „subnormal” is. In 1932 vond *Müller*, dat de assimilatie van N-gebrekplanten bij hooge lichtintensiteiten tweemaal zoo klein is als van de met stikstof gevoede planten.

De meest uitvoerige onderzoekingen echter, zijn van *Gaszner en Goeze*, die bladeren van rogge- en tarweplanten, die bij verschillende hoeveelheden stikstof gekweekt waren, zoowel op assimilatie en transpiratie als op chlorophyl- en eiwitgehalte onderzochten. Zij gaven daarbij vergelijkbare cijfers, zoowel voor bladeren van 10 dagen oude kiemplanten, als voor bladeren van oudere planten, tot 25 dagen toe. De transpiratiemetingen werden gedaan om een indruk te krijgen

van de grootte van de gasuitwisseling. Het tellen van de stomata geeft omtrent deze laatste grootheid geen uitsluitel, omdat niet het aantal, doch de graad en de duur van opening van de huidmondjes de beheerschende factoren zijn.

Uit hun cijfers besluiten zij, dat tengevolge van een hoogere stikstofgift de bladeren van 10 dagen oude kiemplanten een grootere assimilatie en transpiratie vertoonen, evenals een hoger gehalte aan chlorophyl en eiwit. De grootste stijging van de curven treedt op tusschen 0-N en een geringe stikstofgift.

De assimilatie neemt in het algemeen sterker toe dan het chlorophylgehalte en moet volgens hen dan ook beschouwd worden als beheerscht door de gesommeerde invloeden van de gasuitwisseling, waarvoor de transpiratie als maat diende, en het chlorophylgehalte. De stijging, die deze voor het blad karakteristieke grootheden tengevolge van de toenemende N-bemesting vertoonen, wordt bij grooteren ouderdom van het blad nog meer uitgesproken, omdat bij de met weinig N groeiende planten na de eerste dagen van den groei een daling van assimilatie-, chlorophyl- en transpiratiewaarden intreedt, die bij de met meer stikstof gekweekte planten niet voorkomt.

Merkwaardig is, dat bij een grootere stikstofgift het totaalstikstofgehalte van de bladeren steeds relatief hooger ligt ten opzichte van het eiwitgehalte dan bij lage stikstofgift. Dit komt voortreffelijk overeen met de door *Rippel, Behr en Meyer* gegeven verhoudingen voor totaalstikstof en eiwitstikstof bij kaligebrekplanten, waarbij blijkt, dat bij grooter kaligebrek ook de totaalstikstof ten opzichte van de eiwitstikstof stijgt. In beide gevallen moet de oorzaak voor dit verschijnsel waarschijnlijk gezocht worden in een overmaat beschikbare stikstof voor de plant, of althans in een verstoring van het evenwicht tusschen K en N en is het wel een sterken steun voor de stelling, dat kaligebrek overeenkomt met stikstofovermaat.

en, omgekeerd, kaliovermaat neerkomt op stikstofgebrek (*Schmalfusz; Gaszner en Franke*).

Uit de gegeven cijfers over den invloed van de stikstofbemesting op het carotine- en vitamine C-gehalte van de *Spinacea oleracea*, is duidelijk het geheel analoge verloop met de door *Gaszner* en *Goeze* gevonden curven te zien. Ook hier treedt een stijging van de carotine- en vitamine C-waarden ten gevolge van de N-bemesting op. Bij het constateeren van deze stijging, lijkt het al heel plausibel een verband te zoeken tusschen de assimilatie en het ascorbinezuurgehalte van de bladeren, ook al naar aanleiding van de sterke stijging, die het vitamine C-gehalte van de bladeren vertoont, als deze met neonlicht bestraald worden (*Pfützer en Pfaff*) en het o.a. door den schrijver waargenomen verschijnsel, dat geëtiolerde planten geen vitamine C bevatten. Als een verder argument voor het verband tusschen assimilatie en vitamine C, zouden nog de uitkomsten van de proeven van *Randoin, Giroud en Leblond* kunnen gelden, die in bleeke deelen van planten minder vitamine C vinden dan in groene deelen. Men komt hierdoor dus op de gedachte, dat het ascorbinezuur een assimilatieproduct zou zijn.

Voor het carotine geldt dit verband met de assimilatie echter niet, doch zal eerder een parallel met het chlorophyl gezocht moeten worden.

Geëtiolerde planten hebben wel carotine, terwijl zij niet assimileeren. Bovendien wordt door verschillende auteurs, o.a. *Willstätter, Scherz en Pfützer en Pfaff*, vermeld, dat het carotinegehalte van de planten met het chlorophylgehalte fluctueert. Voorts hebben *Karrer en Helfenstein* erop gewezen, dat carotine uit phytol of phytolaldehyde kan ontstaan, daarmede een chemisch verband leggende tusschen het stikstofhoudende chlorophyl en het stikstofvrije carotine. Daar verder uit de door *Gaszner en Goeze* gegeven curven blijkt, dat het chlorophylgehalte niet door de assimilatie beïnvloed wordt

(wel is het omgekeerde het geval, waarbij dan echter de factor van het meer of minder geopend zijn van de stomata is ingeschakeld), doch direct parallel loopt met het stikstofgehalte van de plant, is hier een correlatie tusschen stikstofgehalte en carotinegehalte van de bladeren gegeven.

Waar het uit bovenvermelde, voor den stikstofinvloed geldende cijfers, in verband met de aangehaalde literatuur, wel schijnt, dat aan de eene zijde het vitamine C-gehalte van de plant afhankelijk is van de assimilatie en aan de andere zijde een verband bestaat tusschen chlorophyl- respectievelijk stikstofgehalte en carotine, wordt dit vermoeden bevestigd door hetgeen er uit de kalibemestingscijfers te leeren valt.

Na *Briggs*, die de eerste fundamenteele onderzoekingen over de assimilatie van de plant in verband met de kalibemesting deed, waren het weer *Gaszner* en *Goeze*, die de belangrijkste bijdragen leverden tot de kennis van deze wisselwerking.

In hun eerste mededeelingen kwamen zij tot de conclusie, dat tengevolge van meerdere K-bemesting bij hun proefplanten, tarwe en rogge, de assimilatie en transpiratie evenals het chlorophylgehalte afnemen. Deze afname is voor de tarwe vrij sterk, daarentegen voor rogge vrij gering. Een bezwaar tegen de eerste proeven is echter, dat zij alleen met kaliarm gekweekte kiemplanten en niet ook met volledige kaligebrekplanten, benevens planten van verschillende leeftijd werkten. In hun publicatie van '34 is dit verzuim hersteld en geven zij het volledige verloop van assimilatie, transpiratie en chlorophylgehalte vanaf 0-K en ook curven voor planten tot 25 dagen oud. De curven vertoonen voor de verschillende grootheden bij kiemplanten van 10 dagen een maximum bij een geringe K-gift ten opzichte van 0-K, om daarna, onder den invloed van stijgende kaligiften, weer langzaam te dalen. De daling is echter in alle gevallen van dien aard, dat het

chlorophylgehalte van de hoogste +K planten lager is dan van de 0-K planten, terwijl de assimilatie van de +K planten altijd nog grooter is dan bij 0-K.

De meerdere assimilatie der +K planten komt eerst goed tot uiting bij stijgenden ouderdom en hooge N-gift, daar de assimilatie van de planten, die met weinig K zijn opgegroeid snel afneemt, terwijl de assimilatie van de planten, die rijkelijk van K voorzien waren op eenzelfde niveau blijft. Bij lage N-gift vertoont het verloop van de assimilatie bij kaliarme en kalirijke planten onderling weinig verschil bij toenemenden ouderdom; van beide neemt de assimilatie af.

Wat het chlorophylgehalte aangaat, geven de uitkomsten een ander beeld. Bij hooge kaligiften zoowel als bij lage, is slechts een geringe afname tengevolge van den toenemenden ouderdom waar te nemen. Echter liggen bij lage stikstofgift, de absolute waarden van het chlorophylgehalte der kaliarme planten aanzienlijk hooger, dan van de goed met kali voorziene, terwijl dit verschil zich bij de rijkelijk met N bemeste planten niet voordoet, waar het zelfs kan voorkomen, dat de +K planten nog een iets grootere hoeveelheid chlorophyl bezitten dan de — K planten.

Deze gegevens worden, voor wat de assimilatie betreft, bevestigd o.a. door de proeven van *Briggs, Gregory en Richards* en *Lundegardh*, die ook de vermindering van deze functie bij — K planten waarnamen.

Het afnemen van de hoeveelheid chlorophyl in de bladeren als gevolg van toenemende K-bemesting, is een aan iederen landbouwer welbekend verschijnsel en wordt in de literatuur vele malen vermeld, o.a. door *Maiwald, Remy en Dhein* en *Remy en Liesegang*.

Uit de eigen cijfers over den invloed van de K-bemesting, bij verschillende N-niveau's, op het carotine- en vitamine C-gehalte van de proefplant, blijkt duidelijk, dat het carotine geheel het verloop van het chlorophyl volgt, terwijl vita-

mine C blijkbaar een product van de assimilatie is. Ook het carotinegehalte daalt bij lage N-gift, tengevolge van toenemende hoeveelheden K, terwijl deze daling bij hoge N-gift vrijwel 0 is. Ook het vitamine C-gehalte neemt bij lage N-giften slechts weinig toe door de kalibemesting, terwijl bij hoge N-giften de stijging scherp is.

Gegeven het feit, dat het bestaan van carotine in de bladeren zoo sterk verbonden is met het stikstofhoudende chlorophyl, volgt hieruit ook de verbondenheid met den stikstofrijktom van het blad. Daar dit stikstofgehalte van het blad dus blijkbaar het carotinegehalte bepaalt, ligt het voor de hand, ook de veranderingen in carotinerijkdom van het blad, die tengevolge van de verschillende K-bemestingen optreden, toe te schrijven aan den invloed van stikstoffluctuaties. De daling van het carotinegehalte als gevolg van stijgende kaligiften kan dan zoo verklaard worden, dat door de grootere hoeveelheid K de assimilatie en stofproductie stijgen, zoodat voor de plant relatief minder stikstof beschikbaar is en het stikstofgehalte van het blad daalt (*Scherz*).

Deze opvatting is namelijk geheel in overeenstemming met de door *Rippel, Behr en Meyer* verkregen resultaten uit hun proeven met kaligebrekplanten, waarbij zij in de bladeren een zeer groote hoeveelheid stikstof vinden. Bij toevoer van meer K neemt de hoeveelheid stikstof af en wordt, waarschijnlijk onder invloed van het kalium, dat bij de omzetting van koolhydraten in eiwitten een rol speelt, in de eiwitten verwerkt.

De schijnbare tegenspraak, die erin gelegen is, dat met meer eiwitvorming minder chlorophyl zou samengaan, kan daardoor verklaard worden, dat bij hogere K-giften assimilatie en stofproductie stijgen (zie de tabellen) waardoor het *relatieve* stikstof- en eiwitgehalte toch afneemt.

Bovendien volgt uit deze beschouwingen wel duidelijk, dat het niet mogelijk is uit K-bemestingsproeven conclusies te trekken, wanneer deze niet bij verschillende stikstoftrappen genomen zijn, waarmede tevens de onduidelijke resultaten van de eerste door mij genomen kalibemestingsproeven verklaard zijn.

---

## SAMENVATTING

Het doel van het onderzoek was, na te gaan, of er verband bestaat tusschen de bemesting van den bodem en het carotine- en ascorbinezuurgehalte van daarop gekweekte planten. Om practische redenen werd de spinazie (*Spinacia oleracea*) als proefplant gekozen.

Voor de quantitative bepaling van carotine in plantaardig materiaal werd een verkorte methode gegeven, terwijl bij de bepaling van het vitamine C-gehalte de aandacht erop gevestigd werd, dat dit bij het bewaren van de planten onder diverse omstandigheden snel kan verminderen.

Uit de analyses van de proefplanten, die verkregen werden van potproeven, waarbij zoowel van kwartszand als van natuurlijke grond gebruik gemaakt werd, bleek, dat het ascorbinezuur- en carotinegehalte van de planten onder den invloed van verschillende kali- en stikstofbemestingen sterk kan varieeren.

Hierbij is de werking van de stikstof zoodanig, dat bij vergrooting van de N-gift het carotine- en ascorbinezuur-gehalte van de proefplanten stijgt.

Onder invloed van toenemende kalibemesting treedt een vermindering van het carotinegehalte op, terwijl omgekeerd de hoeveelheid vitamine C toeneemt. De daling van het carotinegehalte is echter alleen duidelijk bij de planten, die op een voedingsbodem met weinig stikstof werden gekweekt. De stijging van het vitamine C-gehalte daarentegen is, hoewel in de combinatieproef over de geheele linie meer uitgesproken,

het duidelijkst in de planten, die bij hooge stikstofgiften groeiden.

Onder omstandigheden, zooals die bij de proeven heerschten, is de invloed van fosphaat- zoowel als van calcium- en magnesiumbemesting gering.

Naar aanleiding van de gevonden cijfers werd in een „Naschrift” gepoogd een verband aan te toonen tusschen chlorophyl- en carotinegehalte terwijl tevens werd betoogd, dat daarentegen het ascorbinezuur waarschijnlijk een product van de assimilatie is. Daarmede werd een verklaring aan de hand gedaan voor het eigenaardige verloop van carotine- en ascorbinezuurgehalte ten gevolge van de kalibemesting.

---

## SUMMARY

The aim of the investigations was, to detect if a change in the composition and concentration of the soil-solution had any influence on the carotene- and vitamin C-content of the plants.

The investigations were carried out with the aid of pot-experiments, because only by this method of working an equal distribution of the salts can be secured, this being indispensable to obtain a crop of sufficient uniformity. In a number of the experiments the pots contained pure washed quartz-sand, in other cases an exactly analysed sandy soil was used, which besides K- and P-deficiency also showed a low pH.

All pots were supplied with a salt-solution according to *Krüger* of the following composition:

|                                           |                  |
|-------------------------------------------|------------------|
| MgSO <sub>4</sub> . 7 aq . . .            | 0.688 g          |
| KCl. . . . .                              | 0.552 „          |
| NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> . . . . . | 0.752 „ or       |
| NaNO <sub>3</sub> . . . . .               | 1.650 „          |
| aqua dest. . . . .                        | 1000 „           |
| CaHPO <sub>4</sub> . 2 aq . . .           | 1.200 „ pH = 7.2 |

Pots of indifferent material were used, such as glass, enamelled iron and glazed earthenware.

Spinach was used as a test-plant; it has the advantage of growing rapidly and containing considerable quantities of carotene and vitamin C.

The plants were kept in a glass-house. Every day during

the experiment the pots were weighed and the loss in weight was compensated with distilled water.

The full-grown plants were cut with scissors. To avoid error caused by differences in weight of the stalks, which contain only a very small quantity of ascorbic acid, the latter were discarded and only the laminae were analysed.

The plants had to be analysed rapidly, because at room-temperature and even at ice-box temperature the leaves show a rather rapid decrease in vitamin C-content.

The vitamin C-content of the leaves was determined according to the titration-method of *Tillmans-Birch et al.*, with 2,6-dichlorophenolindophenol in acid medium.

Carotene was extracted with ether, after saponification of the chlorophyll etc. by boiling the plant-material with a saturated solution of KOH in aethanol 96 % (20 cc per g plant-material) for half an hour (*Guilbert*). Besides carotene and xanthophyll the ether contains saponified chlorophyll and flavones. The latter were removed by washing the ether with water. Then the ether was evaporated in vacuo and the residue dissolved in light petroleum; the xanthophyll was then removed from the light petroleum by extraction with 85 % and 90 % methanol.

This method could be simplified by extracting the carotene with light petroleum immediately after the saponification. Thus, no chlorophyll and flavones and only little of the xanthophyll dissolves in the light petroleum; the xanthophyll can be removed by washing once with methanol 85 %. The saponification must be carried out with only half of the amount of alcoholic KOH used by *Guilbert*. Then, by the water in the plant-material, the concentration of the aethanol is reduced to  $\pm 90\%$ ; at this concentration carotene is dissolved badly and it is easily extracted, while xanthophyll is dissolved better in the alcohol than in light petroleum. In 4 to 5 extractions, all of the carotene can be removed from the

aethanol; the further light petroleum-extracts contain xanthophyl only, which can be washed out again with methanol 85 %. Therefore the extraction of carotene is complete, when in the light petroleum-extract all of the yellow colouring matter can be removed with methanol 85 %.

The amount of carotene was determined with the Zeiss Stufenphotometer.

It was demonstrated by the results of the analyses, that the ascorbic acid- and carotenecontent of the test-plants greatly depends on the amount of nitrogen and potassium in the soil.

A larger gift of nitrogen results in a greater carotene- and vitamin C-content.

An increasing potassiumcontent of the soil causes a decrease of carotenecontent and an increase in vitamin C. Diminution of the carotenecontent is only obvious in the plants grown in pots with little nitrogen. Generally the increase in vitamin C-content is most distinct in plants grown with a high amount of nitrogen.

Under the conditions prevailing in the experiments, the influence of P-, Ca-, and Mg-salts is small.

In a „Postscript“ an attempt was made to show a relation between chlorophyl and carotene; on the other hand it was discussed, that ascorbic acid only can be a product of photosynthesis.

The effect of nitrogen and potassium on the carotene- and vitamin C-content of spinach, was explained with the aid of this hypothesis. It was emphasized once more, that in their effect on plant-physiology, nitrogen and potassium are in close interaction with each other, so that K-deficiency has the effect of N-excess and K-excess acts as N-deficiency.

Therefore, fertilizer-experiments concerning one of these two elements only are complete, if done at different concentrations of the other element.

---

## LITERATUURLIJST

- Albert*. Growing spinach in Arizona. — Univ. of Arizona, Coll. of Agr. Timely hints for farmers No. 144 (June 1923).
- Arnaud*. Recherches sur les matières colorantes des feuilles; identité de la matière rouge-orange avec la carotine  $C_{18}H_{24}O$ . — Cptes. rend. Acad. Scs. 100, (1885).
- Idem*. Recherches sur la composition de la carotine, sa fonction chimique et sa formule. — Cptes. rend. Acad. Scs. 102, (1886).
- Idem*. Dosage de la carotine contenue dans les feuilles des végétaux. — Cptes. rend. Acad. Scs. 104, (1887).
- Idem*. Recherches sur la carotine; son rôle physiologique probable dans la feuille. — Cptes. rend. Acad. Scs. 109, (1889).
- Arrhenius und Riehm*. Sedimentrische Analysenmethode. — (1926).
- Berkner und Schlimm*. Der Einfluss von nach Menge und Form gestaffelten Kaligaben auf Menge und Güte der Erträgen einer stärke-reichen Kartoffelsorte, auf die chemische Zusammensetzung der Knollen, ihren Speise- und Pflanzgutwert. — Landw. Jahrb. 76, (1932).
- Bezssonoff*. Un réactif des vitamines etc. — Nancy, (1934).
- Birch, Harris and Ray*. A micro-chemical method for determining the hexuronic acid (vit. C)-content of foodstuffs. — Biochem. J. 27, (1933).
- Idem*. Hexuronic(ascorbic)-acid as the antiscorbutic factor, and its chemical determination. — Nature 131, (1933).
- Black Kifer*. Vitamin contents of three varieties of spinach. — J. Agr. Res. 44, (1932).
- Blanck*. Der exakte Vegetationsversuch in seiner praktischen Ausführung. — Fühlings Landw. Ztg. 64, (1915).
- Bloch*. Clinical investigation of xerophthalmia and dystrophy in infants and young children. (Xerophthalmia et dystrophia alipogenetica). — J. Hyg. 19, (1921).
- Bomskov*. Methodik der Vitaminforschung. — (1935).
- Borodine*. Mélanges biologiques tirés du Bulletin de l'Académie Impériale des Sciences de St. Pétersbourg. — Bot. Ztg. 41, (1883).

- Bowden and Snow*. Photochemistry of vitamins A, B, C, D. — *Nature* 129, (1932).
- Brenchley*. The phosphate-requirement of barley at different periods of growth. — *Ann. of Bot.* 43, (1929).
- Brewster*. On the colours of natural bodies. — *Transact. Roy. Soc. Edinburgh* 12, (1834).
- Briggs*. Experimental researches on vegetable assimilation and respiration. 16. The characteristics of subnormal photosynthetic activity resulting from deficiency of nutrient salts. — *Proc. Roy. Soc. London*, 94, (1922).
- Brockmann*. Vitamin A. — *Z. f. Angew. Chem.* 523. 29, (1934).
- Broek*. Over het koper-, mangaan- en zinkgehalte van melk. — *Diss. Utrecht*, (1935).
- Bruins, Overhoff and Wolff*. The molecular weight of vitamin A. — *Biochem. J.* 25, (1931).
- Brüggeman*. Entmethylierung des Narkotins und Vitamin C. — *Z. Physiol. Chem.* 211, (1932).
- Carr and Price*. Colour reactions attributed to vitamin A. — *Biochem. J.* 20, (1926).
- Claassen en Hazeloop*. Leerboek voor de groenteteelt. Dl. II. — *Zwolle*, (1920).
- v. d. Crone*. Ergebnisse von Untersuchungen über die Wirkung der Phosphorsäure auf die höhere Pflanze und eine neue Nährlösung. — *Diss. Bonn*, (1904).
- Dalmer und Moll*. Narkotin und Vitamin C. — *Z. Physiol. Chem.* 209, (1932).
- v. Deventer*. De kleurstoffen van *Neurospora* (*Monilia*) *sitophila* Shear et Dodge. — *Diss. Utrecht*, (1930).
- Drewes*. Spinach varieties. — *Agr. Exp. St. Michigan State Coll. Spec. Bull.* 225, (May 1932).
- Drummond*. Researches on the fat-soluble accessory substance. I. Observations upon its nature and properties. — *Biochem. J.* 13, (1919).
- Drummond and Coward*. Researches on the fat-soluble accessory substance. V. The nutritive value of animal and vegetable oils and fats considered in relation to their colour. — *Biochem. J.* 14, (1920).
- Drummond and Morton*. Observations on the assay of vitamin A. — *Biochem. J.* 23, (1929).
- Dye and Christ*. Relation of soil-fertility to vitamin A-content of head-lettuce. — *J. Nutr.* 1, (1929).
- Dye, Medlock and Christ*. The association of vitamin A with greenness

- in plant tissue. I. The relative content of head- and leaf-lettuce. — J. Biol. Chem. 74, (1927).
- v. *Eekelen*. Over opname, verbruik en uitscheiding van vitamine C door de mens. — Diss. Utrecht (1936).
- v. *Eekelen and Emmerie*. Some critical remarks on the determination of ascorbic acid. — Biochem. J. 30, (1936).
- v. *Eekelen, Emmerie, Josephy and Wolff*. Investigations about vitamin C. — Act. Brev. Neerl. 3, (1933).
- Idem*. Ueber Vitamin C in Körperflüssigkeiten. — Klin. Wochenschr. 15, (1934).
- v. *Eekelen en Ruysen*. Over vitamine C en zijn chemische bepaling in voedingsmiddelen. — Pharm. Tdschr. 8, (1934).
- v. *Eekelen, Wolff en Emmerie*. Over vitamine C. — Chem. Wkbl. 32, 10, (1935).
- Emmerie*. Separation of cysteine from ascorbic acid by mercuric acetate. — Biochem. J. 28, (1934).
- Emmerie and v. Eekelen*. The chemical determination of vitamin C with removal of interfering reducing and coloured substances. Biochem. J. 28, (1934).
- v. *Euler, Demole, Karrer und Walker*. Ueber die Beziehung des Carotiningehaltes zur Vitamin-A Wirkung in verschiedenen pflanzlichen Materialien. — Helv. Chim. Act. 13, (1930).
- v. *Euler, v. Euler und Hellström*. A-Vitaminwirkungen der Lipochrome. — Biochem. Z. 203, (1928).
- v. *Euler und Karrer*. Zur Kenntnis hochkonzentrierter Vitamin A-Präparate. — Helv. Chim. Act. 14, (1931).
- Gaszner und Franke*. Der Stickstoffhaushalt junger Weizenpflanzen in seiner Abhängigkeit von der Mineralsalzernährung. Ein Beitrag zum Problem der Rostresistenz. — Phytopath. Z. 7, (1934).
- Gaszner und Goeze*. Ueber den Einfluss der Kaliernährung auf die Assimilationsgrösze von Weizenblättern. — Ber. D. Bot. Ges. 50a, (1932).
- Idem*. Weitere Untersuchungen über die Abhängigkeit der Assimilationsgrösze junger Getreideblättern von der Kaliernährung der Versuchspflanzen. — Planta 20, (1933).
- Idem*. Assimilationsverhalten, Chlorophyllgehalt und Transpirationsgrösze von Getreideblättern mit besonderer Berücksichtigung der Kalium- und Stickstoffernährung. — Z. f. Bot. 27, (1934).
- Geise and Farley*. Variety studies of spinach. — Univ. of Maryland. Agr. Exp. St. Bull. 312, (July 1929).
- Grant, Smith and Silva*. Narcotine as the alleged precursor of vitamin C. — Biochem. J. 26, (1932).

- Gregory and Richards*. Physiological studies in plant nutrition. — *Ann. of Bot.* 43, (1929).
- Grijns*. Over Polyneuritis Gallinarum. I. — *Geneesk. Tdschr. v. Ned. Ind.* 41, (1901).
- Idem*. Over Polyneuritis Gallinarum II. — *Geneesk. Tdschr. v. Ned. Ind.* 49, (1909).
- Guilbert*. Determination of carotene as a means of estimating the vitamin A-value of forage. — *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.* Vol. 6 No. 6, (1934).
- v. Hahn und Görbing*. Einfluss der Düngung auf den C-Vitamingehalt von Spinat. — *Z. Unters. Lebensm.* 6, (1933).
- Harris and Ray*. Vitamin C and the suprarenal cortex. — *Biochem. J.* 27, (1933).
- Idem*. Vitamin C and the suprarenal cortex. II. Loss of potency of guinea-pig suprarenals in scurvy, with notes on a method for determining antiscorbutic activity (hexuronic acid) by chemical means. — *Biochem. J.* 27, (1933).
- Idem*. Specificity of hexuronic(ascorbic) acid as antiscorbutic factor. — *Biochem. J.* 27, (1933).
- v. Hausen*. Zur Kenntnis der Vitaminbildung in Pflanzen. — *Act. Chem. Fennica B* 6, (1933).
- Idem*. Effect of vitamin C on the growth of plants. — *Nature* 3439 Vol. 136, (1935).
- Haworth et al.* Synthesis of d- and l-ascorbic acid and of analogous substances. — *J. Chem. Soc.* 1419, (1933).
- Heilbron, Heslop, Morton and Webster*. Characteristics of highly active vitamin-A-preparations. — *Biochem. J.* 26, (1932).
- Hellriegel, Willfarth, Römer und Wimmer*. Vegetationsversuche über den Kalibedarf einiger Pflanzen. — *Arb. D. Landw. Ges.* 34, (1898).
- Hirst and Reynolds*. Hexuronic acid as the antiscorbutic factor. — *Nature* 129, (1932).
- Holst*. Experimental studies relating to „ship-beri-beri“ and scurvy. I. Introduction. — *J. Hyg.* 7, (1907).
- Holst and Frölich*. Experimental studies relating to „ship-beri-beri“ and scurvy. II. On the etiology of scurvy. — *J. Hyg.* 7 (1907).
- Holst und Frölich*. Ueber experimentellen Skorbut. Ein Beitrag zur Lehre von dem Einfluss einer einseitigen Nahrung. — *Z. Hyg. u. Infektionskrankh.* 72, (1912).
- Honcamp*. Handbuch der Pflanzenernährung und Düngerlehre. I. Pflanzenernährung, (1931); II. Düngemittel und Düngung, (1931).

- Honegwell and Dutcher.* The influence of fertilizer-treatment on the vitamin A-content of spinach. — Penna. Agr. Exp. St. Bull. 8, (1930).
- Hudig.* Ueber die quantitative Bestimmung der Kalkbedürftigkeit der Humussandböden. — Verb. der 2e Komm. der Intern. Bodenk. Ges. Teil A, (1926).
- Hudig en Meyer.* De veenkoloniale haverziekte (3e Mededeeling). — Versl. Rijkslandbprfst. 23, (1919).
- Hudig en Sturm.* Het meten van H-ionenconcentraties in bodemextracten en suspensies. — Versl. Rijkslandbprfst. 23, (1919).
- Hume and Chick.* The standardisation and estimation of vitamin A. — Med. Res. Counc. Spec. Report Series. 202, (1935).
- Husemann.* Ueber Carotin und Hydrocarotin. — Ann. Chem. u. Pharm. (Liebig's Ann.) 117, (1891).
- 's Jacob.* Anorganische beschadigingen bij *Pisum sativum* L. en *Phaseolus vulgaris* L. — Diss. Utrecht.
- James.* Studies of the physiological importance of the mineral elements in plants. II. Potassium: its distribution, movement and relation to growth in potato. — Ann. of Bot. 45, (1931).
- Josephy.* Ultra violet absorption and Lovibond-unit of vitamin A-containing oils and fats. — Act. Brev. Neerl. 3, (1933).
- Karrer and Helfenstein.* Synthese des Squalens. — Helv. Chim. Act. 14, (1931).
- Karrer, Helfenstein, Pieper und Wettstein.* Pflanzenfarbstoffe XXIX. Die symmetrische Lycopinformel. Perhydro-Lycopin. — Helv. Chim. Act. 14, (1931).
- Karrer, Helfenstein, Wehrli, Pieper und Morf.* Pflanzenfarbstoffe XXX. Beiträge zur Kenntnis des Carotins, der Xanthophylle, des Fucoxanthins und Capsanthins. — Helv. Chim. Act. 14, (1931).
- Karrer, Helfenstein, Wehrli und Wettstein.* Pflanzenfarbstoffe XXV. Ueber die Konstitution des Lycopins und Carotins. — Helv. Chim. Act. 13, (1930).
- Karrer und Morf.* Pflanzenfarbstoffe XXXI. Zur Konstitution der zweiten Carotinform ( $\alpha$ -Carotin). — Helv. Chim. Act. 14, (1931).
- Idem.* Pflanzenfarbstoffe XXXV. Zur Konstitution des  $\beta$ -Carotins und  $\beta$ -Dihydro-Carotins. — Helv. Chim. Act. 14, (1931).
- Idem.* Synthese des Perhydro-vitamins-A. Reinigung der Vitamin-A-Präparate. — Helv. Chim. Act. 16, (1933).
- Karrer, Morf und Schöpp.* Zur Kenntnis des Vitamins A aus Fischtranen I. — Helv. Chim. Act. 14, (1931).
- Idem.* Zur Kenntnis des Vitamins A aus Fischtranen II. — Helv. Chim. Act. 14, (1931).

- Idem.* Synthese des Perhydro-vitamins-A (Vorläufige Mitteilung). — *Helv. Chim. Act.* 16, (1933).
- Karrer, Morf and Walker.* Constitution of  $\alpha$ -carotene — *Nature* 132, (1933).
- Karrer, Morf und Walker.* Pflanzenfarbstoffe LII. Konstitution des  $\alpha$ -carotins. — *Helv. Chim. Act.* 16, (1933).
- Karrer, Salomon, Morf und Walker.* Ueber mehrfach ungesättigte, den  $\beta$ - oder  $\alpha$ -Iononkohlenstoffring enthaltende Verbindungen. — *Helv. Chim. Act.* 15, (1932).
- Karrer, Schöpp und Morf.* Pflanzenfarbstoffe XLII. Zur Kenntnis der isomeren Carotine und ihre Beziehungen zum Wachstumsvitamin A. — *Helv. Chim. Act.* 15, (1932).
- Kellie and Zilva.* The catalytic oxidation of ascorbic acid. — *Biochem. J.* 29, (1935).
- King and Waugh.* The chemical nature of vitamin C. — *Science* 75, (1932).
- Kinney.* Spinach culture in Rhode Island. — *Rhode Island Agr. Exp. St. Bull.* 41, (Nov. 1896).
- Knop.* Bereitung einer concentrirten Nährstofflösung für Pflanzen. — *Landw. Versuchs-St.* 30, (1884).
- Kraus.* Zur Kenntnis der Chlorophyllfarbstoffe und ihrer Verwandte. — *Stuttgart*, (1872).
- Krüger und Wimmer.* Ueber Ursache und Abwendung der Dörrfleckenkrankheit des Hafers. — *Mitt. d. Herz. Anh. Vers. St., Bernburg*, (1914).
- Kuhn und Brockmann.*  $\alpha$ -Carotin aus Palmöl. — *Z. Physiol. Chem.* 200, (1931).
- Idem.* Bestimmung von Carotinoïden. — *Z. Physiol. Chem.* 206, 41, (1932).
- Idem.* Ueber ein neues Carotin. — *Naturwiss.* 21, (1933).
- Idem.*  $\gamma$ -Carotin (Ueber das Vitamin des Wachstums, IV Mitteilung). — *Ber.* 66, (1933).
- Idem.* Einfluss der Carotine auf Wachstum, Xerophthalmie, Kolpokeratose und Brunstcyclus. — *Klin. Wochenschr.* 25, (1933).
- Idem.* Die Konstitution des  $\beta$ -Carotins (Vorläufige Mitteilung). — *Ber.* 67, (1934).
- Kuhn und Lederer.* Fraktionierung und Isomerisierung des Carotins. — *Naturwiss.* 19, (1931).
- Idem.* Zerlegung des Carotins in seine Componenten. (Ueber das Vitamin des Wachstums, I Mitteilung). — *Ber.* 64, (1931).
- Laland.* Versuche zur Isolierung des Narkotins aus verschiedenen Vegetabilien. — *Z. Physiol. Chem.* 204, (1932).
- Lemmermann.* Untersuchungen über den Einfluss eines verschiedenen

- grossen Bodenvolumens auf die Entwicklung der Pflanzen. — J. f. Landw. 53, (1905).
- Loew. Bemerkung über die Giftwirkung des destillierten Wassers. — Landw. Jahrb. 20, (1891).
- Lloyd. Spinach early and late. — Univ. of Illinois, Coll. of Agr. and Agr. Exp. St. Circ. 404, (Febr. 1933).
- Lundegårdh. Die Nährstoffaufnahme der Pflanzen. — Jena, (1932).
- Maiwald. Wirkung hoher Nährstoffgaben auf dem Assimilationsapparat. — Z. f. Angew. Bot. 5, (1923).
- Märtius und v. Euler. Zur Reduktionsanalyse der Reduktone und Sulfhydrylverbindungen. — Biochem. Z. 271, (1934).
- Maschhaupt. In hoeverre kunnen K, Na, Ca en Mg elkander in de plant vervangen? — Versl. v. Landbouwk. Onderz. No. 40 A, (1934).
- Mc Collum and Davis. The necessity of certain lipins in the diet during growth. — J. Biol. Chem. 15, (1913).
- Idem. The influence of certain vegetable fats on growth. — J. Biol. Chem. 21, (1915).
- Mc Collum and Simmonds. A biological analysis of pellagra-producing diets. I. The dietary properties of mixtures of maize kernel and bean. — J. Biol. Chem. 32, (1917).
- Mc Collum, Simmonds and Pitz. The distribution in plants of the fat-soluble A, the dietary essential of butter-fat. — Am. J. Physiol. 41, (1916).
- Idem. The nature of the dietary deficiencies of the oat-kernel. — J. Biol. Chem. 21, (1917).
- Idem. The dietary deficiencies of the white bean, *Phaseolus vulgaris*. — J. Biol. Chem. 29, (1917).
- Idem. The supplementary dietary relationship between leaf and seed as contrasted with combinations of seed with seed. — J. Biol. Chem. 30, (1917).
- Mc Collum, Simmonds, Shipley and Park. Studies on experimental rickets. XII. Is there a substance, other than fat-soluble A, associated with certain fats which plays an important rôle in bone development. — J. Biol. Chem. 50, (1922).
- Med. Res. Council. Vitamins. A survey of present knowledge, (1932).
- Menken. Over het gehalte aan vitamine A en carotinoiden in het bloed-serum van den mensch en in de moedermelk. — Diss. Utrecht, (1934).
- Mes. Fysiologische siektesymptome van tabak. — Diss. Utrecht.
- Micheel. Das Vitamin C. — Z. f. Angew. Chem. 550, (1934).
- Mitscherlich. Bodenkunde für Land- und Forstwirte. — Berlin, (1923).

- Mitscherlich*. Die Bestimmung des Düngerbedürfnisses des Bodens. — Berlin, (1925).
- Monteverde*. Acta Horti Petropolitani 13, (1893). Gecit. door *Palmer*: Carotinoids and related pigments, (1922), p. 41.
- Moore*. The relation of carotin to vitamin A. — Lancet 2, (1929).
- Idem*. Vitamin A and carotene. V. The absence of the liver oil Vitamin A from carotene. VI. The conversion of carotene to vitamin A in vivo. — Biochem. J. 24, (1930).
- Mori*. Ueber den sogenannten Hikan (Xerosis conjunctivae infantum ev. Keratomalacia) II. — Jhrb. Kinderhbk. 59 3e Folge Bd. 9, (1904).
- Morton and Heilbron*. The absorption spectrum of vitamin A. — Biochem. J. 22, (1928).
- Müller*. Analyse der verminderten Stoffproduktion bei Stickstoffmangel. — Planta 16, (1932).
- Nobbe, Schmid, Hiltner und Richter*. Ueber den Einfluss der Keimungs-Energie des Samen auf die Entwicklung der Pflanze. — Landw. Versuchs-St. 35, (1888).
- Osborne and Mendel*. The relation of growth to the chemical constituents of the diet. — J. Biol. Chem. 15, (1913).
- Idem*. The influence of butter-fat on growth. — J. Biol. Chem. 16, (1913).
- Idem*. Further observations of the influence of natural fats upon growth. — J. Biol. Chem. 20, (1915).
- Idem*. The use of soy bean as food. — J. Biol. Chem. 23, (1917).
- Idem*. The extraction of „fat-soluble vitamine” from green foods. — Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 16, (1918).
- Idem*. The vitamins in green food. — J. Biol. Chem. 37, (1919).
- Osborne and Mendel with Wakeman*. Nutritive factors in plant tissues. IV. Fat-soluble vitamine. — J. Biol. Chem. 41, (1920).
- Palmer*. Carotinoids and related pigments. The chromolipoids. — Am. Chem. Soc. Monograph Series, (1922).
- Pfeiffer*. Der Vegetationsversuch. — Berlin, (1918).
- Pfützer und Pfaff*. Untersuchungen auf Gehalt an Carotin und Vitamin C bei Gemüse und Futterstoffen. — Z. f. Angew. Chem. 581 No. 36, (1935).
- Plaut, Bülow und Pruckner*. Chemische und spektrographische Vergleichsuntersuchungen über dem C-vitamingehalt in Gehirn, Liquor cerebrospinalis und Serum. — Z. Physiol. Chem. 234, (1935).
- Prianischnikow*. Die Düngerlehre. — Berlin, (1923).
- Randoin, Giroud et Leblond*. Relations entre le teneur en vitamine C de divers tissus végétaux et la présence ou l'absence de chlorophylle. — Cptes. Rend. Sc. Soc. Biol. 31, (1935).

- Reichstein und Grüssner.* Eine ergiebige Synthese der l-Ascorbinsäure (C-Vitamin). — *Helv. Chim. Act.* 17, (1934).
- Reichstein, Grüssner und Oppenauer.* Synthesis of d- and l-ascorbic acid. (Vitamin C). — *Nature* 132, (1933).
- Reichstein, Grüssner und Oppenauer.* Synthese der d- und l-Ascorbinsäure (C-Vitamin). — *Helv. Chim. Act.* 16, (1933).
- Remy und Dhein.* Beiträge zu den physiologischen Grundlagen der Kalidüngung. — *Landw. Jahrb.* 76, (1932).
- Remy und Liesegang.* Untersuchungen über die Rückwirkungen der Kaliversorgung auf Chlorophyllgehalt, Assimilationsleistung, Wachstum und Ertrag der Kartoffeln. — *Land. Jahrb.* 64, (1926).
- Remy und Weiske.* Untersuchungen über den Umfang und den Verlauf der Nahrungsaufnahme verschiedener Gemüsearten. — *Landw. Jahrb.* 71, (1930).
- Rippel, Behr und Meyer.* Zur Kenntnis der Wirkung des Kaliums auf höheren Pflanzen. — *Z. f. Pflanzern., D. u. B. A.* 32, (1933).
- Rosa.* Sex expression in spinach. — *Hilgardia* Vol. I No. 12, (1925).
- Rygh und Rygh.* Chemische Untersuchungen über das Antiskorbutische Vitamin. II. Ueber Narkotin und dessen Abkömmlinge als Antiskorbutica. — *Z. Physiol. Chem.* 204, (1932).
- Rygh, Rygh und Laland.* Chemische Untersuchungen über das Antiskorbutische Vitamin. I. — *Z. Physiol. Chem.* 204, (1932).
- Schaffnit und Volk.* Beiträge zur Kenntnis der Morphologie und Physiologie verschieden ernährter Pflanzen. — *Landw. Jahrb.* 68, (1928).
- Schermerhorn and Lyman.* Spinach studies in Passaic County and cultural notes. — *New-Jersey Agr. Exp. St. Bull.* 385, (June 1923).
- Scheunert.* Der Vitamingehalt der Deutschen Nahrungsmittel. I, (1929); Idem. II, (1930).
- Scherz.* The quantitative determination of carotin by means of the spectrophotometer and the colorimeter. — *J. Agr. Res.* 26, (1923).
- Idem.* The extraction and separation of chlorophyll, carotin and xanthophyll in fresh green leaves, preliminary to their quantitative determination. — *Plant Physiol.* 3, (1928).
- Idem.* The pure pigments carotin and xanthophyll and the Tswett adsorption method. — *Plant Physiol.* 4, (1929).
- Idem.* Seasonal variation of the chloroplast-pigments in several plants on the Mall in Washington. — *Plant Physiol.* 4, (1929).
- Idem.* The effect of Potassium-, Nitrogen- and Phosphorusfertilizing upon the chloroplast-pigments, upon the mineral content of the leaves and upon production in crop-plants. — *Plant Physiol.* 4, (1929).

- Schmalfusz*. Untersuchungen über den Eiweißstoffwechsel von Kalimangelpflanzen. — *Phytopath. Z.* 5, (1932).
- Schropp*. Ueber die Methode des Vegetationsversuches. — *Z. f. Pflanzern., D. u. B. A.* 12, (1928).
- Idem*. Der Mangelversuch in Form der Wasserkultur I. — *Landw. Versuchs-St.* 118, (1934).
- Schropp und Soukop*. Der Mangelversuch in Form der Wasserkultur. II. — *Landw. Versuchs-St.* 122, (1935).
- Smith*. Notes on spinach-breeding. — *Proc. Am. Soc. Hortic. Sc.*, (1920).
- Sorby*. On the application of spectrum-analysis to microscopical investigations and especially to detection of blood-stains. — *Quarterl. J. Sc.* 2, (1865).
- Idem*. On a definite method of qualitative analysis of animal and vegetable colouring matters by means of the spectrum microscope. — *Proc. Roy. Soc. Lond.* 15, (1867).
- Idem*. On the various tints of autumnal foliage. — *Quarterl. J. Sc.* 1, (Nw. Ser.) (1871).
- Idem*. On comparative vegetable chromatology. — *Proc. Roy. Soc. Lond.* 21, (1873).
- Steenbock*. White corn vs. yellow corn and a probable relation between the fat-soluble vitamine and yellow plantpigments. — *Sc. New. Ser.* 50, (1919).
- Steenbock, Boutwell and Kent*. Fat-soluble vitamine. I. — *J. Biol. Chem.* 35, (1918).
- Steenbock and Nelson*. Light in its relation to ophthalmia and growth. — *J. Biol. Chem.* 56, (1923).
- Steenbock, Nelson and Black*. Fat-soluble vitamine. XX. A modified technique for the determination of vitamin A. — *J. Biol. Chem.* 62, (1924).
- Steenbock, Sell and Buell*. Fat-soluble vitamine. VII. The fat-soluble vitamine and yellow pigmentation in animal fats with some observations on its stability to saponification. — *J. Biol. Chem.* 47, (1921).
- Stephenson*. A note on the differentiation of the yellow plant pigments from the fat-soluble vitamine. — *Biochem. J.* 14, (1920).
- Strohecker*. Ueber die Bildung, Entstehung und das örtliche Vorkommen von Vitamin C in pflanzlichen Geweben. — *Z. Unters. Lebensm.* H. 1, (1935).
- Svirbely and Szent-Györgyi*. The chemical nature of vitamin C. — *Biochem. J.* 26, (1932).
- Idem*. Hexuronic acid as the antiscorbutic factor. — *Nature* 129, (1932) blz. 576 en 690.

- Idem.* The chemical nature of vitamin C. — *Biochem. J.* 27, (1933).
- Szent-Györgyi.* Observations on the function of peroxydase systems and the chemistry of the adrenal cortex. Description of a new carbohydrate derivate. — *Biochem. J.* 22, (1928).
- Tillmans.* Das antiskorbutische Vitamin. — *Z. Unters. Lebensm.* 60, (1930).
- Tillmans und Hirsch.* Ueber das Vitamin C. — *Biochem. Z.* 250, (1930).
- Tillmans, Hirsch und Dick.* Das Reduktionsvermögen pflanzlicher Lebensmittel und seine Beziehung zum Vitamin C. IV. Ueber die Reversibilität der Oxydationen des reduzierenden Stoffes im Zitronensaft. — *Z. Unters. Lebensm.* 63, (1932).
- Tillmans, Hirsch und Hirsch.* Das Reduktionsvermögen pflanzlicher Lebensmittel und seine Beziehung zum Vitamin C. I. Der reduzierende Stoff des Zitronensaftes. — *Z. Unters. Lebensm.* 63, (1932).
- Tillmans, Hirsch und Jackisch.* Das Reduktionsvermögen pflanzlicher Lebensmittel und seine Beziehung zum Vitamin C. III. Der Gehalt der verschiedenen Obst- und Gemüsearten an reduzierendem Stoff. — *Z. Unters. Lebensm.* 63, (1932).
- Idem.* Das Reduktionsvermögen pflanzlicher Lebensmittel und seine Beziehung zum Vitamin C. V. Die antiskorbutische Wirkung verschiedener Auszüge der Gurke. — *Z. Unters. Lebensm.* 63, (1932).
- Tillmans, Hirsch und Siebert.* Das Reduktionsvermögen pflanzlicher Lebensmittel und seine Beziehung zum Vitamin C. II. Ueber die Frage ob der reduzierende Stoff des Zitronensaftes als Stabilisator für das eigentliche Vitamin fungiert. — *Z. Unters. Lebensm.* 63, (1932).
- Tillmans, Hirsch und Vaubel.* Das Reduktionsvermögen pflanzlicher Lebensmittel und seine Beziehung zum Vitamin C. VI. Die Reindarstellung des reduzierenden Stoffes aus Hagebutten und seine Identität mit dem Vitamin C. — *Z. Unters. Lebensm.* 65, (1933).
- Tswett.* Adsorptions-analyse und chromatographische Methode. Anwendung auf die Chemie des Chlorophylls. — *Ber. D. Bot. Ges.* 24, (1906).
- Idem.* Ueber den makro- und mikrochemischen Nachweis des Carotins. — *Ber. D. Bot. Ges.* 29, (1911).
- Vermast.* Over carotine. — *Diss. Utrecht*, (1931).
- Ville.* Recherches sur les relations qui existent entre la couleur des plantes et la richesse des terres en agents de fertilité. — *Cptes. rend. Acad. Scs.* 109, (1889).
- Virtanen.* The chemistry of grass crops. — *Soc. Chem. Ind.* (Nov. 22 1935).
- Virtanen, v. Hausen und Saastamoinen.* Untersuchungen über die Vitaminbildung in Pflanzen. I. — *Biochem. Z.* 267 (1933).

- Wackenroder*. Ueber das Oleum radices Dauci aetherum, das Carotin, den Carottenzucker und den officinellen succus Dauci. — Dissertatio de Anthelminticis regni vegetabilis etc. praemio ornata. Göttingen, (1826).
- Wagner*. Forschungen auf dem Gebiete der Pflanzenernährung. Stickstoffdüngung der Landwirtschaftlichen Kulturpflanzen, (1892).
- Watson et al.* The influence of artificially dried grass in the winter-ration of the dairy cow on the colour and vitamin A and D contents of butter. — Emp. J. Exp. Agr. 1, (1933).
- Weinmann*. Untersuchungen über den Einfluss des Kaliumions auf Entwicklung und Aufbau von Sommergerste. — Arch. f. Pflanzenbau 9, (1932).
- Wiesmann*. Ueber den Einfluss des Kaliums auf die Entwicklung der Pflanzen und ihren morphologischen und anatomischen Bau, bei besonderer Berücksichtigung der Landwirtschaftlichen Kulturpflanzen. — Z. f. Pflanzern., D. u. B. A., (1923).
- Willfarth*. Bericht über die Vegetationsversuche. — Arb. D. Landw. Ges. H. 34, (1898).
- Willfarth und Wimmer*. Die Kennzeichen des Kalimangels an den Blättern der Pflanzen. — Z. f. Pflanz. Krankh. 13, (1903).
- Willstaedt*. Carotinoide Bakterien- und Pilzfarbstoffe. — Samml. Chem. u. Chem.-Techn. Vorträge H 22, (1934).
- Idem*. Die Vitamine I. — Klin. Wochenschr. 24, (1935); Idem II. — Klin. Wochenschr. 47, (1935); Idem III — Klin. Wochenschr. 48, (1935).
- Willstätter und Escher*. Ueber den Farbstoff der Tomate (Zur Kenntnis des Carotins). — Z. Physiol. Chem. 64, (1910).
- Idem*. Ueber das Lutein des Hühnereidotter. — Z. Physiol. Chem. 76, (1912).
- Willstätter und Mieg*. Untersuchungen über Chlorophyll. IV. Ueber die gelben Begleiter des Chlorophylls. — Ann. d. Chem. u. Pharm. (Liebigs Ann.) 355, (1907).
- Willstätter und Page*. Ueber die Pigmente der Braunalgen. — Ann. d. Chem. u. Pharm. (Liebigs Ann.) 404, (1914).
- Willstätter und Stoll*. Untersuchungen über Chlorophyll; Methoden und Ergebnisse. — Berlin, (1913).
- Winterstein und Ehrenberg*. Ueber die Verbreitung und Natur der Carotinoide in Beeren. — Z. Physiol. Chem. 207, (1932).
- Wlodek*. Recherches sur l'influence des engrais chimiques sur le coefficient chlorophyllien I. — Bull. Acad. Polon. Scs. Let. Cl. (B). Scs. Nat. 21, (1920); Idem II. — Bull. Acad. Polon. Scs. Let. Cl. (B). Scs. Nat. 22, (1921).

- Wolff and v. Eekelen.* Demonstration of the vitameter from Hilger. — Act. Brev. Neerl. 4, (1934).
- Wolff, v. Eekelen and Emmerie.* Demonstration of the quantitative chemical estimation of vitamin C. — Act. Brev. Neerl. 3, (1933).
- Wolff, v. Eekelen en Emmerie.* Over vitamine A. — Chem. Wkbl. 32 no. 10, (1935).
- Wolff, Overhoff und v. Eekelen.* Ueber Carotin und Vitamin A. — D. Med. Wochenschr. No. 34, (1930).
- Wollny.* Neuere Forschungen auf dem Gebiete der physikalischen, chemischen und bakteriologischen Vorgänge im Boden. — Arb. D. Landw. Ges. H. 36, (1898).
- v. Wijngaarden.* Carotine, vitamine A en vitamine C in koemelk. — Diss. Utrecht, (1935).
- Zechmeister.* Carotinoide, (1934).
- Zeise.* Ueber das Carotin. — Ann. Chem. u. Pharm. (Liebig's Ann.) 62, (1847).
- Zilva.* The influence of reaction on the oxidation of the antiscorbutic factor in lemon juice. — Biochem. J. 17, (1923).
- Idem.* The antiscorbutic fraction of lemon juice. I. — Biochem. J. 18, (1924); Idem II. — Biochem. J. 18, (1924); Idem V. — Biochem. J. 21, (1927); Idem VII. — Biochem. J. 22, (1928); Idem VIII. — Biochem. J. 23, (1929); Idem IX. — Biochem. J. 24, (1930).
- Zimmerley.* Soil acidity in relation to spinach-production. — Virginia Truck Exp. St. Bull. 57, (Oct. 1926).
- Idem.* The acid tolerance range of spinach. — Proc. Am. Soc. Hortic. Sc. (1924).
- Zinzadze.* Neue normale Nährlösungen mit stabiler Reaktion (pH) während der Vegetationsperiode. — Landw. Versuchs-St. 105, (1927).
- Idem.* Mikrobestimmung von Phosphor- und Arsensäure mit Molybdänblau. Anwendung auf Bodenauszüge. — Z. f. Pflanzern., D. u. B. A 23, (1932).
-

# INHOUD

|                                                                                         | BLADZ. |
|-----------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| Inleiding . . . . .                                                                     | 1      |
| HOOFDSTUK I.                                                                            |        |
| Het vitamine A . . . . .                                                                | 4      |
| a. Algemeen . . . . .                                                                   | 4      |
| b. De physiologische functie van het vitamine A . . . . .                               | 5      |
| HOOFDSTUK II.                                                                           |        |
| Het physiologisch verband tusschen carotine en vitamine A . . . . .                     | 6      |
| HOOFDSTUK III.                                                                          |        |
| Carotine . . . . .                                                                      | 9      |
| HOOFDSTUK IV.                                                                           |        |
| De chemische verwantschap tusschen carotine en vitamine A . . . . .                     | 13     |
| HOOFDSTUK V.                                                                            |        |
| Het meten van het carotinegehalte . . . . .                                             | 15     |
| Methodiek I . . . . .                                                                   | 22     |
| Methodiek II . . . . .                                                                  | 24     |
| HOOFDSTUK VI.                                                                           |        |
| Vitamine C . . . . .                                                                    | 26     |
| a. Historisch overzicht van de ontdekking van het vitamine C . . . . .                  | 26     |
| b. De physiologische functie van het vitamine C . . . . .                               | 29     |
| HOOFDSTUK VII.                                                                          |        |
| De bepaling van het vitamine C-gehalte . . . . .                                        | 30     |
| a. Algemeen . . . . .                                                                   | 30     |
| b. De bepaling van het ascorbinezuur in de proefplanten . . . . .                       | 32     |
| c. Het bereiden en het stellen van den 2,6-dichloorphenolindophenol-indicator . . . . . | 35     |
| Methodiek . . . . .                                                                     | 36     |

## HOOFDSTUK VIII.

|                         |    |
|-------------------------|----|
| De potproeven . . . . . | 38 |
|-------------------------|----|

## HOOFDSTUK IX.

|                                        |    |
|----------------------------------------|----|
| Critisch literatuuroverzicht . . . . . | 49 |
|----------------------------------------|----|

## HOOFDSTUK X.

|                                                   |    |
|---------------------------------------------------|----|
| Beschrijving en resultaten van de onderzoeken . . | 56 |
| a. Oriënteerende proef . . . . .                  | 56 |
| b. Proeven met stikstofbemesting . . . . .        | 58 |
| c. Proeven met kalibemesting . . . . .            | 79 |
| d. Proeven met fosphaatbemesting . . . . .        | 88 |

## HOOFDSTUK XI.

|                           |     |
|---------------------------|-----|
| Slotbeschouwing . . . . . | 93  |
| Naschrift . . . . .       | 95  |
| Samenvatting . . . . .    | 102 |
| Summary . . . . .         | 104 |
| Literatuurlijst . . . . . | 107 |

---

# STELLINGEN

## I.

Met het oog op het belang, dat enkele minerale elementen, die in geringe hoeveelheid in het dierlijk lichaam aanwezig zijn, voor het diëet hebben, is een onderzoek over het quantitatieve voorkomen daarvan in Nederlandsche voedingsgewassen gewenscht.

## II.

De opvatting van v. *Hahn en Görbing*, dat elke éézijdige verhooging van de K-, P- of N-gift bij de plant een vermindering van het vitamine C-gehalte ten gevolge heeft, is onjuist.

## III.

Bij het beoordeelen van aardappelrassen moet mede aandacht geschonken worden aan het vitamine C-gehalte.

## IV.

In verband met het veelvuldig voorkomen van A-avitaminose in Ned.-Indië, verdient het aanbeveling aldaar het gebruik van roode palmolie te propageeren.

## V.

De door *Bär* aangegeven methode ter berekening van het specifiek oppervlak van klei berust op ongeoorloofde aannamen.

## VI.

Ter beoordeeling van de groeivoorwaarden van de plant is het noodzakelijk, dat naast de pH ook de buffercapaciteit van den grond wordt bepaald.

## VII.

Bij het onderzoek naar de werking van stikstofmeststoffen dient men rekening te houden met de concentratie der kalizouten.

## VIII.

Uit de experimenten van *Jacob, Hofmann en Loofmann* blijkt niet, dat montmorilloniet de belangrijkste drager van het omwisselingsvermogen van den bodem is.

## IX.

De verwekker van het tabaksmoziak is geen organisme.

## X.

*Taylor* heeft niet bewezen, dat bij behandeling van 1,1-dibroomaethaan met alcoholische loog, acetaldehyde ontstaat.

---