

W toku takiego postępowania wyłoniła się metoda bezpośredniego izolowania proliny. Z alkoholowego roztworu, otrzymanego w sposób podany w schemacie II, prolina krystalizuje przez dodanie eteru.

Do oddzielania aminokwasów zasadowych od obojętnych wprowadziłem alkoholowy roztwór mocnych kwasów organicznych, przede wszystkim kwasu trójchlorooctowego i toluenosulfonowego bądź też innych kwasów sulfonowych.

Alkoholowy roztwór tych kwasów o dużym rodniku lipofilnym rozpuszcza wszystkie aminokwasy, ale dozując stopniowo ilość kwasu można kolejno przeprowadzać do roztworu najpierw argininę, lizynę i histydynę, a następnie obojętne.

Kontrolę zawartości zasad heksonowych w kolejnych wyciągach przeprowadzałem za pomocą miareczkowania potencjometrycznego.

Następne badania, zmierzające do rozdzielania aminokwasów obojętnych oparte są na chromatografii podziałowej na kolumnach ze skrobi i celulozy (bibuły) przy użyciu jako fazy ruchomej fenolu i butanolu.

Celem przygotowania mieszaniny do chromatografii, a w szczególności w celu całkowitego pozbycia się jonów nieorganicznych oraz aminokwasów kwaśnych i zasadowych, zastosowałem metodę jonoforezy.

#### PIŚMIENNICTWO:

- 1) P r z y ł ę c k i St. J. i K a s p r z y k K., Biochem. Zeitschr. 289, 243, 1937.
- 2) P r z y ł ę c k i St. J. i K a s p r z y k - C z a y k o w s k a K., Biochem. Zeitschr. 298, 328, 1938.

P. WIERZCHOWSKI

#### TURBIDIMETRYCZNA METODA ILOŚCIOWEGO OZNACZANIA BIAŁEK

(Z Zakładu Chemii Fizjologicznej Akademii Medycznej w Warszawie).

Z pośród ogłoszonych bardzo licznych metod ilościowego oznaczania białek jedynie niewielka ich ilość znajduje zastosowanie w praktyce laboratoryjnej chemicznej i klinicznej. Pod

stawową rolę spełnia w dalszym ciągu, wymagająca czasu i precyzji wykonania metoda mikro Kjehldahla, która zresztą nie może być bezpośrednio zastosowana do analizy frakcji białkowych, uzyskiwanych przez wysalanie siarczanem amonu.

Znaną jest rzeczą, że metody turbidimetryczne lub nefelometryczne są szybkie, łatwe w wykonaniu i wymagają mało materiału. Istnieje jednak oparty na dotychczasowym doświadczeniu pogląd, że metody te nie są dokładne, są trudne do reprodukcji i u każdego analityka dają różne wyniki. Przyczyną błędów jest to, że absorbcja światła jest zależna nie tylko od stężenia rozproszonej substancji, ale również jest funkcją stopnia dyspersji.

Szereg metod turbidimetrycznego oznaczania białek, których przegląd znajdujemy między innymi w art. Paul. L. Kirka, 1947. nie uniknął podniesionych zarzutów.

Celem wyeliminowania czynników, które mogą wpłynąć na zmianę dyspersji, zastosowałem nową metodę wywoływania zmętnienia w roztworze 0,25% agaru, zawierającego 5% siarczanu amonu, przez ogrzewanie w ciągu 5 minut na wrzącej łaźni wodnej.

W tych warunkach, gdy stężenie białka w żelu agarowym nie przekracza 30 mg% uzyskuje się jednolite subtelne zmętnienie, które po szybkim ostudzeniu zostaje utrwalone i jest wygodne do oznaczenia na fotokolorymetrze, jak też może służyć jako standart.

Metoda nadaje się do szybkiego oznaczania różnych frakcji białkowych, zawierających również siarczan amonu. Pozwoli to niewątpliwie zastosować ją w badaniach klinicznych i biochemicznych do oznaczania krzywych frakcjonowania i krzywych rozpuszczalności.

Technika pomiaru jest następująca: W dobranych próbkach Wassermanowskich o jednakowej absorbcji światła (próba z barwikiem) odmierza się po 5 ml agaru 0,25%, zawierającego 5% siarczanu amonu i dodaje dokładnie odmierzoną próbkę badanego roztworu, zawierającego od 1 do 5 mg białka, po czym miesza dokładnie i wstawia na 10 minut do wrzącej kąpieli wodnej, studzi i odczytuje wynik na fotokolorymetrze.

Do odczytywania absorbcji świetlnej w próbkach zastosowałem specjalne wkładki, wykonane z plastyku o wymia-

rach kiuwety z dobrze dopasowanym wydrażeniem na probówki i bocznymi okienkami. Dalsze nasze próby zmierzają do zastosowania barwików celem dalszego zwiększenia czułości metody. Dodanie do agaru szkarłatu Bibricha (1 mg na 100 ml agaru) poprawia nieco wynik. Wyniki, z których można wyciągnąć wnioski o czułości metody, przedstawione są na załączonej tabelce. Oznaczenia wykonano na fotokolorymetrze Bonet Maury.

L. p.	Ilość ml surowicy rośc. 1 : 40	Ilość mg białka na 5 ml agaru	% absorbcji
1	agar bez białka		8,6
2	0,20	0,4	12,6
3	0,25	0,5	15,4
4	0,30	0,6	17,8
5	0,35	0,7	20,3
6	0,40	0,8	22,7
7	0,45	0,9	25,5
8	0,50	1,0	28,0
9	0,55	1,1	30,1
10	0,60	1,2	32,9
11	0,65	1,3	35,2
12	0,70	1,4	37,6

Bibliografia: Paul L. Kirk, *Advances in Prot. Chem.* III. 156, 1947.

P. WIERZCHOWSKI i L. MYSZKOWSKI

### FRAKCJONOWANE WYSALANIE BIAŁEK NA KOLUMNIE CHROMATOGRAFICZNEJ

(Z Zakładu Chemii Fizjologicznej Akademii Medycznej w Warszawie)

Rozdzielanie białek za pomocą roztworów soli obojętnych a przede wszystkim siarczanu amonu stanowi podstawową metodę, która znajduje ciągłe zastosowanie i doprowadza do wyodrębniania coraz to nowych czystych preparatów białkowych bardzo często w postaci krystalicznej (John T. Edsall 1947. przegląd literatury).