

Z ústavu pro všeobecnou biologii a experimentální morfologii.

## JEDNODUCHÁ METHODA KU STANOVENÍ INTENSITY ZÁKALŮ.

MUC. F. P a t o č k a.

Jednou z hlavních a nejjemnějších method ku stanovení stupně hysteresy protoplasmové jest vyvločkovácí methoda prof. R ů ž i č k y. Jak jmenovaný autor dokázal, jsou tkáňové kolloidy individuí mladších více, starších pak méně vzdáleny od isoelektrického bodu. Jelikož pak v isoelektrickém bodě nastává vyvločkování bílkovin, jichž kolloidy tvoří nejpodstatnější část tkáni vůbec, jest přirozeno, že ony mladší jsou ve stavu vysoké dispersity, mají tedy dále k vyvločkování než starší, jež vyvločkují velmi snadno. Tuto různou dispersitu lze zkoumati nejen na tkáni živé, nýbrž i na vodním extraktu z tkáně rozdrcené (R ů ž i č k a, 1923: Sborník prací z ústavu pro všeob. biologii). Methoda sama spočívá v tom, že k určitému množství zkoumaného extraktu přidáme přesně odměřené množství alkoholu, čímž vznikne zákal více nebo méně intensivní, dle toho, jde-li o roztok z individua staršího nebo mladšího; u kolloidů velmi starých pak vznikají již pouhým okem patrné vločky.

Je přirozeno, že množství roztoku i množství přidaného alkoholu ve dvou nebo více srovnávaných roztocích musí býti stejné. Pokud jsme při měřeních, konaných v ústavě prof. R ů ž i č k y, měli oba srovnávané roztoky po ruce současně, vystačili jsme s tím, že jsme zákal méně hustý označili jedním, hustší pak dvěma nebo i více křížky. Hůře bylo, sledoval-li jsem flokulaci extraktu z organismu během delší doby stárnoucího (různá vývojová stadia zrajících žabích vajec, nebo vývoj pulce v žábu atd.), jehož různé vývojové fáse jsem pak neměl po ruce současně, nýbrž jednu dnes a další třeba až za měsíc. Přirozeně jest velmi nesnadno si pamatovati, jak intensivní zákal byl tehdy a jak dalece se od něho dnešní liší. Z této nejistoty povstala snaha, míti konstantní řadu zákalů, třeba jiného druhu, jakousi stupnici, do níž by bylo lze pozorovaný zákal zařadit a tím přesně zachytiti pro budoucnost jeho intensitu. Jako stupnice chtěl jsem použiti řady zákalů, které vznikají reakcí mezi

dvěma anorganickým látkami, z nichž každá jest ve vodě dobře rozpustná, sraženina však nerozpustná a dá se přiměřeným dosováním vyrobiti v nejrůznější koncentraci. Ze zkoumaných látek se k tomu nejlépe hodil zákal argentchloridu, vzniklý reakcí mezi zředěnými roztoky argentnitrátu a chloridu sodného. Zákal ten možno totiž odstupňovat od nejjemnějšího, sotva patrného, až k velmi intensivnímu, při čem zůstává stejnoměrně rozptýlen a netvoří vloček; mění sice po delší době na světle barvu, to ale není pokusu na závadu, neboť, než k tomu dojde, je měření dávno hotovo. Není ovšem tento zákal (jako proteinový) stálý, nýbrž za určitou dobu klesne ke dnu, ale má tu velikou výhodu, že před každým měřením si můžeme snadno v několika minutách celou konstatní řadu zákalů připraviti znova, a to z předem opatřených roztoků  $\text{Ag NO}_3$  a  $\text{Na Cl}$ , které, dobře opatrovány ( $\text{Ag NO}_3$  v lahvičce z hnědého skla), vydrží delší dobu. Při měření počínám si takto: Ze zkoumaného roztoku bílkoviny odměřím  $2 \text{ cm}^3$  do zkumavky a přidám určité množství alkoholu (malé, abych pokud možno dostal jen zákal, ne vločky), které v řadě srovnávaných extraktů jest vždy stejné, a zákal mírně promísím. Pak odměřím do 6 zkumavek, jež tloušťkou stěn a světlostí se shodují s prvou, do každé po  $2 \text{ cm}^3$  přesně  $1\%$  roztoku  $\text{Na Cl}$  a přidávám do jednotlivých zkumavek následující množství  $10/100$  roztoku  $\text{Ag NO}_3$  (dle geometrické řady): do první  $0.05 \text{ cm}^3$ , do druhé  $0.1$ , do třetí  $0.2$ , do čtvrté  $0.4$ , do páté  $0.8$  a do šesté zkumavky  $1.6 \text{ cm}^3 \text{ Ag NO}_3$ . V těchto šesti zkumavkách obdržím 6 různě intensivních zákalů základních (jednotkových), jež označuji římskými číslicemi dle zkumavek I, II, III, IV, V, VI. Po půlminutové přestávce hledám, se kterým členem zákalů onen zkoumaný souhlasí, případně mezi které dva padne. Je-li hledaný zákal na př. mezi zákallem II a III a chci-li přesně určit, blíží-li se více ke členu nižšímu (II) nebo vyššímu (III), mohu použití řady druhého stupně (zlomkové), již označuji malou číslicí arabskou  $1, 2, 3$ , napsanou za příslušnou římskou. Jak vidno z označení, lze rozdíly v intensitě zákalů mezi dvěma sousedními členy řady vyplniti ještě třemi stupni zlomkovými, zpravidla však úplně postačí pouze prostřední ( $^2$ ), zejména mezi prvním a druhým členem ( $I^2$ ) a mezi druhým a třetím členem ( $II^2$ ). Stupně tyto vytvořuji opět ze  $2 \text{ cm}^3 \text{ Na Cl}$  přidáním násl. množství  $10/100 \text{ Ag NO}_3$ : mezi zákallem I a II vznikne po přidání  $0.075$  zákal  $I^2$ , mezi II a III po přidání  $1.5$  zákal  $II^2$ , mezi III a IV po přidání  $0.25$   $III^1$ , po  $0.3$   $III^2$ , po  $0.35$   $III^3$ , podobně mezi IV a V po  $0.5$   $IV^1$ ,  $0.6$   $IV^2$ ,  $0.7$   $IV^3$ , konečně mezi V a VI dostaneme zákal V $^1$ , V $^2$ , V $^3$  po přidání  $1, 1.2, 1.4 \text{ cm}^3$  argentnitrátu.

K technice měření podotýkám: nesmí trvati příliš dlouho (zákal se mění, a to nejintenzivnější nejrychleji); zařazují-li dříve

*f a 1 cm<sup>3</sup> 1/50*

do řady jednotkové a pak chci dodatečně určit řadu zlomkovou, je nejlépe připravit si i nový zákal proteinový i řadu zlomků (ovšem jen mezi dříve nalezenými členy řady základní). Tepelné podmínky prostředí i okolí musí býti pokud možno stejné. Zákaly se prohlížejí nejlépe v prostupujícím rozptýleném světle, nebo proti tmavému pozadí. Největší potíže působí začátečníku různé zbarvení roztoků proteinových, jež bývají slabě zažloutlé, kdežto komparator dává zákaly bělavě šedé. Tu si můžeme částečně pomoci tím, že tkáňové extrakty ještě zředíme vodou, čímž barva pozbývá na intenzitě. Hlavně však delším cvikem naučíme se odmysliti si barvu a pozorovati pouze intenzitu zákalů.

---