

Stosowaliśmy w zasadzie do większości doświadczeń układ: fenol-woda.

A m o n i a k a l n y r o z t w ó r a z o t a n u s r e b r a nadaje się do wywoływania plam węglowodanów redukujących, a nieredukujących, po przeprowadzeniu hydrolizy, ale tło bibuły ciemnieje szybko i plamy stają się trudne do odróżnienia. Trudność tę usunęliśmy przy pomocy przemywania chromatogramów rozcieńczonym tiosiarczanem sodowym. Obecność niektórych elektrolitów przy wywoływaniu azotanem srebra wprawdzie nie wpływa na zmianę wartości współczynnika R_F , ale utrudnia odczytywanie chromatogramów z powodu powstania dodatkowych plam.

S t ę ż e n i a b a d a n y c h c u k r o w c ó w w grani- cach 0,1 do 10% nie mają widocznego wpływu na zmianę współ- czynnika R_F . W toku pracy oznaczono R_F następujących cu- krowców, względnie ich pochodnych; arabinozy, ksylozy, ry- bozy (na hydrolizacie kwasu nukleinowego drożdżowego), fruktozy, glukozy, galaktozy, mannozy, maltozy, laktozy, hy- drolizatu sacharozy, kwasu glukuronowego i glukozaminy. Oznaczone wartości R_F zgadzają się z wynikami Partridge'a.

Przeprowadzone zostały próby rozdzielenia cukrowców z mieszanin. Trudności w rozdzielaniu cukrowców o zbliżonych wartościach R_F nie zostały w tym układzie rozpuszczalników i przy tym sposobie wywoływania pokonane (Układ fenol-woda, wywoływacz amoniakalny roztwór azotanu srebra).

Próby nad rozdzieleniem laktozy, glukozy i galaktozy stanowią temat następnej pracy.

T. KORZYBSKI

UPROSZCZONA METODA BIBUŁOWEJ CHROMATOGR- FII PENICYLIN.

(Z Oddziału Biochemii Państwowego Zakładu Higieny, Warszawa)

Chromatografię wykonano na krążkach bibuły o średni- cy 10 cm (Eaton Dikeman No 613 i Whatman No 41). Fazą nieruchomą był 2m fosforan potasu, $pH=6,9$, którym napajano bibułę. Fazą ruchomą był eter etylowy nasycony wodą.

Od centrum bibuły wykonywano dwa nacięcia długości 20 mm, przebiegające równolegle w odległości 3 mm od siebie ku obwodowi, gdzie małe poprzeczne cięcia doprowadzało do powstania „języczka“ o długości 20 mm i szerokości 3 mm wychodzącego z centrum bibuły. Bibułę zanurzano w 2 m fosforanie $\text{pH}=6,9$, wyciskano dokładnie między dwiema suchymi bibułami. Języczek zaginano pod kątem prostym do powierzchni bibuły. W miejscu zagięcia umieszczano przy pomocy mikropipetki dany roztwór penicyliny w objętości 0,001 ml i koncentracji od 1 do 6 tys. jednostek w ml. Bibułę umieszczano w naczyniu chromatograficznym. Było to naczynie okrągłe, średnicy 10 cm, o płaskim dnie i pionowych ścianach, wysokości 4 cm. Wstawiano do niego probówkę o płaskim dnie i wysokości tak dobranej, aby jej szczyt znajdował się na około 1 mm poniżej krawędzi naczynia. Probówkę wypełniano całkowicie eterem nasyconym wodą. Na dno naczynia wlewano kilka ml wody nasyconej eterem. Bibułę z roztworem penicyliny umieszczano w ten sposób na naczyniu, aby języczek był zanurzony w eterze, reszta jednak bibuły nie stykała się bezpośrednio z eterem, a obwodowe części bibuły spoczywały na krawędziach ścian naczynia. Bibułę przykrywano szklaną szybką. Po zakończeniu chromatografii (1—2 godz.) bibułę suszono na powietrzu, wycinano dwa segmenty (wycinki koła o kącie około 7°), z których jeden rozcinano poprzecznie na skrawki 2 mm szerokości. Wykrywanie obecności penicyliny przeprowadzano metodą płytkową, obserwując powstawanie stref zahamowania wzrostu wzorcowego szczepu gronkowca (209 P) lub laseczki siennej. Na świeżo przygotowanych płytkach *) umieszczano segmenty nierozcięte i skrawki powstałe z rozciętych segmentów. Skrawki ułożone w odległości 1 cm od siebie na obwodach dwóch kół tworzyły chromatogram rozwinięty o długości przeszło 20 cm. Płytki inkubowano 18 godzin w 38°C . Na różnych wysokościach segmentów i dookoła poszczególnych skrawków danego szeregu chromatogramu rozwiniętego powstawały ostro odgraniczone przestrzenie wolne od drobnoustrojów. Z kolejnego numeru skrawka, dookoła którego powstawała strefa za-

*) Składam podziękowanie Paniom Dr Dr: I Dzierżyńskiej. I. Niedźwieckiej i W. Woźnickiej za przygotowanie płytek.

hamowania, można było wnosić jak daleko (mm) przewędrował dany rodzaj penicyliny.

Szybkość wędrowania wzorca penicyliny heptylowej (K) była średnio 2 razy większa od szybkości wędrowania penicyliny benzylowej (G). W doświadczeniach wykonanych w różnych nieco warunkach odległość wędrowania penicyliny benzylowej wynosiła od 8 do 18 mm., heptylowej od 20 do 26 mm. Górna więc granica dla pierwszego rodzaju zaledwie dochodziła do dolnej granicy drugiego rodzaju. Analityczne więc rozdzielanie było zupełne.

Użyte bezpostaciowe preparaty penicyliny zawierały poza penicyliną benzylową zawsze penicylinę heptylową w zmiennej ilości. W jednym tylko wypadku stwierdzono obecność conajmniej trzech rodzajów penicylin. Identyfikację poszczególnych smug wykonywano przez dodatek standardów i stwierdzenie, w której smudze odnaleziono dodany wzorzec.

Uzyskanie przybliżonej proporcjonalności między średnicą pól zahamowania i logarytmem ilości jednostek znajdujących się na skrawku (0,01 — 1,00 j) uzasadnia nadzieje możliwości zastosowania uproszczonej metody do pomiarów ilościowych.

CZ. BEŁŻECKI, B. JURECKA, I. CHMIELEWSKA

CHEMIZM DZIAŁANIA DIKUMAROLU

(Z Oddziału Biochemii Głównego Instytutu Chemii Przemysłowej)

Jednym z czynników biorących udział w krzepnięciu krwi jest protrombina. Synteza jej związana jest z obecnością witaminu K. Z tego względu awitaminoza K prowadzi do obniżenia krzepliwości spowodowanej brakiem protrombiny.

Antycyzynikiem witaminu K w znaczeniu fizjologicznym jest dikumarol, wyodrębniony z zepsutej słodkiej koniczyny. Zatrucie dikumarolem powoduje podobnie jak awitaminoza K obniżenie zawartości protrombiny we krwi.

Mechanizm działania witaminu K i dikumarolu nie jest poznany. Quick oraz szereg innych badaczy przyjmuje istnienie dwóch składników protrombiny A i B, przyczym awitami-