

Ten stan rzeczy jest rezultatem bardzo dużej zmienności cechy, jaką jest maksymalna siła pociągowa konia, co powoduje konieczność opierania doświadczeń na tysiącach powtórzeń.

W warunkach jakimi dysponowano, 306 prób (102 powtórzenia) jakie przeprowadzono, było maksimum możliwości technicznych.

Niemniej jednak obserwacje wydają się stwierdzać, że uzyskane odsetki zwiększenia się maksymalnej siły pociągowej koni w uprzęży chomątowej w stosunku do uprzęży szorowej są realne i bliskie właściwych.

#### Wnioski

1. Maksymalna siła pociągowa konia mierzona przy pomocy dynamometru wykazuje bardzo dużą zmienność osobniczą i u tego samego osobnika przy kolejnych powtórzeniach.

2. Uzyskane wyniki co do wpływu rodzaju uprzęży na efekt siły pociągowej koni wyrażają się następującymi liczbami:

a) chomąto krakowskie w zaprzęgu jednokonnym powoduje zwykłą maksymalną siłę pociągową w porównaniu do szoru:

u koni nie trenowanych średnio	o 9,9%
„ „ krótko trenowanych średnio	o 12,0%
„ „ stale pracujących w uprzęży chomątowej średnio	o 14,0%

b) chomąto podlaskie w zaprzęgu jednokonnym powoduje zwykłą maksymalną siłę pociągową w porównaniu do szoru:

u koni nie trenowanych średnio	o 15,4%
„ „ krótko trenowanych średnio	o 24,3%
„ „ stale pracujących w uprzęży chomątowej średnio	o 26,1%

3. Duży zakres wahań i duża zmienność maksymalnej siły pociągowej powoduje, że uzyskane średnie różnice co do wpływu uprzęży na jej efekt, opierające się o ilość powtórzeń uważaną powszechnie za dostateczną dla przeciętnych doświadczeń, nie mają charakteru statystycznej istotności.

#### Piśmiennictwo

1. Karlson G. G., Wolejkow A. B.: Ispolzowanie icszadij w sielskom chozjajstwie — Moskwa 1947.
2. Piotraszewski W.: Przydatność różnego typu uprzęży dla koni roboczych — Biuletyn Prac Naukowo-Badawczych Instytutu Zootechniki — Dział Hodowli Koni — Kraków 1957.
3. Prawocheński R.: Hodowla Koni, tom I — Warszawa 1924.
4. Prawocheński R., Domański A., Kozłowski L.: Normalny wysiłek pociągowy konia — Annales UMCS, sectio E — Lublin 1900.
5. Stolanowici V. si Spinu Gh.: Contributti la perfectionarea sistemelor de humuri — Anale Institutului de Cercetari Zootehnice vol. XV — Bucuresti 1958.

Adres autora: dr Ewald Sasimowski, Lublin, Kr. Leszczyńskiego 9.

## TECHNIKA LABORATORYJNA

JADWIGA JUŠKO-GRUNDBOECK

### Oznaczanie białka w surowicy różnymi metodami

Z Zakładu Biochemii Instytutu Weterynarii w Puławach  
Kierownik: prof. dr J. SKULMOWSKI

W poszukiwaniu najprostszej i najdogodniejszej dla naszych celów metody oznaczania białka surowicy krwi kur i świń przeprowadzono porównawcze oznaczenia następującymi metodami:

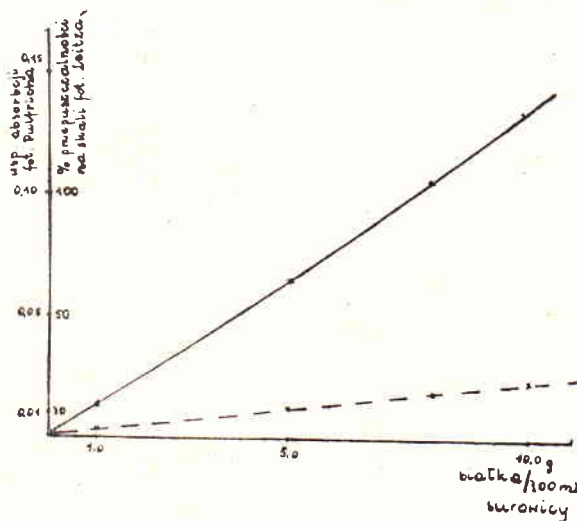
1. Kjeldahla
2. biuretowa
3. siarczanu miedziowego Philipsa — Van Slyke'a
4. refraktometryczną.

Jako porównawczą wybrano klasyczną metodę Kjeldahla (3).

Drugą metodą służącą do oznaczania białka, związku posiadającego połączenia peptydowe, jest metoda biuretowa. Przy oznaczaniu białka metodą biuretową stosowano postępowanie podane w pracy Gornalla i wsp. (1). Oznaczenie tworzącego się związku barwnego następuje kolorometrycznie przy użyciu kolorymetru Pulfricha, filtr S 53 grubość naczyń 1 cm. Metoda ta ma tę zaletę, że można nią oznaczać białko po 24 i nawet 168 godzinach oraz wykorzystywać surowice lipemiczne po ich krótkim wstrząśnięciu (10–20 sek.) z eterem. Według Gornalla różnica oznaczeń między metodami biuretową a Kjeldahla leży w granicach 1%. Do wyliczenia białka oznaczonego metodą biuretową posługiwano się krzywą kalibracji (wykres 1).

Kontrolowano również metodę siarczanu miedziowego Philipsa — Van Slyke'a (2). Ta metoda oznaczania białka polega na mierzeniu ciężaru właściwego. Kropla surowicy wprowadzona do roztworu siarczanu miedzi o znanym ciężarze właściwym otacza

się błoną białczanu miedziowego, przy czym roztwór  $\text{CuSO}_4$  pozostaje bez zmian. Kropla w ciągu 10–15 sek. wznosi się, opada lub też utrzymuje w roztworze w zależności od stosunku jej ciężaru właściwego do ciężaru właściwego  $\text{CuSO}_4$ .



Krzywa standardowa dla białka surowicy kur oznaczonego metodą biuretową. Krzywa wyznaczono przy użyciu:

- 1) fotometru Pulfricha, filtr S 53, max 1 cm
- 2) fotometru, Leitza, filtr zielony, próbki standardowe

Dla surowicy normalnej wylicza się zawartość białka (p) ze wzoru

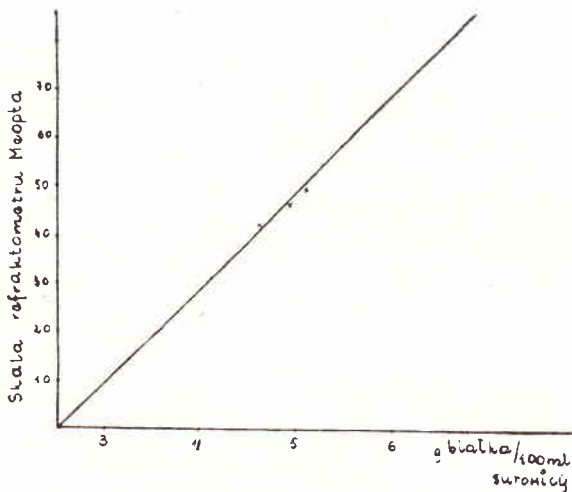
$$p = 360(c - 1,007) - 0,2$$

przy czym c oznacza ciężar właściwy surowicy badanej.

Należy wspomnieć, że ciężar właściwy surowicy zależy w znacznym stopniu od zawartości gliko- i lipoproteidów. Jeżeli zatem w surowicy obecne będą większe ilości glikoproteidów, to wówczas ciężar właściwy będzie wyższy, przeciwnie niż w wypadku większej zawartości lipoproteidów, gdzie obserwuje się niższy ciężar właściwy. Ciężar właściwy surowicy dostarcza zatem dodatkowych informacji o oznaczanym białku.

Następną metodą porównywaną z metodą Kjeldahla jest metoda refrakcji.

Metoda refrakcji określa białko bez względu na procentową zawartość lipo- czy glikoproteidów w surowicy. Wskaźnik refrakcji jest bowiem w dużym przybliżeniu wprost proporcjonalny do stężenia białka. Celem ścisłego wyliczenia białka z refrakcji należy znać współczynnik refrakcji ultrafiltratu pozbawionego substancji białkowych i wyliczyć dla każdego gatunku zwierzęcia średni przyrost współczynnika refrakcji dla przyrostu stężenia białka o 1 g w 100 ml. Posiadanie takich danych umożliwiłoby ułożenie tabel zawartości białka w surowicy każdego gatunku zwierząt. Wobec braku tabel, z których można by wyliczyć białko dla różnych surowic zwierzęcych, posługiwano się krzywą współzależności między białkiem oznaczonym metodą Kjeldahla, a odczytem skali refraktometru Meopta w temp. 20°C. Współczynnik korelacji dla tych wartości był dodatni i zbliżał się do 1. Krzywą, którą posługiwano się do wyliczeń białka, przedstawia wykres 2.



Wykres współzależności między białkiem oznaczonym metodą Kjeldahla (oś x), a odczytem skali refraktometru Meopta w 20°C dokonany dla tych samych surowic (oś y)

Wszystkimi czterema metodami analizowano równocześnie surowicę ośmiu sztuk świń i dziewięciu kur. Uzyskane wyniki zebrano w tabelach 1 i 2.

Tab. 1. Poziom białka surowicy krwi świń oznaczony różnymi metodami wyrażony w gramach na 100 ml surowicy.

Lp.	Metoda Kjeldahla	Biuretowa	Refrakcji	Siarczanu miedziowego
1	7,68	7,44	7,13	7,70
2	8,52	8,45	8,29	8,40
3	7,31	7,44	7,30	7,40
4	6,52	6,90	6,90	7,10
5	7,19	6,92	6,54	7,45
6	7,34	7,69	7,12	7,00
7	7,36	7,03	6,94	7,70
8	6,80	7,03	6,52	6,65
	7,34	7,32	7,09	7,41 średnia arytm.
	± 0,55	± 0,85	± 0,55	± 0,54 standardowe odchylenie

Tab. 2. Poziom białka surowicy krwi kur oznaczony różnymi metodami wyrażony w gramach na 100 ml surowicy.

Lp.	Metoda Kjeldahla	Biuretowa	Refrakcji	Siarczanu miedziowego
1	3,56		3,46	3,50
2	4,37		4,20	3,90
3	4,60	4,75	4,79	4,70
4	4,24	4,15	4,40	4,30
5	4,45	4,01	4,69	4,65
6	4,60	4,75	4,94	4,67
7	4,46	4,01	4,44	4,30
8	4,24	4,15	4,47	4,30
9	4,20		4,25	4,67
	4,30	4,30	4,40	4,33 średnia arytm.
	± 0,30	± 0,32	± 0,45	± 0,39 standardowe odchylenie

Najbardziej zbliżone wyniki do wyników metody Kjeldahla uzyskiwano stosując metodę biuretową i siarczanu miedziowego. Należy zatem uważać je za równoznaczne. Metodą refrakcji uzyskiwano zwykle wartości nieco inne. Należy to między innymi tłumaczyć tym, że do wyliczenia białka posługiwano się prostą regresji wyznaczoną przy pomocy stosunkowo niedużej ilości punktów.

#### Piśmiennictwo

- Gornall A., Bardwill Ch., David M.: J. Biol. Chem. 177, 1949, s. 751.
- Philips R. A., Van Slyke, Dole Kundal-Hamilton, Archibard R.: J. Biol. Chem. 183, 1950, s. 331.
- Zydowo M.: Pol. Tyg. Lek. VII, 22, 1952, s. 697.

Adres autora: J. Juško-Grundboeck — Puławy, ul. 22 Lipca 1/18.