PRÍSPEVOK K IZOLÁCII A STANOVENIU VČELIEHO JEDU

O. MARKOVIČ, L. MOLNÁR
Ústav chemickej technológie organických látok Slovenskej akadémie vied v Bratislave

Včelí jed produkujú včely-pracovnice v bunkách jedovej žľazy. Pôvodne sa predpokladalo [7], že mladé včely hneď po vyliahnutí obsahujú jed. Foerster [9] na základe pokusov uvádza, že po vyliahnutí je včela prakticky bez jedu. Jedová žľaza sa úplne naplní až po 15—20 dňoch. Po dvadsiatich dňoch sa začína jedová žľaza degenerovať, produkcia včelieho jedu prestáva a včela po tejto dobe nie je schopná jedovú žľazu naplniť druhý raz, ak už raz jed vypustila. Táto okolnosť je pre získavanie včelieho jedu dôležitá. Včely mladšie ako 15 dní poskytnú síce menšie výťažky včelieho jedu, ale odber sa dá urobiť aj druhý raz, ak sa vykonáva spôsobom, pri ktorom včely nezahynú. Včely staršie ako 15 dní sa po jednorázovom odobraní pre ďalší zber už nedajú použiť. Množstvo včelieho jedu závisí od potravy; pokusne sa zistilo, že včely žijúce na strave bez bielkovín prakticky včelí jed neprodukovali. Najväčšie množstvo jedu sa získalo z jarných generácií; z jesenných sa získalo menej. Obsah jedovej žľazy jednej včely je ca 0,3 mg tekutého jedu a po vysušení predstavuje asi 0,1 mg tuhého zvyšku. Včelí jed je tekutina o špecifickej váhe 1,1313, reakcie slabo kyslej, slabo aromatického zápachu, trpkej chuti.

Názory na zloženie včelieho jedu sú rôzne. Podľa Langera [19] včelí jed je organická báza, ktorá poskytuje alkaloidné reakcie. Flury [8] prvý poukázal, že nejde o organickú bázu typu alkaloidu. Po kyslej hydrolýze dokázal tieto zložky: tryptofán, cholín, glycerín, kyselinu fosforečnú, kyselinu palmitovú, nižšiu mastnú kyselinu (asi maslovú), nenasýtenú mastnú kyselinu a bezdusíkatý podiel, ktorému pripisuje účinnosť včelieho jedu. Starkenstein [25] na základe pokusov o stúpajúcom pôsobení barbiturátov po podaní včelieho jedu poukazuje na jeho saponínový charakter. Hahn a spolupracovníci [12, 13, 14, 15, 16, 17] rozdeľujú včelí jed do frakcií rozpúšťaním v rôzne riedenom etanole. So stúpajúcou čistotou včelieho jedu stúpa aj obsah dusíka, síry a fosforu. Na základe pokusov oproti predchádzajúcim názorom uzatvárajú, že včelí jed je látka blízko stojaca bielkovinám. Spektrograficky dokazujú z kovov jedine horčík v množstve 0,04% a meď iba v stopách. Prišli k záveru, že včelí jed pozostáva z dvoch komponentov:

1. zo slabej kyseliny s vysokým obsahom fosforu, ktorá má účinok vyvolávajúci kŕče,

2. zo slabej zásady vysokomolekulovej, ale ešte dialyzovateľnej, ktorá dáva bielkovinové reakcie. Hydrolýza na obe zložky nastáva vo vodnom roztoku. So stúpajúcou koncentráciou vodíkových iónov sa hydrolýza potlačí a opäť sa vytvorí natívny včelí jed. Havemann a Wolf [18] sa zhodujú s údajmi

G. Hahna a poskytujú ďalšie dôkazy o bielkovinovom charaktere včelieho jedu. Tak isto Wielland [27] prisudzuje včeliemu jedu bielkovinový charakter. Podľa Fassbendera [5] včelí jed je bielkovina vyššieho radu polypeptidov, ktorá obsahuje sulfhydrilové skupiny, s molekulovou váhou okolo 1000, dialyzovateľná cez pergamenovú blanu. Väčšina autorov dokázala vo včeľom jede histamín v množstve 1—1,5%. Na histamínu podobné pôsobenie včelieho jedu poukázali najprv Esex [4] a Lyssy [20]. Tetsch a Wolff [26] izolovali histamín z včelieho jedu vo forme pikrátu. Ackermann a Manner [1] po rozdelení včelieho jedu na dve frakcie pomocou kyseliny trichlóroctovej a kyseliny pikrovej zisťujú látku s účinkom zhodným s histamínom; chemická izolácia histamínu sa im však nepodarila.

Včelí jed sa izoloval týmito spôsobmi:

Mechanickým tlakom na podložku, ktorá absorbovala včelí jed, prinútili sa včely bodnúť a včelí jed sa z podložky extrahoval [12]. Využíva sa aj okolnosť [8], že včely v éterovej narkóze v excitačnom štádiu vypúšťajú časť obsahu jedových žliaz, súčasne však aj časť obsahu medových vačkov a dajú sa vhodným rozpúšťadlom v perkolátore extrahovať. Po vákuovom zahustení získava sa látka lekvárovej konzistencie, kde sa približný obsah včelieho jedu prepočíta podľa množstva včiel, ktoré sa perkolovali. Langer [19] získal natívny včelí jed zo žihadiel a jedových žliaz po ich vysušení a rozdrvení extrakciou destilovanou vodou. Pomocou absolútneho alkoholu vyzrážal včelí jed a dostal pomerne čistý produkt. Hahn [17] extrahuje žihadlá a jedové žľazy studenou zriedenou kyselinou mravčou, extrakt vákuove zahustí a zbaví balastných látok rozpúšťaním v absolútnom alkohole, v ktorom je včelí jed nerozpustný, alebo extrakt po zahustení na malý objem prikvapkáva do acetónu, kde sa vylučuje klkovitá zrazenina včelieho jedu.

Natívny včelí jed bez ďalšieho predchádzajúceho spracovania dá sa získať tým spôsobom, že sa včely prinútia vbodnúť žihadlo do vhodnej blany, ktorú žihadlo prebodne, a včelí jed zostane na druhej strane. Po vysušení sa dá mechanicky zoškrabať.

Experimentálna časť izolácie včelieho jedu

Ako materiál vhodný na izoláciu včelieho jedu preskúšali sa rôzne druhy filtračných papierov, dva druhy plstených látok, filmy plastických látok (nylon, PVC) o hrúbke 0,25-0,5 mm a mäkké gumové pláty o hrúbke 0,4-0,6 mm. Filtračný papier s najlepšou sacou schopnosťou, nie príliš hustý, ako aj plstená látka sa osvedčili pre ten spôsob odberu, keď sme chceli včely zachovať pri živote. Do plstenej látky včely vpichovali žihadlá dosť ľahko a iba 5% včiel nemohlo žihadlá vytiahnuť. Podobné výsledky poskytol aj filtračný papier.

Filmy z plastických látok sa neosvedčili, pretože aj tie najtenšie (hrúbka 0,25 mm) prebodlo maximálne 7% včiel, ostatným sa žihadlá po hladkom povrchu zošmykovali. Veľmi vhodnými sa ukázali mäkké gumové pláty o hrúbke 0,5 mm, ktoré včely ľahko prebodli, avšak žihadlá už nemohli vytiahnuť. Na druhej strane vpichu zostala malá kvapôčka jedu, ktorá sa po zaschnutí dala mechanicky zoškrabať.

Pre získanie včelieho jedu vo väčšom množstve za splnenia požiadavky, aby včely ostali nažive, použil sa systém valcov, kde sa oproti sebe vo vzdialenosti 5 mm pohybovali dva nekonečné pásy filtračného papiera, resp. plstenej látky o rozmeroch 25 × 100 cm. Včely boli nútené prejsť cez prístroj a súc dráždené mechanickým tlakom vpichovali žihadlá do filtračného papiera, resp. do plstenej látky. Okrem obsahu jedových žliaz však vypúšťali aj časť medových vačkov a vlastné exkréty, čo znečisťovalo produkt. Po rozstrihaní filtračného papiera na štvorčeky 2 × 2 cm sa včelí jed extrahoval n/2 kyselinou mravčou. Pás s ca 20 000 vpichmi sa po rozstrihaní nechal stáť jednu hodinu v porcelánovej nádobe s 2 litrami n/2 kyseliny mravčej. Po hodine sa zaplo miešadlo, ktoré miešalo, kým sa papier nerozvláknil. Po dvoch hodinách sa extrakt odsal cez fritový filter (1G3), papier na filtri sa premyl n/2 kyselinou mravčou a tak získaný číry extrakt sa vákuove zahustil pri 23—25° C. Teplota kúpeľa bola 35—38° C. Po zahustení sa získala hnedá viskózna látka, ktorá sa dosušila vo vákuovom exsikátore nad P_2O_5. Získala sa hnedá látka, silne hygroskopická, o váhe 4,726 g, javiaca účinnosť ca 20% vzhľadom na čistý včelí jed, používaný ako štandard. Obdobne sme postupovali aj pri extrahovaní plstenej látky, kde však extrakcia bola obťažnejšia ako pri spracovaní filtračného papiera a bolo treba viac extrahovadla.

Surový extrakt zahustený a úplne dokonale vysušený sa ďalej prečisťoval pomocou absolútneho etanolu. Absolútny etanol nerozpúšťa včelí jed z úplne suchého extraktu a súčasne vyzráža neúčinné látky amyloidného charakteru, ktoré na rozdiel od včelieho jedu sú v zriedenom alkohole nerozpustné.

V prvých pokusoch po rozpúšťaní zahusteného extraktu v absolútnom alkohole zahustený alkoholický extrakt javil ešte vlastnosti včelieho jedu. Iba po dokonalom vysušení vo vákuu nad P_2O_5 počas 48 hodín sa dosiahlo, že odparok po absolútnom alkohole už nejavil vlastnosti včelieho jedu. Časť v absolútnom alkohole nerozpustná bola hnedej farby a rôsolovitej konzistencie; po odcentrifugovaní (pri 3500 obrátkach/min.) a zliatí absolútneho alkoholu sa rozpúšťala za miešania so 60%-ným alkoholom za studena. Po odsatí nerozpustného podielu cez fritový filter (1G4) sa roztok vákuove zahustil a dosušil v exsikátore nad P_2O_5. Po rozpráškovaní vznikol bledožltý hygroskopický prášok, javiaci silný účinok včelieho jedu. Časť v 60%-nom alkohole nerozpustná sa po vysušení dala rozpráškovať na tmavý nehygroskopický prášok, ktorý vôbec ne-

javil vlastnosti včelieho jedu. Účinný podiel sa ďalším prečistením pomocou absolútneho alkoholu zbavil hygroskopických zložiek a po dvojnásobnom prečistení predstavoval len slabo zafarbený nehygroskopický prášok, v účinnosti však bol zhodný s hygroskopickým, len raz prečisteným produktom.

Výťažky pri spracovaní surového extraktu z filtračného papiera:

Do práce sa vzalo 0,5380 g úplne vysušeného extraktu (účinnosť ca 20%).

V absolútnom alkohole rozpustné.	.0,0903 g.	.17% neúčinné,
v 60%-nom alkohole nerozpustné.	.0,2702 g.	.51% neúčinné,
v 60%-nom alkohole rozpustné.	.0,1233 g.	.23,9% účinné.

Po prepláchnutí skleného náradia použitého pri prečistení sa získalo 0,05 g zvyšku, z toho 9,45% neúčinné.

Výťažky pri spracovaní surového extraktu z plsteného pása:

Do práce sa vzalo 3,5 g surového produktu:

V absolútnom alkohole rozpustné.	.0,6142 g.	17,8% neúčinné,
v 60%-nom alkohole nerozpustné.	.1,715 g.	.49,0% neúčinné,
v 60%-nom alkohole rozpustné.	.0,9015 g.	.25,7% účinné.
Zvyšok po prepláchnutí skla	.0,2612 g.	7,5% neúčinné.

Tieto výsledky boli v zhode s biologickými skúškami, ktorými sme v surovom extrakte zistili priemerne 20—25% účinnej látky.

Pre získavanie včelieho jedu mechanickým spôsobom sa použili gumové pláty napnuté na rám, ktorý bol na hornej strane opatrený vodivými drôtmi vo vzdialenosti 7 mm. Konce párnych drôtov boli navzájom spojené a pripojené na jeden vývod elektrického induktora, konce nepárnych drôtov zasa na druhý vývod.[1]

Takto upravený rám sa položil pred výlet úľa; včely, ktoré naň nasadali, boli podráždené elektrickým prúdom a vpichovali žihadlá do gumovej podložky. Keď bol rám včelami dostatočne zaplnený, včely sa zmietli a jedové žľazy aj so žihadlami, ktoré zostali zabodnuté na gumovej podložke, gumovou špongiou sa mierne potlačili, čím obsah včelieho jedu prešiel vo väčšom množstve na druhú stranu. Po vysušení na vzduchu včelí jed zostal vo forme bielych sklovitých kvapôčok, ktoré sa dali ostrým predmetom mechanicky zoškrabať.

Aby sa vyhlo stratám, ktoré by pri zoškrabovaní suchého včelieho jedu nastali, strana so včelím jedom sa navlhčila zriedeným alkoholom a tak sa dal včelí jed pohodlne zoškrabať. Po vysušení a rozpráškovaní sa získal natívny včelí jed vo forme bieleho nehygroskopického prášku, veľmi málo znečisteného koncami žihadiel.

Konštrukciu rámčeka aj so zapojením elektrického prúdu urobil elektromontér I. Oravec (nákres prihlásený na Úrade pre patenty a zlepšovacie návrhy).

Z gumového plátu s 2200 vpichmi bez potláčania gumovou špongiou sa získalo 0,135 g včelieho jedu, čo predstavuje 59%, ak sa berie za základ, že jedna včela produkuje 0,1 mg suchého včelieho jedu. Z gumového plátu s 3500 vpichmi po potlačení jedových žliaz špongiou sa získalo 0,245 g včelieho jedu, čo zodpovedá 70%-nému výťažku. Z ďalších dvoch plátov sa získalo priemerne 68% včelieho jedu. Zvyšok včelieho jedu, ktorý zostal v žihadlách, získal sa týmto spôsobom:

3500 žihadiel sa navlhčilo absolútnym alkoholom a po vákuovom odparení alkoholu a vysušení žihadiel sa tieto v trecej miske rozpráškovali. Takto získaný prášok sa extrahoval za studena n/2 kyselinou mravčou, extrakt sa vákuove zahustil a vysušený extrakt sa spracovával rozpúšťaním v absolútnom alkohole a v 60%-nom alkohole, ako sme uviedli pri prečisťovaní extraktov z filtračného papiera. Získalo sa 0,0912 g žlto sfarbeného nehygroskopického prášku s účinkom včelieho jedu. Toto množstvo zodpovedá 26%-nému výťažku. Pretože 70% sa získalo mechanicky z gumových plátov, oboma metódami sa dá získať natívny včelí jed priemerne v 90—95%-ných výťažkoch.

Na získanie štandardu včelieho jedu pre polarografické stanovenie sme použili papierovú vatu 3 mm hrubú, ktorú sme vložili pod gumové pláty, takže včelí jed prešiel do papierovej vaty. Týmto spôsobom sme dosiahli, že vata obsahovala iba včelí jed z ca 2000 včiel a nebola znečistená nijakými inými látkami. Po extrahovaní n/2 kyselinou mravčou a po odsatí cez filter (1G3) sa úplne číry bezfarebný extrakt zrážal 1%-ným vodným roztokom kyseliny pikrovej. Vylúčená klkovitá zrazenina žltej farby sa po odsatí na fritovom filtri (1G3) rozpustila v 90%-nom acetóne na slabo žltý roztok. Z tohto roztoku po pridaní zmesi acetónu a kyseliny soľnej 1 1 vznikla biela klkovitá zrazenina, ktorá sa po odcentrifugovaní premyla acetónom a éterom. Po vysušení vo vákuu sme získali snehobiely prášok v množstve 0,0925 g.

Analytická časť

Ako jedno z kritérií pre stanovenie obsahu včelieho jedu v injekčných roztokoch, resp. v iných farmaceutických prípravkoch použili sme histamínové pôsobenie včelieho jedu. Stanovenie sa robilo na izolovanom morčacom čreve v Magnusovom kúpeli za dodržania obvyklých podmienok. Ako štandard použili sme roztok histamínchlórhydrátu. Výsledky boli v súhlase s literárnymi údajmi, že histamín sa nachádza vo včeľom jede v 1%-nom množstve. Včelí jed sme aplikovali v koncentráciách 100, 200 a 500 μg na 1 ml a spôsoboval kontrakciu morčacieho čreva, úplne zhodnú s efektom vyvolaným histamínom v koncentrácii 1, 2 a 5 μg na 1 ml.

Injekčné roztoky stačilo zriediť na niektorú z uvedených koncentrácií a efekt porovnávať s histamínom použitým ako štandard.

Polarografické stanovenie

Už Fassbender [5] využil na analytické stanovenie včelieho jedu jeho bielkovinový charakter. Použil Brdičkovu [2, 3] reakciu a sledoval jednak potlačenie kobaltového maxima, jednak výšku katalytickej dvojvlny. Sulfhydrilové a disulfidické skupiny majú znamenitý katalytický vplyv na vylučovanie vodíka. V dobre ustálenom roztoku, napr. v n/10 NH_4Cl, n/10 NH_3 za prítomnosti bielkovín, pred vlnou amoniaku sa objavuje charakteristická vlna, ktorú vyvolávajú prítomné -SH a -S-S- skupiny, ktoré sa z roztoku pri elektrolýze nevyčerpávajú, ale pôsobia katalyticky, ako vidieť z rovníc:

$$\begin{array}{l} H^+ + 2e \rightarrow H' \\ RSH + H' \rightarrow H_2 + RS' \\ RS' + H^+ \rightarrow RSH \\ \hline 2H^+ + 2e \rightarrow H_2 \end{array}$$

Za prítomnosti Co^{II} alebo Co^{III} iónov pri potenciáli —1,25 V dávajú proteíny charakteristickú dvojvlnu. Napriek tomu cystín a cysteín v roztoku Co^{III} nedávajú katalytický efekt, ale za prítomnosti Co^{II} v n/10 NH_4Cl — NH_3 roztoku vzniká oblé maximum. Pri štandardných pokusných podmienkach výška katalytickej vlny závisí od koncentrácie bielkoviny alebo cysteínu. Závislosť nie je lineárna, ale sleduje adsorpčnú izotermu.

Klumpar vyjadroval túto závislosť empirickým vzorcom:

$$h = A \frac{[Co^{\cdot\cdot}]}{D[Co^{\cdot\cdot}] + 1} \quad \frac{\text{cystín}}{C[\text{cystín}] + 1}$$

Zdá sa však, že podobnosť tohto empirického vzorca s adsorpčnou izotermou je celkom náhodná.

Použitie polarografickej metódy na stanovenie včelieho jedu vedie k dobrým výsledkom. Pri farmaceutických produktoch polarografická metóda veľmi pomohla jednak pri stanovení koncentrácie roztokov včelieho jedu, jednak nám dala možnosť stanoviť čistotu rôznych preparátov Pomocou polarografie sa dal sledovať aj čistiaci proces surových produktov

Stanovenie sme robili jednak v roztoku $CoCl_2$, jednak v kobalthexamínchloride. Výsledky získané v prvom alebo druhom roztoku sa nelíšili podstatne.

Praktická časť

Zariadenie: Heyrovského polarograf V 301.

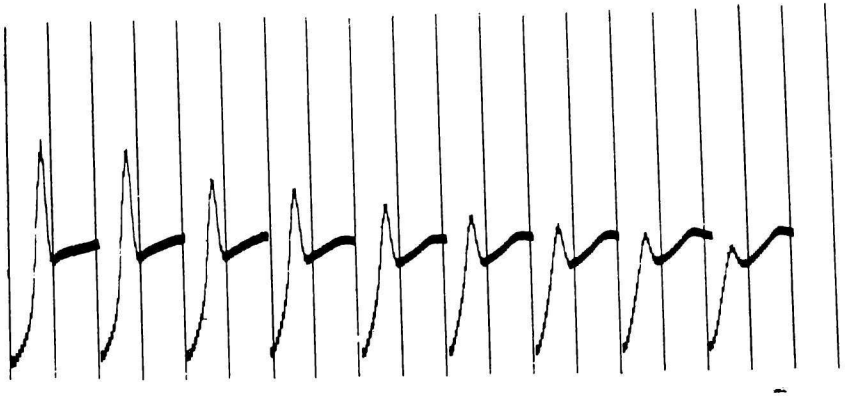
Reagencie: 1. 10 mg %-ný štandard včelieho jedu v n/10 NH_4Cl—NH_3,

2. 10^{-3} m $CoCl_2$ roztok,

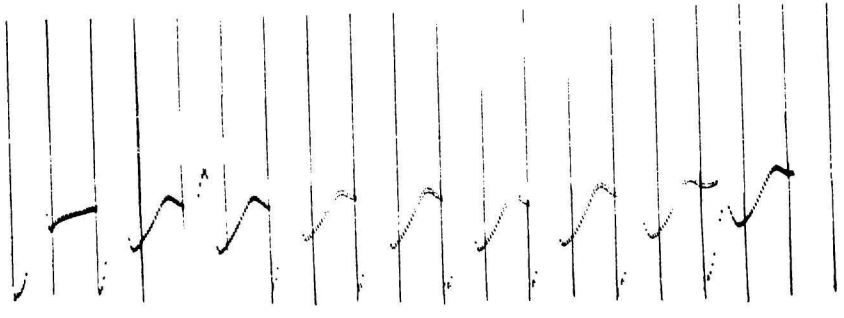
3. Brdičkov roztok,

4. n/10 NH_4Cl—NH_3.

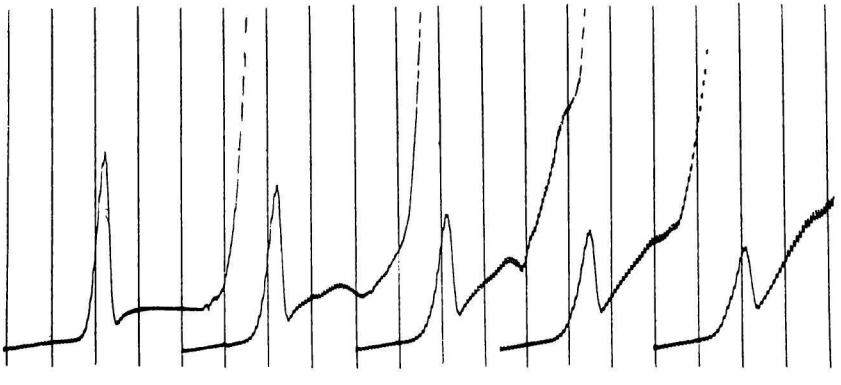
Ako prvú závislosť sme sledovali pomer koncentrácie k výške kobaltového maxima. Do roztoku 5 ml n/10 NH_4Cl a 5 ml n/10 NH_4OH sa pridá 4 ml 10^{-3} $CoCl_2$ a po 0,1 ml sa pridáva 10 mg %-ný roztok včelieho jedu. Polarografujeme za prítomnosti vzduchu.



Polarogram 1. S 1/150, t 2,8 sek., 4 V Akk. na vzduchu.



Polarogram 2. S 1/150, t 2,8 sek., 4 V Akk. na vzduchu.



Polarogram 3. S 1/200, t 2,8 sek., 4 V Akk. na vzduchu.

Z polarogramu 1 zreteľne vidieť, že zvýšenou koncentráciou sa znižuje kobaltové maximum. Zvýšenie katalytickej dvojvlny ukazuje polarogram 2, kde sme polarografovali v tom istom roztoku ako pri prvom pokuse. Polarogramy získané v kobalthexamínchloridovom roztoku nám znázorňuje polarogram 3. Podstatné rozdiely medzi dvoma elektrolytmi nie sú. Preto pri stanoveniach môžeme použiť oba.

Z uvedených polarogramov vidieť, že metóda je vhodná pre stanovenie koncentrácie včelieho jedu v roztokoch, kde nie sú cudzie bielkoviny. Podmienkou stanovenia je úzkostlivo zachované pokusné usporiadanie a dobre upravené pH roztoku na 9,55—9,65.

Kolorimetrické stanovenie

Farebné reakcie na bielkoviny patria do dvoch skupín. V prvej skupine vytvorenie farby podmieňuje prítomnosť aminokyselín. V druhej sú potrebné väzby charakteristické pre bielkoviny. Biuretová reakcia patrí do druhej skupiny. Tieto farebné reakcie nie sú špecifické, lebo nepoukazujú na celú bielkovinovú molekulu, ale len na prítomnosť jednotlivých atómových skupín. Biuretová reakcia nie je charakteristická na komponenty s proteínovým charakterom, ale práve na väzbu komponentov [22,10].

Teóriou biuretovej reakcie sa zaoberali viacerí autori. Najpozoruhodnejšie sú práce Risingove [23], Feldmannove [6] a iných [28,21]. Saurwein [24] zostavil teoretickú formu biuretového komplexu viacerých bielkovín. Po zistení, že čistý včelí jed dáva pozitívnu biuretovú reakciu, pokúsili sme sa o jeho kolorimetrické stanovenie týmto spôsobom.

Praktická časť

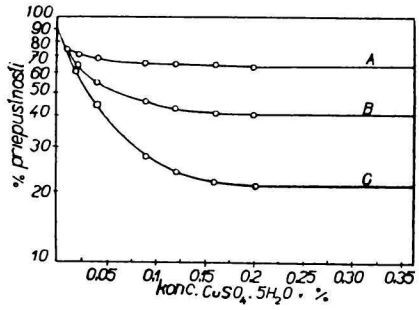
Zariadenie: Spektrofotomerer Coleman 11 A.

Reagencie: 1. 10 mg %-ný štandard včelieho jedu vo vodnom roztoku.

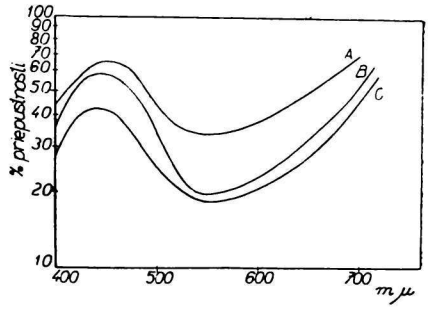
2. biuretový reagent: 20 g $CuSO_4.5H_2O$ a 6 g Seignetovej soli ($NaKC_4O_6 . 4H_2O$) sa rozpustí v 500 ml destilovanej vody, pridá sa 300 ml 10%-ného lúhu sodného, neobsahujúceho uhličitany, a doplní sa na 1000 ml destilovanou vodou.

Pre použitie biuretového reagentu sme stanovili optimálnu koncentráciu jednak včelieho jedu, jednak používaného roztoku $CuSO_4$. V tomto pokuse koncentrácia NaOH bola 3%-ná a Seignetovej soli 0,6%-ná.

Koncentrácia $CuSO_4$ bola zmenená od 0 do 0,35%. Koncentrácia včelieho jedu pri krivke *A* bola 30, pri *B* 40, pri *C* 50 mg %. Spektrofotometricky odmerané hodnoty optickej priepustnosti sme nanášali proti koncentrácii $CuSO_4$, ako je to znázornené na grafe 1. Z grafu vidieť, že optimálna koncentrácia, pri ktorej



Graf 1.



Graf 2.

optická priepustnosť dosiahne minimálnu hodnotu, je 0,20% $CuSO_4$. Veľmi podobnú hodnotu pri sledovaní optimálnej koncentrácie $CuSO_4$ v biuretovom reagente pri stanovení bielkovinových frakcií v krvnom sére zistili Gornall a Bardawill [11], a to 0,15% $CuSO_4$. Optimálna koncentrácia včelieho jedu je rádove 40 mg, ako to vidieť z krivky *C*. Pre zistenie vhodnej vlnovej dĺžky sme zhotovili extinkčnú krivku. Koncentrácia včelieho jedu v jednotlivých nameraných vzorkách *A*, *B*, *C* bola ako v predchádzajúcom pokuse. Meralo sa v kyvete 302 C medzi hranicami vlnovej dĺžky 400—700 mμ. Získané hodnoty sú znázornené na grafe 2. Z grafu získaných hodnôt sme za vhodnú vlnovú dĺžku volili 540 mμ.

Metóda

Do kolorimetrickej kyvety pipetujeme 0,5 ml roztoku včelieho jedu o obsahu 10—60 mg. Do porovnávajúceho roztoku sa pipetuje voda. Pridá sa 9,5 ml biuretového reagentu, dôkladne sa pomieša a nechá stáť 30 min. Po uplynutí tejto doby sa roztoky kolorimetrujú pri vlnovej dĺžke 540 mμ na spektrofotometri Coleman 11 A v kyvete Coleman 302 C o priemere 15 mm. Odčítané hodnoty sa vyhodnocujú pomocou kalibračnej krivky. Túto metódu možno používať pre stanovenie včelieho jedu v roztokoch, v ktorých nie sú prítomné cudzie bielkoviny, ktoré by meranie skresľovali. Presnosť metódy v optimálnych prípadoch je ± 1,0—2,0%.

Súhrn

V práci sa opisujú rôzne spôsoby izolácie natívneho včelieho jedu a jeho prečistenie. V našich pokusoch sa osvedčila metóda založená na elektrickom dráždení včiel elektrickým stimulátorom.

Ďalej sa opisuje stanovenie včelieho jedu v roztokoch týmito metódami:

1. využitie jeho účinku zhodného s histamínom,
2. polarografické stanovenie pomocou Brdičkovej reakcie,
3. kolorimetrické stanovenie na základe biuretovej reakcie.

О ВЫДЕЛЕНИИ И ОПРЕДЕЛЕНИИ ПЧЕЛИНОГО ЯДА

О. МАРКОВИЧ, Л. МОЛНАР

Словацкая Академия Наук, Институт химической технологии органических соединений, Братислава

Выводы

В работе описываются разные способы выделения нативного пчелиного яда и его очищения. В опытах авторов оказался пригодным метод, основанный на раздражении пчёл электрическим стимулятором.

Описано определение пчелиного яда растворах, именно применением следующих методов:

1. Использование его действия, которое соответствует действию гистамина;
2. Полярографическое определение с применением реакции Брдички;
3. Колориметрическое определение на основании биуретовой реакции.

Получено в редакции 12-го октября 1953 г.

BEITRAG ZUR ISOLATION UND BESTIMMUNG DES BIENENGIFTES

O. MARKOVIČ, L. MOLNÁR

Institut für chemische Technologie organischer Stoffe der Slowakischen Akademie der Wissenschaften in Bratislava

Zusammenfassung

In der Arbeit wurden verschiedene Arten der Isolierung des nativen Bienengiftes und seine Reinigung beschrieben. In unseren Versuchen hat sich die Methode der elektrischen Reizung der Bienen mit dem elektrischen Stimulator bewährt.

Weiter wurde die Bestimmung des Bienengiftes in wasserhaltigen Lösungen mit diesen Methoden beschrieben:

1. Ausnützung seiner mit dem Histamin übereinstimmten Wirkung,
2. polarographische Bestimmung mit Hilfe der Brdička-Reaktion.
3. kolorimetrische Bestimmung auf Grund der Biuret-Reaktion.

In die Redaktion eingelangt den 12. X. 1953

LITERATÚRA

1. Ackermann D., Manner H., Arch. Ges. Physiol. *274*, 623 (1936).
2. Brdička R., Coll. *5*, 112 (1933).
3. Brdička R., Biochem. Z. *272*, 104 (1934).
4. Esex H. E., Markowitz J., Mann F. C., Amer. J. Physiol. *94*, 209 (1930).
5. Fassbender W., Biochem. Z. *317*, 246 (1944).
6. Feldmann J., J. Amer. Chem. Soc. *59*, 1657 (1937).
7. Faust E. S., Hefter: Handbuch der exper. Pharmakol. II, 1923, 1880.
8. Flury F., Arch. Exp. Pathol. Pharmakol. *85*, 319 (1920).
9. Foerster K. A., Die Pharmazie *4*, 499 (1949).
10. Gavrilov N. J., Petrova R. G., Poddubnaja N. A., Ž. obšč. chim. *21*, 284 (1951).
11. Gornall A. G., Bardawill Ch. J., J. biol. Chem. *177*, 751 (1949).
12. Hahn G., Oesterr. Chem. Ztg. *42*, 57 (1939).
13. Hahn G., Fernholz M. E., Ber. *6*, 1281 (1939).
14. Hahn G., Leditschke H., Ber. *12*, 2764 (1936).
15. Hahn G., Leditschke H., Ber. *4*, 681 (1937).
16. Hahn G., Leditschke H., Ber. *7*, 1637 (1937).
17. Hahn G., Ostermayer H., Ber. *11*, 2407 (1936).
18. Havemann, Wolff K., Biochem. Z. *290*, 354 (1937).

19. Langer J., Arch. Exp. Pathol. Pharmakol. *38*, 385 (1897).
20. Lyssy R., Arch. Int. Physiol. *16*, 272 (1921).
21. Nyilasi J., Kováts Z., Magyar kémiai folyóirat *59*, 33, 129 (1953).
22. Plechan M. J., Ž. obšč. chim. *21*, 312—321 (1951).
23. Rising M. M., Parker F. M., Gaston D. R., J. Amer. Chem. Soc. *56*, 1178 (1934).
24. Saurwein J. E., J. Amer. Chem. Soc. *59*, 2177 (1937).
25. Starkenstein E., Weden H., Med. Klin. *28*, 927 (1936).
26. Tetsch Chr., Wolff K., Biochem. Z. *288*, 126 (1936).
27. Wieland, Konz, Ref. Chem. Ztrbl. *108*, 1456 (1937).
28. Zelinskij N. D., Gavrilov N. I., Vestnik M. G. U. *7*, 57 (1947).

Došlo do redakcie 12. X. 1953