

Miroslava Drachovská a Karel Šandera:

## Nové fyzikálně chemické metody v biologii — konduktometrie

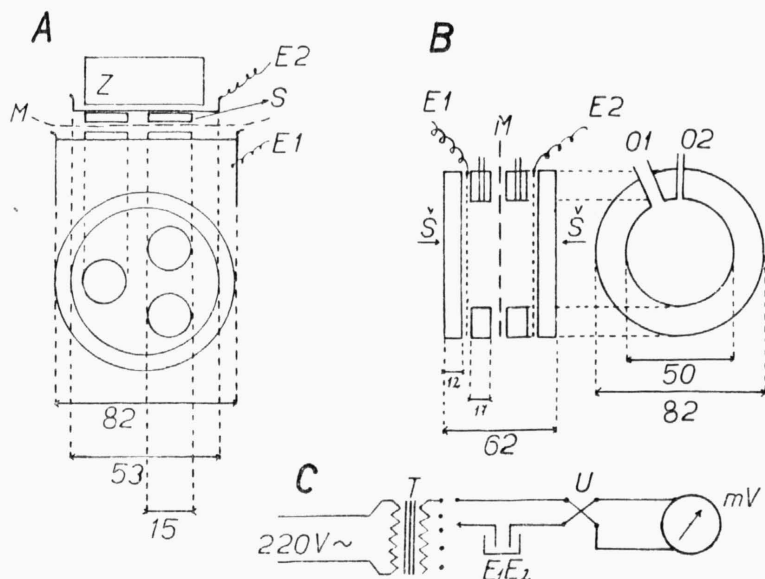
V poslední době se stále více hledají různé chemické a fyzikálně chemické metody, které by umožňovaly snadné a rychlé analýsy v biologii. Od složitých chemických metod se stále více přechází k fyzikálně chemickým rozborům, které mají značné výhody buď v jednoduchosti nebo v přesnosti a v malé spotřebě zkoušené látky. Je to zejména polarografie, chromatografie a elektroforesa, které dosáhly zcela mimořádného významu a které často ukazují značné rozdíly i tam, kde klasická chemická analýza nedochází ke kladným výsledkům. Ve snaze doplnit snadné a rychlé — třeba orientační — metody, které by umožňovaly hodnocení biologického materiálu a diferenciaci nemocných rostlin od zdravých dříve než se příznaky objeví viditelně, pokusili jsme se vypracovat některé nové nebo vyzkoušet málo běžné fyzikálně chemické způsoby. Z nich popisujeme v této předběžné zprávě *k o n d u k t o m e t r i c k é* metody, neboť mnohé ukazují na vhodné využití ve výzkumu i v praxi. U některých bude ještě zapotřebí četných teoretických studií. Domníváme se na příklad, že na modelech umělých membrán bude možno studovat a objasnit některé vztahy v metabolismu listů nebo obecně buněčného pletiva.

### 1. Elektrická vodivost membrán a listů.

#### Metodika a princip měření.

Při studiu řepných listů, napadených cercosporiosou a virovými chorobami se ukázalo, že lze z elektrické vodivosti tohoto materiálu soudit na některé změny, ke kterým dochází v průběhu času. Byly proto nejprve studovány umělé membrány a změny jejich vodivosti. Čas byl vyjádřen většinou v minutách a elektrická vodivost v úměrných hodnotách (mV, převratné hodnoty ohmů nebo v absolutních jednotkách). Vznikají tak typické křivky závislosti elektrické vodivosti (konduktivity  $K$ ) na čase (v minutách  $M$ ). Tyto  $M$ - $K$  křivky byly použity nejprve ke studiu polyamidových membrán, vzhledem k tomu, že u nich bylo možno nejspíše očekávat značné rozdíly při použití různých elektrolytů. Tato metodika má značné výhody proti dřívější, kdy byly sledovány selektivní propustnosti různých membrán (dialýsa, diasolýsa, H. B r i n t z i n g e r) nebo průchod vzácných plynů kaučukovými membránami, kdy se ukázalo, že v některých případech molekuly xenonu procházejí rychleji membránami než molekuly helia (F. J. N o r t o n). Sledování změn elektrické vodivosti membrán má výhody proti určování změn v koncentraci látek, které prodifundovaly i v tom, že konduktivitou lze sledovat i případy, kdy jde o pouhé vniknutí elektrolytu do povrchových vrstev membrány, aniž by došlo k průchodu celou tloušťkou membrány. Při měření bylo postupováno tak, že na plochu kovovou elektrodu s vyvýšenými okraji byla položena tři polarizační sklička, na ně zkoumaná membrána (obvykle po řádném vyloužení destilovanou vodou), na ni opět tři polarizační sklička a konečně druhá kovová elektroda (obr. 1A). K měření byl používán střídavý proud

6,24 a 60 V a usměrňovač. Při jiné serii pokusů 1,2 V stejnosměrného proudu přímo. Jiná měrná nádobka je naznačena na obr. 1B. K záznamu se osvědčil normální multithermograf s usměrňovačem (charakteristiky na obrázku). Převod odečtených hodnot mV na ohmy je znázorněn na obr. 2.



Obr. 1. Metodika měření změn průchodu elektrického proudu membránami s časem.

A) — M membrána (list), E1, E2 elektrody, S sklička, Z závaží.

B) — M membrána, E1, E2 elektrody, Š šroub k sepnutí nádobky (2 pryžové prstence, 2 skleněné desky), 01, 02 nalévací otvory.

C) — Střídavý proud 220 V se redukuje transformátorem T na 120 V pro pohon motorku multithermografu a současně na 6,20 a 60 V pro měření průchodu proudu mezi elektrodami E1, E2; U — měrný usměrňovač. Registrační přístroj je trojbodový, rozsah stupnice 12 mV, šířka stupnice 110 mm, šířka proužku 134, posun 20 mm za 60 minut.

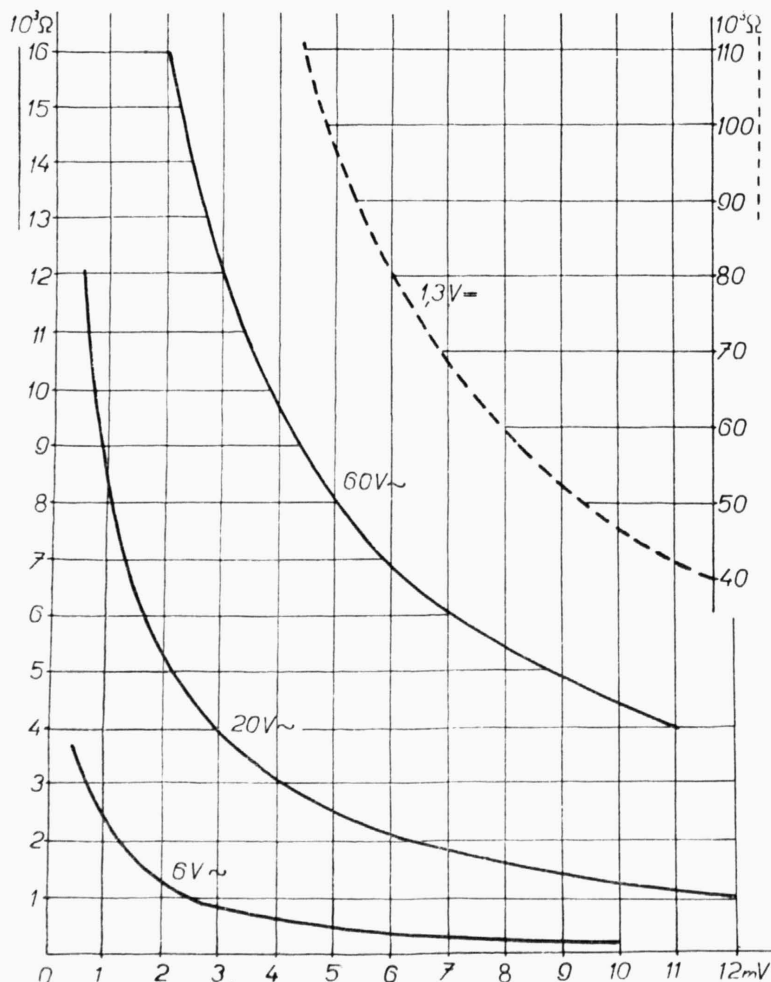
Příklad přepočtu na specifickou vodivost vlastních membrán: při 20 V ~ naměřeny 3 mV, což podle grafu obr. 2 je úměrné  $R = 4000$  ohmů. Odpor elektrolytu lze většinou zanedbat (při spec. vodivosti  $2 \cdot 10^{-3}$  je odpor elektrolytu kolem 80 ohmů) a vztáhnout celý odpor na odpor membrány poloměru  $r = 2,6$  cm a tloušťky  $L = 0,02$  cm. Specifická vodivost  $H = L : \pi r^2 R = = 2,35 \cdot 10^{-7}$ . Pro orientaci uvádíme tento přepčet změřeného odporu R a z toho vypočtené specifické vodivosti H membrány tloušťky 0,02 cm za podmínek pokusu.

R	H	R	H
500	$1,94 \cdot 10^{-6}$	6000	$1,58 \cdot 10^{-7}$
1000	$9,44 \cdot 10^{-7}$	8000	$1,17 \cdot 10^{-7}$
2000	$4,72 \cdot 10^{-7}$	10000	$9,44 \cdot 10^{-8}$
3000	$3,15 \cdot 10^{-7}$	12000	$7,89 \cdot 10^{-8}$
4000	$2,36 \cdot 10^{-7}$	14000	$6,52 \cdot 10^{-8}$
5000	$1,94 \cdot 10^{-7}$	16000	$5,88 \cdot 10^{-8}$

Jak patrné, je specifická vodivost membrán s elektrolyty poměrně velmi nízká (řádově podobná vodivosti redestilované vody) a u většiny pokusů se pohybovala v mezích  $6 \cdot 10^{-8}$  až  $2 \cdot 10^{-6}$  ohm $^{-1}$  cm $^{-1}$ .

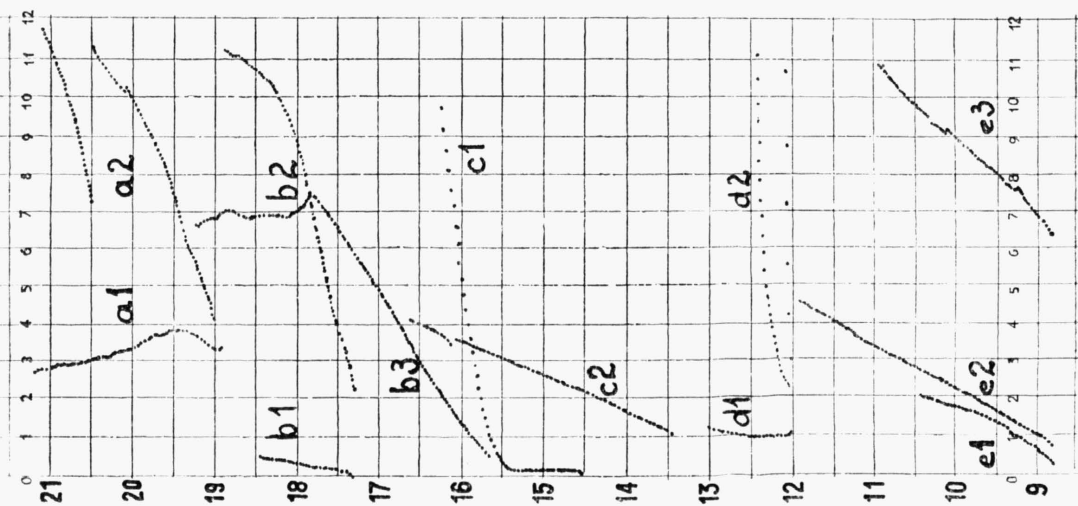
### Polyamidy a soli.

Polyamidové membrány (perlon, silon) v tloušťce 0,2 mm byly zkoušeny v roztocích zředěných solí (obvykle od 0,01 do 1 n). Většina chloridů jednomocných kovů poměrně snadno procházela, právě tak jako bromidy a jodidy i mnohé soli jednosytných organických kyselin. U dvousytných kyselin nebo dvoumocných kovů byl průchod podstatně menší. Rozdíl mezi síranem hořečnatým a chloridem draselným je tak veliký, že síran hořečnatý projevuje velmi pozvolný vzestup M-K křivky i v koncentraci 1 n a dosahuje po dvou hodinách



Obr. 2. Převod odečtení v mV na odpor v ohmech,  $10^3$  pro měření 6 V ~, 20 V ~, 60 V ~ a 1,3 V ~. Při pokusech bylo měřeno i při 1,2 a 1,1 V.

sotva jedné pětiny M-K křivky než 0,02 n KCl. Podobný průběh ukazují i některé soli trojmocných kovů, na příklad síran hlinitý (obr. 3a). Membránová vodivost může být důležitější než přímá pro charakteristiku rostlinných šťáv, kde pro zpracovatelnost mají podstatně větší význam soli typu 1—1 než 2—2 nebo docela 3—2 nebo 2—3 (mocenství—sytnost), jako u řepy, kde se většinou vícesytné a vícemocné soli odstraňují při čerění a saturaci. Ještě nápadnější rozdíl je u některých kyselin a zásad.



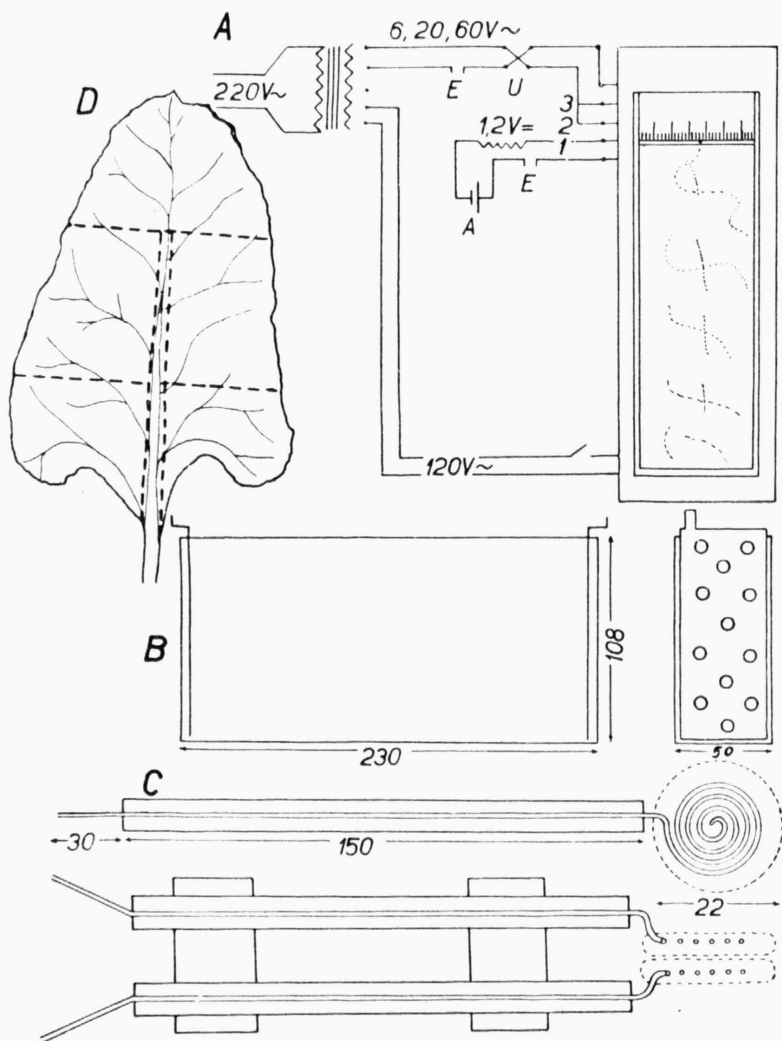
Obr. 3. Změna elektrické vodivosti s časem (Min-Kond křivky), polyamidových membrán (silon — 0,2 mm) křivky a, b; polyvinylchloridových membrán (PVC) křivky c, přírodního materiálu (d, e).

a 1) 0,1 n  $MgSO_4$ , 60 V  $\sim$ ; a 2) 0,05 n NaCl, 60 V  $\sim$  s opakováním po opláchnutí membrány;  
 b 1) kyselina citronová,  $3,11 \cdot 10^{-3}$  abs; 60 V  $\sim$ ; b 2) kyselina propionová,  $0,66 \cdot 10^{-3}$  abs; 20 V  $\sim$  (!); b 3) triethanolamin 1,  $46 \cdot 10^{-3}$  abs; 60 V  $\sim$ ; c 1) 4% roztok fenolu, 1,1 V = ; prudký zlom v 15,25 hod. (PVC); c 2) 1% roztok fenolu, 1,1 V = . (PVC); d 1) zdravý řepný list; 0,0002 KCl nasycený  $CHCl_3$ ; 1,1 V = ; d 2) totéž, středně a slabě napadený list cercosporiosou; e 1) čerstvé třešně v destilované vodě v nádobce  $45 \times 88 \times 225$  mm, 60 V (přrůstek prostupu proudy 0,012 mV za 1 min.); e 2) totéž po zbavení stopek; přrůstek 0,017 mV/min.; e 3) totéž po pomohždění promícháním; přrůstek 0,033 mV/min.

### Pol y a m i d y, k y s e l i n y a z á s a d y.

Organické kyseliny mastné řady (mravenčí, octová, propionová, máselná a jiné) vykazují velmi strmé křivky M-K, neboť již v koncentraci 0,02n ukazují mnohem větší vzestup než uvedené soli po podstatně delší době a několikanásobně vyšší koncentraci. Kyselina propionová již po 10 minutách prakticky úplně proniká zkoušenou membránou (obr. 3, b2). Jestliže místo těchto kyselin použijeme roztoků, třeba i značně koncentrovanějších oxykyselin, jako kyseliny mléčné, citronové, oxalové a pod., je vzestup vodivosti podstatně pomalejší (obr. 3, b1). Rozdíl je tak značný, že lze těchto metod užít i k detekci malých množství kyseliny octové nebo propionové vedle značných dávek kyseliny oxalové nebo citronové. Vodivost kyseliny citronové je ve vodném roztoku podstatně vyšší než u kyseliny octové, ale vodivost v membránách je právě naopak podstatně vyšší u kyseliny octové, propionové a pod. Podobně, třeba

méně výrazně, se projevují některé zásady, jako na příklad amoniak, pyridin, anilin a jiné (obr. 3, b3 — legenda u obrázku). Specifická propustnost vyplývá nejen z citovaných prací Nortonových a Brintzingerových, avšak i Bonnetových a ukazuje na naléhavost revise představ o celém mechanismu dějů, které rozhodují o vstupu rozpuštěných látek z roztoků do membrán, o struktuře povrchových vrstev a o prostupu membránami.



Obr. 4. Měřicí zařízení k sledování elektrické vodivosti cukrovkových listů, napadených cerkosporiosou.

A. Zapisovač napájený přes transformátor 120 V~ a zapojený přes elektrodové nádoby (dvojice) E na proudy 6, 20 nebo 60 V~ nebo přes nádobku E na 1,2 nebo 1,3 V=.

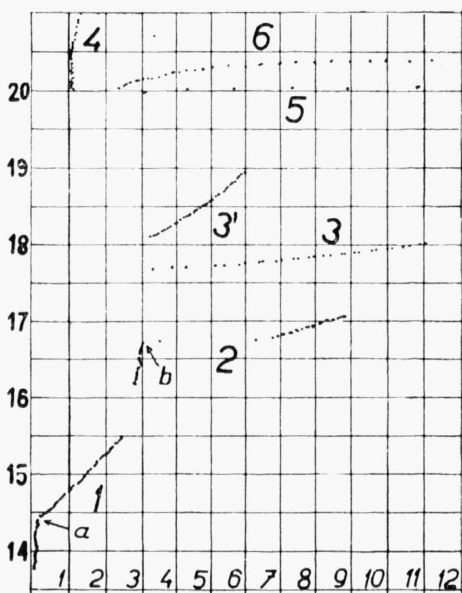
B. Nádobka k měření vodivosti listů z pěti až deseti řep.

C. Dotyková dvojice elektrod k měření změn el. vodivosti různých míst téhož listu (hodí se též ke studiu viros).

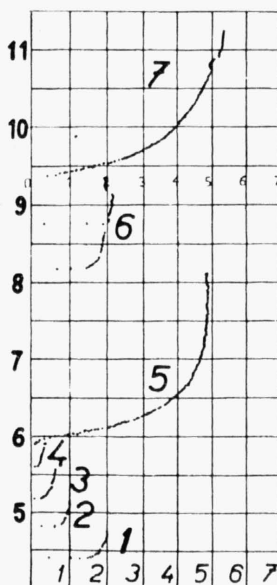
D. Řepný list s naznačeným rozstřihnutím, neboť k měření se používá jen čepele, ne řapíku ani hlavního nervu.

## Ostatní membrány.

Shodným způsobem vyzkoušeny membrány igelitové, kaučukové a pod. U igelitových se na příklad výslovně uplatňuje vodivost kyseliny pikrové vedle solí nebo anorganických kyselin nebo fenolu vedle jiných látek atd. (obr. 3, c1, c2). Těchto změn lze využít i obráceně tak, že membrány vystavíme zkoušenému prostředí a potom určujeme jejich vodivost v destilované vodě nebo ve standardním elektrolytu (na příklad 0,001 n KCl) a určujeme vodivost nebo sledujeme průběh vymývání. Není vyloučeno, že bude možné tohoto postupu použít i při sledování různých pathologických dějů, složení biologických kapalin, složení provozních hmot v potravinářství a v jiných úsecích atd.



Obr. 5a



Obr. 5b

Obr. 5a. Změny elektrické vodivosti (konduktivity K) s časem u zdravých a napadených listů. Křivka 1 značí změnu vodivosti zdravých listů v nádobce B (obr. 1) od 13,45 do 14,25 hod. V místě *a* přidána vodní suspence  $\text{CHCl}_3$ ; účinkem chloroformu došlo k vzestupu vodivosti (do 15,30 hod.); 60 V $\sim$ . — Křivka 2: jiné zdravé listy (bez omytí po rozstříhání); v bodě *b* byly listy silně mechanicky pohmožděny (vzestup křivky až do 17,05 hod.); 60 V $\sim$ . — Křivky 3, 3' značí cercosporiosové listy, u nichž byl tak prudký vzestup, že v 18,00 hod. bylo nutno zařízení přepnout ze 60 V $\sim$  na 20 V $\sim$  (křivka 3'). Vzestup je intensivnější než součet vlivů chloroformu a středního pohmoždění. — Křivky 4, 5, 6 značí měření změn el. vodivosti na jednotlivých místech listů, sledované elektrodovou dvojicí C (obr. 4): 4 zdravý list, 5 a 6 různá místa listu, napadeného slabě až středně cercosporiosou (1,2 V $\sim$ ).

Obr. 5b. Difuse řepnými koláčky 0,8 až 1,6 mm. — 1. První digesce destilovanou vodou. — 2. Týž — druhá digesce destilovanou vodou. — 3. Třetí digesce. — 4. Čtvrtá digesce — za přidavku nasycené chloroformové vody, zředěné 1 : 4. — 5. Pátá digesce — nasycenou chloroformovou vodou. — 6. Nový vzorek I. digesce destilovanou vodou — v 8,45 vyměněna destilovaná voda za  $\text{Ca}(\text{H}_2\text{SO}_4)_2$  s  $\text{CaCO}_3$ . — 7. Týž — třetí digesce, a to nasycenou chloroformovou vodou.

## Listy.

U jednotlivých listů bylo možné měřit změnu elektrické vodivosti za rozmanitých podmínek. Byly sledovány čerstvé a zavadlé květy, zdravé a nemocné listy a ukázalo se, že na příklad *Cercosporiosa* již v začátečním stadiu vykazuje podstatně rychlejší vzestup elektrické vodivosti než obdobné zdravé listy (obr. 3, d1, d2). Dále zjištěno, že průběh M-K křivek u listů, napadených žloutenkou, se zřetelně liší od listů zdravých nebo fyziologicky nažloutlých. Tato porovnání jsou ve shodě se zjištěním o nestejném vysychání (zavádání) zdravých a nemocí oslabených listů, jak je popsali *Steudefela* a *Helling* (1954).

Rozdíly v elektrické vodivosti mezi zdravými a napadenými listy cukrovky *Cercosporiosa* jsou tak značné, že byly doporučeny k objektivní klasifikaci stupně napadení. Postupovat lze zásadně dvojím směrem: buď určovat vodivost jednotlivých míst listu (asi 3—5 cm) dotykovými elektrodami (obr. 4C), nebo listy rozstříhat, jak je naznačeno na obr. 4D a vložit je do nádobky, určené ke sledování změn konduktivity s časem v drobném ovoci nebo zelenině (obr. 4B) a digerovat destilovanou vodou; v tomto případě lze najednou měřit změny elektrické vodivosti listů z pěti až deseti řep. Výsledky orientačních měření jsou v grafech, zaznamenaných registračním milivoltmetrem (obr. 4A) na obr. 5 a 6. Rozstříhané listy zdravých řep v destilované vodě (křivka 1, 2, obr. 5a) jeví nízkou konduktivitu, která stoupá přidávkem chloroformové suspence nebo mechanickým pohmožděním. Vzestup vodivosti je však podstatně vyšší, nahradíme-li zdravé listy *Cercosporiosovými* (křivka 3, obr. 5); přírůstek vodivosti byl tak prudký, že bylo třeba snížit napětí ze 60 V na 20 V, aby záznam zůstal v poli zapisovacího proužku (obr. 5, křivka 3). Změna vodivosti zdravých a různě napadených míst téhož listu je naznačena křivkami 4, 5, 6 na obr. 5; probíhají obdobně jako při měření v nádobce, i když byl použit stejnosměrný proud.

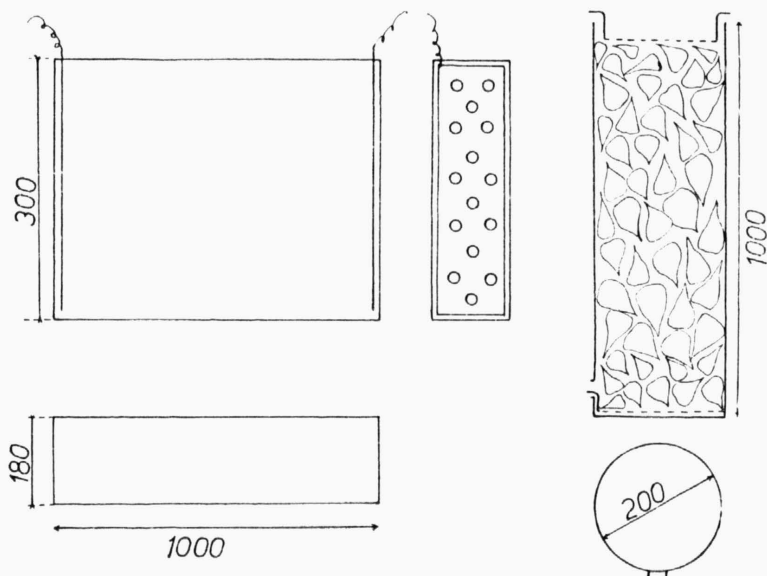
## 2. M-K diagramy rostlinných pletiv.

### Přehled dřívějších prací.

*Osterhout* ukázal na změny, které prodělávají rostlinná pletiva účinkem vnějších zásahů, jako tepla, jedů a pod., a jak se tyto změny mohou sledovat měřením změn elektrické vodivosti v průběhu času. Podobná řešení konal *Kahou* u brambor, *Prát* a jeho škola obecně u rostlinného materiálu. Ve VÚ cukrovarnickém byly sledovány jak rozdíly vodivosti, tak rozdíly v potenciálu nebo lépe řečeno ve vodivosti při stejnosměrném proudu mezi dvěma elektrodami z různých kovů, a to zejména *F. Neuwirthem* a jedním z autorů u cukrovky. Později sledoval VÚ cukrovarnický změny elektrické vodivosti suspence droždí a ukázal, jak tato vodivost souvisí se zdravotním stavem droždí. Suspence zdravého čerstvého droždí má nízkou vodivost, poškozeného nebo nezdravého droždí střední a zabitého droždí nápadně vysokou vodivost. Dochází se prakticky k téměř hodnotám, zabíjíme-li droždí vnějším teplem, el. proudem nebo přidávkem buněčných jedů jako toluenem, xylyny, octanem ethylnatým, etherem atd. Tento způsob byl též ověřen *V. Jonášem* v praxi. Obecně můžeme dobře měřit změny vlastností jedinců (organismů při dostatečném počtu v proměřovaném objemu, t. j. asi nad 50 kusů). Postačí tedy 1 ml objemu pro droždí, 50—100 ml pro drobné

ovoce, jako brusinky, borůvky atd., půl litru až jeden litr pro třešně a švestky, případně drobnou zeleninu (obr. 4B) a kol 20 litrů pro mrkev, řepu, brambory atd. (obr. 6).

Sledování MK-křivek v suspensi droždí se osvědčilo jako biologický indikátor k charakteristice účinku jedů a vlivu vnějšího prostředí a životních podmínek (výzkum dosažitelnosti mikroprvků z rudních odpadů, hledání látek v boji proti zemním škůdcům atd.). Nečekaně se tento biologický indikátor osvědčil k určování zkvasitelných cukrů i z nepatrných vzorků a v pestrých směsích (melasa, výpalky, rostlinné šťávy atd.).



Obr. 6. Zařízení k měření elektrické vodivosti heterogenní soustavy (cukrovky ve vodě).

### Jakost rostlinných pletiv a jakost povrchu.

V elektrodové nádobce (velikost elektrody  $40 \times 80$  mm, vzdálenost elektrod 200 mm) byly proměřeny třešně a listy řepy (obr. 4B). M-K křivky probíhaly zcela jinak u zdravého materiálu než u téhož materiálu po pohmoždění, ať už přesypáváním, otřásáním (napodobení dopravy) nebo jinak. Totéž platí o ovoci, které bylo po delší dobu uloženo nebo bylo nahnilé, zaplesnivělé, zbavené stopek, jak je patrné z obr. 3 e1, e2, e3). Rychlý vzestup M-K křivek způsobuje na příklad přidavek chloroformové vody a jiných jedů do vody, v nichž je ovoce proměřováno. Totéž platí o listech cukrovky, o řapících, o řepných řízkách nebo kouscích řepy atd. Je samozřejmé, že zcela shodným způsobem lze posuzovat zeleninu, jako na příklad ředkvičku nebo libovolný druh listů až po jehličí atd.

Popsaná metodika má bezprostředně praktický význam, který tkví v tom, že umožňuje číselně hodnotit biologické děje, které se dosud většinou jen popisovaly, jako na příklad zralé ovoce od nezralého do přezralého stavu, napadení



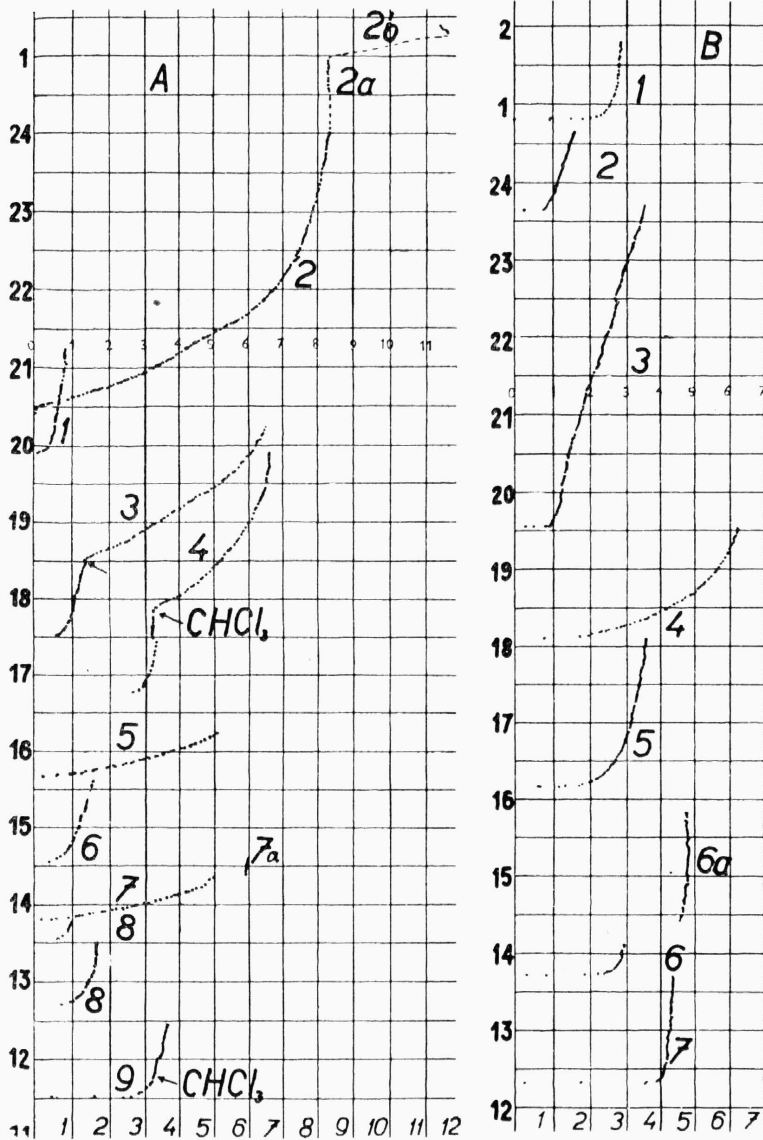
ovoce nebo zeleniny či jiného materiálu od zcela zdravého až po zcela zničený stav širokou stupnicí přechodů, stejně tak čerstvý, zavadlý a zcela zvadlý biologický materiál, podobně nepoškozený, lehce otláčený až pohmožděný a rozdrčený materiál, čerstvý a zapařený (na příklad houby) atd. Tato metoda umožňuje nejen sledovat děje, jimiž dochází k poškození (až na příklad k znehodnocení s potravinářského nebo lékařského hlediska), nýbrž i klasifikaci stupně poškození, takže není vyloučeno použití v denní praxi. Obdobné platí ovšem o živočišných produktech, na př. změny elektrické vodivosti vajec, masa, masných výrobků (i prosolování ryb), mléka, mléčných výrobků atd. Kromě toho poskytuje toto měření zajímavý předmět čistě fyzikálního výzkumu při řešení základní otázky přechodu elektrického proudu heterogenním systémem kapalina a (anisotropní až morfologicky členěná) látka. Přitom je tuhá fáze (gelovité, houbovité povrchy) oddělena od vnějšího elektrolytu propustnou (polopropustnou) membránou (na př. slupkou ovoce). Z toho důvodu též byla věnována alespoň orientační studie vodivostním poměrům v umělých blanách, i když vlastní buněčné blány jsou těmito modely demonstrovány prozatím jen velmi nedokonale.

### M-K křivky a faktor poškození (brutality) u cukrovky.

Jak bylo uvedeno, je třeba pro cukrovku dostatečně velkých nádob, aby bylo možné současně proměřovat alespoň 30—50 jedinců. Totéž platí ovšem o bramborách, jablkách, hruškách, kedlubnech, mrkvi a pod. U řepy šlo zejména o číselné vyjádření faktoru brutality, t. j. poškození povrchu a případně povrchové tkáně cukrovky, ke kterému může dojít při dopravě, při sklizni a pod. Značný zájem má technolog a stejně i producent na všech zařízeních, která přispějí k mechanisaci práce s cukrovkou, ale přitom ji co nejméně poškodí. Zkoušení elektrické vodivosti „směsi cukrovky s vodou“ je jednou z cest, která se osvědčuje alespoň k rozlišení zdravé a zřetelně poškozené cukrovky (náčrt zařízení na obr. 6).

### Vyluhování cukru z cukrovky.

Problematika těžení šťávy stejně jako ztrát cukru při vyluhování po sklizni, při dopravě, při uložení, během plavení i praní cukrovky je stále v popředí zájmu (G. O p l a t k a, M. D r a c h o v s k á, K. Š a n d e r a). Průběh vlastního vymývání řepní šťávy z porušených buněk tkáně lze snadno sledovat měřením elektrické vodivosti výluhu nebo lépe přímo suspence řepného materiálu s vodou, na příklad v nádobce, naznačené na obr. 4B. Na obr. 7 je naznačeno několik příkladů. Vyluhujeme-li cukrovky ve formě hranolků asi  $8 \times 12 \times 18$  mm za studena (obr. 7 A1), probíhá časová vodivostní křivka (M-K v průběhu 80 minut) velmi ploše a ukazuje po počátečním vymytí a vydifundování povrchové šťávy (prvních 5 až 8 minut) velmi pozvolný vzestup přibližně podle vztahu  $K = AM^n$ , kde  $K$  značí konduktivitu,  $A$  minutový přírůstek,  $n < 1$  je konstanta, závislá na koncentraci a druhu elektrolytů a tloušťce i druhu membrán; v tomto případě je  $n \approx 0,5$ . Nahradíme-li v témže systému vodu novým podílem destilované vody, tentokrát však nasycené chloroformem, obdržíme křivku 2, směřující ke konstantní hodnotě po 200 minutách, která se prakticky nemění ani po 8 hodinách; účinkem vyhřátí elektrickým proudem 220 V (5 minut) dojde sice ještě k vze-



Obr. 7. Vliv buněčných jedů a tvaru řízků na průběh difuze cukrovky.

Vlevo — A — 1. Destilovaná voda, cukrovka ve formě hranolků  $8 \times 12 \times 18$  mm. — 2. Týž vzorek s destilovanou vodou, nasycenou  $CHCl_3$ ; 2a po 8 hodinách, 2b po zabíjení vyhřátím elektrickým proudem na  $45^\circ C$ . — 3, 4. Tovární řepné řízky v destilované a v říční vodě; šipkou označeno místo, kde přidána suspenze chloroformu. — 5, 6. Jiné tovární řízky; 6 s říční vodou, 5 po výměně říční vody za říční vodu, nasycenou chloroformem. — 7, 8. Obdobné s jiným vzorkem řízků z téže partie řepy; 7a po 6 hodinách, 8 od 13,30 náhrada prvního výluhu destilovanou vodou. 9. Velmi jemné tovární řízky — difundují téměř úplně od vody; přidavek suspenze chloroformu se téměř neuplatnil.

Vpravo — B — 1. Průběh vyloučení středních řepných řízků (asi 18 m na 100 g) říční vodou. 2. Stejný vzorek řízků — digesece vodou, nasycenou toluenem. 3. Stejný vzorek řízků — digesece vodou s 1 % formalinu. 4, 5. Týž vzorek řízků po silném zaschnutí v tenké vrstvě při  $35^\circ C$ ; 5 v říční vodě, 4 říční voda vyměněna za čerstvou, nasycenou chloroformem. 6. Velmi tenké řízky (26 m na 100 g), říční voda; 6a: po účinku 220 V 10 min. ( $32^\circ C$ ). 7. Týž vzorek s přísadkou  $Ca(HSO_3)_2 \cdot CaCO_3$ .

stupu vodivosti, který se však vyrovná přibližně na původní hodnotu postupným ochlazováním. Obdobné pokusy s továrními řízky s přidavkem chloroformové suspence (obr. 7 křivky A3, 4) nebo s náhradou vody po první digesti chloroformovou vodou (obr. 7 křivky A5, 6; A 7, 7a, 8, 8) ukazují jasně rozhodující důležitost buněk pro difuzi a elektrickou vodivost. Dokud jsou neporušené, probíhá difuze velmi pomalu, jakmile dojde k porušení buněčným jedem, změní se průběh zcela zásadně. Vliv jiných nevodivých buněčných jedů je naznačen na obr. 7B: toluen (2) a formalin (3). Vliv zaschnutí před difuzí a vliv vodivých buněčných jedů [ $\text{H}_2\text{SO}_3$ ,  $\text{Ca}(\text{HSO}_3)_2$ ] je zachycen v M-K křivkách 4 až 7. Difuze řepnými koláčky tlustými 0,8 až 1,6 mm je naznačena na obr. 5b. Průběh vymývání z povrchových porušených vrstev je zřejmý ze srovnání křivek 1, 2 a 3; křivka 4 ukazuje velký detoxikační účinek živého pletiva (zředěná chloroformová voda působí stejně jako destilovaná voda), kdežto teprve plná dávka chloroformu vede k zabíjení buněk (5). Tento jednoduchý graf (obr. 5b, křivky 1 až 5) ukazuje, proč jsou v praxi marné a zcela bez vyhlídky na úspěch všechny pokusy ovlivnit difuzi nepatrnými dávkami buněčných jedů; nepůsobí, pokud se nepřekročí určité práhové množství, různé pro různé jedy; toto práhové množství zřetelně roste v řadě: chloroform, toluen, formol. Roztok bisulfitu působí méně než nasycená (až mírně zakalená) chloroformová voda (obr. 5b, křivka 6, 7).

### Měření elektrické vodivosti povrchu biologického materiálu.

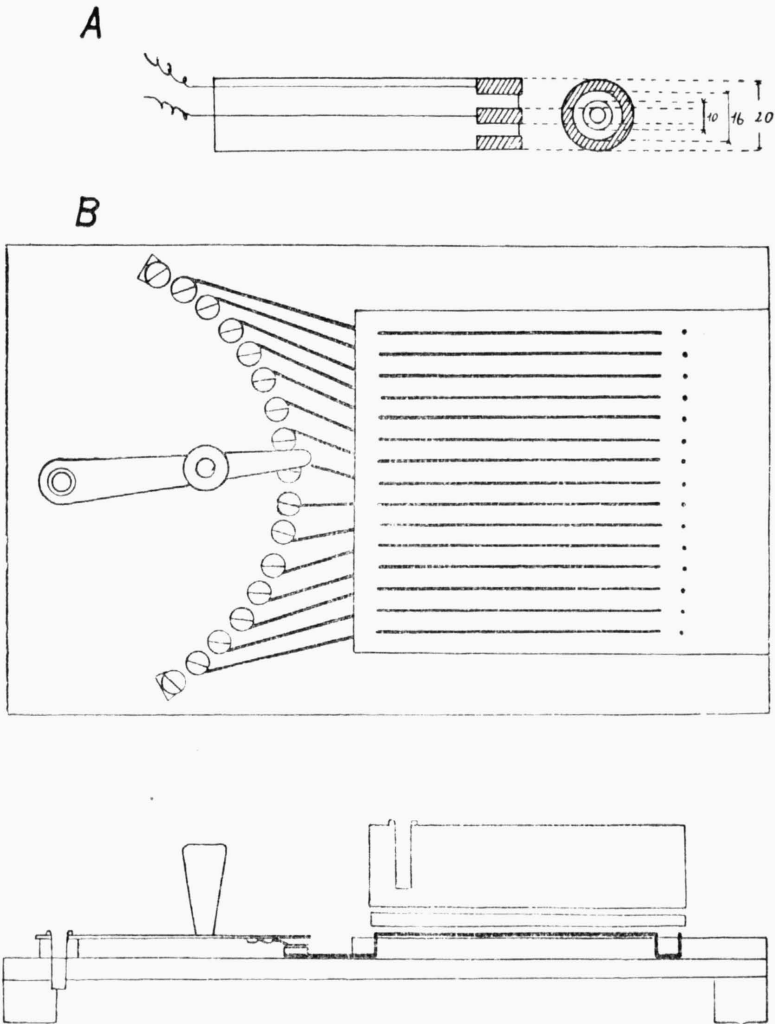
Při sledování změn povrchu biologického materiálu, na příklad průběhu kalusování cukrovky, lze použít elektrické vodivosti dotykovými elektrodami (obr. 8A); podobně při sledování dějů, provázejících vlastní zasychání zdravého nebo poraněného povrchu.

Příklady použití při měření povrchové vodivosti zaselého a čerstvého podélného a příčného řezu cukrovkou: při 20 V ~ u zaselého povrchu se pohybovala čísla, vyjádřená v mV, od 0,8 do 2,2, u čerstvého od 8,2 do 12,0 mV. Měření tenkých řezů cukrovky (na př. 6 mm) zařízením, naznačeným na obr. 8B, ukazuje poměrně malé rozdíly u zdravé cukrovky, avšak značné, je-li část cukrovky alterovaná přirozeně (nemocí, zavadnutím a podobně) nebo uměle, jako záhřevem, buněčnými jedy atd.

### Měření bez vnějšího přívodu proudu.

Naznačené měření lze uskutečnit jak stejnosměrným proudem (1,2 V), tak střídavým proudem (6, 20, 60 V). Je však možné podobné měření realizovat i bez vnějšího přívodu proudu, na příklad podle návrhu VI. Staňka použitím dvou elektrod z různých kovů, třeba zinku a stříbra. V takovém případě by ovšem docházelo k rychlé polarisaci a proto je účelné stříbro potáhnout stejno- měrnou vrstvou chloridu nebo jodidu stříbrného. Tento postup se osvědčil při měření F. Neuwirtha a našel zásadní rozvinutí a četné zcela nové aplikace v měření S. Práta a jeho školy. Ve velké skupině měření, prováděných v Botanickém ústavu Karlovy university a později v Modřanech jsme sledovali rozdíly při měření tímto způsobem nebo i u elektrod z téhož kovu, zapuštěných do pletiv různých vlastností, na příklad zdravé a nemocné nebo zdravé a poškozované řepy. Celkem je možno použít ještě jednoho způsobu, a to práce

s brzděnými elektrodami, tedy na příklad dvě elektrody z téhož kovu ve společném elektrolytu, z nichž jedna je v elektrolytu přímo ponořena, kdežto druhá je zapuštěna v rostlinném pletivu, na příklad ve válečku řepy, v řapíku řepného listu atd.



Obr. 8. Elektrody k měření povrchové konduktivity (A) a k měření změn vodivosti v biologickém materiálu (B); topografické rozdělení silněji a méně vodivé tkáňe.

### Závěr.

V heslovitém přehledu uvedeny pracovní konduktometrické metody, studované v letech 1952—1954 ve VÚ cukrovárnickém. Jejich cílem je usnadnit řešení některých biologických otázek a dosáhnout zvýšené hospodárnosti v celém úseku biologie a potravinářství lepší, pokud možná automatisovanou, kontrolou a hlubším poznáním základů biologických a technologiických dějů, rozhodujících o výsledcích pěstování a zpracování cukrovky. Pokud to bude možné, poku-

símě se zkoušené metody aplikovat i na širší potravinářské úseky a případně i k objasnění některých obecných biologických a fyzikálně chemických vztahů. V přehledu popsány ve formě předběžného sdělení změny el. vodivosti umělých membrán v prostředí různých elektrolytů, změny elektrické vodivosti rostlinných pletiv časem (křivky M—K, t. j. čas v minutách a konduktivita) a navrženy aplikace v praxi. Dále upozorněno na některé možnosti přímé topografické analytiky na použití M—K křivek při klasifikaci rozsahu cercosporiosy a při studiu vyluhování cukru z cukrovky.

#### Literatura.

- Bonnet J. B., Roth R.: Sur les erreurs causées dans la détermination osmotique par la diffusion de polymères à travers les membranes, Bull. Soc. Chim. France 1954, 1255—1257.
- Böttger W. (Jander O., Pfundt O., Šandera K., Heyrovský J.): Physikalische Methoden der analytischen Chemie, II. Teil: Polarografie, Leitfähigkeit, Elektroanalyse, Ak. Verlagsg. Ceest u. Portig, Leipzig 1949.
- Brintzinger H., Beier H.: Die Diasolyse, Kolloid Zt. 79, 324—331, 1937.
- Drachovská M., Havránek A., Kočmíd V., Melounová O., Löbl K., Pavlas P., Stehlík V., Šandera K., Tuček J., Zeman J.: Ochrana sklizené řepy, Průmyslové vydavatelství, Praha 1951.
- Drachovská M., Šandera K.: Změny technologické jakosti řepy při uložení, Listy cukrovarnické 67, 5—6, 1951, str. 119.
- Drachovská M., Šandera K.: Klasifikace stupně napadení cukrovky cercosporiosou podle elektrické vodivosti pletiva a výluhů, Listy cukrovarnické 71, 65—67, 1955; Vyluhování cukru z cukrovky, Listy cukrovarnické 71, 1955, 166—169.
- Köhler E., Klinkowski M.: Viruskrankheiten (Handbuch der Pflanzenkrankheiten, beg. v. P. Sorauer), Paul Parey, Berlin a Hamburg 1954.
- Küster E.: Die Pflanzenzelle, 2. vyd. 1951, str. 536—681; struktura membrán 549—553.
- Neuwirth F.: Elektrometrické zjišťování vitality rostlinné tkáně a měření toxicity některých jedů vůči řepě, LC 44, str. 150, 1925/26.
- Němec, Prát S., Kořínek: Učebnice anatomie a fyziologie rostlin, Lékařské vydavatelství, Praha 1949.
- Norton F. J.: Rare Gas Penetration, J. Chem. Physics 22, 1132, 1954.
- Oparin A., Risskina S.: Biochem. Z. 252, 8—15, 1932.
- Oplatka G.: Die Saftgewinnung, Zt. f. Zuckerindustrie 79, 1954, 471—477.
- Prát S.: Fysiologie chemická a fyzikálně chemická, Rostlinopis, Praha 1930.
- Silin, P. M.: Chimičeskij kontrol sveklosacharnogo proizvodstva, Piščepromizdat, Moskva 1949.
- Stuedel W. a Heiling A.: Die Vergilbungskrankheit der Rübe, Mitt. aus der biolog. Zentralanst. f. Land- u. Forstw., Berlin-Dahlem 1954.
- Tullin: Socker Handl. 6—8, 113—132 a 12, 193—217, 1950, II. 7, 75—89, 1951.
- Wassermann E. S., Mikluchin G. P.: Z. obščej. chim. 9, 609—619, 1939.
- Wiklund O.: Socker Handl. II. 7, 91—119, 1951.
- Zagorulko A. Ja., Milkov M. N.: Polučenie diffuzionnogo soka pri nizkoj temperature s pomoščju elektroplazmolysa, Sach. prom. 1953, č. 10, str. 15—18.

M. Drachovská und K. Šandera:

### **Neue physikalisch-chemische Methoden in der Biologie — Konduktometrie.**

In schlagwortartiger Übersicht sind Arbeitswesen angeführt, die in den Jahren 1952-54 im Forschungsinstitut der Zuckerindustrie durchstudiert worden sind. Den Zweck dieses Studiums erblicken wir in der Erleichterung der Lösung mancher biologischen Fragen und in der Steigerung der Wirtschaftlichkeit des ganzen Abschnittes der Biologie und Lebensmittelindustrie mittels besserer und möglicherweise automatisierter Kontrolle und eingehender Erfassung aller Grundlagen der biologischen und technologischen Prozesse, die für die Lebensmittelindustrie von Entscheidung sind. Falls es möglich sein sollte, möchten wir die studierten Methoden auch auf die weiteren Industriezweige verbreiten und eventuel zur Erläuterung eigener allgemeinen biologischen und physikalisch-chemischen Beziehungen benutzen. In dieser vorläufigen Mitteilung sind die Veränderungen der elektrischen Leitfähigkeit künstlicher Membranen im Bereiche bestimmter Elektrolyten, Veränderungen elektrischer Leitfähigkeit pflanzlicher Zellgewebe (Kurven M-K, d. i. Zeit in Minuten und Konduktivität) beschrieben und letztenendes Anwendung in der Praxis erwähnt. Die konduktometrische Diagnostik der Cercosporiose, sowie der Saftgewinnung in der Zuckerfabrik, wurde beschrieben und auf die weitere Anwendungsmöglichkeit wurde aufmerksam gemacht.

М. Драховска и К. Шандера:

### **Новые в биологии — физико-химические кондуктометрические методы.**

В сокращенном обзоре приведены методы работы, исследованные на протяжении 1952—1954 г. г. в Научно-исследовательском институте сахарной промышленности. Цель этих работ — это углубление свекловичного и сахарного контроля и повышение экономичности в целом данном секторе лучшим и — по мере возможности — автоматизированным контролем и более глубоким изучением принципов биологических и технологических процессов, которые являются решающими в результатах выращивания и обработки сахарной свеклы. Как это только будет можно, мы попытаемся испытываемые методы применить и в более широком масштабе пищевой промышленности или даже для объяснения некоторых общих биологических и физико-химических соотношений. В обзоре описаны в виде предварительной справки изменения электрической проводимости искусственных мембран в среде определенных электролитов, изменения электрической проводимости растительных тканей со временем (кривые M—K, т. е. время в минутах и кондуктивность) и внедрение в практическую жизнь.