

Тийу ХАНСЕН, Малле ВИИК

К МЕТОДИКЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГЛЮКОЗЫ И  
ГЛИКОГЕНА У НАСЕКОМЫХTiiu HANSEN, Malle VIİK. METOODIKA GLÜKOOSI JA GLÜKOGEEINI MÄÄRAMISEKS  
PUTUKATESTiiu HANSEN, Malle VIİK. A METHOD FOR THE DETERMINATION FOR GLUCOSE AND  
GLYCOGEN IN INSECT TISSUES

Основой для выработки метода определения глюкозы и гликогена у насекомых послужил микрометод определения этих веществ в мышцах и в печени, описанный А. Кэмпом (Kemp, Kits van Heijningen, 1954). Метод основывается на цветной реакции, которая наблюдается при нагревании разбавленного раствора глюкозы с концентрированной серной кислотой. Так как в горячей серной кислоте гликоген ткани гидролизует до глюкозы, то эта реакция используется и для определения гликогена.

Ход анализа, предлагаемый А. Кэмпом и др., оказался для определения глюкозы у насекомых слишком трудоемким, содержащим несколько повторных центрифугирований в связи с обработкой экстракта свободной глюкозы реактивом для осаждения белков и активированным углем. Для определения глюкозы у насекомых осаждение белков оказалось излишним, поскольку алкогольный экстракт не содержит белковых веществ, мешающих колориметрическому измерению. Для упрощения хода анализа активированный уголь прибавлялся сразу при экстракции материала в ступке, что позволило ограничиться одним центрифугированием. В отличие от метода А. Кэмп в нашем методе в качестве экстрактанта вместо ядовитого метанола использовался эта-

Содержание глюкозы и гликогена у некоторых зимующих насекомых  
(% к сырому весу)

Вид	Зимующая стадия	Месяц анализа	Глюкоза, %		Гликоген, %
			экстракция этанолом	экстракция метанолом	
<i>Apatete aceris</i> L.	к	II	0,42±0,03	0,45±0,01	2,63±0,10
<i>Phalera bucephala</i> L.	к	II	2,07±0,00	2,11±0,00	0,93±0,03
<i>Pieris brassicae</i> L.	к	II	1,74±0,01	1,73±0,01	0,28±0,04
<i>Ips typographus</i> L.	л	I	1,27±0,06	1,29±0,05	0,66±0,02
<i>Polygraphus polygraphus</i> L.	л	IV	3,56±0,25	3,52±0,20	12,73±0,22
<i>Rhagium inquisitor</i> L.	л	IV	0,78±0,03	0,79±0,02	4,25±0,01
<i>Formica aquilonia</i> Yarr.	м	II	2,35±0,12	2,33±0,24	0,54±0,02

Примечание. л — личинка, к — куколка, м — муравей.



нол. Контрольные определения не показали разницы в результатах, полученных при замене метанола этанолом (таблица).

**Ход определения глюкозы и гликогена у насекомых.** Материал (20—120 мг) растирали в ступке с 5 мл 80%-ного этанола; для устранения органических веществ, мешающих цветной реакции, прибавляли в виде порошка активированный уголь. Суспензию центрифугировали, надосадочную жидкость, содержащую глюкозу, декантировали в выпарительную чашку и выпаривали досуха. Осадок растворяли в 5 мл дистиллированной воды. После фильтрации 1,5 мл этого раствора переносили в пробирку с 4,5 мл концентрированной серной кислоты, смесь хорошо перемешивали и помещали в кипящую водяную баню на 6,5 мин. После охлаждения пробы в проточной воде интенсивность развивающейся розовой окраски измеряли на спектрофотометре при длине волны 520 мкм. Содержание глюкозы определяли по калибровочной кривой.

Так как гликоген в 80%-ном этаноле не растворяется, он остается в осадке после экстракции глюкозы с помощью этанола. К этому осадку добавляли 5 мл раствора сернистого серебра (0,1%-го раствора сернистого серебра в 5%-ной трихлоруксусной кислоте) и смесь хорошо взбалтывали. Пробирки накрывали стеклянными крышками и помещали в кипящую водяную баню на 15 мин. После охлаждения смесь довели реактивом до 5 мл, перемешивали и центрифугировали в течение 15 мин. Из надосадочной жидкости брали 1,5 мл и проводили реакцию с концентрированной серной кислотой, как описано выше. Количество гликогена определялось по количеству образовавшейся глюкозы.

В таблице приводятся данные по содержанию глюкозы и гликогена у некоторых зимующих насекомых, полученные вышеописанным методом анализа. Определение количества глюкозы проводилось параллельно в этаноловых и метаноловых экстрактах. Из таблицы видно, что оба вида экстракции дали одинаковые содержания глюкозы у насекомых.

Приведенный микрометод определения глюкозы и гликогена у насекомых имеет некоторые преимущества перед другими методами определения. Он позволяет одновременно определять глюкозу в этаноловом экстракте осадка гликогена. Это очень важно в тех случаях, когда количество материала ограничено и нет возможности определять глюкозу в параллельной навеске ткани. Ход анализа весьма прост и краток по времени, поэтому его хорошо применять при серийных анализах.

#### ЛИТЕРАТУРА

Кемп, А., Kits van Heijningen, A. J. M. A colorimetric micro-method for the determination of glycogen in tissues. *Biochem. J.*, 1954, v. 56, p. 646—648.

Институт зоологии и ботаники  
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию  
7/XII 1977