

51.

AZ ANYARÓZS AUTOLIZISÁNÁL VÉGBEMENŐ FOLYAMATOK  
VIZSGÁLATA.

Bölcészetdoktori értekezés.

Irta:

Eperjessy György

okl. középiskolai tanár

egyetemi tanársegéd.

[1926]

A 1534



Hálás köszönetemet fejezem ki ezuton is méltóságos Dr. Bodnár János egyetemi ny. r. tanár urnak, kitől a témámat kaptam s aki munkámat állandó figyelemmel kísérte s nagybecsű utbaigazításaival annak befejezését lehetővé tette.

Dolgozatomat részben a debreceni Tisza István tudományegyetem Orvosi-Vegyteni intézetében, részben a budapesti közgazdasági egyetem Agrochémiai intézetében készítettem.

Budapest, 1926 május havában.

Ismeretes, hogy az anyarozsnek és a belőle készült extraktumnak fiziológiai hatása az eltartás alatt nagy mértékben megváltozik. Tschirch<sup>1/</sup> a könyvében erre vonatkozólag a következőket mondja: "Frische Auszüge stehen in ihrer Wirkung deutlich hinter älteren zurück. Die maximale Wirkungswerte werden mit mehr oder weniger aufbewahrten Auszügen erreicht. In 3-4 Wochen ist die Wirkung erschöpft." Az anyarozsban és az anyarozsextraktban olyan kémiai változások mennek végbe, melyek a hatóanyagokat leépítik, elbontják, az extraktumot hatástalanná teszik.

Ezek a folyamatok részben az anyarozsban lévő enzimek hatására, részben az anyarozs felületén élősködő mikroorganizmusok életműködésére vezethetők vissza. A mikroorganizmusok szerepére vonatkozólag nagyon érdekes adatokat találhatunk Wiechowski és Halphen<sup>2/</sup> dolgozatában. Ők az anyarozsból erjesztéssel készítettők

---

1/A.Tschirch, Handbuch der Pharmakognosie Bd.III.Lfg.3,  
2/W.Wiechowski u.H.Halphen, Klin.Wochenschr.1,786,1922

az extraktot és az így készített extrakt fiziológiailag hatásosabbnak találtatott a közönséges extraktumnál. A baktericid bomlások mellett kétségtelenül enzimatikus folyamatok is játszódnak le az anyarozsban. A kémiai folyamatok a jól eltartott anyarozsban lassan, az extraktumban aránytalanul gyorsabban folynak le. Ennek magyarázatára Zellner<sup>1/</sup> a könyvében a következőket hozza fel: "Die aromatische Farbstoffe, welche vorzugsweise in den peripheren Teilen sich vorfinden, dürfen, wie Dragendorff annimmt, als Antiseptika wirken."

Az anyarozskémiának még számos fejezete vár tisztázásra. Így például nem egészen tisztázott probléma a glükóz és tejsav keletkezése az anyarozsban. Jelenlegi felfogás szerint a glükóz az anyarozsban enzimatis uton keletkezik és a keletkezett glükózból ugyancsak enzimhatásra keletkezik az anyarozsban található tejsav. A glükóz és tejsav keletkezése közötti összefüggés kikutatása céljából a következő vizsgálatokat végeztem.

---

1/J.Zellner, Chemie der höheren Pilze /Leipzig 1907/  
pag.233.

Glükóz.

A glükóz keletkezésére vonatkozólag Buchheim<sup>1/</sup> közöl először adatokat. Ugyanis feltételezi, hogy a glükóz ~~az~~ az anyarozsban található trehalózból /mikózból/ keletkezik a trehaláz enzim hatására. Mitscherlich<sup>2/</sup> 1.5%-nyi trehalózt talált az anyarozsban.

Ezen feltevés alapján Dr. Berky<sup>3/</sup> vizsgálatokat végzett arra vonatkozólag, hogy toluol jelenlétében autolizált anyarozsban keletkezik e glükóz. A dolgozatában közölt táblázat szerint 2% toluol jelenlétében autolizált anyarozsban a glükóz mennyisége a harmadik napig emelkedik, onnan kezdve csökken. Ebből a tejsav keletkezésére vonatkozólag is következtetéseket von, és valószínűnek tartja, hogy a tejsav nem a glükózból keletkezik. A kérdés tisztázása céljából megállapítottam, hogy milyen körülmények között keletkezik az anyarozs-

---

1/, R. Buchheim, Archiv f. exper. Path. u. Pharm. 3, 1, 1875.

2/, Mitscherlich, Lieb. Ann. 15, 1858.

3/ Dr. Berky J. Újabb adatok az anyarozs biokémiájának és kémiájának ismeretéhez. /doktori ért. /Bpest, 1923.

ban glükóz. E célból anyarozst autolizáltam különböző mennyiségű toluollal és toluol nélkül. Az autolizátumról leszűrt oldat 20 cm<sup>3</sup>-ében Bertrand szerint meghatároztam a redukáló cukor mennyiségét és miután identifikáláskor glükóznak bizonyult, glükózra számítva %-ban tüntettem fel.

I. Kisérletsorozat.

a/sorozat: 15g anyarozsörlemény + 250cm<sup>3</sup> deszt. víz toluol nélkül.

b/sorozat: 15g anyarozsörlemény + 250cm<sup>3</sup> desztillált víz + 15 csepp toluol

c/sorozat: 15g anyarozsörlemény + 250cm<sup>3</sup> desztillált víz + 5cm<sup>3</sup> toluol/2%/

d/sorozat: 15g anyarozsörlemény + 250cm<sup>3</sup> desztillált víz + 25cm<sup>3</sup> toluol/10%/

I. Táblázat.

Az autolizis tartama órák ban	a.sorozat toluol nélk. glükóz		b.sor. 15csepp T. glükóz		c.sor. 5cm <sup>3</sup> tol. glükóz		d.sor. 25cm <sup>3</sup> t. glükóz	
	mg	%	mg	%	mg	%	mg	%
	0	0	—	0	—	0	—	0
24	0	—	0	—	45.4	3.8	41	3.4
2 24	0	—	0	—	0	—	63	5.25
3 24	—	—	—	—	0	—	78.9	6.57
4 24	—	—	—	—	—	—	85	7.08
6 24	—	—	—	—	—	—	90.	7.54
20 24	—	—	—	—	—	—	99.4	8.28

A táblázatból kitűnik, hogy toluol nélkül és kevés toluol jelenlétében autolizált anyarozsban nem keletkezik glükóz, illetve ha keletkezik mindjárt el is tűnik. 2% toluol alkalmazásával az autolizisból keletkezett glükóz a második napon már teljesen eltűnik. 10% toluol jelenlétében autolizált anyarozsban /d.sorozat/ a glükóz mennyisége állandóan nő és még huszadik napon sem tapasztalható visszaesés. Ezek szerint tehát Berki dr. kísérleteinél azért csökkent a glükóz, mert a 2%-ban alkalmazott toluol nem tökéletesen deszinficiált.

## II. Kísérletsorozat.

a.sorozat: A: 3-3g anyarozsőrlemény + 50-50 cm<sup>3</sup> desztillált viz + 2-2 cm<sup>3</sup> toluol /4%/

B: 18g anyarozsőrlemény + 300cm<sup>3</sup> desztillált viz + 12cm<sup>3</sup> toluol /4%/

b.sorozat: A: 3-3g anyarozsőrlemény + 50-50 cm<sup>3</sup> desztillált viz + 5-5 cm<sup>3</sup> toluol /10%/

B: 18g anyarozsőrlemény + 300cm<sup>3</sup> desztillált viz + 30cm<sup>3</sup> toluol /10%/

II. Táblázat.

Az autolizis tartama ó- rákban	a. s o r o z a t				b. s o r o z a t			
	A		B		A		B	
	mg	%	mg	%	mg	%	mg	%
0	0	0	0	0	0	0	0	0
24	79.6	6.6	49.6	4.1	98.8	52.1	4.3	
2 24	93.3	7.8	56.5	4.7	90.7	57.2	4.8	
3 24	90.5	7.5	61.0	5.1	94.7	61.6	5.1	
4 24	93.0	7.7	66.1	5.5	94.7	64.5	5.3	

A II. táblázatból kitűnik, először is, hogy már 4% toluol is jól deszinficiál, továbbá, a külön-külön feltett kisebb próbákban több glükóz keletkezik mint az egy tömegben autolizált anyagokban. Ezt azzal magyarázhatjuk, hogy az 50cm<sup>3</sup>-es próbáknál a toluol sokkal jobban átjárhatja a tömeget, mint a 300cm<sup>3</sup>-es próbáknál, így az előbbieknél a toluol sokkal nagyobb biztonságot nyújt a baktériumok működése ellen.

Ezen feltevés helyességét bizonyítják azon kísérletek, melyekben a toluol helyett 1 és 2 % NaF jelenlétében autolizáltam az anyagot.

III. Kísérletsorozat.

a. sorozat: A: 3-3g anyagörlemény + 50-50cm<sup>3</sup> desztillált víz + 0.5-0.5g NaF/1.5/

B: 18g anyagörlemény + 300 cm<sup>3</sup> deszt. víz + 3g NaF/1.5/

b.sorozat:A: 3-3g anyarozsörlemény + 50-50cm<sup>3</sup> deszt.viz +  
1g NaF /2,./

B: 18g anyarozsörlemény + 300cm<sup>3</sup> deszt.viz+6g  
NaF/2,./

III.Táblázat.

Az autolizis tartama órákban	a.s o r o z a t				b.s o r o z a t			
	mg	A	B	%	mg	A	B	%
0		0	0			0	0	
24	49.0	4.08	42.8	3.56	36.2	3.01	31.4	2
2 24	70.0	5.83	69.1	5.75	64.3	5.35	63.1	5
3 24	74.6	6.21	79.2	6.76	69.1	5.75	73.0	6
4 24	81.6	6.8	85.6	7.13	74.6	6.21	79.3	6

Már 1, NaF-dal a külön-külön és az egy tömegben feltett próbák értékei teljesen jól megegyeznek. Ebben az esetben tehát a NaF sokkal jobb antiseptikumnak bizonyult, mint a toluol. Ezt különben a későbbi tejsavas kísérleteim is bizonyítani fogják.

Kérdés,hogy az anyarozs eltartása alatt végbe-  
megy-e hasonló folyamat illetve keletkezik-e glükóz? A  
kérdés eldöntése céljából megállapítottam a frissen po-  
ritott anyarozs redukáló cukor tartalmát és az örleményt  
hosszabb ideig kezdetben közönséges szobahőmérsékleten,  
később 40<sup>o</sup>-os thermostatban tartva vizsgáltam, hogy nö-  
vekszik e a glükóz tartalma? A 26 napig tartó vizsgálat  
alatt a glükóz tartalma a porított anyarozsoknak egyáltalán

lán nem változott, ami amellet bizonyít, hogy az anyarozs eltartása alatt az a folyamat, amely glükóz keletkezésével jár, nem megy végbe, illetve csak hosszú idő alatt keletkezik mérhető mennyiségű glükóz, vagy pedig a keletkezett glükóz mindjárt el is használódik. E szerint az anyarozs glükóz tartalma nem ad felvilágosítást az anyarozs frissességére nézve. Ha az anyarozskivonatot előzőleg felfőztem, glükóz keletkezés egyáltalán nem volt észlelhető. Eszerint tehát kétségtelen, hogy a glükóz az anyarozsban enzim hatására keletkezik. Az antiseptikum nélkül autolizált oldatban csak látszólag nem keletkezik glükóz, mert nagyon valószínű, hogy a keletkezett glükózt a mikroorganizmusok azonnal el is használják.

A glükóz identifikálása céljából nagyobb mennyiségű anyarozsörleményt megfelelő mennyiségű antiseptikummal  $40^{\circ}$ -on 10 napig autolizáltam. Az autolizátumot csontszénnel szintelenítve vízfürdőn erősen bepároltam / $50-60\text{cm}^3$ -re/. Az igen gyengén sárgás árnyalatu oldathoz szilárd nátriumacetátot és frissen átkristályosított sósavas fenilhidrazint adva vízfürdőn lórán át melegítettem. Már a vízfürdőn kezdett kiválni sárgás pelyhek

alakjában az oszazon, a kiválás a jég szekrényben folytatódott. Az összegyűjtött tömeget forró alkoholból kétszer át kristályosítottam és  $40^{\circ}$ -on megszáritva Muther és Tollens<sup>1/</sup> előírása szerint meghatároztam az olvadáspontját.

Az anyag olvadáspontja :  $207^{\circ}$

Az anyag bomlásponja :  $207^{\circ}$

E.Fischer<sup>2/</sup> szerint Merck ~~féle~~ tiszta glükózból előállított glükoszazon olvadás és bomlásponját pontosan  $207^{\circ}$ -nek találtam.

Az identifikálásból kitűnik, hogy a keletkezett redukáló cukor glükóz volt.

Az eddigi kísérletekből látható, hogy az anyarozs autolizisénél enzimatikus uton glükóz keletkezik. Antiseptikum nélkül autolizált oldatban a keletkezett glükóz Wiechowski és Halphen<sup>3</sup> szerint az anyarozs felületén és valószínűleg belsejében is élősködő baktériumok hatására tovább bomlik. Annak bebizonyítására hogy a

---

1/ A.Muther u.B.Tollens: Berichte d.deut.Chem.Ges.37, 314, 1904.

2/ E.Fischer: Berichte d.deut. Chem.Ges.17, 579, 1884.

3./ loc.cit.

glükóz gyors eltűnését valóban az anyarozs felületén előforduló és nem a levegőből belekerülő baktériumok okozzák, vizsgálat tárgyává tettem a Gyógyszerkönyvben hivatalos extraktok cukortartalmát. Az extrakt készítése ugyanis alkoholos kivonás után erős bepárologtatással történik, mely folyamat alatt az anyarozs baktériumai feltétlenül elpusztulnak. Az extrakt vizsgálatokat a következő módon végeztem: Az extraktumból  $8\text{cm}^3$ -t egy  $50\text{cm}^3$ -es mérőlombikba pipetázva  $5\text{cm}^3$  bázisos ólomacetátot adva hozzá, desztillált vízzel  $50\text{cm}^3$ -re kiegészítettem, a lombik tartalmát. Kb. 2 perces centrifugálás után a gyengén sárgás színű oldatból  $25\text{cm}^3$ -t egy  $50\text{cm}^3$ -es mérőlombikba mértem, ahol  $5\text{cm}^3$  cc.  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  oldat hozzáadása után  $50\text{cm}^3$ -re töltöttem fel. Szűrés után  $25\text{cm}^3$ -ben határoztam meg a glükózt./eredeti oldat  $2\text{cm}^3$ /

Először az "Extraktum Secalis cornuti spissumot" vizsgáltam hosszabb időn keresztül közönséges szobahőmérsékleten,  $40^\circ$  os termostátban toluol nélkül és toluollal. A vizsgálatok eredményét a következő táblázat tartalmazza.

IV. Táblázat.

Szobahőmérséklet		40°on toluol nélkül		40°on toluol- lal	
Datum	glükózmg	Datum	glükóz mg	Datum	glük.
1924		1924		1924	
IX.5	68.6	IX.15	68.0	IX.15	68.5
1924		1924		1924	
IX.6	69.1	IX.20	66.4	IX.22	66.0
1924		1924		1924	
IX.10	67.0	X.3	64.0	X.4	64.0
1924		1924		1924	
X.13	64.0	XI.14	62.1	XI.13	65.1
1924		1925		1925	
XII.13	59.5	I.14	57.0	I.13	56.1
1925		1925		1925	
II.13	57.0	IV.14	46.5	IV.15	44.6
—	—	1925		1925	
—	—	VI.14	43.1	VI.13	42.4
—	—	1925		1925	
—	—	VIII.1	42.7	VIII.1	40.2

Ugy a szobahőmérsékleten ~~mint~~ mint a termosztátban toluol nélkül és toluollal tartott anyarozsextraktok kezdetben elég tekintélyes glükóztartalma igen lassan csökken. A glükóznak ezt az eltűnését semmi esetre sem az anyarozson élősködő mikroorganizmusok okozzák, mert az extrakt készítésénél azok elpusztulnak, hanem a levegőből bejutó baktériumok. Az „Extraktum Secalis cornuti fluidum” vizsgálatát az előbbihez hasonlóan végeztem: 8g anyarozsextraktból /7.5cm<sup>3</sup>/ párhuzamosan termosztátban és szobahőmérsékleten antiseptikum nélkül. Ellen-  
tétben az Extr. Secalis cornuti spissummal végzett ki-

sérletekkel; itt mérhető mennyiségben glükózt az extraktumban nem találtam, ami igen jól magyarázható a két extraktum különböző készítési módjával és jól megegyezik az eddigi kísérleteim eredményeivel.

Az Extractum Secalis cornuti spissum 18 órai kloroformos vízzel való kivonással készül az anyarozsból, amely idő alatt az antiseptikum védelme alatt bőven keletkezhet glükóz. A keletkezett glükózt az extrakthoz kevert alkohol és erős bepárolgatás a baktériumok bontó munkájától teljesen megóvjá. Ezzel szemben az Extractum Secalis cornuti fluidum alkohollal való kivonással készül, s az alkohol a cukrosító enzim működését megbénítja.

Hogy az anyarozsextrakt eredeti glükóztartalmáról fogalmat alkothassak, a Gyógyszerkönyv előírása szerint 50g Extractum Secalis cornuti spissumot állítottam elő, amelynek glükóztartalmát meghatározva, 10.9%-nak találtam.

### Tejsav.

Legelőször a tejsavat Buchheim<sup>1/</sup> izolálta nem friss anyarozs kivonatból. Magában a friss anyarozsban Buch-

---

1. Buchheim : Archiv d. Pharmacie, 207, 32, 1875

heim szerint nem fordul elő tejsav, hanem az eltartás alatt fermentatív uton keletkezik valószínűleg a trehalózból. Zellner<sup>1/</sup> a könyvében az anyarozsban előforduló tejsavról a következőket mondja: „ Ob sie aus Mykose entsteht, ist nicht festgestellt; jedenfalls nimmt der Gehalt an Mykose ab; doch ist es <sup>u</sup>affallend, dass sie viel länger nachweisbar bleibt, wie in vielen andern, kurzlebigen Pilze.“ Engeland és Kutscher<sup>2/</sup> az anyarozs extraktból kivont tejsav Zn-sóját állították elő, és ennek vizsgálata alapján erjedési tejsavnak identifikálták.

Ezek a vizsgálatok csupán az extraktban előforduló tejsavval foglalkoznak, de arra nézve hogy a friss anyarozsban preformált állapotban előfordul e a tejsav, nem nyújtanak semmi felvilágosítást. Berky dr.<sup>3/</sup> dolgozatában kimutatta, hogy a friss anyarozsban előfordul erjedési tejsav. Kísérleteit tovább folytatva, megállá-

---

1/ J.Zellner: Chemie der höheren Pilze, pag.234, /Leipzig  
1907/  
2/ R.Engeland u.F.Kutscher: Centralblatt, f. Physiol. 24,  
589, 1910

3/ loc. cit.

pitotta, hogy a tejsav mennyisége 1% toluol alkalmazása mellett, az autolizált oldatban egy ideig nő, azután csökken. Inaktivált oldatban nincs tejsav keletkezés, tehát a folyamat enzimátikus.

Eddigi kísérleteim azt bizonyítják, hogy az anyaron szon élősködő baktériumok toluollal szemben rendkívül ellenállóak, és 1-2 % toluol mellett az autolizátumban a keletkezett glükózt elbontják. Valószínűvé vált, hogy a Berky által használt 1% toluol a mikroorganizmusok munkáját csak mérsékli, de nem szünteti be teljesen, azért kísérleteket végeztem arra nézve, hogy több toluol alkalmazásával keletkezik e az autolizisnél tejsav. A tejsav meghatározásokat Ohlson<sup>1/</sup> szerint amilalkoholos extrahálással végeztem. Az amilalkoholos oldatból a tejsavat 2%-os  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  oldatba vittem át, melyet az amilalkohol nyomainak eltávolítása végett Fürth és Lieben<sup>2/</sup> szerint foszforsavval semlegesítve vízfürdőn bepároltam. A tejsavat acetaldehiddé oxidálva,

---

1/ E. Ohlson: Skand. Archiv f. Physiol. 33, 231, 1916;

G. Riesenfeld: Biochem. Zeitschr. 109, 250, 1920.

2/ O. Fürth u. F. Lieben: Biochem. Zeitschr. 123, 145, 1922.

Fürth és Charnass <sup>1/</sup> szerint  $\text{KHSO}_5$ -ba desztillálva Ripper módszerével határoztam meg. Ezzel az aldehid eljárással kb. 8-10% veszteséggel határozható meg a tejsav, ezért Fürth és Lieben <sup>2/</sup> az elfogyott  $n/10 \text{ J cm}^3$ -ek számát a theoretikus 0.0045 faktor helyett 0.0050-val szorozzák.

Első kísérleteimnek a célja az volt, hogy eldöntsem, hogy kevés toluollal és sok toluollal autolizált anyagokban keletkezik-e tejsav. A kísérleteket a következőképpen végeztem: 8 db. bedugaszolt Erlenmeyer lombikban 6g anyagorsörleményt +  $100 \text{ cm}^3$  deszt. vizet +  $2 \text{ cm}^3$  toluolt  $40^\circ$ -os termosztátban autolizáltam. A kísérleti idő leteltével a lombik tartalmát megsűrve, csontszénnel szintelenítettem, és kb.  $20-30 \text{ cm}^3$ -re bepároltam. A bepárolt tejsavas oldatot  $1-2 \text{ cm}^3$  50%-os kénsavval meg-savanyítva kb. kétszeres mennyiségű amilalkohollal ötször kiráztam, az amilalkoholos oldatból pedig a tejsavat 2%-os nátriumkarbonát oldattal vontam ki. A tejsavas oldatokat egyesítve, metiloránzzsal indikálva és

---

1/ O. Fürth u. D. Charnass: Biochem Zeitschr. 26.199, 1920.

2/ .loc. cit.

foszforsavval semlegesítve vízfürdőn szirupsűrűre bepároltam. A sűrű maradékot kb. 50cm<sup>3</sup> 50%-os kónsavval megsavanyítva, kb. n/50 KMNO<sub>4</sub>-tal oxidáltam. A keletkezett acetaldehidet Meyerhof<sup>1/</sup> előírása szerint készített n/5 KHSO<sub>3</sub>-ba vezettem, melynek fölöslegét n/10 J oldattal titráltam vissza. Az eredményeket a következő táblázat foglalja össze.

V. Táblázat.

Az autolízis tartama órákban	Tejsav mg	%
0	10.4	0.17
24	20.8	0.34
2x24	27.8	0.46
3x24	20.4	0.34
4x24	15.4	0.25
6x24	4.5	0.07
10x 24	4.5	0.07

E táblázat adataiból kitűnik, hogy 2% toluollal autolizált anyarozsban tejsav keletkezik s Berky vizsgálataihoz hasonlóan a tejsav mennyisége a második napig nő, onnan kezdve csökken. Ha a toluol mennyiségét növeltem azt tapasztaltam, hogy még 10% toluol alkalmazása esetén is van tejsav keletkezés, amint azt az alábbi táblázat mutatja.

---

1/ Meyerhof: Pflügers Archiv, 188, 114, 1921

VI. Táblázat.

Az autolizis tartalma órákban	Tejsav mg	%
0	9.0	0.15
24	6.7	0.11
2x24	8.1	0.13
3x24	20.2	0.33
4x24	13.5	0.22
10x24	25.2	0.42

Ezek után legközelebbi feladatomat képezte a tejsav keletkezését a toluolnál erőlyesebben ható NaF alkalmazása mellett vizsgálni. A meghatározásokat 1%-ban alkalmazott NaF jelenlétében a már ismertetett módon végezve a következő táblázatban feltüntetett eredményeket nyertem.

VII. Táblázat.

Az autolizis tartalma órákban	Tejsav mg	%
0	9.9	0.13
24	9.5	0.12
2x24	10.8	0.16
3x24	7.6	0.13
4x24	6.7	0.11
10x 24	6.3	0.15

1% NaF jelenlétében autolizált oldatban egyáltalán nincs tejsav keletkezés/ a csekély ingadozás kísérleti hibának tulajdonítható/ tehát az autolizátumban a tejsav keletkezés nem lehet fermentatív folyamat. Kísérleteim azt bizonyítják, hogy a Wiechowski főle mikro-

organizmusok, melyek között nagy számmal lehetnek tejsavbaktériumok is, toluollal szemben rendkívül ellenállóak, úgyhogy 2% toluol mellett is elbontják a cukrot és tejsavat képeznek.

Mialatt ezen kísérleteket végeztem, Hirsch-Kauf-  
mannak egy új tejsav meghatározási methodusa jelent meg, melyben a hosszadalmas és veszteséggel járó amilalkoholos kirázást a módszerelől azzal kapcsolja ki, hogy a tejsavas oldatot először 10%-os rézszulfátoldattal utána mésztejjel hozza össze és a szűrletben Fürth-Charnass szerint határozza meg a tejsavat. A réz-calciumos lecsapást fehérje eltávolító folyamat előzi meg, melyet azonban nem alkalmaztam, mivel a tejsavas oldataim fehérjéket számbavehető mértékben nem tartalmaztak. Hogy ezt a sokkal gyorsabb tejsav meghatározási methodust kipróbáljam, megismételtem a 2% és 10% toluol alkalmazásával autolizált anyarozsban a tejsav meghatározásokat. Az autolizátum  $100\text{cm}^3$ -ét vízfürdőn csontszénnel szintelenítve, kb.  $40-50\text{cm}^3$ -re pároltam. Ezután egy  $100\text{cm}^3$ -es mérőlombikba átmosva  $8\text{cm}^3$  10%-os rézszulfátoldatot adtam hozzá és a lombik tartalmát lakmuspapírral indikálva 33%-os NaOH oldattal semlegesítettem,

majd 20cm<sup>3</sup> előírással készített mésztej adva hozzá feltöltöttem 100cm<sup>3</sup>-re és 1/2óráig gyakori rázás közben állni hagytam. A lombik tartalmát szűrve a szűrletből 50cm<sup>3</sup>-t Fürth és Charnass szerint oxidáltam. Az eredményeket a következő táblázat foglalja össze:

VIII. Táblázat.

Az autolizis tartama órákban	2% toluol Tejsav		10% toluol Tejsav	
	mg	%	mg	%
0	7.2	0.12	6.3	0.10
24	73.7	1.2	69.0	1.10
2x24	54.4	0.90	98.1	1.63
3x24	59.9	0.99	99.9	1.66
5x24	45.4	0.75	36.3	0.60

Feltűnő a táblázatban, hogy a tejsav értékek az amilalkoholos kirázással kapott tejsav értékeket messze túlhaladják. A 10% toluol mellett keletkezett maximális tejsav % 1.66, ezzel szemben amilalkoholos kirázással 0.33% maximális értéket kaptam. Valószínűnek látszott az a feltevés, hogy az antiseptikumként alkalmazott toluol, mely bepárologatáskor csak részben távozik az autolizátumból, acetaldehidé, vagy esetleg más bisulfitot megkötő vegyületté oxidálódván okozza a túl nagy tejsav értékeket. Ennek megvizsgálása céljából 100cm<sup>3</sup> desztillált vízhez 10cm<sup>3</sup> toluolt adva vízfürdőn kb. fe-

lére bepárolgattatva a tejsavnál ismertetett módon oxidáltam. Visszatitráláskor  $1.3\text{cm}^3$  n/10 J oldat differenciát találtam= 5.8mg tejsav. A kísérlet azt bizonyítja, hogy a túl nagy tejsav értékeket nem okozhatja a toluol /ezt későbbi kísérleteim is igazolni fogják/

Ha 1% NaF jelenlétében autolizáltam az anyarozst és a tejsavat Hirsch-Kaufmann módszerével határoztam meg, akkor a következő értékeket kaptam.

IX. Táblázat.

Az autolizis tartama órákban	Tejsav mg	%
0	6.3	0.10
24	7.2	0.12
2x24	8.1	0.13
3x24	10.8	0.18
5x24	9.0	0.16
10x24	5.4	0.09

1% NaF-dal autolizált oldatban tehát egyáltalán nincs tejsav keletkezés. Ha 10% kloroform hozzáadással autolizáltam az oldatot 0.57% maximális tejsav értéket kaptam, mely azután fokozatosan csökkent. /0.27%-ig/.

Hogy a két tejsav meghatározási módszer összehasonlítására teljesen megbízható adatokat kapjak ugyanabból az anyarozsból határoztam meg a tejsavat az amilalkoholos extrahálással, másrészt a Hirsch-Kaufmann rézszul-

fát-kalciumhidroxidos módszerével. Antiseptikum nélkül autolizált oldatban a tejsavra a két módszerrel az alábbi táblázatban felsorolt értékeket kaptam.

X. Táblázat.

Az autolizis tartama órákban	Amilalk.extra-hálással Tejsav		Hirsch-Kaufmann szerint Tejsav	
	mg	‰	mg	‰
0	9.0	0.15	7.5	0.12
24	42.3	0.70	61.2	1.02
2x24	23.8	0.39	104.4	1.74
3x24	8.5	0.14	29.7	0.49
5x24	6.3	0.10	94.5	1.56
10x24	6.3	0.10	33.3	0.55

Amíg az amilalkoholos eljárással kezdetben emelkedő azután szabályosan csökkenő értékeket kaptam, addig a

Hirsch-Kaufmann módszerével kapott értékek abnormisan magasak voltak /10-15-szörös/ és párhuzamos meghatározáskor a két meghatározás között legtöbbször igen jelentős differenciát találtam. Különösen szembetűnő ez a nagy differencia az ötödik napon feldolgozott autolizátumnál, ahol az az autolizátum, mely az egész táblázatból kiugró értéket adott, rendkívül bűzös, vajsavszagú volt. 1) NaF alkalmazásával autolizált anyagokban, mint azt a következő táblázat mutatja, egyik módszerrel sem sikerült az eredeti tejsav értékek e-

melkedését kimutatni, vagyis nincs tejsav keletkezés.

XI-Táblázat.

Az autolizis tartama ó- rákban	Amilalk.extra- hálással Tejsav		Hirsch-Kaufmann szerint Tejsav	
	mg	%	mg	%
0	9.0	0.15	7.3	0.12
24	8.1	0.13	9.9	0.13
2x24	10.8	0.16	13.5	0.22
3x24	6.3	0.10	9.9	0.13
5x24	4.5	0.07	6.5	0.10
10x24	5.8	0.09	8.1	0.13

Önkéntelenül is felvetődik az a kérdés, hogy vajjon mi okozhatja a toluollal és antiseptikum nélkült autolizált oldatban a Hirsch-Kaufmann módszerével kapott túl nagy tejsav értékeket. A módszer nagy súlyt helyez arra, hogy az oldatból a szénhidrátok tökéletesen eltávolitassanak. A toluollal autolizált oldatban nagy mennyiségben keletkezik glükóz és így arra gondolhatnánk, hogy talán ez az okozója, hogy a módszer ebben az esetben nem alkalmazható. NaF hozzáadásával autolizált oldatban aránylag még nagyobb mennyiségű glükóz keletkezik, és a rézkalciumos módszerrel még sincs tejsav növekedés, tehát a feltevésünk nem lehet helytálló.

Előző kísérleteimben már bebizonyítottam, hogy az antiseptikumként alkalmazott teluol nem okozhatja a tej-

sav értékek emelkedését. Most még egy másik ut is nyílt ennek a bebizonyítására. NaF hozzáadással autolizált oldatban Hirsch-Kaufmann módszerével nem lehet tejsav keletkezést kimutatni. Ha NaF mellett toluolt is adunk az autolizálendő oldathoz, és a módszerrel tejsavnövekedést kapunk, akkor a növekedést a toluol okozza. 1% NaF és 10% toluol jelenlétében autolizált anyarozsban egyáltalán nem kaptam tejsavnövekedést, tehát a réz-kálciumos módszerben a toluol nem okozhat kísérleti hibákat. Főként az antiseptikum nélkül, de a kevés toluol alkalmazásával autolizált anyarozsban is megvan a lehetősége annak, hogy alkoholos erjedés folytán a glükózból etilalkohol keletkezzen. Az etilalkohol viszont acetaldehidé oxidálva téves tejsav értékeket szolgáltat. Megvizsgáltam tehát, hogy toluol alkalmazásával és antiseptikum nélkül autolizált oldatban keletkezik-e etilalkohol. Első esetben az autolizátum destillátumának toluol szaga, második esetben a destillátum vajsav szaga zavarta és teljesen bizonytalanná tette a benzoil-kloridos és jodoformos próbák kivételét, így kénytelen voltam a kérdés tisztázására más utat választani. 24g anyarozst 400cm deszt. víz és 8cm toluol jelenlétében /2%/

autolizáltam és a megszárt autolizátumból először 150 cm<sup>3</sup>-t, ebből 100cm<sup>3</sup> és ebből 75cm<sup>3</sup>-t ledesztillálva, káliumbikromát és cc. kénsavval oxidáltam. A desztillátum a Rimini-féle reakciót /3%-os piperidin+1-2csepp friss nitroprussidnátrium/ nem adja. Az antiseptikum nélkül autolizált anyarozs desztillátuma a Rimini-féle reakciót jól adja, és p-nitrofenilhidrazinnal sárga csapadékot ad, melynek olvadáspontját 126°-nak találtam. A hidrazont csekély mennyisége miatt nem tudtam jól ki mosni, és átkristályosítani, olvadáspontja azonban így is jól megegyezik az acetaldehid-p-nitrofenilhidrazon op.-jával. /128°/.

Mivel a tejsav 100°-on egyáltalán nem illékony, nagyon valószínű, hogy a Hirsch-Kaufmann módszerénél az antiseptikum nélkül autolizált anyarozsban a glükózból keletkező alkohol okozza a magas tejsav értékeket. Ezzel azonban még nincs eldöntve, hogy a toluol alkalmazásával autolizált anyarozsban mi okozhatja a magas tejsav értékeket. Ez további kísérleteknek lesz a feladata.

#### Glükóz és tejsav.

Hogy összefüggést találjak a glükóz eltűnése és a tejsav keletkezése között, vagyis hogy eldöntsem, hogy

keletkezhet e glükózból tejsav, párhuzamos glükóz és tejsav meghatározásokat végeztem ugyanabból az autolizátumból. Mivel a Hirsch-Kaufmann féle tejsav meghatározási módszer, mint azt az előzőkben bebizonyítottam, antiseptikum nélkül és toluollal autolizált oldatban nem használható, az összes tejsav meghatározásokat amidalkoholos kirozással végeztem. A kísérletekben nagyobb lombikban megfelelő mennyiségű anyarozst autolizáltam, és az autolizátumból 140-150cm<sup>3</sup>-t kipipettázva megsűrtem és a szűrlet 100cm<sup>3</sup>-ből tejsav, 20cm<sup>3</sup>-ből pedig cukor meghatározást végeztem. 60g anyarozsörlemény+ 1000cm<sup>3</sup> desztiviz, minden antiseptikum nélkül 40°-on autolizálva. Eredményeim a következők:

XII. Táblázat.

Az autolizis tartama	glükóz mg	T e j s a v mg	§
0	0	6.2	0.10
24	0	61.7	1.02
2x24	0	41.8	0.69
3x24	0	29.2	0.48
5x24	0	18.6	0.31
10x24	0	13.3	0.22

Antiseptikum nélkül autolizált oldatban cukor keletkezését nem észleltem, tejsav keletkezik, /maximális érték 1.02%/ de a kísérlet folyamán a keletkezett tejsav

el is tűnik.

Ha 60g anyarozst 100cm<sup>3</sup> vízben 2 l.lombikban 100cm<sup>3</sup> toluol hozzáadással autolizáltam, a glükózra és tejsavra a következő értékeket kaptam.

XIII.Táblázat.

Az autolizis tartama	glükóz		T e j s a v	
	mg	mg %	mg	%
0	0	—	8.1	0.13
24	40.0	3.33	10.3	0.15
2x24	51.0	4.25	18.0	0.30
3x24	62.5	5.20	16.2	0.27
5x24	66.1	5.50	23.4	0.39
10x24	59.2	4.93	21.1	0.35

E táblázat adatai szerint tekintélyes mennyiségű glükóz keletkezik, a tejsav növekedése azonban kisebb mint a toluol nélkül autolizált anyarozsban. 1% NaF-dal autolizált oldatban nagy mennyiségű glükóz keletkezik, ezzel szemben a tejsav értékek egyáltalán nem növekednek.

XIV.Táblázat.

Az autolizis tartama	G l ü k ó z		T e j s a v	
	mg	%	mg	%
0	0	—	7.7	0.13
24	34.0	2.83	6.8	0.11
2x24	45.5	3.79	11.6	0.19
3x24	71.0	5.91	8.1	0.13
5x24	76.0	6.33	8.9	0.14
10x24	134.0	11.16	10.1	0.15

Inaktivált oldatban sem glükóz sem tejsav nem keletkezik.

Végigtekintve az eredményeken azt találjuk, hogy anti-septikum nélkül glükóz keletkezése nem mutatható ki, illetve a keletkezett glükóz az anyarozson élősködő baktériumok hatására elbomlik. Toluol jelenlétében történő autolizisnél jelentékeny mennyiségű cukor keletkezik, a toluol csak részben akadályozza meg a cukor elbomlását, mert az erőlyesebben ható  $\text{NaF}$  desinficiens alkalmazásánál több cukor keletkezése észlelhető. A tejsavat illetőleg a legtöbb keletkezik, az antiseptikum nélkül autolizált anyarozsban, toluol jelenléte csak csökkenti, de nem akadályozza meg a tejsavképződést, egyáltalában nem keletkezik tejsav  $\text{NaF}$ -dal való autolizisnél. Ezek szerint Buchheim ama felfogása, hogy a tejsav a trehalózból keletkezik fermentatív úton, oda módosítandó, hogy a folyamat első része, mikor a trehalózból glükóz keletkezik, valóban fermentatív, a glükóznak tejsavra való bomlása azonban az anyarozson élősködő baktériumok hatására megy végbe, vagyis baktericid folyamat. Igaz ugyan, hogy a glükóznak tejsavvá való átalakulása nem kvantitatív, de ez a folyamat nem is lehet az hiszen az anyarozson igen sokféle baktérium található, melyek mindegyike más-más bontásra képes. Így pl. az e-

lőzőkben sikerült kimutatni, hogy alkoholos erjedéssel is kell számolnunk, az anyarozs autolízisénel.

Hosszabb idei állás után az eredetileg savanyu kémhatásu anyarozs extrakt lugossá válik, miközben fiziológiai hatásosságát teljesen elveszti. Ismeretes továbbá, hogy állott anyarozsból a festékanyagok nem távolíthatók el éterrel, csak borkósavval való megsavanyítás után, mert az eltartás alatt az anyarozsban bázikus anyagok keletkeznek, melyek a festőanyagokkal szappanszerű, éterben oldhatatlan emulsiót képeznek.

Az anyarozsban nagy számmal fordulnak elő komplexált nitrogén vegyületek, melyek leépítésük alkalomával egyszerű amineket és ammoniumvegyületeket adnak. Főként baktericid folyamatok azok, melyek ezt a lényeges változást magában az anyarozsban és még inkább a belőle készített extraktban létrehozzák. Nagyon sok esetben sikerült kimutatni, hogy aminosavakból baktériumok hatására megfelelő aminek keletkeznek/biogén aminek/. Egyesek az aminosavaknak ezt az átalakulását enzimes folyamatoknak tartják, de ezideig nem sikerült aminosav<sup>kból</sup>at dekarboxiláló enzimet előállítani.

Mivel az anyarozsban a kezdetben jelenlévő bázisok és Tschirch<sup>1/</sup> által közép-bázisoknak nevezett aminek fiziológiailag a leghatásosabbak, ideális volna, ha a bomlást tetszésszerűen fokozni tudnánk. Ezen az úton sokan próbálkoztak az anyarozsextrakt hatásosságát állandósítani. Mivel az anyarozsban a végbázisok mennyisége arányos az elbomlott közép-bázisok mennyiségével, valószínűnek látszott, hogy a végbázisok mennyiségéből következtethetünk az extrakt bomlottsági fokára. Ilyen szempontból az anyarozsban legnagyobb mennyiségben előforduló trimetilamint vizsgáltam antiseptikum nélkül és különböző antiseptikummal autolizált anyarozsban.

### Trimetilamin.

A trimetilamin előfordulása anyarozsban már a múlt század 50-es éveiből ismeretes Wenzell, Buchheim és Brieger<sup>2/</sup> vizsgálatai alapján. Dragendorff<sup>3/</sup> szerint az anyarozs-

---

1/.loc.cit.

2/ Wenzell: Americ. Il. of Pharm. 1865; R. Buchheim: Archiv f. exper. Path. u. Pharm. 3, 1, 1875; L. Brieger: Ztschr. f. physiol. Chem. 9, 184, 1887.

3/ Dragendorff u. Podwissotzky: Archiv f. exper. Pat. u. Pharm. 6, 161, 1877.

ban nagyon kis mennyiségben fordul elő trimetilamin, mint hossza állás alatt végbemenő komplikált bomlások végterméke. Berky<sup>1/</sup> vizsgálatai bebizonyították, hogy friss anyarozsban is előfordul a trimetilamin preformált állapotban. Megállapította továbbá, hogy a luggal ledesztillálható trimetilamin mennyiségének csak igen kis hányadát /3.4%/ teszi ki a preformáltan előforduló trimetilamin.

Ezen kísérletekből kiindulva vizsgálat tárgyává tettem, hogy a preformált trimetilamin mennyisége változik e az autolizis folyamán. Kísérleteimben gyenge luggal /Ca(OH)<sub>2</sub>, Ba(OH)<sub>2</sub>, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>/ közönséges szobahőmérsékleten tettem szabaddá az amineket és az így felszabaduló illanó amineket levegő árammal hajtottam át higósavba. Míg a NaOH és KOH főként magasabb hőmérsékleten komplikáltabb nitrogénvegyületekből is lehasítanak ammoniát és trimetilamint, addig az előbb felsorolt gyenge bázisok csak a preformált amineket és ammoniát teszik szabaddá. A trimetilamin meghatározásoknál Filippi<sup>2/</sup>

---

1/ loc.cit.

2/ .F.di Filippi: Zeitschr. f. physiol. Chem. 49, 433, 1906;  
Abderhalden: Handbuch d. biol. Arbeitn. I. Teil, 7, 350

módszerét használtam, amely azon alapul, hogy a nátriumhipobromit közönséges hőmérsékleten az ammoniumkloridot, a metil-dimetil-az etil-és dietilamin sósavas sóját teljesen elbontja/N-t szabadit fel/ a trimetilaminra pedig hatástalan. A módszer használhatóságának ellenőrzése céljából a következő kísérletet végeztem: Merck-féle sósavas trimetilamint nátriumhipobromittal megtisztítottam az esetleg jelenlévő primér és szekundér bázisoktól és ammoniumsóktól. 0.0364g tisztított sósavas trimetilamint kb.100cm<sup>3</sup> deszt, vízben oldva ismét NaOBr -dal kezeltem és n/20 HCl-ba desztilláltam. A trimetilamin megkötött 7.6cm<sup>3</sup> n/20 HCl -t; számított mennyiség 7.6cm<sup>3</sup> n/20 HCl. Mivel a kísérlet megismétlése is igen kielégítő eredményt adott, hozzáfoghattam az anyarozsban való trimetilamin meghatározásokhoz.

Először friss anyarozsban határoztam meg a preformált trimetilamin mennyiségét. 1200g frissen őrölt anyarozsból kb.kétszer annyi forró vízzel kivonatot készítettem, melyet szűrés után néhány csepp sósav hozzáadásával vízfürdőn körülbelül 300cm<sup>3</sup>-re bepároltam. Ezt a sűrű kivonatot egy 3 les lombikba vive 30cm<sup>3</sup> toluolt adtam hozzá, és 3 drb.sósavas mosóval kapcsoltam össze.

melyek mindegyike kb. n/10 töménységű HCl-t tartalmazott. Levegőárammal beszívott Ba/OH/<sub>2</sub>-dal a lombik tartalmát erősen meglugosítottam és 60 órán keresztül a lombik egész tartalmán luggal mosott levegőt szivattam keresztül. A sósavas oldatokat NaOBr-tel kezelve a Br elűzése után n/20 HCl-ba desztilláltam. Elhasználódott 1.3cm<sup>3</sup> n/20 HCl- 3.9mg trimetilamin. 1200g anyarozs tehát 3.9mg preformált trimetilamint tartalmaz, ami megfelel 0.0033<sup>o/oo</sup>-nek.

Következő kísérletben 1% NaF jelenlétében autolizált oldatban vizsgáltam, hogy nő e a preformált trimetilamin mennyisége. 800g anyarozsörleményt 2400 cm<sup>3</sup> vízzel és 8g NaF-dal 40<sup>o</sup>-os termosztátban autolizáltam 14 napig. Az autolizis befejezte után a szűrletet, amely amugy is savanyu volt, pár csepp sósavval megsavanyitva szürtem és vízfürdön 200cm<sup>3</sup>-re bepárolva az előbbi kísérlethez teljesen hasonlóan feldolgoztam. A trimetilamin mennyiségét meghatározva, 3.4mg-nak találtam, ami megfelel 0.0042<sup>o/oo</sup>-nek. Látható a kísérlet eredményéből, hogy NaF jelenlétében autolizált oldatban még hosszabb idő alatt is alig változik valamit a preformált trimetilaminnak a mennyisége.

Annak eldöntésére, hogy baktericid uton nem keletkezik e az anyarozsban trimetilamin 500g anyarozsörleményt 1500cm<sup>3</sup> deszt. vízzel minden antiseptikum nélkül 40°-on 5 napig autolizáltam. A trimetilaminnak sósavban való desztillálásakor elfogyott 1.16cm<sup>3</sup> n/20 HCl = 3.4mg trimetilamin, ami megfelel anyarozsra vonatkoztatva 0.0068 o/oo trimetilaminnak. Antiseptikum nélkül autolizált oldatban tehát a preformált trimetilamin mennyisége emelkedést mutat.

Nem lehetetlen azonban és ezt az utolsó kísérlet valószínűvé teszi, hogy az autolizis alatt főként az antiseptikum nélkül autolizált anyarozsban keletkezett trimetilamin tovább bomlik, és az autolizátumból eltűnik.

A kérdés eldöntésére a következő kísérletet végeztem: 500g anyarozsörlemény+ 1500cm<sup>3</sup> desztillált víz minden antiseptikum nélkül autolizálva 40°-on. Az első nap elteltével kipipettáztam az autolizátumból 20cm<sup>3</sup>-t és azt megtráltam n/20 NaOH-val. Miután az autolizátum erősen savasnak bizonyult, hozzáadtam, 37.2 mg trimetilamint /sósavas só alakjában/ melyet előzőleg NaOBr-el kezeltem. A lombikot sósavas mosóval kapusólva

visszahelyeztem a termosztátba és még 3 napig autolizáltam. Elhasználódott a trimetilamin megkötésére  $3.6 \text{ cm}^3 \text{ n}/20 \text{ HCl} = 10.7 \text{ mg}$  trimetilamin. Ugyanabban az anyarozsmintában trimetilamin hozzáadása nélkül 4 napi autolizis után 500g-ban  $3.2 \text{ mg}$  trimetilamint találtam. Az eredményből kitűnik, hogy az antiseptikum nélkül autolizált anyarozsban a hozzáadott trimetilamin már aránylag rövid idő alatt eltűnik.

Annak eldöntésére, hogy az autolizátumhoz hozzáadott trimetilamin eltűnése enzimatis vagy baktericid folyamat, megismétéltem a kísérletet NaF hozzáadásal autolizált anyarozsral:  $400 \text{ g}$  anyarozsörleményt +  $1200 \text{ cm}^3$  deszt.vizet +  $12 \text{ g}$  NaF-ot  $40^\circ$ -os termosztátban autolizáltam. Első nap után meggyőződve, hogy az autolizátum elég savanyu, hozzáadtam  $38.9 \text{ mg}$  trimetilamin sósavas só alakjában. A lombikot azonnal összekötve sósavas mosóval, a lombik tartalmát még 9 napig autolizáltam és azután az előbbiekhöz hasonlóan dolgoztam fel. A ledesztillált trimetilamin megkötött  $3.5 \text{ cm}^3 \text{ n}/20 \text{ HCl}$ -at =  $10.3 \text{ mg}$  trimetilamin. Tehát 9 napi autolizis után  $38.9 \text{ mg}$  trimetilaminból  $10.3 \text{ mg}$ -ot nyertem vissza.

Arra vonatkozólag, hogy a NaF nem gyakorol e bontó hatást a trimetilaminra a következő kísérletet végeztem: NaOBr-rel tisztított sósavas trimetilamin oldatot készítettem. Ebből  $10\text{cm}^3$ -t kipipettázva ismét NaOBr-rel kezeltem és desztillálással meghatároztam a trimetilamin mennyiségét és azt  $24.9\text{ mg}$ -nak találtam. Ugyan-eből a trimetilamin oldatból  $10\text{cm}^3$ -t  $900\text{cm}^3$  deszt.viz-be vittem, melyben  $9\text{g}$  NaF volt feloldve. A lombikot sósavas mosóval kapcsolva termosztátba állítottam és a 4-ik napon az előbbihez hasonlóan feldolgozva  $24.6\text{mg}$  trimetilamint találtam. Az eredményből látható, hogy a NaF egyáltalán nem gyakorol bontó hatást a trimetilaminra.

Az előző kísérlet alapján enzimatiskus folyamatnak kell minősítenünk a hozzáadott trimetilamin eltűnését az anyarozs autolizátumból. Hogy ezt minden kétséget kizáróan bebizonyítsam az anyarozs vizes extraktját trimetilamin hozzáadása előtt forrázással inaktiváltam.

$300\text{g}$  anyarozst  $+900\text{cm}^3$  deszt. vizet  $1/2$  órán át forráltam és utána jól bedugaszolva  $40^\circ$ -os termosztátba állítottam.  $24$  óra múltán hozzáadtam  $43.8\text{mg}$  tri-

metilamint. Sósavas mosóval kapcsolva még 10 napig tartottam a termosztátba. A ledesztillált trimetilamin megkötött  $3.5\text{cm}^3$  n/20 HCl-et=10.3mg trimetilamin. Az autolizátumhoz adott 48.8mg trimetilaminból 10 napi autolizis után visszamaradt 10.3mg trimetilamin. A kísérlet megismétlésekor 49.9mg trimetilamin/ hozzáadásával 4 napig autolizált inaktivált anyarozsból 18.4 mg trimetilamint nyertem vissza.

A trimetilaminnal végzett kísérleteimet a következőkben foglalhatom össze: Antiseptikum nélkül és antiseptikummal autolizált anyarozsban a preformált trimetilamin mennyisége jelentősen nem változik. Trimetilamin hozzáadásával antiseptikum nélkül és antiseptikummal autolizált anyarozsban a trimetilamin eltűnik. Eltűnik a trimetilamin akkor is ha az anyarozst inaktiváljuk. Tehát az anyarozs autolizátumhoz hozzáadott trimetilamin eltűnése se nem enzimátikus se nem baktericid. folyamat. További kísérletek feladata lesz eldönteni, hogy mi az oka a trimetilamin eltűnésének.

### Tirozin.

Tirozinnal végzett kísérleteimnek tulajdonképeni célja az volt, hogy a Tschitch féle beosztásban kö-

zépbazisként szereplő tiramin keletkezésére némi fényt derítsek. Régen ismeretes ugyanis, hogy bizonyos aminosavak baktériumok hatására széndioxidot veszítenek és a megfelelő amin keletkezik belőlük. Így pl. a tirozimból /p-oxifenil- $\alpha$ -aminopropionsav/ széndioxid lehasadásával tiramin /p-oxifenil-etilamin/ keletkezik. Ily módon számtalan buvárnak sikerült tirozimból tiramint előállítani. Emerson<sup>1/</sup> a fehérje triptikus emésztésénél, Langstein<sup>2/</sup> a tojásfehérje triptikus emésztésénél, Gautier<sup>3/</sup> a tőkehal májának rothadásánál, Ackermann<sup>4/</sup> a rothadó sajtban, Ehrlich és Lange<sup>5/</sup> pedig normális sajtban észlelték tirozimból való tiramin keletkezést. Sasaki a Bact. coli commune segélyével biokémiai uton állít elő tirozimból tiramint igen jó kitermeléssel. Többen<sup>7/</sup> enzimikus uton nyertek tirozimból tiramint. Nagyon valószínű, hogy ez a folyamat enzimikus, ez ideig azonban

- 
- 1/ R.L.Emerson: Hofmeisters Beitr. 11, 501, 1902.
  - 2/ L.Langstein Hofmeisters Beitr. 1, 507, 1902,
  - 3/ A.Gautier: Bull. Soc. Chim. 35, 1195, 1900.
  - 4/ D.Ackermann Zeitschr. f.physiol.Chem. 60, 483, 1905.
  - 5/ F.Ehrlich u. F.Lange: Biochem. Zeitschr. 63, 156, 1914.
  - 6/ T.Sasaki : Biochem. Zeitschr. 59, 429, 1914.
  - 7/ R.Verigo: Pflügers Archiv 51, 362, 1892; D.Lawrow: Zeitschr. f.physiol.Chem. 33, 312, 1901; R.L.Emerson: Beitr. z.chem.Physiol.u.Path. 1, 501, 1902. L.Langstein: u.o. 1.507.1902.

nem sikerült dekarboxiláló enzimet előállítani, úgyhogy Hirsch<sup>1/</sup> és Guggenheim<sup>2/</sup> ezen kísérletek megbízhatóságát kétségbevonják.

Az anyarozsban Barger és Walpole<sup>3/</sup> szerint 0.01-010%nyi mennyiségben előforduló tiramin eredetére vonatkozólag Tschirch<sup>4/</sup> a következőket mondja: „Es erscheint aber mir zweifelhaft, ob sie im Mutterkorn wirklich preformirt ist. Auch Kazay hält sie für ein Zeretzungsprodukt, möglich aber auch, dass sie von Tyrosin stammt.“

Ha az anyarozsörleményt tirozin hozzáadással autolizáljuk, kérdés, hogy az anyarozsban meg van-e a lehetősége annak, hogy a tirozinból tiramin keletkezzék. A tiramin kinyerésére az anyarozsból Burmann<sup>5/</sup> módszerét használtam. A megszürt autolizátumhoz annyi 96%-os alkoholt adtam hogy a folyadéknak kb. 50% alkoholtartalma legyen. Azután kb. 1 óra állás és gyakori összerázás után szűrtem és vacuumban szárazra bepá-

1/ P.Hirsch: Die Einwirkung von Mikroorganismen auf die Eiweisskörper. 54, Berlin 1918.

2/ M.Guggenheim Die biogenen Amine 124, 153, 1920.

3/ G.Barger u. G.S.Walpole: J1. of Physiol. 38, 343, 1909

4/ Tschirch Handbuch d. Pharmakognosie, Bd. III. Lfg. 3.

5/ Schweiz Wochenschr. f. chem. u. Pharm. 50. 85, 1912, 149.

Hirsch: loc. cit.

roltam. A maradékot desztillált vízben oldva szűrtem és csontszénnel való szintelenítés után szárazra bepároltam. A maradékot absolut alkohollal vontam ki és az alkoholos oldatot csontszénnel szintelenítve bepároltam kb.  $20\text{cm}^3$ - $30\text{cm}^3$ -re. A bepárolt oldathoz étert adva a keletkezett csapadékot szűrőpapírra gyűjtve, vacuum exsziaktorba szárítottam. Az így kapott anyagot szükség esetén még egyszer oldottam abs. alkoholban és éterrel ismét kicsaptam.

Kísérleteimben d-l -tirozint használtam, melynek olvadáspontja  $317^{\circ}18^{\circ}$  volt.

0.4g tirozint  $300\text{cm}^3$  deszt. vízben forralással oldottam. Teljes lehűlés után 50g anyarozsörleményt és  $50\text{cm}^3$  toluolt adtam hozzá. 4 napi  $40^{\circ}$ -on történő autolízis után Burmann szerint feldolgozva éter hozzáadására egy fehér csapadék keletkezett mely hosszabb idei állás után feloldodott. Az éteres oldatot azonnal szűrve a szűrőpapír súlyszaporulata 64.0mg volt.

0.4g tirozint +  $300\text{cm}^3$  deszt. vizet + 50g anyarozsörleményt az előbbihez hasonlóan minden antiseptikum nélkül 4 napig autolizáltam. Éterrel való másodszori leesa-

páznál 270.0mg anyagot kaptam. Ezt a kísérletet megismételve a következő eredményeket nyertem.: 234.5mg olvp. 215-216°, 163mg op=217°, 147.0mg op:220°, 200.0mg op:235°, 195.5mg op.217°. Az így kapott anyagot tisztítás végett még egyszer abs.alkoholba oldva éterrel kicsaptam, mikor egy teljesen fehér mikroszkopos kristályokból álló anyagot kaptam, melynek op.233-35° volt. Az anyag vízben kitűnően oldódik, abs.alkoholban meglehetősen rosszul, éterben és acetonban oldhatatlan.

Annak ellenőrzésére, hogy a Burmann módszere szerint feldolgozott autolizátumból a hozzáadott tirozin nem válik e ki, a módszerrel, 0.4g tirozint vízben oldva, az előbbiekhöz hasonlóan feldolgoztam. 15.2 mg anyagot kaptam, tehát Burmann módszerével a tirozin elválasztható tiramintól. Ha a tirozin és anyarozs keverékét azonnal feldolgoztam, egyik esetben 35.4mg, másik esetben 30.4mg anyagot kaptam. Négy napi autolizis után az autolizátumhoz adott tirozin nem nyerhető vissza Burmann módszerével. Végül 50g anyarozst dolgozva fel Burmann szerint 22.0mg anyagot kaptam, mely valószínűleg tiramin volt.

Ezek a kísérletek azt bizonyítják, hogy az antiseptikum nélkül tirozin hozzáadással autolizált anyarozsból nyert anyag nem lehet tirozin. Mivel az anyag olvadáspontja nem egyezik a tiramin olvadáspontjával és az első lecsapással nyert anyag a Millon reakciót adja, másodszor még inkább harmadszor kicsapott kristályos anyag tömény oldata sem adja e reakciót, valószínűvé vált, hogy a kapott anyag nem tiramin.

Megerősítette ezen felfogás helyességét azon kísérlet, melyben az autolizátumból nyert anyagot identifikálás céljából benzoilozni igyekeztem/Schotten-Baumann/ami egyáltalán nem sikerült, míg az általam tirozinból Ehrlich és Pitschimuka<sup>1/</sup> szerint előállított tiraminnal igen simán ment.

A kapott anyaggal végzett N meghatározások következő eredményeket adtak. Az első lecsapással nyert anyag, melynek sárgás színe volt, részecskéi az edény falához tapadtak, N tartalmát égetéssel meghatározva 13,65%-nak találtam, Op.214°. Másodszori lecsapással

---

1/. F.Ehrlich u. P.Pitschimuka: Chem.Ber. 45, 1006, 1912

kapott anyag op.233-34° N tartalma 14.75% volt.

Az anyag nagy N tartalma valószínűvé tette, hogy az aminosavak alacsonyabb tagjainak egyikével van dolgunk. Mivel megfelelő oldószer<sup>t</sup>, melyből átkristályosítva az anyagot teljesen tisztán kaphatnám meg, nem találtam, rézsó alakjában igyekeztem azt identifikálni. E célból az anyagnak nagyobb mennyiségét frissen lecsapott rézhydroxiddal kb. ~~egy~~ 1/2 órán keresztül főztem, mikor egysötétkék színű oldatot kaptam. Az oldatot a fölös rézhydroxidról leszürve, vízfürdön bepárologtattam. Igen erős bepárologatáskor az oldat felületén világos kék kristályok jelentek meg melyek kiválása jégszekrényben folytatódott. Az így kapott kristályokat először alacsonyabb hőmérsékleten szárítottam/40°/, Az aminosavak rézsói a kristályvizüket még aránylag magas hőmérsékleten sem vesztik el,<sup>1/</sup> azért a kapott rézsót Abderhalden és Weil<sup>2/</sup> szerint 15-20 m/m-es vacuumban 130-40°-on szárítottam. Száritáskor a rézsó színe sötétkékre változott, és elégetésekor a következő érté-

---

1/. Abderhalden : Handbuch d.biolog.Arbeitsmeth. Abt.I Teil 7, 32.

2/. E.Abderhalden u.A Weil: Zeitschr.f.physiol.Chem, 72, 22, 1911.

keket kaptam:

0.1990g rézsó elégetve 0.0672g rézoxidot adott. Ebből a rézsó Cu tartalma 26.99%. Az alanin  $\beta$ -aminopropionsav/ rézsójának Cu tartalma = 26.52%.

Az analízisből kétségtelenné vált hogy a tirozinnak a nyarozással antiseptikum nélkül való autolízisének keletkező anyag, mely Burmann módszerével az autolizátumból izolálható, ha nem is egész tömegében, de legnagyobb részt alaninból áll.

Az állati és növényi organizmusoknak régen ismert az azon képessége, hogy a N tartalma racémás vegyületeket oly módon képesek szervezetük felépítésére értékesíteni, hogy csak a jobbra, -vagy csak a balra-forgató módosulatot használják fel. A mikroorganizmusoknak ezt a munkáját gyakorlatilag is alkalmazzák optikailag inaktív anyagoknak optikailag aktív alakjaikra való szétbontásánál. 1/

Ez a módszer tirozinnál azonban nem alkalmazható, mert az az eddigi tapasztalatok szerint szimmetrikusan építődik le.

A tirozin baktericid bomlástermékei között a fenolt többek között Baumann<sup>1/</sup>, Salkowski<sup>2/</sup>, Weyl<sup>3/</sup>, és Berthelot<sup>4/</sup> találták meg. E szerint az anyarozshoz adott tirozinból baktériumok hatására a benzolgyűrű mint fenol lehasad, és dl- alanin szabadul fel /vajszavas erjedés/, melynek azután az egyik vagy másik komponensét a baktériumok elhasználják, s az ellentétes komponens visszamarad és az autolizátumból kinyerhető.

---

1/ E.Baumann: Zeitschr.f.physiol.Chem. 1, 60, 1877;

4, 304, 1880; 7, 282, 1883.

2/ E.u.H.Salkowski Chem. Ber. 13, 189, 1880.

3/ Th.Weyl: Zeitschr.f.physiol.Chem. 3, 212, 1879.

4/ A.Berthelot: Ann. Inst. Pasteur, 28, 839, 1914.

E K 5703/1952 GY SZ