

E 16/41



dpl. 126 242

**Különnyomat a Magyar Dohányujság 1931 február 1. számából.**

*Barta Lászlóval!*

*Bartalaci,*

## **A nikotinbomlás kérdése a dohányban bakteriumok hatására**

Irták: Bodnár János dr. és Barta László.

Fermentálatlan és fermentált dohányokkal végzett összehasonlító nikotinmeghatározások eredményei szerint (*Nessler, Kosutány, Behrens*)<sup>1)</sup> a dohány nikotintartalma a fermentálás folyamán 7—60 százalékkal lecsökken. Legujabban *Smirnow* és *Izvoschikow*<sup>2)</sup> kimutatták, hogy a zöld dohánylevél nikotintartalma a szárítás alatt is csökken. A fermentálásnál lejátszódó bomlási folyamatokat egyes kutatók a dohánylevélenzimek, mások pedig a dohányleveleken jelenlevő mikroorganizmusok hatására vezeték vissza;<sup>3)</sup> a fermentálás alatt bekövetkező nikotinbomlás is enzimás vagy bakteriumos természetű lehet. Annak a nézetnek, hogy a nikotin a fermentálásnál keletkező meleg hatására egyszerűen elillan, ellentmond egyrészt a dohány savanyu kémhatása (a fermentálás alatt a pH növekszik), másrészt pedig, hogy a fermentáló helyiségekben nikotinmérgezést sohasem észleltek, már pedig ott, ahol több száz métermázsza dohány van felhalmozva, a nikotinmérgezés feltétlenül előadná magát, ha a dohányból nikotin kerülne a levegőbe.

*Fodor* és *Reifenberg*<sup>4)</sup> vizsgálatai szerint az antiszeptikum jelenlétében eltartott dohánylevélmaцерát nikotintartalma 7—25 százalékkal lecsökken, tehát a nikotin enzimhatásra (oxidáz) bomlott el. E megállapítás helyességét *Faitelowitz*<sup>5)</sup> kétségbe vonta és legujabb vizsgálatai<sup>6)</sup> alapján — amelyek szerint antiszeptikum nélkül eltartott vizes dohányuszpenzió nikotintartalma lényegesen lecsökkent (közben az eredetileg savanyu szuszpenzió lúgos lett) és hogy kloroform jelenlétében nikotincsökkenés nem következett be (a szuszpenzió savanyu maradt) — arra az eredményre jutott, hogy a dohány fermentálásánál észlelt nikotincsökkenés kizárólag a nikotin bakteriumok okozta elbomlásra vezethető vissza. *Rundshagen*<sup>7)</sup> is bakteriumok hatására vezető vissza a dohány nikotintartalmának a csökkenését. Arra vonatkozólag, hogy a nikotin elbomlásánál milyen termékek keletkeznek a nikotinból, *Faitelowitz* csak annyit említ, hogy ammonia nem keletkezik, a keletkezett bomlási termékek (Stickstoffbasen) illékonyak és a nikotin bakteriumos bomlására hátrólólag hatnak. Ha kísérleteinél úgy járt el, hogy a lúgossá vált dohányuszuszpenziót a levegőn beszáradni hagyta és a maradékhoz vizet adott, a bomlási termékek (nitrogénbázisok) elillanása folytán a nikotin bakteriumos bomlása tovább folytatódott; ha kétszer-

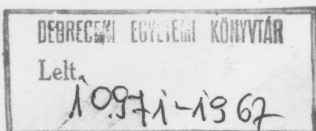
háromszor megismételte ezt a műveletet, a dohányban levő összes nikotin elbomlott és nikotinmentes dohányt kapott. Az ilyen módon nikotinmentesített dohány azonban nitrogénbázisokban való szegénysége folytán, amelyek *Faitelowitz* szerint nagy befolyással vannak a dohány minőségére, teljesen élvezhetetlen.

*Faitelowitz* szerint a legtöbb dohányleveleken kétféle bakterium található: fehérjebontó aerob és szénhidrátbontó anaerob bakteriumok, amelyek hatására bázisos, illetve savanyu bomlási termékek keletkeznek. Cukor jelenlétében végezve a kísérleteket, *Faitelowitz* azt tapasztalta, hogy a nikotin szintén elbomlik, de ilyenkor a cukorból keletkezett sav lekötötte a nitrogénbázisokat, tehát nem volt bázisveszteség. Ezek alapján — itt közelebb nem részletezhető módon — sikerült neki nitrogénbázisokban gazdag s ezáltal szivható dohányt nyernie.

*Faitelowitz* tényleges nikotinmeghatározó eljárásának alapját a nikotin és jódkálium-merkurijodid (*Mayer*-féle reagens) között végbemenő reakció képezi, amely szerinte úgy folyik le, hogy a reagens hatására keletkezett nikotin-esapadék a kémszer feleslegében feloldódik (a piridinnel kapott esapadék nem oldódik). A jódkálium-merkurijodidot először *Fodor* és *Reifenberg*<sup>8)</sup> használták a nikotin meghatározására, de éppen az ellenkező alapon, vagyis nem a nikotin-, hanem a piridinesapadék oldódik a reagens feleslegében. Nevezett szerzők legujabban<sup>9)</sup> is hasonló értelemben nyilatkoztak és saját vizsgálataink is azt bizonyítják, hogy a *Mayer*-reagens nem a nikotinnal, hanem a piridinnel ad a kémszer feleslegében oldódó esapadékot.

Közismeretes a nikotinról, hogy már szobahőfokon is illékony. *Faitelowitz* a lúgos dohányuszuszpenziót, amely tehát szabad állapotban tartalmazta a nikotint, napokon át hagyta a levegőn állani és beszáradni, anélkül, hogy figyelembe vette volna a nikotin illékonyosságát. Az ilyen módon bekövetkező nikotincsökkenés tehát korántsem szolgálhat bizonyítékul amellest, hogy a nikotin bakteriumok hatására bomlik el.

Az elmondottak világosan bizonyítják, hogy *Faitelowitz* kísérleti eredményeit nem lehet minden további nélkül elfogadni s felmerül annak a szükségessége, hogy *Faitelowitz* kísérletei a nikotin exakt módon való meghatározásával megismételtessenek.



Kísérleteinket különböző nikotintartalmu hazai és külföldi dohányokkal végeztük. A dohányból a nikotintartalom szerint 2–5 g-ot mértünk le *Erlenmeyer*-lombikokba, 5-szörös mennyiségű vizet adva hozzájuk, jól összekevertük és a lombikokat 30 fokos termosztátba helyeztük. A kísérleti idő lejártával a később ismertetendő módon határoztuk meg a lombikokban levő dohányautolizátok nikotin- és ammoniatartalmát. *Faitelowitz* az összbázisokat és a nikotint határozta meg s e kettő különbségét mint nem nikotinbázisokat (Nichtnikotinbasen) szerepelteti. A később ismertetendő vizsgálatainkból kitűnik, hogy a meglugosított dohány desztillátuma a nikotin mellett csak ammoniát tartalmaz.

*Kiemelendőnek tartjuk, hogy a termosztátban eltartott dohányszuszpenziók már a második naptól kezdődőleg kellemetlen, büzös szagot árasztva, rothadásnak indultak.*

A nyert eredményeket %-ra számítva, az I–IV. táblázatokba foglaltuk össze. A 4. számú kísérleteknél úgy jártunk el, hogy a termosztátban 4 napig eltartott dohányszuszpenziókat *Petri* csészébe öntöttük és kloroform + toluol hozzáadásával addig hagytuk szobahőfokon állani, — közben gondoskodva az elpárolgó dezinficiens pótlásáról — amíg be nem száradtak (a beszáradás kb. 5 napot vett igénybe, tehát a kísérleti idő hasonlóan a 3. sz. kísérletekhez, itt is 9 nap volt) és a maradékban határoztuk meg a nikotint és ammoniát. Amennyiben ezekben a kísérletekben nikotincsökkenés állana elő, úgy ez nem a bakteriumok nikotinbontó hatásával (dezinficiens jelenléte kizárja a bakteriumokat), hanem csak a nikotin elillanásával magyarázható.

### I. táblázat.

Debreceni dohány (2.81% nikotin)  
2 g dohány + 10 cm<sup>3</sup> viz.

Sorszám	Kísérleti idő napok	Nikotin %	Ammonia %
1.	0	2.81	0.45
2.	4	2.88	1.00
3.	9	2.81	0.74
4.	4+5	2.00	0.03

### II. táblázat.

Kapadohány (3.96% nikotin)  
2 g dohány + 10 cm<sup>3</sup> viz.

Sorszám	Kísérleti idő napok	Nikotin %	Ammonia %
1.	0	3.96	0.58
2.	4	3.96	0.94
3.	9	3.96	0.88
4.	4+5	2.81	—

### III. táblázat.

Kerti dohány (1.00% nikotin)  
5 g dohány + 25 cm<sup>3</sup> viz.

Sorszám	Kísérlet idő nap	Nikotin %	Ammonia %
1.	0	1.00	0.54
2.	4	1.00	0.79
3.	9	1.00	0.80
4.	4+5	0.83	0.16

### IV. táblázat.

Török cigarettadohány (1.12% nikotin)  
3 g dohány + 15 cm<sup>3</sup> viz.

Sorszám	Kísérleti idő nap	Nikotin %	Ammonia %
1.	0	1.12	0.01
2.	4	1.12	0.07
3.	9	1.12	0.08
4.	4+5	0.81	—

Az I–IV. táblázatokban közölt eredményekből a következőket lehet kiolvasni:

a) Dezinficiens nélkül 9 napig autolizált dohányokban a nikotin mennyisége nem mutat csökkenést és jelentékeny mennyiségű ammonia keletkezik. Ezek szerint a dohányautolizátban elszaporodó, rothasztó bakteriumok nem bontják el a nikotint, hanem ammoniát termelnek a dohányfehérjéből.

b) A 4. sz. kísérletek amellől bizonyítanak, hogy *Faitelowitz* hasonló módon végzett kísérleteinél észlelt nikotincsökkenés nem bakteriumok hatására (kísérleteinknél alkalmazott dezinficiens jelenléte kizárta a bakteriumok működését), hanem egyszerűen a nikotin elillanására vezethető vissza.

Annak további bizonyítására, hogy a lugos dohányszuszpenzió levegőn való beszárításakor észlelt nikotincsökkenés a nikotin elillanása és nem a nikotin bakteriumos elbomlása folytán áll elő, a következő kísérletet végeztük. Termosztátban 4 napig tartott lugos dohányszuszpenziót (2 g dohány + 10 cm<sup>3</sup> viz)  $\frac{1}{2}$  literes *Erlenmeyer* lombikba öntöttük, a lombikot hig sósavat tartalmazó mosópalackkal kötöttük össze és beszáradásig (5 napon keresztül) levegőt szívattunk át rajta. Megvizsgálva a sósavas oldatot, abban nikotint tudtunk kimutatni és a beszáradt dohányszuszpenzió + sósavas oldat nikotintartalmát megegyezőnek találtuk a kísérlethez használt dohány nikotintartalmával (dohányszuszpenzió + sósavas oldatban 2.57%, dohányban 2.63% nikotin).

Végeztünk olyan kísérleteket is, hogy 1% glükózt tartalmazó vizes oldatban autolizáltuk a dohányt

(V—VII. táblázatok), nikotincsökkenést azonban itt sem tapasztaltunk és kevesebb ammonia keletkezett, mint a glükóz nélküli kísérletekben.

### V. táblázat.

Kerti dohány (1.00% nikotin)  
5 g dohány + 25 cm<sup>3</sup> glükózoldat.

Sorszám	Kísérleti idő nap	Nikotin %	Ammonia %
1.	0	1.00	0.54
2.	4	1.00	0.61
3.	9	1.00	0.55
4.	4+5	0.84	0.07

### VI. táblázat.

Kapadohány (3.96% nikotin)  
2 g dohány + 10 cm<sup>3</sup> glükózoldat.

Sorszám	Kísérleti idő nap	Nikotin %	Ammonia %
1	0	3.96	0.58
2.	4	3.96	0.73
3.	9	3.96	0.71
4.	4+5	3.14	0.16

### VII. táblázat.

Török cigarettadohány (1.12% nikotin)  
3 g dohány + 15 cm<sup>3</sup> glükózoldat.

Sorszám	Kísérleti idő nap	Nikotin %	Ammonia %
1.	0	1.12	0.01
2.	4	1.12	0.06
3.	9	1.12	0.06
4.	4+5	0.65	0.01

A dohányszuszpenziók levegőn való beszárításával végzett kísérletekben (4. sz. kísérletek) itt is volt nikotincsökkenés (a beszáruló dohányszuszpenzió lugos kémhatású lett), ami szintén a nikotin elillanására vezethető vissza.

Végeredményben kísérleteink nem erősítik meg *Faitelowitz*-nak a nikotin bakteriumos elbomlására vonatkozó észleleteit, az általa megadott kísérleti körülmények mellett — legalább is az általunk vizsgált dohányvoknál — nem észleltük, hogy a dohányautolizátokban elszaporodó és rothadást előidéző bakteriumok a nikotinra elbontólag hatottak volna.

Alkalmunk van olyan megfigyelésről beszámolni, hogy nem elég védett helyen elraktározott és eső hatásának kitett s ennek folytán részben tönkrement (elrothadt) dohányasztagok nikotintartalma erősen lecsökkent. Anélkül, hogy okát kívánnánk adni ebben az esetben észlelt nikotincsökkenésnek, csak arra kívánunk rámutatni, hogy ha erősen átnedvesedett, rothadásnak indult és megpenészesedett dohányban bizonyos körülmények mellett be is következnek mikroorganizmusok hatására a nikotin elbomlása, úgy ez a folyamat a dohányfermentálás alatt történő nikotincsökkenés mechanizmusának ismerete szempontjából nem birhat jelentőséggel, mert a fermentálás egészen más természetű folyamat, amelynek a lefolyásánál többek között nagy szerepet játszik a fermentálandó dohány nedvességtartalma is. Így pl. a 30%-nál több vizet tartalmazó magyar dohányok nem fermentálódnak, hanem megpenészednek, megbüdösödnek s elrothadnak.

\*

A dohány nikotintartalmának meghatározására igen előnyösen használható az általunk<sup>10)</sup> kidolgozott mikrotérfogatos eljárás. Jelen esetben azonban, amikor autolizált dohányszuszpenzióban kellett a nikotint meghatározni, egyedüli biztos eljárásnak kínálkozott a nikotinnak a ledesztillálása és a desztillátumban a *Pfyl* és *Schmitt*-féle<sup>11)</sup> pikrinsavas eljárással való meghatározása.

Annak a megállapítására, hogy a meglugosított dohány, illetve autolizát desztillátumába a nikotinnal kívül milyen bázisos anyagok mennek át, a következő vizsgálatokat végeztük.

1. 2 g dohányhoz hozzáadtunk 1 g MgO-ot, 20 g konyhasót, 300 cm<sup>3</sup>-es gömblombikban elkevertük kb. 50 cm<sup>3</sup> vízzel és vízgőzzel 150 cm<sup>3</sup>-t desztilláltunk át 20 cm<sup>3</sup> n/10 sósavba. A desztillátum egyik felében szilikowolframsavval<sup>12)</sup>, a másik felében pedig a pikrinsavas eljárással határoztuk meg a nikotint. Szilikowolframsavval a nikotint a piridinnel együtt, pikrinsavval pedig csak a nikotint határozzuk meg. Kísérleteinkhez használt dohányokkal, illetve dohányautolizátokkal végezve ilyen meghatározásokat, azt találtuk, hogy a kapott nikotinértékek között nem volt számbavehető különbség, tehát a vizsgált dohányok, illetve dohányautolizátok desztillátumai legfeljebb csak nyomokban tartalmaztak piridint.

2. Az 1. alatt leírt módon végezve a desztillálást, az el nem használandó sósavat n/10 NaOH-dal, metilvöröst használva indikátornak megtitráltuk (1. titrálás). Ez a titrálás adta a dohányból átdesztillálható összbázisok mennyiségét. A megtitrált oldathoz 1 csepp friss klórvíz (metilvörös elroncsolására) és négy csepp 1%-os fenoltalein-oldat hozzáadása után addig csepegtettünk n/10 NaOH-oldatot, míg észrevehetően rózsaszínű lett. Ezután az ammonia meghatározására hozzáadtunk 20 cm<sup>3</sup> közömbös formaldehid-oldatot (20 cm<sup>3</sup> formalint fenoltalein jelenlétében n/10NaOH-al gyenge rózsaszínhezéig titráltunk s 100 cm<sup>3</sup>-re feltöltöttük) és n/10 NaOH-dal megtitráltuk (2. titrálás). A kapott lugos oldatot n/10 HCl-val pontosan közömbösítettük (metilvörös indikátor) és pikrinsavval meghatároztuk benne a nikotint. A nikotindipikrát titrálásához elhasznált n/10 NaOH-oldat *fele* jelentette a nikotinnal egyenértékű n/10 NaOH mennyiségét (3. titrálás). Az 1. és 3. titráláshoz elhasznált n/10 NaOH cm<sup>3</sup>-eknek különbsége, ha a dohány desztillátuma a nikotin mellett csak ammóniát tartalmaz, egyenlő kell legyen a 2. titrá-

lášhoz (az ammonia közvetlen meghatározásához) elhasznált lug cm<sup>3</sup>-ek számával. Elvégezve ezeket a titrálásokat a kísérleteinkhez használt dohányokkal, illetve dohányautolizátokkal, azt tapasztaltuk, hogy az 1. és 3. titrálás különbsége megegyezett a 2. titrálás eredményével, tehát a dohány desztillátuma a nikotin és ammonia mellett legfeljebb csak elhanyagolható nyomokban tartalmaz egyéb bázisokat.

### Összefoglalás.

Kísérleteink szerint az antiszeptikum nélkül autolizált dohányszuszpenziókban jelenlevő és rothadást előidéző bakteriumok — szemben *Faitelowitz* megállapításaival — nem hatnak elbontólag a nikotinra. A dohány rothadásos autolizálásánál mint egyedüli illanó bázisos bomlási termék, ammonia keletkezik (más hasonló termékek legfeljebb elenyészően csekély nyomokban).

Amennyiben bizonyos körülmények mellett a rothadó dohányban be is következnek a nikotin elbomlása, úgy ez a rothadástól különböző fermentációs folyamatnál megfigyelt nikotincsökkenés mehanizmusának ismerete szempontjából nem birhat jelentőséggel.

### Irodalom.

1. *R. Kissling*: Handb. d. Tabakkunde, d. Tabakbaues u. d. Tabakfabrikation. 5. Aufl., S. 309. Berlin, 1925.
2. *A. J. Smirnow* u. *W. P. Izvoschikow*: Biochem. Zeitschr. 228, 329, 1920.
3. *R. Kissling*: l. c. S. 929; *Th. Andreadis*: Biochem. Zeitschr. 211, 378, 1929.
4. *A. Fodor* u. *A. Reifenberg*: Biochem. Journ. 19, 830, 1925; Zeitschr. f. physiol. Chem. 162, 1, 1926.
5. *A. Faitelowitz*: Biochem. Journ. 21, 262, 1927.
6. *A. Faitelowitz*: Biochem. Zeitschr. 224, 459, 1930.
7. *A. Rundshagen*: Chem. Ztg. 53, 717, 1929.
8. *A. Fodor* u. *A. Reifenberg*: l. c.
9. *A. Fodor* u. *A. Reifenberg*: Biochem. Zeitschr. 228, 327, 1930.
10. *J. Bodnár*, *J. Straub* u. *v. L. Nagy*: Biochem. Zeitschr. 195, 103, 1928; *J. Bodnár* u. *v. L. Nagy*, u. o. 227, 452, 1930.
11. *B. Pfyl* u. *O. Schmitt*: Zeitschr. f. Untersuch., d. Lebensm. 54, 60, 1927.
12. *H. B. Rasmussen*: Zeitschr. f. analyt. Chem. 55, 81, 1916.

